T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

İN SİTU VE İNVAZİV DUKTAL MEME KARSİNOMLARINDA TÜMÖRÜ İNFİLTRE EDEN LENFOSİTLERDE İMMÜN KONTROL NOKTASI İNHİBİTÖRLERİNİN (PD-1, TIM-3, LAG-3 VE TIGIT) EKSPRESYONU VE PROGNOSTİK FAKTÖRLER İLE İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. ELİF ACAR

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. AYŞE DURSUN

ANKARA
MART 2020

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

İN SİTU VE İNVAZİV DUKTAL MEME KARSİNOMLARINDA TÜMÖRÜ İNFİLTRE EDEN LENFOSİTLERDE İMMÜN KONTROL NOKTASI İNHİBİTÖRLERİNİN (PD-1, TIM-3, LAG-3 VE TIGIT) EKSPRESYONU VE PROGNOSTİK FAKTÖRLER İLE İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. ELİF ACAR

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. AYŞE DURSUN

ANKARA
MART2020

TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak yetişmemde büyük katkıları bulunan, en başta tez danışmanım Prof. Dr. Ayşe Dursun'a ve değerli hocalarım Prof. Dr. Leyla Memiş, Prof. Dr.Gülen Akyol, Prof. Dr. Aylar Poyraz, Prof. Dr. Nalan Akyürek, Prof. Dr. Özlem Erdem, Prof. Dr. İpek Işık Gönül, Doç. Dr. Güldal Esendağlı, Doç. Dr. Pınar Uyar Göçün ve Doç. Dr. Özgür Ekinci'ye teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık dönemim boyunca birlikte çalışmaktan son derece mutlu olduğum ve tez çalışmam boyunca desteklerini hep hissettiğim sevgili asistan arkadaşlarım Aysu Bakkalbaşı Sadioğlu, Selcen Yonat, Elif Kolay, Dilara İrem Arslan Kahraman, Arzu Erdemir, Kübra Çalışkan, Yelda Günsoy, Ceren Bilkan Öge ve Tuğba Körpeoğlu'na teşekkür ederim.

Tüm asistanlık süresi boyunca maddi-manevi desteğini esirgemeyen aileme ve tez çalışmamım her aşamasında bana yardım eden kardeşim Esra Acar'a en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Elif Acar
Baba Adı	İbrahim
Doğum Yeri/Tarihi	Altındağ / 13.11.1991
Diploma Tarihi / Diploma No	27.6.2015 / 15-311-054
Mezun Olduğu Fakülte	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	**Yıl:** 4 **Ay:** 1
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI:
İn situ ve invaziv duktal meme karsinomlarında tümörü infiltre eden lenfositlerde immün kontrol noktası inhibitörlerinin (PD-1, TIM-3, LAG-3 VE TIGIT) ekspresyonu ve prognostik faktörler ile ilişkisi

JÜRİ KARARI: Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Elif Acar'ın "İn situ ve invaziv duktal meme karsinomlarında tümörü infiltre eden lenfositlerde immün kontrol noktası inhibitörlerinin (PD-1, TIM-3, LAG-3 VE TIGIT) ekspresyonu ve prognostik faktörler ile ilişkisi" konulu tezi, bölümümüz araştırma görevlilerinden Dr. Elif Acar tarafından sunulmuştur. Tez sınavında başarılı bulunmuştur. Uzmanlık sınavına girmesi uygundur. Gereğini bilgilerinize saygılarımızla arz ederiz.

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN
Prof. Dr. Özlem Erdem

ÜYE
Prof. Dr. Ayşe Dursun

ÜYE
Prof. Dr. Özlem Özen

İÇİNDEKİLER

Teşekkür

Kabul ve Onay

İçindekiler

Kısaltmalar

Tablolar Dizini

Şekiller Dizini

Resimler Dizini

Grafikler Dizini

1. GİRİŞ……1

2. GENEL BİLGİLER……..5

1.1. İnvaziv Meme Karsinomu……5

2.1.1. Epidemiyoloji ve etyoloji……5

2.1.2. Patogenez……..6

2.1.3. Klinik özellikler……7

2.1.4. Morfolojik sınıflama……7

2.1.5. Moleküler sınıflama……8

2.1.6. İnvaziv duktal karsinomların makroskobik ve mikroskobik özellikleri….11

2.1.7. Prognostik faktörler……15

2.1.8. Tedavi……22

2.2. Duktal Karsinoma İn Situ……...24

2.2.1. Tanımı……24

2.2.2. Epidemiyoloji ve etyoloji……...24

2.2.3. Patogenez……24

2.2.4. Klinik özellikler……..25

2.2.5. Makroskobik ve mikroskobik özellikler…….25

2.2.6. İmmünhistokimyasal belirteçler ve ayırıcı tanı……..27

2.2.7. Moleküler sınıflama……...28

2.2.8. Prognostik faktörler……28

2.2.9. Tedavi…….29

2.3. TİL ve Genel Bilgiler……...29

2.4. TİL ve İnvaziv Meme Karsinomu……..30

2.5. TİL ve Duktal Karsinoma İn Situ……..32

2.6. İmmün Kontrol Noktası İnhibitör Reseptörleri ve Meme Kanseri Tedavisinde Kullanım Alanları……...32

2.6.1. Genel bilgiler……..32

2.6.2. LAG-3……34

2.6.3. TIM-3…….36

2.6.4. TIGIT……..37

3. GEREÇ VE YÖNTEM……...41

3.1. Olguların Seçilmesi……..41

3.2. Klinikopatolojik Özelliklerin Listelenmesi……42

3.3. Histopatolojik Değerlendirme…….42

3.4. İmmünhistokimyasal Boyama…….44

3.4.1. LAG-3 boyama yöntemi…….45

3.4.2. TIM-3 boyama yöntemi……..46

3.4.3. TIGIT boyama yöntemi……..47

3.4.4. PD-1 boyama yöntemi……48

3.4.5. CD3 boyama yöntemi……49

3.5. İmmünhistokimyasal Boyanmanın Değerlendirmesi……50

3.6. İstatistiksel Analiz……51

4. BULGULAR……52

4.1. İnvaziv Meme Karsinomu Olguları……52

4.1.1. Demografik ve klinik özellikler…….52

4.1.2. Histopatolojik özellikler…….53

4.1.3. Klinik izlem bilgilerine ulaşılabilen invaziv meme karsinomu olgularının demografik ve klinik özellikleri…….59

4.1.4. Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen invaziv meme karsinomu olgularının histopatolojik özellikleri…….61

4.1.5. Stromal TİL yoğunluğu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……..64

4.1.6. Stromal TİL yoğunluğu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması…66

4.1.7. Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……...71

4.1.8. Tersiyer lenfoid yapılanma ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……..74

4.1.9. CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……77

4.1.10. CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……..78

4.1.11. PD-1 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……..80

4.1.12. PD-1 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması…….83

4.1.13. LAG-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……..89

4.1.14. LAG-3 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……..91

4.1.15. TİM-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……..96

4.1.16. TİM-3 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……..98

4.1.17. Genel ve hastalıksız sağkalım analizleri……..103

4.2. DKİS Olguları…….127

4.2.1. Demografik ve klinik özellikler……...127

4.2.2. Histopatolojik özellikler……...128

4.2.3. Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen DKİS olgularının demografik ve klinik özellikleri……..133

4.2.4. Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen DKİS olgularının histopatolojik özellikleri……..135

4.2.5. Stromal TİL yoğunluğu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……137

4.2.6. Stromal TİL yoğunluğu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması..138

4.2.7. CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……..141
4.2.8. PD-1 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……141
4.2.9. LAG-3 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……144
4.2.10. TİM-3 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması……147
5. TARTIŞMA……...152
5.1. İnvaziv Meme Kanseri……152
5.1.1. Stromal TİL yoğunluğu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki…….152
5.1.2. Stromal TİL yoğunluğu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki……..159
5.1.3. Tersiyer lenfoid yapılanma ile klinik ve histopatolojik özelliklerin arasındaki ilişki……161
5.1.4. Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki……164
5.1.5. PD-1 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki……..165
5.1.6. PD-1 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki….167
5.1.7. LAG-3 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki……..168

5.1.8. LAG-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki……..169
5.1.9. TİM-3 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki……..170
5.1.10. TİM-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki...170
5.2. DKİS……171
5.2.1. Stromal TİL yoğunluğu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki……..171
5.2.2. Stromal TİL yoğunluğu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki……..173
5.2.3. PD-1 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki……..174
5.2.4. LAG-3 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki……..174
5.2.5. TİM-3 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki……..175
5.3. Çalışmanın Kısıtlılıkları……175
6. SONUÇLAR……..176
7. KAYNAKLAR……..182
8. ÖZET……192
9. SUMMARY……...194
10. ÖZGEÇMİŞ……196

KISALTMALAR

Kısaltmalar	Açıklama
AR	Androjen reseptörü
ASCO	American Society of Clinical Oncology
BRCA1	Breast Cancer Gen 1
BRCA2	Breast Cancer Gen 2
CI	Confidence interval
CTLA-4	T-lenfosit ilişkili antijen-4
DAB	Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin
DKİS	Duktal karsinoma in situ
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	Etilenediamin tetraasetik asit
ER	Östrojen reseptörü
ESMO	European Society for Medical Oncology
HazR	Hazard ratio
HR	Hormon reseptörü
H&E	Hematoksilen ve eozin
ITIM	İmmünreseptör tirozin- tabanlı inhibisyon motif
İFN-gama	İnterferon gama
İL-β	İnterlökin-beta
iTİL	İntratümöral TİL
LAG-3	Lenfosit aktivasyon gen
LKİS	Lobüler karsinoma in situ
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NK	Doğal öldürücü
PD-1	Programlanmış hücre ölümü reseptörü
PD-L1	Programlanmış hücre ölümü reseptör ligandı
PR	Progesteron reseptörü
PVR	Poliovirüs reseptörü
sTİL	Stromal TİL

TNF-α	Tümör nekrozis faktör alfa
TIGIT	T hücre immünglobulin ve ITIM domain
TIM-3	T hücre immünglobulin ve müsin “domain” içeren gen 3
TİL	Tümörü infiltre eden lenfosit
UMKİBÇG	Uluslararası Meme Kanseri İmmünoonkolojik Biyobelirteç Çalışma Grubu

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: DSÖ invaziv meme karsinomu sınıflaması

Tablo 2: İmmünhistokimya tabanlı moleküler sınıflama

Tablo 3: İnvaziv meme karsinomu, spesifiye edilemeyen tip morfolojik paternleri

Tablo 4: Meme karsinomu histolojik derecelendirme sistemi

Tablo 5: TNM Klinik Sınıflama

Tablo 6: pTNM Patolojik Sınıflama

Tablo 7: Meme kanserinde evreleme sistemi

Tablo 8: DKİS'de nükleer özelliklere göre derecelendirme sistemi

Tablo 9: İnvaziv meme tümörlerinde ışık mikroskobik olarak TİL değerlendirmesi önerileri

Tablo 10: DKİS'lerde ışık mikroskobik olarak TİL değerlendirmesi önerileri

Tablo 11: İnvaziv meme karsinomu olgularının demografik ve klinik özellikleri

Tablo 12: İnvaziv meme karsinomu olgularının histopatolojik özellikleri

Tablo 13: Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen invaziv meme karsinomu olgularının demografik ve klinik özellikleri

Tablo 14: : Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen invaziv meme karsinomu olgularının histopatolojik özellikleri

Tablo 15: İnvaziv meme karsinomlarında stromal TİL yoğunluğu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 16: İnvaziv meme karsinomlarında stromal TİL yoğunluğu ile histopatolojik prognostik faktörlerin karşılaştırılması

Tablo 17: İnvaziv meme karsinomlarında stromal TİL yoğunluğu ile diğer histolojik parametrelerin karşılaştırılması

Tablo 18: İnvaziv meme karsinomlarında tersiyer lenfoid yapılanma ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 19: İnvaziv meme karsinomlarında tersiyer lenfoid yapılanma ile histopatolojik prognostik faktörlerin karşılaştırılması

Tablo 20: İnvaziv meme karsinomlarında tersiyer lenfoid yapılanma ile diğer histolojik parametrelerin karşılaştırılması

Tablo 21: CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 22: CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı ile histopatolojik özellikler ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

Tablo 23: İntratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 24: Stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 25: İntratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

Tablo 26: Stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

Tablo 27: İntratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 28: Stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 29: İntratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

Tablo 30: Stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

Tablo 31: İntratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 32: Stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 33: İntratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

Tablo 34: Stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile histopatolojik ve immünhistokimyasal özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 35: Stromal TİL yoğunluğunun genel sağkalıma etkisi (orta-yüksek / hafif TİL yoğunlukları karşılaştırılmıştır)

Tablo 36: Tek değişkenli genel sağkalım analizi

Tablo 37: Çok değişkenli genel sağkalım analizi

Tablo 38: Stromal TİL yoğunluğunun hastalıksız sağkalıma etkisi (orta-yüksek / hafif TİL grupları karşılaştırılmıştır)

Tablo 39: Tek değişkenli hastalıksız sağkalım analizi

Tablo 40: Çok değişkenli hastalıksız sağkalım analizi

Tablo 41: HR ve HER2 ekspresyon gruplarında çok değişkenli genel sağkalım analizi

Tablo 42: HR ve HER2 ekspresyon gruplarında çok değişkenli hastalıksız sağkalım analizi

Tablo 43: Tek değişkenli genel sağkalım analizi

Tablo 44: Çok değişkenli genel sağkalım analizi

Tablo 45: Tek değişkenli hastalıksız sağkalım analizi

Tablo 46: Çok değişkenli hastalıksız sağkalım analizi

Tablo 47: DKİS olgularının demografik ve klinik özellikleri

Tablo 48: DKİS olgularının histopatolojik özellikleri

Tablo 49: Klinik takibine ulaşılabilen DKİS olgularının demografik ve klinik özellikleri

Tablo 50: Klinik takibine ulaşılabilen DKİS olgularının histopatolojik özellikleri

Tablo 51: DKİS'lerde stromal TİL yoğunluğu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 52: DKİS'lerde stromal TİL yoğunluğu ile histopatolojik prognostik faktörlerin karşılaştırılması

Tablo 53: DKİS'lerde stromal TİL yoğunluğu ile çalışmamızda değerlendirilen diğer histolojik parametrelerin karşılaştırılması

Tablo 54: DKİS olgularında intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 55: DKİS olgularında stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 56: DKİS olgularında intratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 57: DKİS olgularında stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Tablo 58: DKİS olgularında stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: LAG-3 ve ligandları

Şekil 2: TIM-3 ve ligandları

Şekil 3: TIGIT ve ligandları

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: İnvaziv meme karsinomunda stromal TİL yoğunluğuna örnekler

Resim 2: İnvaziv meme karsinomunda heterojen stromal TİL yoğunluğuna sahip tümör örnekleri

Resim 3: İnvaziv meme karsinomunda tersiyer lenfoid yapılanma örnekleri

Resim 4: İnvaziv meme karsinomunda lenfoid agregat örnekleri

Resim 5: Çevre meme parankimindeki inflamasyon yoğunluğu örnekleri

Resim 6: İnvaziv meme karsinomunda CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranına örnekler

Resim 7: İnvaziv meme karsinomunda PD-1 ekspresyon örnekleri

Resim 8: İnvaziv meme karsinomunda LAG-3 ekspresyon örnekleri

Resim 9: İnvaziv meme karsinomunda TİM-3 ekspresyon örnekleri

Resim 10: DKİS morfolojik tiplerine örnekler

Resim 11: DKİS stromal TİL örnekleri

Resim 12: DKİS histolojik bulgular

Resim 13: DKİS'te stromal TİL'de PD-1 ekspresyonu ve CD3 ile belirlenen intratümöral TİL örmekleri

Resim 14: DKİS'te LAG-3 ekspresyon örnekleri

Resim 15: DKİS'te TİM-3 ekspresyon örnekleri

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: Tüm invaziv meme karsinom olgularında stromal TİL yoğunluğu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Grafik 2: Üçlü negatif meme karsinomu olgularında stromal TİL yoğunluğu ile genel sağkalım ve hastalıkısz sağkalım arasındaki ilişki

Grafik 3: HR negatif-HER2 pozitif meme karsinomu olgularında stromal TİL yoğunluğu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Grafik 4: HR pozitif meme karsinomu olgularında stromal TİL yoğunluğu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Grafik 5: Tüm invaziv meme karsinomu olgularında tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Grafik 6: İnvaziv meme karsinomu olgularında CD3 ile belirlenen intratümöral TİL ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Grafik 7: İnvaziv meme karsinomu olgularında intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Grafik 8: İnvaziv meme karsinomu olgularında stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Grafik 9: İnvaziv meme karsinomu olgularında intratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Grafik 10: İnvaziv meme karsinomu olgularında stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Grafik 11: İnvaziv meme karsinomu olgularında intratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Grafik 12: İnvaziv meme karsinomu olgularında stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

1. GİRİŞ

Meme kanseri kadınlarda görülen en sık kanserdir. Meme kanserinin tüm dünyada sıklığı giderek artmakta olup her türlü tedavi yöntemine rağmen bu kanserin her yıl ortalama 450.000 ölümün nedeni olduğu bildirilmektedir (1). Cerrahi tedavinin yanı sıra meme kanserinin tedavisi tümörün hormon reseptör pozitifliğine [HR (östrojen ve progestron reseptörleri-ER ve PR)], c-erbB-2 (HER2) ekspresyonuna ve Ki67 proliferasyon indeksine göre şekillenmektedir. Bu belirteçler tümörden alınan kor biyopside ya da mastektomi materyalinde patologlar tarafından immünhistokimyasal yöntemle değerlendirilmektedir. HR pozitif saptanan hastalarda tamoksifen gibi östrojen reseptör modülatörleri; c-erbB-2 ekspresyonu olan hastalarda trastuzumab gibi HER2 onkogenine karşı geliştirilmiş monoklonal antikorlar tedavide kullanılırken, HR ve HER2 negatif olan hastalarda (üçlü negatif tümörler) sitotoksik kemoterapötik ajanlar (paklitaksel, doksorubisin gibi) kullanılmaktadır. İmmünhistokimyasal boyanma profili ile şekillenen bu tedavilerde tümörün moleküler subtipinin farklı olması, hastanın ek hastalıkları ve kullanılan ilaçların yan etkileri nedeniyle her zaman istenilen sonuç elde edilememektedir (2). Bununla birlikte, son yıllarda inflamatuar yanıtın belirgin olarak eşlik ettiği tümörlerde (üçlü negatif, HER2 pozitif ve medüller karsinom gibi) immünoterapinin yolu açılmıştır. Bu nedenle de özellikle üçlü negatif meme kanseri hastalarında kemoterapinin olumsuz etkilerinden korunmak ve tedavinin etkinliğini artırmak için immünoterapötik

ajanlar ile kombinasyon ya da tek ajan şeklinde immünoterapötiklerin kullanımı konusunda çalışmalar başlamıştır (3-5).

İmmünoterapi nedir? Kişinin bağışıklık sistemini hedef alan antikorlar ile bu sistemin aktive edilmesini ve böylece immün sistemdeki hücrelerin tümör ile daha etkin savaşmasını sağlayan tedavi şeklidir. Bu alandaki güncel hedeflerden biri immün kontrol noktası inhibitörleridir. Bu inhibitör reseptörler bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde görevlidir. Yapılan çalışmalarda immün kontrol noktası reseptörlerinin tümörü infiltre eden immün hücrelerde yüksek düzeyde eksprese edildiği bulunmuştur. Bu reseptörler tümöre karşı savaşan T lenfosit yanıtlarını iyileştirmek için klinikte hedef olarak kullanılmaya başlanmıştır (6).

İmmün sistem kontrol noktalarından günümüzde en fazla araştırılanlar programlanmış hücre ölümü proteini-1 (PD-1) ve reseptörü (PD-L1) ile T-lenfosit ilişkili antijen-4 (CTLA-4)'tür. Yeni yapılan çalışmalarda araştırılan reseptörler ise lenfosit aktivasyon gen (LAG-3), T hücre immünglobulin ve müsin “domain” içeren gen 3 (TIM-3), T hücre immünglobulin ve İmmün reseptör tirozin-tabanlı inhibisyon motif (ITIM) domain (TIGIT)'dir. LAG-3, TIM-3 ve TIGIT özellikle düzenleyici (regulatuar) T-hücrelerinde yüksek düzeyde eksprese edilen; T-hücre çoğalmasında ve aktivasyonunda negatif role sahip reseptörlerdir (6).

İnsan vücudunda tümör oluştuğunda bağışıklık sistemi tümördeki antijenleri tanıyıp onu yok etmek için çalışmaya başlar. Bu amaçla CD4+ yardımcı T-hücreleri, CD8+ sitotoksik T-hücreleri ve doğal öldürücü (NK) hücreler tümörlü alana gelip tümör hücreleriyle etkileşime geçerler. Bununla birlikte aynı zamanda bu immün yanıt hem vücudumuz, hem de tümörden

salgılanan çeşitli kemokinler ve tümörde eksprese edilen çeşitli reseptörler aracılığıyla sınırlandırılmaya da çalışılır. Sınırlandırma ve inhibisyon, immün kontrol noktası inhibitörleri sayesinde gerçekleşir. Bu inhibitör reseptörlerin (PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3 ve TIGIT) yüksek düzeyde eksprese edilmesi sonucunda tümörlü alana giden T-lenfositler susturulmuş, bağışıklık sistemi baskılanmış olur (6-8).

İmmün kontrol noktası inhibitör reseptörlerinin etkinliği immün hücre infiltrasyonu içeren tümörlerde araştırılmaktadır. Araştırma yapılan tümörlerde ilk belirlenmesi gereken parametre tümörü infiltre eden lenfosit (TİL) yoğunluğudur. Sonrasında ise bu lenfositler üzerindeki ekspresyonlar değerlendirilmektedir. Tedavi için hedef olarak kullanılan bu reseptörler aynı zamanda prognoz ile de yakından ilişkili bulunmuştur. Meme kanserinde TİL yoğunluğunun neoadjuvan (ameliyat öncesi) kemoterapi yanıtı yanı sıra adjuvan (ameliyat sonrası) kemoterapi alacak hastaların prognozu ile de ilişkili olduğu bildirilmektedir. Ayrıca TİL'lerin in situ tümörün invaziv tümör haline dönüşmesinde de etkili olduğu düşünülmektedir (9, 10). İmmün sistem hücrelerinin memenin benign lezyonlarındaki atipi oluşumundan başlayarak invaziv karsinoma kadar olan süreçte artan yoğunlukta tümöre eşlik ettiği bilinmektedir (10).

Yakın zamanda, PD-1/PD-L1'in, melanom ve akciğer kanserinde kemoterapi yanıtı ile ilişkili olduğu ve bu reseptörlere karşı geliştirilen ilaçların TİL'leri uyarabildiği gösterilmiştir. Ancak, hastaların %25'inden azının anti-PD-1/PD-L1 tedavisinden yarar gördüğü bildirilmiştir (7). İmmün kontrol noktası inhibitör reseptörlerinin sadece birini hedef alan tedaviler immün sistemin

karmaşık yapılanması nedeniyle yetersiz kalabilmektedir. Bu tedavinin tek başına yetersiz kalması nedeniyle, bu ilaçların diğer immün kontrol noktası inhibitörleri ile kombine kullanımı gündeme gelmiştir (5).

Bu tedaviler toplumun büyük kısmını ilgilendiren bir sağlık problemi olan meme kanserinde kapsamlı çalışmalar ile henüz değerlendirilmemiştir. Bu nedenle, immünoterapiden yarar sağlayabilecek hastaların doğru seçilebilmesi için meme kanserinde immün kontrol noktası inhibitör reseptörlerinin ve TİL'lerin rolünü ve ilişkisini araştıran çalışmalara, ihtiyaç duyulmaktadır (7).

Son yıllarda yapılan az sayıda çalışmada neoadjuvan kemoterapi alan hastalarda LAG-3'ün yüksek ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu, TIM-3'ün üçlü negatif meme kanserinde bağımsız olumlu bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (7, 11, 12). Ancak, TIGIT ile ilgili çalışmalar henüz oldukça sınırlı olup meme kanserinde bu üç reseptörün prognoz ile ilişkisinin birlikte değerlendirildiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnvaziv Meme Karsinomu

2.1.1. Epidemiyoloji ve etyoloji

Dünya çapında yapılan kanser istatistik çalışmalarında kadınlarda görülen en sık kanserin %24 ile meme kanseri olduğu ortaya koyulmuştur. Aynı zamanda meme kanseri kadınlardaki kanser nedenli ölümlerin de en sık nedenidir. 2018 yılında 2.1 milyon yeni meme kanseri tanısı ve meme kanseri nedenli 627.000 ölümün olduğu tahmin edilmektedir (13). Düşük ve orta gelir düzeyine sahip ülkelerde meme kanseri insidans hızı giderek artmakta iken yüksek gelir düzeyine sahip ülkelerde azalmaktadır. Bunun nedeni, postmenopozal hormon replasman tedavisinin meme kanseri riskini artırdığının anlaşılması ile birlikte yüksek gelir düzeyine sahip ülkelerde bu tedavinin kullanımının azalması olarak bildirilmektedir (14). Meme kanserine yönelik tarama yapılan ve yapılmayan toplumlarda meme kanseri alttiplerinin görülme sıklığı farklıdır. Yapılan çalışmalarda tarama yapılmayan toplumlarda üçlü negatif meme kanserinin daha yüksek oranda görüldüğü bildirilmektedir (15).

Meme kanseri hem kalıtsal hem de çevresel faktörler ile ilişkisi bildirilmiş multifaktöriyel bir tümördür. Hayvan kökenli yağ ve proteinden zengin yüksek kalorili beslenme, hareketsiz yaşam tarzı, obezite yanı sıra erken menarş, geç menopoz, ilk gebelik yaşının geç olması, gebelik sayısının ve emzirme döneminin

az olması meme kanseri riskini artıran faktörlerdir. Epidemiyolojik çalışmalar, eksojen seks steroidi (ER ve PR) kullanımının meme kanseri gelişmesinde önemli role sahip olduğunu göstermektedir. Alkol, özellikle HR pozitif meme kanseri riskini artırırken, sigara ile meme kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (15). Ailesel meme kanseri olan hastalarda 2 adet gen tanımlanmıştır: *BRCA1* ve *BRCA2*. Bu genler, yüksek penetransa sahip genler olup normal popülasyona göre "germline" mutasyona sahip olanlarda meme kanseri olma riskini belirgin olarak artırmaktadır. *BRCA1* "germline" mutasyonu üçlü negatif meme karsinomu, *BRCA2* "germline" mutasyonu ise HR pozitif meme karsinomu ile ilişkilendirilmektedir. *BRCA1* mutasyonu olan meme tümörlerinin sporadik olgulara göre daha yüksek derece ve daha yüksek proliferatif aktiviye sahip olduğu bildirilmektedir (15, 16).

2.1.2. Patogenez

Meme tümörleri östrojen reseptör ekspresyonlarına göre moleküler olarak birbirinden farklı iki yolaktan gelişmektedir. Birinci yani östrojen pozitif yolaktan gelişen tümörler HR eksprese ederken, HER2 aşırı ekspresyonu göstermez ya da bazal belirteçleri eksprese etmezler. Bunun yanı sıra bu yolaktan gelişen tümörlerin büyük çoğunluğu düşük ya da orta dereceli tümörlerdir. İkinci yolak olan östrojen negatif yolaktan gelişen tümörlerde ise hücresel proliferasyon ve hücre döngüsü ilişkili genlerde artmış mutasyon mevcut olup, bu tümörlerin orta ya da yüksek dereceli olduğu bildirilmektedir (15, 17).

2.1.3. Klinik özellikler

Meme kanseri için tarama yapılmayan toplumlarda memede ele gelen kitle en sık klinik bulgudur. Bunun yanı sıra hastalarda meme başı akıntısı, meme derisinde çekinti, meme şeklinin değişmesi ya da meme derisinde renk değişikliği gibi bulgular oluşabilir. İnflamatuar meme hastalığı klinik bir terminoloji olup meme derisinin ekzematöz kızarıklığı ve yaygın ödem ile seyreden bir durumdur. Bütün bu bulgular memenin benign lezyonlarında da görülebileceği için görüntüleme yöntemleri ve biyopsi ile ayırıcı tanının yapılması gereklidir (15).

Meme kanseri taraması tümörlerin daha küçük çapta ve daha erken evrede tespit edilmesini sağlamaktadır. Mamografi ile yapılan bu taramalarda en sık bulgu spiküle kitle varlığıdır. Bu kitleye kalsifikasyon da eşlik edebilir. Bazen meme tümörleri mamografik olarak sadece mikrokalsifikasyon kümesi şeklinde de karşımıza çıkabilmektedir. Daha genç hastalarda görüntüleme yöntemi olarak ultrason, daha komplike vakalarda manyetik rezonans görüntüleme kullanılmaktadır (15, 16).

Fizik muayene, görüntüleme yöntemleri ya da biyopsi tanısal açısından uyumsuzluk gösterirse biyopsi tekrarı ya da kuşkulu kitlenin eksizyonu gerekmektedir (15).

2.1.4. Morfolojik sınıflama

Meme karsinomları meme duktuslarından gelişen malign epitelyal tümörlerdir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)' nün 2019 yılında yayımlanan meme

tümörleri klasifikasyonu kitabındaki invaziv meme karsinomu sınıflaması Tablo1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: DSÖ invaziv meme karsinomu sınıflaması (15).

İnvaziv meme karsinomu
İnvaziv meme karsinomu, spesifiye edilemeyen tip
Mikroinvaziv karsinom
İnvaziv lobüler karsinom
Tübüler karsinom
Kribriform karsinom
Müsinöz karsinom
Müsinöz kistadenokarsinom
İnvaziv mikropapiller karsinom
Apokrin diferansiasyon gösteren karsinom
Metaplastik karsinom

DSÖ tümör sınıflamasının yer aldığı mavi kitapta bir önceki sınıflamadan farklı olarak medüller karsinom, onkositik karsinom, lipitden zengin karsinom, glikojenden zengin şeffaf hücreli karsinom ve sebase karsinom tümör paterni olarak kabul edilmiştir ve invaziv meme karsinomu spesifiye edilemeyen tip başlığı altında anlatılmaktadır (15).

İnvaziv duktal karsinom teriminin, invaziv meme karsinomu spesifiye edilemeyen tip ile eşanlamlı olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (15).

2.1.5. Moleküler sınıflama

Diğer birçok kanserde olduğu gibi meme kanserinde de tümörün klinik davranışını tahmin edebilmek ve tedaviyi daha doğru şekilde yönlendirebilmek amacıyla moleküler çalışmalar yapılmaktadır. Meme tümörlerinde moleküler sınıflama terminolojisi ilk defa 2000 yılında Perou ve Sorlie'nin yaptığı bir

çalışma ile ortaya atılmıştır (18). Bu çalışma ve sonraki birçok gen analiz çalışması sonucunda dört ana moleküler subtip belirlenmiştir: Lüminal A, lüminal B, HER2-baskın ve bazal benzeri. Bu moleküler subtiplerin yanı sıra normal meme benzeri grup ve claudin düşük sınıf da tanımlanmaktadır (2, 15).

Lüminal A sınıfındaki tümörler ER ve PR gibi lüminal ilişkili genleri yüksek düzeyde eksprese ederken proliferasyon ve hücre döngüsü ilişkili genleri düşük düzeyde eksprese etmektedir. Lüminal B sınıfındaki tümörlerde ise lüminal A'ya göre daha yüksek oranda proliferasyon ve hücre döngüsü ilişkili genlerin eksprese edildiği; ancak, progesteron reseptörünün düşük düzeyde eksprese edildiği gösterilmiştir. ER lüminal B tümörlerde de lüminal A tümörlere benzer şekilde aynı oranda eksprese edilmektedir (2).

HER2-baskın sınıf HER2 ilişkili ve proliferasyon ilişkili genleri yüksek düzeyde, lüminal genleri orta düzeyde, bazal ilişkili genleri düşük düzeyde eksprese etmektedir. Yapılan çalışmalarda DNA düzeyinde en yüksek mutasyon içeren sınıf olduğu bildirilmektedir (2).

Bazal benzeri sınıfta proliferasyon ve derinin bazal tabakasında yer alan keratinler yüksek düzeyde, HER2 ilişkili genler orta düzeyde ve lüminal genler düşük düzeyde eksprese edilmektedir. Bu sınıf, DNA düzeyinde ikinci en yüksek mutasyon içeren sınıftır (2).

Bu sınıflamayı standartize edebilmek ve tekrarlanabilirliğini artırabilmek için en az 50 gen içeren analizler önerilmektedir (örneğin, *PAM50 gene signature*). Bununla birlikte pratikte, zaman ve maliyet kısıtlamaları nedeni ile bu

moleküler sınıflamanın yerine geçebilecek immünhistokimya temelli bir sınıflama uygulanmaktadır (Tablo 2) (15, 19).

Tablo 2: İmmünhistokimya tabanlı moleküler sınıflama (15, 19).

Lüminal A benzeri
• ER: Pozitif
• PR: Pozitif
• HER2: Negatif
• Ki67 proliferasyon indeksi: Düşük
Lüminal B benzeri (HER2-negatif)
• ER: Pozitif
• HER2: Negatif
• Aşağıdakilerden en az biri:
o Ki67 proliferasyon indeksi: Yüksek
o PR: Negatif ya da düşük
Lüminal B benzeri (HER2-pozitif)
• ER: Pozitif
• HER2: Aşırı eksprese ya da amplifiye
• Ki67 proliferasyon indeksi: Düşük ya da yüksek
• PR: Pozitif ya da negatif
HER2-pozitif (Lüminal olmayan)
• HER2: Aşırı eksprese ya da amplifiye
• ER: Negatif
• PR: Negatif
Üçlü negatif
• ER: Negatif
• PR: Negatif
• HER2: Negatif

Ancak, immünhistokimyasal olarak ER, PR, HER2 ve Ki67 ile oluşturulan bu sınıflama ile DNA, RNA ve protein düzeyinde analizler yapılarak oluşturulan sınıflandırma bire bir örtüşmemektedir. Yapılan bir çalışmada immünhistokimyasal olarak üçlü negatif grupta yer alan tümörlerin PAM50 moleküler sınıflamasına göre %86,1'i bazal benzeri grupta iken; %9,6'sı HER2-baskın, %3,2'si lüminal B ve %1,6'sı lüminal A grupta yeralmaktadır. Bu

uyuşmazlığın en yüksek olduğu grubun immünhistokimyasal lüminal B grubu olduğu gösterilmiştir (PAM50'ye göre: %51,1 lüminal B, %34,1 lüminal A, %11 HER2-baskın, %3,8 bazal benzeri) (2).

2.1.6. İnvaziv duktal karsinomların makroskobik ve mikroskobik özellikleri

İnvaziv duktal karsinomların çoğu göz ile (makroskobik olarak) görülebilen, düzensiz infiltratif sınırlı, kirli beyaz renkte, sert kıvamlı tümöral lezyonlardır. Neoadjuvan tedavi alan hastalarda tümör daha küçük çapta ve daha yumuşak kıvamlı olarak izlenebilir; hatta, fibröz doku şeklinde karşımıza çıkabilir. Makroskobik incelemede tümörün odak sayısı, çapı, deri ve fasya ile olan ilişkisi dikkatli bir şekilde incelenmelidir (15, 16). Tümörün tek bir odak şeklinde mi, yoksa birden fazla odak şeklinde mi olduğu; deri üzerinde satellit tümör nodülü oluşturup oluşturmaması tümör evrelemesi açısından önemlidir (15).

Morfolojik açıdan bakıldığında mikroskopik olarak meme karsinomlarında tümörün %90'ı spesifik bir subtipten oluşursa (invaziv lobüler, tübüler karsinom gibi) tümör o subtipin ismini almaktadır. Spesifik bir subtip özelliği taşımayan meme karsinomları en sık görülen meme tümörleridir ve bu tümörler invaziv duktal karsinom olarak isimlendirilmektedir (15).

İnvaziv duktal karsinomlar myoepitelyal hücre tabakası içermeyen, memenin lüminal hücrelerinden köken alan malign epitelyal tümörlerdir (16). Tümör değişen derecelerde tübül ve bez formasyonları, kordonlar, kümeler ya da adalar tarzında dizilim gösterebilmekte olup nükleus ve sitoplazma özellikleri

oldukça heterojendir (15, 16). Geniş stroma içeren tümörlerde stromal alan selüler fibroblastik proliferasyonla karakterize olabileceği gibi ileri düzeyde hiyalizine ve hiposelüler görünümde de olabilmektedir. Bazı tümörler stromadan fakir tümörler olabileceği gibi bazı tümörlere değişen oranlarda lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu eşlik edebilmektedir (15).

İnvaziv tümörlere %80 oranında duktal karsinoma in situ (DKİS) eşlik etmektedir. DKİS, duktus içinde sınırlı malign epitelyal hücre proliferasyonu olup myoepitelyal hücre tabakasını ve bazal membranı aşmamış tümörleri ifade etmektedir (15, 16).

İnvaziv duktal karsinomda tümörün nükleer, sitoplazmik ve stromal özellikleri bakımından çeşitli morfolojik paternler tanımlanmaktadır (Tablo 4). DSÖ'nün 2019 meme tümörleri kitabında patern olarak isimlendirilen bu morfolojiler önceki baskılarda ayrı birer invaziv karsinom tipi olarak yer almaktaydı. Fakat yapılan çalışmalarda, bu tömörlerin aslında bir morfolojik yelpazenin farklı uçlarını ifade eden tümörler oldukları anlaşıldığı için "patern" olarak isimlendirmenin daha doğru olduğu düşünülmüştür (15).

Tablo 3: İnvaziv meme karsinomu, spesifiye edilemeyen tip morfolojik paternleri (15).

Medüller patern
Nöroendokrin diferansiasyon gösteren invaziv karsinom
Osteoklast benzeri stromal dev hücreler içeren karsinom
Pleomorfik patern
Koryokarsinomatöz patern
Melanositik patern
Onkositik patern
Lipitten zengin patern
Glikojenden zengin şeffaf hücreli patern
Sebase patern

Medüller patern, stromasında yüksek oranda TİL içermesi bakımından önemlidir. Bu patern önceki yıllardaki DSÖ tümör sınıflamasında yer alan medüller karsinom, atipik medüller karsinom ve medüller karsinom özellikleri gösteren karsinom tanılarını kapsamaktadır (15). Medüller karsinom tüm invaziv meme karsinomlarının %2'sini oluşturmaktadır (20). Morfolojik olarak 5 özelliği tanımlanmış olup (sinsityal büyüme paterni, düzgün tümör sınırı, orta düzeyde ya da belirgin lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu, az diferansiye özellik gösteren nükleer derece ve yüksek mitoz, tübül formasyonu içermemesi) bu özelliklerin hepsini sağlamayan tümörler atipik medüller karsinom ve medüller karsinom özellikleri gösteren karsinom olarak tanı almaktaydı (21). Bu tümörler, sıklıkla immünhistokimyasal olarak üçlü negatif tümörler (ER, PR ve HER2 negatif) olup bazal belirteçleri eksprese edebilmektedir (15). Aynı zamanda, moleküler çalışmalar medüller karsinomun büyük bir kısmının bazal benzeri fenotipte olduğunu göstermektedir (20). Ancak bazal benzeri fenotipteki diğer meme tümörlerinin aksine medüller karsinom iyi prognozlu bir tümördür. Bu da stromasındaki yüksek TİL ile ilişkilendirilmiş olup medüller karsinomun aslında yüksek TİL içeren bazal benzeri fenotipte bir invaziv duktal karsinom olduğu ortaya koyulmuştur. Bu nedenle artık bu tümör medüller patern olarak isimlendirilmektedir (15, 20).

Meme karsinomlarının değişken morfolojisinin bir sebebi de farklı derecelerde karşımıza farklı histolojik özellikler ile çıkmalarıdır. Tüm meme karsinomlarında prognostik önemi olan Nottingham histolojik skorlaması ile derece tayini yapılması önerilmektedir. Bu skorlama sisteminde 3 parametre

değerlendirilmektedir: Tübül oluşumu, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısı (Tablo 3)(15, 22).

Tablo 4: Meme karsinomu histolojik derecelendirme sistemi (15)

Özellikler	**Skor**
Tübül ve bez oluşumu	
Tümörün büyük çoğunluğu (> %75)	1
Orta düzey (%10-75)	2
Az ya da yok (< %10)	3
Nükleer pleomorfizm	
Küçük, düzenli, monoton hücreler	1
Orta düzeyde büyüklük ve değişkenlik	2
Belirgin değişkenlik	3
Mitoz sayısı	
Mikroskop görme alanına bağlı olarak değişken alt ve üst sınırlar mevcuttur.	1-3
Toplam skor	**Tümör derecesi**
Tübül oluşumu, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısından alınan skorlar toplanır. Buna göre;	
3-5	Derece 1
6 ya da 7	Derece 2
8 ya da 9	Derece 3

Tübül oluşumu değerlendirilirken tümöre mikroskopta en küçük büyütmeden bakılıp tüm tümör değerlendirilmelidir. Açık bir lümene sahip bez yapıları tübül olarak kabul edilmelidir. Tübül oluşumunu skorlamak için sınırlar %75 ve %10'dur (Tablo 3'e bakınız) (15).

Nükleer pleomorfizm, tümör nükleusunun çapı ve şeklinin normal meme dokusundaki epitelyal hücreler ile karşılaştırılması ile skorlanmaktadır. Skorlamada pleomorfizmin en yüksek olduğu alan değerlendirilmelidir (15).

Mitoz sayısı için uygun sınırlar her mikroskobun görme alanı için hesaplanmış olup DSÖ 2019 meme tümörleri kitabında tablo halinde belirtilmektedir. Tümörde mitoz sayılırken mitozun en fazla olduğu alan ilk alan olarak seçilip bu alan etrafından devam ederek 10 büyük büyütme alanı (40'lık objektif alanı) sayılmalıdır (15).

Toplam skora göre 3 ile 5 arasındaki puanlar derece 1 (iyi diferansiye), 6 ya da 7 puan derece 2 (orta derecede diferansiye), 8 ya da 9 puan alanlar ise derece 3 (az diferansiye) olarak raporlanmalıdır. Hem kor biyopsilerde hem de rezeksiyon materyallerinde bu skorlamanın yapılması tedaviyi yönlendirici olması açısından önemlidir ve önerilmektedir (15).

2.1.7. Prognostik faktörler

İnvaziv meme karsinomlarında hasta yaşı, tümör evresi, tümor derecesi, materyalde cerrahi sınırların durumu, lenfovasküler invazyon, tümörün ER, PR, HER2 ekspresyonu, ki67 indeksi, TİL gibi birçok prognostik faktör mevcuttur. Bu faktörler aynı zamanda tedaviyi yönlendirici olarak da kullanılmaktadır (15).

Meme kanseri 35 yaş altı kadınlarda nadiren görülmekte olup bu yaş grubunda histolojik olarak daha kötü prognostik faktörlere sahip tümörler şeklinde ortaya çıkmaktadır (15). Yapılan çalışmalarda genç hastalarda, meme tümörlerinin tanı anında daha agresif özelliklere sahip olduğu; yaşlı hastalarda ise, hastalık ilişkili ölümlerin daha yüksek olduğu bildirilmektedir (23).

Meme kanserinde önemli prognostik faktörlerden biri tümörün evresidir. Erken evre hastalarda 5 yıllık sağkalım yaklaşık %95 iken, metastatik hastalıkta

bu oran %25'lere kadar düşmektedir. DSÖ, TNM evreleme sistemi kullanımını önermektedir. Bu sisteme göre hem klinik hem de patolojik evrelemede T tümör çapı, göğüs duvarı ve deri tutulumuna göre değerlendirilmekte; N, klinik sınıflamada metastatik lenf nodunun seviyesi ve özellikleri ile ilişkiliyken, patolojik sınıflamada temel olarak lenf nodu sayısına göre değerlendirilmekte; M ise uzak metastazı ifade etmektedir (Tablo 5, 6 ve7) (15). Cerrahi sınırların değerlendirilmesinde invaziv tümör için tümörün cerrahi sınır boyasına değmesinin, DKİS için ise 2 mm'den yakın olmasının rekürrens ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Patolojik TNM sınıflaması yapılırken T kategorisi ile birlikte cerrahi sınırların durumu da belirtilmelidir (15).

Tablo 5: TNM Klinik Sınıflama (15)

T-Primer Tümör	
Tx	Primer tümör değerlendirilemedi
T0	Primer tümör yok
Tis	Karsinoma in situ
Tis (DKİS)	Duktal karsinoma in situ
Tis (LKİS)	Lobüler karsinoma in situ
Tis (Paget)	İnvaziv ya da in situ karsinom olmaksızın meme başının Paget hastalığı
T1	2 cm ve daha küçük tümör çapı
Tmi	Mikroinvazyon- 0,1 cm çapta ya da daha küçük tümör
T1a	Çapı 0,1 cm'den büyük olan, 0,5 cm'den büyük olmayan tümörler
T1b	Çapı 0,5 cm'den büyük olan, 1 cm'den büyük olmayan tümörler
T1c	Çapı 1 cm'den büyük olan, 2 cm'den büyük olmayan tümörler
T2	Çapı 2 cm'den büyük olan, 5 cm'den büyük olmayan tümörler
T3	Çapı 5 cm'den büyük tümörler
T4	Tümör çapından bağımsız olarak göğüs duvarına doğrudan invazyon ya da meme derisi tutulumu
T4a	Göğüs duvarı tutulumu (Sadece pektoralis kası tutulumu sayılmıyor)
T4b	Deride ülserasyon, ipsilateral satellit deri nodülleri ya da deride ödem
T4c	4a ve 4b'nin beraberliği
T4d	İnflamatuar meme karsinomu
N- Bölgesel Lenf Nodları	
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	İpsilateral, mobil, level I, II aksiller lenf nodu metastazı / metastazları
N2	İpsilateral, level I, II aksillada klinik olarak fikse lenf nodu metastazı / metastazları ya da aksillada metastaz yokken ipsilateral internal mammarian lenf nodunda metastaz varlığının klinik olarak saptanması
N2a	İpsilateral, level I, II aksillada klinik olarak fikse lenf nodu metastazı / metastazları
N2b	Aksillada metastaz yokken ipsilateral internal mammarian lenf nodunda metastaz varlığının klinik olarak saptanması
N3	İpsilateral infraklaviküler (level III aksiller) lenf nodu metastazı / metastazları ya da ipsilateral level I, II aksiller lenf nodu metastazı ile birlikte ipsilateral internal mammarian lenf nodunda metastaz varlığı ya da ipsilateral supraklaviküler lenf nodu metastazı
N3a	İpsilateral infraklaviküler (level III aksiller) lenf nodu metastazı / metastazları
N3b	İpsilateral level I, II aksiller lenf nodu metastazı ile birlikte ipsilateral internal mammarian lenf nodunda metastaz varlığı
N3c	İpsilateral supraklaviküler lenf nodu metastazı
M-Distal Metastaz	
M0	Distal metastaz yok
M1	Distal metastaz

Tablo 6: pTNM Patolojik Sınıflama (15)

pT- Primer Tümör	
Klinik sınıflamadaki T kategorisi ile aynı (cerrahi sınırlar belirtilmelidir)	
pN- Bölgesel Lenf Nodları	
pNx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi
pN0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok * İzole tümör hücreleri içeren lenf nodları metastatik lenf nodu olarak değerlendirilmemeli. İzole tümör hücreleri içeren lenf nodları metastatik tümör çapı 0,2 mm'den küçük olan ya da bir kesitte 200'den az sayıda tümör hücresi içeren lenf nodlarıdır.
pN1	İpsilateral aksiller bölgede 1-3 adet metastatik / mikrometastatik lenf nodu ya da klinik olarak farkedilmeyen sentinal lenf nodu örneklenesi sonucu ortaya çıkan ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı
pN1mi	Mikrometastaz (Metastaz çapı 0,2 mm'den büyük ve / veya 200 hücreden fazla metastaz olmalı, tümör çapı 2 mm'den büyük olmamalı)
pN1a	İpsilateral aksiller bölgede 1-3 adet metastatik lenf nodu (en az bir lenf nodundaki metastaz 2 mm'den büyük olmalı)
pN1b	Metastatik ipsilateral internal mammarian lenf nodu (klinik olarak farkedilmeyen)
pN1c	pN1a ve pN1b'nin birlikteliği
pN2	İpsilateral aksiller bölgede 4-9 adet metastatik lenf nodu ya da aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın klinik olarak farkedilen ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı
pN2a	İpsilateral aksiller bölgede 4-9 adet metastatik lenf nodu (en az bir lenf nodundaki metastaz 2 mm'den büyük olmalı)
pN2b	Aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın klinik olarak farkedilen ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı
pN3	
pN3a	İpsilateral aksiller bölgede 10 adet veya daha fazla metastatik lenf nodu (en az bir lenf nodundaki metastaz 2 mm'den büyük olmalı) ya da infraklaviküler lenf nodu / level III aksiller lenf nodunda metastaz
pN3b	İpsilateral aksiller lenf nodu metastazı ve klinik olarak farkedilen ipsilateral internal mamamrian lenf nodu metastazı ya da 3'ten fazla ipsilateral aksiller lenf nodu metastazı ve klinik olarak farkedilmeyen sentinel lenf nodu biyopsisi ile anlaşılan ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı
pN3c	İpsilateral supraklaviküler lenf nodu metastazı
pM- Distal Metastaz	
pM1	Mikroskobik olarak doğrulanan distal metastaz

Tablo7: Meme kanserinde evreleme sistemi (15)

Evre	**T**	**N**	**M**
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre 1A	T1	N0	M0
Evre 1B	T0, T1	N1mi	M0
Evre IIA	T0, T1 T2	N1 N0	M0 M0
Evre IIB	T2 T3	N1 N0	M0 M0
Evre IIIA	T0, T1, T2 T3	N2 N1, N2	M0 M0
Evre IIIB	T4	N0, N1, N2	M0
Evre IIIC	Herhangi bir T	N3	M0
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

Klinik evrelemede yer almayan, ancak özellikle lenf nodu tutulumu olmayan hastalarda önemli bir prognoz göstergesi olan diğer bir faktör de lenfovasküler invazyondur (15). Yapılan bir çalışmada meme kanserine özgü sağkalım ve uzak metastazsız sağkalım ile lenfovasküler invazyon arasında güçlü bir ilişki bulunmuş ve lenfovasküler invazyonun bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (24).

Nottingham derecelendirme sistemi ile belirlenen histolojik derece (Tablo 4), invaziv meme kanseri olan hastalarda güçlü bir prognostik parametre olup bu derecenin TNM evreleme sistemi ile birlikte değerlendirmeye alınması önerilmektedir (25).

Hem tedaviyi yönlendirici hem de hastalık prognozu hakkında güçlü bir bilgi sağlayıcı diğer bir faktör ise tümörün ER, PR ve HER2 ekspresyonudur. Birçok uluslararası meme kılavuzlarında (St Gallen International Breast Cancer Expert Panel, the European Society for Medical Oncology (ESMO), American Society of Clinical Oncology (ASCO), National Comprehensive Cancer Network (NCCN)) ER, PR ve HER2'nin bağımsız prognostik bir faktör olduğu kabul edilmiş olup patoloji raporlarında mutlaka yeralması gerektiği savunulmaktadır (15, 26, 27).

ER ekspresyonu meme kanserli hastalarda endokrin tedaviyi belirlemek için kullanılan standart belirteçtir. ASCO, meme tümörlerine ilişkin yeni kılavuzunda immünhistokimyasal olarak ER ile tümörün %1'i ve daha fazlasında nükleer boyanma olması durumunda tümörün ER pozitif olarak raporlanmasını önermektedir. ER ekspresyonu %1'in altında olan tümörlerin negatif kabul edilmesi gerektiği ve bu hastaların endokrin tedaviden fayda sağlamadığı bildirilmektedir. Bunun yanı sıra bu kılavuzda %1-10 ER pozitifliği düşük ekspresyon olarak tanımlanmış olup bu hastalarda prognozun yüksek ER ekspresyonu olan hastalara göre daha kötü olduğu vurgulanmaktadır (28). PR için de benzer sınırların kullanılması önerilmektedir. ER pozitif hastalarda PR ekspresyonun prognostik olduğu bildirilmekte olup bu hasta grubunda düşük PR ekspresyonu kötü prognoz ile ilişkilendirilmektedir (15, 28).

HER2 aşırı ekspresyonu meme kanserinde agresif biyolojik davranış ve kötü prognozla ilişkilidir. HER2 aşırı ekspresyonu olması durumunda hasta HER2'ye yönelik geliştirilen tedaviden fayda sağlamaktadır. Tedaviyi

şekillendirmesi açısından büyük öneme sahip olduğu için bu test de klinisyen talep etmeden önce patologlar tarafından rapora eklenmelidir (15).

Ki67 proliferasyon indeksi rutin kullanımında hastalığın biyolojik davranışı konusunda ve tedavi seçiminde önemli rol oynayan bir belirteçtir. Buna karşın yapılan uluslararası çalışmalarda düşük ve yüksek riski ayırt etmek için bir üst sınır belirlenememiştir. Ki67'nin özellikle ER pozitif hastalarda yüksek risk grubunu öngörebilmek için diğer parametreler ile beraber kullanımı önerilmektedir (15).

Androjen reseptörü (AR) rutin olarak sık kullanılmayan bir belirteç olmasına karşın klinik çalışmalarda prognostik önemi araştırılmaktadır. Son yapılan çalışmalardan birinde immünhistokimyasal olarak AR ekspresyonun ve AR mRNA düzeyinin hastalıksız sağkalım ve total sağkalım ile ilişkili olduğu ve AR'nin pozitif prognostik bir faktör olduğu bildirilmiştir (29).

Son yıllarda en çok üzerinde çalışılan konulardan biri de tümörlerin gen ekspresyon analizleridir. Meme kanseri için de moleküler sınıflar ve bu sınıfların alt grupları araştırılmaktadır (30). Maliyet açısından etkin olmadığı için rutin kullanıma geçilemese de yapılan araştırmalar; moleküler çalışmaların, risk gruplarını işaret etmesi açısından önemli olduklarını göstermektedir. Bazı ülkelerde genetik çalışmalar özellikle ER pozitif, HER2 negatif tümör grubunda kemoterapi seçimini yönlendirmek için yüksek risk grubunu belirlemek amacı ile kullanılmaktadır. Gen ekspresyon prolifi düşük risk grubunu işaret eden hastalarda sadece endokrin tedavi, yüksek risk grubunu işaret eden hastalarda ise endokrin tedavi ve kemoterapi uygulanmaktadır. Bu risk gruplarını belirlemek

için Oncotype DX, MammaPrint ve Prosigna (PAM50) gibi farklı gen gruplarından oluşan gen analiz sistemleri mevcuttur (15).

2.1.8. Tedavi

Meme kanserinin tedavisi lokal ve sistemik olmak üzere ikiye ayrılır. Lokal tedaviler cerrahi eksizyon ve radyoterapi iken sistemik tedaviler kemoterapi, endokrin tedavi, hedefe yönelik tedaviler ve immünoterapidir. Bu tedavilerin seçimi için temel olarak tümörün ER, PR ve HER2 ekspresyonu ve hastalığın evresi kullanılmaktadır (31).

Endokrin tedavilerin içinde ER modülatörleri (tamoksifen), aromataz inhibitörleri (anastrozol) ya da GnRH agonistleri yer almaktadır (31). Hedefe yönelik tedavi seçenekleri HER2'ye karşı geliştirilen antikorlar (trastuzumab, pertuzumab, lapatinib), CDK4/6 inhibitörleri (palbociclib, ribociclib, abemaciclib), mTOR inhibitörü (everolimus) ve PARP inhibitörlerinden (olaparib, talazoparib) oluşmaktadır (32, 33). Kemoterapötik ajan olarak antrasiklinler ve taksanlar tedavinin temelini oluşturmaktadır (31). Son yıllarda immünoterapötik olarak kanser aşıları, immün kontrol noktası reseptör inhibitörleri (CTLA4 inhibitörleri, PD-1/PD-L1 yolağı inhibitörleri, LAG3 inhibitörleri) ve immün hücre sayısını artırmaya yönelik tedaviler araştırılmaktadır (34).

Tedavi seçiminde meme kanserinin hangi evrede saptandığı önem taşımaktadır. Erken evre hastalıkta meme koruyucu cerrahi ve radyoterapi ya da radikal mastektomi ve / veya radyoterapi standart lokal tedavilerdir. Bu aşamadan sonra, temel olarak tümör HR pozitif ise endokrin tedavi ve kemoterapi; HER2

pozitif ise HER2'ye karşı geliştirilmiş antikorlar ve kemoterapi, üçlü negatif ise sadece kemoterapi ile sistemik tedavi kullanılmaktadır. İleri evre hastalarda (distal/uzak metastaza sahip) tedavinin temelini sistemik kemoterapi ve tümörün ekspresyon profiline göre diğer sistemik tedaviler oluşturmaktadır (31).

Yukarıda bahsedilen adjuvan tedaviler dışında ayrıca meme kanserinde tümör evresini düşürmek amacıyla (özellikle üçlü negatif ve HER2 pozitif tümörlerde) neoadjuvan tedaviler de uygulanmaktadır. Neoadjuvan sistemik kemoterapinin üçlü negatif ve HER2 pozitif tümörlerde patolojik tam yanıt ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. HR pozitif olan tümörlerde ise ameliyat öncesi kemoterapi minimal yanıt oluşturmakta olup bu tümör grubunda neoadjuvan endokrin tedavilerin yararı araştırılmaktadır. Ki67 düzeyi ve preoperatif endokrin prognostik indeks skorunun neoadjuvan tedavi seçiminde kullanılması tavsiye edilmektedir (35).

Her ne kadar maliyet etkin olmasa da güncel tedavi kılavuzlarında yer alan, gelişen teknoloji ile birlikte bazı ülkelerde kullanıma giren gen ekspresyon analizlerinin uygulanması önerilmektedir. Buna göre ASCO'nun 2019 tedavi kılavuzunda ER / PR pozitif, HER2 negatif ve lenf nodu metastazı olmayan hastalarda gen ekspresyon analizi yaparak risk grubunun belirlenmesi, düşük risk grubundaki hastalara sadece adjuvan endokrin tedavinin, yüksek risk grubundaki hastalara ise adjuvan endokrin tedavi ve kemoterapinin birlikte verilmesi önerilmektedir (36).

2.2. Duktal Karsinoma İn Situ

2.2.1. Tanımı

Duktal karsinoma in situ (DKİS) terminal duktolobüler üniteden köken alan, duktuslar boyunca yayılım gösteren; ancak myoepitelyal hücre tabakasını ve bazal membranı aşmayan invaziv meme karsinomu öncülü malign epitelyal hücre proliferasyonudur (15).

2.2.2. Epidemiyoloji ve etyoloji

Meme kanseri tarama programının yaygınlaşması ile birlikte DKİS tanısında yıllar içinde artış meydana gelmiştir. 2015 yılında 60.000 yeni tanı DKİS olduğu ve DKİS'lerin meme tümörlerinin %25'ni oluşturduğu tahmin edilmektedir (37). DKİS'in ortalama tanı alma yaşı 50-59'dur (15).

DKİS'ler ve invaziv meme karsinomları genetik ve çevresel olarak benzer risk faktörlerine sahiptir (15).

2.2.3. Patogenez

DKİS, invaziv meme karsinomunun öncül lezyonu olarak kabul edilmekte olup yüksek ve düşük dereceli DKİS'lerin farklı yolaklardan geliştiği düşünülmektedir. Yapılan gen ekspresyon analizlerinde yüksek dereceli DKİS'lerin daha yüksek düzeyde genomik instabilite içerdiği ve invaziv duktal karsinom geliştirme risklerinin daha fazla olduğu gösterilmiştir (15, 38).

2.2.4. Klinik özellikler

Meme kanseri için tarama yapılmayan yıllarda DKİS için en sık bulgu memede ele gelen kitle iken artık mamografide saptanan mikrokalsifikasyonlar en yaygın bulgudur. DKİS mamografide en sık lineer dallanma gösteren mikrokalsifikasyon kümesi şeklinde izlenmekle birlikte klinik olarak meme başı akıntısı ya da Paget hastalığı şeklinde de bulgu verebilmektedir (15, 16). Bu hastalık sıklıkla tek taraflı olmasına karşın DKİS'li hastaların %22'sinde diğer memede de DKİS ya da invaziv karsinom gelişebileceği bildirilmektedir (39).

2.2.5. Makroskobik ve mikroskobik özellikler

DKİS'ler eğer komedonekroz içermiyorsa ya da papiller özellikte değilse makroskobik olarak genellikle görülemezler. Komedonekroz içeren yüksek dereceli DKİS'ler genellikle çok sayıda duktusu içine alan sert kıvamlı kitleler olarak karşımıza çıkmaktadır (16). Papiller DKİS ise iyi sınırlı yumuşak kıvamlı kitle şeklinde izlenebilmektedir (15).

DKİS'ler heterojen morfolojik özelliğe sahip neoplaziler olup hücresel ve yapısal özelliklerine göre sınıflandırmaktadır (15, 16). Hücresel özelliklerine göre taşlı yüzük hücreli, apokrin, şeffaf hücreli, iğsi hücreli ve küçük hücreli varyantlar (16); yapısal özelliklerine göre ise mikropapiller, kribriform, solid ve papiller tipte DKİS'ler tanımlanmıştır. Mikropapiller DKİS'ler fibrovasküler stroma olmaksızın lümen içine papiller uzanım gösteren, monoton hücrelerden oluşan neoplastik proliferasyonlardır. Papiller DKİS gerçek fibrovasküler yapılara (korlara) sahip dallanan papiller proliferasyon alanları içeren ve bu alanlarda myoepitelyal hücre

tabakası bulundurmayan neoplazilerdir. Kribriform DKİS'lerde epitelyal proliferasyon, keskin sınırlı yuvarlak mikrolümen yapıları oluşturmakta; solid DKİS'ler de ise tabaka tarzında büyüme paterni göstermektedir. Her iki DKİS varyantı da genellikle az diferansiye, pleomorfik ve genellikle yüksek nükleer dereceli tümör hücrelerinden oluşmaktadır (15, 16).

DKİS'lerde görülen ve prognostik açıdan da önem taşıyan bir özellik de komedonekrozdur. Komedonekroz, neoplastik proliferasyonun merkezinde karyorektik hücre artıkları içeren nekrotik eozinofilik materyal olarak tanımlanmaktadır. Komedonekroz sıklıkla yüksek dereceli DKİS'lere eşlik etmekte olup varlığının patoloji raporlarında belirtilmesi önerilmektedir (15). Bunun dışında DKİS lümenlerinde mikrokalsifikasyonlar, kristaloidler ve çevre stromada iyileşme olarak tanımlanan belirgin periduktal fibrozis izlenebilmektedir. İlk kez 1934 yılında tanımlanan iyileşme (healing) fenomeni, özellikle yüksek dereceli HER2 pozitif DKİS'lerde peristromal kollajende belirgin artış, inflamatuar hücre infiltrasyonu ve sonuç olarak duktusun ileri düzeyde obliterasyonu ile karakterizedir (16, 40).

DKİS'lerde hücresel ve yapısal sınıflama dışında, bir de derecelendirme sistemi bulunmaktadır. Bu amaçla neoplastik hücrelerin nükleer özelliklerine göre düşük, orta ve yüksek şeklinde 3 dereceli bir sistem kullanılmaktadır (Derecelendirme sistemi Tablo 8'de gösterilmektedir) (41).

Tablo 8: DKİS'de nükleer özelliklere göre derecelendirme sistemi (41)

Özellikler	**Derece I (düşük)**	**Derece II (orta)**	**Derece III (yüksek)**
Pleomorfizm	Monoton	Orta	Belirgin pleomorfik
Boyut	Normal duktus epiteli ya da eritrositin 1,5-2 katı büyüklüğünde	Orta	Normal duktus epiteli ya da eritrositin 2,5 katından büyük
Kromatin	Genellikle diffüz, ince granüler kromatin	Orta	Genellikle veziküler ve düzensiz dağılımlı kromatin
Nükleol	Çok seyrek	Orta	Belirgin, sıklıkla çok sayıda
Mitoz	Çok seyrek	Orta	Sık olabilir
Oryantasyon	Lüminal boşluğa doğru polarizasyon mevcut	Orta	Lüminal boşluğa doğru polarizasyonda kayıp mevcut

2.2.6. İmmünhistokimyasal belirteçler ve ayırıcı tanı

DKİS'leri invaziv karsinomlar ve duktal epitel hiperplazilerinden ayırt etmek için morfolojinin yetersiz kaldığı durumlarda immünhistokimyasal boyalardan yararlanılabilir. DKİS, sklerozan adenozis gibi bir lezyonda lobüler üniteyi tuttuğunda morfolojik olarak invaziv karsinomu taklit edebilmektedir. Bu durumda myoepitele yönelik immünhistokimyasal boyaların (SMM, kalponin, p63 gibi) kullanımı ile invazyon olmadığı kanıtlanabilir. Şiddetli duktal epitel hiperplazisi ile ayrımında ER ve keratin 5/6 ya da keratin 14'ün birlikte kullanımından yararlanılabilir. Duktus içindeki proliferasyonun ER ile diffüz

nükleer boyanması ve bazal keratinler ile boyanmaması çoğu durumda neoplaziyi destekler niteliktedir (15).

2.2.7. Moleküler sınıflama

İnvaziv meme karsinomuna benzer şekilde DKİS'li hastalarda da immünhistokimyasal belirteçler ile belirlenen moleküler sınıflama mevcuttur (lüminal A, lüminal B, HER2-baskın, bazal benzeri). İnvaziv karsinomdan farklı olarak HER2-baskın grup DKİS'ler içinde daha fazla oranda görülmektedir (15).

2.2.8. Prognostik faktörler

DKİS'li hastalarda meme kanseri sağkalımının oldukça iyi olduğu bilinmektedir. Bir çalışmada DKİS tanısı ve tedavisi sonrası 10 yıllık takipte kümülatif meme kanseri mortalitesi 50 yaş altı kadınlarda %2,3, 50 yaş üzeri kadınlarda %1,4 olarak bulunmuştur (42). Meme koruyucu cerrahi sonrasında rekürrens olması kötü bir prognostik faktördür. Genç yaş, büyük lezyon çapı, yüksek nükleer derece, komedonekroz ve cerrahi sınırda tümör devamlılığı meme koruyucu cerrahi sonrasında rekürrens riskini artıran faktörlerdendir (15). Cerrahi sınırı negatif olarak kabul edebilmek için DKİS'nin cerrahi sınır boyasına en az 2 mm uzaklıkta olması gerektiği belirtilmektedir (31).

HR ekspresyonun DKİS'lerdeki yararı konusunda bir fikir birliğine varılamamıştır. Çalışmalarda adjuvan endokrin tedavinin ipsilateral rekürrensi azalttığı gösterilmiş olup ER ve PR ekspresyonunun immünhistokimyasal olarak belirlenmesi önerilmektedir (15).

2.2.9. Tedavi

DKİS tanısı alan hastalardaki standart tedavi meme koruyucu cerrahi ve radyoterapidir. HR pozitif olan hastalarda endokrin tedavi uygulanabilmektedir (31). Son yıllarda yapılan çalışmalarda düşük dereceli DKİS'li hastalarda sadece cerrahi, aktif izlem ya da sadece endokrin tedavinin kullanılabilirliği araştırılmaktadır. Yüksek dereceli DKİS için immünoterapi ve HER2 pozitif DKİS için ise trastuzumab tedavisi konusunda klinik araştırmalar yürütülmektedir (43, 44).

2.3. TİL ve Genel Bilgiler

Uzun yıllardan beri tümör antijenlerinin değişken derecelerde immünolojik bir yanıt oluşturduğu bilinmektedir. İmmün sistem hücreleri kanserin büyümesini ve yayılımını sınırlamaya çalışırken, tümör hücreleri de çeşitli mekanizmalar ile immün sistemden kaçmaya çalışmaktadır. Kanser hücreleri antijenitelerini azaltmaları, konağın immün sistemini baskılayıcı reseptörler sentezlemeleri ya da yüksek proliferatif aktiviteleri sayesinde immün sistemin bu proliferasyonu sınırlandırmaya yetişememesi sonucu bu savaştan galip çıkmaktadır (45). İmmün sistem ve tümör arasındaki bu etkileşimin ortaya konması, tedavi seçeneği olarak vücudun adaptif immün sistem yanıtında düzenleme oluşturmayı gündeme getirmiştir. Bu amaçla birçok tümörde, tümör içinde ve stromasındaki immün hücreler (örneğin TİL) araştırılmakta ve patoloji raporlarında bu hücrelerin oranını belirtebilmek için kılavuzlar geliştirilmeye çalışılmaktadır (46, 47). Aynı

zamanda, bu hücrelerin tipleri ve üzerlerindeki immün sistemi aktive ve inhibe edice reseptörler de potansiyel ilaç hedefi olarak araştırılmaktadır (5).

2.4. TİL ve İnvaziv Meme Karsinomu

Patologlar tarafından uzun yıllardan beri meme kanserinde TİL'in iyi prognoz ilişkili olarak bilinmesinin nedeni, iyi klinik gidişe sahip bir meme kanseri alt tipi olan medüller karsinomun en önemli özelliğinin yoğun inflamatuar hücre infiltrasyonu içermesidir (48). TİL değerlendirmesi ile ilgili çalışmalar immünoterapinin gündeme gelmesi nedeniyle hız kazanmıştır. DSÖ Meme Tümörleri kitabında, Uluslararası TİL Çalışma Grubu kılavuzunda ve Uluslararası Meme Kanseri İmmünoonkolojik Biyobelirteç Çalışma Grubu (UMKİBÇG) kılavuzunda meme tümörleri için TİL, tümörü ve tümör stromasını infiltre eden mononükleer hücreler (lenfositler ve plazma hücreleri) olarak tanımlanmaktadır (15, 46, 49). TİL, intratümöral ve stromal olmak üzere ikiye ayrılarak incelenmektedir. İntratümoral TİL, tümör hücre adalarının içinde yer alan ve tümör hücresi ile bire bir temas eden immün hücreler iken; stromal TİL, iki tümör adasının arasındaki tümöre özgü stromada bulunan ve tümör hücresi ile bire bir etkileşimi olmayan inflamatuar hücrelerdir (49). H&E boyalı preperatta, stromal TİL'in değerlendirme ve tekrarlanabilirlik açısından intratümöral TİL'e göre daha üstün olduğu gösterildiğinden birçok kılavuz sadece stromal TİL'in değerlendirilmesini önermektedir (9, 46, 49).

TİL'i oluşturan hücresel popülasyona ilişkin araştırmalarda farklı lenfoid hücrelerin immün sistem ve tümör üzerinde farklı etkiler oluşturduğu

gösterilmiştir. CD8+ sitotoksik T- lenfositler, CD4+ yardımcı T1 hücreleri, M1 fenotipindeki makrofajlar, DC1 fenotipindeki dendritik hücreler immünaktivasyonu sağlamaktayken; CD4+ yardımcı T2 hücreleri, M2 fenotipindeki makrofajlar, DC2 fenotipindeki dendiritik hücreler, myeloid seriden köken alan baskılayıcı hücreler ve FOXP3+ düzenleyici T-lenfositler immünbaskılanmaya neden olmaktadır. B- lenfoid hücreler ve plazma hücreleri duruma göre immünaktivasyon ya da immünbaskılanmaya yol açabilmektedir (45, 46).

TİL araştırılırken incelenen diğer bir parametre ise lenfoid agregat ve tersiyer lenfoid yapılanmadır. Lenfoid agregat germinal merkez içermeyen lenfosit kümesi olarak tanımlanırken; tersiyer lenfoid yapılanma, germinal merkez reaksiyonu oluşturmuş lenfoid foliküller olarak tanımlanmaktadır. Bu yapılanmalar genellikle tümörün çevreye invazyon gösterdiği sınırda bulunmakta olup TİL değerlendirmesine alınmamaları önerilmektedir (49).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda meme tümörlerinde TİL ile tedavi ve prognoz arasındaki ilişki araştırılmaktadır. 2018 yılında Denkert ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada artan TİL yoğunluğunun tüm meme kanseri alt tiplerinde neoadjuvan kemoterapi sonrası patolojik tam yanıt ile korele olduğu bildirilmiştir (50). Üçlü negatif ve HER2 pozitif meme kanserlerinde TİL yoğunluğundaki artışın pozitif prognostik faktör olduğu ve daha iyi adjuvan tedavi yanıtı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (50-53).

2.5. TİL ve Duktal Karsinoma İn Situ

İnvaziv meme karsinomunda olduğu gibi DKİS'li hastalarda da TİL yoğunluğunun değerlendirmesi ve prognoz ile ilişkisi araştırılmaktadır. UMKİBÇG kılavuzunda invaziv karsinom ile benzer şekilde DKİS'e özgü periduktal stromadaki (2 büyük büyütme alanı) mononükleer hücreler ile TİL değerlendirmesi yapılması önerilmektedir (9).

Güncel çalışmalar, artmış TİL yoğunluğunun sıklıkla kötü prognostik özellikler (yüksek nükleer derece, komedonekroz, periduktal miksoid stroma, ER negatifliği ve HER2 pozitifliği) ile ilişkili olduğunu göstermektedir (54). Ayrıca, yüksek dereceli DKİS'lerde görülen iyileşme (healing) fenomeni ile artmış TİL yoğunluğu arasında güçlü bir ilişki olduğu ortaya koyulmuş olmakla birlikte (55), rekürrens ile TİL yoğunluğu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (54, 56).

2.6. İmmün Kontrol Noktası İnhibitör Reseptörleri ve Meme Kanseri Tedavisinde Kullanım Alanları

2.6.1. Genel bilgiler

Tümör immünolojisinin temeli tümörün immün sistemden kaçış mekanizmalarına dayanmaktadır. Birçok mekanizma temelde iki ana başlık altında toplanabilir: Tümöre karşı oluşan immün yanıtın baskılanması ve tümör antijenitesinde kayıp (45).

Tümöre karşı oluşan immün yanıtın inhibisyonu immün kontrol noktası reseptörleri (CTLA-4, PD-1/PD-L1), immün sistemi inhibe eden sekresyon ürünleri (TGF-beta), düzenleyici T- lenfositler ve myeloid seriden köken alan

inhibe edici hücreler tarafından gerçekleştirilmektedir. Deneysel ve klinik çalışmalar CTLA-4, PD-1 ve PD-L1 gibi immün kontrol noktası reseptörlerinin TİL'de artmış miktarda bulunduğunu ve bunun sonucunda tümör ile savaşan T-lenfosit fonksiyonlarının baskılandığını göstermiştir. Bu reseptörlerin inhibisyonu ile tümöre karşı gelişen immün yanıtta artış olması hedeflenmektedir (45).

İmmünoterapi uzun yıllardan beri onkolog ve immünologlar tarafından araştırılmaktadır. Kemoterapi ve radyoterapinin çoğalan hücrelerin ölümü ve hücre bölünmesini durdurması üzerine olan etkisi sadece tümör hücrelerini değil normal hücreleri de etkilemektedir. Bu drum meme kanseri hastalarında mortalite ve morbiditede artışa neden olmaktadır. Bu nedenle immmünoterapi gibi tümör hücrelerine daha spesifik olan tedavi yöntemlerinin araştırılması ve geliştirilmesi hız kazanmıştır (45).

CTLA-4, CD4+ ve CD8+ T- lenfositler üzerinde eksprese edilen ve T-hücre aktivasyonunu inhibe eden bir reseptördür (57). PD-1 aktive T- lenfositler, B- lenfositler, makrofajlar, aktive monositler, NK hücreleri ve timositler üzerinde; ligandı olan PD-L1 ise hem birçok immün hücrede hem de tümör hücrelerinde eksprese edilmektedir. PD-1/PD-L1 yolağı normalde vücudumuzda "self" toleranstan sorumlu iken, tümörde immün sistemi baskılayıcı işlev görmektedir (58).

İmmün kontrol noktası reseptörlerinden ilk olarak CTLA-4'e karşı monoklonal antikorlar (ipilimumab, tremelimumab) geliştirilmiştir. Bu ilaçların ileri evre melanom hastalarının bir kısmında tümör progresyonunu yavaşlattığı gösterilmiştir (59). Sonraki yıllarda bu aileden olan PD-1 ve PD-L1'e karşı da

monoklonal antikorlar (nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab) geliştirilmiştir. Bu antikorların birçok tümörde (melanom, kolorektal karsinom, küçük hücreli dışı akciğer tümörleri, renal hücreli karsinom gibi) etkinliği ve yan etki profilleri araştırılmış ve tedaviye olumlu katkıda bulunduğu gözlemlenmiştir (60, 61). PD-1 inhibitörü nivolumab ve CTLA-4 inhibitörü ipilimumabın kombine kullanımlarının daha güçlü bir tedavi yanıtı oluşturduğu gösterilmiştir (62).

CTLA-4 ve PD-1/PD-L1 yolağını hedefleyen antikorların etkinliği meme kanserinde de araştırılmaktadır (63-66). İmmün kontrol noktası reseptör inhibitörleri her ne kadar kemoterapi ve radyoterapiden daha spesifik tedaviler olarak düşünülse de otoimmünite ve inflamatuar reaksiyonlar gibi yan etkileri bulunmaktadır. Bu yan etkiler için antiinflamatuar ilaçlar ve kortikosteroidler kullanılmaktadır (45).

CTLA-4 ve PD-1 inhibitörleri kullanan hastaların %50'sinden fazlası tedaviye yanıt vermemekte ya da tedaviye direnç geliştirmektedir (45). Bu yüzden diğer immün kontrol noktası inhibitörlerini (LAG-3, TIM-3, TIGIT) hedef alan yeni tedavi yolakları araştırılmaktadır.

2.6.2. LAG-3

LAG-3, yaklaşık 30 yıl önce Triebel ve arkadaşları tarafından T-lenfositler ve NK hücrelerinde keşfedilen 498 aminoasitlik bir transmembran proteindir (67). Yapısal olarak CD4'e artmış benzerlik göstermekte olup ligandı olan MHC sınıf II'ye CD4'ten daha yüksek bir afinite ile bağlanmaktadır. LAG-3 CD4+ T-lenfositler, CD8+ T-lenfositler ve NK hücrelerinin bir kısmında eksprese

edilmektedir. Bu protein tümöre spesifik CD8+ T- lenfositlerin etkisini azaltarak ve düzenleyici T-lenfositlerin immün sistem üzerindeki baskılayıcı etkisini artırarak işlev gören bir immün kontrol noktası inhibitör reseptörüdür. Otoimmün hastalıklar, kanser, kronik viral enfeksiyonlar ve parazitik enfeksiyonlarda T-lenfosit yanıtının düzenlenmesinde işlev görmektedir (Şekil 1) (6).

Kanserli hastalarda LAG-3'ün özellikle disfonksiyonel ya da yorulmuş olarak adlandıran T-lenfositlerde yüksek düzeyde eksprese edildiği gösterilmiştir. Kronik enfeksiyonlarda olduğu gibi, kanserde de kronik antijen maruziyeti sonucunda T- lenfositlerde proliferasyon yeteneği ve efektör fonksiyonlarda kayıp ile karakterize yorulma meydana gelmektedir. Bu mekanizmada LAG-3'ün de rolü olduğu düşünülmektedir (68). TİL'deki bu T- lenfositler üzerinde yüksek düzeyde LAG-3 ekspresyonu olması klinik olarak kanser tedavisinde LAG-3'ün hedef olarak araştırılmasına yol açmıştır. Bu reseptör ile birlikte aynı hücrelerde PD-1'in de eksprese edilebildiği gösterilmiştir. Buradan yola çıkarak LAG-3'ün tek başına, PD-1 ile beraber ya da kemoterapi ile kombine olarak kullanımı kanser tedavisinde araştırılmaktadır (6).

LAG-3-Ig (IMP321) çözünebilen dimerik rekombinan protein şeklinde tasarlanan ilk LAG-3 antagonistidir ve antijen sunucu hücre aktivasyonuna yol açmaktadır (69). Birçok tümörde etkinliği araştırılmakta olup bir klinik araştırmada metastatik meme kanserinde paklitaksel ile IMP321'in kombine kullanımının %50 oranında objektif tümör yanıtı sağladığı gösterilmiştir (3) .

LAG-3'ün meme kanserinde TİL'ler üzerindeki ekspresyonunun prognoz ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Üçlü negatif meme kanserli hastalar üzerinden

yapılan bir çalışmada tedavi öncesinde alınan doku örneklerindeki LAG-3 ekspresyonun patolojik tam yanıt ile ilişkili olduğu, neoadjuvan tedavi sonrası alınanlarda artmış LAG-3 ekspresyonunun ise kötü prognoz göstergesi olduğu saptanmıştır (7).

2.6.3. TIM-3

TIM-3, interferon gama (İFN-gama) üreten CD4+ yardımcı T1 ve CD8+ sitotoksik T1 lenfositlerde eksprese edilen 302 aminoasitlik bir transmembran protein olarak yaklaşık 18 yıl önce keşfedilmiştir (70). Daha sonraki yıllarda TIM-3'ün regulatuar T-lenfositler (Treg) ve doğal bağışıklık sistemi hücrelerinde (dendritik hücreler, NK hücreleri, monositler) de eksprese edildiği bulunmuştur. Galektin-9, Ceacam1, HMGB1 ve fofsotidil serin TIM-3'ün bilinen ligandlarıdır (6) (Şekil 2). TIM-3 doğal immünite üzerinde negatif düzenleyici olarak rol oynayan, antijene özgü tolerans gelişimini destekleyen bir immün kontrol noktası reseptörüdür (71). Bu reseptörün baskılanması sonucunda "self" antijenlere karşı artmış immün yanıt ile karakterize otoimmün hastalıklar ortaya çıkmaktadır (6).

TIM-3 de LAG-3'e benzer şekilde, kanser dokusundaki yorulmuş CD8+ sitotoksik T-lenfositler üzerinde yüksek düzeyde ekspresyon göstermektedir. TIM-3 ile beraber PD-1 ekspresyonunun da aynı hücrelerde arttığı bulunmuştur. Bu ekspresyon artışı, tümöre karşı oluşan immün yanıtın baskılanmasına neden olmakla birlikte TIM-3'ün yeni bir tedavi hedefi haline gelmesini de sağlamıştır (6).

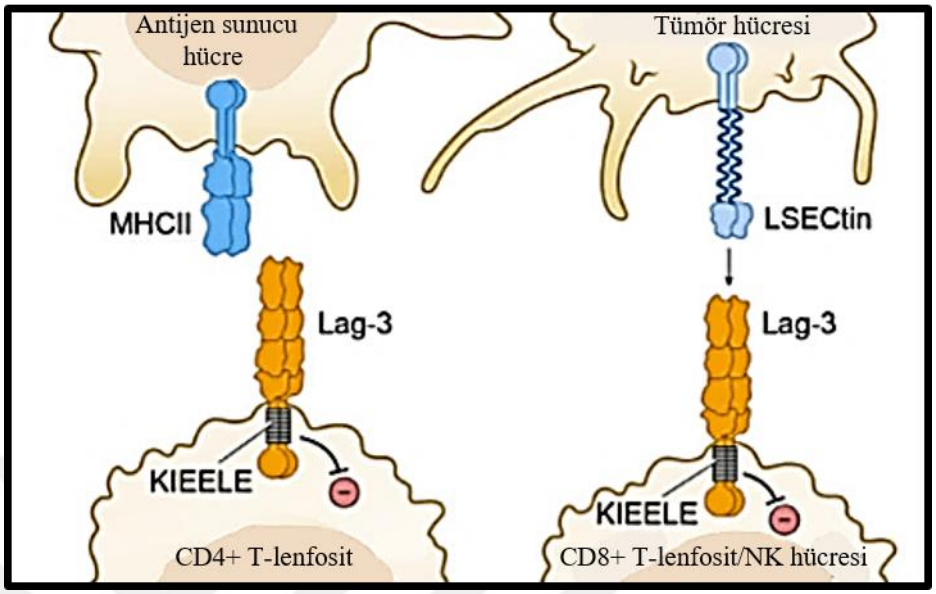
TIM-3 ekspresyonunun prognoz ile ilişkisi ve tedavide kullanım alanları solid organ tümörleri ve hematolojik malignitelerde araştırılmaktadır (72-74). Bir çalışmada metastatik melanomlu hastalarda TIM-3 ve PD-1'in birlikte inhibisyonunun sadece PD-1 inhibisyonuna göre tümör büyümesini baskılamada konusunda daha güçlü yanıt oluşturduğu gösterilmiştir (72). Meme kanserinde bu konuda henüz tedavi ile ilgili bir çalışma bulunmamakla birlikte TİL'lerde TIM-3 ekspresyonu araştırılmaktadır. TIM-3+ TİL bulunduran meme kanserlerinin daha iyi bir prognoza sahip olduğunu gösteren çalışmalar (11, 12) yanı sıra tümör hücrelerindeki TIM-3 ekspresyonunun kötü prognoz göstergesi olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (75).

2.6.4. TIGIT

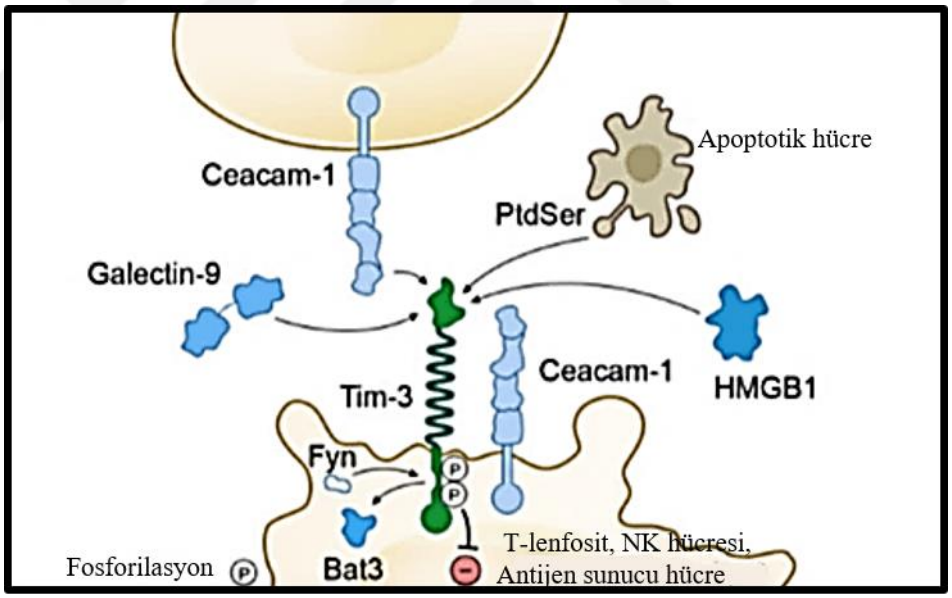
TIGIT (önceki isimleri Vsig9, Vstm3, WUCAM) 2009 yılında keşfedilen, immün kontrol noktası inhibitörü olarak görev alan bir transmembran proteindir. TIGIT aktive T-lenfositler yanı sıra NK hücreleri, hafıza ve düzenleyici T-lenfositlerde de eksprese edilmektedir. TIGIT'ın CD155 (Poliovirüs reseptörü-PVR) ve CD112 olmak üzere dendritik hücrelerde ve pek çok tümör hücresinde eksprese edilen iki ligandı bulunmaktadır (76, 77) (Şekil 3). Normal dokularda TIGIT ile ligandlarının etkileşimi, otoreaktif T-lenfositlerin çoğalmalarını baskılayarak otoimmün hastalık oluşumunu engellemektedir. Tümörlü dokularda ise TIGIT direkt olarak efektör CD8+ sitotoksik T-lenfositleri inhibe ederek ya da indirekt olarak düzenleyici T-lenfositler üzerinde etki göstererek tümöre karşı oluşan immün yanıtı baskılamaktadır (6).

Hayvan deneylerinde TIGIT'ın TİL'de ve ligandı olan CD155'in tümör hücrelerinde yüksek düzeyde eksprese edildiği gösterilmiştir (77). İleri evre melanom tanısı olan hastalarda yapılan bir çalışmada, TIGIT ve PD-1'in TİL'de birlikte eksprese edildiği ve TIGIT ile PD-1'in birlikte inhibisyonunun tümöre özgü CD8+ sitotoksik T-lenfosit proliferasyonunu daha güçlü bir şekilde uyardığı saptanmıştır (78). TIGIT ve ligandı CD155 ekspresyonu mide kanseri ve küçük hücreli dışı akciğer kanserinde de araştırılmaktadır (79, 80). TIGIT'a karşı geliştirilmiş monoklonal antikorların (etiligimab, tiragolumab) ileri evre kanseri olan hastalardaki tedavi yararını araştıran klinik çalışmalar ise henüz devam etmektedir (81).

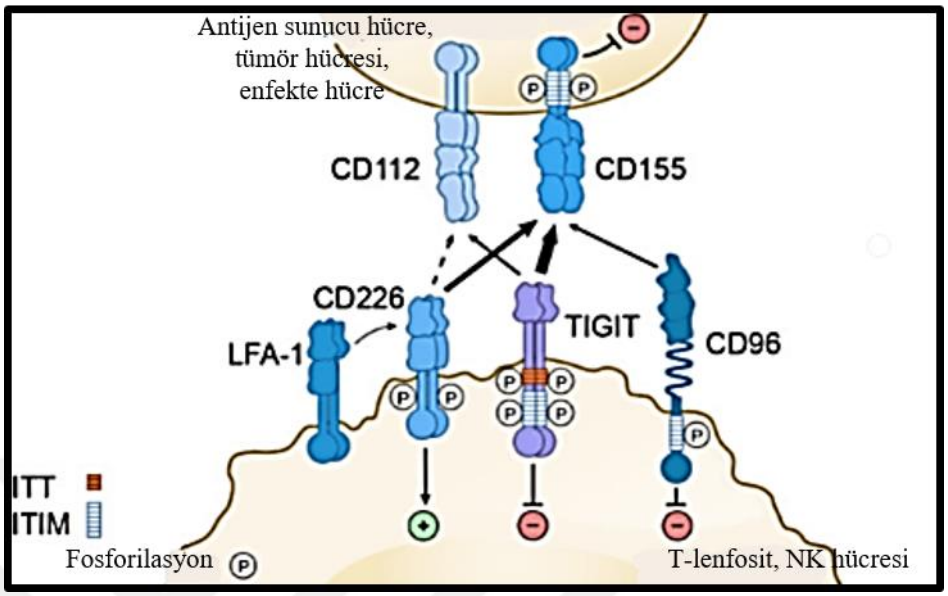
Meme kanseri tedavisi ile ilgili TIGIT'ı hedef alan klinik bir çalışma literatürde henüz mevcut değildir. Ancak TIGIT ligandı olan PVR'nin meme kanserinde yüksek düzeyde ekspresyonun kötü prognoz ile ilişkili olduğu bulunmuş olup TIGIT-PVR yolağının inhibisyonunun meme kanserinde yeni bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir (82).



Şekil 1: LAG-3 ve ligandları (6)



Şekil 2: TIM-3 ve ligandları (6)



Şekil 3: TIGIT ve ligandları (6)

Bu çalışmada, in situ ve invaziv meme kanserlerindeki TİL yoğunluğunun ER, PR ve HER2 ekspresyonu ile olan ilişkisinin gösterilmesi, immünhistokimyasal boyama yöntemi ile yeni kuşak immün kontrol noktası inhibitör reseptörlerinin (PD-1, LAG-3, TIM-3 ve TIGIT) ekspresyon profilinin belirlenmesi ve elde edilen verilerin hastalara ait prognostik faktörler ve sağkalım ile ilişkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmada yer verilen güncel immün kontrol noktası inhibitörlerinin oranının ve tedavide kullanım şeklinin (tek veya kombine) belirlenmesi ile meme kanseri hastalarında bu belirteçlerin patolojik değerlendirmede kullanım potansiyeli ortaya koyulmuş olacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların Seçilmesi

Bu çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirilen mastektomi ve kitle eksizyon (lumpektomi) materyallerinden oluşan toplam 380 adet olgu dahil edilmiştir. Dahil edilen olguların 312'si 2010-2018 yılları arasında invaziv meme karsinomu, 68'i 2010-2015 yılları arasında DKİS tanısı almıştır.

İnvaziv meme karsinomu olguları seçilirken, tanısı invaziv duktal karsinom ve medüller karsinom olanların patoloji raporlarından hastaların ER, PR, HER2 ekspresyonları ve tümör derecelerine göre gruplama yapılmıştır. HR pozitif-HER2 negatif, HR pozitif–HER2 pozitif, HR negatif-HER2 pozitif ve üçlü negatif olmak üzere 4 grup belirlenmiştir. HR negatif-HER2 pozitif ile üçlü negatif olan gruplardaki olguların tümü; HR pozitif–HER2 negatif ile HR pozitif–HER2 pozitif olan gruplardaki olguların ise tümör derecesi 3/3 olanları bu çalışmaya dahil edilmiştir.

DKİS'li hastalar seçilirken invazyonu olmayan (mikroinvazyon hariç) hastalar çalışmaya dahil edilmiş olup eksiyonel biyopsi/mastektomi öncesinde invaziv karsinom tanısı olan olgular çalışmaya alınmamıştır.

Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Komisyonu tarafından 29 Nisan 2019 tarihinde 04 sayılı toplantı ile yerel etik kurulu onayı alınmıştır.

3.2. Klinikopatolojik Özelliklerin Listelenmesi

Seçilen olguların hastane bilgi yönetim sistemi ve patoloji raporlarından prognostik faktörleri (tümör çapı, tümör derecesi, ER, PR ve HER2 ekspresyonları, Ki67 proliferasyon indeksi, metastatik lenf nodu ve uzak metastaz, patolojik evre, neodjuvan tedavi öyküsü, nüks, hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım bilgileri) elde edilmiştir.

3.3. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilen olgular öncelikle ışık mikroskobik olarak TİL açısından değerlendirilmiştir. TİL değerlendirmesi yapılırken Uluslararası TİL Çalışma Grubu kılavuzu ve UMKİBÇG kılavuzundan yararlanılmıştır (9, 49).

İnvaziv meme kanserinde TİL değerlendirmesi yapılırken morfolojik olarak tümörü iyi temsil eden ve doku tespitinin yeterli olduğu 2 adet H&E boyalı lam seçilmiştir. Bu lamlar üzerinden stromal TİL yoğunluğu, lenfoid agregat ve tersiyer lenfoid yapılanma varlığı, tümör çevresi meme parankimindeki inflamasyon, eşlik eden DKİS varlığı ve DKİS varsa TİL yoğunluğu değerlendirilmiştir. TİL değerlendirmesi yapılırken uluslararası kılavuzların önerileri dikkate alınmıştır (Tablo 9). Tümör çevresi meme parankimi olarak, tümöre en yakın olan fakat tümör ile infiltre olmayan, meme lobüllerinin stroması, inflamasyon açısından tümöre benzer şekilde değerlendirilmiştir.

Tablo 9: İnvaziv meme tümörlerinde ışık mikroskobik olarak TİL değerlendirmesi önerileri (9, 49)

1) Tümör sınırları içindeki stromal TİL yoğunluğu değerlendirilmelidir.
2) Tümör stromasındaki mononükleer hücrelerin tümör stromasının ne kadarlık bir alanını kapladığı yüzde olarak ifade edilmelidir.
3) Stromadaki lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşan mononükleer hücreler sayılmalı, polimorfonükleer lökositler değerlendirmeye alınmamalıdır.
4) İnvaziv tümör dışındaki alanlar, normal meme lobülleri ve DKİS alanları bu değerlendirmeye dahil edilmemelidir.
5) Tümör içindeki nekroz alanları, ezilme artefaklı alanlar ve regresif hiyalinizasyon alanları değerlendirilmemelidir.
6) Değerlendirme bir H&E boyalı lamdaki bir kesitin tamamı 20'lik ve 40'lık objektifler ile incelenerek yapılmalıdır.
7) Heterojen TİL bulunduran tümörlerde tüm kesitteki ortalama TİL yüzdesi hesaplanmalıdır.
8) Neoadjuvan tedavi alan hastalarda TİL değerlendirmesi yaparken rezidü tümör yatağı değerlendirilmelidir.
9) TİL devamlı bir parametre olarak (1 ile 100 arasında) rapor edilmelidir.

DKİS'ler değerlendirilirken tümör içeren tüm H&E boyalı lamlar stromal TİL yoğunluğu, DKİS'in morfolojik tipleri (mikropapiller, kribriform, solid ve papiller), komedonekroz, apoptozis, kalsifikasyon ve iyileşme (healing) fenomeni açısından değerlendirilmiştir. TİL değerlendirmesi yapılırken UMKİBÇG kılavuzundaki öneriler dikkate alınmıştır (Tablo 10).

Tablo 10: DKİS'lerde ışık mikroskobik olarak TİL değerlendirmesi önerileri (9)

1) DKİS'in periduktal stromasındaki TİL yoğunluğu değerlendirilmelidir. Periduktal stromanın net olarak belirlenemediği durumlarda DKİS'in çevresindeki 2 büyük büyütme alanı (2x400) değerlendirmeye alınmalıdır.
2) Mononükleer hücrelerin DKİS çevresindeki stromanın ne kadarlık bir alanını kapladığı yüzde olarak ifade edilmelidir.
3) Stromadaki lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşan mononükleer hücreler sayılmalı, polimorfonükleer lökositler değerlendirmeye alınmamalıdır.
4) İnvaziv tümör alanları ve normal meme lobülleri bu değerlendirmeye dahil edilmemelidir.
5) Nekroz alanları, ezilme artefaktı içeren alanlar ve regresif hiyalinizasyon alanları değerlendirilmemelidir.
6) Değerlendirme, tümöre ait tüm H&E boyalı lamların 20'lik ve 40'lık objektifler ile incelenmesiyle yapılmalı ve ortalama TİL yüzdesi hesaplanmalıdır.
7) TİL devamlı bir parametre olarak (1 ile 100 arasında) rapor edilmelidir.

İnvaziv meme karsinomları ve DKİS'li hastalarda TİL değerleri hafif (%1-10), orta (%11-49) ve yüksek (%50≤) olarak sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada minimal TİL grubu %1-3 olarak tanımlanmıştır.

3.4. İmmünhistokimyasal Boyama

Histopatolojik değerlendirme yapılan olguların 219'unun klinik izlem bilgisine ulaşılmıştır. İnvaziv meme kanserlerinin 98'sinden, DKİS'li olguların ise

23’ünden immünhistokimyasal boyama yapılmıştır. Bu olguların hepsi formalin ile tespit edilmiş ve parafine gömülmüş dokulardır. Klinik izlemi olan invaziv meme kanserli hastaların HR pozitif-HER2 pozitif, HR negatif-HER2 pozitif ve üçlü negatif grupta olanları ile klinik izlemi olan DKİS tanılı olguların minimal TİL grubu hariç tutularak immünhistokimyasal boyama uygulanmıştır.

3.4.1. LAG-3 boyama yöntemi

LAG-3 (D2G4O klonu) IgG izotipinde tavşandan elde edilen monoklonal bir antikordur. Bu antikor 1/200 oranında seyreltildikten (dilüe edildikten) sonra kapalı otomatik immünhistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.
2. Lamlar Ventana Benchmark XTIHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.
3. Antijen “retrival” işemi için LAG-3 antikoru “Etilenediamin tetraasetik asit” (EDTA) solüsyonu (buffer) (pH 8,0) içinde 76 dakika süreyle cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için LAG-3 antikoru cihazda 1 saat bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-detection kit” kullanıldı.

6. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.4.2. TIM-3 boyama yöntemi

TIM-3 (D5D5R klonu) IgG izotipinde tavşandan elde edilen monoklonal bir antikordur. Bu antikor 1/400 oranında seyreltildikten (dilüe edildikten) sonra kapalı otomatik immünhistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.
2. Lamlar Ventana Benchmark XTIHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.
3. Antijen "retrival" işemi için LAG-3 antikoru "Etilenediamin tetraasetik asit" (EDTA) solüsyonu (buffer) (pH 8,0) içinde 76 dakika süreyle cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için TIM-3 antikoru cihazda 1 saat bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için "Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-detection kit" kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlandı.

7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.4.3. TIGIT boyama yöntemi

TIGIT (TG-1 klonu) IgG izotipinde fareden elde edilen monoklonal bir antikordur. Bu antikor 1/150 oranında seyreltildikten (dilüe edildikten) sonra kapalı otomatik immünhistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.
2. Lamlar Ventana Benchmark XTIHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.
3. Antijen "retrival" işemi için LAG-3 antikoru "Etilenediamin tetraasetik asit" (EDTA) solüsyonu (buffer) (pH 8,0) içinde 64 dakika süreyle cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için TIGIT antikoru cihazda 32 dakika bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için "Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-detection kit" kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlandı.

7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

Bu yöntemle TIGIT antikoru ile pozitif kontrol olarak kullanılan tonsil dokusunda anlamlı bir boyanma elde edilememiş; aynı yöntemle antikoru 1/100 ve 1/50 oranlarında seyrelterek, antijen "retriveal" süresini ve inkübasyon süresini artırarak, bunların yanı sıra boyama cihazını değiştirerek (DAKO marka otomatik boyama cihazı) yöntem tekrarlanmış ancak olumlu sonuç alınamamıştır.

3.4.4. PD-1 boyama yöntemi

PD-1 (NAT105 klonu) kullanıma hazır IgG izotipinde fareden elde edilen monoklonal bir antikordur. Bu antikor ile kapalı otomatik immünhistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.
2. Lamlar Ventana Benchmark XTIHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.
3. Antijen "retrival" işemi için LAG-3 antikoru "Etilenediamin tetraasetik asit" (EDTA) solüsyonu (buffer) (pH 8,0) içinde 64 dakika süreyle cihazda bekletildi.

4. Primer antikor inkübasyonu için PD-1 antikoru cihazda 36 dakika bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-detection kit” kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.4.5. CD3 boyama yöntemi

Anti-CD3 (2GV6) kullanıma hazır tavşandan elde edilen monoklonal bir antikordur. Bu antikor ile kapalı otomatik immünhistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.
2. Lamlar Ventana Benchmark XTIHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.
3. Antijen “retrival” işemi için LAG-3 antikoru “Etilenediamin tetraasetik asit” (EDTA) solüsyonu (buffer) (pH 8,0) içinde 64 dakika süreyle cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için CD3 antikoru cihazda 32 dakika bekletildi.

5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-detection kit” kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.5. İmmünhistokimyasal Boyanmanın Değerlendirmesi

PD-1, LAG-3 ve TİM-3 için lenfositlerdeki sitoplazmik ve/veya membranöz boyanma ile karakterize immün reaksiyon paternleri spesifik olarak kabul edildi. Bu boyanma paterni intratümöral ve stromal TİL’de ayrı ayrı skorlandı. Üç mikroskobik büyük büyütme alanında (3x400), boyanan lenfositler ile toplam lenfositlerin oranı değerlendirilerek yüzde değer olarak belirtildi. İntratümöral alandaki toplam lenfosit sayısı CD3 boyaması ile değerlendirildi.

İntratümöral TİL oranı, tümör adalarında bulunan CD3 pozitif lenfositlerin tümör alanının yüzde kaçını kapladığı hesaplanarak değerlendirilmiştir. Stromal TİL grupları ile benzer şekilde (hafif, orta ve yüksek) gruplandırma yapılmıştır.

PD-1, LAG-3 ve TİM-3 ekspresyonu intratümöral TİL ve stromal TİL’de ayrı ayrı değerlendirilmiştir. İntratümöral ve stromal TİL’deki ekspresyonlar yüzde olarak hesaplanmış olup %5’in altı düşük ekspresyon, ≥%5 yüksek ekspresyon olarak kabul edilmiştir.

3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS 22.0 paket programında yapılmıştır. Kategorik değişkenler olgu sayıları (n), frekans dağılımları (%) biçiminde ifade edilmiş olup kendi aralarında ki-kare testleri ile karşılaştırılmıştır. Yaş için ortalama±standart sapma hesaplanmış olup gruplar arasındaki yaş ortalaması farkı One-Way Anova testi ile değerlendirilmiştir. Hastaların klinikopatolojik özelliklerinin sağkalım üzerindeki etkisi için Kaplan-Meier yöntemi kullanılmış ve long-rank testi ile karşılaştırılmıştır. Bağımsız progrostik faktörleri araştırmak için tek değişkenli ve çok değişkenli Cox regresyon modeli kullanılmıştır. $p<0,05$ olması istatiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. İnvaziv Meme Karsinomu Olguları

4.1.1. Demografik ve klinik özellikler

Çalışmaya dahil edilen invaziv meme karsinomu olgu sayısı 312'dir. Olguların yaş ortalaması 52,2 olup, yaş aralığı 26–84 arasında değişmektedir. Olguların 5'i erkektir. Toplamda incelenen 312 materyalin 256'sı (%82,1) mastektomi, 54'ü (%17,3) lumpektomi (kitle eksizyonu) materyalidir. Materyallerin %48,7'si sağ, %50,3'ü sol taraflı eksizyondur. Hastaların en uzun takip süresi 123 ay, en kısa takip süresi 2 aydır. 15 Ocak 2020 tarihine kadarki ortalama genel sağkalım süresi 68,7±31 ay olup en uzun genel sağkalım süresi 123 ay, en kısa genel sağkalım süresi ise 2 aydır. Hastaların 69'unun (%22,1) öldüğü öğrenilmiştir (Tablo 11).

Tablo 11: İnvaziv meme karsinomu olgularının demografik ve klinik özellikleri

Parametreler (n=312)	
Cinsiyet, n (%)	
Kadın	307 (98,4)
Erkek	5 (1,6)
Tanı yaşı (yıl)	
Ortalama±ss	52,2 ± 12,8
Ortanca (min-maks)	52 (26-84)
Materyal tipi, n (%)	
Mastektomi	256 (82,1)
Lumpektomi	54 (17,3)
Bilinmiyor	2 (0,6)
Materyalin tarafı, n (%)	
Sağ	152 (48,7)
Sol	157 (50,3)
Bilinmiyor	3 (1)
Genel sağkalım (ay)	
Ortalama±ss	68,7 ± 31
Ortanca (min-maks)	68,50 (2-123)
Ölüm, n (%)	
Var	69 (22,1)
Yok	243 (77,9)
ss: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum	

4.1.2. Histopatolojik özellikler

Çalışmaya dahil edilen hastaların 263'ü (%84,5) invaziv duktal karsinom, 38'i (%12,2) bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom, 8'i (%2,6) medüller paternde invaziv duktal karsinom, 2'si (%0,6) taşlı yüzük hücre morfolojisi gösteren invaziv duktal karsinom ve 1'i (%0,3) metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom tanısı almıştır. Ortalama tümör çapı 3,1±2,3 cm olup olguların 291'inde (%93,2) tümör derecesi 3/3'tür. ER, PR ve HER2 durumlarına göre yapılan moleküler sınıflamada olguların 97'si (%31,1) üçlü negatif, 64'ü (%20,5) HR negatif-HER2 pozitif, 74'ü (%23,7) HR pozitif-HER2 pozitif, 72'si (%23,1) HR pozitif-HER2 negatif sınıfta yer almıştır. Olgulardan 5'inin (%1,6) patoloji raporlarından ER, PR ve HER2 durumlarına ulaşılamadığı için sınıflandırma yapılamamıştır (Tablo 12).

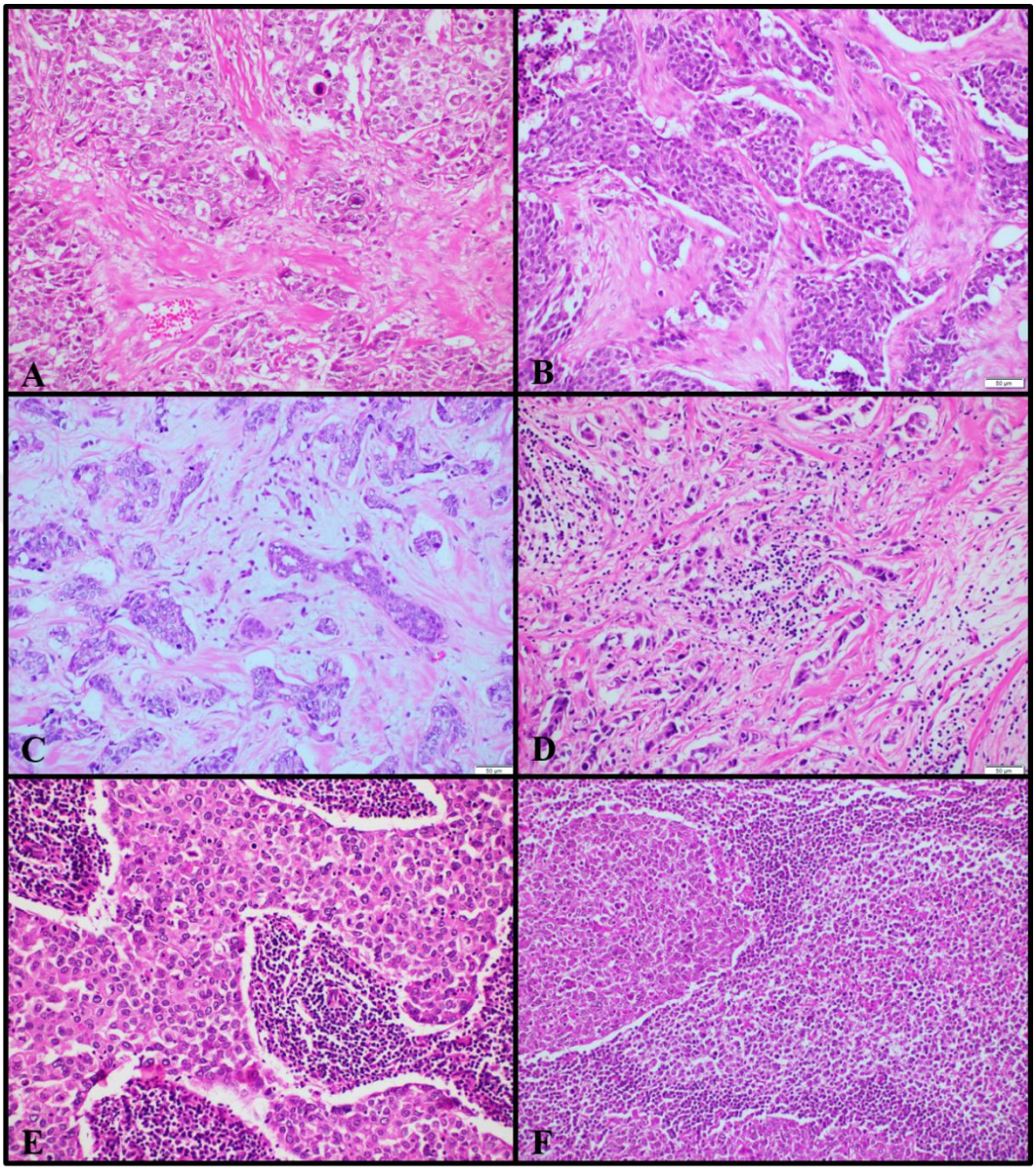
Tümör içeren tüm lamlar gözden geçirilerek en fazla stromal TİL içeren 2 adet H&E boyalı lam seçilerek stromal TİL yoğunluğu ve tümör çevresi meme parankimindeki inflamasyon yüzdesi, tersiyer lenfoid yapılanma, lenfoid agregat, eşlik eden DKİS varlığı ve eşlik eden DKİS varsa onun da stromal TİL yoğunluğu belirlenmiştir. Olguların ortalama stromal TİL yüzdesi 23,6±27,8 olup tümörlerin 37'sinde (%11,9) tersiyer lenfoid yapılanma, 88'inde (%28,2) lenfoid agregat varlığı saptanmıştır. Olguların %32'sine DKİS eşlik etmekte olup eşlik eden DKİS'lerin ortalama TİL yüzdesi 24,5±27,9'dur. Bu parametreler ve olguların diğer histopatolojik prognostik faktörleri Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 12: İnvaziv meme karsinomu olgularının histopatolojik özellikleri

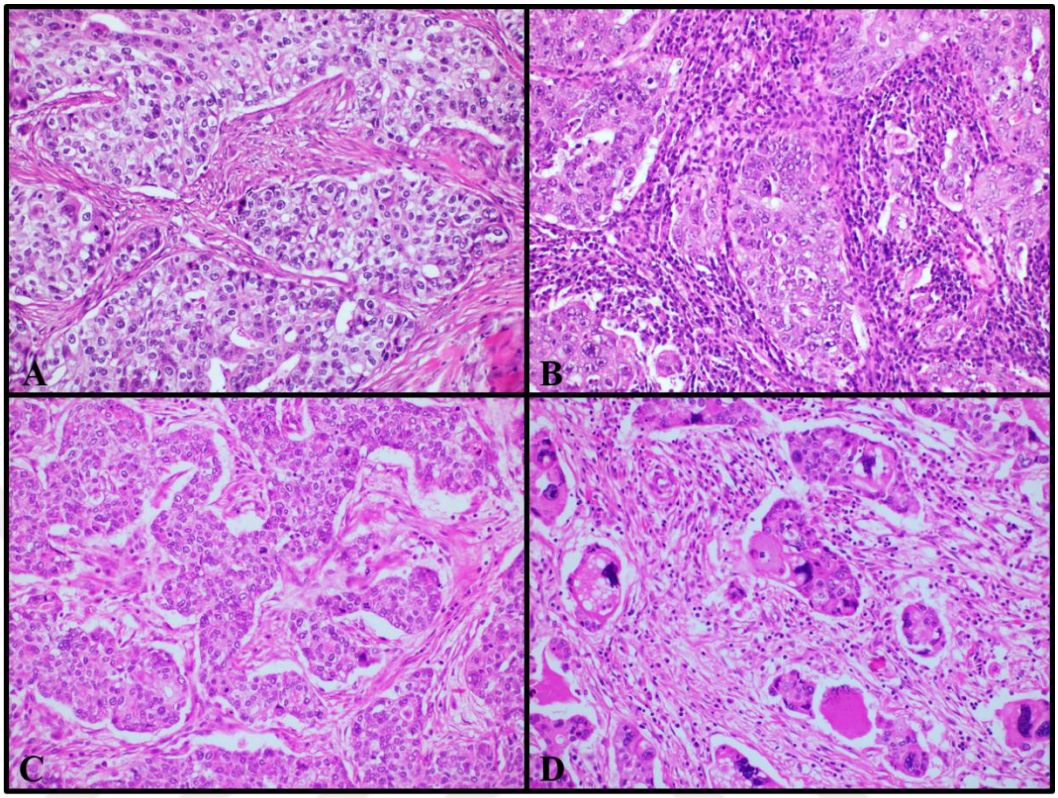
Parametreler (n=312)	
Histolojik tip, n (%)	
İnvaziv duktal karsinom	263 (84,3)
Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom	38 (12,2)
Medüller paternde invaziv duktal karsinom	8 (2,6)
Taşlı yüzük hücre morfolojisi gösteren invaziv duktal karsinom	2 (0,6)
Metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom	1 (0,3)
Tümör çapı (cm)	
Ortalama±ss	3,1±2,3
Ortanca (min-maks)	2,5 (0,15-15)
Tümör derecesi, n (%)	
Derece 1/3	3 (1)
Derece 2/3	18 (5,8)
Derece 3/3	291 (93,2)
ER ekspresyonu, n (%)	
Negatif	157 (50,3)
Düşük ekspresyon (%1-10)	15 (4,8)
Yüksek ekspresyon (%10<)	135 (43,3)
Bilinmiyor	5 (1,6)
PR ekspresyonu, n (%)	
Negatif	166 (53,2)
Düşük ekspresyon (%1-20)	53 (17)
Yüksek ekspresyon (%20<)	80 (25,6)
Bilinmiyor	13 (4,2)
HER2 aşırı ekspresyonu/amplifikasyonu, n (%)	
Var	138 (44,2)
Yok	169 (54,2)
Bilinmiyor	5 (1,6)
Ki67 indeksi, n (%)	
Düşük proliferatif aktivite (%1-15)	7 (2,2)
Yüksek proliferatif aktivite (%15<)	87 (27,9)
Bilinmiyor	218 (69,9)
Reseptör ekspresyonları, n (%)	
Üçlü negatif	97 (31,1)
HR negatif-HER2 pozitif	64 (20,5)
HR pozitif-HER2 pozitif	74 (23,7)
HR pozitif-HER2 negatif	72 (23,1)
Bilinmiyor	5 (1,6)
pT, n (%)	
pT1	99 (31,7)
pT2	163 (52,2)
pT3	32 (10,3)
pT4	6 (1,9)
Bilinmiyor	12 (3,8)
pN, n (%)	
pN0	134 (42,9)
pN1	78 (25)
pN2	39 (12,5)
pN3	55 (17,6)

Bilinmiyor	6 (1,9)
pM, n (%)	
pM0	298 (95,5)
pM1	7 (2,2)
Bilinmiyor	7 (2,2)
Evre, n (%)	
I	63 (20,2)
II	138 (44,2)
III	95 (30,4)
IV	7 (2,2)
Bilinmiyor	9 (2,9)
Stromal TİL oranı	
Ortalama±ss	23,6±27,8
Ortanca (min-max)	10 (1-100)
Stromal TİL yoğunluğu, n (%)	
Hafif (%1-10)	176 (56,4)
Orta (%11-49)	70 (22,4)
Yüksek (%50≤)	66 (21,2)
Tersiyer lenfoid yapılanma, n (%)	
Var	37 (11,9)
Yok	275 (88,1)
Lenfoid agregat, n (%)	
Var	88 (28,2)
Yok	223 (71,5)
Bilinmiyor	1 (0,3)
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon oranı	
Ortalama±ss	17,4±22,5
Ortanca (min-maks)	10 (0-95)
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon yoğunluğu, n (%)	
Hafif (%1-10)	162 (51,9)
Orta (%11-49)	50 (16)
Yüksek (%50≤)	32 (10,3)
Bilinmiyor	68 (21,8)
Eşlik eden DKİS, n (%)	
Var	132 (42,3)
Yok	180 (57,7)
Eşlik eden DKİS TİL oranı	
Ortalama ± ss	24,5±27,9
Ortanca (min-maks)	10 (0-90)
Eşlik eden DKİS'te TİL yoğunluğu, n (%)	
Hafif (%1-10)	77 (24,7)
Orta (%11-49)	22 (7,1)
Yüksek (%50≤)	33 (10,6)
Bilinmiyor	180 (57,7)

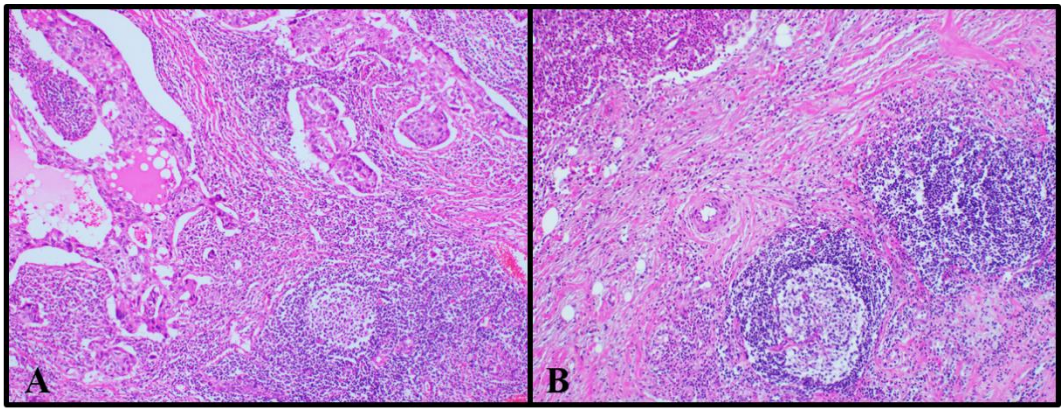
ss: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum



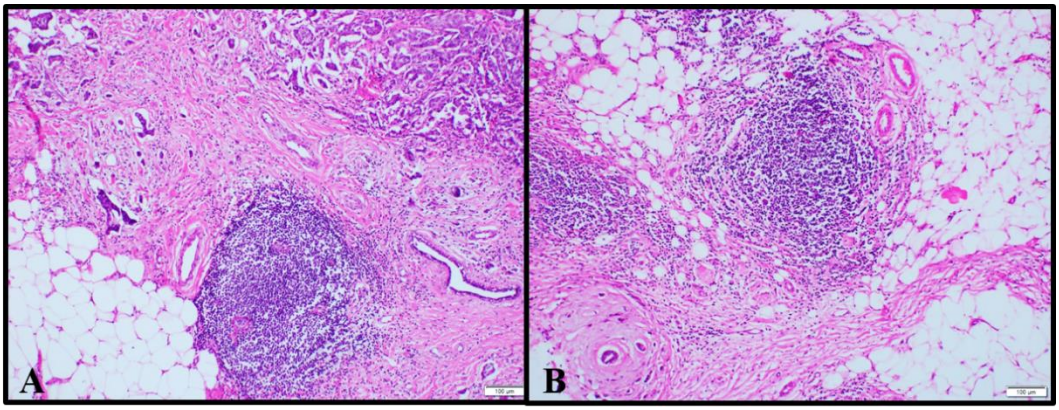
Resim 1: İnvaziv meme karsinomunda stromal TİL yoğunluğuna örnekler **A** %1 stromal TİL, **B** %1 stromal TİL, **C** %10 stromal TİL, **D** %25 stromal TİL, **E** %95 stromal TİL, **F** %100 stromal TİL (X200'lük büyütme)



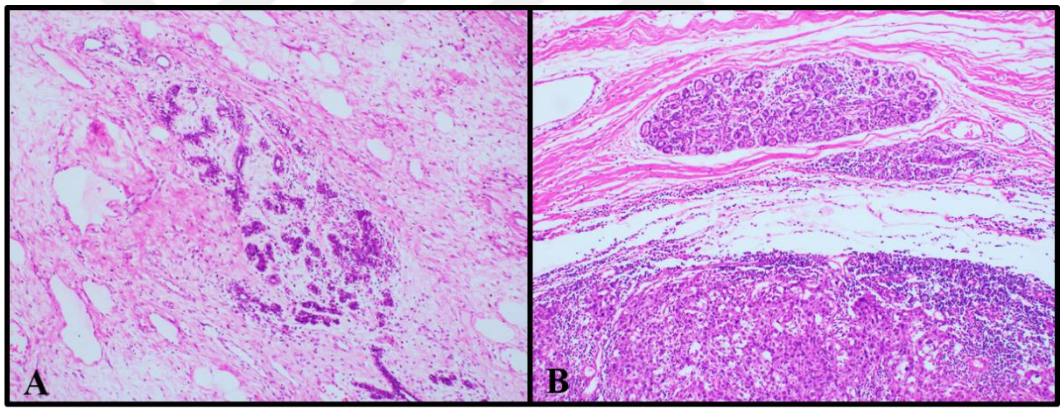
Resim 2: İnvaziv meme karsinomunda heterojen stromal TİL yoğunluğuna sahip tümör örnekleri **A** ve **B** aynı tümöre ait olup ortalama stromal TİL yoğunluğu %60, **C** ve **D** aynı tümöre ait olup ortalama stromal TİL yoğunluğu %40 (X200'lük büyütme)



Resim 3: İnvaziv meme karsinomunda tersiyer lenfoid yapılanma örnekleri (X100'lük büyütme)



Resim 4: İnvaziv meme karsinomunda lenfoid agregat örnekleri (X100'lük büyütme)



Resim 5: Çevre meme parankimindeki inflamasyon yoğunluğu örnekleri **A** %5, **B** %30 (X100'lük büyütme)

4.1.3. Klinik izlem bilgilerine ulaşılabilen invaziv meme karsinomu olgularının demografik ve klinik özellikleri

Çalışmaya dahil edilen 312 olgudan 169'unun klinik izlemi hastanemizde yapılmış olup hastane bilgi yönetim sisteminden neoadjuvan tedavi alma durumu ve nüks varlığı araştırılmıştır. Bu gruptaki hastaların yaş ortalaması 51,4 olup, yaş aralığı 26–82 arasında değişmektedir. Hastaların 4'ü erkektir. Toplam 169 materyal bulunmaktadır. Materyallerin 140'ı (%82,8) mastektomi, 29'u (%17,2) lumpektomi materyalidir. Materyallerin %46,2'si sağ, %53,8'i sol taraflı eksizyondur. Hastaların 35'i (%20,7) neoadjuvan tedavi almıştır. 15 Ocak 2020 tarihine kadarki ortalama genel sağkalım süresi 64,5±31,4 ay olup en uzun genel sağkalım süresi 120 ay, en kısa genel sağkalım süresi 6 aydır. Hastaların 50'si (%29,6) ölmüş, 46'sında (%27,2) nüks izlenmiştir. Nüks yerleri sıklık sırasına göre akciğer, kemik, lenf nodu**,** karaciğer**,** beyin**,** meme**,** meme derisi**,** plevra ve adrenaldir. Hastalıksız sağkalım süresi 59,8±34,8 ay olup en uzun hastalıksız sağkalım süresi 120 ay, en kısa hastalıksız sağkalım süresi 6 aydır (Tablo 13).

Tablo 13: Klinik izlem bilgilerine ulaşılabilen invaziv meme karsinomu olgularının demografik ve klinik özellikleri

Parametreler (n=169)	
Cinsiyet, n (%)	
Kadın	165 (97,6)
Erkek	4 (2,4)
Tanı yaşı (yıl)	
Ortalama±ss	51,4±11,8
Ortanca (min-maks)	51 (26-82)
Materyal tipi, n (%)	
Mastektomi	140 (82,8)
Lumpektomi	29 (17,2)
Materyalin tarafı, n (%)	
Sağ	78 (46,2)
Sol	91 (53,8)
Neoadjuvan tedavi uygulaması, n (%)	
Var	35 (20,7)
Yok	134 (79,3)
Genel sağkalım (ay)	
Ortalama±ss	64,5±31,4
Ortanca (min-maks)	66 (6-120)
Ölüm, n (%)	
Var	50 (29,6)
Yok	119 (70,4)
Hastalıksız sağkalım (ay)	
Ortalama±ss	59,8±34,8
Ortanca (min-maks)	61 (6-120)
Nüks, n (%)	
Var	46 (27,2)
Yok	123 (72,8)
Nüks yeri, n (%)	
Akciğer	21 (12,4)
Kemik	18 (10,7)
Lenf nodu	15 (8,9)
Karaciğer	13 (7,7)
Beyin	12 (7,1)
Meme (ipsilateral)	3 (1,8)
Meme derisi	3 (1,8)
Plevra	2 (1,2)
Adrenal bez	1 (0,6)
ss: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum	

4.1.4. Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen invaziv meme karsinomu olgularının histopatolojik özellikleri

Çalışmaya dahil edilen hastaların 169'unun klinik izlem bilgisine ulaşılmış olup 141'i (%83,4) invaziv duktal karsinom, 20'si (%11,8) bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom, 6'sı (%3,6) medüller paternde invaziv duktal karsinom, 1'i (%0,6) taşlı yüzük hücre morfolojisi gösteren invaziv duktal karsinom ve 1'i (%0,6) metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom tanısı almıştır. Ortalama tümör çapı 3,9±2,6 cm olup olguların 154'ünde (%91,1) tümör derece 3/3'tür. ER, PR ve HER2 durumlarına göre yapılan moleküler sınıflamada olguların 62'si (%36,7) üçlü negatif, 33'ü (%19,5) HR negatif-HER2 pozitif, 39'u (%23,1) HR pozitif-HER2 pozitif, 34'ü (%20,1) HR pozitif-HER2 negatif sınıfta yer almıştır. Olgulardan 1'inin (%0,6) patoloji raporundan ER, PR ve HER2 durumlarına ulaşılamadığı için bu olgu sınıflandırılamamıştır.

Olguların ortalama stromal TİL yüzdesi 21,8±27,1 olup tümörlerin 17'sinde (%10,1) tersiyer lenfoid yapılanma, 49'unda (%29) lenfoid agregat varlığı saptanmıştır. Olguların %40,8'ine DKİS eşlik etmekte olup eşlik eden DKİS'lerin ortalama TİL yüzdesi 25,3±26,8'dir (Tablo 14).

Tablo 14: Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen invaziv meme karsinomu olgularının histopatolojik özellikleri

Parametreler (n=169)	
Histolojik tip, n (%)	
İnvaziv duktal karsinom	141 (83,4)
Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom	20 (11,8)
Medüller paternde invaziv duktal karsinom	6 (3,6)
Taşlı yüzük hücre morfolojisi gösteren invaziv duktal karsinom	1 (0,6)
Metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom	1 (0,6)
Tümör çapı (cm)	
Ortalama±ss	3,9±2,6
Ortanca (min-maks)	3 (1-15)
Tümör derecesi, n (%)	
Derece 1/3	2 (1,2)
Derece 2/3	13 (7,7)
Derece 3/3	154 (91,1)
ER ekspresyonu n (%)	
Negatif	94 (55,6)
Düşük ekspresyon (%1-10)	10 (5,9)
Yüksek ekspresyon (%10<)	64 (37,9)
Bilinmiyor	1 (0,6)
PR ekspresyonu, n (%)	
Negatif	93 (55)
Düşük ekspresyon (%1-20)	29 (17,2)
Yüksek ekspresyon (%20<)	43 (25,4)
Bilinmiyor	4 (2,4)
HER2 aşırı ekspresyonu/amplifikasyonu, n (%)	
Var	72 (42,6)
Yok	96 (56,8)
Bilinmiyor	1 (0,6)
Ki67 indeksi, n (%)	
Düşük proliferatif aktivite (%1-15)	4 (2,4)
Yüksek proliferatif aktivite (%15<)	52 (30,8)
Bilinmiyor	113 (66,9)
Reseptör ekspresyonu, n (%)	
Üçlü negatif	62 (36,7)
HR negatif-HER2 pozitif	33 (19,5)
HR pozitif-HER2 pozitif	39 (23,1)
HR pozitif-HER2 negatif	34 (20,1)
Bilinmiyor	1 (0,6)
pT, n (%)	
pT1	52 (30,8)
pT2	94 (55,6)
pT3	15 (8,9)
pT4	5 (3)
Bilinmiyor	3 (1,8)
pN, n (%)	
pN0	69 (40,8)
pN1	45 (26,6)
pN2	23 (13,6)

pN3	30 (17,8)
Bilinmiyor	2 (1,2)
pM, n (%)	
pM0	162 (95,9)
pM1	5 (3)
Bilinmiyor	2 (1,2)
Evre, n (%)	
I	36 (21,3)
II	71 (42)
III	55 (32,5)
IV	5 (3)
Bilinmiyor	2 (1,2)
Stromal TİL oranı	
Ortalama±ss	21,8 ± 27,1
Ortanca (min-max)	8 (1-100)
Stromal TİL yoğunluğu, n (%)	
Hafif (%1-10)	101 (59,8)
Orta (%11-49)	37 (21,9)
Yüksek (%50≤)	31 (18,3)
Tersiyer lenfoid yapılanma, n (%)	
Var	17 (10,1)
Yok	152 (89,9)
Lenfoid agregat, n (%)	
Var	49 (29)
Yok	120 (71)
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon oranı	
Ortalama±ss	19,4±23,7
Ortanca (min-maks)	10 (0-95)
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon yoğunluğu, n (%)	
Hafif (%1-10)	78 (46,2)
Orta (%11-49)	33 (19,5)
Yüksek (%50≤)	18 (10,7)
Bilinmiyor	40 (23,7)
Eşlik eden DKİS, n (%)	
Var	69 (40,8)
Yok	100 (59,2)
Eşlik eden DKİS'te TİL oranı	
Ortalama±ss	25,3±26,8
Ortanca (min-maks)	10 (0-90)
Eşlik eden DKİS'te TİL yoğunluğu, n (%)	
Hafif (%1-10)	39 (23,1)
Orta (%11-49)	13 (7,7)
Yüksek (%50≤)	18 (10,7)
Bilinmiyor	99 (58,6)

ss: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum

4.1.5. Stromal TİL yoğunluğu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

İnvaziv meme karsinomlu hastalarda pN gruplarına göre bakıldığında stromal TİL yoğunluğu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,039). Yapılan ikili karşılaştırmalarda bu farkın pN0 ile pN1 ve pN0 ile pN3 arasındaki ilişkiden kaynaklandığı bulunmuştur (sırasıyla p=0,035, p=0,045). pN1, pN2 ve pN3'ün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p=0,112). Lenf nodu metastatazı yok (pN0) ve var (pN1, pN2, pN3) şeklinde yapılan sınıflamada, lenf nodu metastazı olmayan hastaların %24,6'sı yüksek TİL yoğunluğuna sahip grupta; lenf nodu metastazı olan hastaların ise %18,6'sı yüksek TİL yoğunluğuna sahip grupta olup aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p=0,040) (Tablo 15).

Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen hasta grubunda neoadjuvan tedavi ve stromal TİL yoğunluğu karşılaştırıldığında, neoadjuvan tedavi alan hastaların %2,9'unun, neoadjuvan tedavi almayan grubun %22,4'ünün yüksek TİL yoğunluğuna sahip olduğu ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu izlenmiştir (p=0,029) (Tablo 15).

Stromal TİL yoğunluğu ile yaş ortalaması, 40 yaş altı ve üstü hasta grupları, cinsiyet, pT, pM, evre, ölüm, nüks, total sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 15).

Tablo 15: İnvaziv meme karsinomlarında stromal TİL yoğunluğu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		Stromal TİL grupları, n (%)			
	n (%)	**Düşük (%1-10)**	**Orta (%11-49)**	**Yüksek (50≤)**	***p***
Yaş, n	312	176	70	66	0,919
Ortalama ± ss		52,5±13,4	51,7±11,5	52,1±12,6	
Yaş	312				0,972
40 yaş altı	61 (19,6)	35 (57,4)	13 (21,3)	13 (21,3)	
40 yaş ve üzeri	251 (80,4)	141 (56,2)	57 (22,7)	53 (21,1)	
Cinsiyet	312				0,830
Kadın	307 (98,4)	172 (56,0)	69 (22,5)	66 (21,5)	
Erkek	5 (1,6)	4 (80,0)	1 (20)	0 (-)	
pT	300				0,715
pT1	99 (33,0)	51 (51,5)	25 (25,3)	23 (23,2)	
pT2	163 (54,3)	96 (58,9)	34 (20,9)	33 (20,2)	
pT3	32 (10,7)	19 (59,4)	8 (25,0)	5 (15,6)	
pT4	6 (2,0)	4 (66,7)	0 (-)	2 (33,3)	
pN	306				**0,039**
pN0	134 (43,8)	80 (59,7)	21 (15,7)	33 (24,6)	
pN1	78 (25,5)	43 (55,1)	23 (29,5)	12 (15,4)	
pN2	39 (12,7)	18 (46,2)	8 (20,5)	13 (33,3)	
pN3	55 (18,0)	32 (58,2)	16 (29,1)	7 (12,7)	
pN	306				**0,040**
pN0	134 (43,8)	80 (59,7)	21 (15,7)	33 (24,6)	
pN1-pN2-pN3	172 (56,2)	93 (54,1)	47 (27,3)	32 (18,6)	
pM	305				0,272
pM0	298 (97,7)	166 (55,7)	68 (22,8)	64 (21,5)	
pM1	7 (2,3)	6 (85,7)	0 (-)	1 (14,3)	
Evre	303				0,356
I	63 (20,8)	32 (50,8)	14 (22,2)	17 (27,0)	
II	138 (45,5)	85 (61,6)	27 (19,6)	26 (18,8)	
III	95 (31,4)	48 (50,5)	26 (27,4)	21 (22,1)	

IV	7 (2,3)	6 (85,7)	0 (-)	1 (14,3)	
Neoadjuvan tedavi	169				**0,029**
Var	35 (20,7)	25(71,4)	9 (25,7)	1 (2,9)	
Yok	134 (79,3)	76 (56,7)	28 (20,9)	30 (22,4)	
Ölüm	312				0,084
Var	69 (22,1)	47 (68,1)	11 (15,9)	11 (15,9)	
Yok	243 (77,9)	129 (53,1)	59 (24,3)	55 (22,6)	
Nüks	169				0,052
Var	46 (27,2)	34 (73,9)	8 (17,4)	4 (8,7)	
Yok	123 (72,8)	67 (54,5)	29 (23,6)	27 (22,0)	
Genel sağkalım, n	312	176	70	66	0,847
Ortalama±ss		68,2±30,9	70,6±30,5	68,3±32,3	
Hastalıksız sağkalım, n	169	101	37	31	0,661
Ortalama±ss		58,4±34,5	59,6±33,5	64,9±38	
ss: standart sapma. Yaş ortalaması, total sağkalım ve hastalıksız sağkalım için One-Way Anova testi; diğer parametreler için Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.					

4.1.6. Stromal TİL yoğunluğu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

İnvaziv duktal karsinomların %16,7'sinin, bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinomların %34,2'sinin, medüller paternde invaziv duktal karsinomların tamamının yüksek TİL yoğunluğuna sahip olduğu saptanmıştır. Tümör tanıları ile stromal TİL yoğunluğu arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (p<0,001) (Tablo 16). Yapılan ikili karşılaştırmalarda farkın invaziv duktal karsinom ile bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom, medüller paternde invaziv duktal karsinom ile invaziv duktal karsinom ve medüller paternde invaziv duktal karsinom ile bazal

benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom arasındaki farktan kaynaklandığı saptanmıştır (sırasıyla p=0,032, p<0,001, p=0,002).

Tümörlerin ER, PR ve HER2 ekspresyonlarına göre yapılan gruplamada üçlü negatif gruptakilerin %27,8'inin, HR negatif-HER2 pozitif gruptakilerin %34,4'ünün, HR pozitif-HER2 pozitif gruptakilerin %8,1'inin ve HR pozitif-HER2 negatif gruptakilerin %13,9'unun yüksek TİL yoğunluğuna sahip olduğu izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,001) (Tablo 16). Yapılan ikili karşılaştırmalarda ise üçlü negatif grup ile HR pozitif-HER2 negatif ve HR pozitif-HER2 pozitif grup arasında; HR negatif-HER2 pozitif grup ile HR pozitif-HER2 negatif ve HR pozitif-HER2 pozitif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla p=0,037, p=0,005, p=0,005 ve p<0,001). Üçlü negatif grup ile HR negatif-HER2 pozitif grup arasındaki fark ve HR pozitif-HER2 negatif ile HR reseptörü pozitif-HER2 pozitif grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (sırasıyla p=0,609, p=0,462).

Sadece ER ekspresyonuna göre yapılan sınıflamada ER negatif tümörlerin %30,6'sı, düşük ER ekspresyonu gösteren tümörlerin %26,7'si ve yüksek ER ekspresyonu gösteren tümörlerin %9,6'sı yüksek TİL yoğunluğuna sahiptir. ER ekspresyonu ile stromal TİL yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 16). Yapılan ikili karşılaştırmalarda ER negatif grup ile yüksek ER ekspresyonu gösteren grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001). Düşük ER ekspresyonu gösteren grup ile negatif ya da yüksek ER ekspresyonu gösteren grup arasında stromal TİL yoğunluğu

açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla *p*=0,946, *p*=0,147).

Sadece PR ekspresyonuna göre yapılan sınıflamada PR negatif tümörlerin %28,9'u, düşük PR ekspresyonu gösteren tümörlerin %13,2'si ve yüksek PR ekspresyonu gösteren tümörlerin %12,5'i yüksek TİL yoğunluğuna sahiptir. ER ekspresyonuna benzer şekilde PR ekspresyonu ile de stromal TİL yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (*p*=0,004) (Tablo 16). Yapılan ikili karşılaştırmalarda PR negatif grup ile düşük PR ekspresyonu gösteren grup ve PR negatif grup ile yüksek PR ekspresyonu gösteren grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla *p*=0,010, *p*=0,011). Düşük PR ekspresyonu gösteren grup ile yüksek PR ekspresyonu gösteren grup arasında stromal TİL yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (*p*=0,572).

Stromal TİL yoğunluğu ile tümör derecesi, HER2 ekspresyonu ve Ki67 oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 16).

Tablo 16: İnvaziv meme karsinomlarında stromal TİL yoğunluğu ile histopatolojik prognostik faktörlerin karşılaştırılması

		Stromal TİL yoğunluğu, n (%)			
	n (%)	**Düşük (%1-10)**	**Orta (%11-49)**	**Yüksek (50≤)**	***p***
Histolojik tip	312				**<0,001**
İnvaziv duktal karsinom	263 (84,3)	155 (58,9)	64 (24,3)	44 (16,7)	
Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom	38 (12,2)	19 (50)	6 (15,8)	13 (34,2)	
Medüller paternde invaziv duktal karsinom	8 (2,6)	0 (-)	0 (-)	8 (100)	
Taşlı yüzük hücre morfolojisi gösteren invaziv duktal karsinom	2 (0,6)	2 (100)	0 (-)	0 (-)	
Metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom	1 (0,3)	0 (-)	0 (-)	1 (100)	
Reseptör ekspresyonu	307				**0,001**
Üçlü negatif	97 (31,6)	48 (49,5)	22 (22,7)	27 (27,8)	
HR negatif-HER2 pozitif	64 (20,8)	27 (42,2)	15 (23,4)	22 (34,4)	
HR pozitif-HER2 pozitif	74 (24,1)	51 (68,9)	17 (23)	6 (8,1)	
HR pozitif-HER2 negatif	72 (23,5)	49 (68,1)	13 (18,1)	10 (13,9)	
Tümör derecesi	312				0,676
Derece 1/3	3 (1,0)	3 (100)	0 (-)	0 (-)	
Derece 2/3	18 (5,8)	11 (61,1)	5 (27,8)	2 (11,1)	
Derece 3/3	291 (93,3)	162 (55,7)	65 (22,3)	64 (22,0)	
ER ekspresyponu	307				**<0,001**
Negatif	157 (51,1)	73 (46,5)	36 (22,9)	48 (30,6)	
Düşük ekspresyon (%1-10)	15 (4,9)	8 (53,3)	3 (20,0)	4 (26,7)	
Yüksek ekspresyon (%10<)	135 (44,0)	93 (68,9)	29 (21,5)	13 (9,6)	
PR ekspresyonu	299				**0,004**
Negatif	166 (55,5)	80 (48,2)	38 (22,9)	48 (28,9)	
Düşük ekspresyon (%1-20)	53 (17,7)	38 (71,7)	8 (15,1)	7 (13,2)	
Yüksek ekspresyon (%20<)	80 (26,8)	50 (65,0)	18 (22,5)	10 (12,5)	
HER2 aşırı ekspresyonu/amplifikasyonu	307				0,854
Var	138 (45,0)	78 (56,5)	32 (23,2)	28 (20,3)	
Yok	169 (55,0)	97 (57,4)	35(20,7)	37 (21,9)	
Ki67	94				1,000
Düşük proliferatif aktivite (%1-15)	7 (7,4)	4 (57,1)	1 (14,3)	2 (28,6)	
Yüksek proliferatif aktivite (%15<)	87 (92,6)	43 (49,4)	19 (21,8)	25 (28,7)	

Tümöre eşlik eden tersiyer lenfoid yapılanma ile stromal TİL yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p<0,001). Tersiyer lenfoid yapılanma içeren tümörlerin %56,8'i, içermeyenlerin ise %16,4'ü yüksek TİL yoğunluğuna sahiptir (Tablo 17).

Lenfoid agregat varlığı ile stromal TİL yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmış olup (p=0,004) lenfoid agregat içeren tümörlerin %33'ü, içermeyen tümörlerin ise %18,4'ü orta düzeyde TİL yoğunluğuna sahiptir (Tablo 17).

Tümöre DKİS'in eşlik edip etmemesine göre değerlendirildiğinde stromal TİL yoğunluğu açısından anlamlı bir ilişki bulunmazken (p=0,439); DKİS eşlik eden gruptaki tümörün TİL yoğunluğu ile DKİS'in TİL yoğunluğu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,0001) (Tablo 17).

Stromal TİL yoğunluğu ile tümör çevresi meme lobüllerindeki inflamasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 17).

Tablo 17: İnvaziv meme karsinomlarında stromal TİL yoğunluğu ile diğer histolojik parametrelerin karşılaştırılması

		Stromal TİL, n (%)			
	n (%)	**Düşük (%1-10)**	**Orta (%11-49)**	**Yüksek (50≤)**	***p***
Tersiyer lenfoid yapılanma	312				**<0,001**
Var	37 (11,9)	6 (16,2)	10 (27,0)	21 (56,8)	
Yok	275 (88,1)	170 (61,8)	60 (21,8)	45 (16,4)	
Lenfoid agregat	311				**0,004**
Var	88 (28,3)	49 (55,7)	29 (33,0)	10 (11,4)	
Yok	223 (71,7)	127 (57)	41 (18,4)	55 (24,7)	
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon yoğunluğu	244				0,715
Hafif (%1-10)	162 (66,4)	93 (57,4)	37 (22,8)	32 (19,8)	
Orta (%11-49)	50 (20,5)	25 (50,0)	12 (24,0)	13 (26,0)	
Yüksek (%50≤)	32 (13,1)	15 (46,9)	8 (25,0)	9 (28,1)	
Eşlik eden DKİS	312				0,439
Var	132 (42,3)	80 (60,6)	27 (20,5)	25 (18,9)	
Yok	180 (57,7)	96 (53,3)	43 (23,9)	41 (22,8)	
Eşlik eden DKİS'te TİL yoğunluğu	132				**<0,001**
Hafif (%1-10)	77 (58,3)	58 (75,3)	12 (15,6)	7 (9,1)	
Orta (%11-49)	22 (16,7)	11 (50,0)	9 (40,9)	2 (9,1)	
Yüksek (%50≤)	33 (25,0)	11 (33,3)	5 (15,2)	17 (51,5)	
Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.					

4.1.7. Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

İnvaziv meme karsinomlarında tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile neoadjuvan tedavi alma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki

saptanmıştır (p=0,025). Neoadjuvan tedavi alan hiçbir olgunun tümörü tersiyer lenfoid yapılanma içermezken, neoadjuvan tedavi almayan olguların %12,7'sinin tersiyer lenfoid yapılanma içerdiği gözlenmiştir (Tablo 18).

Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile ölüm arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmış olup ölen olguların %14,4'ünün, yaşayan olguların ise %2,9'unun tümöründe tersiyer lenfoid yapılanma içerdiği gözlenmiştir (p=0,009) (Tablo 18).

Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile nüks arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmış olup nüks olan olguların %2,2'sinde, nüks olamyan olguların ise %13'ünün tümöründe tersiyer lenfoid yapılanma içerdiği gözlenmiştir (p=0,043) (Tablo 18).

Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile yaş ortalaması, yaş grupları, cinsiyet, pT, pN, pM, evre, total sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 18).

Tablo 18: İnvaziv meme karsinomlarında tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		Tersiyer lenfoid yapılanma n, (%)		
	n (%)	**Var**	**Yok**	***p***
Yaş, n Ortalama ± ss	312	52,8 ± 12,1	52,1 ± 12,9	0,767
Yaş <40 ≥40	312 61 (19,6) 251 (80,4)	 5 (8,2) 32 (12,7)	 56 (91,8) 219 (87,3)	0,324
Cinsiyet Kadın Erkek	312 307 (98,4) 5 (1,6)	 37 (12,1) 0 (-)	 270 (87,9) 5 (100)	1,000
pT pT1 pT2 pT3 pT4	300 99 (33,0) 163 (54,3) 32 (10,7) 6 (2,0)	 9 (9,1) 25 (15,3) 2 (6,3) 0 (-)	 90 (90,9) 138 (84,7) 30 (93,8) 6 (100)	0,317
pN pN0 pN1 pN2 pN3	306 134 (43,8) 78 (25,5) 39 (12,7) 55 (18,0)	 20 (14,9) 7 (9,0) 6 (15,4) 4 (7,3)	 114 (85,1) 71 (91,0) 33 (84,6) 51 (92,7)	0,344
pN pN0 pN1-pN2-pN3	306 134 (43,8) 172 (56,2)	 20 (14,9) 17 (9,9)	 114 (85,1) 155 (90,1	0,180
pM pM0 pM1	305 298 (97,7) 7 (2,3)	 37 (12,4) 0 (-)	 261 (87,6) 7 (100)	1,000
Evre I II III IV	303 63 (20,8) 138 (45,5) 95 (31,4) 7 (2,3)	 8 (12,7) 17 (12,3) 12 (12,6) 0 (-)	 55 (87,3) 121 (87,7) 83 (87,4) 7 (100)	0,800
Neoadjuvan tedavi Var Yok	169 35 (20,7) 134 (79,3)	 0 (-) 17 (12,7)	 35 (100) 117 (87,3)	**0,025**
Ölüm Var Yok	312 69 (22,1) 243 (77,9)	 35 (14,4) 2 (2,9)	 208 (85,6) 67 (97,1)	**0,009**
Nüks Var Yok	169 46 (27,2) 123 (72,8)	 1 (2,2) 16 (13)	 45 (97,8) 107 (87)	**0,043**
Total sağkalım, n Ortalama ± ss	312	67,9 ± 32	68,8 ± 30,9	0,869
Hastalıksız sağkalım, n Ortalama ± ss	169	64,3 ± 35,3	59,4 ± 34,9	0,583

ss: standart sapma. Yaş ortalaması, total sağkalım ve hastalıksız sağkalım için One-Way Anova testi; diğer parametreler için Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.

4.1.8. Tersiyer lenfoid yapılanma ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

İnvaziv meme karsinomları histolojik tip ve tersiyer lenfoid yapılanma açısından karşılaştırıldığında medüller paternde invaziv duktal karsinomların %25'inin, bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinomların %21,1'inin, invaziv duktal karsinomların sadece %9,9'unun tersiyer lenfoid yapılanma içerdiği izlenmiştir. Bu tanıların tersiyer lenfoid yapılanma içerme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,048) (Tablo 19).

HR ve HER2 ekspresyonlarına göre yapılan gruplandırma ile tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olup (p=0,019) en yüksek oranda (%21,9) tersiyer lenfoid yapılanma içeren grubun HR negatif-HER2 pozitif grup olduğu belirlenmiştir (Tablo 19). Yapılan ikili karşılaştırmalarda HR negatif-HER2 pozitif grup ile HR pozitif-HER2 pozitif grup ve HR negatif-HER2 pozitif grup ile HR pozitif-HER2 negatif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla p=0,022 ve p=0,005).

Hormon reseptörleri tek tek ele alınacak olursa ER ekspresyon oranı ile tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmış (p=0,004) olup ER negatif olan grupta %14,6, ER düşük ekspresyon grubunda %33,3, ER yüksek ekspresyon grubunda ise %6,7 oranında tersiyer lenfoid yapılanma varlığı izlenmiştir (Tablo 19). PR ekspresyon oranı ile tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmış (p=0,013) olup PR negatif olan grupta %16,9, PR düşük ekspresyon grubunda %3,8, PR yüksek ekspresyon grubunda ise %7,5 oranında tersiyer lenfoid yapılanma varlığı izlenmiştir (Tablo 19). Yapılan ikili karşılaştırmalarda PR

negatif grup ile düşük PR ekspresyon grubu ve PR negatif grup ile yüksek PR ekspresyon grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olup (sırasıyla *p*=0,016 ve *p*=0,046) düşük ve yüksek PR ekspresyonu arasında anlamlı fark bulunmamıştır (*p*=0,476).

Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile tümör derecesi, HER2 ekspresyonu ve Ki67 oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 19).

Tablo 19: İnvaziv meme karsinomlarında tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile histopatolojik prognostik faktörlerin karşılaştırılması

		Tersiyer lenfoid yapılanma n, (%)		
	n (%)	**Var**	**Yok**	***p***
Histolojik tip	312			**0,048**
İnvaziv duktal karsinom	263 (84,3)	26 (9,9)	237 (90,1)	
Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom	38 (12,2)	8 (21,1)	30 (78,9)	
Medüller paternde invaziv duktal karsinom	8 (2,6)	2 (25)	6 (75)	
Taşlı yüzük hücre morfolojisi gösteren invaziv duktal karsinom	2 (0,6)	1 (50)	1 (50)	
Metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom	1 (0,3)	0 (-)	1 (100)	
Reseptör ekspresyonu	307			**0,019**
Üçlü negatif	97 (31,6)	13 (13,4)	84 (86,6)	
HR negatif-HER2 pozitif	64 (20,8)	14 (21,9)	50 (78,1)	
HR pozitif-HER2 pozitif	74 (24,1)	6 (8,1)	68 (91,9)	
HR pozitif-HER2 negatif	72 (23,5)	4 (5,6)	68 (94,4)	
Tümör derecesi	312			1,000
Derece 1/3	3 (1,0)	0 (-)	3 (100)	
Derece 2/3	18 (5,8)	2 (11,1)	16 (88,9)	
Derece 3/3	291 (93,3)	35 (12,0)	256 (88,0)	
ER ekspresyonu	307			**0,004**
Negatif	157 (51,1)	23 (14,6)	134 (85,4)	
Düşük ekspresyon (%1-10)	15 (4,9)	5 (33,3)	10 (66,7)	
Yüksek ekspresyon (%10<)	135 (44)	9 (6,7)	126 (93,3)	
PR ekspresyonu	299			**0,013**
Negatif	166 (55,5)	28 (16,9)	138 (83,1)	
Düşük ekspresyon (%1-20)	53 (17,7)	2 (3,8)	51 (96,2)	
Yüksek ekspresyon (%20<)	80 (26,8)	6 (7,5)	74 (92,5)	
HER2 aşırı ekspresyonu/amplifikasyonu	307			0,235
Var	138 (45)	20 (14,5)	118 (85,5)	
Yok	169 (55)	17 (10,1)	152 (89,9)	
Ki67	94			1,000
Düşük proliferatif aktivite (%1-15)	7 (7,4)	1 (14,3)	6 (85,7)	
Yüksek proliferatif aktivite (%15<)	87 (92,6)	15 (17,2)	72 (82,8)	

Tümöre eşlik eden tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile stromal TİL yoğunluğu ve stromal TİL yüzdesi ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p<0,001). Yüksek TİL yoğunluğuna sahip tümörlerin %31,8'inin, düşük TİL yoğunluğuna sahip tümörlerin ise %3,4'ünün tersiyer lenfoid yapılanmanın içerdiği gözlenmiştir. Tersiyer lenfoid yapılanma içeren gruptaki ortalama TİL %52,1 iken içermeyen grupta %19,8'dir (Tablo 20).

Tümöre DKİS'in eşlik edip etmemesine göre tersiyer lenfoid yapılanma varlığı açısından anlamlı bir ilişki bulunmazken (p=0,817); DKİS'in eşlik ettiği grupta, DKİS'in TİL yoğunluğu ile tersiyer lenfoid yapılanma varlığı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 20).

Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile tümör çevresi meme parankiminde inflamasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 20).

Tablo 20: İnvaziv meme karsinomlarında tersiyer lenfoid yapılanma varlığı diğer histolojik parametrelerin karşılaştırılması

		Tersiyer lenfoid yapılanma n, (%)		
	n (%)	**Var**	**Yok**	***p***
Stromal TİL yüzdesi, n Ortalama ± ss	312	 52,1 ± 29,6	 19,8 ± 25,3	**<0,001**
Stromal TİL yoğunluğu Hafif (%1-10) Orta (%11-49) Yüksek (%50≤)	312 176 (56,4) 70 (22,4) 66 (21,2)	 6 (3,4) 10 (14,3) 21 (31,8)	 170 (96,6) 60 (85,7) 45 (68,2)	**<0,001**
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon yoğunluğu Hafif (%1-10) Orta (%11-49) Yüksek (%50≤)	244 162 (66,4) 50 (20,5) 32 (13,1)	 16 (9,9) 8 (16,0) 7 (21,9)	 146 (90,1) 42 (84,0) 25 (78,1)	0,130
Eşlik eden DKİS Var Yok	312 132 (42,3) 180 (57,7)	 22 (12,2) 15 (11,4)	 158 (87,8) 117 (88,6)	0,817
Eşlik eden DKİS'te TİL yoğunluğu Hafif (%1-10) Orta (%11-49) Yüksek (%50≤)	132 77 (58,3) 22 (16,7) 33 (25,0)	 2 (2,6) 2 (9,1) 11 (33,3)	 75 (97,4) 20 (90,9) 22 (66,7)	**<0,001**

4.1.9. CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Demografik ve klinikopatolojik özellikler ile intratümöral TİL grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 21).

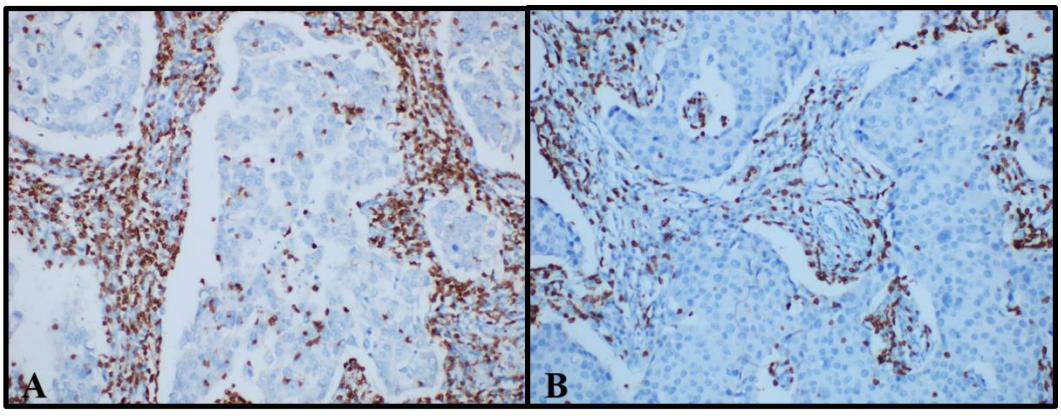
Tablo 21: CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		CD3 ile belirlenen intratümöral TİL grupları, n (%)			
	n (%)	**Düşük (%1-10)**	**Orta (%11-49)**	**Yüksek (%50≤)**	***p***
Yaş	99				1,000
<40	16 (16,2)	16 (100)	0 (-)	0 (-)	
≥40	83 (83,8)	79 (95,2)	3 (3,6)	1 (1,2)	
pT	97				1,000
pT1	28 (28,9)	27 (96,4)	1 (3,6)	0 (-)	
pT2	58 (59,8)	55 (94,8)	2 (3,4)	1 (1,7)	
pT3	10 (10,3)	10 (100)	0 (-)	0 (-)	
pT4	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	0 (-)	
pN	98				0,738
pN0	39 (39,8)	37 (94,9)	2 (5,1)	0 (-)	
pN1	23 (23,5)	21 (91,3)	1 (4,3)	1 (4,3)	
pN2	16 (16,3)	16 (100)	0 (-)	0 (-)	
pN3	20 (20,4)	20 (100)	0 (-)	0 (-)	
pM	98				1,000
pM0	97 (99)	93 (95,9)	3 (3,1)	1 (1)	
pM1	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	0 (-)	
Evre	98				0,342
I	22 (22,4)	21 (95,5)	1 (4,5)	0 (-)	
II	36 (36,7)	33 (91,7)	2 (5,6)	1 (2,8)	
III	39 (39,8)	39 (100)	0 (-)	0 (-)	
IV	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	0 (-)	
Neoadjuvan tedavi	99				1,000
Var	15 (15,2)	15 (100)	0 (-)	0 (-)	
Yok	84 (84,8)	80 (95,2)	3 (3,6)	1 (1,2)	
Ölüm	99				0,676
Var	25 (25,3)	25 (100)	0 (-)	0 (-)	
Yok	74 (74,7)	70 (94,6)	3 (4,1)	1 (1,4)	
Nüks	99				1,000
Var	22 (22,2)	22 (100)	0 (-)	0 (-)	
Yok	77 (77,8)	73 (94,8)	3 (3,9)	1 (1,3)	

4.1.10. CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

CD3 ile belirlenen intratümöral TİL grupları ile histopatolojik özellikler karşılaştırıldığında sadece histolojik tip ile intratümöral TİL grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,035) (Tablo 22). Medüller paternde invaziv duktal karsinomların %20'si orta TİL grubunda, %20'si yüksek TİL grubunda; bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinomların tümü hafif TİL grubunda ve invaziv duktal karsinomların %97,4'ü hafif, %2,6'sı orta TİL grubunda yer almıştır.

İntratümöral TİL'deki PD-1, LAG-3 ve TİM-3 ekspresyonu ile CD3 ile belirlenen intratümöral TİL grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (Tablo 22).



Resim 6: İnvaziv meme karsinomunda CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranına örnekler **A** %10, **B** %2 (X200'lük büyütme)

Tablo 22: CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı ile histopatolojik özellikler ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

		CD3 ile belirlenen intratümöral TİL grupları, n (%)			
	n (%)	**Düşük (%1-10)**	**Orta (%11-49)**	**Yüksek (%50≤)**	***p***
Histolojik tip	99				**0,035**
İnvaziv duktal karsinom	77 (77,8)	75 (97,4)	2 (2,6)	0 (-)	
Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom	16 (16,2)	16 (100)	0 (-)	0 (-)	
Medüller paternde invaziv duktal karsinom	5 (5,1)	3 (60)	1 (20)	1 (20)	
Metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	0 (-)	
Reseptör ekspresyonu	98				1,000
Üçlü negatif	51 (52)	48 (98,1)	2 (3,9)	1 (2,0)	
HR negatif-HER2 pozitif	23 (23,5)	23 (100)	0 (-)	0 (-)	
HR pozitif-HER2 pozitif	24 (24,5)	24 (100)	0 (-)	0 (-)	
Tümör derecesi	99				1,000
Derece 1/3	2 (2,0)	2 (100)	0 (-)	0 (-)	
Derece 2/3	9 (9,1)	9 (100)	0 (-)	0 (-)	
Derece 3/3	88 (88,9)	84 (95,5)	3 (3,4)	1 (1,1)	
ER ekspresyonu	99				0,162
Negatif	72 (72,7)	70 (97,2)	1 (1,4)	1 (1,4)	
Düşük ekspresyon (%1-10)	5 (5,1)	4 (80,0)	1 (20,0)	0 (-)	
Yüksek ekspresyon (%10<)	22 (22,2)	21 (95,5)	1 (4,5)	0 (-)	
PR ekspresyonu	98				0,662
Negatif	69 (70,4)	67 (97,1)	1 (1,4)	1 (1,4)	
Düşük ekspresyon (%1-20)	15(15,3)	14 (93,3)	1 (6,7)	0 (-)	
Yüksek ekspresyon (%20<)	14 (14,3)	14 (100)	0 (-)	0 (-)	
HER2 aşırı ekspresyonu/amplifikasyonu	98				0,496
Var	47 (48)	47 (100)	0 (-)	0 (-)	
Yok	51 (52)	48 (94,1)	2 (3,9)	1 (2,0)	
Ki67	39				1,000
Düşük proliferatif aktivite (%1-15)	2 (5,1)	2 (100)	0 (-)	0 (-)	
Yüksek proliferatif aktivite (%15<)	37 (94,9)	35 (94,6)	2 (5,4)	0 (-)	
Stromal TİL yoğunluğu	99				0,054
Hafif (%1-10)	44 (44,4)	44 (100)	0 (-)	0 (-)	
Orta (%11-49)	29 (29,3)	28 (96,6)	1 (3,4)	0 (-)	
Yüksek (%50≤)	26 (26,3)	23 (88,5)	2 (7,7)	1 (3,8)	
Tersiyer lenfoid yapılanma	99				1,000
Var	14 (14,1)	14 (100)	0 (-)	0 (-)	
Yok	85 (85,9)	81 (95,3)	3 (3,5)	1 (1,2)	
Lenfoid agregat	99				1,000
Var	30 (30,3)	29 (96,7)	1 (3,3)	0 (-)	
Yok	69 (69,7)	66 (95,7)	2 (2,9)	1 (1,4)	

Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon yoğunluğu	75				0,274
Hafif (%1-10)	40 (53,3)	39 (97,5)	1 (2,5)	0 (-)	
Orta (%11-49)	21 (28,0)	19 (90,5)	2 (9,5)	0 (-)	
Yüksek (%50≤)	14 (18,7)	14 (100)	0 (-)	0 (-)	
Eşlik eden DKİS	99				0,386
Var	38 (38,4)	38 (100)	0 (-)	0 (-)	
Yok	61 (61,6)	57 (93,4)	3 (4,9)	1 (1,6)	
Eşlik eden DKİS'te TİL yoğunluğu	38				-
	16 (42,1)	16 (100)	-	-	
Hafif (%1-10)	9 (23,7)	9 (100)	-	-	
Orta (%11-49)	13 (34,2)	13 (100)	-	-	
Yüksek (%50≤)					
iTİL'de PD-1 ekspresyonu					**0,015**
Düşük	64 (64,6)	64 (100)	0 (-)	0 (-)	
Yüksek	35 (35,4)	31 (88,6)	3 (8,6)	1 (2,9)	
iTİL'de LAG-3 ekspresyonu					**0,004**
Düşük	72 (72,7)	72 (100)	0 (-)	0 (-)	
Yüksek	27 (27,3)	23 (85,2)	3 (11,1)	1 (3,7)	
iTİL'de TİM-3 ekspresyonu					**<0,001**
Düşük	85 (85,9)	85 (100)	0 (-)	0 (-)	
Yüksek	14 (14,1)	10 (71,4)	3 (21,4)	1 (7,1)	

4.1.11. PD-1 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

İntratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile neoadjuvan tedavi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,012). Neoadjuvan tedavi alan olguların %6,7'sinde, neoadjuvan tedavi almayan olguların %40,5'inde yüksek PD-1 ekspresyonu izlenmiştir (Tablo 23).

Ölen hastaların %4'ü, yaşayan hastaların ise %45,9'unda intratümöral TİL'de yüksek PD-1 ekspresyonu izlenmiş olup arada istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 23).

İntratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile nüks arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,001). Nüks olan olguların %4,5'inde, nüks olmayan olguların ise %44,2'sinde yüksek PD-1 ekspresyonu gözlenmiştir (Tablo 23).

Tablo 23: İntratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		iTİL'de PD-1 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Yaş	99			0,056
<40	16 (16,2)	7 (43,8)	9 (56,3)	
≥40	83 (83,8)	57 (68,7)	26 (31,3)	
pT	97			0,536
pT1	28 (28,9)	17 (60,7)	11 (39,3)	
pT2	58 (59,8)	40 (69)	18 (31)	
pT3	10 (10,3)	5 (50,0)	5 (50,0)	
pT4	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
pN	98			0,130
pN0	39 (39,8)	27 (69,2)	12 (30,8)	
pN1	23 (23,5)	14 (60,9)	9 (39,1)	
pN2	16 (16,3)	7 (43,8)	9 (56,3)	
pN3	20 (20,4)	16 (80,0)	4 (20,0)	
pM	98			1,000
pM0	97 (99)	63 (64,9)	34 (35,1)	
pM1	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
Evre	98			0,932
I	22 (22,4)	15 (68,2)	7 (31,8)	
II	36 (36,7)	24 (66,7)	12 (33,3)	
III	39 (39,8)	24 (61,5)	15 (38,5)	
IV	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
Neoadjuvan tedavi	99			**0,012**
Var	15 (15,2)	14 (93,3)	1 (6,7)	
Yok	84 (84,8)	50 (59,5)	34 (40,5)	
Ölüm	99			**<0,001**
Var	25 (25,3)	24 (96,0)	1 (4,0)	
Yok	74 (74,7)	40 (54,1)	34 (45,9)	
Nüks	99			**0,001**
Var	22 (22,2)	21 (95,5)	1 (4,5)	
Yok	77 (77,8)	43 (55,8)	34 (44,2)	
iTİL: intratümöral TİL				

Stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile yaş grupları arasında arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,040). 40 yaş altı olguların %75'inde, 40 yaş üstü olguların ise %47'sinde yüksek PD-1 ekspresyonu gözlenmiştir (Tablo 24).

Tablo 24: Stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		sTİL'de PD-1 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Yaş	99			**0,040**
<40	16 (16,2)	4 (25,0)	12 (75,0)	
≥40	83 (83,8)	44 (53,0)	39 (47,0)	
pT	97			0,084
pT1	28 (28,9)	17 (60,7)	11 (39,3)	
pT2	58 (59,8)	29 (50,0)	29 (50,0)	
pT3	10 (10,3)	2 (20,0)	8 (80,0)	
pT4	1 (1,0)	0 (-)	1 (100)	
pN	98			0,092
pN0	39 (39,8)	24 (61,3)	15 (38,5)	
pN1	23 (23,5)	10 (43,5)	13 (56,5)	
pN2	16 (16,3)	4 (25,0)	12 (75,0)	
pN3	20 (20,4)	10 (50,0)	10 (50,0)	
pM	98			0,490
pM0	97 (99,0)	47 (48,5)	50 (51,5)	
pM1	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
Evre	98			0,055
I	22 (22,4)	15 (68,2)	7 (31,8)	
II	36 (36,7)	18 (50,0)	18 (50,0)	
III	39 (39,8)	14 (35,9)	25 (64,1)	
IV	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
Neoadjuvan tedavi	99			0,878
Var	15 (15,2)	7 (46,7)	8 (53,3)	
Yok	84 (84,8)	41 (48,8)	43 (51,2)	
Ölüm	99			0,384
Var	25 (25,3)	14 (56,0)	11 (44,0)	
Yok	74 (74,7)	34 (45,9)	40 (54,1)	
Nüks	99			0,872
Var	22 (22,2)	11 (50,0)	11 (50,0)	
Yok	77 (77,8)	37 (48,1)	40 (51,9)	
sTİL: stromal TİL				

4.1.12. PD-1 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Stromal TİL yoğunluğu ile intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu karşılaştırıldığında yüksek stromal TİL yoğunluğu içeren tümörlerde daha fazla intratümöral ve stromal PD-1 ekspresyonu gözlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 25).

Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu karşılaştırıldığında tersiyer lenfoid yapılanma olan olgularda daha yüksek PD-1 ekspresyon oranı izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,001) (Tablo 25).

İntratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile LAG-3 ve TİM-3 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (Tablo 25).

Tablo 25: İntratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

		iTİL'de PD-1 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Histolojik tip	99			0,135
İnvaziv duktal karsinom	77 (77,8)	52 (67,5)	25 (32,5)	
Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom	16 (16,2)	10 (62,5)	6 (37,5)	
Medüller paternde invaziv duktal karsinom	5 (5,1)	1 (20,0)	4 (80,0)	
Metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
Reseptör ekspresyonu	98			0,116
Üçlü negatif	51 (52,0)	37 (72,5)	14 (27,5)	
HR negatif-HER2 pozitif	23 (23,5)	11 (47,8)	12 (52,2)	
HR pozitif-HER2 pozitif	24 (24,5)	16 (66,7)	8 (33,3)	
Tümör derecesi	99			0,538
Derece 1/3	2 (2,0)	2 (100)	0 (-)	
Derece 2/3	9 (9,1)	5 (55,6)	4 (44,4)	
Derece 3/3	88 (88,9)	57 (64,8)	31 (35,2)	
ER ekspresyonu	99			0,748
Negatif	72 (72,7)	48 (66,7)	24 (33,3)	
Düşük ekspresyon (%1-10)	5 (5,1)	3 (60,0)	2 (40,0)	
Yüksek ekspresyon (%10<)	22 (22,2)	13 (59,1)	9 (40,9)	
PR ekspresyonu	98			0,811
Negatif	69 (70,4)	45 (65,2)	24 (34,8)	
Düşük ekspresyon (%1-20)	15(15,3)	9 (60,0)	6 (40,0)	
Yüksek ekspresyon (%20<)	14 (14,3)	10 (71,4)	4 (28,6)	
HER2 aşırı ekspresyonu/amplifikasyonu	98			0,117
Var	47 (48)	27 (57,4)	20 (42,6)	
Yok	51 (52)	37 (72,5)	14 (27,5)	
Ki67	39			0,514
Düşük proliferatif aktivite (%1-15)	2 (5,1)	2 (100)	0 (-)	
Yüksek proliferatif aktivite (%15<)	37 (94,9)	22 (59,5)	15 (40,5)	
Stromal TİL yoğunluğu	99			**<0,001**
Hafif (%1-10)	44 (44,4)	38 (86,4)	6 (13,6)	
Orta (%11-49)	29 (29,3)	20 (69,0)	9 (31,0)	
Yüksek (%50≤)	26 (26,3)	6 (23,1)	20 (76,9)	
Tersiyer lenfoid yapılanma	99			**0,001**
Var	14 (14,1)	3 (21,4)	11 (78,6)	
Yok	85 (85,9)	61 (71,8)	24 (28,2)	
Lenfoid agregat	99			0,099
Var	30 (30,3)	23 (76,7)	7 (23,3)	
Yok	69 (69,7)	41 (59,4)	28 (40,6)	
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon yoğunluğu	75			0,784

Hafif (%1-10)	40 (53,3)	23 (57,5)	17 (42,5)	
Orta (%11-49)	21 (28,0)	11 (52,4)	10 (47,6)	
Yüksek (%50≤)	14 (18,7)	9 (64,3)	5 (35,7)	
Eşlik eden DKİS	99			0,123
Var	38 (38,4)	21 (55,3)	17 (44,7)	
Yok	61 (61,6)	43 (70,5)	18 (29,5)	
Eşlik eden DKİS'te TİL yoğunluğu	38			0,105
Hafif (%1-10)	16 (42,1)	11 (68,8)	5 (31,3)	
Orta (%11-49)	9 (23,7)	6 (66,7)	3 (33,3)	
Yüksek (%50≤)	13 (34,2)	4 (30,8)	9 (69,2)	
iTİL'de LAG-3 ekspresyonu				**<0,001**
Düşük	72 (72,7)	59 (81,9)	13 (18,1)	
Yüksek	27 (27,3)	5 (18,5)	22 (81,5)	
iTİL'de TİM-3 ekspresyonu				**<0,001**
Düşük	85 (85,9)	63 (74,1)	22 (25,9)	
Yüksek	14 (14,1)	1 (7,1)	13 (92,9)	

Histolojik tip ile stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,037). İnvaziv duktal karsinomların %54,5'inde, bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinomların %75'inde ve medüller paternde invaziv duktal karsinomların %80'inde stromal TİL'de yüksek PD-1 ekspresyonu bulunduğu gözlenmiştir (Tablo 26).

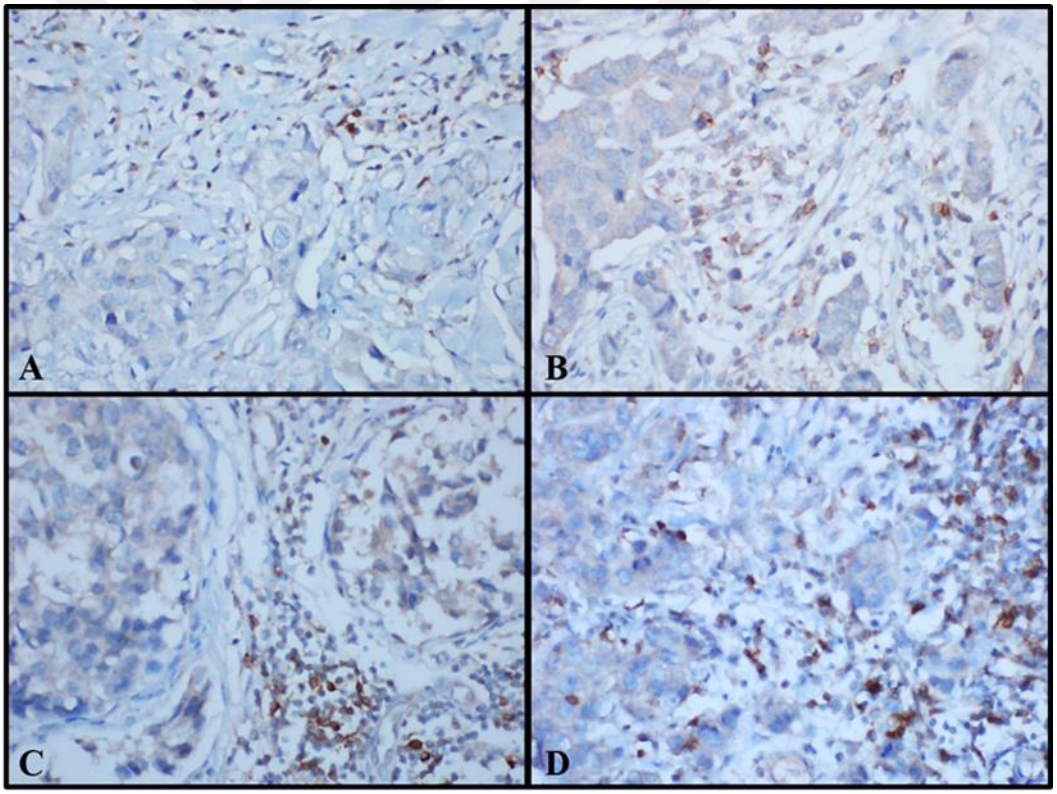
Reseptör ekspresyonu ile stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,001). Üçlü negatif gruptaki olguların %33,3'ünde, HR negatif-HER pozitif gruptaki olguların %78,3'ünde ve HR pozitif-HER2 pozitif gruptaki olguların %62,5'inde stromal TİL'de yüksek PD-1 ekspresyonu bulunduğu gözlenmiştir (Tablo 26).

Sadece ER ve sadece PR ekspresyonuna göre yapılan sınıflamada gruplar arasında stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu açısından anlamlı istatistiksel fark bulunmazken (sırasıyla p=0,172 ve p=0,249) sadece HER2 ekspresyonuna göre yapılan sınıflamada anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001). HER2 aşırı

ekspresyonu/amplifikasyonu olan olgularda stromal TİL'de daha yüksek oranda PD-1 ekspresyonu gözlenmiştir (Tablo 26).

Stromal TİL yoğunluğu ile stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu karşılaştırıldığında yüksek stromal TİL yoğunluğuna sahip tümörlerde daha fazla PD-1 ekspresyonu izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (*p*=0,002) (Tablo 26).

Stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile LAG-3 ve TİM-3 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 26).



Resim 7: İnvaziv meme karsinomunda PD-1 ekspresyon örnekleri **A** sTİL'de %3, iTİL'de %1, **B** sTİL'de %25, iTİL'de %25, **C** sTİL'de %40, iTİL'de %5, **D** sTİL'de %40, iTİL'de %40 (X400'lük büyütme)

Tablo 26: Stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

		sTİL'de PD-1 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Histolojik tip	99			**0,037**
İnvaziv duktal karsinom	77 (77,8)	35 (45,5)	42 (54,5)	
Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom	16 (16,2)	12 (75,0)	4 (25,0)	
Medüller paternde invaziv duktal karsinom	5 (5,1)	1 (20)	4 (80)	
Metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom	1 (1,0)	0 (-)	1 (100)	
Reseptör ekspresyonu	98			**0,001**
Üçlü negatif	51 (52,0)	34 (66,7)	17 (33,3)	
HR negatif-HER2 pozitif	23 (23,5)	5 (21,7)	18 (78,3)	
HR pozitif-HER2 pozitif	24 (24,5)	9 (37,5)	15 (62,5)	
Tümör derecesi	99			0,742
Derece 1/3	2 (2,0)	1 (50,0)	1 (50,0)	
Derece 2/3	9 (9,1)	3 (33,3)	6 (66,7)	
Derece 3/3	88 (88,9)	44 (50,0)	44 (50,0)	
ER ekspresyonu	99			0,172
Negatif	72 (72,7)	39 (54,2)	33 (45,8)	
Düşük ekspresyon (%1-10)	5 (5,1)	2 (40,0)	3 (60,0)	
Yüksek ekspresyon (%10<)	22 (22,2)	7 (31,8)	15 (68,2)	
PR ekspresyonu	98			0,249
Negatif	69 (70,4)	34 (49,3)	35 (50,7)	
Düşük ekspresyon (%1-20)	15(15,3)	5 (33,3)	10 (66,7)	
Yüksek ekspresyon (%20<)	14 (14,3)	9 (64,3)	5 (35,7)	
HER2 aşırı ekspresyonu/amplifikasyonu	98			**<0,001**
Var	47 (48,0)	14 (29,8)	33 (70,2)	
Yok	51 (52,0)	34 (66,7)	17 (33,3)	
Ki67	39			1,000
Düşük proliferatif aktivite (%1-15)	2 (5,1)	1 (50,0)	1 (50,0)	
Yüksek proliferatif aktivite (%15<)	37 (94,9)	22 (59,5)	15 (40,5)	
Stromal TİL yoğunluğu	99			**0,002**
Hafif (%1-10)	44 (44,4)	29 (65,9)	15 (34,1)	
Orta (%11-49)	29 (29,3)	13 (44,8)	16 (55,2)	
Yüksek (%50≤)	26 (26,3)	6 (23,1)	20 (76,9)	
Tersiyer lenfoid yapılanma	99			0,108
Var	14 (14,1)	4 (28,6)	10 (71,4)	
Yok	85 (85,9)	44 (51,8)	41 (48,2)	
Lenfoid agregat	99			0,283
Var	30 (30,3)	17 (56,7)	13 (43,3)	
Yok	69 (69,7)	31 (44,9)	38 (55,1)	
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon yoğunluğu	75			0,114

Hafif (%1-10)	40 (53,3)	13 (32,5)	27 (67,5)	
Orta (%11-49)	21 (28,0)	9 (42,9)	12 (57,1)	
Yüksek (%50≤)	14 (18,7)	9 (64,3)	5 (35,7)	
Eşlik eden DKİS	99			0,316
Var	38 (38,4)	16 (42,1)	22 (57,9)	
Yok	61 (61,6)	32 (52,5)	29 (47,5)	
Eşlik eden DKİS'te TİL yoğunluğu	38			0,573
Hafif (%1-10)	16 (42,1)	8 (50,0)	8 (50,0)	
Orta (%11-49)	9 (23,7)	4 (44,4)	5 (55,6)	
Yüksek (%50≤)	13 (34,2)	4 (30,8)	9 (69,2)	
sTİL'de LAG-3 ekspresyonu				0,090
Düşük	47 (47,5)	27 (57,4)	20 (42,6)	
Yüksek	52 (52,5)	21 (40,4)	31 (59,6)	
sTİL'de TİM-3 ekspresyonu				0,517
Düşük	91 (91,9)	45 (49,5)	46 (50,5)	
Yüksek	8 (8,1)	3 (37,5)	5 (62,5)	

4.1.13. LAG-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

İntratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ve stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özellikler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 27 ve 28).

Tablo 27: İntratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		iTİL'de LAG-3 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Yaş	99			0,129
<40	16 (16,2)	9 (56,3)	7 (43,8)	
≥40	83 (83,8)	63 (75,9)	20 (24,1)	
pT	97			0,115
pT1	28 (28,9)	21 (75,0)	7 (25,0)	
pT2	58 (59,8)	44 (75,9)	14 (24,1)	
pT3	10 (10,3)	4 (40,0)	6 (60,0)	
pT4	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
pN	98			0,442
pN0	39 (39,8)	31 (79,5)	8 (20,5)	
pN1	23 (23,5)	14 (60,9)	9 (39,1)	
pN2	16 (16,3)	11 (68,8)	5 (31,3)	
pN3	20 (20,4)	15 (75,0)	5 (25,0)	
pM	98			1,000
pM0	97 (99,0)	70 (72,2)	27 (27,8)	
pM1	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
Evre	98			0,834
I	22 (22,4)	17 (77,3)	5 (22,7)	
II	36 (36,7)	26 (72,2)	10 (27,8)	
III	39 (39,8)	27 (69,2)	12 (30,8)	
IV	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
Neoadjuvan tedavi	99			0,062
Var	15 (15,2)	14 (93,3)	1 (6,7)	
Yok	84 (84,8)	58 (69,0)	26 (31,0)	
Ölüm	99			0,143
Var	25 (25,3)	21 (84,0)	4 (16,0)	
Yok	74 (74,7)	51 (68,9)	23 (31,1)	
Nüks	99			0,278
Var	22 (22,2)	18 (81,8)	4 (18,2)	
Yok	77 (77,8)	54 (70,1)	23 (29,9)	

Tablo 28: Stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		sTİL'de LAG-3 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Yaş	99			0,383
<40	16 (16,2)	6 (37,5)	10 (62,5)	
≥40	83 (83,8)	41 (49,4)	42 (50,6)	
pT	97			0,140
pT1	28 (28,9)	16 (57,1)	12 (42,9)	
pT2	58 (59,8)	27 (46,6)	31 (53,4)	
pT3	10 (10,3)	2 (20,0)	8 (80,0)	
pT4	1 (1,0)	0 (-)	1 (100)	
pN	98			0,145
pN0	39 (39,8)	21 (53,8)	18 (46,2)	
pN1	23 (23,5)	6 (26,1)	17 (73,9)	
pN2	16 (16,3)	9 (56,3)	7 (43,8)	
pN3	20 (20,4)	10 (50,0)	10 (50,0)	
pM	98			1,000
pM0	97 (99,0)	46 (47,4)	51 (52,6)	
pM1	1 (1,0)	0 (-)	1 (100)	
Evre	98			0,679
I	22 (22,4)	12 (54,5)	10 (45,5)	
II	36 (36,7)	15 (41,7)	21 (58,3)	
III	39 (39,8)	19 (48,7)	20 (51,3)	
IV	1 (1,0)	0 (-)	1 (100)	
Neoadjuvan tedavi	99			0,622
Var	15 (15,2)	8 (53,3)	7 (46,7)	
Yok	84 (84,8)	39 (46,4)	45 (53,6)	
Ölüm	99			0,323
Var	25 (25,3)	14 (56,0)	11 (44,0)	
Yok	74 (74,7)	33 (44,6)	41 (55,4)	
Nüks	99			0,216
Var	22 (22,2)	13 (59,1)	9 (40,9)	
Yok	77 (77,8)	34 (44,2)	43 (55,8)	

4.1.14. LAG-3 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Histolojik tip ile intratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,001). İnvaziv duktal karsinomların %20,8'inde, bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinomların %31,3'ünde ve medüller paternde invaziv duktal karsinomların tümünde intratümöral TİL'de yüksek LAG-3 ekspresyonu izlenmiştir (Tablo 29).

Stromal TİL yoğunluğu ile intratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu karşılaştırıldığında yüksek stromal TİL yoğunluğu içeren tümörlerde daha fazla LAG-3 ekspresyonu izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 29).

Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile intratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu karşılaştırıldığında tersiyer lenfoid yapılanma içeren tümörlerde daha yüksek LAG-3 ekspresyonu izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,002) (Tablo 29).

İntratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile PD-1 ve TİM-3 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (Tablo 29).

Tablo 29: İntratümöral TİL'de LAG-3 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

		iTİL'de LAG-3 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Histolojik tip	99			**0,001**
İnvaziv duktal karsinom	77 (77,8)	61 (79,2)	16 (20,8)	
Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom	16 (16,2)	11 (68,8)	5 (31,3)	
Medüller paternde invaziv duktal karsinom	5 (5,1)	0 (-)	5 (100)	
Metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom	1 (1,0)	0 (-)	1 (100)	
Reseptör ekspresyonu	98			0,740
Üçlü negatif	51 (52,0)	37 (72,5)	14 (27,5)	
HR negatif-HER2 pozitif	23 (23,5)	16 (69,6)	7 (30,4)	
HR pozitif-HER2 pozitif	24 (24,5)	19 (79,2)	5 (20,8)	
Tümör derecesi	99			0,478
Derece 1/3	2 (2,0)	2 (100)	0 (-)	
Derece 2/3	9 (9,1)	8 (88,9)	1 (11,1)	
Derece 3/3	88 (88,9)	62 (70,5)	26 (29,5)	
ER ekspresyonu	99			0,775
Negatif	72 (72,7)	53 (73,6)	19 (26,4)	
Düşük ekspresyon (%1-10)	5 (5,1)	3 (60,0)	2 (40,0)	
Yüksek ekspresyon (%10<)	22 (22,2)	16 (72,7)	6 (27,3)	
PR ekspresyonu	98			0,437
Negatif	69 (70,4)	52 (75,4)	17 (24,6)	
Düşük ekspresyon (%1-20)	15(15,3)	9 (60,0)	6 (40,0)	
Yüksek ekspresyon (%20<)	14 (14,3)	11 (78,6)	3 (21,4)	
HER2 aşırı ekspresyonu/amplifikasyonu	98			0,830
Var	47 (48,0)	35 (74,5)	12 (25,5)	
Yok	51 (52,0)	37 (72,5)	14 (27,5)	
Ki67	39			1,000
Düşük proliferatif aktivite (%1-15)	2 (5,1)	1 (50,0)	1 (50,0)	
Yüksek proliferatif aktivite (%15<)	37 (94,9)	24 (64,9)	13 (35,1)	
Stromal TİL yoğunluğu	99			**<0,001**
Hafif (%1-10)	44 (44,4)	42 (95,5)	2 (4,5)	
Orta (%11-49)	29 (29,3)	23 (79,3)	6 (20,7)	
Yüksek (%50≤)	26 (26,3)	7 (26,9)	19 (73,1)	
Tersiyer lenfoid yapılanma	99			**0,002**
Var	14 (14,1)	5 (35,7)	9 (64,3)	
Yok	85 (85,9)	67 (78,8)	18 (21,2)	
Lenfoid agregat	99			0,284
Var	30 (30,3)	24 (80,0)	6 (20,0)	
Yok	69 (69,7)	48 (69,6)	21 (30,4)	
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon yoğunluğu	75			0,671
Hafif (%1-10)	40 (53,3)	30 (75,0)	10 (25,0)	
Orta (%11-49)	21 (28,0)	14 (66,7)	7 (33,3)	
Yüksek (%50≤)	14 (18,7)	9 (64,3)	5 (35,7)	
Eşlik eden DKİS	99			0,448
Var	38 (38,4)	26 (68,4)	12 (31,6)	
Yok	61 (61,6)	46 (75,4)	15 (24,6)	
Eşlik eden DKİS'te TİL yoğunluğu	38			0,072

Hafif (%1-10) Orta (%11-49) Yüksek (%50≤)	16 (42,1) 9 (23,7) 13 (34,2)	14 (87,5) 6 (66,7) 6 (46,2)	2 (12,5) 3 (33,3) 7 (53,8)	
iTİL'de PD-1 ekspresyonu Düşük Yüksek	 64 (64,6) 35 (35,4)	 59 (92,2) 13 (37,1)	 5 (7,8) 22 (62,9)	**<0,001**
iTİL'de TİM-3 ekspresyonu Düşük Yüksek	 85 (85,9) 14 (14,1)	 72 (84,7) 0 (-)	 13 (15,3) 14 (100)	**<0,001**

Histolojik tip ile stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,015). İnvaziv duktal karsinomların %45,5'inde, bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinomların %68,8'inde ve medüller paternde invaziv duktal karsinomların hepsinde stromal TİL'de yüksek LAG-3 ekspresyonu bulunduğu gözlenmiştir (Tablo 30).

Stromal TİL yoğunluğu ile stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu karşılaştırıldığında yüksek stromal TİL yoğunluğu içeren tümörlerde daha fazla LAG-3 ekspresyonu izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 30).

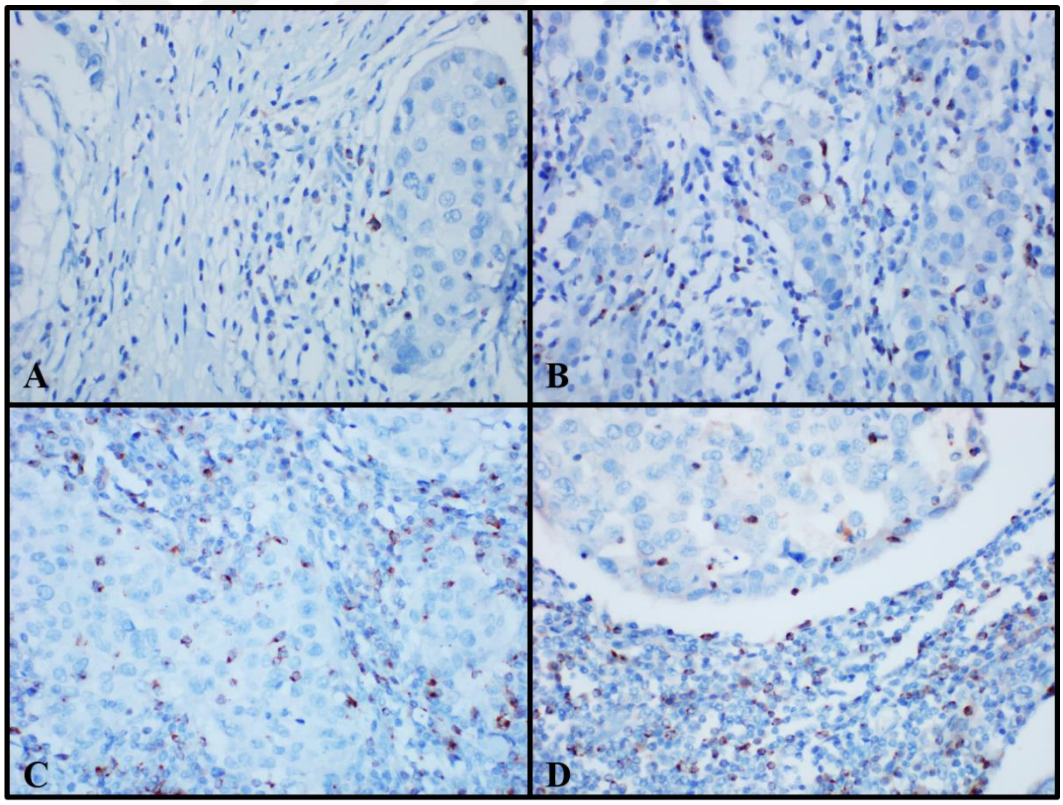
Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu karşılaştırıldığında tersiyer lenfoid yapılanma olan olgularda daha yüksek LAG-3 ekspresyonu bulunduğu gözlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,035) (Tablo 30).

Stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile PD-1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmazken, TİM-3 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (Tablo 30).

Tablo 30: Stromal TİL'de LAG-3 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

		sTİL'de LAG-3 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Histolojik tip	99			**0,015**
İnvaziv duktal karsinom	77 (77,8)	42 (54,5)	35 (45,5)	
Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom	16 (16,2)	5 (31,3)	11 (68,8)	
Medüller paternde invaziv duktal karsinom	5 (5,1)	0 (-)	5 (100)	
Metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom	1 (1,0)	0 (-)	1 (100)	
Reseptör ekspresyonu	98			0,764
Üçlü negatif	51 (52,0)	23 (45,1)	28 (54,9)	
HR negatif-HER2 pozitif	23 (23,5)	11 (47,8)	12 (52,2)	
HR pozitif-HER2 pozitif	24 (24,5)	13 (54,2)	11 (45,8)	
Tümör derecesi	99			0,378
Derece 1/3	2 (2,0)	2 (100)	0 (-)	
Derece 2/3	9 (9,1)	5 (55,6)	4 (44,4)	
Derece 3/3	88 (88,9)	40 (45,5)	48 (54,5)	
ER ekspresyonu	99			0,419
Negatif	72 (72,7)	34 (47,2)	38 (52,8)	
Düşük ekspresyon (%1-10)	5 (5,1)	1 (20,0)	4 (80,0)	
Yüksek ekspresyon (%10<)	22 (22,2)	12 (54,5)	10 (45,5)	
PR ekspresyonu	98			0,378
Negatif	69 (70,4)	32 (46,4)	37 (53,6)	
Düşük ekspresyon (%1-20)	15(15,3)	6 (40,0)	9 (60,0)	
Yüksek ekspresyon (%20<)	14 (14,3)	9 (64,3)	5 (35,7)	
HER2 aşırı ekspresyonu/amplifikasyonu	98			0,555
Var	47 (48)	24 (51,1)	23 (48,9)	
Yok	51 (52)	23 (45,1)	28 (54,9)	
Ki67	39			1,000
Düşük proliferatif aktivite (%1-15)	2 (5,1)	1 (50,0)	1 (50,0)	
Yüksek proliferatif aktivite (%15<)	37 (94,9)	13 (35,1)	24 (64,9)	
Stromal TİL yoğunluğu	99			**<0,001**
Hafif (%1-10)	44 (44,4)	31 (70,5)	13 (29,5)	
Orta (%11-49)	29 (29,3)	13 (44,8)	16 (55,2)	
Yüksek (%50≤)	26 (26,3)	3 (11,5)	23 (88,5)	
Tersiyer lenfoid yapılanma	99			**0,035**
Var	14 (14,1)	3 (21,4)	11 (78,6)	
Yok	85 (85,9)	44 (51,8)	41 (48,2)	
Lenfoid agregat	99			0,586
Var	30 (30,3)	13 (43,3)	17 (56,7)	
Yok	69 (69,7)	34 (49,3)	35 850,7)	
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon yoğunluğu	75			0,577

Hafif (%1-10)	40 (53,3)	22 (55,0)	18 (45,0)	
Orta (%11-49)	21 (28,0)	9 (42,9)	12 (57,1)	
Yüksek (%50≤)	14 (18,7)	6 (42,9)	8 (57,1)	
Eşlik eden DKİS	99			0,667
Var	38 (38,4)	17 (44,7)	21 (55,3)	
Yok	61 (61,6)	30 (49,2)	31 (50,8)	
Eşlik eden DKİS'te TİL yoğunluğu	38			0,117
Hafif (%1-10)	16 (42,1)	10 (62,5)	6 (37,5)	
Orta (%11-49)	9 (23,7)	4 (44,4)	5 (55,6)	
Yüksek (%50≤)	13 (34,2)	3 (23,1)	10 (76,9)	
sTİL'de PD-1 ekspresyonu				0,090
Düşük	48 (48,5)	27 (56,3)	21 (43,8)	
Yüksek	51 (51,5)	20 (39,2)	31 (60,8)	
sTİL'de TİM-3 ekspresyonu				**0,006**
Düşük	91 (91,9)	47 (51,6)	44 (48,4)	
Yüksek	8 (8,1)	0 (-)	8 (100)	



Resim 8: İnvaziv meme karsinomunda LAG-3 ekspresyon örnekleri **A** sTİL'de %3, iTİL'de %1, **B** sTİL'de %10, iTİL'de %50, **C** sTİL'de %30, iTİL'de %80, **D** sTİL'de %30, iTİL'de %80 (X400'lük büyütme)

4.1.15. TİM-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

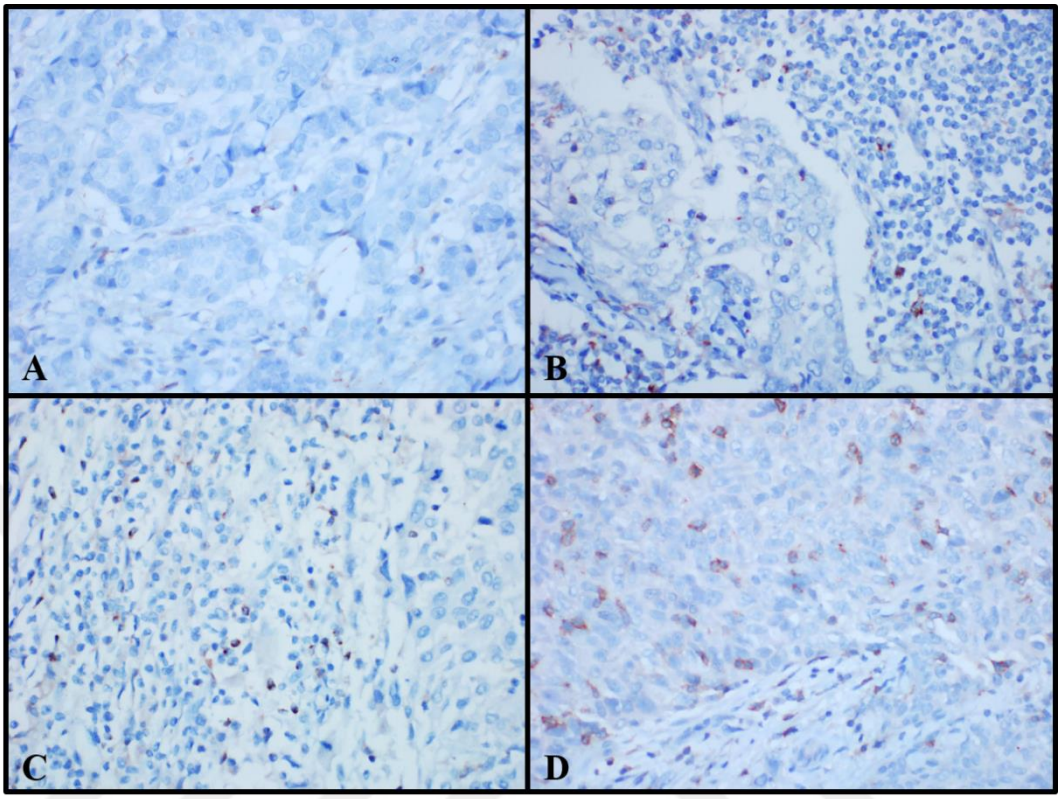
İntratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ve stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özellikler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 31 ve 32).

Tablo 31: İntratümöral TİL'de TİM-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		iTİL'de TİM-3 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Yaş	99			0,234
<40	16 (16,2)	12 (75,0)	4 (25,0)	
≥40	83 (83,8)	73 (88,0)	10 (12,0)	
pT	97			0,730
pT1	28 (28,9)	25 (89,3)	3 (10,7)	
pT2	58 (59,8)	49 (84,3)	9 (15,5)	
pT3	10 (10,3)	8 (80,0)	2 (20,0)	
pT4	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
pN	98			0,580
pN0	39 (39,8)	32 (82,1)	7 (17,9)	
pN1	23 (23,5)	19 (82,6)	4 (17,4)	
pN2	16 (16,3)	14 (87,5)	2 (12,5)	
pN3	20 (20,4)	19 (95,0)	1 (5,0)	
pM	98			1,000
pM0	97 (99,0)	83 (85,6)	14 (14,4)	
pM1	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
Evre	98			0,597
I	22 (22,4)	19 (86,4)	3 (13,6)	
II	36 (36,7)	29 (80,6)	7 (19,4)	
III	39 (39,8)	35 (89,7)	4 (10,3)	
IV	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
Neoadjuvan tedavi	99			0,119
Var	15 (15,2)	15 (100)	0 (-)	
Yok	84 (84,8)	70 (83,3)	14 (16,7)	
Ölüm	99			0,110
Var	25 (25,3)	24 (96,0)	1 (4,0)	
Yok	74 (74,7)	61(82,4)	13 (17,6)	
Nüks	99			0,183
Var	22 (22,2)	21(95,5)	1 (4,5)	
Yok	77 (77,8)	64 (83,1)	13 (16,9)	

Tablo 32: Stromal TİL'de TİM-3 ekspresyonu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		sTİL'de TİM-3 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Yaş	99			1,000
<40	16 (16,2)	15 (93,8)	1 (6,3)	
≥40	83 (83,8)	76 (91,6)	7 (8,4)	
pT	97			1,000
pT1	28 (28,9)	26 (92,9)	2 (7,1)	
pT2	58 (59,8)	53 (91,4)	5 (8,6)	
pT3	10 (10,3)	9 (90,0)	1 (10,0)	
pT4	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
pN	98			0,439
pN0	39 (39,8)	35 (89,7)	4 (10,3)	
pN1	23 (23,5)	20 (87,0)	3 (13,0)	
pN2	16 (16,3)	15 (93,8)	1 (6,3)	
pN3	20 (20,4)	20 (100)	0 (-)	
pM	98			1,000
pM0	97 (99,0)	89 (91,8)	8 (8,2)	
pM1	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
Evre	98			0,665
I	22 (22,4)	20 (90,9)	2 (9,1)	
II	36 (36,7)	32 (88,9)	4 (11,1)	
III	39 (39,8)	37 (94,9)	2 (5,1)	
IV	1 (1,0)	1 (100)	0 (-)	
Neoadjuvan tedavi	99			0,603
Var	15 (15,2)	15 (100)	0 (-)	
Yok	84 (84,8)	76 (90,5)	8 (9,5)	
Ölüm	99			0,675
Var	25 (25,3)	24 (96,0)	1 (4,0)	
Yok	74 (74,7)	67 (90,5)	7 (9,5)	
Nüks	99			0,680
Var	22 (22,2)	21 (95,5)	1 (4,5)	
Yok	77 (77,8)	70 (90,9)	7 (9,1)	



Resim 9: İnvaziv meme karsinomunda TİM-3 ekspresyon örnekleri **A** sTİL'de %2, iTİL'de %0, **B** sTİL'de %2, iTİL'de %10, **C** sTİL'de %5, iTİL'de %10, **D** sTİL'de %2, iTİL'de %30 (X400'lük büyütme)

4.1.16. TİM-3 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Histolojik tip ile intratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,001). İnvaziv duktal karsinomların %6,8'inde, bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinomların %25'inde ve medüller paternde invaziv duktal karsinomların %60'ında intratümöral TİL'de yüksek TİM-3 ekspresyonu izlenmiştir (Tablo 33).

Stromal TİL yoğunluğu ile intratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonu karşılaştırıldığında yüksek stromal TİL yoğunluğu içeren tümörlerde daha fazla oranda TİM-3 ekspresyonu gözlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 33).

Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile intratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonu karşılaştırıldığında tersiyer lenfoid yapılanma içeren tümörlerde daha yüksek TİM3 ekspresyonu izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 33).

İntratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile PD-1 ve LAG-3 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (Tablo 33).

Histolojik tip ile stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,007). İnvaziv duktal karsinomların %3,9'unda, bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinomların %18,8'inde ve medüller paternde invaziv duktal karsinomların %20'sinde stromal TİL'de yüksek TİM-3 ekspresyonu izlenmiştir (Tablo 34).

Stromal TİL yoğunluğu ile stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu karşılaştırıldığında yüksek stromal TİL yoğunluğu içeren tümörlerde daha fazla oranda TİM-3 ekspresyonu gözlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 34).

Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu karşılaştırıldığında tersiyer lenfoid yapılanma içeren tümörlerde daha yüksek TİM3 ekspresyonu izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,013) (Tablo 34).

Stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile PD-1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmazken, LAG-3 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (Tablo 34).

Tablo 33: İntratümöral TİL'de TİM-3 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin ve immünhistokimyasal bulguların karşılaştırılması

		iTİL'de TİM-3 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Histolojik tip	99			**0,001**
İnvaziv duktal karsinom	77 (77,8)	71 (92,2)	6 (7,8)	
Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom	16 (16,2)	12 (75,0)	4 (25,0)	
Medüller paternde invaziv duktal karsinom	5 (5,1)	2 (40,0)	3 (60,0)	
Metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom	1 (1,0)	0 (-)	1 (100)	
Reseptör ekspresyonu	98			0,065
Üçlü negatif	51 (52,0)	42 (82,4)	9 (17,6)	
HR negatif-HER2 pozitif	23 (23,5)	19 (82,6)	4 (17,4)	
HR pozitif-HER2 pozitif	24 (24,5)	24 (100)	0 (-)	
Tümör derecesi	99			0,527
Derece 1/3	2 (2,0)	2 (100)	0 (-)	
Derece 2/3	9 (9,1)	9 (100)	0 (-)	
Derece 3/3	88 (88,9)	74 (84,1)	14 (15,9)	
ER ekspresyonu	99			0,565
Negatif	72 (72,7)	61 (84,7)	11 (15,3)	
Düşük ekspresyon (%1-10)	5 (5,1)	4 (80,0)	1 (20,0)	
Yüksek ekspresyon (%10<)	22 (22,2)	20 (90,9)	2 (9,1)	
PR ekspresyonu	98			0,397
Negatif	69 (70,4)	58 (84,1)	11 (15,9)	
Düşük ekspresyon (%1-20)	15(15,3)	13 (86,7)	2 (13,3)	
Yüksek ekspresyon (%20<)	14 (14,3)	14 (100)	0 (-)	
HER2 aşırı ekspresyonu/amplifikasyonu	98			0,183
Var	47 (48,0)	43 (91,5)	4 (8,5)	
Yok	51 (52,0)	42 (82,4)	9 (17,6)	
Ki67	39			0,413
Düşük proliferatif aktivite (%1-15)	2 (5,1)	1 (50,0)	1 (50,0)	
Yüksek proliferatif aktivite (%15<)	37 (94,9)	29 (78,4)	8 (21,6)	
Stromal TİL yoğunluğu	99			**<0,001**
Hafif (%1-10)	44 (44,4)	44 (100)	0 (-)	
Orta (%11-49)	29 (29,3)	28 (96,6)	1 (3,4)	
Yüksek (%50≤)	26 (26,3)	13 (50,0)	13 (50,0)	
Tersiyer lenfoid yapılanma	99			**<0,001**
Var	14 (14,1)	7 (50,0)	7 (50,0)	
Yok	85 (85,9)	78 (91,8)	7 (8,2)	
Lenfoid agregat	99			0,058
Var	30 (30,3)	29 (96,7)	1 (3,3)	
Yok	69 (69,7)	56 (81,2)	13 (18,8)	
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon yoğunluğu	75			0,355
Hafif (%1-10)	40 (53,3)	35 (87,5)	5 (12,5)	
Orta (%11-49)	21 (28,0)	17 (81,0)	4 (19,0)	
Yüksek (%50≤)	14 (18,7)	10 (71,4)	4 (28,6)	
Eşlik eden DKİS	99			0,825
Var	38 (38,4)	33 (86,8)	5 (13,2)	

Yok	61 (61,6)	52 (85,2)	9 (14,8)	
Eşlik eden DKİS'te TİL yoğunluğu	38			0,415
Hafif (%1-10)	16 (42,1)	15 (93,8)	1 (6,3)	
Orta (%11-49)	9 (23,7)	8 (88,9)	1 (11,1)	
Yüksek (%50≤)	13 (34,2)	10 (76,9)	3 (23,1)	
iTİL'de PD-1 ekspresyonu				**<0,001**
Düşük	64 (64,6)	63 (98,4)	1 (1,6)	
Yüksek	35 (35,4)	22 (62,9)	13 (37,1)	
iTİL'de LAG-3 ekspresyonu				**<0,001**
Düşük	72 (72,7)	72 (100)	0 (-)	
Yüksek	27 (27,3)	13 (48,1)	14 (51,9)	

Tablo 34: Stromal TİL'de TİM-3 ekspresyonu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		sTİL'de TİM-3 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Histolojik tip	99			**0,007**
İnvaziv duktal karsinom	77 (77,8)	74 (96,1)	3 (3,9)	
Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom	16 (16,2)	13 (81,3)	3 (18,8)	
Medüller paternde invaziv duktal karsinom	5 (5,1)	4 (80,0)	1 (20,0)	
Metaplastik özellikler içeren invaziv duktal karsinom	1 (1,0)	0 (-)	1 (100)	
Reseptör ekspresyonu	98			0,89
Üçlü negatif	51 (52,0)	44 (86,5)	7 (13,7)	
HR negatif-HER2 pozitif	23 (23,5)	22 (95,7)	1 (4,3)	
HR pozitif-HER2 pozitif	24 (24,5)	24 (100)	0 (-)	
Tümör derecesi	99			1,000
Derece 1/3	2 (2,0)	2 (100)	0 (-)	
Derece 2/3	9 (9,1)	9 (100)	0 (-)	
Derece 3/3	88 (88,9)	80 (90,9)	8 (9,1)	
ER ekspresyonu	99			0,281
Negatif	72 (72,7)	64 (88,9)	8 (11,1)	
Düşük ekspresyon (%1-10)	5 (5,1)	5 (100)	0 (-)	
Yüksek ekspresyon (%10<)	22 (22,2)	22 (100)	0 (-)	
PR ekspresyonu	98			0,297
Negatif	69 (70,4)	61 (88,4)	8 (11,6)	
Düşük ekspresyon (%1-20)	15(15,3)	15 (100)	0 (-)	
Yüksek ekspresyon (%20<)	14 (14,3)	14 (100)	0 (-)	
HER2 aşırı ekspresyonu/amplifikasyonu	98			0,061
Var	47 (48,0)	46 (97,9)	1 (2,1)	
Yok	51 (52,0)	44 (86,3)	7 (13,7)	
Ki67	39			0,287
Düşük proliferatif aktivite (%1-15)	2 (5,1)	1 (50,0)	1 (50,0)	
Yüksek proliferatif aktivite (%15<)	37 (94,9)	32 (86,5)	5 (13,5)	
Stromal TİL yoğunluğu	99			**<0,001**
Hafif (%1-10)	44 (44,4)	44 (100)	0 (-)	
Orta (%11-49)	29 (29,3)	29 (100)	0 (-)	
Yüksek (%50≤)	26 (26,3)	18 (69,2)	8 (30,8)	
Tersiyer lenfoid yapılanma	99			**0,013**
Var	14 (14,1)	10 (71,4)	4 (28,6)	
Yok	85 (85,9)	81 (95,3)	4 (4,7)	
Lenfoid agregat	99			0,429
Var	30 (30,3)	29 (96,7)	1 (3,3)	
Yok	69 (69,7)	62 (89,9)	7 (10,1)	
Tümör dışı meme parankiminde inflamasyon yoğunluğu	75			**0,038**
Hafif (%1-10)	40 (53,3)	38 (95,0)	2 (5,0)	

Orta (%11-49)	21 (28,0)	20 (95,2)	1 (4,8)	
Yüksek (%50≤)	14 (18,7)	10 (71,4)	4 (28,6)	
Eşlik eden DKİS	99			1,000
Var	38 (38,4)	35 (92,1)	3 (7,9)	
Yok	61 (61,6)	56 (91,8)	5 (8,2)	
Eşlik eden DKİS'te TİL yoğunluğu	38			0,310
Hafif (%1-10)	16 (42,1)	16 (100)	0 (-)	
Orta (%11-49)	9 (23,7)	8 (88,9)	1 (11,1)	
Yüksek (%50≤)	13 (34,2)	11 (84,6)	2 (15,4)	
sTİL'de PD-1 ekspresyonu				0,716
Düşük	48 (48,5)	45 (93,8)	3 (6,3)	
Yüksek	51 (51,5)	46 (90,2)	5 (9,8)	
sTİL'de LAG-3 ekspresyonu				**0,006**
Düşük	47 (47,5)	47 (100)	0 (-)	
Yüksek	52 (52,5)	44 (84,6)	8 (15,4)	

4.1.17. Genel ve hastalıksız sağkalım analizleri

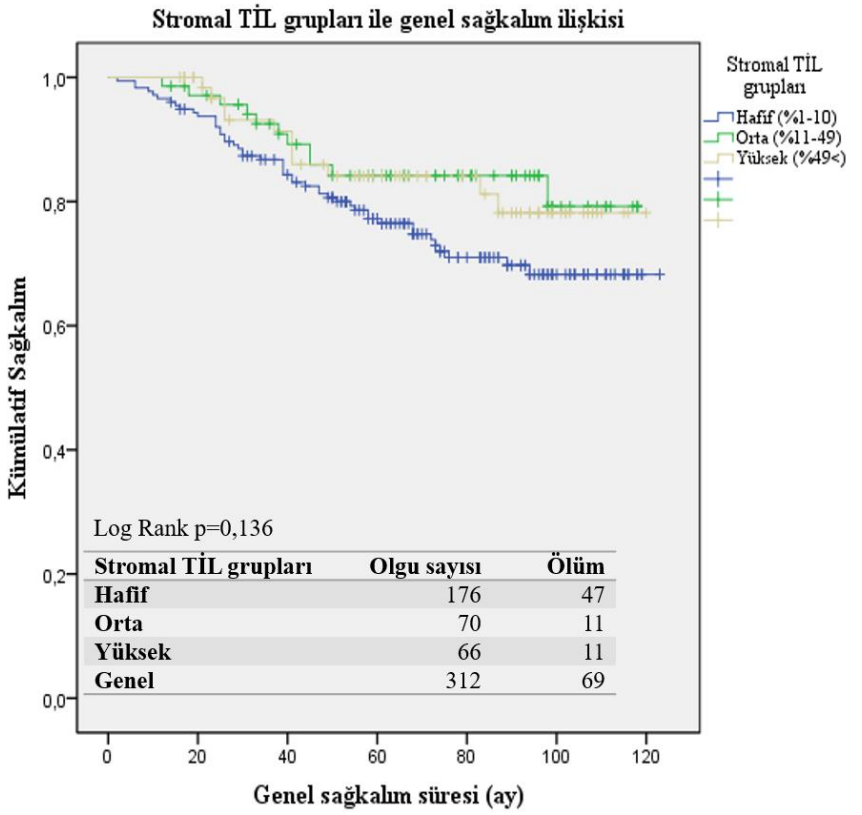
Çalışmamıza dahil edilen 312 olgunun klinikopatolojik özelliklerinin, TİL oranlarının, tersiyer lenfoid yapılanma varlığının ve TİL'deki PD-1, LAG-3, TİM-3 ekspresyon düzeylerinin genel sağkalıma etkisi araştırılmıştır. Olguların medyan takip süresi 68 aydır (minimum 2 ay, maksimum 123 ay). Çalışmamızdaki invaziv meme karsinomu olgularının 5 yıllık genel sağkalım oranı %80 (±2,4), 10 yıllık genel sağkalım oranı ise %72 (±2,4) olarak saptanmıştır.

312 olgunun 169'unun klinik izlem bilgisine ulaşılmış olup bu olgularda hastalıksız sağkalım analizleri yapılmıştır. Olguların medyan hastalıksız sağkalım süresi 61 aydır (minimum 6 ay, maksimum 120 ay). Çalışmamızdaki invaziv meme karsinomu olgularının 5 yıllık hastalıksız sağkalım oranı %72 (±3,6), 10 yıllık hastalıksız sağkalım oranı ise %69 (±3,9) olarak saptanmıştır.

Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde stromal TİL yoğunluğu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak

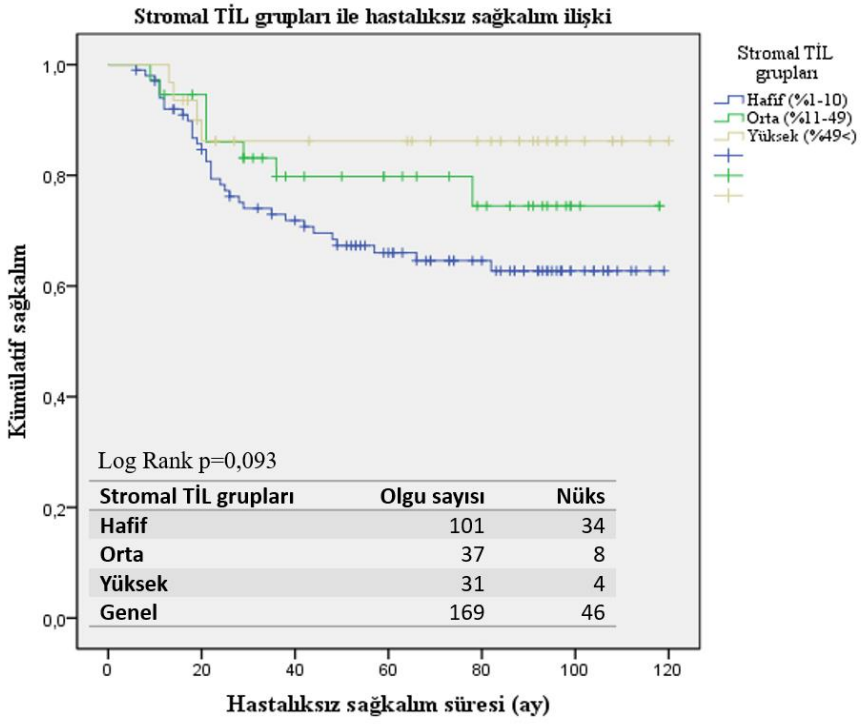
anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (sırasıyla *p*=0,136 ve *p*=0,093). Ancak stromal TİL yoğunluğu hafif olanlarda genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım daha düşük olma eğilimindedir (Grafik 1).

Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde üçlü negatif grupta stromal TİL yoğunluğu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (sırasıyla *p*=0,278 ve *p*=0,392). Ancak stromal TİL yoğunluğu hafif olanlarda genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım daha düşük olma eğilimindedir (Grafik 2).



Log Rank p=0,136

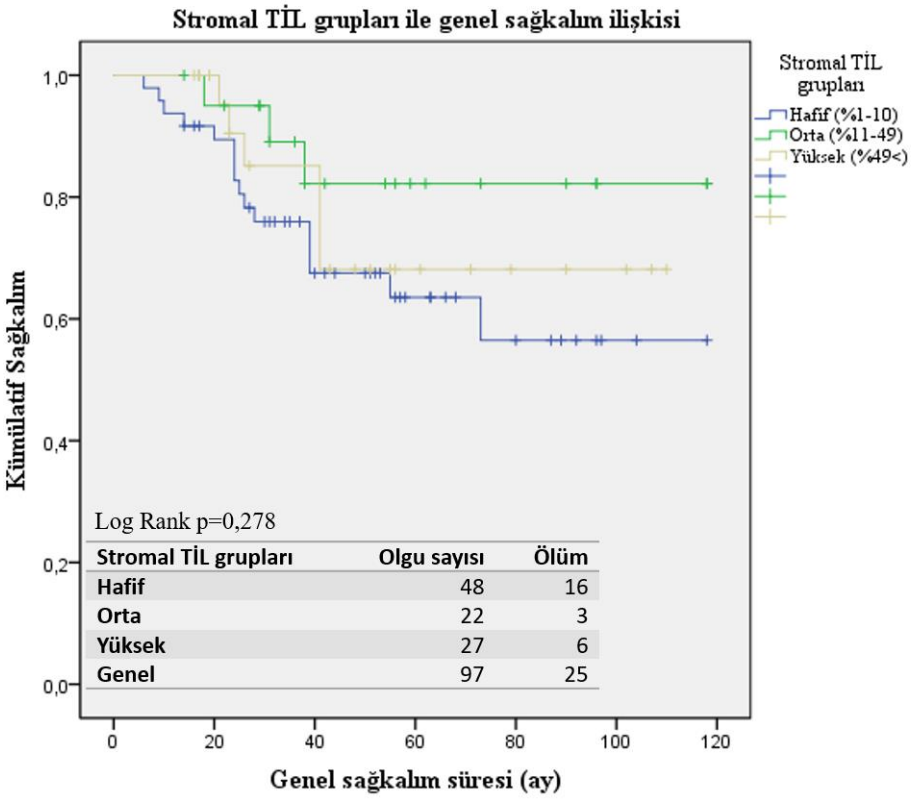
Stromal TİL grupları	Olgu sayısı	Ölüm
Hafif	176	47
Orta	70	11
Yüksek	66	11
Genel	312	69



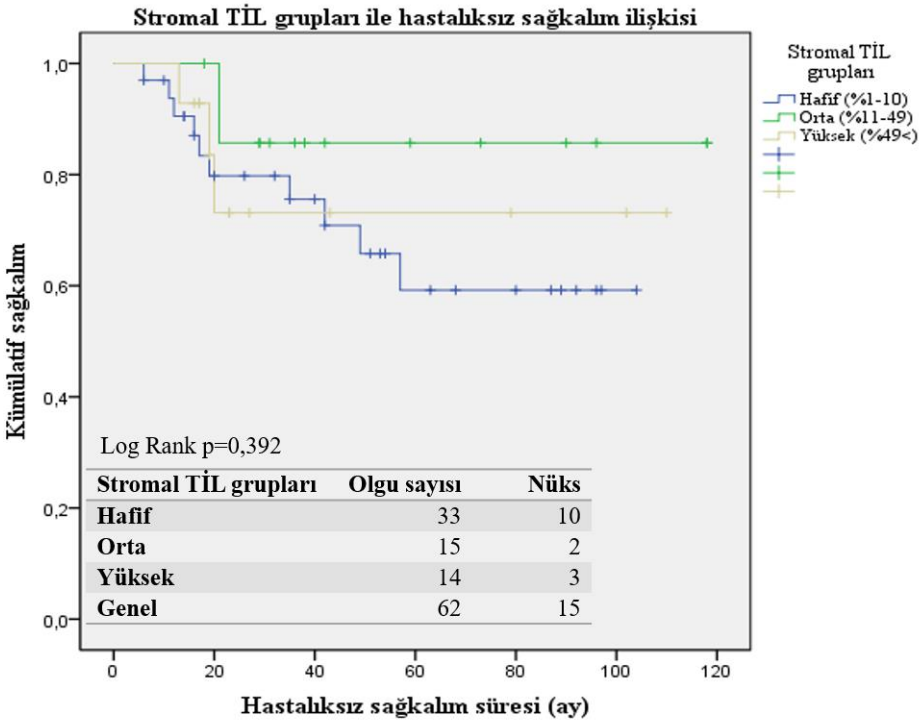
Log Rank p=0,093

Stromal TİL grupları	Olgu sayısı	Nüks
Hafif	101	34
Orta	37	8
Yüksek	31	4
Genel	169	46

Grafik 1: Tüm invaziv meme karsinom olgularında stromal TİL yoğunluğu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki



Stromal TİL grupları	Olgu sayısı	Ölüm
Hafif	48	16
Orta	22	3
Yüksek	27	6
Genel	97	25



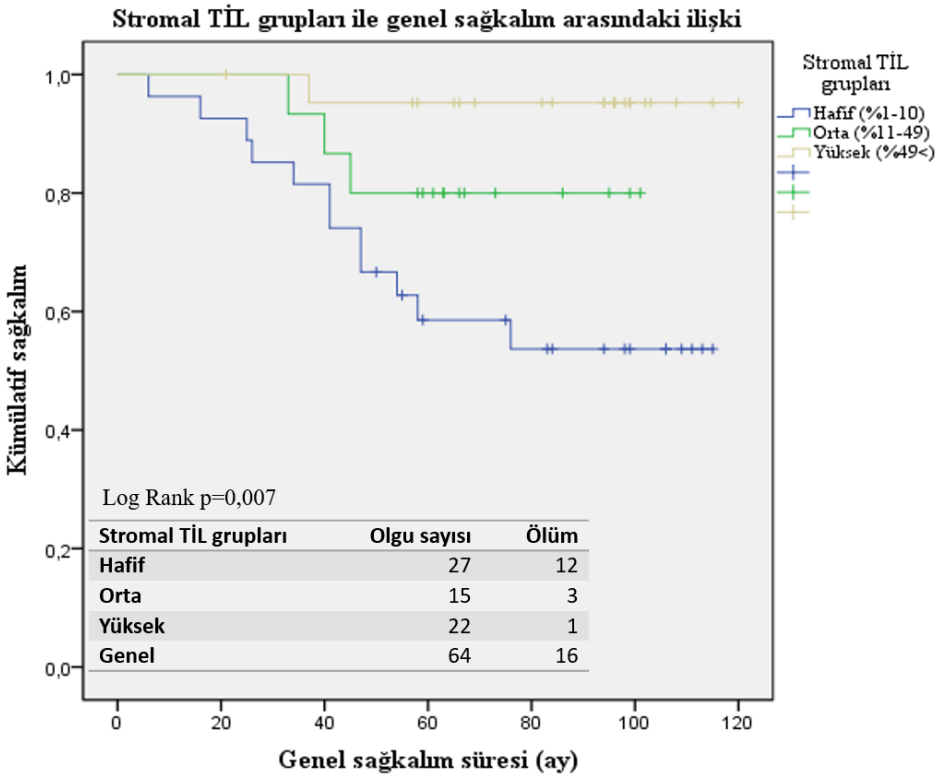
Stromal TİL grupları	Olgu sayısı	Nüks
Hafif	33	10
Orta	15	2
Yüksek	14	3
Genel	62	15

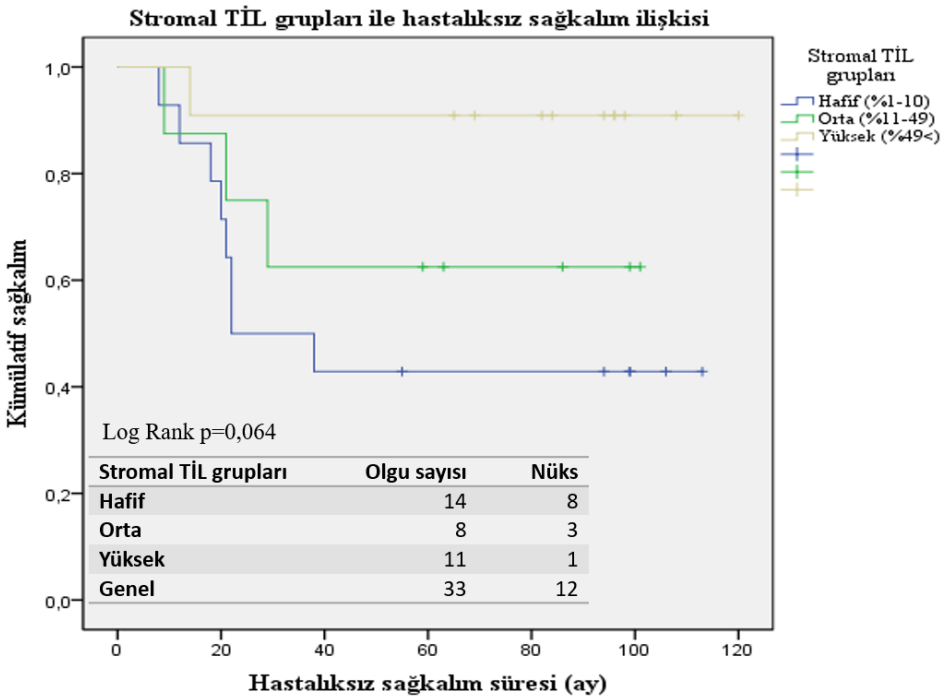
Grafik 2: Üçlü negatif meme karsinomu olgularında stromal TİL yoğunluğu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde HR negatif-HER2 pozitif grupta stromal TİL grupları ile genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,007). Yüksek stromal TİL yoğunluğu içeren olgularda genel sağkalım daha yüksektir. Bu grupta stromal TİL yoğunluğu ile hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,064). Ancak stromal TİL yoğunluğu hafif olanlarda hastalıksız sağkalım daha düşük olma eğilimindedir (Grafik 3).

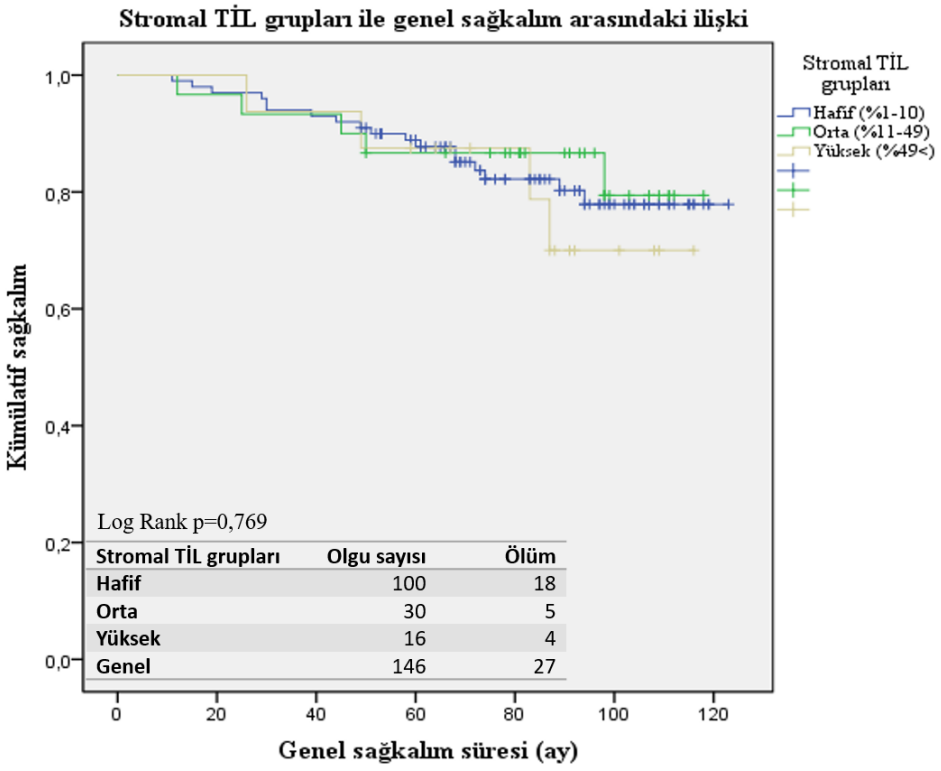
Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde HR pozitif grupta stromal TİL yoğunluğu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (sırasıyla p=0,769 ve p=0,319) (Grafik 4).

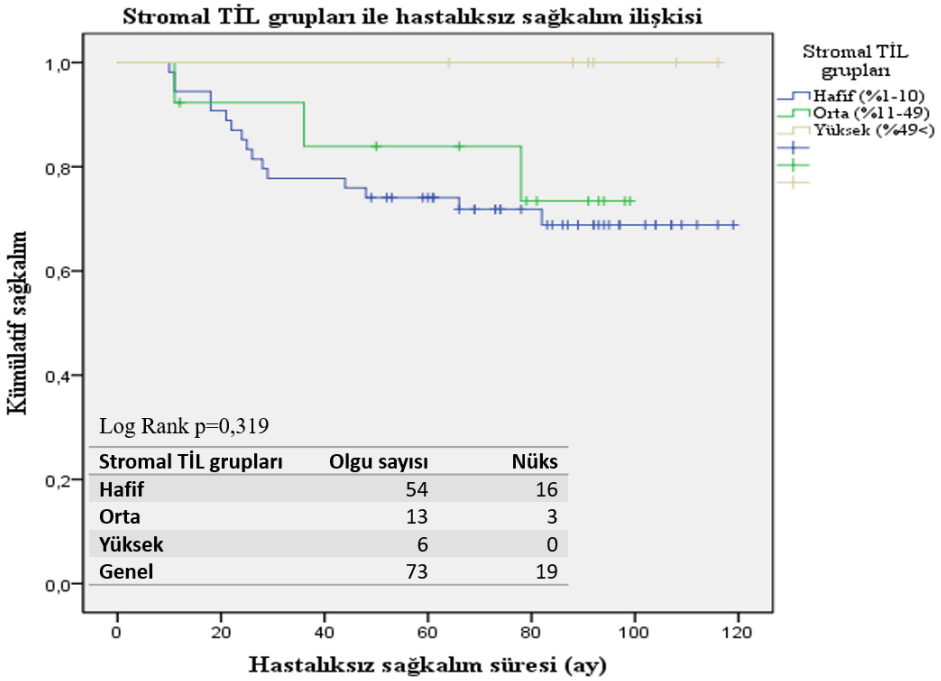
Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,023). Tersiyer lenfoid yapılanma içeren tümörü bulunan olgularda genel sağkalım daha yüksektir. Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,062). Ancak tümörlerinde tersiyer lenfoid yapılanma içeren olgularda hastalıksız sağkalımın daha yüksek olma eğiliminde olduğu gözlenmiştir (Grafik 5).



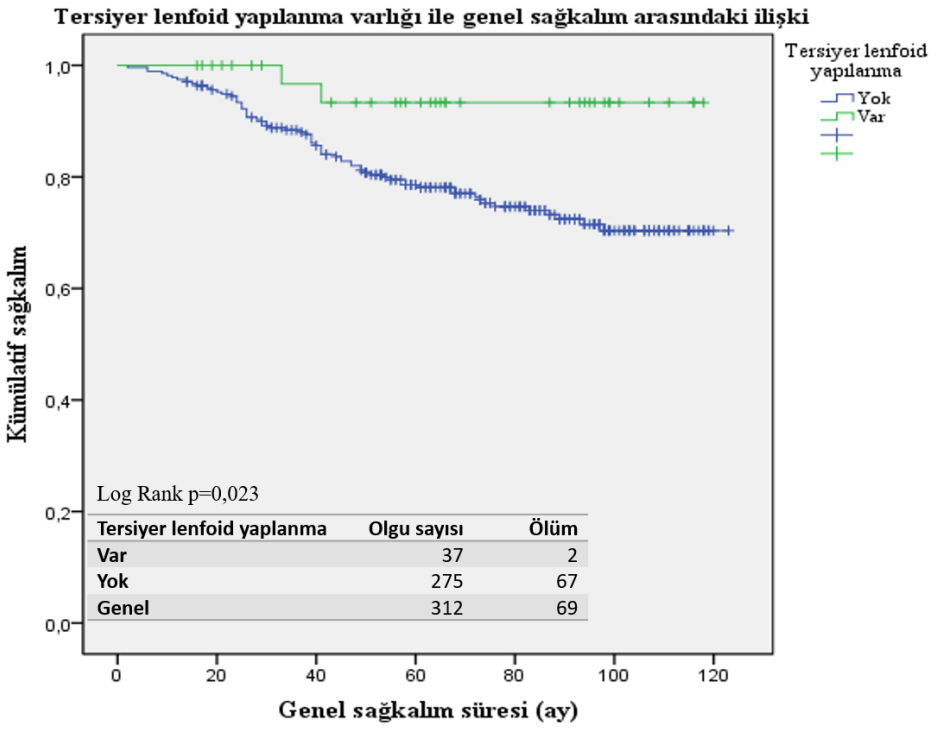


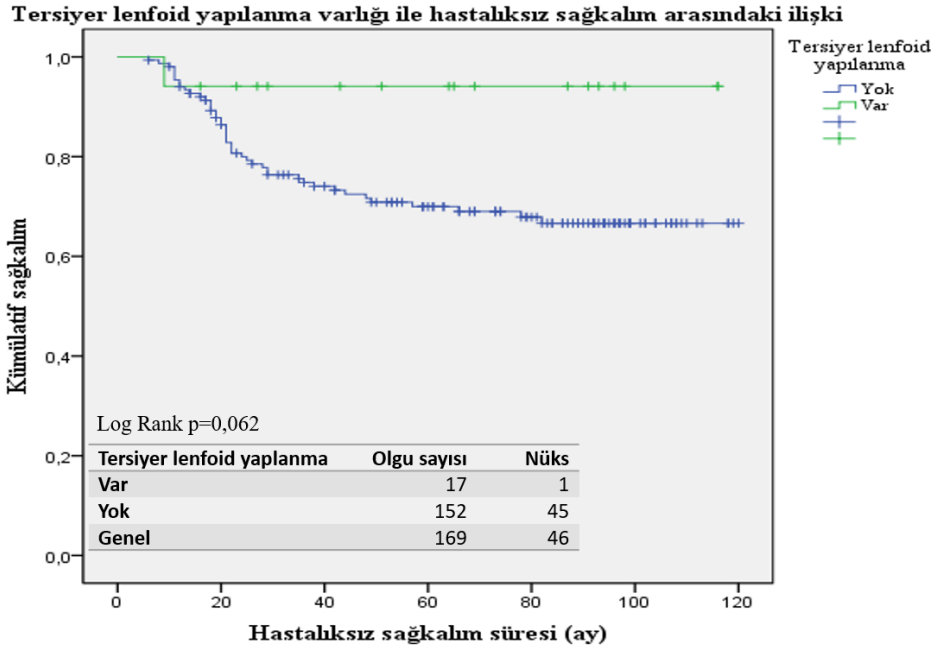
Grafik 3: HR negatif-HER2 pozitif meme karsinomu olgularında stromal TİL yoğunluğu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki





Grafik 4: HR pozitif meme karsinomu olgularında stromal TİL yoğunluğu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki





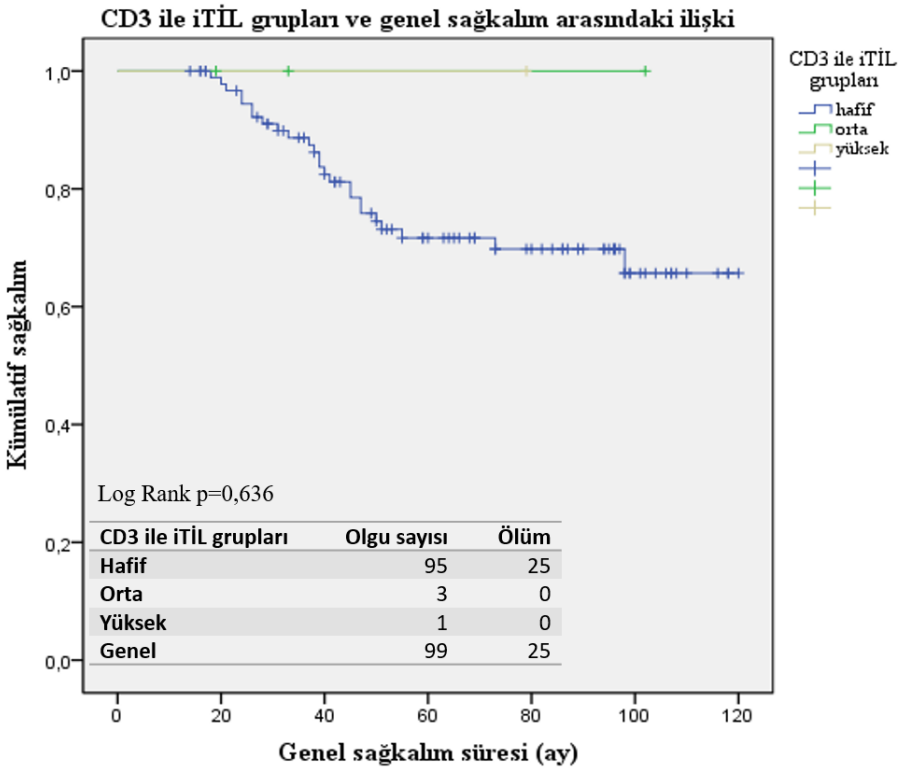
Grafik 5: Tüm invaziv meme karsinomu olgularında tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

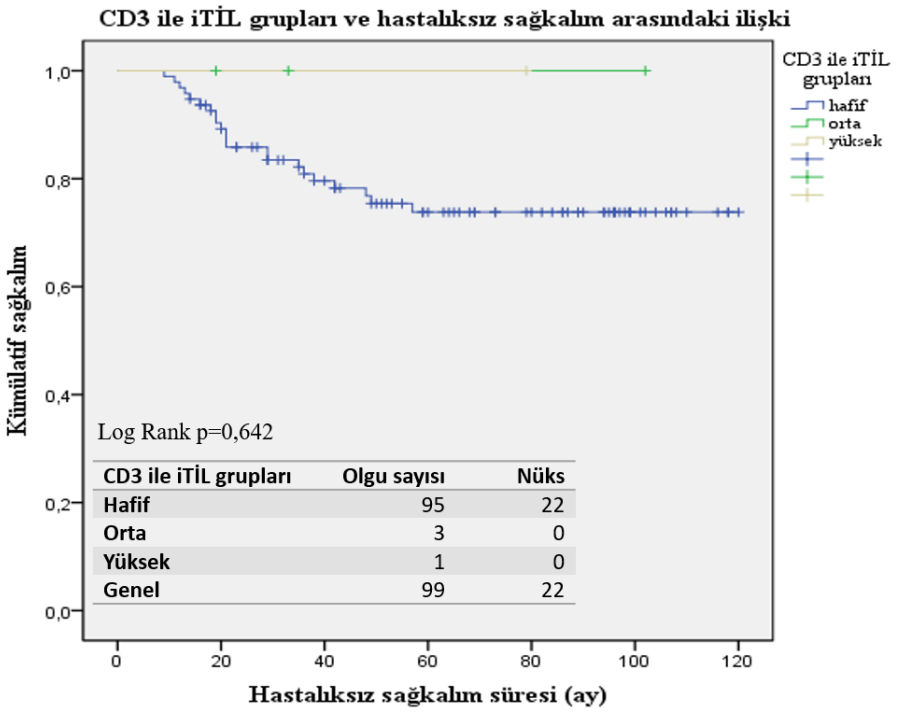
Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (sırasıyla p=0,636 ve p=0,642). Ancak, CD3 ile belirlenen intratümöral TİL yoğunluğu düşük olan olgularda genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım da düşük olma eğilimindedir (Grafik 6).

Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (sırasıyla p<0,001 ve p=0,001). İntratümöral TİL'de yüksek PD-1 ekspresyonu bulunan olgularda genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım da yüksek olma eğilimindedir (Grafik 7).

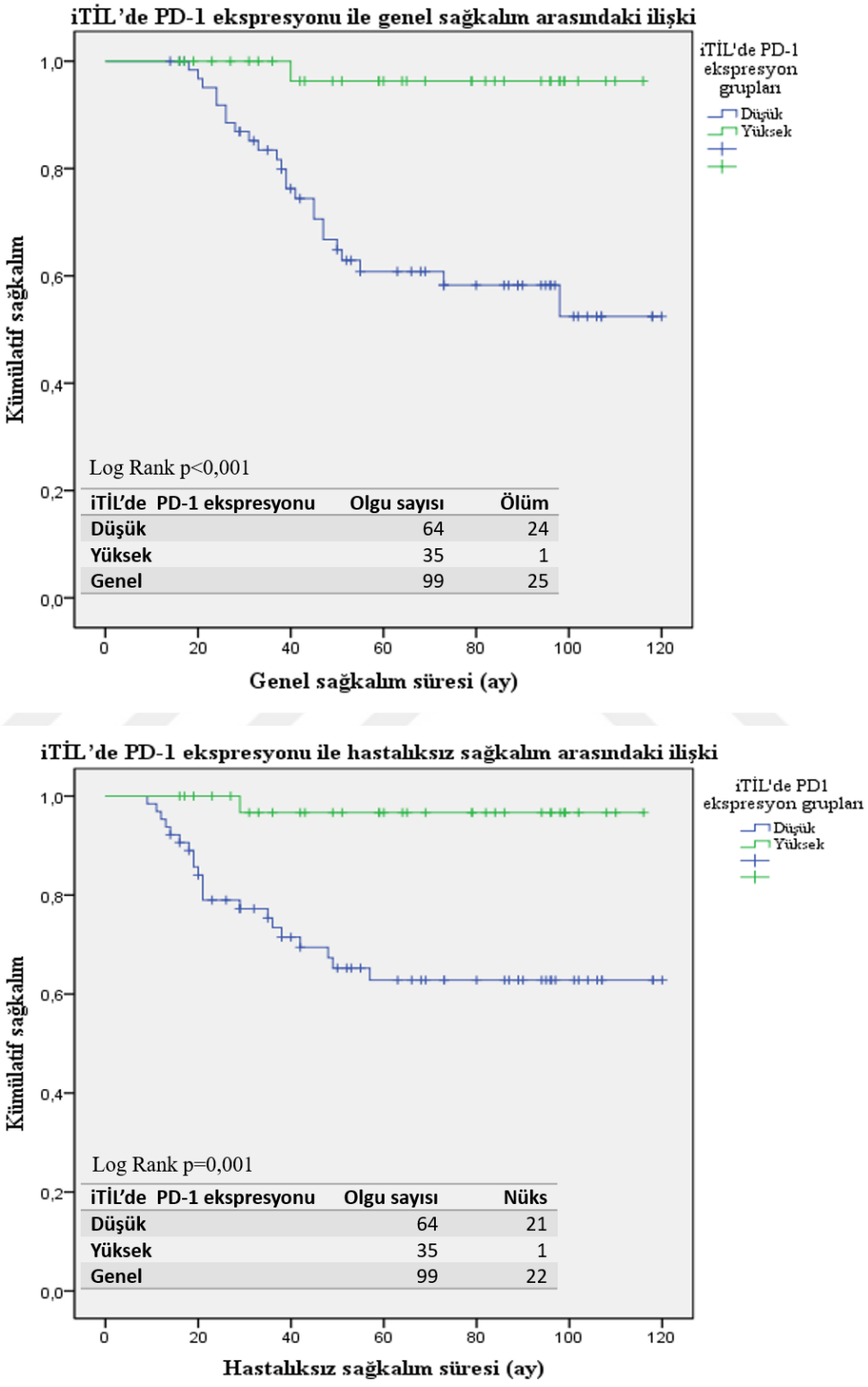
Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (sırasıyla p=0,223 ve p=0,703). Ancak stromal TİL'de yüksek PD-1 ekspresyonu bulunan olgularda genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım da yüksek olma eğilimindedir (Grafik 8).

Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde intratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (sırasıyla p=0,280 ve p=0,388). Ancak, intratümöral TİL'de yüksek LAG-3 ekspresyonu bulunan olgularda genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım da yüksek olma eğilimindedir (Grafik 9).

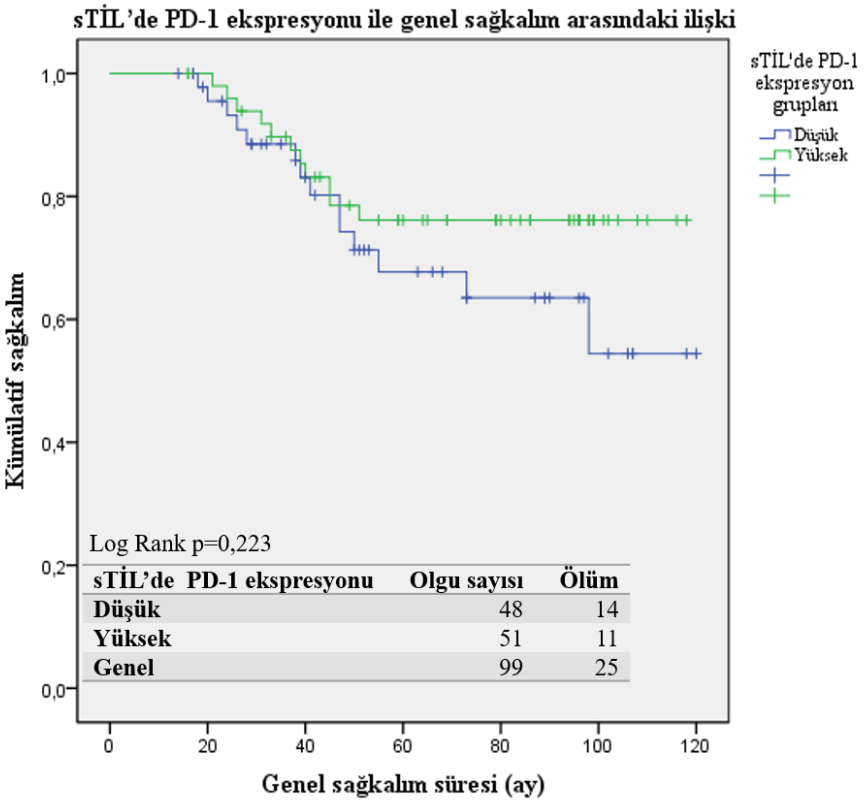


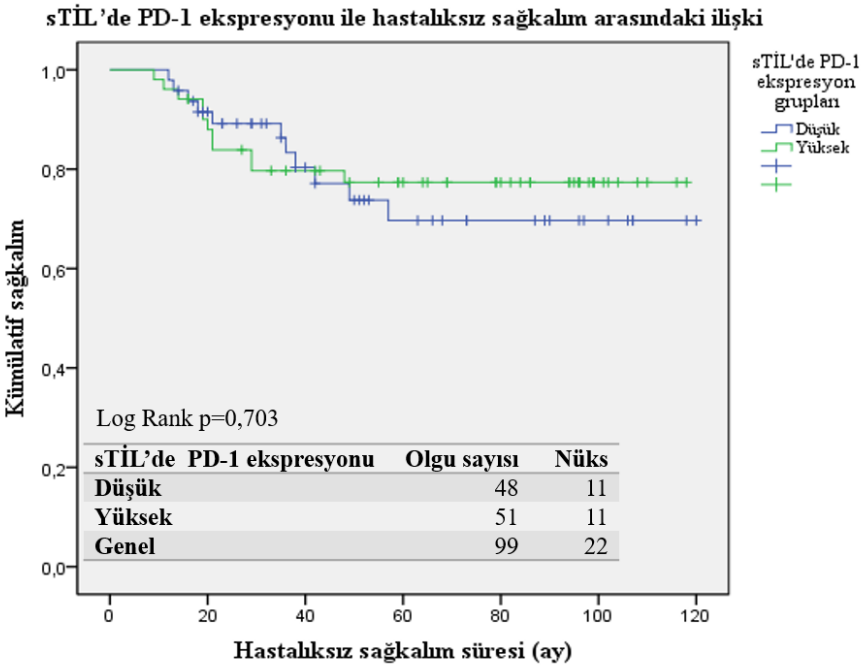


Grafik 6: İnvaziv meme karsinomu olgularında CD3 ile belirlenen intratümöral TİL ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

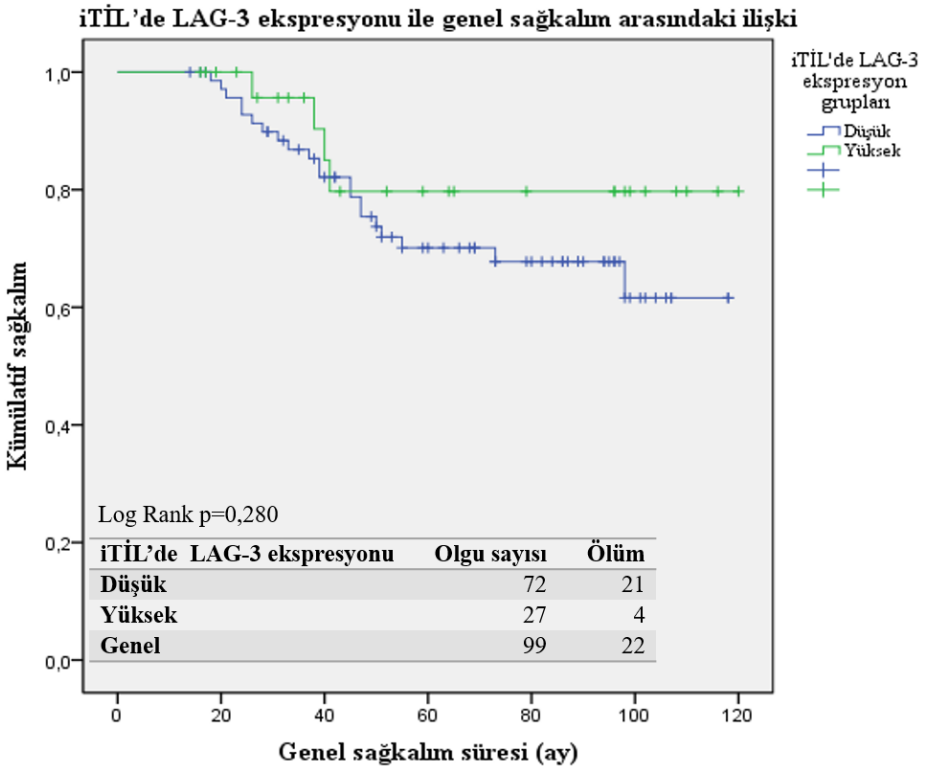


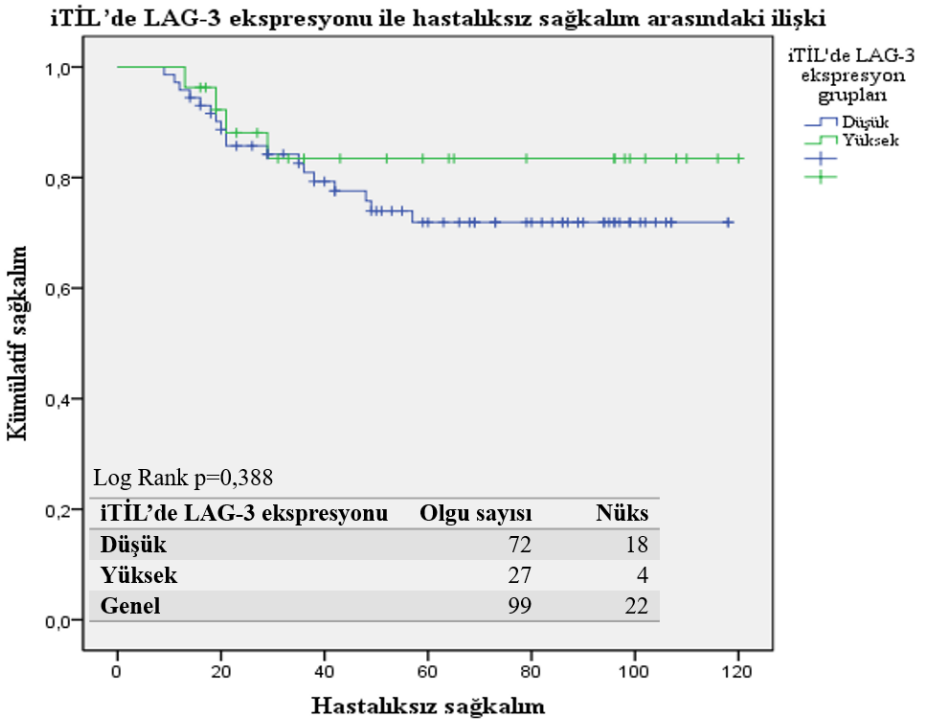
Grafik 7: İnvaziv meme karsinomu olgularında intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki





Grafik 8: İnvaziv meme karsinomu olgularında stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki



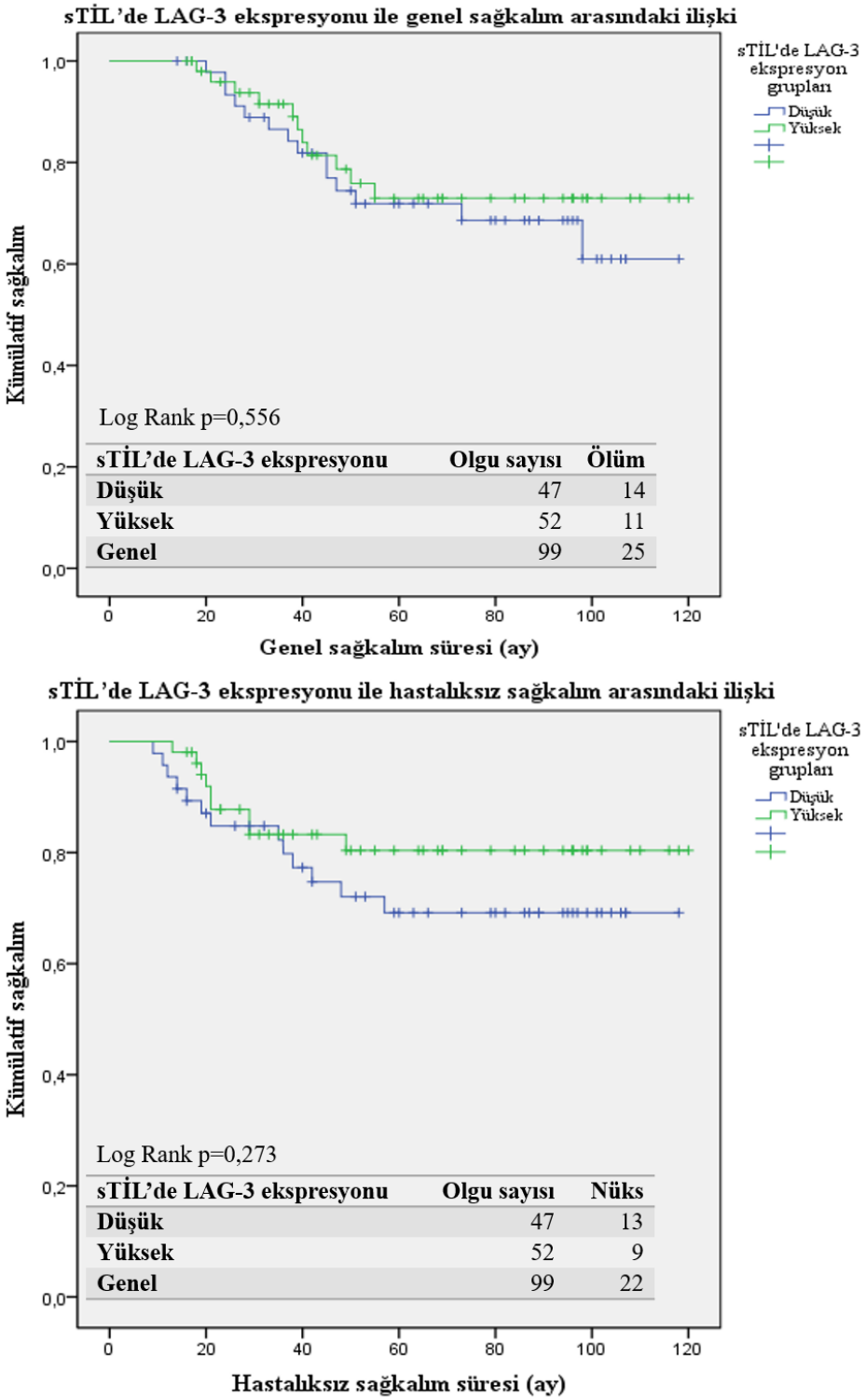


Grafik 9: İnvaziv meme karsinomu olgularında intratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

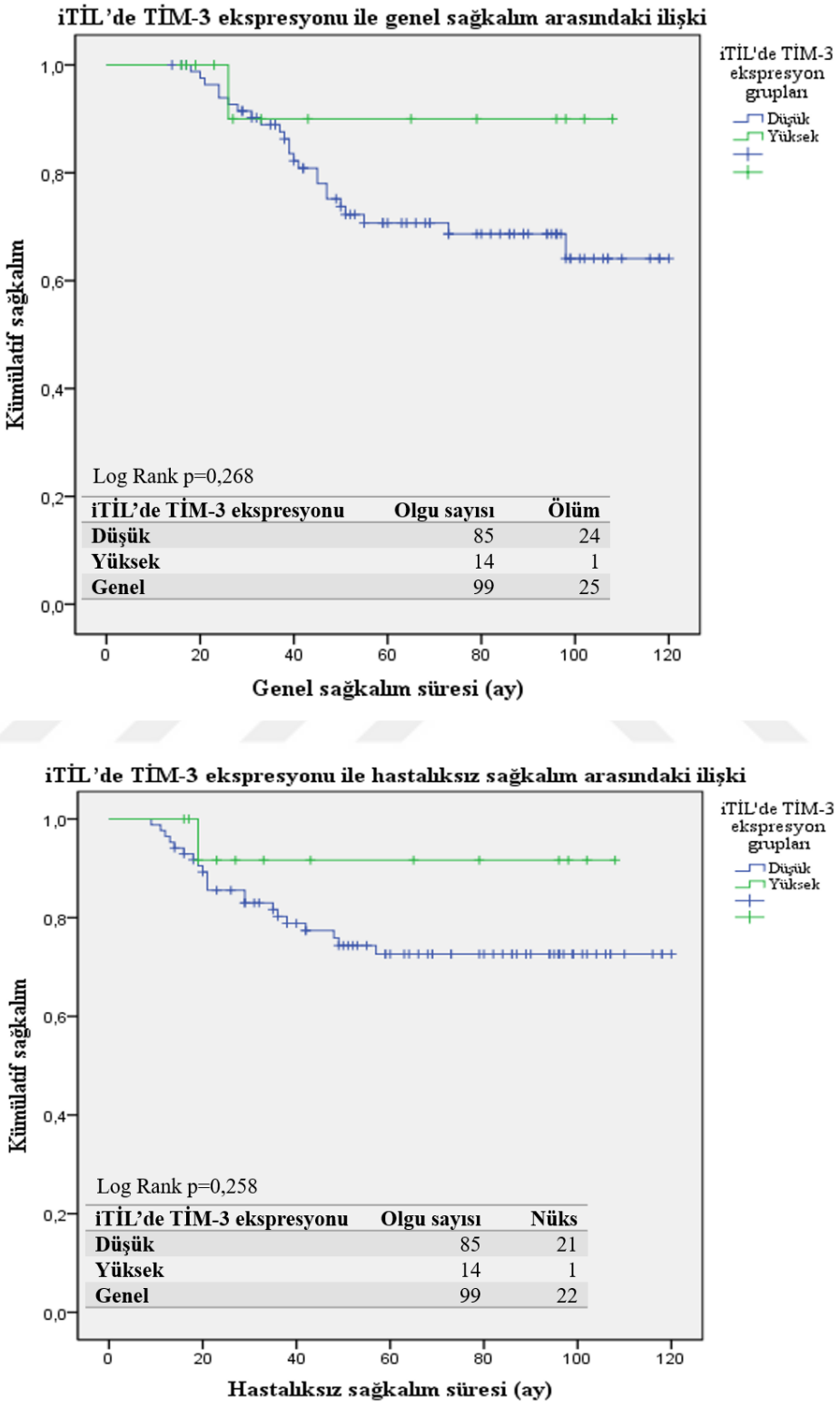
Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (sırasıyla p=0,556 ve p=0,273). Ancak, stromal TİL'de yüksek LAG-3 ekspresyonu bulunan olgularda genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım da yüksek olma eğilimindedir (Grafik 10).

Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde intratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (sırasıyla p=0,268 ve p=0,258). Ancak, intratümöral TİL'de yüksek TİM-3 ekspresyonu bulunan olgularda genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım da yüksek olma eğilimindedir (Grafik 11).

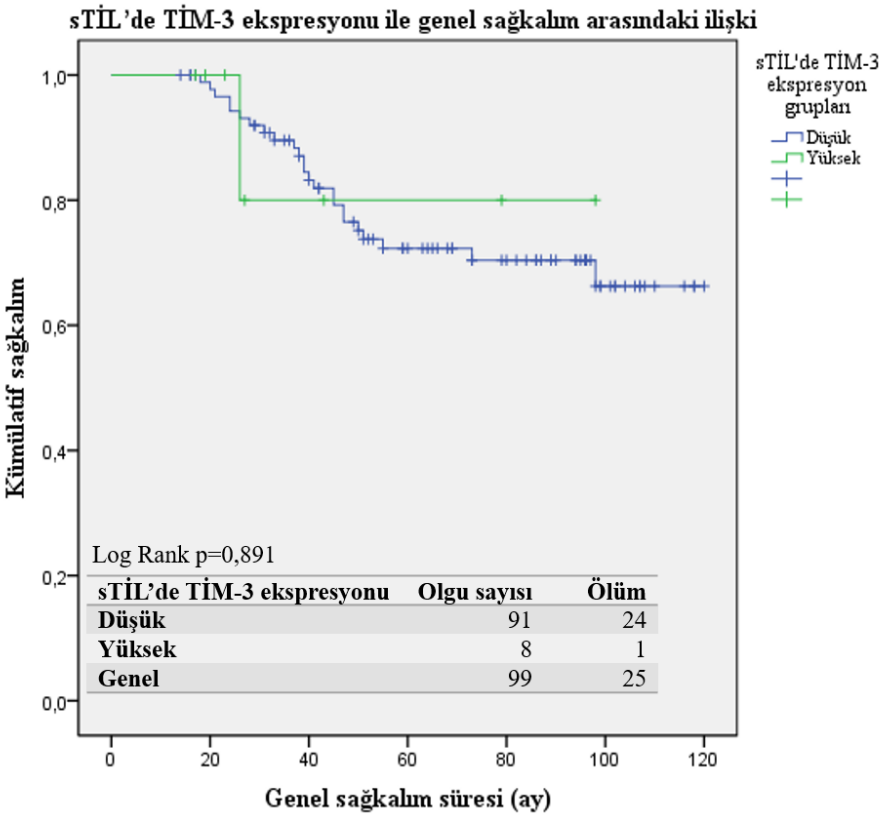
Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (sırasıyla p=0,891 ve p=0,750) (Grafik 12).

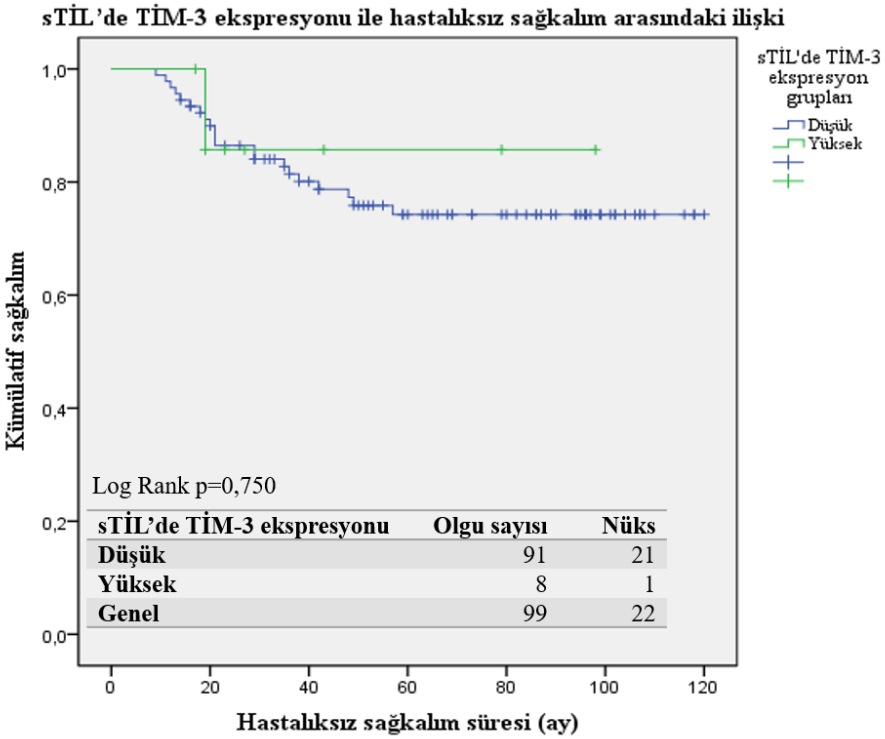


Grafik 10: İnvaziv meme karsinomu olgularında stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki



Grafik 11: İnvaziv meme karsinomu olgularında intratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki





Grafik 12: İnvaziv meme karsinomu olgularında stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Stromal TİL yoğunluğunun genel sağkalıma etkisi Cox regresyon testi ile araştırılmış olup tüm invaziv meme karsinomu olgularında (Hazard ratio (HazR)=0,6, %95 Confidence interval (CI) 0,4-0,9, *p*=0,050) ve HR negatif-HER2 pozitif olan olgularda (HazR=0,2, %95 CI 0,1-0,6, *p*=0,007) sağkalım ile TİL arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (Tablo 35).

Tablo 35: Stromal TİL yoğunluğunun genel sağkalıma etkisi (orta-yüksek / hafif TİL yoğunluğu karşılaştırılmıştır)

n: 312	**HazR**	**%95 CI**	***p***
Genel	0,602	0,363-0,999	**0,050**
Üçlü negatif	0,558	0,247-1,265	0,162
HR negatif-HER2 pozitif	0,211	0,068-0,655	**0,007**
HR pozitif-HER2 pozitif	1,800	0,549-5,900	0,332
HR pozitif-HER2 negatif	0,640	0,206-1,989	0,440

Cox regresyon testi ile tek değişkenli olarak yapılan genel sağkalım analizlerinde tersiyer lenfoid yapılanma varlığında genel sağkalımın daha yüksek olduğu saptanmıştır (HazR=0,2, %95 CI 0,1-0,9, *p*=0,038) (Tablo 36).

Tablo 36: Tek değişkenli genel sağkalım analizi

n: 312	**HazR**	**%95 CI**	***p***
Yaş (≥40 / <40)	1,046	0,572-1,913	0,883
Tümör çapı (>2 / ≤2)	2,356	1,260-4,404	**0,007**
Lenf nodu metastazı (var / yok)	2,672	1,526-4,679	**0,001**
Evre (III-IV / I-II)	3,720	2,280-6,069	**<0,001**
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	0,602	0,363-0,999	**0,050**
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	0,226	0,055-0,923	**0,038**
ER ekspresyonu (pozitif / negatif)	0,532	0,327-0,864	**0,011**
HER2 aşırı ekspresyonu (var / yok)	0,620	0,381-1,010	0,055

Hangi faktörlerin bağımsız prognostik öneme sahip olduğunu araştırmak için yapılan çok değişkenli Cox regresyon testinde evre, stromal TİL yoğunluğu, ER ekspresyonu ve HER2 aşırı ekspresyonunun genel sağkalım açısından bağımsız prognostik faktör olduğu saptanmıştır (Tablo 37).

Tablo 37: Çok değişkenli genel sağkalım analizi

n: 312	**HazR**	**%95 CI**	***p***
Tümör çapı (>2 / ≤2)	1,804	0,938-3,469	0,077
Lenf nodu metastazı (var / yok)	1,331	0,645-2,747	0,439
Evre (III-IV / I-II)	3,513	1,832-6,736	**<0,001**
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	0,453	0,260-0,791	**0,005**
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	0,145	0,020-1,064	0,058
ER ekspresyonu (pozitif / negatif)	0,354	0,210-0,599	**<0,001**
HER2 aşırı ekspresyonu (var / yok)	0,447	0,265-0,754	**0,003**

Stromal TİL yoğunluğunun hastalıksız sağkalıma etkisi Cox regresyon testi ile araştırılmış olup invaziv meme karsinomu olgularında sağkalım ile TİL arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (HazR=0,5, %95 CI 0,3-0,9, *p*=0,042) (Tablo 38).

Tablo 38: Stromal TİL yoğunluğunun hastalıksız sağkalıma etkisi (orta-yüksek / hafif TİL yoğunluğu karşılaştırılmıştır)

n: 169	**HazR**	**%95 CI**	***p***
Genel	0,505	0,262-0,976	0,042
Üçlü negatif	0,537	0,183-1,577	0,258
HR negatif-HER2 pozitif	0,302	0,091-1,007	0,051
HR pozitif-HER2 pozitif	1,276	0,329-4,945	0,725
HR pozitif-HER2 negatif	0,029	0,000-13,452	0,259

Cox regresyon testi ile tek değişkenli olarak yapılan hastalıksız sağkalım analizlerinde tersiyer lenfoid yapılanma varlığında hastalıksız sağkalımın daha yüksek olma eğiliminde olduğu izlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (HazR=0,2, %95 CI 0,03-1,3, *p*=0,097). Lenf nodu metastazı, evre ve stromal TİL ile hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki sapatanmıştır (Tablo 39).

Tablo 39: Tek değişkenli hastalıksız sağkalım analizi

n: 169	**HazR**	**%95 CI**	***p***
Yaş (≥40 / <40)	0,707	0,366-1,367	0,303
Tümör çapı (>2 / ≤2)	1,747	0,863-3,537	0,121
Lenf nodu metastazı (var / yok)	2,217	1,145-4,293	**0,018**
Evre (III-IV / I-II)	0,493	0,274-0,887	**0,018**
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	0,505	0,262-0,976	**0,042**
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	0,187	0,026-1,356	0,097
ER ekspresyonu (pozitif / negatif)	0,720	0,400-1,298	0,275
HER2 aşırı ekspresyonu (var / yok)	1,041	0,583-1,858	0,893

Hangi faktörlerin bağımsız prognostik öneme sahip olduğunu araştırmak için yapılan çok değişkenli Cox regresyon testinde stromal TİL yoğunluğunun ve ER ekspresyonunun hastalıksız sağkalım açısından bağımsız prognostik faktör olduğu saptanmıştır (Tablo 40).

Tablo 40: Çok değişkenli hastalıksız sağkalım analizi

n: 169	**HazR**	**%95 CI**	***p***
Tümör çapı (>2 / ≤2)	1,466	0,691-3,113	0,319
Lenf nodu metastazı (var / yok)	1,760	0,771-4,017	0,179
Evre (III-IV / I-II)	1,611	0,764-3,400	0,210
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	0,392	0,189-0,813	**0,012**
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	0,263	0,035-1,985	0,195
ER ekspresyonu (pozitif / negatif)	0,524	0,276-0,996	**0,049**
HER2 aşırı ekspresyonu (var / yok)	0,739	0,382-1,429	0,368

HR ve HER2 ekspresyon gruplarına göre yapılan çok değişkenli Cox regresyon analizlerinde genel sağkalım açısından stromal TİL yoğunluğunun üçlü negatif ve HR negatif-HER2 pozitif grup için bağımsız prognostik faktör olduğu saptanmıştır (Tablo 41).

Tablo 41: HR ve HER2 ekspresyon gruplarında çok değişkenli genel sağkalım analizi

Üçlü negatif, n:97	**HazR**	**%95 CI**	***p***
Tümör çapı (>2 / ≤2)	0,494	0,144-1,699	0,263
Lenf nodu metastazı (var / yok)	1,867	0,546-6,386	0,320
Evre (III-IV / I-II)	9,663	2,700-34,581	**<0,001**
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	0,298	0,120-0,742	**0,009**
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	0,000	0-3,349E+284	0,969
HR negatif-HER2 pozitif, n:64			
Tümör çapı (>2 / ≤2)	2,638	0,555-12,540	0,223
Lenf nodu metastazı (var / yok)	1,006	0,268-3,775	0,993
Evre (III-IV / I-II)	1,456	0,403-5,265	0,567
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	0,183	0,040-0,831	**0,028**
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	0,690	0,062-7,710	0,763
HR pozitif, n:146			
Tümör çapı (>2 / ≤2)	2,149	0,720-6,414	0,170
Lenf nodu metastazı (var / yok)	1,365	0,363-5,127	0,645
Evre (III-IV / I-II)	3,143	1,145-8,626	0,026
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	1,047	0,466-2,356	0,911
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	0,000	0,000-.	0,977

HR ve HER2 ekspresyon gruplarına göre yapılan çok değişkenli Cox regresyon analizlerinde hastalıksız sağkalım açısından stromal TİL yoğunluğunun üçlü negatif grup için bağımsız prognostik faktör olduğu saptanmıştır (Tablo 42).

Tablo 42: HR ve HER2 ekspresyon gruplarında çok değişkenli hastalıksız sağkalım analizi

Üçlü negatif, n:62	**HazR**	**%95 CI**	***p***
Tümör çapı (>2 / ≤2)	0,278	0,061-1,265	0,098
Lenf nodu metastazı (var / yok)	7,679	1,641-35,936	**0,010**
Evre (III-IV / I-II)	5,444	1,241-23,890	**0,025**
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	0,272	0,085-0,867	**0,028**
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	0,000	0,000-.	0,982
HR negatif-HER2 pozitif, n:33			
Tümör çapı (>2 / ≤2)	5,662	0,931-34,457	0,060
Lenf nodu metastazı (var / yok)	0,174	0,024-1,282	0,086
Evre (III-IV / I-II)	1,877	0,302-11,660	0,499
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	0,257	0,050-1,331	0,105
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	0,605	0,035-7,056	0,605
HR pozitif, n:73			
Tümör çapı (>2 / ≤2)	1,917	0,525-7,006	0,325
Lenf nodu metastazı (var / yok)	1,785	0,496-6,415	0,375
Evre (III-IV / I-II)	1,251	0,431-3,631	0,680
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	0,700	0,199-2,463	0,578
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	0,000	0,000-.	0,982

İmmünhistokimyasal çalışma sonuçları tek değişkenli Cox regresyon testi ile değerlendirildiğinde yalnızca intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (HazR=0,07, %95 CI 0,009-0,504, *p*=0,009) (Tablo 43).

Tablo 43: Tek değişkenli genel sağkalım analizi

n: 99	**HazR**	**%95 CI**	***p***
CD3 ile belirlenen iTİL (orta-yüksek / düşük)	0,047	0-648,595	0,530
iTİL'deki PD-1 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,068	0,009-0,504	**0,009**
sTİL'deki PD-1 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,616	0,279-1,357	0,229
iTİL'deki LAG-3 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,559	0,192-1,633	0,288
sTİL'deki LAG-3 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,790	0,358-1,740	0,558
iTİL'deki TİM-3 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,341	0,046-2,523	0,292
sTİL'deki TİM-3 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,870	0,117-6,451	0,892

İntratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonunun bağımsız prognostik faktör olup olmadığını araştırmak için yapılan çok değişkenli Cox regresyon testinde genel sağkalım ile intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (HazR=0,05, %95 CI 0,006-0,4, *p*=0,005) (Tablo 44).

Tablo 44: Çok değişkenli genel sağkalım analizi

n: 99	**HazR**	**%95 CI**	***p***
Tümör çapı (>2 / ≤2)	0,329	0,082-1,312	0,115
Lenf nodu metastazı (var / yok)	3,036	0,748-12,327	0,120
Evre (III-IV / I-II)	4,090	1,156-14,468	**0,029**
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	1,029	0,422-2,508	0,950
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	1,554	0,179-13,478	0,689
ER ekspresyonu (pozitif / negatif)	0,754	0,204-2,795	0,673
HER2 aşırı ekspresyonu (var / yok)	0,256	0,075-0,868	**0,029**
iTİL'deki PD-1 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,047	0,006-0,403	**0,005**

İmmünhistokimyasal çalışma sonuçları tek değişkenli Cox regresyon testi ile değerlendirildiğinde yalnızca intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (HazR=0,07, %95 CI 0,01-0,5, *p*=0,011) (Tablo 45).

Tablo 45: Tek değişkenli hastalıksız sağkalım analizi

n: 99	**HazR**	**%95 CI**	***p***
CD3 ile belirlenen iTİL (orta-yüksek / düşük)	0,047	0-735,375	0,535
iTİL'deki PD-1 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,074	0,010-0,550	**0,011**
sTİL'deki PD-1 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,850	0,368-1,965	0,704
iTİL'deki LAG-3 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,624	0,211-1,845	0,394
sTİL'deki LAG-3 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,625	0,267-1,463	0,279
iTİL'deki TİM-3 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,333	0,045-2,477	0,283
sTİL'deki TİM-3 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,723	0,097-5,397	0,752

İntratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonunun bağımsız prognostik faktör olup olmadığını araştırmak için yapılan çok değişkenli Cox regresyon testinde hastalıksız sağkalım ile intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (HazR=0,06, %95 CI 0,007-0,5, *p*=0,010) (Tablo 46).

Tablo 46: Çok değişkenli hastalıksız sağkalım analizi

n: 99	**HazR**	**%95 CI**	***p***
Tümör çapı (>2 / ≤2)	0,548	0,143-2,100	0,380
Lenf nodu metastazı (var / yok)	3,340	0,909-12,278	0,069
Evre (III-IV / I-II)	1,762	0,539-5,761	0,348
Stromal TİL yoğunluğu (orta-yüksek / hafif)	0,990	0,385-2,544	0,983
Tersiyer lenfoid yapılanma (var / yok)	1,322	0,150-11,680	0,802
ER ekspresyonu (pozitif / negatif)	0,570	0,139-2,333	0,434
HER2 aşırı ekspresyonu (var / yok)	0,657	0,198-2,173	0,491
iTİL'deki PD-1 ekspresyonu (yüksek / düşük)	0,058	0,007-0,504	**0,010**

4.2. DKİS Olguları

4.2.1. Demografik ve klinik özellikler

Çalışmaya dahil edilen DKİS tanılı olgu sayısı 68'dir. Olguların yaş ortalaması 53,8 olup, yaş aralığı 29–77 arasında değişmektedir. Olguların tümü kadındır. İncelenen materyallerin 37'si (%54,4) mastektomi, 31'i (%45,6) lumpektomi olup materyalin tarafı benzer oranlarda izlenmiştir (sağ %42,6, sol %57,4). 15 Ocak 2020 tarihine kadarki ortalama total sağkalım süresi 84±21,8 ay olup; en uzun genel sağkalım süresi 119 ay, en kısa genel sağkalım süresi ise 50 aydır. Olguların 2'sinin (%2,9) öldüğü öğrenilmiştir (Tablo 47).

Tablo 47: DKİS olgularının demografik ve klinik özellikleri

Parametreler (n=68)	
Cinsiyet, n (%)	
Kadın	68 (100)
Erkek	0 (-)
Tanı yaşı (yıl)	
Ortalama±ss	53,8±9,8
Ortanca (min-maks)	55 (29-77)
Materyal tipi, n (%)	
Mastektomi	37 (54,4)
Lumpektomi	31 (45,6)
Materyalin tarafı, n (%)	
Sağ	29 (42,6)
Sol	39 (57,4)
Genel sağkalım (ay)	
Ortalama ± ss	84 ± 21,8
Ortanca (min-maks)	83,5 (50-119)
Ölüm, n (%)	
Var	2 (2,9)
Yok	66 (97,1)
ss: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum	

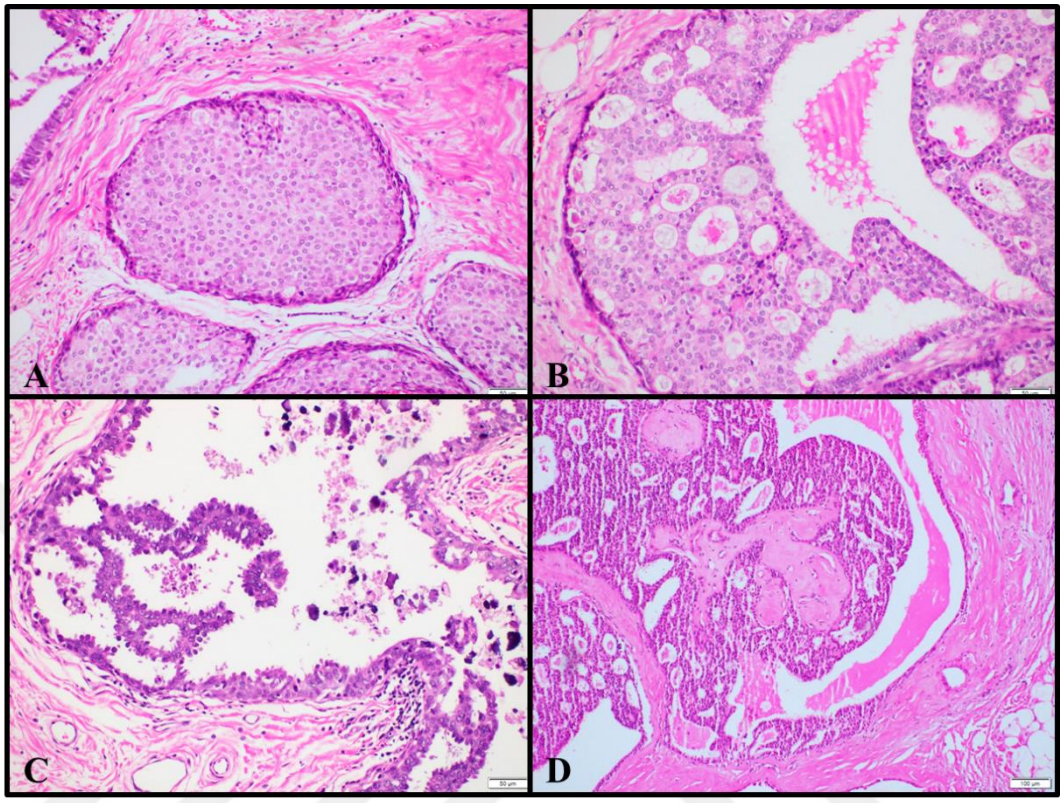
4.2.2. Histopatolojik özellikler

Çalışmaya dahil edilen olguların ortalama tümör çapı 2,1±2,5 cm olup olguların 42'inde (%93,2) tümörün nükleer derecesi 3'tür. ER, PR ve HER2 ekspresyonuna göre değerlendirildiğinde olguların 12'si (%17,6) HER2 pozitif, 29'u (%42,6) HR pozitif ve 6'sı (%8,8) HR pozitif-HER2 pozitif bulunmuştur. Olgulardan 21'inin (%30,9) patoloji raporlarından ER, PR ve HER2 ekspresyon durumlarına ulaşılamamıştır. Olguların 7'sinde (%10,3) mikroinvazyon saptanmıştır.

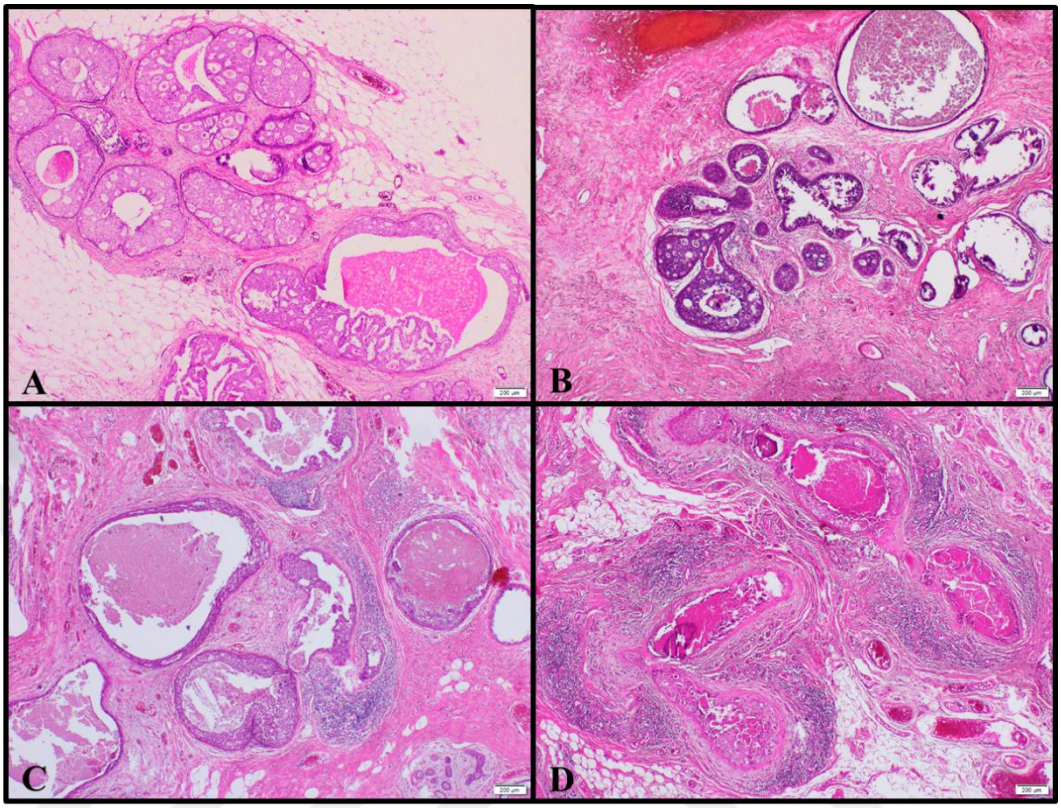
Tümör içeren H&E boyalı lamlar yeniden incelenerek stromal TİL yoğunluğu, tersiyer lenfoid yapılanma, lenfoid agregat, iyileşme (healing), komedonekroz, apoptoz, kalsifikasyon varlığı ve histolojik subtip (solid, kribriform, mikropapiller, papiller) belirlenmiştir. Tümörlerin ortalama stromal TİL oranı %14,7±19,2 olup; 5'inde (%7,4) tersiyer lenfoid yapılanma, 4'ünde (%5,9) lenfoid agregat, 10'unda (%14,7) iyileşme (healing), 52'sinde (%76,5) komedonekroz, 65'inde (%95,6) apoptoz ve 50'sinde (%73,5) kalsifikasyon saptanmıştır. Histolojik olarak en fazla solid subtip (%83,8), en az papiller subtip (%1,5) izlenmiştir (Tablo 48).

Tablo 48: DKİS olgularının histopatolojik özellikleri

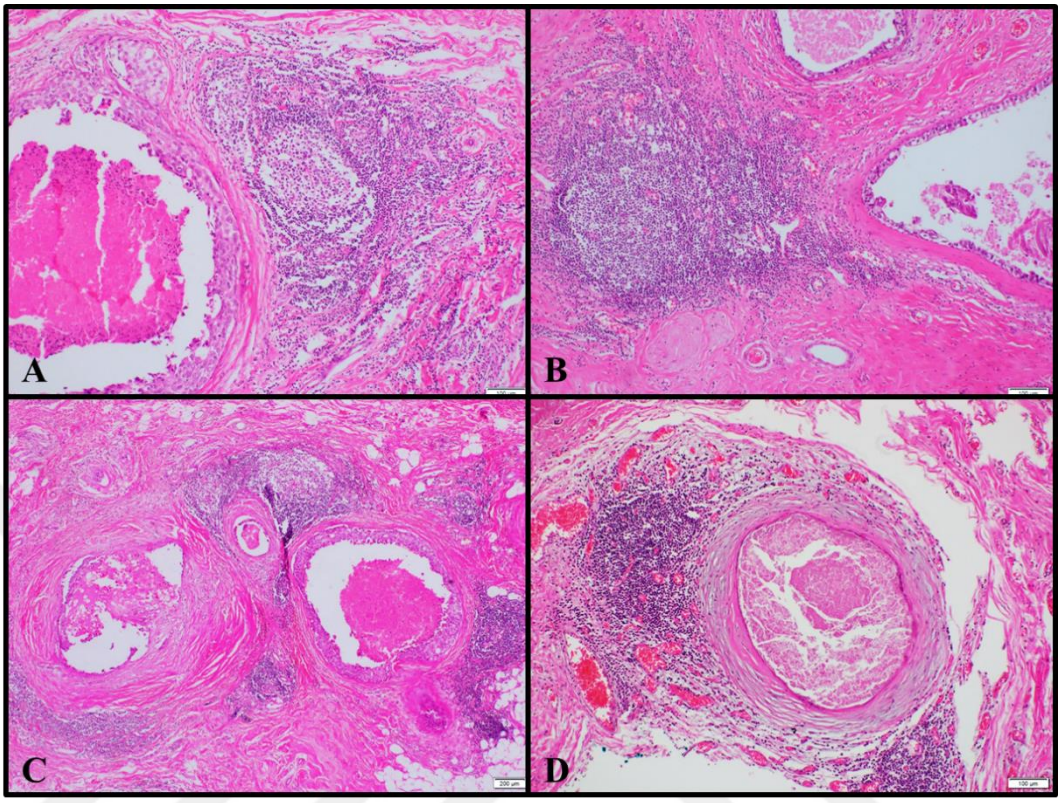
Parametreler (n=68)	
Tümörün nükleer derecesi, n (%)	
Derece 1/3	2 (1)
Derece 2/3	24 (5,8)
Derece 3/3	42 (93,2)
Reseptör ekspresyonu	
HER2 pozitif	12 (17,6)
HR pozitif	29 (42,6)
HR pozitif-HER2 pozitif	6 (8,8)
Bilinmiyor	21 (30,9)
Tümör çapı (cm)	
Ortalama±ss	2,1±2,5
Ortanca (min-maks)	1,3 (0,1-11)
Lenf nodu metastazı, n (%)	
Var	1 (1,5)
Yok	66 (97,1)
Bilinmiyor	1 (1,5)
Mikroinvazyon, n (%)	
Var	7 (10,3)
Yok	60 (88,3)
Bilinmiyor	1 (1,5)
Stromal TİL oranı	
Ortalama ± ss	14,7 ± 19,2
Ortanca (min-max)	5 (0-80)
Stromal TİL yoğunluğu, n (%)	
Hafif (%1-10)	45 (66,2)
Orta (%11-49)	17 (25)
Yüksek (%50≤)	6 (8,8)
Tersiyer lenfoid yapılanma, n (%)	
Var	5 (7,4)
Yok	63 (92,6)
Lenfoid agregat, n (%)	
Var	4 (5,9)
Yok	64 (94,1)
İyileşme (Healing), n (%)	
Var	10 (14,7)
Yok	58 (85,3)
Komedonekroz, n (%)	
Var	52 (76,5)
Yok	16 (23,5)
Apoptoz, n (%)	
Var	65 (95,6)
Yok	3 (4,4)
Kalsifikasyon, n (%)	
Var	50 (73,5)
Yok	18 (26,5)
Histolojik subtip	
Solid	57 (83,8)
Kribriform	39 (57,4)
Mikropapiller	17 (25)
Papiller	1 (1,5)
ss: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum	



Resim 10: DKİS morfolojik tiplerine örnekler **A** solid, **B** kribriform, **C** mikropapiller, **D** papiller (A,B ve C 200'lük büyütme, D 100'lük büyütme)



Resim 11: DKİS stromal TİL örnekleri **A** %2, **B** %10, **C** %40, **D** %80 (X40'lık büyütme)



Resim 12: DKİS histolojik bulgular **A** ve **B** tersiyer lenfoid yapılanma, **C** ve **D** iyileşme (healing) (A, B ve D 100'lük büyütme, C 40'lık büyütme)

4.2.3. Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen DKİS olgularının demografik ve klinik özellikleri

Çalışmaya dahil edilen 68 olgudan 50'sinin klinik takibi hastanemizde yapılmış olup hastane bilgi yönetim sisteminden nüks ve tedavi modalitelerine ulaşılmıştır. Bu olguların yaş ortalaması 53,5 olup, yaş aralığı 29–77 arasında değişmektedir. Olguların tümü kadındır. İncelenen cerrahi materyallerin 28'si (%56) mastektomi, 22'si (%44) lumpektomi olup materyallerin tarafı benzer oranlarda izlenmiştir (sağ %42, sol %58). 15 Ocak 2020 tarihine kadarki ortalama total sağkalım süresi 84,2±22,3 ay olup; en uzun total sağkalım süresi 119 ay, en kısa total sağkalım süresi ise 50 aydır. Olgulardan 1'inin (%2) öldüğü öğrenilmiştir. Hiçbir olguda nüks izlenmemiştir. Hastalardan sadece 1'i (%2) neoadjuvan tedavi almış olup adjuvan olarak 38 (%76) olgunun endokrin tedavi, 13 (%26) olgunun da radyoterapi aldığı belirlenmiştir (Tablo 49).

Tablo 49: Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen DKİS olgularının demografik ve klinik özellikleri

Parametreler (n=50)	
Cinsiyet, n (%)	
Kadın	50 (100)
Erkek	0 (-)
Tanı yaşı (yıl)	
Ortalama±ss	53,5±10,4
Ortanca (min-maks)	55 (29-77)
Materyal tipi, n (%)	
Mastektomi	28 (56)
Lumpektomi	22 (44)
Materyalin yönü, n (%)	
Sağ	21 (42)
Sol	29 (58)
Genel sağkalım (ay)	
Ortalama±ss	84,2±22,3
Ortanca (min-maks)	85 (50-119)
Ölüm durumu, n (%)	
Var	1 (2)
Yok	49 (98)
Hastalıksız sağkalım (ay)	
Ortalama±ss	84,2±22,3
Ortanca (min-maks)	85 (50-119)
Nüks, n (%)	
Var	0 (-)
Yok	50 (100)
Tedavi, n (%)	
Neoadjuvan endokrin tedavi	1 (2)
Adjuvan endokrin tedavi	38 (76)
Adjuvan radyoterapi	13 (26)

ss: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum

4.2.4. Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen DKİS olgularının histopatolojik özellikleri

Çalışmaya dahil edilen hastaların 50'sinin klinik takibine ulaşılmış olup ortalama tümör çapının 2,5 ± 2,8 cm ve olguların 31'inin (%62) tümör derecesinin 3/3 olduğu izlenmiştir. ER, PR ve HER2 ekspresyon durumlarına göre yapılan sınıflamada olguların 8'i (%16) HER2 pozitif, 24'ü (%48) HR pozitif ve 5 (%10) HR pozitif-HER2 pozitif sınıfta yer almıştır. Olgulardan 13'ünün (%26) patoloji raporlarından ER, PR ve HER2 durumlarına ulaşılamadığı için bu açıdan değerlendirme yapılamamıştır. Olguların 6'sında (%12) mikroinvazyon saptanmıştır.

Olguların ortalama stromal TİL oranı 14,2±19,1 olup; tümörlerin 5'inde (%10) tersiyer lenfoid yapılanma, 2'sinde (%4) lenfoid agregat, 7'sinde (%14) iyileşme (healing), 38'inde (%76) komedonekroz, 47'sinde (%94) apoptoz ve 40'ında (%80) kalsifikasyon saptanmıştır. Histolojik patern tipi olarak en fazla solid tip (%88), en az papiller tip izlenmiştir. Bu parametreler ve olguların diğer histopatolojik prognostik faktörleri Tablo 50'de gösterilmiştir.

Tablo 50: Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen DKİS olgularının histopatolojik özellikleri

Parametreler (n=50)	
Tümörün nükleer derecesi, n (%)	
Derece 1/3	1 (2)
Derece 2/3	18 (36)
Derece 3/3	31 (62)
Reseptör ekspresyonu, n (%)	
HER2 pozitif	8 (16)
HR pozitif	24 (48)
HR pozitif-HER2 pozitif	5 (10)
Bilinmiyor	13 (26)
Tümör çapı (cm)	
Ortalama±ss	2,5±2,8
Ortanca (min-maks)	1,5 (0,1-11)
Lenf nodu metastazı, n (%)	
Var	1 (2)
Yok	49 (98)
Mikroinvazyon durumu, n (%)	
Var	6 (12)
Yok	44 (88)
Stromal TİL oranı	
Ortalama±ss	14,2±19,1
Ortanca (min-maks)	5 (1-80)
Stromal TİL yoğunluğu, n (%)	
Hafif (%1-10)	34 (68)
Orta (%11-49)	12 (24)
Yüksek (%50≤)	4 (8)
Tersiyer lenfoid yapılanma, n (%)	
Var	5 (10)
Yok	45 (90)
Lenfoid agregat, n (%)	
Var	2 (4)
Yok	48 (96)
İyileşme (healing), n (%)	
Var	7 (14)
Yok	43 (86)
Komedonekroz, n (%)	
Var	38 (76)
Yok	12 (24)
Apoptoz, n (%)	
Var	47 (94)
Yok	3 (6)
Kalsifikasyon, n (%)	
Var	40 (80)
Yok	10 (20)
Histolojik patern tipi	
Solid	44 (88)
Kribriform	32 (64)
Mikropapiller	12 (24)
Papiller	0 (-)

ss: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum

4.2.5. Stromal TİL yoğunluğu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

Stromal TİL yoğunluğu ile yaş ortalaması, lenf nodu metastazı, mikroinvazyon, ölüm, total sağkalım ve neoadjuvan endokrin tedavi alma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 51).

Tablo 51: DKİS'lerde stromal TİL yoğunluğu ile demografik ve klinikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		Stromal TİL yoğunluğu, n (%)			
	n (%)	**Düşük (%1-10)**	**Orta (%11-49)**	**Yüksek (50≤)**	***p***
Yaş, n Ortalama±ss	68	45 53,5±10,6	17 53±8	6 58,8±6,9	0,425
Lenf nodu metastaz durumu Var Yok	67 1 (1,5) 66 (98,5)	 1 (100) 44 (66,7)	 0 (-) 17 (25,8)	 0 (-) 5 (7,6)	1,000
Mikroinvazyon Var Yok	67 7 (10,4) 60 (89,6)	 3 (42,9) 42 (70)	 4 (57,1) 13 (21,7)	 0 (-) 5 (8,3)	0,147
Ölüm Var Yok	68 2 (2,9) 66 (97,1)	 2 (100) 43 (65,2)	 0 (-) 17 (25,8)	 0 (-) 6 (9,1)	1,000
Genel sağkalım, n Ortalama±ss	68	45 81,8±22,2	17 86,1±19,9	6 95,3±24,2	0,331
Neoadjuvan endokrin tedavi Var Yok	50 1 (2,0) 49 (98,0)	 1 (100) 33 (67,3)	 0 (-) 12 (24,5)	 0 (-) 4 (8,2)	1,000

ss: Standart sapma. Yaş ortalaması ve total sağkalım için One-Way Anova testi; diğer parametreler için Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.

4.2.6. Stromal TİL yoğunluğu ile histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

DKİS'lerde ER, PR ve HER2 ekspresyonuna göre yapılan gruplamada stromal TİL yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 52). Yapılan ikili karşılaştırmalarda ise bu farkın HER2 pozitif grup ile HR pozitif grup arasındaki farktan kaynaklandığı belirlenmiştir (p<0,001). HER2 pozitif gruptakilerin %33,3'ü yüksek TİL yoğunluğuna, %41,7'si orta düzeyde TİL yoğunluğuna sahip iken; HR pozitif gruptakilerin hiçbiri yüksek TİL yoğunluğu içermemekteyken, %20,7'si ise orta düzeyde TİL yoğunluğu içermektedir. HR pozitif-HER2 pozitif grup ile HER2 pozitif ve HR pozitif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla p=0,382, p=0,250).

DKİS nükleer dereceleri ayrı ayrı stromal TİL yoğunluğu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,103). Buna karşın tümör derecesi 1/3 ve 2/3 (düşük dereceli grup) birleştirilip derece 3/3 (yüksek dereceli grup) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,022) (Tablo 52).

Tablo 52: DKİS'lerde stromal TİL yoğunluğu ile histopatolojik prognostik faktörlerin karşılaştırılması

		Stromal TİL yoğunluğu, n (%)			
	n (%)	**Düşük (%1-10)**	**Orta (%11-49)**	**Yüksek (50≤)**	***p***
Reseptör ekspresyonları	47				**<0,001**
HER2 pozitif	12 (25,5)	3 (25)	5 (41,7)	4 (33,3)	
HR pozitif	29 (61,7)	23 (79,3)	6 (20,7)	0 (-)	
HR pozitif-HER2 pozitif	6 (12,8)	4 (66,7)	1 (16,7)	1 (16,7)	
Tümörün nükleer derecesi	68				0,103
Derece 1/3	2 (2,9)	2 (100)	0 (-)	0 (-)	
Derece 2/3	24 (35,3)	20 (83,3)	4 (16,7)	0 (-)	
Derece 3/3	42 (61,8)	23 (54,8)	13 (31,0)	6 (14,3)	
Tümörün nükleer derecesi	68				**0,022**
Derece 1/3 ve 2/3	26 (38,2)	22 (84,6)	4 (15,4)	0 (-)	
Derece 3/3	42 (61,8)	23 (54,8)	13 (31)	6 (14,3)	
Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.					

DKİS'lerde tersiyer lenfoid yapılanma içerenlerin %60'ı, içermeyenlerin ise %4,8'i yüksek TİL yoğunluğu içermekte olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 53).

İyileşme (healing) ile stromal TİL yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p<0,001). İyileşme bulgusu içeren gruptaki DKİS'lerin %40'ı, içermeyen gruptakilerin ise %3,4'ü yüksek TİL yoğunluğuna sahiptir (Tablo 53).

Stromal TİL grupları ile lenfoid agregat varlığı, komedonekroz, apoptoz, kalsifikasyon ve histolojik patern tipi (solid, kribriform, mikropapiller ve papiller) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 53).

Tablo 53: DKİS'lerde stromal TİL yoğunluğu ile diğer histolojik parametrelerin karşılaştırılması

		Stromal TİL yoğunluğu n (%)			
	n (%)	**Düşük (%1-10)**	**Orta (%11-49)**	**Yüksek (50≤)**	***p***
Tersiyer lenfoid yapılanma	68				**<0,001**
Var	5 (7,4)	0 (-)	2 (40,0)	3 (60,0)	
Yok	63 (92,6)	45 (71,4)	15 (23,8)	3 (4,8)	
Lenfoid agregat	68				0,471
Var	4 (5,9)	2 (50,0)	2 (50,0)	0 (-)	
Yok	64 (94,1)	43 (67,2)	15 (23,4)	6 (9,4)	
İyileşme (healing)	68				**<0,001**
Var	10 (14,7)	2 (20,0)	4 (40,0)	4 (40,0)	
Yok	58 (85,3)	43 (74,1)	13 (22,4)	2 (3,4)	
Komedonekroz	68				0,103
Var	52 (76,5)	31 (59,6)	16 (30,8)	5 (9,6)	
Yok	16 (23,5)	14 (87,5)	1 (6,3)	1 (6,3)	
Apoptoz	68				0,765
Var	65 (65,6)	42 (64,6)	17 (26,2)	6 (9,2)	
Yok	3 (4,4)	3 (100)	0 (-)	0 (-)	
Kalsifikasyon	68				0,941
Var	50 (73,5)	32 (64,0)	13 (26,0)	5 (-)	
Yok	18 (26,5)	13 (72,2)	4 (22,2)	1 (5,6)	
Histolojik patern tipi					
Solid	68				0,897
Var	57 (83,8)	37 (64,9)	15 (26,3)	5 (8,8)	
Yok	11 (16,2)	8 (72,7)	2 (18,2)	1 (9,1)	
Kribriform	68				0,176
Var	39 (57,4)	29 (74,4)	9 (23,1)	1 (2,6)	
Yok	29 (42,6)	16 (55,2)	8 (27,6)	5 (17,2)	
Mikropapiller	68				0,235
Var	17 (25,0)	9 (52,9)	5 (29,4)	3 (17,6)	
Yok	51 (75,0)	36 (70,6)	12 (23,5)	3 (5,9)	
Papiller	68				1,000
Var	1 (1,5)	1 (100)	0 (-)	0 (-)	
Yok	67 (98,5)	44 (65,7)	17 (25,4)	6 (9,0)	
Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.					

4.2.7. CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

İmmünhistokimyasal yöntemle çalışılan tüm DKİS olguları CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranı açısından hafif grupta (%1-10) yer almaktadır. Bu nedenle demografik, klinik ve histopatolojik özellikler açısından karşılaştırma yapılamamıştır. Bu olgularda CD3 ile belirlenen intratümöral TİL oranının ortancası %1 olup en yüksek değer %5, en düşük değer ise %1'dir.

4.2.8. PD-1 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

İntratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonunun 28 olguda düşük (<%5), 2 olguda yüksek (≥%5) olduğu saptanmış olup bu gruplar arasında demografik, klinik ve histopatolojik özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 54).

Stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonunun 19 olguda düşük (<%5), 11 olguda yüksek (≥%5) olduğu belirlenmiş olup stromal TİL grupları ile stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,049). Diğer parametreler ile stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 55).

Tablo 54: DKİS olgularında intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		iTİL'de PD-1 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Yaş, n Ortalama ± ss		 52,4±9,1	 48,0±12,7	0,521
Mikroinvazyon Var Yok	30 5 (16,7) 25 (83,3)	 5 (100) 23 (92,0)	 0 (-) 2 (8,0)	1,000
Reseptör ekspresyonu HER2 pozitif HR pozitif HR pozitif-HER2 pozitif	21 6 (28,6) 12 (57,1) 3 (14,3)	 6 (100) 11 (91,7) 3 (100)	 0 (-) 1 (8,3) 0 (-)	1,000
Tümörün nükleer derecesi Derece 1/3 Derece 2/3 Derece 3/3	30 - 9 (30,0) 21 (70,0)	 9 (100) 19 (90,5)	 0 (-) 2 (9,5)	1,000
Stromal TİL yoğunluğu Hafif (%1-10) Orta (%11-49) Yüksek (%50≤)	30 16 (53,3) 11 (36,7) 3 (10,0)	 16 (100) 9 (81,8) 3 (100)	 0 (-) 2 (18,8) 0 (-)	0,312
Tersiyer lenfoid yapılanma Var Yok	30 5 (16,7) 25 (83,3)	 5 (100) 23 (92,0)	 0 (-) 2 (8,0)	0,384
Lenfoid agregat Var Yok	30 2 (6,7) 28 (93,3)	 2 (100) 26 (92,9)	 0 (-) 2 (7,1)	1,000
İyileşme (Healing) Var Yok	30 7 (23,3) 23 (76,7)	 7 (100) 21 (91,3)	 0 (-) 2 (8,7)	1,000
Komedonekroz Var Yok	30 27 (90,0) 3 (10,0)	 25 (92,6) 3 (100)	 2 (7,4) 0 (-)	1,000
Kalsifikasyon Var Yok	30 27 (90,0) 3 (10,0)	 25 (92,6) 3 (100)	 2 (7,4) 0 (-)	1,000
Histolojik tip				
Solid Var Yok	30 26 (86,7) 4 (13,3)	 25 (96,2) 3 (75,0)	 1 (3,8) 1 (25,0)	0,253
Kribriform Var Yok	30 19 (63,3) 11 (36,7)	 18 (94,7) 10 (90,9)	 1 (5,3) 1 (9,1)	1,000
Mikropapiller Var Yok	30 10 (33,3) 20 (66,7)	 9 (90,0) 19 (95,0)	 1 (10,0) 1 (5,0)	1,000
ss: standart sapma. Yaş ortalaması için One-Way Anova testi; diğer parametreler için Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.				

Tablo 55: DKİS olgularında stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		sTİL'de PD-1 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Yaş, n Ortalama ± ss		51,9±8,3	52,4±10,9	0,875
Mikroinvazyon Var Yok	30 5 (16,7) 25 (83,3)	 3 (60,0) 16 (64,0)	 2 (40,0) 9 (36,0)	1,000
Reseptör ekspresyonu HER2 pozitif HR pozitif HR pozitif-HER2 pozitif	21 6 (28,6) 12 (57,1) 3 (14,3)	 3 (50,0) 7 (58,3) 3 (100)	 3 (50,0) 5 (41,7) 0 (-)	0,486
Tümörün nükleer derecesi Derece 1/3 Derece 2/3 Derece 3/3	30 - 9 (30,0) 21 (70,0)	 6 (66,7) 13 (61,9)	 3 (33,3) 8 (38,1)	1,000
Stromal TİL yoğunluğu Hafif (%1-10) Orta (%11-49) Yüksek (%50≤)	30 16 (53,3) 11 (36,7) 3 (10,0)	 13 (81,3) 4 (36,4) 2 (66,7)	 3 (18,8) 7 (63,6) 1 (33,3)	**0,049**
Tersiyer lenfoid yapılanma Var Yok	30 5 (16,7) 25 (83,3)	 2 (40,0) 17 (68,0)	 3 (60,0) 8 (32,0)	0,327
Lenfoid agregat Var Yok	30 2 (6,7) 28 (93,3)	 2 (100) 17 (60,7)	 0 (-) 11 (39,3)	0,520
İyileşme (Healing) Var Yok	30 7 (23,3) 23 (76,7)	 5 (71,4) 14 (60,9)	 2 (28,6) 9 (39,1)	1,000
Komedonekroz Var Yok	30 27 (90,0) 3 (10,0)	 18 (66,7) 1 (33,3)	 9 (66,7) 2 (33,3)	0,537
Kalsifikasyon Var Yok	30 27 (90,0) 3 (10,0)	 17 (63,0) 2 (66,7)	 10 (27,0) 1 (33,3)	1,000
Histolojik tip				
Solid Var Yok	30 26 (86,7) 4 (13,3)	 16 (61,5) 3 (75,0)	 10 (38,5) 1 (25,0)	1,000
Kribriform Var Yok	30 19 (63,3) 11 (36,7)	 12 (63,2) 7 (63,6)	 7 (36,8) 4 (36,4)	1,000
Mikropapiller Var Yok	30 10 (33,3) 20 (66,7)	 7 (70,0) 12 (60,0)	 3 (30,0) 8 (40,0)	0,702
ss: standart sapma. Yaş ortalaması için One-Way Anova testi; diğer parametreler için Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.				

4.2.9. LAG-3 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

İntratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonunun 28 olguda düşük (<%5), 2 olguda yüksek (≥%5) olduğu saptanmış olup bu gruplar arasında demografik, klinik ve histopatolojik özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 56).

Stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonunun 29 olguda düşük (<%5), 1 olguda yüksek (≥%5) olduğu saptanmış olup bu gruplar arasında demografik, klinik ve histopatolojik özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 57).

Tablo 56: DKİS olgularında intratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		iTİL'de LAG-3 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Yaş, n Ortalama ± ss		52,4±9,1	48,0±12,7	0,521
Mikroinvazyon Var Yok	30 5 (16,7) 25 (83,3)	5 (100) 23 (92,0)	0 (-) 2 (8,0)	1,000
Reseptör ekspresyonları HER2 pozitif HR pozitif HR pozitif-HER2 pozitif	21 6 (28,6) 12 (57,1) 3 (14,3)	6 (100) 11 (91,7) 3 (100)	0 (-) 1 (8,3) 0 (-)	1,000
Tümörün nükleer derecesi Derece 1/3 Derece 2/3 Derece 3/3	30 - 9 (30,0) 21 (70,0)	9 (100) 19 (90,5)	0 (-) 2 (9,5)	1,000
Stromal TİL yoğunluğu Hafif (%1-10) Orta (%11-49) Yüksek (%50≤)	30 16 (53,3) 11 (36,7) 3 (10,0)	16 (100) 9 (81,8) 3 (100)	0 (-) 2 (18,2) 0 (-)	0,328
Tersiyer lenfoid yapılanma Var Yok	30 5 (16,7) 25 (83,3)	5 (100) 23 (92,0)	0 (-) 2 (8,0)	1,000
Lenfoid agregat Var Yok	30 2 (6,7) 28 (93,3)	2 (100) 26 (92,9)	0 (-) 2 (7,1)	1,000
İyileşme (Healing) Var Yok	30 7 (23,3) 23 (76,7)	7 (100) 21 (91,3)	0 (-) 2 (8,7)	1,000
Komedonekroz Var Yok	30 27 (90,0) 3 (10,0)	25 (92,6) 3 (100)	2 (7,4) 0 (-)	1,000
Kalsifikasyon Var Yok	30 27 (90,0) 3 (10,0)	25 (92,6) 3 (100)	2 (7,4) 0 (-)	1,000
Histolojik tip				
Solid Var Yok	30 26 (86,7) 4 (13,3)	25 (96,2) 3 (75,0)	1 (3,8) 1 (25,0)	0,253
Kribriform Var Yok	30 19 (63,3) 11 (36,7)	18 (94,7) 10 (90,9)	1 (5,3) 1 (9,1)	1,000
Mikropapiller Var Yok	30 10 (33,3) 20 (66,7)	9 (90,0) 19 (95,0)	1 (10,0) 1 (5,0)	1,000
ss: standart sapma. Yaş ortalaması için One-Way Anova testi; diğer parametreler için Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.				

Tablo 57: DKİS olgularında stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

		sTİL'de LAG-3 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Yaş, n Ortalama ± ss		51,9±9,3	57,0±0	0,595
Mikroinvazyon Var Yok	30 5 (16,7) 25 (83,3)	 5 (100) 24 (96,0)	 0 (-) 1 (4,0)	1,000
Reseptör ekspresyonları HER2 pozitif HR pozitif HR pozitif HER2 pozitif	21 6 (28,6) 12 (57,1) 3 (14,3)	 6 (100) 11 (100) 3 (100)	 0 (-) 0 (-) 0 (-)	-
Tümörün nükleer derecesi Derece 1/3 Derece 2/3 Derece 3/3	30 - 9 (30,0) 21 (70,0)	 9 (100) 20 (95,2)	 0 (-) 1 (4,8)	1,000
Stromal TİL yoğunluğu Hafif (%1-10) Orta (%11-49) Yüksek (%50≤)	30 16 (53,3) 11 (36,7) 3 (10,0)	 16 (100) 10 (90,9) 3 (100)	 0 (-) 1 (9,1) 0 (-)	0,470
Tersiyer lenfoid yapılanma Var Yok	30 5 (16,7) 25 (83,3)	 5 (100) 24 (96,0)	 0 (-) 1 (4,0)	1,000
Lenfoid agregat Var Yok	30 2 (6,7) 28 (93,3)	 2 (100) 27 (96,4)	 0 (-) 1 (3,6)	1,000
İyileşme (Healing) Var Yok	30 7 (23,3) 23 (76,7)	 7 (100) 22 (95,7)	 0 (-) 1 (4,3)	1,000
Komedonekroz Var Yok	30 27 (90,0) 3 (10,0)	 26 (96,3) 3 (100)	 1 (3,7) 0 (-)	1,000
Kalsifikasyon Var Yok	30 27 (90,0) 3 (10,0)	 26 (96,3) 3 (100)	 1 (3,7) 0 (-)	1,000
Histolojik tip				
Solid Var Yok	30 26 (86,7) 4 (13,3)	 25 (96,2) 4 (100)	 1 (3,8) 0 (-)	1,000
Kribriform Var Yok	30 19 (63,3) 11 (36,7)	 19 (100) 10 (90,9)	 0 (-) 1 (9,1)	0,367
Mikropapiller Var Yok	30 10 (33,3) 20 (66,7)	 10 (100) 19 (95,0)	 0 (-) 1 (5,0)	1,000
ss: standart sapma. Yaş ortalaması için One-Way Anova testi; diğer parametreler için Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.				

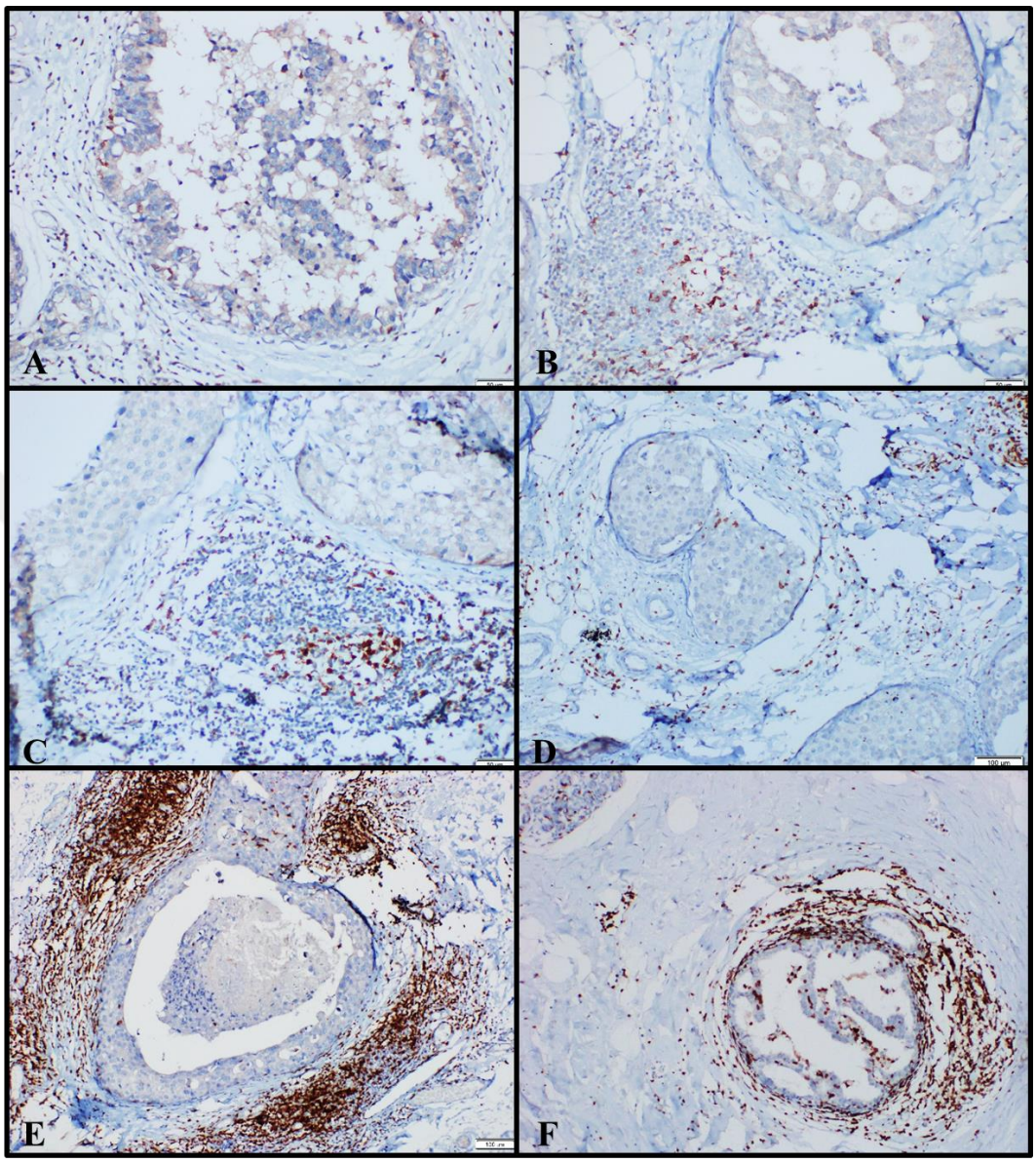
4.2.10. TİM-3 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

İmmünhistokimya çalışılan DKİS olgularının 2'sinde %1 oranında intratümöral TİL'de TİM-3 ekspresyonu saptanmış olup 28'inde intratümöral TİL'de TİM-3 ekspresyonu gözlenmemiştir. Bu nedenle demografik, klinik ve histopatolojik özellikler açısından karşılaştırma yapılamamıştır.

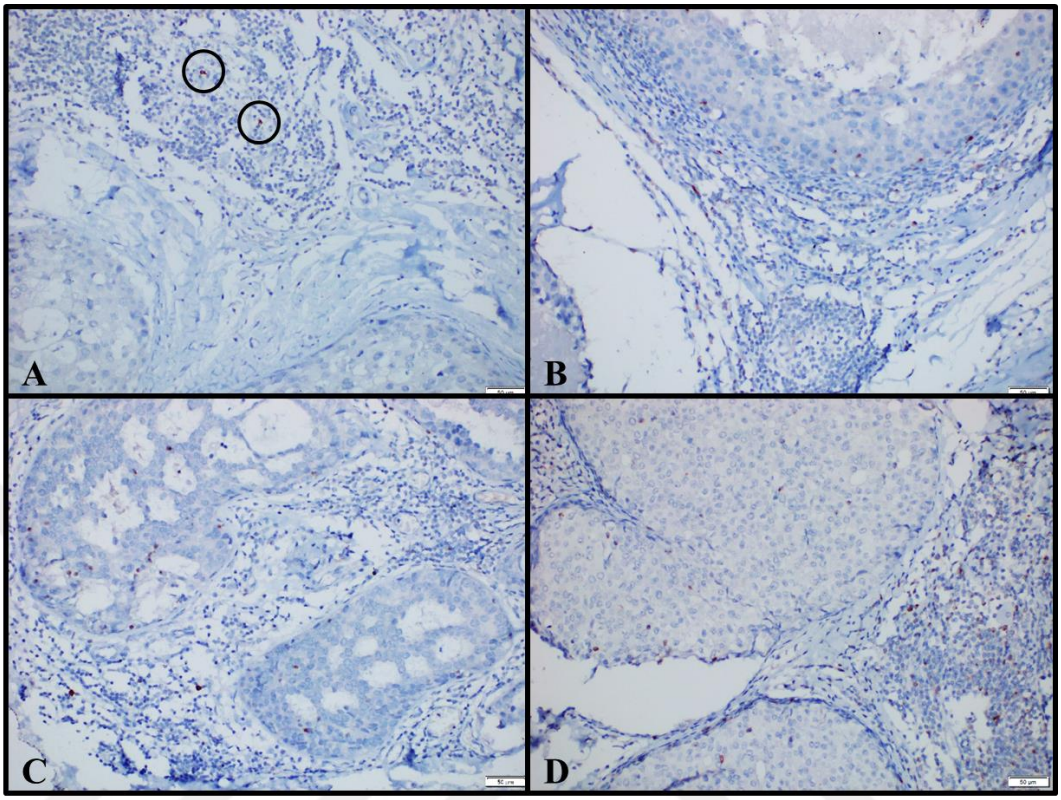
Stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu 26 olguda düşük (<%5), 4 olguda yüksek (≥%5) olarak belirlenmiş olup stromal TİL yoğunluğu ile stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu arasında anlamlı fark saptanmıştır (p=0,050). Tersiyer lenfoid yapılanma izlenen 5 DKİS olgusunun 3'ünde stromal TİL'de yüksek TİM-3 ekspresyonu belirlenmiş olup tersiyer lenfoid yapılanma ile stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,009). Diğer parametreler ile stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 58).

Tablo 58: DKİS olgularında stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile demografik, klinik ve histopatolojik özelliklerin karşılaştırılması

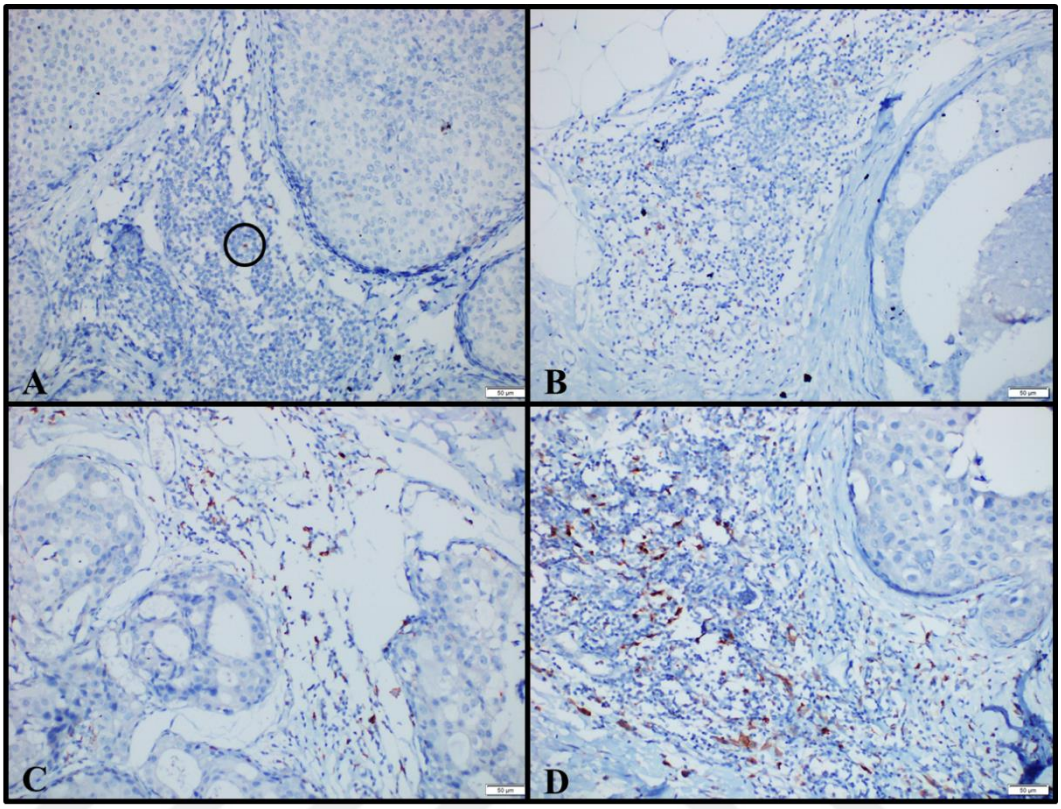
		sTİL'de TİM-3 ekspresyonu, n (%)		
	n (%)	**Düşük (<%5)**	**Yüksek (%5≤)**	***p***
Yaş, n Ortalama ± ss		51,2±9,3	58,0±5,7	0,170
Mikroinvazyon Var Yok	30 5 (16,7) 25 (83,3)	3 (60,0) 23 (92,0)	2 (40,0) 2 (8,0)	0,119
Reseptör ekspresyonu HER2 pozitif HR pozitif HR pozitif-HER2 pozitif	21 6 (28,6) 12 (57,1) 3 (14,3)	4 (66,7) 10 (83,3) 3 (100)	2 (33,3) 2 (16,7) 0 (-)	0,582
Tümörün nükleer derecesi Derece 1/3 Derece 2/3 Derece 3/3	30 - 9 (30,0) 21 (70,0)	9 (100) 17 (81,0)	0 (-) 4 (19,0)	0,287
Stromal TİL yoğunluğu Hafif (%1-10) Orta (%11-49) Yüksek (%50≤)	30 16 (53,3) 11 (36,7) 3 (10,0)	16 (100) 8 (72,7) 2 (66,7)	0 (-) 3 (27,3) 1 (33,3)	**0,050**
Tersiyer lenfoid yapılanma Var Yok	30 5 (16,7) 25 (83,3)	2 (40,0) 24 (96,0)	3 (60,0) 1 (8,0)	**0,009**
Lenfoid agregat Var Yok	30 2 (6,7) 28 (93,3)	2 (100) 24 (85,7)	0 (-) 4 (14,3)	1,000
İyileşme (Healing) Var Yok	30 7 (23,3) 23 (76,7)	5 (71,4) 21 (91,3)	2 (28,6) 2 (8,7)	0,225
Komedonekroz Var Yok	30 27 (90,0) 3 (10,0)	23 (85,2) 3 (100)	4 (14,8) 0 (-)	1,000
Kalsifikasyon Var Yok	30 27 (90,0) 3 (10,0)	23 (85,2) 3 (100)	4 (14,8) 0 (-)	1,000
Histolojik tip				
Solid Var Yok	30 26 (86,7) 4 (13,3)	22 (84,6) 4 (100)	4 (15,4) 0 (-)	1,000
Kribriform Var Yok	30 19 (63,3) 11 (36,7)	16 (84,2) 10 (90,9)	3 (15,8) 1 (9,1)	1,000
Mikropapiller Var Yok	30 10 (33,3) 20 (66,7)	8 (80,0) 18 (90,0)	2 (20,0) 2 (10,0)	
ss: standart sapma. Yaş ortalaması için One-Way Anova testi; diğer parametreler için Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.				



Resim 13: DKİS'te stromal TİL'de PD-1 ekspresyonu ve CD3 ile belirlenen intratümöral TİL örmekleri **A** %5 stromal TİL'de PD-1 ekspresyonu, **B** %10 stromal TİL'de PD-1 ekspresyonu, **C** %10 stromal TİL'de PD-1 ekspresyonu, **D** CD3 ile belirlenen intratümöral TİL %1, **E** CD3 ile belirlenen intratümöral TİL %1, **F** CD3 ile belirlenen intratümöral TİL %5 (A, B ve C 200'lük büyütme; D, E ve F 100'lük büyütme)



Resim 14: DKİS'te LAG-3 ekspresyon örnekleri **A** sTİL'de %2, iTİL'de %0, **B** sTİL'de %2, iTİL'de %2, **C** sTİL'de %1, iTİL'de %5, **D** sTİL'de %15, iTİL'de %50 (X200'lük büyütme)



Resim 15: DKİS'te TİM-3 ekspresyon örnekleri **A** sTİL'de %1, iTİL'de %0, **B** sTİL'de %5, iTİL'de %0, **C** sTİL'de %10, iTİL'de %1, **D** sTİL'de %20, iTİL'de %1 (X200'lük büyütme)

5. TARTIŞMA

5.1. İnvaziv Meme Kanseri

5.1.1. Stromal TİL yoğunluğu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki

Meme kanseri kadınlarda görülen en sık kanserdir ve kanser nedenli ölümlerin başında gelmektedir (13). Tedaviyi yönlendirmek için demografik, klinik ve histopatolojik parametrelere gereksinim duyulmaktadır. Özellikle üçlü negatif meme kanserlerinde kemoterapinin etkinliğini artırmak ve yan etkilerini azaltmak için yeni prognostik belirteçler ve tedavi seçenekleri araştırılmakta olup bunların başında da sırasıyla TİL ve immün kontrol noktası inhibitörleri yer almaktadır (7, 50, 63, 64, 81). Çalışmamızda meme kanserindeki TİL yoğunluğu ve immün kontrol noktası inhibitör reseptör ekspresyonları ile prognostik faktörler karşılaştırılmıştır.

Literatürde meme kanserinde TİL değerlendirmesi yapan çalışmalarda yaş arttıkça yüksek TİL yoğunluğuna sahip olma oranının azaldığı bildirilmiş ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (50, 83). Çalışmamızda ise Loi ve arkadaşları ile Jang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalara benzer şekilde hafif, orta ve yüksek yoğunluklardaki TİL gruplarında yaş dağılımı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla ortalama tanı yaşı 52,5, 51,7 ve 52,1) (52, 84). Bu sonucun olgularımızın büyük kısmının tümör derecesinin 3/3 olması ve tümör

derecesi düşük olan olguların daha ileri yaş grubunda olması nedeniyle yaş ile TİL arasında anlamlı bir ilişkinin bulunamadığı düşünülmüştür.

Literatürde meme kanserlerinin %1'ini erkek meme kanserlerinin oluşturduğu bildirilmiştir (85). Literatür ile benzer şekilde çalışmamızdaki olguların %1,6'sı erkek olup cinsiyet ve TİL yoğunluğu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Literatürde kadın ve erkeklerdeki meme kanserini TİL açısından karşılaştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak, erkek meme kanserinde artmış TİL yoğunluğunun artmış genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (86). Çalışmamızdaki 5 erkek hastadan 4'ü düşük, 1'i orta düzeyde TİL yoğunluğuna sahiptir. Olgu sayısının azlığı nedeniyle TİL yoğunluğu ve erkek meme kanseri arasında bir ilişki gözlenmemiş olup bu açıdan güvenilir bir değerlendirme yapılamamıştır.

Medüller paternde invaziv duktal karsinom (eski adı medüller karsinom) tanım gereği yüksek TİL içeren bir meme kanseridir (21). Çalışmamızda yer alan 8 medüller paterndeki karsinomun tümü yüksek TİL grubunda yer almakta olup diğer tanılar ile stromal TİL açısından karşılaştırıldığında (invaziv duktal karsinom ve bazal benzeri özellikler gösteren invaziv duktal karsinom) bu gruplardan daha yoğun TİL içerdiği gözlenmiştir.

DSÖ'nün 2019 Meme Tümörleri kitabında medüller karsinomun aslında yüksek TİL içeren bazal benzeri moleküler subtip ile uyumlu bir invaziv duktal karsinom olduğu belirtilmiş ve bu nedenle ismi medüller paternde invaziv duktal karsinom olarak değiştirilmiştir (15, 20). Çalışmamızdaki medüller paternde invaziv duktal karsinomların 5'i üçlü negatif, 2'si HR negatif-HER2 pozitif ve 1'i

HR pozitif-HER2 negatif grupta yer almaktadır. Bu sınıflama sadece HR ve HER2 ekspresyon düzeyine göre yapılmış olup Ki67 proliferasyon indeksi içermemesi nedeniyle moleküler intrinsik subtipler ile ilgili kısmen fikir vermekle birlikte bu subtipleri tam olarak yansıtmamaktadır.

Literatürdeki çalışmalarda bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom ile diğer meme karsinomları karşılaştırıldığında, bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinomun daha yüksek TİL yoğunluğuna sahip olduğu bildirilmektedir (87, 88). Çalışmamızda da benzer şekilde yüksek TİL içerme oranının bazal benzeri invaziv duktal karsinomlarda daha fazla olduğu saptanmıştır. Meme karsinomlarında ortaya çıkan bazal benzeri fenotipin artmış mutasyon yükü ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (89). Mutasyon yükü artan tümörlerde artmış neoantijenler nedeniyle tümör mikroçevresinde daha fazla inflamatuar hücre infiltrasyonunun oluştuğu bilinmektedir (45). Ayrıca bazal benzeri fenotipteki meme kanserlerinde lüminal A kanserlere göre daha fazla proinflamatuar özellikte sitokin [tümör nekrozis faktör alfa (TNF-α) ve interlökin-beta (IL-β)] salınımının olduğu gösterilmiştir (90). Bu veriler bazal benzeri invaziv duktal karsinom tanısı almış olgulardaki yüksek TİL yoğunluğunu açıklamaktadır.

Çalışmamızda HR negatif-HER2 pozitif olan tümörlerin %34,4'ü, üçlü negatif tümörlerin %27,8'i yüksek yoğunluktaki TİL grubu içinde yer almakta olup HR pozitif olan meme tümörlerinin ise HER2 durumuna bakılmaksızın daha düşük yoğunlukta stromal TİL içerdiği saptanmıştır. Literatürde de üçlü negatif ve HER2 pozitif grupta daha yüksek TİL yoğunluğunun bulunduğu bildirilmiştir (50,

51). Bu grupların lüminal gruplar ile karşılaştırıldığında daha yüksek oranda tümör mutasyon yüküne sahip oldukları anlaşılmıştır (89). Bu nedenle meme kanserinin moleküler intrinsik subtiplerinde artmış mutasyon yükünün TİL'deki artış ile ilişkilendirilebileceği düşünülmüştür.

Literatürdeki bazı çalışmalarda tümör derecesi arttıkça TİL yoğunluğunun da arttığı bildirilirken (50, 51, 84) Liu JY ve arakadaşlarının yaptıkları çalışmada bizim çalışmamızda da olduğu gibi tümör derecesi ile TİL arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir (83). Bu çalışmada yer alan invaziv meme karsinomlarının büyük çoğunluğunun tümör derecesinin 3/3 olması nedeniyle çalışmaya dahil ettiğimiz tümör grupları arasında böyle bir farkın ortaya çıkmadığı sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda yalnızca ER ekspresyonu dikkate alınarak yapılan sınıflamada ER negatif tümörlerde, ER ekspresyonu yüksek olan tümörlere göre daha yüksek TİL yoğunluğunun bulunduğu saptanmıştır. Ancak düşük ER ekspresyonu ile yüksek ER ekspresyonu bulunan ya da ER ekspresyonu bulunmayan olgular arasında stromal TİL açısından anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. Bunun, çalışmamızda yer alan düşük ER eksprese eden tümör sayısının sayıcı az olması nedeniyle olabileceği düşünülmüştür. Literatürdeki çalışmalardan çoğunda tümörler ER ekspresyonu pozitif ve negatif şeklinde gruplanarak incelenmiş olup çalışmamıza benzer şekilde yüksek TİL yoğunluğunun ER negatifliği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (51, 53, 84).

Çalışmamızda yalnızca PR ekspresyonu dikkate alınarak yapılan sınıflamada PR pozitifliğinin (ekspresyon oranından bağımsız olarak) düşük TİL

yoğunluğu ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Literatürdeki benzer çalışmalarda da PR ekspresyonu gösteren tümörlerde daha düşük TİL yoğunluğunun bulunduğu bildirilmektedir (84).

ER, PR, HER2 ve Ki67'nin beraber değerlendirmesi ile oluşan moleküler subtipler kadar yalnızca ER ve yalnızca PR ekspresyonunun değerlendirilmesi de stromal TİL yoğunluğu ilişkili bulunmuştur.

Çalışmamızda yalnızca HER2 ekspresyonu dikkate alınarak yapılan sınıflamada TİL yoğunluğu ile HER2 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Meme karsinomlarında yapılan çalışmalarda mutasyon yükü en yüksek olan moleküler intrinsik subtipin HER2 baskın subtip olduğu bildirilmektedir (15, 89). Ancak, bu moleküler subtip ER, PR ve HER2'nin immünhistokimyasal ekspresyonu bakımından heterojen bir gruptur ve yalnızca HER2 durumu dikkate alarak bu moleküler subtipi belirlemek güçtür (2, 91). 2015 yılında Aleix Prat ve arkadaşlarının PAM50 ile yapılan gen ekspresyon analiz çalışmasında, immünhistokimyasal olarak HER2 pozitif olan tümörlerin %44,6'sının HER2 baskın, %26,8'inin lüminal B, %17,6'sının lüminal A ve %11'inin bazal benzeri subtip ile uyumlu olduğu bulunmuştur (2). Bu heterojenite durumu nedeniyle, çalışmamızda yalnızca HER2 ile yapılan sınıflamada TİL yoğunluğu açısından anlamlı bir ilişkinin ortaya çıkmamış olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda Ki67 ile düşük ve yüksek proliferatif aktivite şeklinde yapılan sınıflama ile TİL arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak literatürde TİL'in yüksek proliferatif aktivite ile ilişkili olduğunu gösteren pek çok

çalışma bulunmaktadır (52, 84, 92). Bizim çalışmamızda olguların büyük çoğunluğunun yüksek dereceli tümörlerden oluşması ve olguların sadece %30,1'in Ki67 proliferasyon indeksine ulaşılabilmiş olması nedeniyle anlamlı sonuç elde edilemediği düşünülmüştür.

Çalışmamızda tümör çapını değerlendirmek için pT kullanılmış olup TİL ile pT arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Literatürde büyük tümör çapı ile yüksek TİL yoğunluğu arasında anlamlı ilişki saptayan çalışmalar (51, 84) yanı sıra herhangi bir ilişki bulmayan çalışmalar da mevcuttur (52, 83).

Çalışmamızda pN ile TİL arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Lenf nodu metastazı olmayan hastalarda daha yüksek TİL düzeyi olduğu bulunmuştur. Literatürdeki çalışmaların bir kısmında lenf nodu metastazı ile TİL arasında ilişki saptanmadığı bildirilmiş olup (52, 83, 84) olup Loi S ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise üçlü negatif meme karsinomlarında artmış TİL yoğunluğunun lenf nodu metastataz varlığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (51).

Çalışmamızda yalnızca 7 olgu tanı anında metastatik olup bu olgularda tanı anındaki metastaz durumu ile tümördeki TİL arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Klinik izlem bilgisine ulaşılabilen hastalarda yapılan değerlendirmede nüks (uzak metastaz ve lokal rekürens) ile TİL arasındaki ilişki incelendiğinde anlamlı bir fark bulunmasa da TİL yoğunluğu yüksek olan grupta, daha düşük oranda nüks olduğu saptanmıştır. Liu JY ve arkadaşlarının 2019 yılında yayınladıkları son çalışmalarında bizim sonuçlarımız ile benzer şekilde nüks ile TİL arasında anlamlı ilişki bulunmamasına karşın yüksek TİL yoğunluğu

olan grupta daha düşük oranda nüks saptanmıştır (83). Çalışmaızda nüks olan olgularda en sık akciğerde metastaz geliştiği gözlenmiştir.

Çalışmamızdaki hastaların ölen kısmında TİL yoğunluğu ile ölüm arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak TİL yoğunluğu yüksek olan olgularda daha az oranda ölüm olduğu saptanmıştır.

Stromal TİL yoğunluğu ile diğer histolojik parametreler birlikte değerlendirildiğinde tümördeki tersiyer lenfoid yapılanma varlığının yüksek TİL yoğunluğu tümörlerde daha fazla oranda görüldüğü izlenmiştir. Literatürdeki çalışmalarda da tümördeki yüksek TİL yoğunluğu ile tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında anlamlı ilişki bulunduğu bildirilmiştir (93-96).

Lenfoid agregat varlığı ile stromal TİL yoğunluğu arasında anlamlı bir ilişki izlenmiş olup lenfoid agragat içeren tümörlerde daha çok orta düzeyde TİL yoğunluğu gözlenmiştir. Literatürde lenfoid agregat ile TİL yoğunluğunu karşılaştıran herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Tümör çevresi meme parankimindeki inflamasyon ile TİL yoğunluğu arasından anlamlı bir ilişki saptanmamış olup literatürde bu konu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

DKİS'in eşlik ettiği invaziv meme karsinomlarında DKİS'in eşlik etme durumu ile TİL yoğunluğu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak, bu tümörlerde invaziv karsinomdaki yüksek TİL yoğunluğu ile DKİS'in yüksek TİL içermesi arasında anlamlı bir ilişki gözlenmiştir.

5.1.2. Stromal TİL yoğunluğu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Literatürde TİL ile sağkalım ilişkisini farklı klinik özelliklere sahip meme kanseri popülasyonlarında araştırmış birçok çalışma bulunmaktadır (50-53, 83, 84). Bu çalışmalardan en fazla olgu sayısına sahip olanı Denkert ve arkadaşlarının 2018 yılında neoadjuvan tedavi almış 3771 meme kanser olgusu ile yaptıkları araştırmadır. Neoadjuvan tedavi öncesi kor biyopsilerin değerlendirildiği bu çalışmada, üçlü negatif meme kanserlerinde TİL yoğunluğundaki artış ile genel sağkalımın da arttığı saptanırken HER2 pozitif meme tümörlerinde bu açıdan anlamlı ilişki bulunamamıştır. Ancak lüminal HER2 negatif meme tümörlerinde TİL artışı ile genel sağkalımın azaldığı bildirilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada üçlü negatif meme tümörlerinde ve HER2 pozitif meme tümörlerinde hastalıksız sağkalımın TİL artışı ile arttığı izlenmiş olup lüminal HER2 negatif meme tümörlerinde bu açıdan anlamlı ilişki bulunamamıştır (50).

Loi ve arkadaşlarının lenf nodu metastazı olan 2009 meme kanserli olgu ile yaptıkları çalışmada tüm popülasyonda, ER pozitif–HER2 negatif popülasyonda ve HER2 pozitif popülasyonda TİL ile prognoz arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ancak ER negatif-HER2 negatif (yani üçlü negatif) meme tümörlerinde aldıkları kemoterapi rejiminden bağımsız olarak artmış stromal TİL'in nüks ve ölüm riskini azalttığı saptanmıştır (52).

Jang ve arkadaşlarının 1489 meme kanseri olgusu ile yaptığı bir çalışmada genel sağkalım açısından düşük ve yüksek TİL yoğunluğuna sahip meme tümörleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Hastalıksız sağkalımın yüksek TİL içeren gruplarda daha uzun olduğu saptanmıştır. Yapılan

çok değişkenliği analizlerde de yüksek TİL yoğunluğunun hastalıksız sağkalım açısından bağımsız bir prognostik faktör olduğu belirlenmiştir. Moleküler subtiplere göre bakıldığında üçlü negatif, HER2 pozitif ve lüminal B-HER2 negatif tümörlerde hastalıksız sağkalımın TİL ile ilişkili olduğu ancak lüminal A tümörlerde bu açıdan anlamlı bir ilişkilinin bulunmadığı saptanmıştır (84).

Çalışmamızda çoğunluğu yüksek dereceli olan 312 invaziv duktal karsinom tanılı meme kanseri olgusu genel sağkalım açısından incelenmiş olup HR pozitif olup tümör derecesi 1/3 ve 2/3 olan tümörler çalışmaya dahil edilmemiştir. Klinik izlem bilgisine ulaşılan 169 olgu ile hastalıksız sağkalım analizleri yapılmış olup bu olguların da büyük %91,1'i yüksek tümör derecesine sahiptir. Tüm olgularda stromal TİL'in hafif-orta-yüksek şeklinde belirlenen grupları ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında anlamlı fark bulunmamış olmasına karşın hafif TİL içeren grubun daha düşük genel ve hastalıksız sağkalıma sahip olduğu saptanmıştır. Reseptör ekspresyonlarına göre yapılan analizlerde üçlü negatif ve HR pozitif olan gruplarda stromal TİL ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ancak yukarıda bahsedilen çalışmalardan farklı olarak HR negatif-HER2 pozitif grupta genel sağkalım ile stromal TİL grupları arasında anlamlı ilişki saptanmış olup yüksek TİL grubundaki olguların daha uzun genel sağkalıma sahip olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda orta ve yüksek yoğunluktaki TİL grupları birleştirilerek yapılan (orta-yüksek / hafif) çok değişkenli sağkalım analizlerinde stromal TİL yoğunluğunun genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım açısından bağımsız bir prognostik faktör olduğu saptanmıştır. Çalışmamızdaki bu sonuç yüksek dereceli

meme karsinomlarında yüksek stromal TİL yoğunluğunun iyi prognozu işaret ettiği şeklinde yorumlanmıştır.

Bu çalışmada HR ve HER2 ekspresyonu gruplarına göre yapılan çok değişkenli sağkalım analizlerinde genel sağkalım açısından üçlü negatif ve HR negatif-HER2 pozitif grupta stromal TİL yoğunluğunun bağımsız prognostik faktör olduğu saptanmıştır. Hastalıksız sağkalım açısından ise yalnızca üçlü negatif grupta stromal TİL açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.

5.1.3. Tersiyer lenfoid yapılanma ile klinik ve histopatolojik özelliklerin arasındaki ilişki

Son yıllarda TİL yanı sıra araştırılan diğer bir konu da tümöre eşlik eden tersiyer lenfoid yapılanmaların prognoz ile olan ilişkisidir. Tersiyer lenfoid yapılanmalar, sekonder lenfoid organlara benzeyen ektopik lenfoid oluşumlardır (97). Daha önce birçok çalışmada farklı kanserlerdeki (akciğer kanseri, kolon kanseri ve melanom) tersiyer lenfoid yapılanma varlığı prognoz açısından araştırılmıştır (98-100).

Çalışmamızda tersiyer lenfoid yapılanma bulunduran ve bulundurmayan grupların yaş ortalamaları benzer bulunmuştur. Literatürdeki tersiyer lenfoid yapılanma ile ilgili yapılan çalışmalarda da yaş ile tersiyer lenfoid yapılanma arasında ilişki saptanmamıştır (93, 94).

Erkek meme kanserli hastaların hiçbirinde tersiyer lenfoid yapılanma izlenmemiş olup cinsiyet ile tersiyer lenfoid yapılanma arasında anlamlı bir ilişki

bulunmamıştır. Literatürde erkek meme kanserinde tersiyer lenfoid yapılanmayı inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda medüller paternde invaziv duktal karsinom ve bazal benzeri özellikler gösteren invaziv duktal karsinomda yüksek oranda tersiyer lenfoid yapılanma varlığı izlenmiş olup (sırasıyla %25 ve %21,1) invaziv duktal karsinom tanılı olgular ile karşılaştırıldığında aradaki fark anlamlı bulunmuştur. Literatürde bu konuda tüm meme kanserlerini kapsayan bir çalışma bulunmamakla birlikte Jezequel ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada üçlü negatif meme kanserinde bazal benzeri subtipin daha fazla oranda tersiyer lenfoid yapılanma içerdiği bildirilmiştir (101).

Bizim çalışmamızda da reseptör ekspresyon durumuna bakıldığında literatür ile benzer şekilde tersiyer lenfoid yapılanma en sık hormon reseptör negatif-HER2 pozitif grupta, ikinci olarak da üçlü negatif grupta izlenmiştir (102).

Çalışmamızda olguların 3'ünün tümör derecesi 1, 18'inin tümör derecesi 2 olduğundan tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile tümör dereceleri arasındaki ilişkinin sağlıklı değerlendirilemediği düşünülmüştür. Literatürdeki çalışmalarda tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile tümör derecesi 3 olan meme karsinomları arasında ilişkili bulunmuştur (93, 102).

Çalışmamızda yalnızca ER ekspresyonuna göre yapılan gruplamada ER negatif olan grupta, yüksek ER ekspresyonu gösteren gruba göre daha fazla oranda tersiyer lenfoid yapılanma izlenmiştir. Literatürdeki diğer çalışmalar da tersiyer lenfoid yapılanmanın daha sıklıkla ER negatif olan tümörlerde bulunduğunu bildirmektedir (93, 94).

Çalışmamızda yalnızca PR ekspresyonuna göre yapılan gruplamada PR negatif olan grupta, yüksek PR ekspresyonu gösteren gruba göre daha fazla oranda tersiyer lenfoid yapılanmanın bulunduğu izlenmiştir. Literatürdeki diğer çalışmalar da tersiyer lenfoid yapılanmanın daha sıklıkla PR negatif olan tümörlerde bulunduğunu bildirmektedir (93, 94).

Çalışmamızda yalnızca HER2 ekspresyonuna göre yapılan gruplamada tersiyer lenfoid yapılanma ile HER2 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunmasa da HER2 pozitif tümörlerde HER2 negatif olanlara göre daha sık olarak tersiyer lenfoid yapılanmanın bulunduğu izlenmiştir. Literatürde de HER2 pozitif karsinomlarda negatif olanlara göre daha fazla oranda tersiyer lenfoid yapılanmanın bulunduğu bildirilmiştir (93, 94).

Çalışmamızda Ki67 ile düşük ve yüksek proliferatif aktivite şeklinde yapılan gruplama ile tersiyer lenfoid yapılanma arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak literatürde meme karsinomlarında tersiyer lenfoid yapılanmanın yüksek proliferatif aktivite ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (94). Bizim çalışmamızdaki olguların büyük çoğunluğunun yüksek dereceli tümörlerden oluşması ve olguların yaklaşık üçte birinin Ki67 proliferasyon indeksine ulaşılabilmiş olması nedeniyle bu konuda anlamlı bir sonuç elde edilemediği düşünülmüştür.

Çalışmamızda pT, pN, pM ve evre ile tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Literatürdeki diğer çalışmalarda da bu parametreler ile tersiyer lenfoid yapılanma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bildirilmemiştir (93, 94, 102).

DKİS'in eşlik ettiği invaziv meme karsinomlarında TİL yoğunluğu ile tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmış olup yüksek TİL yoğunluğu içeren grupta daha sık tersiyer lenfoid yapılanmanın bulunduğu belirlenmiştir. Literatürde invaziv meme karsinomuna eşlik eden TİL yoğunluğu ile tersiyer lenfoid yapılanma varlığını karşılaştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

5.1.4. Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Çalışmamızda tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile genel sağkalım arasında tek değişkenli analizlerde anlamlı ilişki saptanmış olup tersiyer lenfoid yapılanma varlığında genel sağkalımın daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hastalıksız sağkalım ile tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamasına karşın tersiyer lenfoid yapılanma varlığında hastalıksız sağkalımın daha yüksek olma eğiliminde olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmamızda çok değişkenli sağkalım analizlerinde hem genel popülasyonda hem de ER ve HER2 ekspresyonuna göre yapılan gruplamada tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Literatürdeki iki çalışmada meme tümörlerinin tüm moleküler intrinsik subtipleri beraber değerlendirildiğinde tersiyer lenfoid yapılanma ile sağkalım arasında ilişkili bulunmamakla birlikte (94, 95) Liu X ve arkadaşları HER2 pozitif meme tümörlerini ayrı olarak değerlendirdiklerinde tersiyer lenfoid yapılanmanın daha uzun hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (94). Buna

karşılık diğer bir çalışmada peritümöral tersiyer lenfoid yapılanma varlığının daha kötü genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (102).

5.1.5. PD-1 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki

Çalışmamızda neoadjuvan tedavi almış olma, ölüm ve nüksün intratümöral TİL'deki düşük PD-1 ekspresyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Yaş, pT, pN ve evre ile intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Stromal TİL'de yüksek PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda daha az oranda lenf nodu metastazı bulunduğu belirlenmiş olup bu ilişkinin anlamlı olduğu saptanmıştır. Diğer klinik ve demografik özellikler ile stromal TİL arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bir kısım çalışmada PD-1 ekspresyonu ile bu parametreler arasında anlamlı ilişki bulunmazken (103-108) Sun ve arkadaşlarının 2014 yılında 208 meme kanseri olgusunu içeren çalışmasında ileri evre olan ve lenf nodu metastatazı bulunan olguların tümöründe daha fazla oranda yüksek PD-1 ekspresyonunun saptandığı bildirilmiştir (109). Muenst ve arkadaşlarının 2013 yılında 1460 meme kanseri olgusunu içeren çalışmasında ise büyük tümör çapı ve lenf nodu metastatazı bulunan olguların tümöründe daha fazla oranda PD-1 ekspresyonunun gözlendiği saptanmıştır (110).

Çalışmamızda tümörde artmış stromal TİL oranı ve tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyon yüksekliği arasında anlamlı ilişki saptanmış olup diğer histopatolojik parametreler ile intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile stromal TİL oranı arasında istatistiksel olarak

anlamlı ilişki saptanmış olup yüksek TİL yoğunluğu içeren tümörlerde daha yüksek oranda stromal PD-1 ekspresyonu bulunduğu belirlenmiştir. Literatürde de benzer şekilde stromal TİL ve tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile PD-1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki olduğu bildirilmiştir (103, 104, 106, 111).

Çalışmamızda invaziv duktal karsinom tanısı alan olguların bazal benzeri fenotipe sahip olanlara göre stromal TİL'de daha yüksek PD-1 ekspresyonu gösterdiği saptanmıştır. Medüller paternde olan 5 olgunun ise 4'ünün stromal TİL'de yüksek PD-1 ekspresyonu içerdiği belirlenmiş olup bu bulgular istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur.

HR ve HER2 ekspresyonuna göre yapılan gruplama ile stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmış olup HR negatif-HER2 pozitif ve HR pozitif-HER2 pozitif grupların üçlü negatif gruba göre daha fazla oranda yüksek PD-1 ekspresyonu gösterdikleri belirlenmiştir. Benzer şekilde yalnızca HER2 ekspresyonuna göre yapılan değerlendirmede HER2 pozitifliği olan grupta daha fazla oranda yüksek PD-1 ekspresyonu saptanmıştır. Bu sonuçlarımız literatür ile uyumsuz olup çalışmalarda stromal ve intratümöral yüksek PD-1 ekspresyonunun üçlü negatif ve bazal benzeri invaziv meme tümörlerinde daha fazla oranda olduğu bildirilmektedir (103, 106, 107, 110).

Çalışmamızda PD-1 ekspresyonu ile LAG-3 ve TİM-3 ekspresyonları arasında anlamlı ilişki saptanmış olup literatür ile benzer şekilde PD-1 yüksekliğinin LAG-3 ve TİM-3 yüksekliğine eşlik ettiği belirlenmiştir (7, 11, 12, 111-114).

5.1.6. PD-1 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Literatürdeki çalışmalarda PD-1 ekspresyonu ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (103, 106, 108, 112). Buna karşılık Yeong ve arkadaşlarının 269 üçlü negatif meme karsinomu olgusunu içeren çalışmasında PD-1 ekspresyon yüksekliğinin artmış genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğu; ancak, yapılan çok değişkenli sağkalım analizlerinde yalnızca hastalıksız sağkalım ile PD-1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkinin saptandığı bildirilmiştir (115). Noske ve arkadaşarının yaptığı bir çalışmada da benzer şekilde üçlü negatif meme karsinomlarında PD-1 ekspresyonunun artmış hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (107). Bu çalışmaların aksine, PD-1 ekspresyonun azalmış genel ve hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar da literatürde mevcuttur (109, 110).

Çalışmamızda PD-1 ekspresyonu intratümöral ve stromal TİL'de ayrı ayrı incelenmiş olup intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Kaplan-Meier analizlerinde intratümöral TİL'deki yüksek PD-1 ekspresyonunun artmış genel ve hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan çok değişkenli analizlerde ise intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonunun genel ve hastalıksız sağkalım açısından bağımsız pozitif prognostik faktör olduğu saptanmıştır.

Stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

5.1.7. LAG-3 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki

Çalışmamızda intratümöral ve stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile klinik ve demografik özellikler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Hem intratümöral hem de stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonunun histopatolojik özelliklerden histolojik tip, stromal TİL yoğunluğu ve tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom tanılı olguların tümörleri, invaziv duktal karsinom içerenlerinkine göre daha fazla oranda yüksek LAG-3 ekspresyonu göstermekte olup medüller paternde olan 5 olgunun tümünün tümöründe yüksek LAG-3 ekspresyonu bulunduğu saptanmıştır. Burugu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada bazal benzeri meme karsinomlarında TİL'de LAG-3 ekspresyonun anlamlı şekilde daha fazla oranda saptandığı bildirilmiştir (113). Çalışmamızda da artan stromal TİL oranı ile artan LAG-3 ekspresyonu saptanmıştır (111, 112). Tersiyer lenfoid yapılanma varlığında daha yüksek oranda LAG-3 ekspresyonu bulunduğu belirlenmiş olup bu konuda literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda LAG-3 ekspresyonu ile PD-1 ve TİM-3 ekspresyonları arasında anlamlı ilişki saptanmış olup literatür ile benzer şekilde LAG-3 yüksekliğinin PD-1 ve TİM-3 yüksekliğine eşlik ettiği gözlenmiştir (7, 12, 111-113).

5.1.8. LAG-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Çalışmamızda intratümöral ve stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu yüksek olan olgularda, sağkalımın daha yüksek olma eğiliminde olduğu izlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Literatürde meme kanserinde TİL'de LAG-3 ekspresyonu ile sağkalım arasındaki ilişkiyi araştıran farklı sonuçlara sahip az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bottai ve arkadaşlarının 259 üçlü negatif meme tümörü ile yaptığı bir çalışmada LAG-3 ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (112). Tu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, LAG-3 ekspresyonunun üçlü negatif meme tümörlerinde progresyon sonrası sağkalım ve p53 mutasyonuna sahip meme tümörlerinde hastalıksız sağkalımı artırdığı (111); Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise üçlü negatif meme tümörlerinde neoadjuvan tedavi sonrası yüksek LAG-3 ekspresyonun kötü prognoz ilişkili olduğu bildirilmektedir (7).

Fareler ile yapılan bir çalışmada üçlü negatif meme tümörlerinde PD-1 inhibisyonu ile beraber LAG-3 inhibisyonun tümöre karşı daha iyi yanıt oluşturduğu saptanmıştır (116). Brignone ve arakadaşlarının yaptığı bir klinik araştırmada ise metastatik meme kanserinde paklitaksel ile IMP321'in (LAG-3 antagonisti) kombine kullanımının %50 oranında objektif tümör yanıtı sağladığı bildirilmiştir (3). TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile sağkalım arasındaki ilişki henüz kesin olarak açıklanamasa da LAG-3'ün güçlü bir immünoterapi hedefi olduğu düşünülmektedir.

5.1.9. TİM-3 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki

Çalışmamızda intratümöral ve stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile klinik ve demografik özellikler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Hem intratümöral hem de stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonunun histopatolojik özelliklerden histolojik tip, stromal TİL yoğunluğu ve tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Literatür ile benzer şekilde bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinom tanılı olguların tümöründe invaziv duktal karsinom tanılı olanlarınkine göre daha yüksek oranda TİM-3 ekspresyonu içerdiği belirlenmiştir (12). Çalışmamızda da stromal TİL oranı yüksek olan olgularda daha yüksek oranda TİM-3 ekspresyonu saptanmıştır (11, 12, 111). Tersiyer lenfoid yapılanma varlığında daha yüksek oranda TİM-3 ekspresyonu bulunduğu belirlenmiş olup bu konuda literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada TİM-3 ekspresyonu ile PD-1 ve LAG-3 ekspresyonları arasında anlamlı ilişki saptanmış olup literatürdeki araştırmaların sonuçları ile benzer şekilde TİM-3 yüksekliğinin PD-1 ve LAG-3 yüksekliğine eşlik ettiği gözlenmiştir (11, 12, 111).

5.1.10. TİM-3 ekspresyonu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

Çalışmamızda intratümöral ve stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu yüksek olan olgularda, sağkalımın da daha yüksek olma eğiliminde olduğu izlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Literatürde TİM-3 ile sağkalım arasındaki ilişkiyi araştıran az sayıda çalışma mevcut olup benzer sonuçlar bildirilmiştir. Burugu ve arkadaşlarının 3992 meme kanseri olgusunu içeren çalışmasında intratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonunun tüm olgularda ve ER negatif grupta bağımsız iyi (pozitif) prognostik faktör olduğu saptanmıştır (12). Literatürdeki diğer çalışmalarda da üçlü negatif meme tümörlerinde yüksek TİM-3 ekspresyonun artmış hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (11, 111). Yalnızca bir çalışmada tümör hücrelerindeki TİM-3 ekspresyonunun tümör progresyonuna neden olabileceği bildirilmiştir (75).

Meme tümörlerinde TİM-3 antagonistlerinin tedavi etkinliğini araştıran klinik bir çalışma henüz bulunmamaktadır. LAG-3 ve PD-1 ile benzer şekilde TİM-3 de yakın gelecekte immünoterapi için kullanılacak hedeflerden biri olabilir.

5.2. DKİS

5.2.1. Stromal TİL yoğunluğu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki

Son yıllarda yapılan çalışmalarda invaziv meme karsinomları yanı sıra DKİS'lerde de TİL değerlendirmesi yaparak DKİS'li hastaların prognozu hakkında bilgi sahibi olunmaya çalışılmaktadır (56, 117-119).

Çalışmamızda yaş ile DKİS'teki TİL yoğunluğuna göre belirlenen gruplar karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ancak, literatürdeki

çalışmaların bir kısmında DKİS'teki TİL yoğunluğunun yüksek olmasının genç yaş ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (56, 118).

Çalışmamızdaki DKİS olgularının 7'sinde mikroinvazyon izlenmiş olup bu olguların hiçbiri yüksek TİL yoğunluğu içeren grupta yer almamaktadır. TİL yoğunluğu ile mikroinvazyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Beguinot M ve arkadaşlarının 2018 yılında yayınladıkları çalışmalarında mikroinvaziv DKİS'ler ile pür DKİS'ler karşılaştırılmış olup mikroinvaziv karsinomların daha yüksek TİL yoğunluğuna sahip olduğu; ancak, aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir (120).

Bu çalışmadaki 68 DKİS olgusunun 47'sinin ER, PR ve HER2 sonuçlarına ulaşılabilmiştir. HER2 pozitiflerin yaklaşık üçte birinin yüksek oranda TİL içerdiği, HR pozitif DKİS'lerin ise hiçbirinin yüksek oranda TİL içermediği gözlenmiş ve aradaki farkın anlamlı olduğu bulunmuştur. Literatürdeki çalışmalarda da HER2 pozitif DKİS'lerin daha yüksek TİL yoğunluğuna sahip olduğu bildirilmiştir (56, 120).

Çalışmamızdaki DKİS'ler düşük (1 ve 2) ve yüksek nükleer dereceli (3) olarak gruplandırıldığında düşük dereceli DKİS'lerin hiçbirinin yüksek oranda TİL içermediği ve yüksek dereceli olanların ise %14,3'ünün yüksek oranda TİL içeren grupta yer aldığı bulunmuş olup bu iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Literatürdeki çalışmalarda da yüksek TİL yoğunluğuna sahip DKİS'lerin büyük çoğunluğunun tümör derecesi 3 olan DKİS'ler olduğu bildirilmiştir (56, 118-120).

Kim A ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada olduğu gibi bu çalışmada da DKİS'lerde tersiyer lenfoid yapılanma varlığı ile yüksek TİL düzeyi arasında anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır (121).

İyileşme (healing) fenomeni ilk defa 1934 yılında Muir ve arkadaşları tarafından DKİS'in kendiliğinden kaybolması ve yerini fibröz dokunun alması olarak tanımlanmıştır (40). Bu durum tümör içeren periduktal stromanın inflamasyonu ve fibrozisi ile karakterlidir (16). Çalışmamızda iyileşme (healing) fenomeni ile DKİS'te TİL yoğunluğu arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. İyileşme (healing) fenomeni bulgusu olan olguların %40'ı yüksek TİL yoğunluğu grubunda iken bu bulgusu olmayan olguların yalnızca %2,4'ü bu grupta yer almaktadır. Literatürde Morita ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da benzer sonuçlar bildirilmiştir (55).

Çalışmamızda DKİS'te TİL yoğunluğu ile komedonekroz, apoptoz, kalsifikasyon ve histolojik subtipler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Literatürdeki çalışmalarda da bu faktörler ile DKİS'teki TİL arasında anlamlı bir ilişki bildirilmemiştir (119, 120).

5.2.2. Stromal TİL yoğunluğu ile genel ve hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki

DKİS'li 68 olgunun 2'sinin öldüğü öğrenilmiş olup hiçbir olguda izlem süresi içinde nüks olmamıştır. Bu nedenle DKİS grubunda sağkalım analizi yapılamamıştır. Literatürde Pruneri ve arkadaşlarının 1488 DKİS olgusunu içeren bir çalışmasında 245 olgunun takip sırasında in situ ya da invaziv tümör şeklinde nüks ettiği belirlenmiş olup stromal TİL ile nüks arasında anlamlı bir ilişki

bulunmadığı bildirilmiştir (56). Hendry S ve arkadaşlarının da nüks ve stromal TİL arasında ilişki bulunamayan bir çalışması mevcuttur (54). Buna karşın, Thike ve arkadaşlarının 101 rekürrens gösteren DKİS ve 97 rekürrens göstermeyen DKİS olgusunu kapsayan bir çalışmasında yüksek TİL yoğunluğunun rekürrens ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (119).

5.2.3. PD-1 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki

Çalışmamızda DKİS'lerde intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu hiçbir klinik ve histopatolojik parametre ile ilişkili bulunmazken stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonunun stromal TİL oranı ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Yüksek stromal TİL yoğunluğu içeren tümörlerin daha yüksek oranda PD-1 ekspresyonu gösterdiği belirlenmiştir. Tümörlerin 9'unun nükleer derecesi 2 olup bu tümörlerde intratümöral ya da stromal TİL'de yüksek PD-1 ekspresyonu saptanmamıştır. Ancak, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ubago JM ve arkadaşlarının son yıllarda yaptıkları çalışmada yüksek TİL yoğunluğu gösteren HER2 pozitif DKİS'lerde %31 oranında PD-1 ekspresyonu saptandığı bildirilmiştir (122).

5.2.4. LAG-3 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki

Çalışmamızda DKİS'lerde intratümöral ve stromal TİL'de LAG-3 ekspresyonu ile herhangi bir klinik ya da histopatolojik parametre arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bu konuda literatürde de herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

5.2.5. TİM-3 ekspresyonu ile klinik ve histopatolojik özellikler arasındaki ilişki

Çalışmamızda DKİS'lerde intratümöral TİL'de yüksek TİM-3 ekspresyonu gözlenmemiş olmakla birlikte tümörlerin 4'ünde stromal TİL'de yüksek TİM-3 ekspresyonu saptanmıştır. Stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu hiçbir klinik ve histopatolojik parametre ile ilişkili bulunmamıştır. Bu konuda literatürde de herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

5.3. Çalışmamızın Kısıtlılıkları

İnvaziv meme karsinomu olgularının çoğunluğunun Ki67 proliferasyon indeksine ulaşılamaması, DKİS olgularının sayıca az olması, tüm olgulara immünhistokimyal çalışmanın yapılamaması ve TIGIT antikoru ile pozitif kontrolde güvenilir boyanma elde edilememesi nedeniyle bu biyobelirtecin seçilen tümörlere uygulanamaması çalışmamızın başlıca kısıtlılıklarıdır.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızdaki 312 invaziv meme karsinomu olgusu histopatolojik olarak ve genel sağkalım açısından, bunlardan klinik izlem bilgisine ulaşılabilen 169 invaziv meme karsinomu olgusu ise hastalıksız sağkalım açısından değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda 68 DKİS olgusu histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.

99 invaziv meme karsinomu olgusu ve 30 DKİS olgusu immünohistokimyasal boyalar (CD3, PD-1, LAG-3 ve TİM-3) ile değerlendirilmiştir.

1. İnvaziv meme karsinomlarında yüksek stromal TİLyoğunluğu içeren olgularda daha az oranda lenf nodu metastazı bulunduğu saptanmıştır.
2. Neoadjuvan tedavi almış invaziv meme karsinomlarında daha az oranda stromal TİL bulunduğu saptanmıştır.
3. Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinomların %34,2'sinin, medüller patende invaziv duktal karsinomların ise tümünün yüksek oranda stromal TİL içerdiği belirlenmiştir.
4. HR ve HER2 ekspresyonlarına göre bakıldığında, yüksek stromal TİL yoğunluğunun üçlü negatif ve HR negatif-HER2 pozitif meme karsinomlarında daha fazla oranda bulunduğu saptanmıştır.
5. Yüksek stromal TİL yoğunluğu ile ER ve PR negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.
6. Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı olan meme karsinomlarında daha yüksek oranda stromal TİL saptanmıştır.

7. Stromal TİL oranı ile invaziv karsinoma eşlik eden DKİS'in TİL oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olup yüksek oranda TİL içeren DKİS'lerin %51,5'inin invaziv karsinom alanlarında da yüksek oranda stromal TİL bulunduğu belirlenmiştir.
8. Klinik izlem bilgisine ulaşılan 169 olgunun 35'i neoadjuvan tedavi almış olup bu olguların hiçbirinde tersiyer lenfoid yapılanma görülmemiştir. Neoadjuvan tedavi almayan olguların %12,7'sinin tümöründe tersiyer lenfoid yapılanma izlenmiştir.
9. Ölen olguların %14,4'ünde, yaşayan olguların ise %2,9'unda tersiyer lenfoid yapılanma izlenmiş olup bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.
10. Nüks olan hastalarda daha az oranda tersiyer lenfoid yapılanmanın bulunduğu izlenmiştir.
11. Bazal benzeri fenotip gösteren invaziv duktal karsinomlarda daha fazla oranda tersiyer lenfoid yapılanma saptanmıştır.
12. Üçlü negatif ve HR negatif-HER2 pozitif meme karsinomlarında HR pozitif gruptakilere göre daha fazla oranda tersiyer lenfoid yapılanma saptanmıştır.
13. İnvaziv meme karsinomlarında intratümöral TİL oranı CD3 ile belirlenmiş olup H&E ile belirlenen stromal TİL oranları ile karşılaştırıldığında anlamlı ilişki bulunmamıştır.
14. PD-1 ekspresyonu intratümöral ve stromal TİL'de ayrı ayrı değerlendirilmiştir. İnvaziv meme karsinomlarında intratümöral TİL'deki

PD-1 ekspresyonu ile neoadjuvan tedavi, nüks, ölüm, stromal TİL yoğunluğu ve tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile stormal TİL grupları, histolojik tip, moleküler sınıflama ve HER2 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunduğu belirlenmiştir.

15. LAG-3 ekspresyonu intratümöral ve stromal TİL'de ayrı ayrı değerlendirilmiştir. İnvaziv meme karsinomlarında intratümöral TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile histolojik tip, stromal TİL yoğunluğu ve tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Stromal TİL'deki LAG-3 ekspresyonu ile histolojik tip, stromal TİL yoğunluğu ve tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunduğu belirlenmiştir.
16. TİM-3 ekspresyonu intratümöral ve stromal TİL'de ayrı ayrı değerlendirilmiştir. İnvaziv meme karsinomlarında intratümöral TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile histolojik tip, stromal TİL oranı ve tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile histolojik tip, stromal TİL oranı ve tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunduğu belirlenmiştir.
17. PD-1, LAG-3 ve TİM-3 ekspresyonlarının düşük ve yüksek yoğunluk açısından birbirleriyle uyumlu olduğu saptanmıştır.
18. Çalışmamızdaki invaziv meme kanseri olgularının medyan takip süresi 68 aydır (minimum 2 ay, maksimum 123 ay). Olguların 5 yıllık genel

sağkalım oranının %80 (±2,4), 10 yıllık genel sağkalım oranının ise %72 (±2,4) olduğu saptanmıştır. Olguların medyan hastalıksız sağkalım süresi 61 ay (minimum 6 ay, maksimum 120 ay) olup 5 yıllık hastalıksız sağkalım oranının %72 (±3,6), 10 yıllık hastalıksız sağkalım oranının %69 (±3,9) olduğu saptanmıştır.

19. Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan analizlerde invaziv meme karsinomlarında hafif-orta-yüksek şeklinde gruplandırılan stromal TİL'in genel grupta, üçlü negatif, HR negatif-HER2 pozitif ve HR pozitif grupta genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım ile arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.
20. Stromal TİL'in orta-yüksek grupkarı birleştirilerek yapılan çok değişkenli Cox regresyon analizlerinde stromal TİL bağımsız prognostik faktör olarak saptanmış olup orta-yüksek yoğunlukta stromal TİL içeren olgularda daha iyi genel ve hastalıksız sağkalım olduğu belirlenmiştir.
21. Kaplan-Meier yöntemi ile yapılan analizlerde invaziv meme karsinomlarında tersiyer lenfoid yapılanma ile genel sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmış olup (Long-rank p=0,023) tersiyer lenfoid yapılanma içeren olguların daha iyi sağkalıma sahip olduğu gözlenmiştir. Tersiyer lenfoid yapılanma varlığında daha iyi hastalıksız sağkalım olduğu gözlenmiş olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır (Long-rank p=0,062).

22. Çok değişkenli Cox regresyon analizlerinde invaziv meme karsinomlarında tersiyer lenfoid yapılanma ile sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.
23. İnvaziv meme karsinomlarındaki PD-1, LAG-3 ve TİM-3 ekspresyonları ile sağkalım arasındaki ilişki Kaplan-Meier yöntemi ile araştırılmış olup sadece intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha iyi genel ve hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğu saptanmıştır (sırasıyla long-rank $p<0,001$ ve $p=0,001$).
24. İnvaziv meme karsinomlarındaki çok değişkenli Cox regresyon analizlerinde intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonu genel ve hastalıksz sağkalım açısından bağımsız prognostik faktör olarak bulunmuştur.
25. HR ve HER2 ekspresyonlarına göre sınıflandırıldığında HER2 pozitif DKİS tümörlerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla oranda yüksek yoğunlukta stromal TİL içeren grupta yer aldığı saptanmıştır.
26. DKİS nükleer derecesi 1 ve 2 olan hiçbir tümör yüksek oranda TİL içermezken, nükleer derecesi 3 olan tümörlerin %14,3'ü yüksek oranda TİL içermektedir.
27. DKİS'lerde stromal TİL yoğunluğu ile tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.
28. İyileşme (healing) fenomeni bulunan DKİS'lerin daha yüksek TİL yoğunluğu içeren grupta yer aldığı belirlenmiştir.
29. DKİS'lerde stromal TİL'deki PD-1 ekspresyonu ile stromal TİL yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.

30. İntratümöral ve stromal TİL’deki LAG-3 ekspresyonu ile hiçbir klinik ve histopatolojik parametre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkili bulunmamıştır.
31. DKİS'lerde stromal TİL'deki TİM-3 ekspresyonu ile stromal TİL yoğunluğu ve tersiyer lenfoid yapılanma varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. La Vecchia C, Bosetti C, Lucchini F, Bertuccio P, Negri E, Boyle P, et al. Cancer mortality in Europe, 2000-2004, and an overview of trends since 1975. Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology. 2010;21(6):1323-60.
2. Prat A, Pineda E, Adamo B, Galvan P, Fernandez A, Gaba L, et al. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. Breast (Edinburgh, Scotland). 2015;24 Suppl 2:S26-35.
3. Brignone C, Gutierrez M, Mefti F, Brain E, Jarcau R, Cvitkovic F, et al. First-line chemoimmunotherapy in metastatic breast carcinoma: combination of paclitaxel and IMP321 (LAG-3Ig) enhances immune responses and antitumor activity. Journal of translational medicine. 2010;8:71.
4. Emens LA, Braiteh FS, Cassier P, Delord J-P, Eder JP, Fasso M, et al. Inhibition of PD-L1 by MPDL3280A leads to clinical activity in patients with metastatic triple-negative breast cancer (TNBC). AACR; 2015.
5. Migali C, Milano M, Trapani D, Criscitiello C, Esposito A, Locatelli M, et al. Strategies to modulate the immune system in breast cancer: checkpoint inhibitors and beyond. Therapeutic advances in medical oncology. 2016;8(5):360-74.
6. Anderson AC, Joller N, Kuchroo VK. Lag-3, Tim-3, and TIGIT: Co-inhibitory Receptors with Specialized Functions in Immune Regulation. Immunity. 2016;44(5):989-1004.
7. Wang Y, Dong T, Xuan Q, Zhao H, Qin L, Zhang Q. Lymphocyte-Activation Gene-3 Expression and Prognostic Value in Neoadjuvant-Treated Triple-Negative Breast Cancer. Journal of breast cancer. 2018;21(2):124-33.
8. Chretien S, Zerdes I, Bergh J, Matikas A, Foukakis T. Beyond PD-1/PD-L1 Inhibition: What the Future Holds for Breast Cancer Immunotherapy. Cancers. 2019;11(5).
9. Dieci MV, Radosevic-Robin N, Fineberg S, van den Eynden 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 in carcinoma in situ: A report of the International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. Seminars in cancer biology. 2018;52(Pt 2):16-25.
10. Stanton SE, Disis ML. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. Journal for immunotherapy of cancer. 2016;4:59.
11. Byun KD, Hwang HJ, Park KJ, Kim MC, Cho SH, Ju MH, et al. T-Cell Immunoglobulin Mucin 3 Expression on Tumor Infiltrating Lymphocytes as a Positive Prognosticator in Triple-Negative Breast Cancer. Journal of breast cancer. 2018;21(4):406-14.

12. Burugu S, Gao D, Leung S, Chia SK, Nielsen TO. TIM-3 expression in breast cancer. Oncoimmunology. 2018;7(11):e1502128.
13. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians. 2018;68(6):394-424.
14. Bray F, McCarron P, Parkin DM. The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality. Breast cancer research : BCR. 2004;6(6):229-39.
15. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Breast tumours. 5th ed. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer2019.
16. Rosen PP. Rosen's breast pathology: Lippincott Williams / Wilkins; 2001.
17. Lopez-Garcia MA, Geyer FC, Lacroix-Triki M, Marchio C, Reis-Filho JS. Breast cancer precursors revisited: molecular features and progression pathways. Histopathology. 2010;57(2):171-92.
18. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2000;406(6797):747-52.
19. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thurlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology. 2013;24(9):2206-23.
20. Vincent-Salomon A, Gruel N, Lucchesi C, MacGrogan G, Dendale R, Sigal-Zafrani B, et al. Identification of typical medullary breast carcinoma as a genomic sub-group of basal-like carcinomas, a heterogeneous new molecular entity. Breast cancer research : BCR. 2007;9(2):R24.
21. Ridolfi RL, Rosen PP, Port A, Kinne D, Mike V. Medullary carcinoma of the breast: a clinicopathologic study with 10 year follow-up. Cancer. 1977;40(4):1365-85.
22. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. Histopathology. 1991;19(5):403-10.
23. Tao L, Schwab RB, San Miguel Y, Gomez SL, Canchola AJ, Gago-Dominguez M, et al. Breast Cancer Mortality in Older and Younger Patients in California. Cancer epidemiology, biomarkers / prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology. 2019;28(2):303-10.
24. Rakha EA, Martin S, Lee AH, Morgan D, Pharoah PD, Hodi Z, et al. The prognostic significance of lymphovascular invasion in invasive breast carcinoma. Cancer. 2012;118(15):3670-80.
25. Rakha EA, El-Sayed ME, Lee AH, Elston CW, Grainge MJ, Hodi Z, et al. Prognostic significance of Nottingham histologic grade in invasive breast carcinoma. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2008;26(19):3153-8.
26. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists

guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2010;28(16):2784-95.
27. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. Archives of pathology / laboratory medicine. 2014;138(2):241-56.
28. Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M, McKernin SE, Carey LA, Fitzgibbons PL, et al. Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: ASCO/CAP Guideline Update. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2020:Jco1902309.
29. Bozovic-Spasojevic I, Zardavas D, Brohee S, Ameye L, Fumagalli D, Ades F, et al. The Prognostic Role of Androgen Receptor in Patients with Early-Stage Breast Cancer: A Meta-analysis of Clinical and Gene Expression Data. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2017;23(11):2702-12.
30. Purrington KS, Visscher DW, Wang C, Yannoukakos D, Hamann U, Nevanlinna H, et al. Genes associated with histopathologic features of triple negative breast tumors predict molecular subtypes. Breast cancer research and treatment. 2016;157(1):117-31.
31. Curigliano G, Burstein HJ, Winer EP, Gnant M, Dubsky P, Loibl S, et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology. 2017;28(8):1700-12.
32. Gu G, Dustin D, Fuqua SA. Targeted therapy for breast cancer and molecular mechanisms of resistance to treatment. Current opinion in pharmacology. 2016;31:97-103.
33. Geenen JJJ, Linn SC, Beijnen JH, Schellens JHM. PARP Inhibitors in the Treatment of Triple-Negative Breast Cancer. Clinical pharmacokinetics. 2018;57(4):427-37.
34. Tan TJ, Chan JJ, Kamis S, Dent RA. What is the role of immunotherapy in breast cancer? Chinese clinical oncology. 2018;7(2):13.
35. Denduluri N, Miller K, O'Regan RM. Using a Neoadjuvant Approach for Evaluating Novel Therapies for Patients With Breast Cancer. American Society of Clinical Oncology educational book American Society of Clinical Oncology Annual Meeting. 2018;38:47-55.
36. Andre F, Ismaila N, Henry NL, Somerfield MR, Bast RC, Barlow W, et al. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Adjuvant Systemic Therapy for Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update-Integration of Results From TAILORx. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2019;37(22):1956-64.

37. Ward EM, DeSantis CE, Lin CC, Kramer JL, Jemal A, Kohler B, et al. Cancer statistics: Breast cancer in situ. CA: a cancer journal for clinicians. 2015;65(6):481-95.
38. Ellsworth RE, Ellsworth DL, Love B, Patney HL, Hoffman LR, Kane J, et al. Correlation of levels and patterns of genomic instability with histological grading of DCIS. Annals of surgical oncology. 2007;14(11):3070-7.
39. Ward BA, McKhann CF, Ravikumar TS. Ten-year follow-up of breast carcinoma in situ in Connecticut. Archives of surgery (Chicago, Ill : 1960). 1992;127(12):1392-5.
40. Muir R, Aitkenhead AC. The healing of intra-duct carcinoma of the mamma. The Journal of Pathology and Bacteriology. 1934;38(2):117-27.
41. Lester SC, Bose S, Chen YY, Connolly JL, de Baca ME, Fitzgibbons PL, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with ductal carcinoma in situ of the breast. Archives of pathology / laboratory medicine. 2009;133(1):15-25.
42. Elshof LE, Schmidt MK, Rutgers EJT, van Leeuwen FE, Wesseling J, Schaapveld M. Cause-specific Mortality in a Population-based Cohort of 9799 Women Treated for Ductal Carcinoma In Situ. Annals of surgery. 2018;267(5):952-8.
43. Han MS, Khan SA. Clinical Trials for Ductal Carcinoma In Situ of the Breast. Journal of mammary gland biology and neoplasia. 2018;23(4):293-301.
44. Kanbayashi C, Iwata H. Current approach and future perspective for ductal carcinoma in situ of the breast. Japanese journal of clinical oncology. 2017;47(8):671-7.
45. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology. Ninth Edition ed: Elsevier Health Sciences; 2018.
46. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, et al. Assessing Tumor-infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method From the International Immunooncology Biomarkers 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. Advances in anatomic pathology. 2017;24(5):235-51.
47. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, et al. Assessing Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method from the International Immuno-Oncology Biomarkers Working Group: Part 2: TILs in Melanoma, Gastrointestinal Tract Carcinomas, Non-Small Cell Lung Carcinoma and Mesothelioma, Endometrial and Ovarian Carcinomas, Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck, Genitourinary Carcinomas, and Primary Brain Tumors. Advances in anatomic pathology. 2017;24(6):311-35.
48. Moore OS, Jr., Foote FW, Jr. The relatively favorable prognosis of medullary carcinoma of the breast. Cancer. 1949;2(4):635-42.
49. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. Annals of

oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology. 2015;26(2):259-71.
50. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. The Lancet Oncology. 2018;19(1):40-50.
51. Loi S, Michiels S, Salgado R, Sirtaine N, Jose V, Fumagalli D, et al. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology. 2014;25(8):1544-50.
52. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2013;31(7):860-7.
53. Salgado R, Denkert C, Campbell C, Savas P, Nuciforo P, Aura C, et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Associations With Pathological Complete Response and Event-Free Survival in HER2-Positive Early-Stage Breast Cancer Treated With Lapatinib and Trastuzumab: A Secondary Analysis of the NeoALTTO Trial. JAMA oncology. 2015;1(4):448-54.
54. Hendry S, Pang JB, Byrne DJ, Lakhani SR, Cummings MC, Campbell IG, et al. Relationship of the Breast Ductal Carcinoma In Situ Immune Microenvironment with Clinicopathological and Genetic Features. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2017;23(17):5210-7.
55. Morita M, Yamaguchi R, Tanaka M, Tse GM, Yamaguchi M, Kanomata N, et al. CD8(+) tumor-infiltrating lymphocytes contribute to spontaneous "healing" in HER2-positive ductal carcinoma in situ. Cancer medicine. 2016;5(7):1607-18.
56. Pruneri G, Lazzeroni M, Bagnardi V, Tiburzio GB, Rotmensz N, DeCensi A, et al. The prevalence and clinical relevance of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in ductal carcinoma in situ of the breast. Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology. 2017;28(2):321-8.
57. Rowshanravan B, Halliday N, Sansom DM. CTLA-4: a moving target in immunotherapy. Blood. 2018;131(1):58-67.
58. Salmaninejad A, Valilou SF, Shabgah AG, Aslani S, Alimardani M, Pasdar A, et al. PD-1/PD-L1 pathway: Basic biology and role in cancer immunotherapy. Journal of cellular physiology. 2019;234(10):16824-37.
59. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. The New England journal of medicine. 2010;363(8):711-23.
60. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. The New England journal of medicine. 2012;366(26):2443-54.

61. Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. The New England journal of medicine. 2012;366(26):2455-65.
62. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, et al. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. The New England journal of medicine. 2015;373(1):23-34.
63. Dirix LY, Takacs I, Jerusalem G, Nikolinakos P, Arkenau HT, Forero-Torres A, et al. Avelumab, an anti-PD-L1 antibody, in patients with locally advanced or metastatic breast cancer: a phase 1b JAVELIN Solid Tumor study. Breast cancer research and treatment. 2018;167(3):671-86.
64. Schmid P, Adams S, Rugo HS, Schneeweiss A, Barrios CH, Iwata H, et al. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. The New England journal of medicine. 2018;379(22):2108-21.
65. Nanda R, Chow LQ, Dees EC, Berger R, Gupta S, Geva R, et al. Pembrolizumab in Patients With Advanced Triple-Negative Breast Cancer: Phase Ib KEYNOTE-012 Study. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2016;34(21):2460-7.
66. Rugo HS, Delord JP, Im SA, Ott PA, Piha-Paul SA, Bedard PL, et al. Safety and Antitumor Activity of Pembrolizumab in Patients with Estrogen Receptor-Positive/Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Advanced Breast Cancer. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2018;24(12):2804-11.
67. Triebel F, Jitsukawa S, Baixeras E, Roman-Roman S, Genevee C, Viegas-Pequignot E, et al. LAG-3, a novel lymphocyte activation gene closely related to CD4. The Journal of experimental medicine. 1990;171(5):1393-405.
68. Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. Nature reviews Immunology. 2015;15(8):486-99.
69. Andrews LP, Marciscano AE, Drake CG, Vignali DA. LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target. Immunological reviews. 2017;276(1):80-96.
70. Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, Ryu A, Waldner H, Chernova T, et al. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease. Nature. 2002;415(6871):536-41.
71. Sabatos CA, Chakravarti S, Cha E, Schubart A, Sanchez-Fueyo A, Zheng XX, et al. Interaction of Tim-3 and Tim-3 ligand regulates T helper type 1 responses and induction of peripheral tolerance. Nature immunology. 2003;4(11):1102-10.
72. Fourcade J, Sun Z, Benallaoua M, Guillaume P, Luescher IF, Sander C, et al. Upregulation of Tim-3 and PD-1 expression is associated with tumor antigen-specific CD8+ T cell dysfunction in melanoma patients. The Journal of experimental medicine. 2010;207(10):2175-86.
73. Gao X, Zhu Y, Li G, Huang H, Zhang G, Wang F, et al. TIM-3 expression characterizes regulatory T cells in tumor tissues and is associated with lung cancer progression. PloS one. 2012;7(2):e30676.
74. Yang ZZ, Grote DM, Ziesmer SC, Niki T, Hirashima M, Novak AJ, et al. IL-12 upregulates TIM-3 expression and induces T cell exhaustion in patients

with follicular B cell non-Hodgkin lymphoma. The Journal of clinical investigation. 2012;122(4):1271-82.
75. Zhang H, Xiang R, Wu B, Li J, Luo G. T-cell immunoglobulin mucin-3 expression in invasive ductal breast carcinoma: Clinicopathological correlations and association with tumor infiltration by cytotoxic lymphocytes. Molecular and clinical oncology. 2017;7(4):557-63.
76. Yu X, Harden K, Gonzalez LC, Francesco M, Chiang E, Irving B, et al. The surface protein TIGIT suppresses T cell activation by promoting the generation of mature immunoregulatory dendritic cells. Nature immunology. 2009;10(1):48-57.
77. Kurtulus S, Sakuishi K, Ngiow SF, Joller N, Tan DJ, Teng MW, et al. TIGIT predominantly regulates the immune response via regulatory T cells. The Journal of clinical investigation. 2015;125(11):4053-62.
78. Chauvin JM, Pagliano O, Fourcade J, Sun Z, Wang H, Sander C, et al. TIGIT and PD-1 impair tumor antigen-specific CD8(+) T cells in melanoma patients. The Journal of clinical investigation. 2015;125(5):2046-58.
79. He W, Zhang H, Han F, Chen X, Lin R, Wang W, et al. CD155T/TIGIT Signaling Regulates CD8(+) T-cell Metabolism and Promotes Tumor Progression in Human Gastric Cancer. Cancer Res. 2017;77(22):6375-88.
80. Xu Y, Cui G, Jiang Z, Li N, Zhang X. Survival analysis with regard to PD-L1 and CD155 expression in human small cell lung cancer and a comparison with associated receptors. Oncol Lett. 2019;17(3):2960-8.
81. Sanchez-Correa B, Valhondo I, Hassouneh F, Lopez-Sejas N, Pera A, Bergua JM, et al. DNAM-1 and the TIGIT/PVRIG/TACTILE Axis: Novel Immune Checkpoints for Natural Killer Cell-Based Cancer Immunotherapy. Cancers. 2019;11(6):877.
82. Stamm H, Oliveira-Ferrer L, Grossjohann E-M, Muschhammer J, Thaden V, Brauneck F, et al. Targeting the TIGIT-PVR immune checkpoint axis as novel therapeutic option in breast cancer. Oncoimmunology. 2019;8(12):e1674605-e.
83. Liu JY, Yang GF, Chen FF, Peng CW. Evaluating the prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in solid tumor: practice of a standardized method from the International Immuno-Oncology Biomarkers Working Group. Cancer management and research. 2019;11:6815-27.
84. Jang N, Kwon HJ, Park MH, Kang SH, Bae YK. Prognostic Value of Tumor-Infiltrating Lymphocyte Density Assessed Using a Standardized Method Based on Molecular Subtypes and Adjuvant Chemotherapy in Invasive Breast Cancer. Annals of surgical oncology. 2018;25(4):937-46.
85. Korde LA, Zujewski JA, Kamin L, Giordano S, Domchek S, Anderson WF, et al. Multidisciplinary meeting on male breast cancer: summary and research recommendations. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2010;28(12):2114-22.
86. Vermeulen MA, Slaets L, Cardoso F, Giordano SH, Tryfonidis K, van Diest PJ, et al. Pathological characterisation of male breast cancer: Results of the EORTC 10085/TBCRC/BIG/NABCG International Male Breast Cancer Program. European journal of cancer (Oxford, England : 1990). 2017;82:219-27.

87. Kim S, Park S, Cho MS, Lim W, Moon BI, Sung SH. Strong Correlation of Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1 Expression with Basal-Like Phenotype and Increased Lymphocytic Infiltration in Triple-Negative Breast Cancer. Journal of Cancer. 2017;8(1):124-30.
88. Heng YJ, Lester SC, Tse GM, Factor RE, Allison KH, Collins LC, et al. The molecular basis of breast cancer pathological phenotypes. The Journal of pathology. 2017;241(3):375-91.
89. Thomas A, Routh ED, Pullikuth A, Jin G, Su J, Chou JW, et al. Tumor mutational burden is a determinant of immune-mediated survival in breast cancer. Oncoimmunology. 2018;7(10):e1490854.
90. Liubomirski Y, Lerrer S, Meshel T, Rubinstein-Achiasaf L, Morein D, Wiemann S, et al. Tumor-Stroma-Inflammation Networks Promote Pro-metastatic Chemokines and Aggressiveness Characteristics in Triple-Negative Breast Cancer. Frontiers in immunology. 2019;10:757.
91. Jamshidi N, Yamamoto S, Gornbein J, Kuo MD. Receptor-based Surrogate Subtypes and Discrepancies with Breast Cancer Intrinsic Subtypes: Implications for Image Biomarker Development. Radiology. 2018;289(1):210-7.
92. Fujimoto Y, Watanabe T, Hida AI, Higuchi T, Miyagawa Y, Ozawa H, et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes may differ depending on Ki67 expression levels in estrogen receptor-positive/HER2-negative operated breast cancers. Breast cancer (Tokyo, Japan). 2019;26(6):738-47.
93. Figenschau SL, Fismen S, Fenton KA, Fenton C, Mortensen ES. Tertiary lymphoid structures are associated with higher tumor grade in primary operable breast cancer patients. BMC cancer. 2015;15:101.
94. Liu X, Tsang JYS, Hlaing T, Hu J, Ni YB, Chan SK, et al. Distinct Tertiary Lymphoid Structure Associations and Their Prognostic Relevance in HER2 Positive and Negative Breast Cancers. The oncologist. 2017;22(11):1316-24.
95. Lee HJ, Kim JY, Park IA, Song IH, Yu JH, Ahn JH, et al. Prognostic Significance of Tumor-Infiltrating Lymphocytes and the Tertiary Lymphoid Structures in HER2-Positive Breast Cancer Treated With Adjuvant Trastuzumab. American journal of clinical pathology. 2015;144(2):278-88.
96. Lee HJ, Park IA, Song IH, Shin SJ, Kim JY, Yu JH, et al. Tertiary lymphoid structures: prognostic significance and relationship with tumour-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer. Journal of clinical pathology. 2016;69(5):422-30.
97. Hiraoka N, Ino Y, Yamazaki-Itoh R. Tertiary Lymphoid Organs in Cancer Tissues. Frontiers in immunology. 2016;7:244.
98. Dieu-Nosjean MC, Antoine M, Danel C, Heudes D, Wislez M, Poulot V, et al. Long-term survival for patients with non-small-cell lung cancer with intratumoral lymphoid structures. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2008;26(27):4410-7.
99. Trajkovski G, Ognjenovic L, Karadzov Z, Jota G, Hadzi-Manchev D, Kostovski O, et al. Tertiary Lymphoid Structures in Colorectal Cancers and Their Prognostic Value. Open access Macedonian journal of medical sciences. 2018;6(10):1824-8.

100. Cabrita R, Lauss M, Sanna A, Donia M, Skaarup Larsen M, Mitra S, et al. Tertiary lymphoid structures improve immunotherapy and survival in melanoma. Nature. 2020;577(7791):561-5.
101. Jezequel P, Kerdraon O, Hondermarck H, Guerin-Charbonnel C, Lasla H, Gouraud W, et al. Identification of three subtypes of triple-negative breast cancer with potential therapeutic implications. Breast cancer research : BCR. 2019;21(1):65.
102. Sofopoulos M, Fortis SP, Vaxevanis CK, Sotiriadou NN, Arnogiannaki N, Ardavanis A, et al. The prognostic significance of peritumoral tertiary lymphoid structures in breast cancer. Cancer immunology, immunotherapy : CII. 2019;68(11):1733-45.
103. Tsang JY, Au WL, Lo KY, Ni YB, Hlaing T, Hu J, et al. PD-L1 expression and tumor infiltrating PD-1+ lymphocytes associated with outcome in HER2+ breast cancer patients. Breast cancer research and treatment. 2017;162(1):19-30.
104. Buisseret L, Garaud S, de Wind A, Van den Eynden G, Boisson A, Solinas C, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte composition, organization and PD-1/ PD-L1 expression are linked in breast cancer. Oncoimmunology. 2017;6(1):e1257452.
105. Zhao YJ, Zhang J, Shi F, Hu ZP, Wu JP, Wu GJ, et al. Expression of PD-1 on CD4(+) Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Tumor Microenvironment Associated with Pathological Characteristics of Breast Cancer. Journal of immunology research. 2018;2018:5690258.
106. Kitano A, Ono M, Yoshida M, Noguchi E, Shimomura A, Shimoi T, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes are correlated with higher expression levels of PD-1 and PD-L1 in early breast cancer. ESMO open. 2017;2(2):e000150.
107. Noske A, Mobus V, Weber K, Schmatloch S, Weichert W, Kohne CH, et al. Relevance of tumour-infiltrating lymphocytes, PD-1 and PD-L1 in patients with high-risk, nodal-metastasised breast cancer of the German Adjuvant Intergroup Node-positive study. European journal of cancer (Oxford, England : 1990). 2019;114:76-88.
108. Zhou T, Xu D, Tang B, Ren Y, Han Y, Liang G, et al. Expression of programmed death ligand-1 and programmed death-1 in samples of invasive ductal carcinoma of the breast and its correlation with prognosis. Anti-cancer drugs. 2018;29(9):904-10.
109. Sun S, Fei X, Mao Y, Wang X, Garfield DH, Huang O, et al. PD-1(+) immune cell infiltration inversely correlates with survival of operable breast cancer patients. Cancer immunology, immunotherapy : CII. 2014;63(4):395-406.
110. Muenst S, Soysal SD, Gao F, Obermann EC, Oertli D, Gillanders WE. The presence of programmed death 1 (PD-1)-positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer. Breast cancer research and treatment. 2013;139(3):667-76.
111. Tu L, Guan R, Yang H, Zhou Y, Hong W, Ma L, et al. Assessment of the expression of the immune checkpoint molecules PD-1, CTLA4, TIM-3 and LAG-3 across different cancers in relation to treatment response, tumor-infiltrating immune cells and survival. International journal of cancer. 2019.

112. Bottai G, Raschioni C, Losurdo A, Di Tommaso L, Tinterri C, Torrisi R, et al. An immune stratification reveals a subset of PD-1/LAG-3 double-positive triple-negative breast cancers. Breast cancer research : BCR. 2016;18(1):121.
113. Burugu S, Gao D, Leung S, Chia SK, Nielsen TO. LAG-3+ tumor infiltrating lymphocytes in breast cancer: clinical correlates and association with PD-1/PD-L1+ tumors. Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology. 2017;28(12):2977-84.
114. Shen H, Sheng H, Lu JJ, Feng C, Yao M, Pan H, et al. [Expression and distribution of programmed death receptor 1 and T cell immunoglobulin mucin 3 in breast cancer microenvironment and its relationship with clinicopathological features]. Zhonghua yi xue za zhi. 2018;98(17):1352-7.
115. Yeong J, Lim JCT, Lee B, Li H, Ong CCH, Thike AA, et al. Prognostic value of CD8 + PD-1+ immune infiltrates and PDCD1 gene expression in triple negative breast cancer. Journal for immunotherapy of cancer. 2019;7(1):34.
116. Du H, Yi Z, Wang L, Li Z, Niu B, Ren G. The co-expression characteristics of LAG3 and PD-1 on the T cells of patients with breast cancer reveal a new therapeutic strategy. International immunopharmacology. 2020;78:106113.
117. Chen XY, Yeong J, Thike AA, Bay BH, Tan PH. Prognostic role of immune infiltrates in breast ductal carcinoma in situ. Breast cancer research and treatment. 2019;177(1):17-27.
118. Toss MS, Miligy I, Al-Kawaz A, Alsleem M, Khout H, Rida PC, et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in ductal carcinoma in situ of the breast. Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 2018;31(8):1226-36.
119. Thike AA, Chen XY, Koh VCY, Md Nasir ND, Poh Sheng Yeong J, Bay BH, et al. Higher Densities of Tumour-Infiltrating Lymphocytes and CD4(+) T Cells Predict Recurrence and Progression of Ductal Carcinoma in Situ of the Breast. Histopathology. 2019.
120. Beguinot M, Dauplat MM, Kwiatkowski F, Lebouedec G, Tixier L, Pomel C, et al. Analysis of tumour-infiltrating lymphocytes reveals two new biologically different subgroups of breast ductal carcinoma in situ. BMC cancer. 2018;18(1):129.
121. Kim A, Heo SH, Kim YA, Gong G, Jin Lee H. An Examination of the Local Cellular Immune Response to Examples of Both Ductal Carcinoma In Situ (DCIS) of the Breast and DCIS With Microinvasion, With Emphasis on Tertiary Lymphoid Structures and Tumor Infiltrating Lymphoctytes. American journal of clinical pathology. 2016;146(1):137-44.
122. Ubago JM, Blanco LZ, Shen T, Siziopikou KP. The PD-1/PD-L1 Axis in HER2+ Ductal Carcinoma In Situ (DCIS) of the Breast. American journal of clinical pathology. 2019;152(2):169-76.

8. ÖZET

İn Situ ve İnvaziv Duktal Meme Karsinomlarında Tümörü İnfiltre Eden Lenfositlerde İmmün Kontrol Noktası İnhibitörlerinin (PD-1, TIM-3, LAG-3 ve TIGIT) Ekspresyonu ve Prognostik Faktörler İle İlişkisi

Meme kanseri kadınlarda görülen en sık kanser olup dünyada sıklığı giderek artmaktadır. Son yıllarda inflamatuar yanıtın belirgin olarak eşlik ettiği meme kanserlerinin tedavisinde immünoterapi önemli bir seçenek olarak öne çıkmıştır. Bu konuda tümörü infiltre eden lenfositler (TİL) ve TİL üzerindeki immün kontrol noktası reseptörlerinin ekspresyonları önem kazanmıştır.

Çalışmamızda 312 invaziv, 68 in situ meme kanserinde stromal TİL oranı ve tersiyer lenfoid yapılanma belirlenmiştir. İmmünhistokimyasal çalışma ile intratümöral ve stromal TİL üzerindeki PD-1, LAG-3 ve TİM-3 ekspresyonları araştırılmıştır. İnvaziv meme karsinomlarında stromal TİL'in lenf nodu metastazı ($p=0,040$), HR ve HER2 ekspresyonu ($p=0,001$) ve bazal benzeri fenotip ($p<0,001$) ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Tersiyer lenfoid yapılanma varlığı neoadjuvan tedavi ($p=0,025$), nüks ($p=0,043$), ölüm ($p=0,009$) ve HR ve HER2 ekspresyonu ($p=0,019$) ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. PD-1, LAG-3 ve TİM-3 ekspresyonlarının tanı, moleküler sınıflama, stromal TİL oranı ve tersiyer lenfoid yapılanma ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Çok değişkenli analizlerde yüksek stromal TİL'in ve intratümöral TİL'deki PD-1 ekspresyonunun genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım açısından bağımsız prognostik faktörler olduğu saptanmıştır. LAG-3 ve TİM-3 ekspresyonları sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken bu reseptörlerin yüksek ekspresyonu bulunan olgular daha uzun

sağkalıma sahip olma eğilimindedir. İn situ meme tümörlerinde ise stromal TİL'in HER2 pozitifliği ve yüksek nükleer derece ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

Meme kanserinde TİL'in ve immün kontrol noktası reseptör ekspresyonlarının değerlendirilmesi, immünoterapi temelli terapötik yaklaşımların planlanması açısından giderek önem kazanmaktadır.

9. SUMMARY

Expression of Immune Control Point Inhibitor (PD-1, TIM-3, LAG-3 and TIGIT) on Tumor Infiltrating Lymphocytes in In situ and Invasive Ductal Breast Carcinomas and Its Relationship with Prognostic Factors

Breast cancer is the most common cancer in women and its frequency is increasing worldwide. Recently, immunotherapy has been determined as an important choice, especially in tumors which markedly inflammatory response. In studies about this subject, it has been found that immuno-control point receptors are highly expressed in tumor-infiltrating lymphocytes. In this subject tumor infiltrating lymphocytes (TIL) and the expression of immune control point receptors on TIL has gained importance.

In our study, stromal TIL rates and tertiary lymphoid structures were determined in 312 invasive, 68 in situ breast cancer. With the immunohistochemical study, PD-1, LAG-3 and TIM-3 expressions on intratumoral and stromal TIL were investigated. In invasive breast carcinomas, stromal TIL was found to be associated with lymph node metastasis (p=0,040), HR and HER2 expression (p=0,001) and basal-like phenotype (p<0,001). The presence of tertiary lymphoid structuring was found to be associated with neoadjuvant therapy (p=0,025), recurrence (p=0,043), death (p=0,009), and expression of HR and HER2 (p=0,019). PD-1, LAG-3 and TIM-3 expressions were found to be associated with diagnosis, molecular classification, stromal TIL rates and tertiary lymphoid structuring. In multivariate analysis, high stromal TIL and PD-1 expression in intratumoral TIL were found to be independent prognostic

factors in terms of overall survival and disease-free survival. While LAG-3 and TIM-3 expressions were not statistically significant in terms of survival, cases with high expression of these receptors tend to have longer survival. In in situ breast tumors, stromal TIL was found to be associated with HER2 positivity and high nuclear grade.

Evaluation of TIL and immune control point receptor expressions in breast cancer is increasingly important in terms of planning the therapeutic approaches based on immunotherapy.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Elif Acar

Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara / 13.11.1991

Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru) :

2016-Halen, Araştırma görevlisi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

2009-2015, Lisans, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (Türkçe)

2005-2009, Lise, Ankara Atatürk Anadolu Lisesi

Yabancı Dili:

İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar:

Patoloji Dernekleri Federasyonu

Ankara Patoloji Derneği

Bilimsel Etkinlikleri (aldığı burslar, ödüller, projeleri, yayınları)

Yayın

- Pneumocystis Jirovecii Pneumonia in Newly Diagnosed HIV Infection: A Challenging Case Report, Selin Kestel Kayık, Elif Acar, Leyla Memiş, Turkish Journal of Pathology, 2020.01480.

Burs

- 29. Avrupa Patoloji Kongresi, kongre katılım desteği, 2017, Amsterdam, Hollanda
- 30. Avrupa Patoloji Kongresi, kongre katılım desteği, 2018, Bilbao, İspanya

Poster

- “Challenges and Pitfalls in Immunohistochemical Evaluation of c-erbB-2 in Breast Cancer”, 2017, Amsterdam, Hollanda
- “PD-L1 Expressıon in NSCLC and the Comparison with the Other Types of Cancer”, 2018, Bilbao, İspanya
- “Hibrid Schwannom/Perinörom: Nadir Bir Olgu”, 2017, Antalya, Türkiye
- “İnfantın Primitif Miksoid Mezenkimal Tümörü: Çok Nadir Bir Olgu”, 2017, Antalya, Türkiye
- “Dishormonogenetik Multinodüler Guatr: Nadir Olgular Ve Litaratür Özeti”, 2019, Trabzon, Türkiye