



T.C. SAğLIK BAKANLIğI  
İSTANBUL  
ÜMRANIYE EğİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

**T.C.**  
**SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**  
**ÜMRANIYE SAğLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**  
**TIBBİ PATOLOJİ KLİNİğİ**

**NEOADJUVAN TEDAVİ UYGULANAN MEME**  
**KARSİNOMLARINDA TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI**  
**TÜMÖRÜ İNFİLTRE EDEN LENFOSİTLERDE CD8/FOXP3**  
**ORANININ KARŞILAŞTIRILMASI, TEDAVİ YANITI VE**  
**PROGNOSTİK FAKTÖRLERLE KORELASYONU**

**Dr. Hande Nur İnceman**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**İSTANBUL - 2021**



**T.C.**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**  
**ÜMRANİYE SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**  
**TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ**

**NEOADJUVAN TEDAVİ UYGULANAN MEME**  
**KARSİNOMLARINDA TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI**  
**TÜMÖRÜ İNFİLTRE EDEN LENFOSİTLERDE CD8/FOXP3**  
**ORANININ KARŞILAŞTIRILMASI, TEDAVİ YANITI VE**  
**PROGNOSTİK FAKTÖRLERLE KORELASYONU**

**Dr. Hande Nur İnceman**

**Tez Danışmanı: Başasistan Uz. Dr. İlkay Tosun**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**İSTANBUL - 2021**

## TEŞEKKÜR

*Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesi ile yoluma ışık tutan, insanlara karşı olan samimiyetini ve hoşgörüsünü her zaman örnek aldığım çok değerli hocam Prof. Dr. İtir Ebru Zemheri'ye,*

*Hem tez sürecimde, hem asistanlık eğitimim boyunca her türlü soruma sabır ve içtenlikle cevap veren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım Başasistan Dr. İlkay Tosun'a,*

*Tez sürecimde, her türlü soruma içtenlikle cevap veren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Doç. Dr. Melike Özçelik'e,*

*Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak yetişmemde büyük katkıları bulunan uzmanlarım Dr. Cumhur Selçuk Topal, Dr. Şenay Çetin, Dr. Fatıma Gürsoy, Dr. Hakan Karabulut, Dr. Müberra Seğmen Yılmaz, Dr. Nazan Aksoy, Dr. Hande Mollamemişoğlu, Dr. Ayşenur İhvan, Dr. Gülçiçek Ayrancı, Dr. Kamile Altundal ve Dr. Meryem Doğan Altunpulluk'a,*

*Her gün işe keyifle gelmemi sağlayan, her zaman desteklerini ve yardımlarını yanımda hissettiğim sevgili çalışma arkadaşlarım Dr. Begüm Çalım Gürbüz, Dr. Merve Aydemir, Dr. İrem Güvendir, Dr. Müzeyyen Müge Savaş, Dr. Esra Aydemir, Dr. Bilge Konuk, Dr. Onur Şahin, Dr. Naz Özeroğlu Gencay, Dr. Damla Karabıyık Altıok'a,*

*Tez vakalarının kesitinde ve boyamasında emekleri olan Ercan Aluç, Neslihan Tarakçı, Aycan Akar Yiğit, Duygu Kahveci ve Muhammet Önavcı başta olmak üzere asistanlık hayatım boyunca her türlü sorunumu çözmemde yardımcı olan tüm Patoloji Bölümü çalışanlarına,*

*Hep yanımda olan, sevgisini ve desteği daima hissettiğim eşim Can İnceman'a ve ömrüm boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme çok teşekkür ederim.*

*Dr. Hande Nur İnceman*

*İstanbul - 2021*

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR .....	iv
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÖZET .....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Meme Embriyolojisi.....	3
2.2. Meme Anatomisi .....	4
2.3. Meme Histolojisi .....	5
2.4. Meme Kanseri .....	6
2.4.1. Epidemiyoloji.....	6
2.4.2. Etyoloji .....	8
2.4.3. Patogenez .....	9
2.4.4. Klinik Özellikler.....	9
2.4.5. Morfolojik Sınıflama ve İnvaziv Meme Karsinomu Alt Tipleri .....	10
2.4.6. Meme Karsinomunun Moleküler Sınıflaması .....	15
2.4.7. Meme Karsinomunda Prognostik Faktörler .....	17
2.4.8. Meme Kanserinde Neoadjuvan Tedavi .....	25
2.4.9. Neoadjuvan Tedavi Sonrasında Histopatolojik Değerlendirme.....	26
2.5. Meme Kanseri ve TİL .....	28
2.5.1. Meme Kanserinde Tümör Mikroçevresi .....	28
2.5.2. Meme Kanserinde İmmün Disregülasyon .....	29
2.5.3. Tümörü İnfiltrate Eden Lenfositler .....	30
2.5.3.1. Neoadjuvan Tedavi Sonrası TİL'ler.....	31
2.5.3.2. Sitotoksik T Lenfositler .....	34
2.5.3.3. Regülatuar T Lenfositler .....	35
2.5.3.4. TİL'lerde CD8/FOXP3 Oranı .....	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	38
3.1. Olgu Seçimi ve Verilerin Toplanması.....	38

3.2. İmmunohistokimyasal Boyama.....	38
3.3. Histopatolojik Değerlendirme .....	39
3.4. İmmunohistokimyasal Değerlendirme .....	41
3.4.1. ER, PR, HER2 ve Ki67 .....	41
3.4.2. CD8 ve FOXP3 .....	41
3.5. İstatiksel Analiz.....	42
4. BULGULAR.....	43
4.1. Klinikopatolojik Özellikler.....	43
4.2. Histopatolojik Veriler.....	45
4.3. NAT Öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 Ölçümlerine İlişkin Veriler .....	47
4.4. NAT Sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 Ölçümlerine İlişkin Veriler .....	56
4.5. Ki-67 ile NAT Öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 Ölçümleri Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi.....	61
4.6. NAT Öncesi Ve NAT Sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 Ölçümleri Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi.....	61
4.7. Genel Sağkalım ve Hastalıksız Sağkalım Üzerine Değerlendirmeler.....	63
5. TARTIŞMA .....	65
6. SONUÇLAR .....	74
7. KAYNAKLAR .....	76

## KISALTMALAR

<b>AJCC</b>	: American Joint Committee on Cancer
<b>APC</b>	: Antigen-presenting Cell (Antijen Sunan Hücreler)
<b>AR</b>	: Androjen Reseptör
<b>BBA</b>	: Büyük Büyütme Alanı
<b>BRCA</b>	: Breast Cancer Gene
<b>CAP</b>	: College of American Pathologists
<b>CD</b>	: Cluster of Differentiation (Diferansiyasyon Kümesi)
<b>CK</b>	: Sitokeratin
<b>DKİS</b>	: Duktal karsinoma in situ
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>EGFR</b>	: Epidermal Growth Factor Receptor (Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü)
<b>EMA</b>	: Epitelyal Membran Antijen
<b>ER</b>	: Östrojen Reseptörü
<b>FISH</b>	: Floresan In Situ Hibridizasyon
<b>FOXP3</b>	: Forkhead Box P3
<b>GCDFP15</b>	: Gross Cystic Disease Fluid Protein 15
<b>GS</b>	: Genel Sağkalım
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen&Eozin
<b>HER2</b>	: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (İnsan Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü 2)
<b>HS</b>	: Hastalıksız Sağkalım
<b>IDO1</b>	: Indolamin 2,3-dioksigenaz 2
<b>İHK</b>	: İmmunohistokimya
<b>LVI</b>	: Lenfovasküler İnvazyon
<b>MHC</b>	: Major Histocompatibility Complex
<b>MKC</b>	: Meme Koruyucu Cerrahi
<b>MRM</b>	: Modifiye Radikal Mastektomi
<b>NAT</b>	: Neoadjuvan Tedavi
<b>NST</b>	: No Special Type

<b>pCR</b>	: Patolojik komplet yanıt
<b>pN</b>	: Patolojik Lenf Nodu Evresi
<b>PNİ</b>	: Perinöral İnvazyon
<b>PR</b>	: Progesteron Reseptörü
<b>pT</b>	: Patolojik Primer Tümör Evresi
<b>RCB</b>	: Rezidüel kanser yükü
<b>TDLÜ</b>	: Terminal Duktal Lobüler Ünite
<b>TİL</b>	: Tümörü İnfiltrate Eden Lenfositler
<b>TNMK</b>	: Triple Negatif Meme Karsinomu
<b>Treg</b>	: regülatuar T hücreleri
<b>VEGF</b>	: Vascular Endothelial Growth Factor

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1:</b> Memenin malign epitelyal tümörlerinin sınıflaması (DSÖ 2019).....	10
<b>Tablo 2:</b> DSÖ 2019 invaziv meme karsinomu, NST morfolojik paternleri.....	12
<b>Tablo 3:</b> İmmunohistokimyasal biyobelirteçlere dayalı moleküler sınıflama .....	16
<b>Tablo 4:</b> Meme karsinomlarında prognostik/prediktif faktörler .....	18
<b>Tablo 5:</b> Meme karsinomunda histolojik derecelendirme sistemi .....	19
<b>Tablo 6:</b> pTNM Patolojik Sınıflama .....	20
<b>Tablo 7:</b> TNM Klinik Sınıflama .....	21
<b>Tablo 8:</b> Meme kanserinde evreleme sistemi .....	23
<b>Tablo 9:</b> Tedaviye yanıtı sınıflandırmak için kullanılan farklı sistemler .....	27
<b>Tablo 10:</b> Meme kanserinde TİL'leri değerlendirmek için öneriler .....	31
<b>Tablo 11:</b> Meme kanserinde TİL'lerin değerlendirilmesi ve NAT sonrası rezidü hastalığa uyarlanması için öneriler (Uluslararası İmmüno-Onkoloji Çalışma Grubu) .....	33
<b>Tablo 12:</b> Çalışmamızda kullanılan antikorların dilüsyon oranları, pozitif kontrolleri, üretici firmaları ve antikor türleri.....	39
<b>Tablo 13:</b> Tedavi sonrası evrelemeye ilişkin dağılımlar .....	47
<b>Tablo 14:</b> NAT öncesi TİL değerlerine ilişkin değerlendirmeler .....	49
<b>Tablo 15:</b> NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerine ilişkin değerlendirmeler .....	55
<b>Tablo 16:</b> NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerine ilişkin değerlendirmeler .....	59
<b>Tablo 17:</b> NAT öncesine göre NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerinin değerlendirilmesi.....	61
<b>Tablo 18:</b> Histolojik derece ile NAT öncesine göre NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerinin fark değerlendirmeleri .....	62
<b>Tablo 19:</b> ypT evresi ile NAT öncesine göre NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerinin fark değerlendirmeleri .....	62
<b>Tablo 20:</b> Cox Regresyon analizine göre NAT öncesi Mortalite üzerine etkili faktörlerin değerlendirmeleri.....	63
<b>Tablo 21:</b> Cox Regresyon analizine göre NAT sonrası Mortalite üzerine etkili faktörlerin değerlendirmeleri.....	64



## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1:</b> Terminal duktal lobüler ünite (TDLÜ) histolojik görünüm .....	5
<b>Şekil 2:</b> 2020'de Kadınlarda meme kanserinin bölgelere özgü insidans ve mortalitesi (Global Cancer Statistics, 2020) .....	7
<b>Şeki 3:</b> Kadınlarda en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu, Türkiye Kanser İstatistikleri, Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 kişide) .....	8
<b>Şekil 4:</b> ‘Immune contexture’; tümör yatağı, tümör, invaziv sınır, tersiyer lenfoid yapılar ve tümör mikroçevresi.....	28
<b>Şekil 5:</b> Rezidü tümör yatağı şematik gösterim; Gri gölgeli yüzey; regresyon alanı; yeşil çizgi; rezidü tümör yatağı; mor noktalar: mononükleer inflamatuvar hücreler. 1A: rezidüel tümör yatağının ötesine uzanan regresyon alanı; 1B: üst üste binen tümör yatağı ve regresyon alanı.....	34
<b>Şekil 6:</b> FOXP3 ile kuvvetli nükleer boyanma gösteren invaziv meme karsinomu ..	35
<b>Şekil 7:</b> FOXP3+ etki mekanizması şematik gösterim.....	36
<b>Şekil 8:</b> Tümörü infiltre eden lenfositler %3, hafif .....	40
<b>Şekil 9:</b> Tümörü infiltre eden lenfositler %30, orta.....	40
<b>Şekil 10:</b> Tümörü infiltre eden lenfositler %80, yüksek.....	41
<b>Şekil 11:</b> Tümörü infiltre eden lenfositleri %75, yüksek olan olgunun H&E(A), CD8(B) ve FOXP3(C) immunohistokimyasal boyamaları .....	42
<b>Şekil 12:</b> Olguların yaş dağılımı .....	43
<b>Şekil 13:</b> Tüm olgularda Genel Sağkalım ve Hastalısız Sağkalım grafiği .....	45
<b>Şekil 14:</b> Olguların moleküler alt tiplere ve ER, PR ve HER 2 durumlarına göre dağılımı.....	46
<b>Şekil 15:</b> A: NAT sonrası Miller Payne skoru 1 olan olguya ait tru-cut biyopsi örneğinde TİL düzeyi %5, hafif; B: NAT sonrası Miller Payne skoru 3 olan olguya ait tru-cut biyopsi örneğinde TİL düzeyi %70, yüksek .....	48
<b>Şekil 16:</b> Patolojik komplet yanıt gösteren olguya ait tru-cut biyopsi örneğinde %60, yüksek TİL H&E(A), CD8(B) ve FOXP3(C) immunohistokimyasal boyamaları.....	51

- Şekil 17:** Histolojik derecesi 2 olan olguya ait tru-cut biyopsi örneğinde %20, orta TİL H&E(A), CD8(B) ve FOXP3(C) immunohistokimyasal boyamaları.....52
- Şekil 18:** Histolojik derecesi 3 olan olguya ait tru-cut biyopsi örneğinde %50, yüksek TİL H&E(A), CD8(B) ve FOXP3(C) immunohistokimyasal boyamaları.....52
- Şekil 19:** Histolojik derecesi 3 olan olguya ait rezeksiyon materyalinde %60, yüksek TİL H&E(A), CD8(B) immunohistokimyasal boyamaları.....58
- Şekil 20:** Histolojik derecesi 1 olan olguya ait rezeksiyon materyalinde %5, hafif TİL H&E(A), CD8(B) immunohistokimyasal boyamaları .....58



## ÖZET

**Amaç:** Meme kanserinde tümörü infiltre eden lenfositler (TİL) son yıllarda prognostik bir belirteç olarak önem kazanmaktadır. Literatürde neoadjuvan tedavi (NAT) sonrası rezidü tümörde TİL'lere yönelik çalışma sayısı oldukça azdır. Bu çalışmada NAT uygulanan meme karsinomu olgularının NAT öncesi ve sonrası tümör dokularında TİL'leri hem morfolojik olarak hem de CD8 ve FOXP3 immunohistokimyasal boyaları ile değerlendirdikten sonra tedavi yanıtına etkisini, meme kanserinin bilinen prognostik faktörleri ile ilişkisini, genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Bölümü arşivinden neoadjuvan tedavi uygulanan 105 meme kanseri vakasına ait tedavi öncesi biyopsi ve tedavi sonrası rezeksiyon materyalleri değerlendirmeye alınmıştır. Bu vakalara ait biyopsi ve rezeksiyon materyallerine CD8 ve FOXP3 immunohistokimyasal boyaları uygulanmış ve değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Tedavi yanıtı patolojik komplet yanıt (pCR) olan olguların NAT öncesi TİL değeri, tedavi yanıtı non-pCR olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,004$ ;  $p<0,01$ ). NAT öncesi TİL düzeyi şiddetli olan olguların Miller Payne skoru, TİL düzeyi hafif olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,022$ ;  $p<0,05$ ). Tedavi yanıtı pCR olan olguların NAT öncesi CD8 değeri, tedavi yanıtı non-pCR olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,019$ ;  $p<0,05$ ). Histolojik derecesi 2 olan olguların NAT öncesi TİL değeri, derecesi 3 olanlara göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,022$ ;  $p<0,05$ ). Histolojik derecesi 2 olan olguların NAT öncesi CD8/FOXP3 değeri, derecesi 3 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,018$ ;  $p<0,05$ ). Histolojik derecesi 1 olan olguların NAT sonrası CD8 değeri, 3 olan olgulara göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,023$ ;  $p<0,05$ ). ypT evresi Tis olan olguların NAT öncesi TİL ve CD8 değerleri, ypT evresi T2 ve T3+ T4 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,017$ ;  $p=0,001$ ;  $p<0,05$ ,  $p=0,014$ ;  $p=0,001$ ;  $p<0,05$ ).ypT evresi T1 olan olguların NAT öncesi FOXP3 değeri, ypT evresi T3+ T4

olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,008$ ;  $p<0,01$ ). NAT öncesine göre NAT sonrası CD8/FOXP3 değerindeki artış, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ). Genel sağkalım ve hastalısız sağkalım ile NAT öncesi ve sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

**Sonuç:** Bu çalışmada tedavi öncesi yüksek TİL ve CD8+TİL varlığının neoadjuvan tedaviye patolojik tam yanıtla ilişkili olduğu saptanmıştır. NAT öncesi ve sonrası TİL, CD8, FOXP3, CD8/FOXP3 oranı ve genel sağkalım ile hastalısız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

**Anahtar kelimeler:** meme, neoadjuvan, TİL, CD8, FOXP3, sağkalım

## ABSTRACT

### COMPARISON OF CD8/FOXP3 RATIO IN TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES BEFORE AND AFTER NEOADJUVANT TREATMENT IN BREAST CARCINOMA, CORRELATION WITH TREATMENT RESPONSE AND PROGNOSTIC FACTORS

**Aim:** Tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) in breast cancer have gained importance as a prognostic marker in recent years. In the literature, the number of studies on TILs in residual tumor after neoadjuvant therapy (NAT) is very few. In this study, we aimed to investigate the effect of TIL on the treatment response, its relationship with known prognostic factors of breast cancer, and its effects on overall survival and disease-free survival, after evaluating TILs both morphologically and with CD8 and FOXP3 immunohistochemical stains in pre- and post-NAT tumor tissues of breast carcinoma patients who underwent NAT.

**Materials and Methods:** Pre-treatment biopsy and post-treatment resection materials of 105 breast cancer cases who underwent neoadjuvant treatment from the archive of Health Sciences University Umraniye Training and Research Hospital Medical Pathology Department were evaluated. CD8 and FOXP3 immunohistochemical stains were applied to biopsy and resection materials of these cases and evaluated.

**Results:** TIL value before NAT was found to be statistically significantly higher in cases with a pathological complete response to treatment (pCR) than in cases with non-pCR ( $p=0.004$ ;  $p<0.01$ ). The Miller Payne score of cases with severe TIL before NAT was found to be significantly higher than those with mild TIL ( $p=0.022$ ;  $p<0.05$ ). The pre-NAT CD8 value of the cases with treatment response pCR was found to be statistically significantly higher than those with non-pCR treatment response ( $p=0.019$ ;  $p<0.05$ ). TIL values before NAT in cases with histological grade 2 were found to be significantly lower than those with grade 3 ( $p=0.022$ ;  $p<0.05$ ). Pre-NAT CD8/FOXP3 values of cases with histological grade 2 were found to be significantly higher than those with grade 3 ( $p=0.018$ ;  $p<0.05$ ). The CD8 value after NAT in the

cases with histological grade 1 was found to be significantly lower than the cases with 3 ( $p=0.023$ ;  $p<0.05$ ). TIL and CD8 values before NAT in patients with ypT stage Tis were found to be significantly higher than those with ypT stage T2 and T3+ T4 ( $p=0.017$ ;  $p=0.001$ ;  $p<0.05$ ,  $p=0.014$ ;  $p=0.001$ ;  $p<0.05$ ). The FOXP3 value before NAT in patients with ypT stage T1 was found to be significantly higher than in patients with ypT stage T3+ T4 ( $p=0.008$ ;  $p<0.01$ ). The increase in CD8/FOXP3 values after NAT compared to before NAT was statistically significant ( $p=0.001$ ;  $p<0.01$ ). There is no statistically significant difference between overall survival and disease-free survival and the ratio of TIL, CD8, FOXP3, and CD8/FOXP3 before and after NAT ( $p>0.05$ )

**Conclusion:** In this study, it was determined that the presence of elevated TIL and CD8+TIL before treatment was associated with pathological complete response to neoadjuvant therapy. No statistically significant correlation was found between TIL, CD8, FOXP3, CD8/FOXP3 ratio and overall survival and disease-free survival before and after NAT.

**Keywords:** breast, neoadjuvant, TIL, CD8, FOXP3, survival

# 1. GİRİŞ

Meme kanseri, dünya genelinde kadınlarda görülen en sık kanser tipidir. Kadınlarda görülen kanserlerin yaklaşık % 24.5'i meme kanseridir (1). Ülkemizde de kadınlarda meme kanseri insidansı 45/100.000'dir (2). Meme karsinomları çeşitli morfolojik, moleküler özellikleri ile oldukça heterojen bir hastalık grubudur (3).

Meme kanseri yönetiminde prognostik faktörlerin belirlenmesi; klinik olarak benzer prognoza sahip olan hastaların gruplandırılması, sistemik tedavi ya da neoadjuvan tedavi alacak hastaların belirlenmesinde oldukça önemlidir (4). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2019 Meme Tümörleri kitabında yaş, histolojik derece, histolojik tip, tümör evresi, cerrahi sınırlar, lenfovasküler invazyon, hormon reseptör ve HER2 durumu, neoadjuvan tedaviye yanıtın değerlendirilmesi, gen ekspresyon profilleri gibi önemli prognostik faktörlere ek olarak tümörü infiltre eden lenfositlerin (TİL) değerlendirmesinin de prognostik bir belirteç olarak önem kazandığı vurgulanmaktadır (4). Pek çok çalışma, tümör mikroçevresindeki TİL'lerin, özellikle östrojen reseptörü (ER)-negatif ve oldukça proliferatif ER-pozitif kanserler için prognostik olduğunu göstermiştir (5-7). Yüksek TİL varlığı aynı zamanda neoadjuvan kemoterapiden sonra daha yüksek patolojik tam yanıt (pCR) oranları ile ilişkili bulunmuştur (5,6,8,11,12).

Neoadjuvan tedavi (NAT), bir tümörün kesin cerrahi olarak çıkarılmasından önce sistemik ajanlarla tedavi edilmesi demektir. Başlangıçta inflamatuvar karsinom ve ameliyat edilemeyen lokal ileri meme kanserleri için standart bir tedavi olarak kullanılsa da son yıllarda preoperatif sistemik tedavi uygulaması meme koruyucu cerrahi oranlarını arttırdığından operabl meme kanserlerinde de uygulanmakta ve günlük patoloji pratiğinde sıklıkla karşımıza çıkmaktadır (13,14). Literatürde NAT sonrası rezidüel hastalıkta yüksek TİL varlığının daha iyi sağkalım ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (8-10).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda meme kanserinde TİL'lerin prognoza etkileri; aktive edici sitotoksik CD8+T lenfositler ve inhibe edici FOXP3+ regülatuar lenfositler (Treg) olarak alt gruplara ayrılarak araştırılmaktadır (15,16). Sitotoksik CD8+T lenfositleri, kanser hücrelerini seçici olarak tanır ve yok etme yeteneğine sahiptir. Treg hücrelerinin bir belirteci olan FOXP3, Treg hücre oluşumunu ve işlevini düzenleyen bir gendir. Treg hücreleri, daha sonra birlikte uyarıcı proteinlerin antijen

sunan hücreler üzerindeki işlevini azaltan CD8+T lenfositlerini inaktive eder. Başka bir deyişle, Treg hücreleri, kanser hücrelerine yanıt olarak sitotoksik CD8+T lenfositlerin indüksiyonunu baskılar. Bu nedenle tümörü infiltre eden lenfositlerde CD8/FOXP3 oranının, bağışıklık fonksiyonunu izlemek için daha hassas bir gösterge olabileceği düşünülmektedir (17).

Bu çalışmada amacımız neoadjuvan tedavi görmüş meme kanseri olgularında TİL'leri CD8+ sitotoksik T lenfositler ve FOXP3+ regülatuar lenfositler olarak alt tiplendirilerek neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrasında TİL seviyelerinin ve ayrıca TİL'lerde CD8/FOXP3 oranının tedavi yanıtına etkisini, diğer prognostik faktörlerle ilişkisini ve sağkalıma etkisini saptamaktır.





## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. MEME EMBRİYOLOJİSİ

Fetal gelişimin 5. ve 6. haftalarında, her iki kasık ve aksilla arasında ektodermal ilkel süt çizgisi olarak adlandırılan kalınlaşmış ektoderm bandı gelişir. Fetal gelişim devam ettikçe torasik bölgede kalan küçük bir kısım dışındaki alanlar geriler. Bu gerileme gerçekleşmediği takdirde ilkel süt çizgisi boyunca herhangi bir lokalizasyonda ektopik meme dokusu veya aksesuar meme başı oluşabilir (18).

Meme gelişiminin ilk aşamaları büyük ölçüde seks steroid hormonlarından bağımsızdır. Gelişmekte olan meme dokusu, gestasyonun 15. haftasından sonra öncelikle mezenkime etki eden testosterona karşı geçici bir duyarlılık gösterir. Testosteronun etkisi altında, mezenkim göğüs duvarı üzerinde bir epitelyal stalk etrafında yoğunlaşarak meme tomurcuğunu oluşturur. Solid epitelyal kordonlar mezenkim içinde gelişmeye devam ederek meme bezinin lob ve segmentlerini oluştururlar. Fetal papiller dermis gelişmekte olan epitelyal kordonları sararak meme duktus ve lobüllerinin çevresinde vaskülarize fibröz bağ dokuyu meydana getirir. Kollajen açısından daha zengin olan retiküler dermis de meme parankimini cilde bağlayan Cooper ligamanının oluşturmak üzere meme içine uzanır. Mezenkimin bir kısmı, 20. ve 32. haftalar arasında kollajen stroma içinde yağ dokuya diferansiye olur. Gestasyonun son 8 haftası boyunca epitelyal kordonlar kanalize olarak ve dallanmalar yaparak lobüloalveolar paterni meydana getirir. Süt kanallarının birleştiği yerde epidermiste bir çöküntü, meme çukuru oluşur. Meme başı, doğumda meme çukurunun evajinasyonu ile oluşur.

Gestasyonun son birkaç haftasında fetal meme glandları maternal ve plasental steroid hormonlarının etkisinde kalır. Doğumla birlikte, maternal ve plasental seks steroidlerinin kesilmesi prolaktin salgılanmasına, bu da kolostrum sekresyonuna neden olabilir. Yenidoğan döneminde hem kız hem erkek bebeklerde palpe edilebilen bir meme dokusu mevcuttur. Hayatın ilk bir ayında maternal ve plasental seks steroid hormonları ve prolaktin serum seviyeleri düştükçe salgı aktivitesinin sona ermesi ile meme bezi inaktif hale gelir. Bu aşamadan ergenliğe kadar meme, belirgin alveolar diferansiyasyon göstermeden bir miktar dallanma sergileyen laktiferöz kanallardan oluşur (19).

## 2.2. MEME ANATOMİSİ

Erişkin kadın meme dokusu; dikey ekseninde ikinci kaburga ile altıncı kaburga kemiği arasında ve yatay ekseninde sternum kenarından mid-aksiller çizgiye kadar pektoralis majör kasının üzerinde yer alır. Meme dokusu üst-dış kadrandan aksillaya uzanım gösterebilir (Spence'in aksiller kuyruğu). Önde yüzeysel pektoral fasya arkada derin pektoral fasya olmak üzere meme fasiyal dokularla çevrelenmiştir. Bu iki fasya tabakası, memenin üst yarısında daha fazla sayıda bulunan fibröz bantlar (Cooper ligamenti) ile birbirine bağlanır. Meme derin sınırı ile altta yatan iskelet kasının fasyası arasında gevşek bağ dokusuyla dolu bir “boşluk” bulunur. Bu boşluk, memenin altta yatan pektoral fasya üzerinde bir dereceye kadar hareket etmesini sağlar. Memenin glandüler dokusu bazen pektoral fasya ve kas dokusuna uzanım gösterebilir. Bu durumda; meme dokusunun mümkün olduğunca çoğunun çıkarılmaya çalışıldığı modifiye radikal mastektomilerde geride meme dokusu kalabilmektedir (20).

Memenin şekli ve boyutu sadece genetik ve irksal faktörlere değil, aynı zamanda bireyin yaşına, diyetine, paritesine ve menopoz durumuna da bağlıdır. Normal yetişkin memesi ortalama 200 gr ağırlığında olup; laktasyonda 500 gr ağırlığına ulaşabilmektedir.

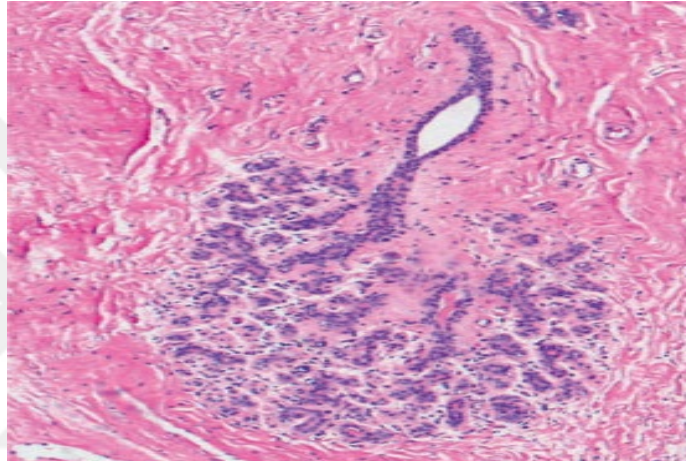
Meme başı çevreleyen areoladan yüksekte ve santralde bulunur. Hem meme başı hem de areola pembe, açık kahverengi veya daha koyu renklidir (20).

Memenin ana arteriyel beslenmesi; aksiller, internal torasik ve bazı interkostal arterlerden sağlanır. Venöz dönüş ise ilgili arterlere eşlik eden damarlar yoluyla aksiller, internal torasik ve interkostal venlerle sağlanır. Memenin innervasyonu ise 4. ve 6. interkostal sinirlerin anterior ve lateral dalları tarafından sağlanır (21).

Memenin lenfatik drenajı; kutanöz, akseiller, internal torasik ve posterior interkostal olmak üzere 4 ana lenfatik sağlar (19). Memenin lenfatik drenajının %75'inden fazlası aksiller lenf nodlarına olur. Burada pektoral (anterior), subskapular (posterior), santral ve apikal olarak gruplandırılmış 20-40 düğüm vardır. Cerrahi olarak da lenf nodları pektoralis minör kası ile ilişkili olarak tanımlanır. Pektoralis minor kasının altında bulunanlar seviye 1, kasın arkasında bulunanlar seviye 2, pektoralis minörün üst sınırı ile klavikulanın alt sınırı arasında bulunanlar ise seviye 3 lenf nodlarıdır (21).

### 2.3. MEME HİSTOLOJİSİ

Erişkin kadın memesi fibroadipöz stroma içine gömülü çok sayıda duktus, duktulüs ve lobüler asiner birimlerden oluşur (1). Memenin en önemli morfolojik ve fonksiyonel biriminin 2 ana komponenti terminal duktal lobüler ünite (TDLÜ) ve büyük duktus sistemidir. Çok sayıda asiniden oluşan lobül ve terminal duktus birlikte TDLÜ olarak adlandırılıp memenin sekretuar bölümünü temsil eder. TDLÜ sırasıyla subsegmental duktus, segmental duktus ve laktiferöz duktus ile ilişkilidir (22). Normal meme histolojisi Şekil 1’ de gösterilmektedir.



**Şekil 1:** Terminal duktal lobüler ünite (TDLÜ) histolojik görünüm (Rosai and Ackerman’s Surgical Pathology)

Memenin tüm duktal-lobüler sistemi, içte sekretuar ve absorptif işlevlere sahip özel bir epitel hücre tabakası ile ve dışta myoepitelyal hücre tabakası ile çevrilidir. Epitelyal hücreler soluk eozinofilik sitoplazmalı ve uniform oval nükleusa sahip kübik-kolumnar özelliktedir. Myoepitelyal hücreler ise; görünüşte zorlukla ayırt edilebilen, basık hücrelerden bol miktarda berrak sitoplazmaya sahip belirgin epitelooid hücrelere kadar değişen morfolojide olabilir. Bazı durumlarda, myoepitelyal hücreler, iğsi hücre şekli ve düz kas hücrelerini anımsatan yoğun, eozinofilik sitoplazmaya sahip myoid bir görünümde (19). Bu iki hücre tipi, ayırt edici immünohistokimyasal özelliklere sahiptir. Epitel hücreleri için en güvenilir belirteçler, çeşitli sitokeratinler, epitelyal membran antijeni (EMA), mammaglobin, GCDFP-15 ve GATA3'tür. Myoepitelyal hücreler, yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratinler (HMWCK), düz kas aktin (SMA), kalponin, p63 ile immunreaktivite gösterirler. EMA, aktif sekretuar

hücrelerin apikal bölgesinde pozitif boyanma gösterir, ancak diğer epitel hücrelerinde soluk veya negatif olabilir. Pankeratin hem epitelial hem de myoepitelial hücreler ile reaksiyona girer. Epitel hücreleri; Sitokeratin (CK) 8, 18 ve 19 ekspresyonu gösterirler.

Tüm glandüler sistem laminin ve tip IV kollajenden oluşan bir bazal membran ile çevrilidir (22). Lobüller asini, değişen sayıda lenfosit, plazma hücresi, makrofaj ve mast hücresi içeren gevşek, fibrovasküler intralobüller bir stroma içinde bulunur. Bu özelleşmiş intralobüller stroma, çevreleyen daha yoğun, daha kollajenize, hücreliliği daha az olan interlobüller stroma ve stromal adipoz dokudan keskin bir şekilde ayrılır (19). Meme dokusu yaşamın farklı evrelerinde hormonal etkiler sonucunda çok çeşitli “normal” görünüm sergileyebilir. Prepubertal olgunlaşmamış meme dokusunda hücreli proliferasyon büyük ölçüde epitelial hücrelerde sınırlı iken, hamilelik ve emzirme döneminde bütün hücre tiplerinde yüksek proliferatif aktivasyon vardır. Postmenapozal dönemde hem epitelial hem stromal komponentte belirgin involusyon izlenir (22).

Meme başı oldukça karakteristik mikroskopik bir görünüme sahiptir. Merkezi ve periferik gruplar olacak şekilde yüzeye açılan büyük toplama kanallarına ek olarak, saç köklerinden bağımsız olarak açılan çok sayıda yağ bezi ve erektil düz kasın bulunduğu yoğun bir fibröz stroması vardır. Montgomery tüberkülleri, hamilelik sırasında belirgin hale gelen ve sayıları genellikle 10 ile 20 arasında değişen areolar çıkıntılardır; mikroskopik olarak, bir laktiferöz duktusun yağ bezleri ile birleşmesiyle oluşurlar. Meme başı ve areolanın epidermisi, keratinize çok katlı skuamöz epitel ile döşeli olup; Toker hücreleri olarak bilinen berrak hücreler içerebilir (22).

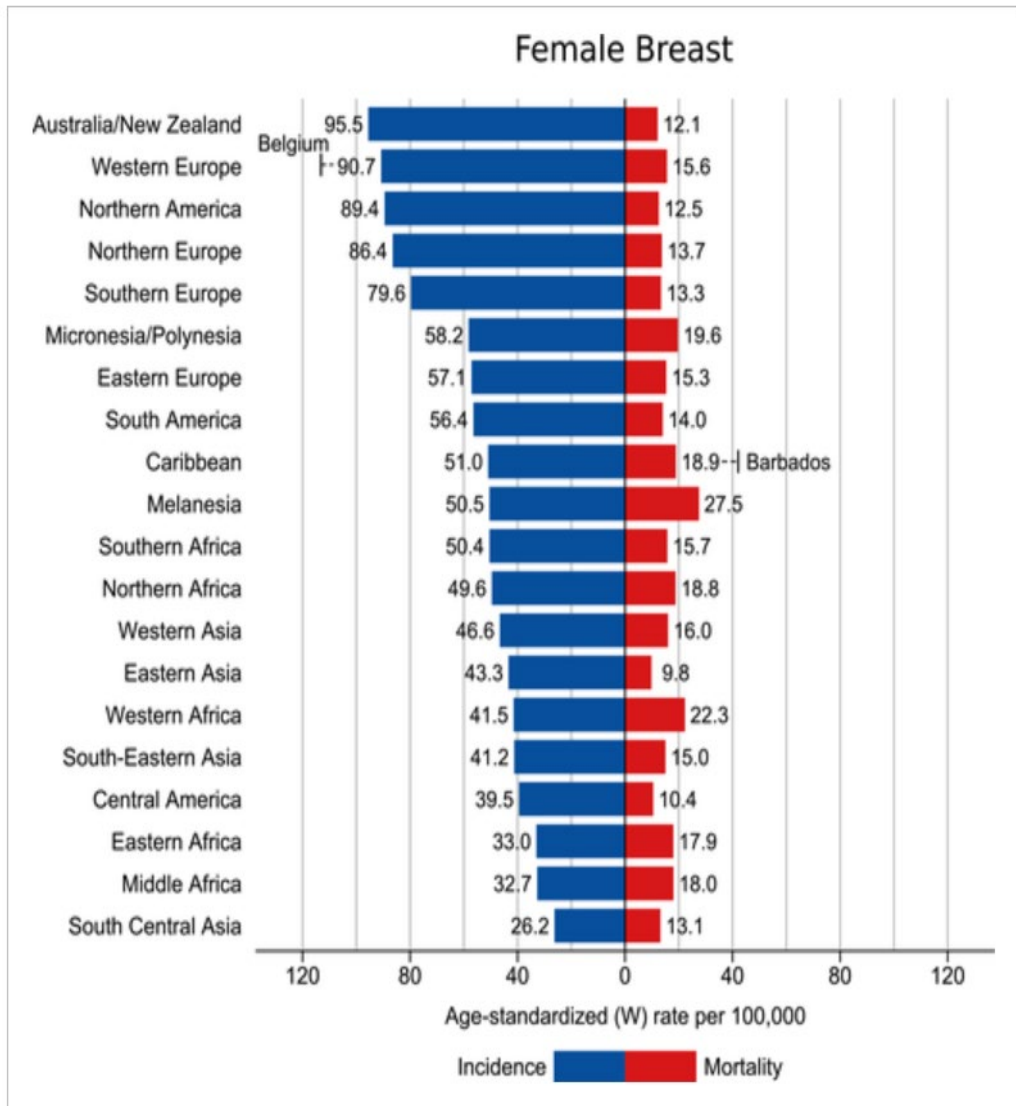
## **2.4. MEME KANSERİ**

### **2.4.1. Epidemiyoloji**

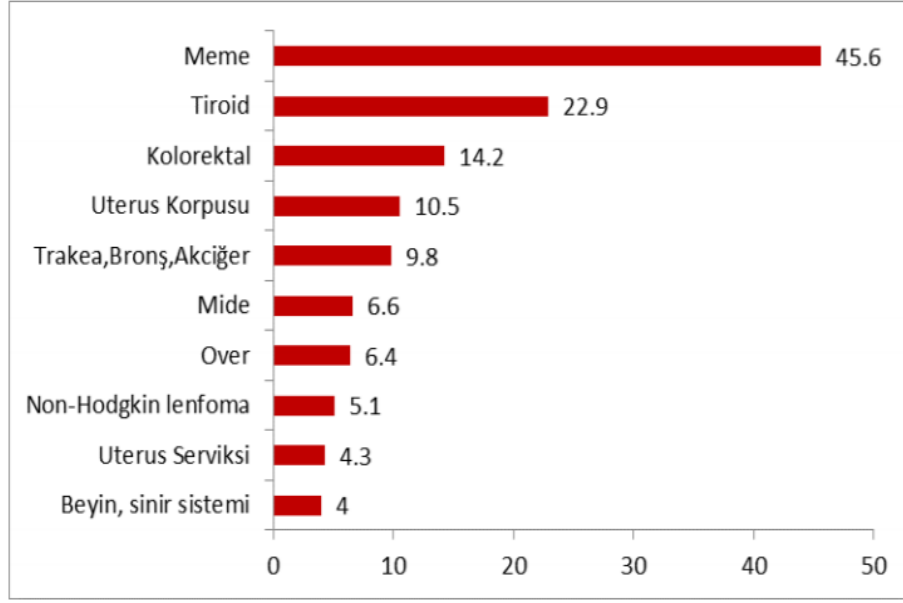
Meme kanseri, dünya genelinde kadınlarda görülen en sık kanser tipidir. Kadınlarda görülen kanserlerin yaklaşık % 24.5'i meme kanseridir. 2020 yılında 2.3 milyon yeni vaka ile tüm kanser vakalarının % 11.7 sini oluşturmuştur. Yine 2020 yılında meme kanseri nedeniyle 685.000 ölümün olduğu tahmin edilmektedir. GLOBOCAN 2020 verilerine göre dünyanın farklı bölgelerinde meme kanseri insidans ve mortalite oranları Şekil 2’de gösterilmiştir (1). İnvaziv meme kanseri insidansı son yıllarda düşük-orta gelir seviyesine sahip ülkelerde artma eğilimindedir.

Amerika, Kanada, İngiltere, Fransa ve Avustralya gibi gelişmiş ülkelerde insidans oranları 2000'li yılların başlarında düşmüştür. Bunun nedeni, postmenopozal hormon replasman tedavisinin meme kanseri riskini artırdığının anlaşılması ile birlikte bu tedavinin kullanımının azalması olarak bildirilmektedir (4).

Ülkemizde de meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser tipidir. Türkiye’de kadınlarda meme kanseri insidansı 45/100.000’dir. 2016 yılı Türkiye Kanser İstatistikleri verilerine göre kadınlarda en sık görülen on kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları Şekil 3’te gösterilmiştir (2).



**Şekil 2:** 2020'de Kadınlarda meme kanserinin bölgelere özgü insidans ve mortalitesi (Global Cancer Statistics, 2020) (1)



**Şekil 3:** Kadınlarda en sık görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu, Türkiye Kanser istatistikleri, Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide) (2)

#### 2.4.2. Etyoloji

En önemli risk faktörleri cinsiyet, yaş, ömür boyu östrojene maruziyet, genetik ve daha az ölçüde yaşam tarzı ve çevresel faktörlerdir (23). Çok sayıda çalışmada; hayvansal yağ ve proteinler açısından zengin yüksek kalorili bir diyet, fiziksel egzersiz eksikliği ve obezite, ilk gebeliğin ileri yaşta olması, daha düşük parite ve emzirme süresinin kısalması ile karakterize Batı tipi yaşam tarzının meme kanseri riskini arttırdığı gösterilmiştir. Hastalık; erken menarşi olan, doğum yapmamış, ilk doğumunu daha ileri yaşta yapmış kadınlar arasında daha sık görülür. Eksojen hormon kullanımı ve alkol tüketimi de meme kanseri ile ilişkilendirilmiştir (22).

Birinci derece akrabası meme kanseri olan kadınlarda risk genel popülasyona göre 2 veya 3 kat daha fazladır (24). Tüm meme kanserlerinin yaklaşık % 5-10' u aileseldir. Yaşam boyu meme kanseri gelişim riskini arttıran iki adet yüksek penetranslı gen keşfedilmiştir. Bunlar, kromozom 17q21'de bulunan *Breast Cancer Gene 1* (BRCA1) ve 13q12.3 kromozomunda bulunan *Breast Cancer Gene 2* (BRCA2) genleridir. Hem BRCA1 hem de BRCA2, homolog rekombinasyon yoluyla DNA çift sarmal kırılmalarının doğru onarımı için gereklidir. Mutasyona sahip

bireylerde meme kanserinin 70 yaşına kadar % 70-% 80'e kadar çıktığı tahmin edilmektedir. BRCA1 ve BRCA2'ye ek olarak kalıtsal meme kanseri, Lynch sendromu (MLH1), Li – Fraumeni sendromu (TP53), ataksi-telenjiektazi sendromu (ATM) ve Cowden sendromu (PTEN) gibi birden fazla kanser sendromunda da ortaya çıkabilir (22).

### 2.4.3. Patogenez

Meme kanserinin patogenezinde hormon reseptör durumuna ve morfolojisine göre farklı modeller tariflenmiştir. Östrojen reseptörü (ER)-pozitif modele göre, flat epitelyal atipi, atipik duktal hiperplazi ve ER-pozitif duktal karsinoma in situ (DKİS) invaziv ve metastatik meme kanserinin öncüleridir. ER-negatif model ise, ER-negatif DKİS ve mikroglandüler adenozisi ER-negatif kanserlerinin öncüleri olarak tanır.

Moleküler düzeyde, meme kanserinin hormon reseptörleri ile ilişkili olarak iki farklı moleküler yoldan ilerlediğini düşündüren kanıtlar vardır. Moleküler veriler, ER-pozitif ve ER-negatif meme kanserlerinin temelde farklı hastalıklar olduğunu göstermektedir. İlk yolak (ER-pozitif yolak), 1q kazanımı, 16q kaybı, 17q12 amplifikasyonu ağırlıklı olarak ER-pozitif fenotip ile ilişkilidir. Bu lezyonlar hormon reseptörlerini eksprese eder, *Human Epidermal growth factor Receptor 2* (HER2) overekspresyonu ve bazal marker ekspresyonu göstermezler. Bu yoldan gelişen lezyonların histolojik derecesi ağırlıklı olarak düşük-orta olup, yaklaşık %9 oranında yüksek dereceli fenotipte olabilirler. İkinci yolak olan ER-negatif yolak, en sık 13q kaybı, 11q13 kromozomal bölge kazancı, 17q12 amplifikasyonu ile hücre proliferasyonu ve hücre döngüsü süreçleri ile ilişkili genleri içerir. Bu yoldaki lezyonlar daha çok orta ve yüksek derecelidir (4).

### 2.4.4. Klinik Özellikler

Muayenede palpe edilebilen kitle meme kanserinin en sık klinik bulgusudur. Memede boy ve şekil farklılıkları, ciltte kızarıklık, ödem ve retraksiyon, meme başı akıntısı da diğer önemli klinik bulgulardır. İnflamatuvar meme kanserinde ciltte yaygın eritem ve ödem görülebilir (4).

Meme kanseri tarama programlarının uygulandığı toplumlarda; meme kanseri

tanısında sıklıkla klinik bulgu olmadan mammografide spiküle kitle tespit edilmesi önemlidir. Ülkemizde Meme Kanseri Tarama Programı Ulusal Standartları'na göre yüksek risk grubunda olmayan kadınlarda taramaya 40 yaşında başlanması ve taramanın 40-69 yaş arasında ve 2 yılda bir yapılması önerilmektedir (25). Ultrason ile değerlendirme, mammografide dens meme dokusu izlenen bireylerde ve 40 yaşın altında yüksek risk grubunda olmayan bireylerde görüntüleme yöntemi olarak kullanılabilir. Mammografi ve ultrasonun birlikte kullanıldığı durumlarda yanlış negatiflik oranı oldukça düşüktür (4).

#### 2.4.5. Morfolojik Sınıflama ve İnvaziv Meme Karsinomu Alt Tipleri

İnvaziv meme karsinomları; memenin glandüler elemanlarından gelişen malign epitelyal tümörlerdir. 2019 yılında yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Meme Tümörleri kitabındaki memenin epitelyal tümörleri sınıflaması Tablo 1' de gösterilmiştir.

**Tablo 1:** Memenin epitelyal tümörlerinin sınıflaması (DSÖ 2019)

<b>EPİTELYAL TÜMÖRLER</b>
<b><i>Benign Epitelyal Proliferasyonlar</i></b>
Olağan duktal hiperplazi
Kolumnar hücreli lezyonlar, flat epitelyal atipi
Atipik Duktal Hiperplazi
<b><i>Adenozis ve Benign Sklerozan Lezyonlar</i></b>
Sklerozan adenozis
Apokrin adenozis ve adenoma
Mikroglandüler adenozis
Radiyal skar/ kompleks sklerozan lezyon
<b><i>Adenomlar</i></b>
Tübüler adeonom
Laktasyon adenoma
Duktal adenoma
<b><i>Epitelyal-Myoepitelyal Tümörler</i></b>
Pleomorfik adenoma
Adenomyoepitelyoma
Malign adenomyoepitelyoma
<b><i>Papiller Neoplaziler</i></b>
İntraduktal papillom
Papiller duktal karsinoma in situ



Enkapsüle papiller karsinom
Solid papiller karsinom (in situ ve invaziv)
İnvaziv papiller karsinom
<b><i>Non-invaziv Lobüler Neoplazi</i></b>
Atipik lobüler hiperplazi
Lobüler karsinoma in situ
<b><i>Duktal Karsinoma İn situ</i></b>
<b><i>İnvaziv Meme Karsinomu</i></b>
İnvaziv meme karsinomu, spesifiye edilemeyen tip
Mikroinvaziv karsinom
İnvaziv lobüler karsinom
Tübüler karsinom
Kribriform karsinom
Müsinöz karsinom
Müsinöz kistadenokarsinom
İnvaziv mikropapiller karsinom
Apokrin diferansiyasyon gösteren karsinom
Metaplastik karsinom
<b><i>Nadir ve tükrük bezi tipi tümörler</i></b>
Asinik hücreli karsinom
Adenoid kistik karsinom
Sekretuar karsinom
Mukoepidermoid karsinom
Polimorfoz adenokarsinom
Uzun hücreli karsinom, revers polariteli
<b><i>Nöroendokrin neoplaziler</i></b>
Nöroendokrin tümör
Nöroendokrin karsinom

***İnvaziv Meme Karsinomu, spesifiye edilemeyen tip (NST):*** Morfolojik olarak spesifik histolojik bir alt tip grubunda sınıflandırılmayan heterojen bir tümör grubudur. Meme karsinomlarının yaklaşık% 75'ini oluşturan en büyük kötü huylu meme tümörleri grubudur. Makroskopik olarak genellikle solid, kirli beyaz renkli infiltratif ya da itici karakterde sınırlara sahip tümörlerdir (4). Mikroskopik olarak; tümör hücreleri kordlar, kümeler ve trabeküler paterne sahip olabilir. Bazı olgularda tek hücre paterni ya da targetoid patern izlenebilir; ancak bu olgular lobüler karsinomun sitomorfolojik özelliklerini göstermezler. Vakaların yaklaşık %80' ine DKİS eşlik etmektedir. %10 ile %90 arasındaki oranlarda NST içeren vakalar, “mikst tip karsinom” olarak adlandırmaktadır (4).

Önceki sınıflandırmalarda invaziv karsinom alt tipi olarak kabul edilen medüller karsinom, onkositik karsinom, lipitten zengin karsinom, glikojenden zengin şeffaf hücreli karsinom ve sebace karsinom DSÖ 2019 sınıflamasında invaziv meme karsinomun morfolojik paternleri olarak kabul edilmiştir ve invaziv meme karsinomu, NST başlığı altında anlatılmaktadır. İnvaziv meme karsinomu, NST morfolojik paternleri Tablo 2’ de gösterilmiştir.

**Tablo 2:** DSÖ 2019 invaziv meme karsinomu, NST morfolojik paternleri

- Medüller patern
- Nöroendokrin diferansiyasyon gösteren invaziv karsinom
- Osteoklast benzeri stromal dev hücreler içeren karsinom
- Pleomorfik patern
- Koryokarsinomatöz patern
- Melanositik patern
- Onkositik patern
- Lipidden zengin patern
- Glikojenden zengin patern
- Sebaceöz patern

Daha önce medüller karsinom olarak tanımlanan kanserler, yüksek histolojik dereceli, glandüler yapı içermeyen sinsityal yapıya sahip, belirgin TİL içeren, nekrozun izlenmediği özel bir iyi sınırlı meme kanseri türü olarak kabul edilirdi. Bu tümörler çoğunlukla hormon reseptörleri (ER ve PR) ve HER2 için negatif olup CK5 / 6, CK14, EGFR ve p53 gibi değişken şekilde bazal belirteçleri ifade ederler. Medüller özellikler gösteren invaziv karsinom bazal benzeri moleküler profillere sahip karsinomlar ve BRCA1 mutasyonlarıyla ilişkili karsinomlar ile örtüşmektedir. Ek olarak, yüksek dereceli meme kanserlerinde TİL'lerin prognostik öneminin keşfi bunların daha iyi prognozlu olmasını açıkladığı düşünülmektedir. Bu nedenle DSÖ 2019 sınıflamasında artık medüller paternli karsinomların, farklı bir morfolojik alt tipten ziyade TİL açısından zengin invaziv meme karsinomu spektrumunun bir ucunu temsil ettiğini düşünmekte ve “medüller paternli invaziv meme karsinomu-spesifiye edilemeyen tip” teriminin kullanılması önerilmektedir (4).

**Lobüler karsinom:** Tüm meme karsinomları içinde % 5-15 görülme sıklığı ile en sık görülen spesifik tiptir. Diğer kanser türlerine göre aynı memede multisentrik olma olasılığı daha yüksektir. Mikroskopik olarak klasik invaziv lobüler karsinom; kollajen fasikülleri içinde kohezyonunu kaybetmiş tek sıralı kordonlar ya da tek tek dağılmış şekilde yapılanma gösterir. Solid ve alveolar paternler de izlenebilir. Neoplastik hücreler yuvarlak oval şekilli olup intrasitoplazmik müsin içerebilir (26). Pleomorfik lobüler karsinom; yüksek derecede pleomorfizm gösterir ve klasik lobüler karsinomdan daha yüksek mitotik aktiviteye sahiptir (4). Olguların % 85'i E-kaderin ile ekspresyon kaybı gösterip ER pozitifdir. HER2 amplifikasyonu oldukça nadirdir (26).

**Tübüler karsinom:** Morfolojik görünümü ve iyi prognozlu olması nedeniyle özel bir tür invaziv karsinom olarak kabul edilmektedir (20). İnvaziv meme karsinomlarının %1.6 kadarını oluşturup daha çok postmenapozal dönemde görülür. Tümörün %90 dan fazlası tek sıralı neoplastik epitelle döşeli tübüler ve glandüler yapılardan oluşmaktadır. Yaygın olarak ER ve PR pozitifliği gösterirken, HER2 ekspresyonu göstermezler (4).

**Kribriform karsinom:** Tümörün % 90'dan fazlası kribriform paternde tümör adalarından oluşur. Nükleer derecesi düşük olup mitotik aktivite azdır (4). İnvaziv kribriform karsinomun biyolojik davranışı tübüler karsinoma çok benzer (20).

**Müsinöz Karsinom:** İnvaziv meme kanserlerinin yaklaşık %2'si müsinöz karsinomlardır. Bol miktarda ekstrasellüler müsin içinde fibröz septalar ile ayrılmış neoplastik hücre kümelerinden veya tabakalarından oluşur. Nükleer derece düşük veya orta düzeydedir. Yüksek oranda ekstrasellüler müsin içeren daha hiposellüler Tip A müsinöz karsinom, daha hipersellüler olup nöroendokrin farklılaşma gösteren Tip B müsinöz karsinomlar olarak sınıflandırılırlar. Taşlı yüzük hücre farklılaşması olan karsinom, çekirdeği kenara iten ve karakteristik taşlı yüzük sitomorfolojisini oluşturan bol hücre içi müsinli hücrelerden oluşur. Ekstrasellüler müsin içermeyen taşlı yüzük hücreli karsinomlar, müsinöz karsinom olarak sınıflandırılmaz (4).

**Müsinöz Kistadenokarsinom:** Literatürde bu alt tip için 30'dan az vaka bildirilmiştir. Müsinöz kistadenokarsinom, uzun kolumnar hücrelerle döşeli papiller yapılanmalar içeren kistik boşluklarla karakterizedir. Neoplastik hücrelerin çekirdekleri hücre bazalinde yerleşmiş olup; bol miktarda intrasitoplazmik müsin

içerir. Müsin ayrıca kistik boşluklarda da bulunur. Sitolojik atipi derecesi, aynı tümör içinde bile değişkendir.

**Müsinöz kistadenokarsinom;** müsinöz karsinom, enkapsüle papiller karsinom ve pankreatobiliyer kaynaklı metastatik müsinöz kistadenokarsinomdan ayırt edilmelidir. Müsinöz karsinom ve enkapsüle papiller karsinomun her ikisi de tipik olarak ER ve PR ile güçlü ve yaygın olarak pozitiflik gösterirler. Enkapsüle papiller karsinomda ayrıca intrasitoplazmik müsin izlenmez. DKİS yokluğunda, pankreatobiliyer kaynaklı metastatik müsinöz kistadenokarsinom olasılığı dışlanmalıdır. Memenin çoğu müsinöz kistadenokarsinomu ER, PR ve HER2 ekspresyonu göstermez (4).

**İnvaziv mikropapiller karsinom:** Tüm meme karsinomlarının %1-2 kadarını oluşturur. Aksiller lenf nodu metastazı tanı anında vakaların üçte ikisinden fazlasında mevcuttur (4).

İnvaziv mikropapiller karsinom; fibrovasküler kor yapısı bulunmayan, etrafında lenfovasküler invazyonu taklit eden dar boşluklar bulunduran morula benzeri tümör hücre kümelerinden oluşmaktadır (18). Vakaların çoğu ER ve PR pozitif olmakla birlikte %10-15 kadarı triple negatif fenotiptedir. EMA ile tümör hücre kümelerinin stromal yüzünde membranöz boyanma izlenir (4).

**Apokrin diferansiyasyon gösteren karsinom:** Tümör hücrelerinin %90' dan fazlası apokrin morfoloji göstermektedir. Hücreler eozinofilik granüler ya da vakuolize sitoplazmalı olup hücre sınırları belirgindir. Tümör hücre nükleusları genellikle büyük, orta-yüksek derecede atipi gösteren belirgin nükleollü olarak izlenir. ER-negatif, PR-negatif ve Androjen Reseptörü (AR)-pozitif olan karakteristik bir steroid reseptör profiline sahiptirler. AR, apokrin farklılaşması olan karsinomlarda eksprese edilir. AR aktivasyonu, vakaların % 30-60'ında HER2 overekspresyonu ile ilişkilidir (4).

**Metaplastik karsinom:** Metaplastik karsinomlar, invaziv meme karsinomları içinde neoplastik hücrelerin skuamöz hücrelere ve / veya mezenkimal görünümlü elemanlara doğru farklılaşmasıyla karakterize heterojen bir grubu oluşturur. Metaplastik karsinomlar monofazik (yalnızca bir metaplastik komponent) veya bifazik (iki veya daha fazla komponent) olabilir. Birden fazla komponent tanımlanmışsa, her komponentin ve tümördeki yaklaşık yüzdesinin not edilmesi önerilir. Histolojik patern

temelinde, metaplastik karsinomlar sadece epitelyal karsinomlar (düşük dereceli adenoskuamöz karsinom, yüksek dereceli adenoskuamöz karsinom, pür skuamöz hücreli karsinom), pür sarkomatoid karsinomlar ve bifazik epitelyal ve sarkomatoid karsinomlar olarak sınıflandırılabilir (4).

Düşük dereceli adenoskuamöz karsinom, fibromatozis benzeri metaplastik karsinom, iğsi hücreli karsinom, pür skuamöz hücreli karsinom, heterolog mezenkimal diferansiyasyon gösteren metaplastik karsinom, mikst metaplastik karsinom olarak alt tiplendirilir (4).

***Nadir ve tükrük bezi tipi tümörler:*** Asinik hücreli karsinom, adenoid kistik karsinom, sekretuar karsinom, mukoepidermoid karsinom ve polimorfoz adenokarsinomlar memenin tükrük bezi tipi tümörleridir. Bu tükrük bezi tipi meme tümörleri, sıklıkla tükrük bezi muadillerindeki morfolojik ve moleküler özellikleri paylaşır, ancak klinik davranışları genellikle farklıdır. Tükrük bezi tipi meme tümörleri genellikle triple negatif tümörlerdir (4).

***Nöroendokrin neoplaziler:*** Özellikle solid papiller karsinom ve Tip B müsinöz karsinom gibi belirgin nöroendokrin diferansiyasyon gösteren diğer meme karsinomları ile örtüşen özellikler gösterebilirler. Nöroendokrin diferansiyasyon gösteren invaziv meme karsinomları, nöroendokrin histolojik özellikleri ve nöroendokrin belirteç ekspresyonu açısından yeterince belirgin veya tek tip olmadığından nöroendokrin neoplazi olarak sınıflandırılmaz.

Nöroendokrin tümörler (NET), düşük-orta dereceli nöroendokrin morfoloji ve nöroendokrin belirteçler ile diffüz uniform immunreaktivite gösteren invaziv bir karsinomlardır. Meme karsinomlarının %1'inden azını temsil eder. Nöroendokrin karsinomlar ise; küçük hücre veya büyük hücre ile karakterize edilen yüksek dereceli nöroendokrin morfoloji, nöroendokrin belirteçler için yaygın, uniform bir immünoreaktivite gösteren invaziv karsinomlardır (4).

#### **2.4.6. Meme Karsinomunun Moleküler Sınıflaması**

İnvaziv meme karsinomları farklı moleküler ve histopatolojik özellikleri olan heterojen bir tümör grubudur (27). Son yıllarda özellikle tedavinin belirlenmesi amacıyla meme kanserinin moleküler düzeyde sınıflandırılması üzerine yoğunlaşıldı (4). Özellikle 2000 yılında Perou ve meslektaşlarının meme kanserlerini, gen

ekspresyon profillerindeki benzerliklere dayalı olarak farklı alt gruplara ayırmaya yönelik öncü çabaları, meme kanserinin moleküler sınıflandırmasına dönüşmüştür (22,28).

Gen ekspresyon profillerine göre meme kanserinin; Luminal A, Luminal B, İnsan Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü 2 (HER2) zengin ve bazal benzeri olmak üzere 4 ana intrinsik subtipi tanımlanmıştır (29). Bunlara ek olarak genelde hormon ekspresyon etmeyen kötü prognoza sahip claudin düşük tip gibi nadir subtipler de tanımlanmıştır (27). İntrinsik subtip sınıflamasının kullanılabilirliğini ve standardizasyonunu sağlamak için *PAM50 gene signature* olarak bilinen 50 geni kapsayan analizler önerilmekle beraber; bu analizler pahalı olduğundan ve yaygın kullanılmadığından, immünohistokimyasal biyobelirteçlere dayanan bir sınıflandırma da geliştirildi ve tümörleri beş alt tipe ayırdı (30). İmmünohistokimyasal biyobelirteçlere dayalı moleküler sınıflama Tablo 3'te gösterilmiştir.

**Tablo 3:** İmmünohistokimyasal biyobelirteçlere dayalı moleküler sınıflama (4, 31)

<b><i>Luminal A benzeri</i></b> <ul style="list-style-type: none"><li>• ER: pozitif</li><li>• PR: pozitif</li><li>• HER2: negatif</li><li>• Ki-67 proliferasyon indeksi: düşük</li></ul>
<b><i>Luminal B benzeri (HER2 negatif)</i></b> <ul style="list-style-type: none"><li>• ER: pozitif</li><li>• HER2: negatif</li><li>• Aşağıda belirtilenlerden en az biri<ul style="list-style-type: none"><li>○ Ki-67 proliferasyon indeksi: yüksek</li><li>○ PR: negatif ya da düşük</li></ul></li></ul>
<b><i>Luminal B benzeri (HER2 pozitif)</i></b> <ul style="list-style-type: none"><li>• ER: pozitif</li><li>• HER2: overekspresyon ya da amplifikasyonu</li><li>• PR: pozitif/ negatif</li><li>• Ki-67 proliferasyon indeksi: düşük/yüksek</li></ul>
<b><i>HER2 pozitif (non-luminal)</i></b> <ul style="list-style-type: none"><li>• HER2: overekspresyon ya da amplifikasyonu</li><li>• ER: negatif</li><li>• PR: negatif</li></ul>
<b><i>Triple negatif</i></b> <ul style="list-style-type: none"><li>• ER: negatif</li><li>• PR: negatif</li><li>• HER2: negatif</li></ul>

Luminal A ve luminal B subtipleri arasında ayırım yaparken Ki-67 proliferasyon indeksi ve PR immunhistokimyasal belirteçlerini yorumlarken ‘yüksek’ ve ‘düşük’ değerleri laboratuvarlar arası farklılık gösterebilir (31). Luminal A için; Ki-67 proliferasyon indeksi %14’ün altında bir değerde olmalıdır (32). 2013 yılında Prat ve arkadaşlarının çalışmasına dayanarak Luminal A subtipine en iyi karşılık gelen PR değeri  $\geq$ %20 olarak kabul görmüştür (33).

Triple negatif meme karsinomları (TNMK) farklı moleküler temeller ve prognoza sahip heterojen bir tümör grubunu oluşturur. Gen ekspresyon verilerine göre; TNMK’ları 4 subtipe ayırılır: Luminal AR, mezenkimal, bazal-benzeri immünsupresif ve bazal-benzeri immunaktif. Her alt tipin farklı tedavi hedefleri ve prognozlara sahip olduğu bildirilmekle birlikte henüz yerleşmiş ya da klinik olarak doğrulanmış bir sınıflama değildir (4).

DSÖ 2019 sınıflamasında; meme kanserinin genomik ve transkriptomik verilerin entegrasyonuna dayalı olarak 10 alt gruba bölüdüğü entegratif sınıflamaya da yer verilmiştir. Buna göre her alt grup, farklı klinik sonuçlar ve tedaviye yanıt ile ilişkilidir (4).

#### **2.4.7. Meme Karsinomunda Prognostik Faktörler**

Meme karsinomunun yönetimi hem prognostik hem de prediktif faktörlerden etkilenir. Prognostik faktörlerin belirlenmesi klinik olarak benzer prognoza sahip olan hastaların gruplandırılması, sistemik tedavi ya da neoadjuvan tedavi alacak hastaların belirlenmesinde yararlıdır. Prognostik faktörlerin tedaviden önce ve neoadjuvan tedaviden sonra da değerlendirilmesi önemlidir. Neoadjuvan tedaviden sonra tedaviye yanıt önemli bir ek prognostik faktördür. Lokal ve/veya uzak hastalık nüksü olasılığını belirlemede yararlı olduğu kapsamlı klinik çalışmalarla doğrulanmıştır (26)

DSÖ 2019 meme tümörleri kitabında prognostik ve prediktif faktörler; standart klinikopatolojik prognostik faktörler, standart gerekli prognostik/prediktif belirteçler ve ek prognostik/prediktif belirteçler olarak ayrılmıştır (Tablo 4) (4).

**Tablo 4:** Meme karsinomlarında prognostik/prediktif faktörler (4)

<i>Standart klinikopatolojik prognostik faktörler</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Yaş</li><li>• Histolojik derece</li><li>• Histolojik tip</li><li>• Tümör evresi</li><li>• Cerrahi sınırlar</li><li>• Lenfovasküler invazyon</li></ul>
<i>Standart gerekli prognostik/prediktif belirteçler</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hormon reseptör ve HER2 durumu</li></ul>
<i>Ek prognostik/prediktif belirteçler</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Proliferasyon indeksi/ Ki-67</li><li>• AR durumu</li><li>• Neoadjuvan tedaviye yanıtın değerlendirilmesi</li><li>• Gen ekspresyon profilleri</li></ul>

**Yaş:** Tanı anında 35 yaşın altındaki bireylerde meme kanseri nadirdir (<% 5) ve potansiyel olarak daha agresiftir (4). Tanı anında daha yaşlı olan hastaların, genç hastalara göre % 17 daha yüksek oranda hastalığa özgü ölüm oranı yaşadıklarını gösteren çalışmalar da mevcuttur (34).

**Histolojik derece:** İnvaziv meme karsinomlarında histolojik derece Nottingham derecelendirme sistemi (Tablo 5) ile belirlenir ve güçlü bir prognostik parametredir (4). Yapılan çalışmalarda histolojik derecenin, prognoz ile çok güçlü bir korelasyon gösterdiğini; derece 1 tümürlü hastaların, derece 2 ve 3 tümürlü olanlara göre önemli ölçüde daha iyi bir sağkalıma sahip olduğunu göstermiştir (35).

Meme karsinomunun histolojik derecelendirilmesinde üç tümör özelliği değerlendirilir: glandüler farklılaşmanın ifadesi olarak tubul oluşumu, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısı. Tubul formasyonu genelinde küçük büyütme ile değerlendirilmelidir. Nükleer pleomorfizm; normal meme epiteli ile karşılaştırılarak en kötü pleomorfizmi gösteren alanda değerlendirilmelidir. Mitoz sayısı ise proliferasyonun en çok olduğu alanlarda, 10 büyük büyütme alanında (BBA) sayılmalıdır (x40 objektif ile). Farklı mikroskop türlerinde x40 objektif büyütme alanı farklılık göstermektedir. Bu nedenle mikroskopun büyütme alanına bakılarak kaç alan sayılacağına tespit edilmeli ve ona göre skorlanmalıdır (4).



**Tablo 5:** Meme karsinomunda histolojik derecelendirme sistemi (4,36)

<b>Özellik</b>	<b>Skor</b>
<b><i>Tubul/gland diferansiyasyonu</i></b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Tümörün &gt;%75'i</li><li>• Tümörün %10-%75'i</li><li>• Tümörün &lt;%10'u</li></ul>	1 2 3
<b><i>Nükleer pleomorfizm</i></b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Küçük, düzenli, monoton hücreler</li><li>• Orta düzeyde büyüklük ve değişkenlik</li><li>• Belirgin değişkenlik</li></ul>	1 2 3
<b><i>Mitoz sayısı*</i></b> <ul style="list-style-type: none"><li>• ≤4</li><li>• 5 – 9</li><li>• ≥10</li></ul> <p>*(x40 objektif (0.125 mm kare), ile toplam 10 alan) Not: Farklı mikroskop türlerinde x40 objektif büyütme alanı farklılık göstermektedir. Bu nedenle mikroskopun büyütme alanına bakılarak kaç alan sayılacağına tespit edilmeli ve ona göre skorlanmalıdır.</p>	1 2 3
<b><i>Derece</i></b> 1 2 3	<b><i>Total skor</i></b> 3,4,5 6,7 8,9

**Histolojik tip:** Meme karsinomunun spesifik tipleri olan tübüler karsinom, invaziv kribriform karsinom, pür müsinöz karsinom, adenoid kistik karsinom ve sekretuar karsinomlar daha iyi prognoza sahiptirler (37).

**Tümör evresi:** Meme kanserinde en 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. TNM evreleme sisteminde; 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 değerlendirilir. M ise uzak metastazı ifade etmektedir. Neoadjuvan tedavi uygulanmış olguların piyesleri değerlendirilirken ypT ve ypN (*posttreatment*) olarak kaydedilir. (Tablo 6,7 ve 8) (4).

**Tablo 6: pTNM Patolojik Sınıflama (4)**

<b><i>pT- Primer Tümör</i></b>	
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	Tümör en büyük boyutu $\leq 20$ mm
Tmi	Mikroinvazyon- 0,1 cm çapta ya da daha küçük tümör
T1a	Tümör en büyük boyutu $>1$ mm fakat $\leq 5$ mm
T1b	Tümör en büyük boyutu $>5$ mm fakat $\leq 10$ mm
T1c	Tümör en büyük boyutu $>10$ mm fakat $\leq 20$ mm
T2	Tümör en büyük boyutu $>20$ mm fakat $\leq 50$ mm
T3	Tümör en büyük boyutu $>50$ mm
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	İnflamatuvar meme karsinomu
<b><i>pN- Bölgesel Lenf Nodları</i></b>	
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 örneklemesi 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 mammarian 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
<b><i>pM- Uzak Metastaz</i></b>	
pM1	Mikroskopik olarak doğrulanan uzak metastaz

**Tablo 7: TNM Klinik Sınıflama (4)**

<b><i>T-Primer Tümör</i></b>	
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	İnflamatuvar meme karsinomu
<b><i>N- Bölgesel Lenf Nodları</i></b>	
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
<b>M-Uzak Metastaz</b>	
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

**Tablo 8:** Meme kanserinde evreleme sistemi (4)

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

**Cerrahi Sınırlar:** Komplet eksizyon lokal rekürrensi etkileyen önemli bir faktördür, özellikle meme koruyucu cerrahiden sonra cerrahi sınır pozitifliğinin lokal rekürrens üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Bu nedenle kılavuzların çoğu, invaziv meme karsinomu için "cerrahi sınır mürekkebine değen invaziv tümör yok" ve DKİS için cerrahi sınıra 2 mm yeterliliğini onaylamaktadır (4).

**Lenfovasküler invazyon:** Lenfovasküler invazyon, özellikle lenf nodu negatif hastalar için lokal ve uzak nüks ile ilişkili olduğundan, mevcut olduğunda bildirilmelidir (4). Özellikle dermal lenfatiklerde tümör trombusu olması nüks ve uzak metastaz ile ilişkili bulunmuştur (38).

**Hormon reseptör ve HER2 durumu:** Hormon reseptörü (ER ve PR) ve HER2 durumu en önemli prognostik ve prediktif faktörlerdendir ve değerlendirilmesi tüm invaziv meme kanserleri için zorunludur. ER durumunun birincil rolü, prediktif bir belirteç olmasıdır; %1 nükleer ER eksprese eden olguların, %1'in altında ER ekspresyonu gösteren olgulara göre endokrin tedavilerinden önemli ölçüde daha fazla yararlanma olasılığı daha yüksektir. ER aynı zamanda prognostiktir; güçlü ER pozitif meme kanserleri kısa vadede (5 yıl) ER negatif meme kanserlerinden daha iyi prognoza sahiptir, ancak bu derece ve evreye göre değişir ve geç nüksler ilk teşhisten on yıllar sonra ortaya çıkabilir.

ER-pozitif kanser grubu içinde, PR ekspresyon seviyeleri prognostik belirteç olarak kabul edilir; daha düşük PR ekspresyon seviyelerine sahip olgular daha kötü sonuçlarla ilişkilidir, ancak hastalar yine de endokrin tedaviden fayda görmektedir (4).

HER2 hem prediktif hem de prognostik bir belirteçtir. Pozitif bir HER2 testi, hastayı hem kemoterapi hem de HER2 hedefli tedaviler için aday yapar. HER2 ayrıca, uygun hedefe yönelik tedavilerin yokluğunda agresif biyolojinin ve kötü prognozun bir belirtecidir (4).

#### ***Ek prognostik/prediktif belirteçler***

Meme kanseri proliferasyonu hastalığın saldırganlığının değerlendirilmesinde ve dolayısıyla tedavi kararlarının alınmasında, özellikle kemoterapi ile ilgili olarak dikkate alınması gereken önemli bir parametredir. Çünkü ER-negatif, HER2-pozitif kanserler ve ER-negatif, HER2-negatif kanserler (Ki-67 proliferasyon indeksi: 30-100 %), kanserler daha hızlı büyüyor ve daha çok kemoterapi ile tedavi ediliyor. ER-pozitif kanserler daha geniş bir proliferasyon aralığına sahiptir, yüksek proliferatif formlar daha agresif davranışla ilişkilidir, ancak çoğu vaka <20 % Ki-67 proliferasyon indeksine sahiptir (4).

Son yıllarda yapılan sistematik inceleme ve meta-analizlerde, immünohistokimya ile AR ekspresyonunun ve gen analizi yöntemleri ile AR mRNA seviyelerinin hastalıksız sağkalımda iyileşme ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak AR'nin ER-pozitif ve ER-negatif kanserlerdeki işlevine ilişkin veriler şu anda sınırlı olup hala araştırılmaktadır. Bu nedenle, AR testi şu anda tüm meme kanseri vakalarında standart uygulama olarak yapılmamaktadır (4).

Neoadjuvan tedaviden sonra patolojik tam yanıtın elde edilmesi, HER2 pozitif ve triple negatif meme kanserleri için oldukça prognostiktir (4).

Hastaların terapinin seçimine potansiyel olarak yardımcı olabilecek anlamlı prognostik/prediktif gruplara ayrılması için tümör gen profil analizinin kullanılmasının önemini bildiren çalışmalar vardır (39,40). Özellikle ER pozitif, HER2-negatif meme kanserinde kemoterapi kararı vermek için klinik uygulamada gen ekspresyon profilleri kullanılabilir. Gen ekspresyon profiline göre tanımlanan düşük riskli hastalarda kemoterapi uygulanmayabilir ve yüksek riskli hastalarda kemoterapiden yararlanabilir. *The 21-gene BS and 70-gene signature* gibi çeşitli gen profil testleri mevcuttur. Bunlara göre düşük genomik risk skoru sonucu olan hastaların ER-pozitif, HER2-negatif, lenf nodu-negatif erken meme kanseri durumunda adjuvan kemoterapi kullanımından güvenli bir şekilde kaçınılabileceğidir (4).

#### ***TİL'in prognoza etkisi***

TİL değerlendirmesi, prognostik bir belirteç olarak önem kazanmaktadır. Yüksek sayıda TİL, triple negatif ve HER2-pozitif meme karsinomlarında daha iyi sonuç ve neoadjuvan tedaviye daha iyi yanıt ile ilişkilidir (41). TİL'ler, standart adjuvan / neoadjuvan kemoterapi ile tedavi edilen erken evre TNMK olgularında uzak rekürrensiz sağkalım tahminlerini, hastaliksız sağkalımı (HS) ve genel sağkalımı (GS) iyileştirmede güçlü bir prognostik değere sahiptir. TİL değerlendirmesi, tanı anında (tedaviden önce) ve NAT sonrası rezidü hastalıkta H&E boyalı lamlarda patologlar tarafından uluslararası önerileri takip ederek yapılan bir değerlendirmeye dayanmaktadır.

İnvaziv meme karsinomunda TİL'lerin varlığı ve kapsamı, tümörden tümöre büyük ölçüde değişir. TİL'ler, klinik araştırmalarda özellikle prognozu değerlendiren çalışmalara dahil edilmesi önerilmektedir (4).

#### **2.4.8. Meme Kanserinde Neoadjuvan Tedavi**

NAT, aynı zamanda primer veya preoperatif tedavi olarak da adlandırılan; bir tümörün kesin cerrahi olarak çıkarılmasından önce sistemik ajanlarla tedavi edilmesi demektir. Başlangıçta inflamatuvar karsinomlar ve ameliyat edilemeyen lokal ileri

meme kanserleri için standart bir tedavi olarak kullanıldı (13). Ancak son yıllarda preoperatif sistemik tedavi uygulaması meme koruyucu cerrahi oranlarını arttırdığından operabl meme kanserinde de uygulanmaktadır (14).

National Comprehensive Cancer Network (NCCN)'e göre NAT için uygun adaylar inflamatuvar meme karsinomu, lenf nodu evresi cN2 ve cN3, T evresi cT4 olan inoperabl meme kanseri ve  $cT \geq 2$  ya da  $cN \geq 1$  olan TNMK ve HER2-pozitif meme kanseri olguları, memenin korunmasını isteyen bir hastada meme boyutuna göre büyük primer tümörü olan olgular, preoperatif sistemik tedavi ile cN0 olması muhtemel cN+ olgular gibi operabl meme kanseri olgularıdır (42).

NAT'ta antrasiklin ve taksan bazlı rejimler uygulanır. HER2-negatif olgularda antrasiklin ve taksanlar sıralı bir şekilde kullanılırken HER2-pozitif olgularda antrasiklinlerle eş zamanlı olmamak şartı ile anti-HER2 antikoru uygulanır.

#### **2.4.9. Neoadjuvan Tedavi Sonrasında Histopatolojik Değerlendirme**

İnvaziv karsinomun tedaviye yanıtı, HS ve GS için güçlü bir prognostik faktördür. Bu materyallerde tümör yatağını bulmaya ve değerlendirmeye özel dikkat gereklidir (13,43). Minimal yanıt veren invaziv karsinomlar, tümör boyutunda çok az değişiklik gösterebilir veya hiç değişiklik göstermeyebilir. Daha fazla yanıt gösteren tümörlerde, hücresellik azalmış olup büyük bir tümör yatağına dağılmış multiple invaziv odaklar olarak mevcut olabilir.

Post-neoadjuvan tedavi patolojik T-kategorisi (ypT), eğer mevcutsa, rezidüel tümörün en büyük tek odağına göre değerlendirilir. Rezidüel invaziv karsinoma komşu tedaviye bağlı fibrozis, ypT boyutuna dahil değildir. Neoadjuvan tedaviden sonra rezidü invaziv karsinomu olmayan vakalar, rezidü DKİS varsa ypTis veya rezidü kanser yoksa ypT0 olarak kategorize edilir. Neoadjuvan tedaviden önce M1 olarak kategorize edilen vakalar tam patolojik yanıt olsa bile Evre IV olarak kalırlar (36). Tedavi yanıtını değerlendirmek için çok sayıda sınıflandırma sistemi geliştirilmiştir. Tedaviye yanıtı sınıflandırmak için kullanılan sistemlerden bazıları Tablo 9'da gösterilmiştir (13).



**Tablo 9:** Tedaviye Yanıtı Sınıflandırmak İçin Kullanılan Farklı Sistemler (13)

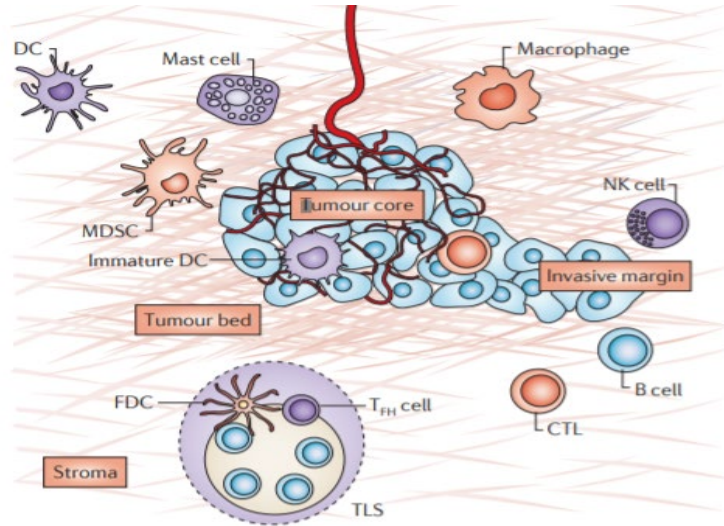
<i>Miller-Payne Sistemi (44)</i>	
Grade 1	Tek tek malign hücrelerde değişiklik veya değişiklik yok, ancak genel hücresellikte azalma yok
Grade 2	Küçük bir tümör hücresi kaybı, ancak genel hücresellik hala yüksek; %30'a kadar kayıp
Grade 3	Tümör hücrelerinde tahmini %30 ile %90 arasında azalma
Grade 4	Tümör hücrelerinden sadece küçük kümeler veya geniş bir şekilde dağılmış tek tek hücreler kalır; %90 tümör hücresi kaybı
Grade 5	Tümör bölgesi; sadece genellikle makrofaj içeren vasküler fibroelastotik stroma kalır; ancak, in situ duktal karsinom mevcut olabilir
<i>Sataloff Yöntemi (45)</i>	
Tümör	
T-A	Toplam veya toplama yakın terapötik etki
T-B	%50 terapötik etki, ancak toplamdan az veya toplama yakın
T-C	%50 terapötik etki, ancak belirgin etki
T-D	Terapötik etki yok
Düğümmler	
N-A	Terapötik etki kanıtı, metastatik hastalık yok
N-B	Metastaz veya terapötik etki yok
N-C	Terapötik etkinin kanıtı, nodal metastaz mevcut
N-D	Canlı metastatik hastalık, terapötik etki yok
<i>Residual Cancer Burden (RCB) Sistemi (46)</i>	
RCB-0	Memede veya lenf düğümünde karsinom yok
RCB-I	Kısmi yanıt
RCB-II	Kısmi yanıt
RCB-III	Dirençli

**Miller-Payne Sistemi:** Tedaviden önce ve sonra tümör hücresellığının karşılaştırılmasına dayalı olarak 5 dereceye bölünerek değerlendirildiğinde HS ve GS ile korelasyon göstermiştir. (44). Bu sistemde, 4. derece yanıtın (neredeyse pCR), pCR'den (5. derece) daha kötü bir prognoza sahip olduğunu ve bu tür yanıtın ayrı bir grup olarak tutulması gerektiğine dair kanıt sağladığını gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu sistemde değerlendirmede lenf düğümlerindeki yanıt veya LVI varlığı yoktur. Bu nedenle, 4. derece yanıtı olan ve lenf nodu metastazı olan veya LVI olan hastaların olması mümkündür (13).

## 2.5. MEME KANSERİ VE TİL

### 2.5.1. Meme Kanserinde Tümör Mikroçevresi

İnflamatuar yanıtlar, tümör gelişiminin başladığı andan invazyon ve metastaz aşamaları dahil olmak üzere belirleyici rol oynar. Solid tümörlerde tümör mikroçevresi hücre dışı matriksi ve stromal, endotelial ve inflammatuar hücreler gibi çeşitli hücreler bileşenleri içerir (47). Bu bileşenler genellikle tümör davranışı, prognozu ve tedaviye yanıtla ilgili önemli bilgiler sağlar. Tümörlerin antijenik olduğu ve kısmen konakçı bağışıklık sistemi tarafından yabancı olarak tanınabilen protein ürünlerine bağlı olarak bir bağışıklık tepkisine neden olabileceği iyi bilinmektedir (48). Bağışıklık hücreleri tarafından infiltrasyon oranı tümörden tümöre değişiklik gösterir. Bu bağışıklık hücrelerinin yoğunluğu, konumu ve organizasyonu "*immune contexture*" olarak adlandırılır (Şekil 4). Artan sayıda bağışıklık hücresinin, malign melanom, kolorektal, akciğer ve meme kanserleri gibi çeşitli malignitelere olumlu bir klinik sonuçla ilişkili olduğu gösterilmiştir (49). Son yıllarda tümörlerde immün infiltratın değerlendirilmesi özellikle tümörü infiltre eden lenfositler (TİL) olarak adlandırılan, immünoterapötik ajanlara yanıt verme olasılığı en yüksek olan hastaları seçmek için biyobelirteç arayışında önem kazanmaktadır. Bu nedenle, TİL değerlendirmesi bir biyobelirteç olarak rutin histopatolojik raporlamaya dahil edilmesi önerilmektedir (50,51).



**Şekil 4:** 'Immune contexture'; tümör yatağı, tümör, invaziv sınır, tersiyer lenfoid yapılar ve tümör mikroçevresi (Fridman, İnsan tümörlerinde 'Immune contexture': klinik sonuca etkisi) (49)

### 2.5.2. Meme Kanserinde İmmün Disregülasyon

**Doğal ve kazanılmış bağışıklık:** Bağışıklık sistemi, proteinler, glikoproteinler ve hücre yapısındaki değişiklikleri tanıyan oldukça spesifik ve uyarlanabilir bir sistem olarak çalışır. Doğuştan gelen bağışıklık tepkisi spesifik olmayıp dendritik hücreler gibi antijen sunan hücreler (APC), makrofajlar, lokal ve sistemik inflamatuvar değişiklikleri indükleyen sitokinler ve kemokinlerden oluşur. Kazanılmış bağışıklık ise oldukça spesifik olup uzun süreli hafızaya sahiptir. Kazanılmış bağışıklık, antikolar, sitotoksik CD8+T lenfositleri ve yardımcı CD4+T lenfositleri salgılayan bellek B hücrelerinin gelişmesine sebep olur. T hücrelerinin aktivasyonu, tümör antijenleri APC'ler tarafından işlendiğinde meydana gelir, bu da doğrudan CD8+T lenfositleri tarafından tümör sitolizine ve dolaylı olarak CD8+ ve CD4+T lenfositleri tarafından sitokin üretimi yoluyla dolaylı sitolize yol açar (52).

**Antijen Sunumu:** Dendritik hücreler (DC) en etkili antijen sunan hücreler olarak bilinir. Meme kanserinde dendritik hücreler sayıca azalır ve işlevsizdir (53).

**İmmünsüpresyon:** Meme kanserinde immünsüpresyonIDO, prostaglandin E2 (PGE2), TGF- $\beta$ , IL-6 ve VEGF-A aracılığı ile gerçekleşir. İnterlökin-10 (IL-10), immünsüpresyonu indükleyen antiinflamatuvar bir sitokindir. Meme kanserinde IL-10, hem tümör proliferasyonunu indükler hem de immün yanıtları inhibe eder (54).

**T lenfositlerin inhibisyonu:** T hücre tepkisinin immün regülasyonu, normalde antijen uyarımından sonra doku yıkımını ve otoimmüniteyi en aza indirmek için gereklidir, ancak kanserli dokularda bu düzenlemeyi sağlayan inhibitör moleküller, lokal T hücresi inhibisyonuna neden olmak için aşırı eksprese edilebilir. T hücreleri APC'ler tarafından aktive edildiğinde, naif T hücresi yüzeyindeki ortak uyarıcı molekül CD28, APC üzerindeki B7 proteinlerine bağlanır. Bu ikinci sinyal, T hücrelerinin aktivasyonunu, proliferasyonunu, efektör fonksiyonunu ve göçünü indükler.

T hücresi aktivasyonunu ve fonksiyonunu sınırlamaya hizmet eden birkaç inhibitör yol vardır. CTLA-4, APC üzerinde B7'ye daha yüksek bir afinite ile bağlanan ve CD28 işlevini aşmak için TCR sinyali ile indüklenen bir CD28 homologudur. Gerçekte, CTLA-4 ekspresyonu, T hücresi aktivasyonunu ve antitümör etkinliğini inhibe eder (52).

### 2.5.3. Tümörü İnfiltre Eden Lenfositler

Tümör mikroçevresinde en basit immün aktivite ölçüsü, TİL'leri saymaktır. Pek çok çalışma, tümör mikroçevresindeki TİL'lerin, özellikle ER-negatif ve oldukça proliferatif ER-pozitif kanserler için prognostik olduğunu göstermiştir (5-7). Yüksek TİL sayısı aynı zamanda NAT sonrası daha yüksek pCR oranı ile ilişkilidir (5,6,8,11,12). Rezidüel hastalıkta yüksek TİL sayısı da daha iyi sağkalım ile ilişkilidir (8-10).

2014 yılında Salgado ve Denkert öncülüğünde, meme kanserinde TİL'lerin değerlendirilmesini kolaylaştırmak ve yaygınlaştırmak amacı ile uluslararası TİL Çalışma Grubu önerileri yayınlandı. Bu öneriler özellikle TİL'lerin klinik olarak neden önemli olduğuna, Tİllerin hangi alanlarda değerlendirileceğine ve nasıl puanlanacağına odaklanarak geliştirildi. TİL Çalışma Grubu önerileri Tablo 10' da gösterilmiştir (55).

Meme kanserinde TİL'ler ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda lenfositler stromal (sTİL) ve intratümöral (iTİL) olarak ayrı ayrı değerlendirmeye alınmıştır. iTİL; arada stroma olmaksızın hücre-hücre teması olan ve doğrudan karsinom hücreleri ile etkileşime giren tümör yuvalarındaki lenfositler olarak tanımlanırken, sTİL'ler; karsinom hücreleri arasındaki stromada dağılmış halde bulunur ve karsinom hücrelerine doğrudan teması yoktur. Her ikisi de tümör dokusu olarak tanımlanan bölgede lokalize olduğundan, her iki kategorinin de gerçek TİL'leri temsil ettiği vurgulanır. Ayrıca, TİL'ler canlı bir doku mikroçevresinde hareket edebildiklerinden, ayırım biraz yapay olabilir ve tanısal değerlendirme için kullanılan kesitin statik durumu ile ilgili olabilir.

Ancak iTİL'lerin tipik olarak daha düşük sayılarda mevcut olması, daha az vakada saptanması, daha heterojen olması ve H&E ile boyanmış slaytlarda gözlenmesinin zor olması nedeniyle çoğu güncel çalışmada sTİL'lerin daha üstün ve daha tekrarlanabilir bir parametre olduğu bulunmuştur (55). sTİL'ler yüzde olarak rapor edilmelidir.

TİL Çalışma Grubu günlük pratikte H&E boyalı lamlarda seçilecek uygun alandaki mononükleer inflamatuvar hücrelerin (lenfosit ve plazmasit) değerlendirilmesini önermektedir. Bununla birlikte araştırma çalışmalarında TİL sub-

gruplarını değerlendirmek için CD8 ve FOXP3 gibi özel immünohistokimya boyalarının kullanımını desteklemektedir.

**Tablo 10:** Meme kanserinde TİL'leri değerlendirmek için öneriler (55)

- TİL'ler stromal alan içinde değerlendirilmelidir (% sTİL'ler). sTİL yüzdesi mononükleer inflamatuvar hücrelerin toplam intratümöral stromal alan üzerinde kapladığı alanda verilir.
- TİL'ler invaziv tümör sınırları içinde değerlendirilmelidir.
- İnvaziv tümör sınırının dışı, DKİS ve normal lobüller etrafındaki TİL'ler değerlendirmeye dahi edilmez.
- Ezilme artefaktları, nekroz, gerileyen hyalinizasyon içeren tümör bölgelerindeki ve önceki kor biyopsi alanındaki TİL'ler değerlendirmeye dahil edilmez.
- Tüm mononükleer hücreler (lenfositler ve plazma hücreleri dahil) puanlanmalıdır, ancak polimorfonükleer lökositler hariç tutulur.
- Hasta başına bir kesit (4–5 µm, büyüme × 200–400) yeterli kabul edilmektedir.
- Mümkün olduğunca eksizyon materyalleri biyopsilere tercih edilir. Biyopsiler özellikle neoadjuvan tedavi ortamında kullanılabilir.
- Patolog tarafından tümör alanındaki ortalama TİL dikkate alınmalı, hotspot değerlendirme yapılmamalıdır.
- Bu aşamada klinik olarak ilgili TİL için belirlenmiş bir eşik değer olmamakla birlikte lenfositten zengin tümörlerde bu değerinin %50 ile %60 arasında değiştiği vurgulanmıştır.

### 2.5.3.1. Neoadjuvan tedavi sonrası TİL'ler

Günümüzde neoadjuvan tedavi lokal ileri meme karsinomu ve memeyi koruma şansını artırmak amacıyla erken aşamalarda da giderek daha fazla kullanılmaktadır. Neoadjuvan kemoterapiden sonra immünoterapötik stratejilere artan ilgiyi göz önünde bulundurarak, son yıllarda çalışmalar rezidü tümörde TİL değerlendirmesi giderek artan bir önem kazanmaktadır (56).

NAT sonrası memede ve aksiller lenf düğümlerinde invaziv rezidü karsinom olmaması pCR tanımlanır. Ancak, pCR oranları ve prognostik etkisi moleküler alt tipler arasında heterojendir.

pCR olmayan bazı hastalar uzun vadede hayatta kalırken, pCR gerçekleşen bazı olgular nüksedebilmektedirler. Bu nedenlerden dolayı, ek sistemik tedavilere uygun yüksek riskli hastaların daha iyi tanımlanmasını sağlamak amacı ile risk sınıflandırmasını iyileştirmek için biyobelirteçlerin tanımlanmasına acilen ihtiyaç

vardır. NAT sonrası rezidü tümörde değerlendirilen TİL'ler, bu amaç için potansiyel olarak yararlı ve güvenilir bir belirteç olarak önerilmektedir (56).

NAT öncesi tru-cut biyopsilerde değerlendirilen TİL'lerin prognozu tahmin ettiği gösterildiğinden, NAT sonrası rezidüel hastalıkta TİL'leri değerlendirme ihtiyacı tartışmalıdır (59). Ancak kemoterapinin antitümör etkisi immün sistemin modülasyonu yoluyla uygulandığı kabul edilmektedir (60). Kemoterapi uygulaması tümör yatağındaki TİL'lerin çekilmesine ve/veya aktivasyonuna neden olduğu gözlemlenmiştir (61). Kemoterapiye maruz kaldıktan sonra kalan tümörde değerlendirilen TİL'ler ek prognostik taşıyabilir. Bu nedenle, tedavi öncesi TİL'lere odaklanmak, önemli bir klinik bilginin eksik olmasına yol açabilir.

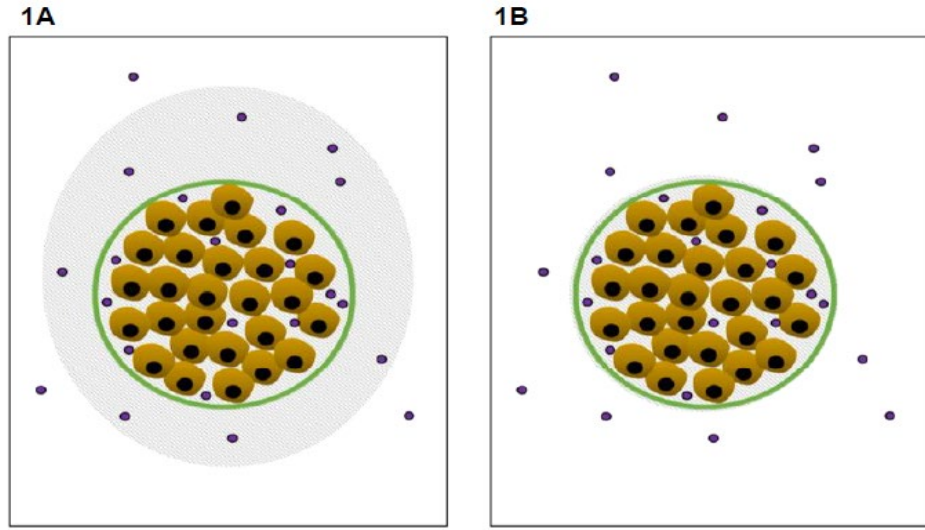
Asano ve meslektaşları, rezidüel kanser yükü (RCB) ve TİL'lerin kombinasyonunun, NAT sonrası meme kanseri nüksü için önemli bir prediktör olduğunu ve tek başına TİL'lerden daha hassas bir gösterge olabileceğini öne sürüyor (58). Çalışma Grubu, NAT sonrası daha doğru risk sınıflandırma sistemleri geliştirmek için TİL'leri RCB indeksine dahil etmek için uluslararası bir çalışma sürdürmektedir. RCB; rezeksiyon örneğindeki tümör yatağı ölçüsü, bu alandaki invaziv karsinomun yüzde olarak hücreliliği, insitu karsinomun oranı, metastatik karsinom içeren aksiller lenf düğümleri ve bir aksiller lenf düğümündeki en büyük metastazın çapı kullanılarak hesaplanır ve RCB-0, I, II, III olmak üzere 4 gruba ayrılır. Rezidü hastalıkta TİL'lerin değerlendirilerek RCB-indeksi gibi diğer faktörlere eklenmesi, prognostik modellerin performansını daha da artırabilir.

Uluslararası İmmüno-Onkoloji Çalışma Grubu, daha önce yayınlanan Meme Kanserinde TİL Değerlendirmesine İlişkin Uluslararası Kılavuzlar'a dayalı olarak, rezidü hastalıkta TİL'leri değerlendirmek için bir yöntem önermektedir (56). Meme kanserinde TİL'lerin değerlendirilmesi ve NAT sonrası rezidü hastalığa uyarlanması için öneriler Tablo 11' de gösterilmiştir. Bu önerilere göre NAT sonrası ortamda TİL değerlendirme alanı olarak, RCB'de tanımlanan rezidü tümör yatağı tarifinin kullanılması önerilmektedir. Buna göre; rezidü tümör yatağı rezidüel invaziv tümör hücreleri arasındaki en büyük kesit alanı olarak tanımlanır. Rezidü tümör yatağı Şekil 5'te gösterilmiştir (56).

**Tablo 11:** Meme kanserinde TİL'lerin değerlendirilmesi ve NAT sonrası rezidü hastalığa uyarlanması için öneriler (Uluslararası İmmüno-Onkoloji Çalışma Grubu)

(56)

	<i>Tedavi almamış meme kanserinde TİL'ler</i>	<i>Tedavi sonrası rezidü hastalıkta TİL'ler</i>
Tümör alanı seçimi	<ul style="list-style-type: none"> <li>-İnvaziv tümör sınırları içinde</li> <li>-invaziv tümör sınırındaki TİL'ler dahil</li> <li>- Hotspot alanlara odaklanılmaz.</li> <li>- DKIS, normal lobüller, nekroz, geniş fibrotik alanlar, ezilme artefaktları, gerileyen hyalinizasyon alanları dahil edilmez.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Radyolojik, makroskopik, mikroskopik bulgulara göre regresyon alanı</li> <li>- Rezidü tümör yatağı rezidüel invaziv tümör hücreleri arasındaki en büyük kesit alanı olarak tanımlanır.</li> <li>- Hotspot alanlara odaklanılmaz.</li> <li>- DKIS, normal lobüller, nekroz, geniş lifli alanlar, ezilme artefaktları, gerileyen hyalinizasyon. Ancak, neoadjuvan sonrası ortamda daha fazla zorluk ortaya çıkabilir.</li> </ul>
İmmün hücre tipi	-Tüm mononükleer hücreler, polimorf nüveli lökositler sayılmaz	- Tüm mononükleer hücreler, polimorf nüveli lökositler sayılmaz
Lokalizasyon	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ana parametre olarak sTİL'ler. İntratümoral TİL'ler araştırma amacıyla dahil edilebilir.</li> <li>- sTİL tanımı: kapladığı stromal alanların yüzdesi mononükleer inflamatuvar hücreler.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ana parametre olarak sTİL'ler. iTİL'ler araştırma amacıyla dahil edilebilir.</li> <li>- sTİL tanımı: Rezidüel tümör yatağının sınırları içinde, mononükleer inflamatuvar hücreler tarafından işgal edilen stromal alanların yüzdesi.</li> </ul>
Skorlama	- Tümör yatağı (50-100x) taranır ve ardından mikroskopik alanlarda (200-400x) ortalama TİL değerlendirilir.	- Tümör yatağı (50-100x) taranır ve ardından mikroskopik alanlarda (200-400x) ortalama TİL değerlendirilir.



**Şekil 5:** Rezidü tümör yatağı şematik gösterim; Gri gölgeli yüzey; regresyon alanı; yeşil çizgi; rezidü tümör yatağı; mor noktalar: mononükleer inflamatuvar hücreler. 1A: rezidüel tümör yatağının ötesine uzanan regresyon alanı; 1B: üst üste binen tümör yatağı ve regresyon alanı (56)

### 2.5.3.2. Sitotoksik T lenfositler

CD8<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositler, interferon gama üreterek tümör hücrelerinin apoptozunu ve makrofaj tümör öldürme aktivitesini indükleyerek kanser hücrelerine saldıran en önemli rollerden birine sahiptir (62). Ayrıca sitotoksik T lenfositler granüllerinde bulunan perforin ve granzimler sayesinde, tümöre ait antijenler ile karşılaştığında tümör hücresinin apoptotik ölümüne neden olurlar. CD8<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositler kolorektal, akciğer, özofagus, epitelyal over tümörleri, böbrek ve pankreas kanserlerinin daha iyi sağkalımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (63-69).

Ancak meme kanserinde CD8<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositlerin prognostik etkisi hala tartışma konusudur. Fukunaga ve diğ. çalışmalarında total CD8<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositlerin ER-negatif ve HER2-negatif meme karsinomlarında iyi prognoz ile ilişkili olduğunu gösterdi (70). Liu ve ark. ise ne intratümoral ne stromal CD8<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositlerin meme kanseri hastalarının hayatta kalması üzerinde etkili olmadığını göstermiştir (71).

2011 yılında Baker ve ark. CD8<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositlerin olumlu etkisinin sadece ER-negatif, yüksek histolojik dereceli meme kanserleri ile sınırlı olduğunu ortaya koymuştur (72). Yine TNMK olgularında stromal ve/veya intratümöral



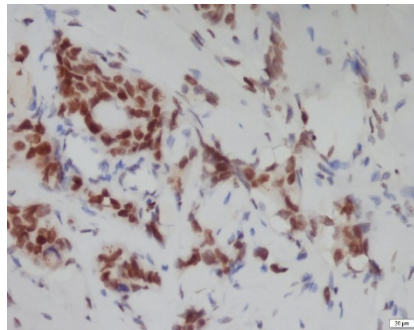
yerleşimli CD8+ sitotoksik T lenfositlerin varlığı bağımsız pozitif prognostik faktör olarak tanımlamıştır (73).

### 2.5.3.3. Regülatuar T lenfositler

Bağışıklık sistemi, yabancı/mikrobiyal ajanlara karşı etkili bir bağışıklık tepkisi oluşturabilmelidir, ancak kendi kendine reaktif olmamalıdır. Kendi antijenlerine karşı toleransı sürdürmek için hem merkezi hem de çevresel seviyelerde mekanizmalar mevcuttur. Bunlar arasında, CD4+ ve CD25+ regülatuar T (Treg) hücreleri, otoimmün süreçleri ve enflamatuar tepkileri sınırlamada kritik bir rol oynar (74).

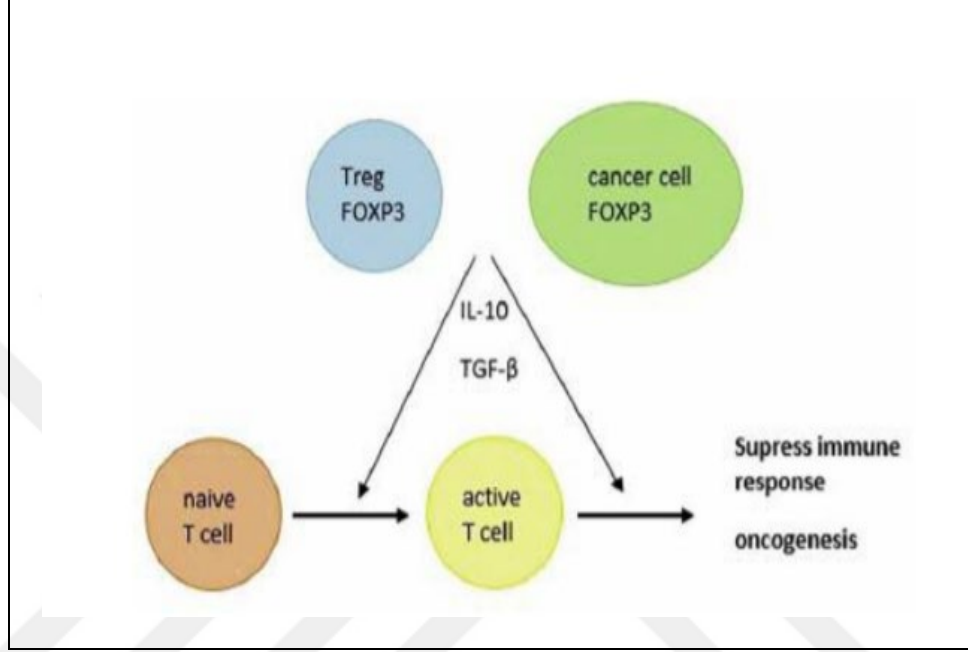
Treg hücrelerinin işlevi ve gelişimi FOXP3 (*forkhead box P3*) tarafından düzenlenir (75). FOXP3, Treg hücrelerinin en spesifik biyobelirtecidir (75,76). FOXP3, bağışıklık sistemi gelişimi ve fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynayan forkhead / kanatlı-sarmal ailesinin bir üyesidir (77,78). Bu gen, antijenlere karşı immün toleransı indükleyen immünosupresif Treg'lerin oluşumunda önemli bir rol oynar (78,79). FOXP3 işlevinin kaybı, Treg eksikliğine yol açarak ölümcül otoagresif lenfoproliferasyon, FOXP3 aşırı ekspresyonu ise şiddetli immün yetmezlik ile sonuçlanır (78,79). Tümör kaynaklı FOXP3+ düzenleyici T hücrelerinin artması, kanser immünoterapisi girişimlerine potansiyel bir engel olduğunu gösterir.

FOXP3, B lenfositleri ve timositlerde de bulunabilir. Ayrıca meme, prostat, pankreas, tiroid, mide ve over kanseri hücreleri de dahil olmak üzere birçok malign hücre tipinde FOXP3 ekspresyonu gösterilmiştir (80,81). FOXP3'ün biyolojik fonksiyonu ve tümör hücrelerindeki rolü tam olarak tanımlanmamış olup çalışmalar devam etmektedir. Bizim çalışmamızda farklı olgularda değişen boyanma oranları ile FOXP3 pozitifliği gösteren vakalar izlenmiştir (Şekil 6).



**Şekil 6:** FOXP3 ile kuvvetli nükleer boyanma gösteren invaziv meme karsinomu

FOXP3+ Treg hücreleri, IL-10 ve TGF-gibi spesifik sitokinler aracılığı ile bağışıklık yanıtını inhibe eder (82). FOXP3+ Treg hücreleri ve sitokinler aracılığı ile etkisi Şekil 7’de gösterilmiştir. VEGF üzerinden anjiyogenezi ve intratümöral damar yoğunluğunu artırmaktadır (83).



**Şekil 7:** FOXP3+ kanser hücreleri ve Treg hücreleri, IL-10 ve TGF-gibi spesifik sitokinler aracılığı ile bağışıklık yanıtını inhibe eder. (Szyberg, FOXP3'ün İnsan Kanseriindeki Rolü, Anticancer Research (82))

Bugüne kadar, FOXP3+TİL'lerin meme kanserinde prognostik önemi tartışmalıdır. FOXP3+ TİL varlığının, prostat, akciğer, hepatoselüler ve renal hücreli karsinomlar dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde kötü klinik sonuçlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (84-88). Tersine, diğer çalışmalar FOXP3 + TİL'lerin kolorektal, mide, over ve baş ve boyun karsinomlarında olumlu prognozla ilişkili olduğunu göstermiştir (89-91). 2011 yılında Mahmoud ve ark. çalışmasında FOXP3 + TİL sayısı, daha yüksek tümör derecesi, ER negatifliği, HER2 ekspresyonu ve bazal fenotip alt sınıfı ile pozitif korelasyon gösterdi (92). 2014 yılında Liu ve arkadaşlarının çalışmasında meme kanserinde yüksek seviyelerde FOXP3+ TİL'lerin varlığının genç yaş, yüksek derece, pozitif nodal durum, eşzamanlı CD8 + T hücresi infiltrasyonları ve ER negatifliği ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Yine bu çalışmada ER-pozitif

meme kanserlerinde, yüksek FOXP3+ TİL'ler kötü klinik sonuçla önemli ölçüde ilişkili olduğu gösterildi (93). 2016 yılında 15 çalışmanın dahil edildiği bir meta analizde yüksek FOXP3+ TİL seviyesinin GS açısından kötü prognozla anlamlı derece ilişkili olduğu gösterildi (94). Literatürde yine FOXP3+ TİL lerin ER-negatif meme kanserinde olumlu prognoz ile ilişkili olduğunu gösteren çalışma da mevcuttur (95).

#### **2.5.3.4. TİL'lerde CD8/FOXP3 oranı**

Sitotoksik CD8+T lenfositleri, kanser hücrelerini seçici olarak tanır ve yok etme yeteneğine sahiptir. Treg hücrelerinin bir belirteci olan FOXP3, Treg hücre oluşumunu ve işlevini düzenleyen bir genidir. Treg hücreleri, daha sonra birlikte uyarıcı proteinlerin antijen sunan hücreler üzerindeki işlevini azaltan CD8+T lenfositlerini inaktive eder. Başka bir deyişle, Treg hücreleri kanser hücrelerine yanıt olarak sitotoksik CD8+T lenfositlerinin indüksiyonunu baskılar. Bu nedenle son yıllarda, tümörü infiltre eden lenfositlerde CD8/FOXP3 oranı, bağışıklık fonksiyonunu izlemek için daha hassas bir gösterge olabileceği düşünülmektedir (17). Özellikle TNMK olgularında yüksek CD8/FOXP3 TİL oranının yüksek pCR oranları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (15,16). 2016 yılında Asano ve diğerlerinin çalışmasına göre CD8/FOXP3 oranı, TNMK ve HER2-pozitif meme kanseri gibi gibi agresif meme kanseri alt tiplerinde neoadjuvan tedaviye tedavi yanıtını tahmin etmek için yararlı bir biyobelirteç olabilir (17). Yine bir çalışmada CD8/FOXP3 oranı meme kanseri için bağımsız prognostik faktör ve tümörün moleküler alt tiplerinin prognozu ile bağlantılı olarak bulundu. Bu çalışmaya göre çevre dokudaki CD8/FOXP3 oranı luminal alt tiplerde non-luminallere göre derecede daha yüksek bulunmuştur (96). 2017 yılında Lee ve ark. çalışmasında ise CD8/FOXP3 oranı yüksek tedavi yanıtı gösteren grupta daha düşük bulundu ve bu, önceki çalışmalara göre beklenen sonuç değildi (97).

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul toplantısının 25/06/2019 tarihli B.10.1.THK.4.34.H.GP.0.01/258 numaralı kararı ile onaylanmıştır. Bütçe desteği için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Proje Birimi'ne başvurulmuştur ve çalışmamıza 2020/133 proje numarası verilerek bütçe desteği sağlanmıştır.

#### **3.1. OLGU SEÇİMİ VE VERİLERİN TOPLANMASI**

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarında 2009 ile 2020 yılları arasında invaziv meme karsinomu tanısı almış, NAT sonrasında modifiye radikal mastektomi (MRM) veya meme koruyucu cerrahi (MKC)/lumpektomi uygulanmış 120 olgu değerlendirildi. Preperatlarına ulaşılamayan ya da immunohistokimyasal boyama yapılamayan 15 olgu çalışma dışında bırakıldı.

Patoloji arşivinden olgulara ait neoadjuvan tedavi öncesi tru-cut biyopsi materyalleri ile neoadjuvan tedavi sonrası rezeksiyon materyallerinin lam ve blokları temin edildi.

Seçilen olguların hastane bilgi sistemi ve Medikal Onkoloji takip dosyalarından tedavi öncesi klinik T ve N evreleri, uygulanan neoadjuvan tedavi rejimi, uzak metastaz, nüks, HS ve GS bilgileri elde edildi. GS, tanı tarihinden herhangi bir nedenden ölüm zamanına kadar geçen süre; HS ise tanı tarihinden ilk lokal nüks, uzak nüks veya herhangi bir nedenle ölüme kadar geçen süre olarak tanımlandı. Olgulara ait tru-cut biyopsi ve rezeksiyona ait patoloji raporlarından; immunohistokimyasal olarak ER ve PR boyanma durumu, immunohistokimyasal olarak c-erbB2 ile değerlendirilen HER2 ekspresyon durumu, var ise FISH testi sonucu, Ki67 proliferasyon indeksi, lenfovasküler invazyon (LVI) ve perinöral invazyon (PNI), tümörün moleküler sınıfı, tümörün histolojik tipi, tedavi yanıtı, tedavi sonrası (yp) ypT, ypN bilgileri elde edildi.

#### **3.2. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA**

105 olgunun tedavi öncesi tru-cut biyopsi ve tedavi sonrası rezeksiyon materyallerine ait H&E boyalı lamaları incelenmiş, en uygun dokular seçilerek parafin

bloklardan 3-5 µm'lik kesitler yapılarak pozitif şarjlı lamlara alınmıştır. CD8 ve FOXP3 için her bir dokudan 2 kesit alınmıştır. CD8 antikoru için tonsil dokusu, FOXP3 antikoru için Hodgkin Lenfoma dokusu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

İmmünohistokimyasal boyama CD8 (4B11) Mouse Monoclonal Antibody (Leica) ile 1/100 dilüsyonda, FOXP3 (EP340) Rabbit Monoclonal Antibody (Cell Marque) ile 1/150 dilüsyonda Leica Bond-Max cihazda otomatize olarak yapılmıştır (Tablo 12).

**Tablo 12:** Çalışmamızda kullanılan antikorların dilüsyon oranları, pozitif kontrolleri, üretici firmaları ve antikor türleri

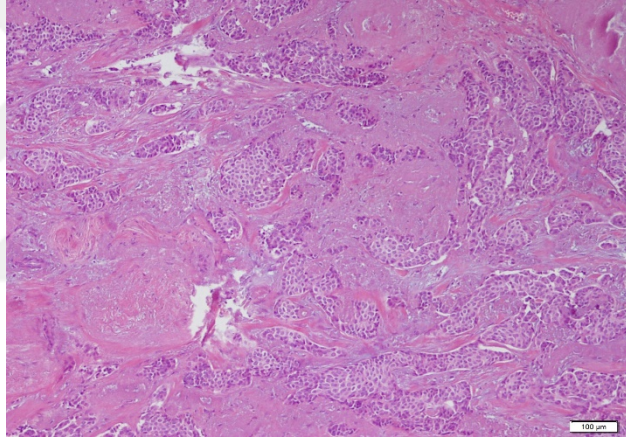
Antikorlar	Dilüsyon oranı	Pozitif Kontrol	Üretici Firma	Antikor Türü
CD8	1/100	Tonsil	Leica	Fare Monoklonal
FOXP3	1/150	Hodgkin Lenfoma	Cell Marque	Tavşan Monoklonal

### 3.3. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

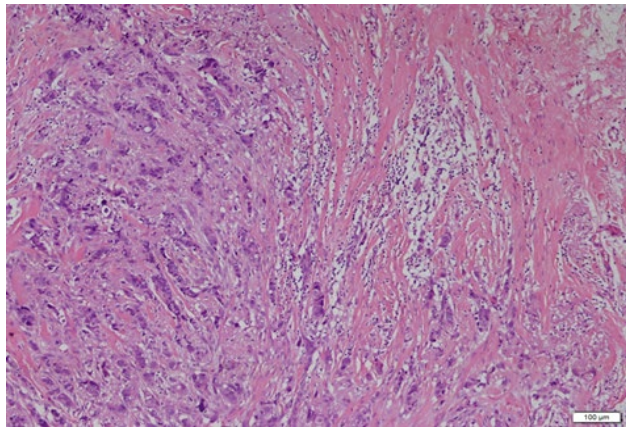
Olgulara ait hem tedavi öncesi biyopsi hem de tedavi sonrası rezeksiyon materyallerine ait histopatolojik verilere hastane bilgi sisteminde kayıtlı patoloji raporlarından ulaşıldı. Tedavi sonrası tümör ve lenf nodu evreleri American Joint Committee on Cancer (AJCC 8<sup>th</sup> Edition) kılavuzuna göre belirlendi (98). Histolojik derece Nottingham Elston & Ellis sistemine göre verildi (4,36). Histolojik tümör tipi ve moleküler alt tipler Dünya Sağlık Örgütü 2019 önerilerine göre yeniden değerlendirildi (4). PNI ve LVI durumu kaydedildi. Tümör regresyon durumu Miller-Payne Sistemi baz alınarak kaydedildi (44). NAT sonrası memede ve aksiller lenf düğümlerinde invaziv rezidüel karsinomu olmayan olgular pCR olarak kaydedildi.

TİL değerlendirmesi Uluslararası TİL Çalışma Grubu kılavuzu ve Uluslararası İmmüno-Onkoloji Çalışma Grubu önerilerine göre yapıldı (55,56). Çalışmamızda TİL değerlendirmesi yapılırken hastaya ait tru-cut biyopsi lamı ile rezeksiyon materyaline ait tüm lamlar değerlendirilmiş olup morfolojik olarak TİL oranını iyi temsil eden ve doku tespitinin yeterli olduğu 1 adet H&E boyalı lam seçilmiştir. TİL Çalışma Grubu'nun önerilerine göre sTİL'lere odaklanılarak değerlendirme yapıldı. TİL

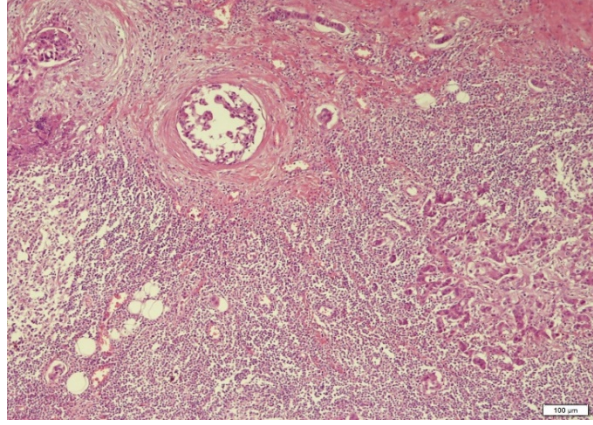
değerlendirmesi yapılırken “hotspot” alanlara odaklanılmadan invaziv tümör bulunan tüm lamalar değerlendirildikten sonra ortalama yüzde verildi. Yüzde değerleri, hücre sayımı yapmadan, TİL’in stromal alanın yüzde kaçını kapladığı belirlenerek verildi. Değerlendirme 400x büyütmede (10x oküler ve 40x objektif) yapıldı. Nekroz ve/veya artefakt içeren alanlar değerlendirmeye alınmadı. Literatürde meme karsinomlarında tümörü infiltre eden lenfositleri inceleyen çalışmalarda, “yüksek” ve “düşük” TİL grupları için sıklıkla %50 sınır değeri kullanılmıştır [99,100]. Hida ve ark. TİL yüzdelerini düşük (<%10), orta (%10-50) ve yüksek (>%50) olarak gruplamıştır (99). Denkert ve ark. ise TİL yüzdelerini düşük ( $\leq$ %10), orta (%11-59) ve yüksek ( $\geq$ %60) olarak gruplamıştır (59). Çalışmamızda kaydedilen yüzde değerleri hafif (%1-10), orta (%11-49) ve yüksek (%50 $\leq$ ) olarak sınıflandırıldı (99) (Şekil 8, 9 ve 10).



**Şekil 8:** Tümörü infiltre eden lenfositler %3, hafif



**Şekil 9:** Tümörü infiltre eden lenfositler %30, orta



**Şekil 10:** Tümörü infiltre eden lenfositler %80, yüksek

### **3.4. İMMUNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME**

#### **3.4.1. ER, PR, HER2 ve Ki67**

Çalışmamızda olgulara ait ER, PR, HER2 ve Ki67 immunekspresyon sonuçlarına hastane bilgi sisteminde kayıtlı patoloji raporlarından ulaşıldı. ER ve PR ekspresyonu güncel kriterlere göre  $>1\%$  pozitif kabul edildi. Ki67 proliferasyon indeksi immünekspresyonu yüzde olarak kaydedildi. Çalışmamızda immünohistokimya ile 3+ HER2 ekspresyonu saptanan olgular HER2 pozitif kabul edildi. İmmünohistokimya ile 2+ HER2 ekspresyonu olguların FISH sonuçlarına hastane bilgi sisteminde kayıtlı patoloji raporlarından ve Medikal Onkoloji takip dosyalarından ulaşıldı ve HER2 amplifikasyonu olan olgular pozitif olarak kaydedildi.

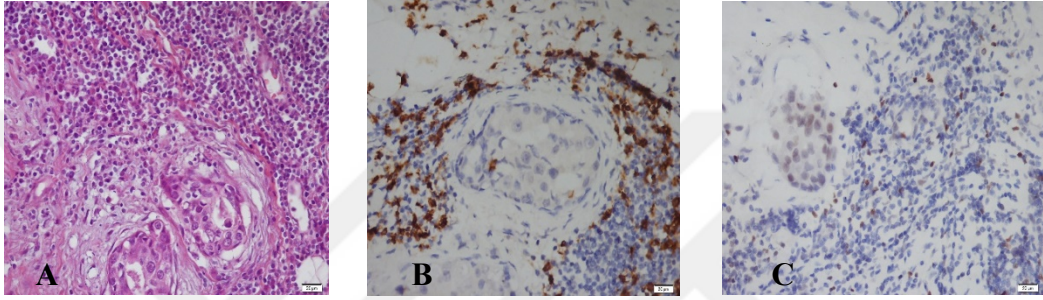
#### **3.4.2. CD8 ve FOXP3**

Olgulara ait tru-cut biyopsi lamları ile rezeksiyon materyaline ait tüm lamlar değerlendirilmiş olup morfolojik olarak TİL oranını iyi temsil eden ve doku tespitinin yeterli olduğu 1 adet blok seçilerek sitotoksik ve regülatuar TİL değerlendirmeleri için CD8 ve FOXP3 ile boyandı (Şekil 11).

Çalışmamızda 2015 yılında Miyashita ve ark. çalışmasına benzer şekilde CD8 boyalı immünohistokimya lamları öncelikle binoküler mikroskopta önce küçük büyütmede (x40) tarandı ve invaziv tümör alanının sınırları belirlendi (15). Daha sonra boyanmanın en yoğun olduğu alanlar büyük büyütmede (x400) değerlendirildi. CD8 ile nükleer immünekspresyon gösteren stromal TİL'ler birbiri ile örtüşmeyen 4 farklı alanda 400x büyütmede sayıldı ve ortalaması alındı. Aynı işlem olgulara ait tru-cut

biyopsi materyalleri ve rezeksiyon materyalleri için ayrı ayrı kaydedildi. FOXP3 boyalı immünohistokimya lamaları öncelikle binoküler mikroskopta önce küçük büyütmede (x40) tarandı ve öncelikle invaziv tümör alanının sınırları belirlendi. FOXP3 ile nükleer immünekspresyon gösteren stromal TİL'ler birbiri ile örtüşmeyen 4 farklı alanda 400x büyütmede sayıldı ve ortalaması alındı. Aynı işlem olgulara ait tru-cut biyopsi materyalleri ve rezeksiyon materyalleri için ayrı ayrı kaydedildi (15).

Son olarak, her tümör için CD8+ lenfositlerin FOXP3+ lenfositlere oranı hesaplandı.



**Şekil 11:** Tümörü infiltre eden lenfositleri %75, yüksek olan olgunun H&E (A), CD8 (B) ve FOXP3(C) immunohistokimyasal boyamaları

### 3.5. İSTATİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) program kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, yüzde, minimum, maksimum) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler ile sınanmıştır. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann-Whitney U test kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin ikiden fazla grup arası karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis test ve Dunn-Bonferroni test kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin grup içi karşılaştırmalarında Wilcoxon signed-ranks test kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare test ve Fisher-Freeman- Halton test kullanıldı. Nicel değişkenler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edildi (101). GS ve HS'de TİL değerinin karşılaştırılması amacıyla Kaplan Meier testi ve Cox regresyon analizi kullanıldı.

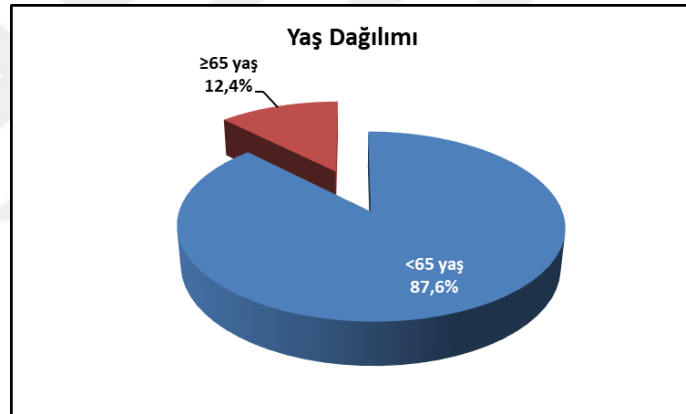


## 4. BULGULAR

### 4.1. KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLER

Çalışmamız 2009-2020 yılları arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesinde yaşları 26 ile 79 arasında olup, ortalama  $49,90 \pm 11,60$  yaşında olan toplam 105 kadınla yapılmıştır. Çalışmaya katılan olguların %87,6'sının (n=92) 65 yaş altında, %12,4'ünün (n=13) 65 yaş ve üzerinde olduğu gözlenmiştir (Şekil 12).

Olguların tedavi öncesi klinik evrelemelerine bakıldığında; %10,5'inin (n=11) cT1, %80'inin (n=84) cT2, %6,7'sinin (n=7) cT3 ve %2,9'unun (n=3) cT4 olduğu gözlenmiştir. Olguların %10,5'inin (n=11) cN0, %38,1'inin (n=40) cN1 ve %51,4'ünün (n=54) cN2 olduğu gözlenmiştir.



Şekil 12: Olguların yaş dağılımı

Olguların %87,6'sına (n=92) neoadjuvan tedavi olarak antrasiklin + taksan, %8,6'sının (n=9) taksan ve %3,8'inin (n=4) antrasiklin uygulandığı gözlenmiştir. Olguların %38,1'inde (n=40) ek olarak HER2 pozitiflik durumuna göre anti-HER2 antikör kullanıldığı gözlenmiştir.

Olguların %74,3'ünün (n=78) operasyon şeklinin MRM, %25,7'sinin (n=27) MKC olduğu gözlenmiştir.

Olguların %18,1'inin (n=19) tedavi yanıtının pCR, %81,9'unun (n=86) non-pCR olduğu gözlenmiştir. Patolojik tam yanıt gösteren olguların %94,7'si invaziv meme karsinomu, NST alt tipinde olduğu gözlenmiştir.

pCR olgularının moleküler alt tiplerine bakıldığında; %68,4'ü (n=13) Luminal B, %15,8'i (n=3) HER2 pozitif, %15,8'i (n=3) Triple negatif meme karsinomu olduğu izlenmiştir.

pCR olgularının hormon reseptör durumuna bakıldığında; %68,4'ü (n=13) ER pozitif, %31,6'sı (n=6) ER negatif ve %57,9'u(n=11) PR pozitif, %42,1'i (8) PR negatif olarak izlenmiştir.

pCR olguların %84,2'si (n=16) antrasiklin+taksan tedavisi almış olup, sadece taksan alan olgu sayısı 3'tür. Bu olgulardan HER2 pozitif olan 14 olgu ayrıca anti-HER2 antikör tedavisi almıştır.

Klinik takiplerinde 19 pCR olgusundan 2 olguda beyin metastazı görülmüş olup halen yaşamaktadır. 1 olgu exitus ile sonuçlanmıştır.

Exitus ile sonuçlanan 26 (% 24,8) olgu, %73,1'i invaziv meme karsinomu, NST alt tipinde olduğu gözlenmiştir. Moleküler alt tiplerine bakıldığında; %76,9'u (n=20) Luminal B, %11,5'i (n=3) HER2 pozitif, %11,5'i (n=3) Triple negatif meme karsinomu olduğu izlenmiştir.

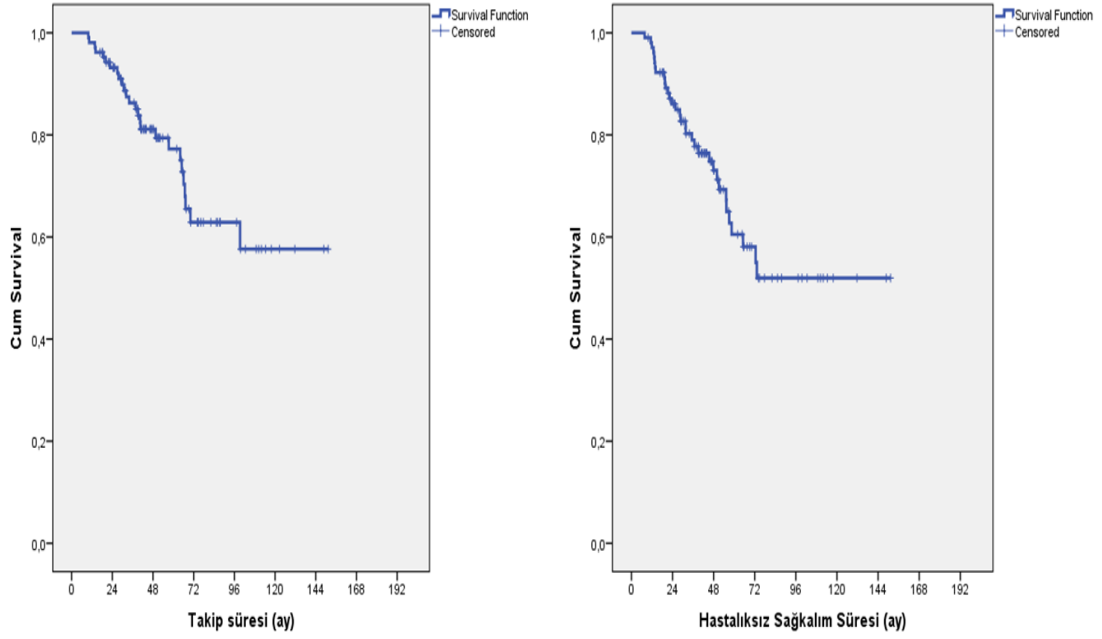
Çalışmamızda olguların tamamının klinik takip bilgileri elde edildi. Takip süresi ortalama 52,24±30,96 aydır. Klinik takip bilgilerine göre olguların; 79'u (%75,2) sağ ve sağlıklı, 26'sı (%24,8) eksitus, 34'ünde (%32,4) nüks/metastaz gelişmişti. 34 olgunun nüks/metastaz lokalizasyonlarına bakıldığında 16'sı kemik, 10'u beyin, 3'ü akciğer, 3'ü, aksilla, 1'i karaciğer, 1'i karşı meme olarak tespit edildi.

Exitus ile sonuçlanan olgularının hormon reseptörler durumuna bakıldığında; %676,9'u (n=20) ER pozitif, %23,1'i (n=6) ER negatif ve %69,2'si (n=18) PR pozitif, %30,8'i (n=8) PR negatif olarak izlenmiştir.

Exitus olgularının %88,7'si (n=23) antrasiklin+taksan tedavisi almış olup, sadece taksan alan olgu sayısı 2, sadece antrasiklin alan olgu sayısı 1'dir. Bu olgulardan HER2 pozitif olan 7 olgu ayrıca anti-HER2 antikör tedavisi almıştır.

105 invaziv meme karsinomu olgusunu içeren serimizde, ortalama sağkalım süresi 109,27±6,84 aydır. En son ölüm 99. ayda görülmüş olup; bu aydaki kümülatif sağkalım oranı %57,6, standart hatası %7,9 dur (Şekil 13).

Toplam 105 olgunun 71 olgu hayatta iken (%68,3); 34 nüks gözlenmiştir. Ortalama sağkalım süresi 99,48±7,22 aydır. En son nüks 39. ayda görülmüş olup; bu aydaki kümülatif sağkalım oranı %76,4 standart hatası %4,5 dir (Şekil 13).

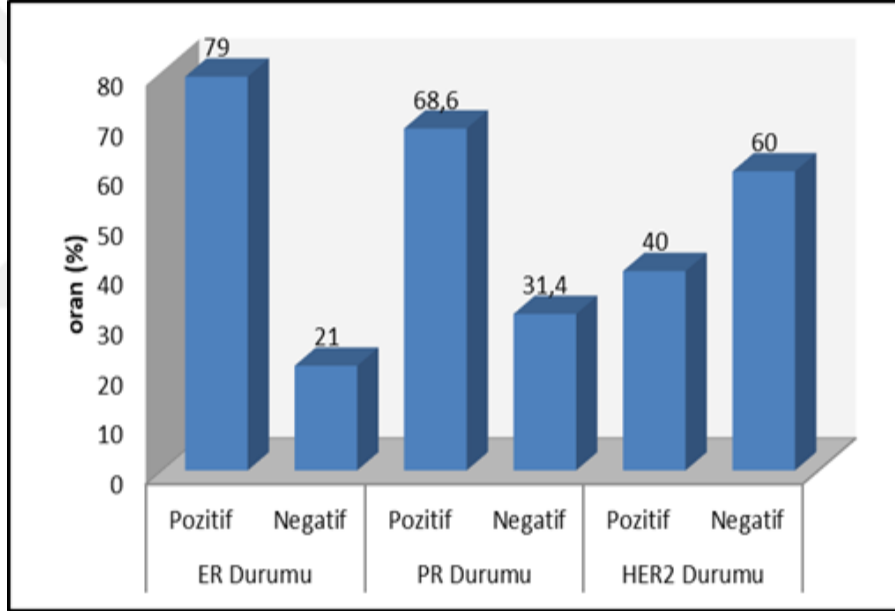
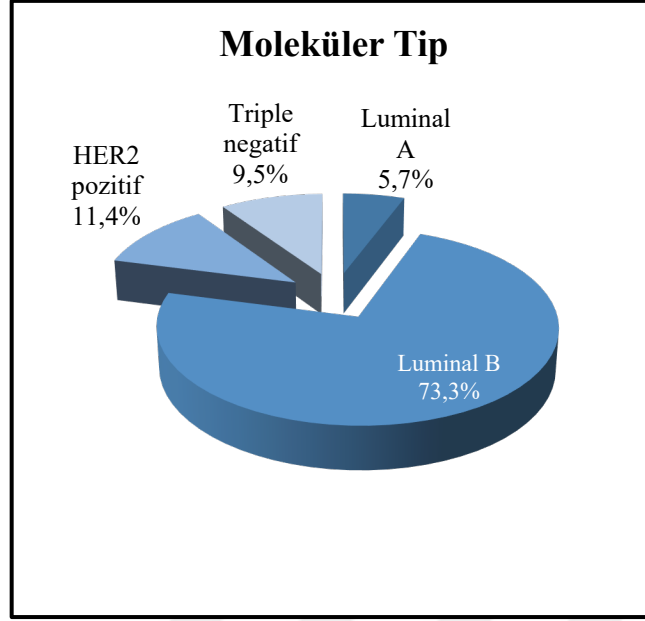


**Şekil 13:** Tüm olgularda Genel Sağkalım ve Hastaliksız Sağkalım grafiği

## 4.2. HİSTOPATOLOJİK VERİLER

Olguların %81'inin (n=85) histolojik tipinin invaziv meme karsinomu NST, %19'unun (n=20) diğer tipler olduğu gözlenmiştir. Olguların diğer histolojik tipleri; 4 olguda müsinöz karsinom + NST (mikst karsinom), 2 olguda mikropapiller karsinom + NST (mikst karsinom), 2 olguda lobüler karsinom, 2 olguda müsinöz karsinom, 3 olguda apokrin diferansiyasyon gösteren karsinom, 5 olguda nöroendokrin diferansiyasyon gösteren karsinom NST, 1 olguda metaplastik karsinom ve 1 olguda mikropapiller karsinom şeklindedir.

Olguların %5,7'sinin (n=6) moleküler alt tipinin Luminal A olduğu, %73,3'ünün (n=77) Luminal B, %11,4'ünün (n=12) HER2-pozitif ve %9,5'inin (n=10) Triple negatif olduğu gözlenmiştir. Olguların %79'unda (n=83) ER pozitif, %68,6'sında (n=72) PR pozitif ve %40'ında (n=42) HER2 pozitif olduğu gözlenmiştir (Şekil 14).



**Şekil 14:** Olguların moleküler alt tiplere ve ER, PR ve HER2 durumlarına göre dağılımı

Olguların Ki-67 ölçümleri 7 ile 90 arasında değişmekte olup, ortalama  $42,52 \pm 25,11$  olarak saptanmıştır.

Olguların %6,7'sinin (n=7) histolojik derecesinin 1, %52,4'ünün (n=55) derecesinin 2 ve %41'inin (n=43) derecesinin 3 olduğu gözlenmiştir.

Olguların tedavi sonrasında patolojik evrelemelerine bakıldığında ve %8,6'sının (n=9) Tis, %9,5'inin (n=10) ypT düzeyinin T0, %34,3'ünün (n=36) T1,

%38,1'inin (n=40) T2, %6,7'sinin (n=7) T3, %2,9'unun (n=3) T4 olduğu gözlenmiştir.

Olguların %33,3'ünün (n=35) ypN evresinin N0, %35,2'sinin (n=37) N1, %10,5'inin (n=11) N2 ve %21'inin (n=22) N3 olduğu gözlenmiştir.

Olguların %18,1'inin (n=19) evresinin evre 0, %10,5'inin (n=11) evre 1, %36,2'sinin (n=38) evre 2 ve %35,2'sinin (n=37) evre 3 olduğu gözlenmiştir (Tablo 13).

Olguların Miller-Payne skoru 1 ile 5 arasında değişmekte olup, ortalama  $2,75 \pm 1,37$  olarak saptanmıştır

**Tablo 13:** Tedavi sonrası evrelemeye ilişkin dağılımlar

		n (%)
<b>ypT</b>	<b>Tis</b>	9 (8,6)
	<b>T0</b>	10 (9,5)
	<b>T1</b>	36 (34,3)
	<b>T2</b>	40 (38,1)
	<b>T3</b>	7 (6,7)
	<b>T4</b>	3 (2,9)
<b>ypN</b>	<b>N0</b>	35 (33,3)
	<b>N1</b>	37 (35,2)
	<b>N2</b>	11 (10,5)
	<b>N3</b>	22 (21,0)
<b>Evre</b>	<b>Evre 0</b>	19 (18,1)
	<b>Evre 1</b>	11 (10,5)
	<b>Evre 2</b>	38 (36,2)
	<b>Evre 3</b>	37 (35,2)

#### 4.3. NAT ÖNCESİ TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ÖLÇÜMLERİNE İLİŞKİN VERİLER

NAT öncesi TİL yüzdelerini hafif (%1-10), orta (%11-49) ve yüksek (%50≤) olarak sınıflandırıldığımızda NAT öncesi TİL düzeylerine göre olguların tedavi yanıtlarının dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,015$ ;  $p<0,05$ ). TİL düzeyi şiddetli olan olguların tedavi yanıtının pCR olması oranı, TİL düzeyi hafif olanlara göre yüksek saptanmıştır.

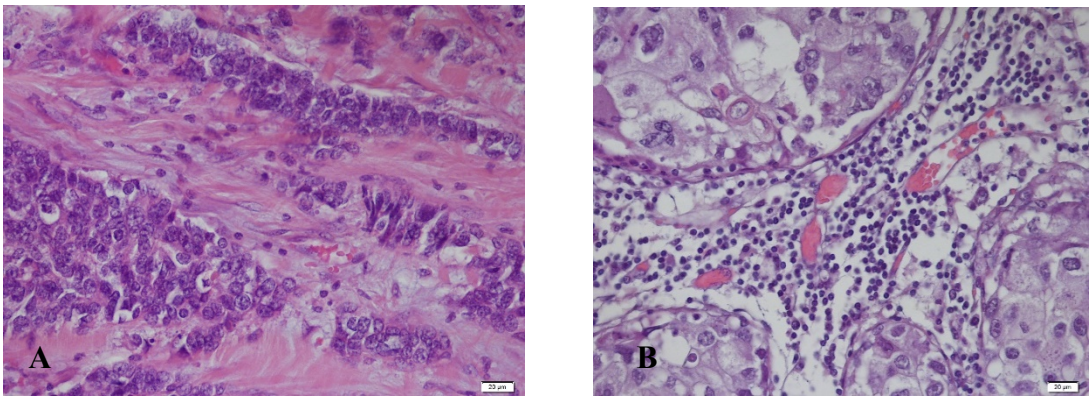
NAT öncesi TİL düzeylerine göre olgularda histolojik tip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ). TİL düzeyi arttıkça invaziv karsinom, NST görülme oranı artmaktadır.

NAT öncesi TİL düzeylerine göre olguların ypT evrelerinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,020$ ;  $p<0,05$ ). TİL düzeyi şiddetli olan olguların ypT evresinin T2 olması oranı, TİL düzeyi hafif olanlara göre düşük saptanmıştır.

NAT öncesi TİL düzeylerine göre olguların ypN evrelerinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ). TİL düzeyi hafif olan olguların ypN evresinin N0 olması oranı, TİL düzeyi orta ve şiddetli olanlara göre düşük saptanmıştır.

NAT öncesi TİL düzeylerine göre olguların evrelerinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ). TİL düzeyi hafif olan olguların Evre 0 olması oranı, TİL düzeyi şiddetli olanlara göre düşük saptanmıştır.

NAT öncesi TİL düzeylerine göre olguların Miller-Payne skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,017$ ;  $p<0,05$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; TİL düzeyi şiddetli olan olguların Miller Payne skoru, TİL düzeyi hafif olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,022$ ;  $p<0,05$ ) (Şekil 15).



**Şekil 15:** A: NAT sonrası Miller Payne skoru 1 olan olguya ait tru-cut biyopsi örneğinde TİL düzeyi %5, hafif; B: NAT sonrası Miller Payne skoru 3 olan olguya ait tru-cut biyopsi örneğinde TİL düzeyi %70, yüksek

NAT öncesi TİL düzeylerine göre olgularda LVİ görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0,004; p<0,01). TİL düzeyi arttıkça olgularda LVİ görülme oranı düşmektedir.

NAT öncesi TİL düzeylerini orta-hafif-yüksek olarak grupladığımızda; olguların yaş, moleküler tip dağılımları, ER, PR ve HER2 durumları, Ki-67 proliferasyon indeksi, histolojik dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

NAT öncesi TİL düzeylerine göre olgularda PNI, nüks/metastaz ve son durumları, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05) (Tablo 14).

**Tablo 14:** NAT öncesi TİL düzeylerine ilişkin değerlendirmeler

		NAT Öncesi TİL			p
		Hafif	Orta	Şiddetli	
<b>Yaş</b>	<65 yaş	28 (84,8)	56 (87,5)	8 (100,0)	<sup>a</sup> 0,649
	≥65 yaş	5 (15,2)	8 (12,5)	0 (0,0)	
<b>Histolojik tip</b>	NST	20 (60,6)	57 (89,1)	8 (100,0)	<sup>b</sup> 0,001**
	Diğer	13 (39,4)	7 (10,9)	0 (0,0)	
<b>Moleküler tip</b>	Luminal A	4 (12,1)	2 (3,1)	0 (0,0)	<sup>a</sup> 0,620
	Luminal B	24 (72,7)	47 (73,4)	6 (75,0)	
	HER2-pozitif	3 (9,1)	8 (12,5)	1 (12,5)	
	Triple negatif	2 (6,1)	7 (10,9)	1 (12,5)	
<b>ER Durumu</b>	Pozitif	28 (84,8)	49 (76,6)	6 (75,0)	<sup>b</sup> 0,610
	Negatif	5 (15,2)	15 (23,4)	2 (25,0)	
<b>PR Durumu</b>	Pozitif	27 (81,8)	40 (62,5)	5 (62,5)	<sup>b</sup> 0,150
	Negatif	6 (18,2)	24 (37,5)	3 (37,5)	
<b>HER2 Durumu</b>	Pozitif	10 (30,3)	28 (43,8)	4 (50,0)	<sup>a</sup> 0,384
	Negatif	23 (69,7)	36 (56,3)	4 (50,0)	
<b>Ki-67</b>	Medyan (Q1-Q3)	25 (20-60)	40 (20-65)	55 (42,5-75)	<sup>c</sup> 0,120
<b>Histolojik derece</b>	1	3 (9,1)	4 (6,3)	0 (0,0)	<sup>a</sup> 0,178
	2	22 (66,7)	29 (45,3)	4 (50,0)	
	3	8 (24,2)	31 (48,4)	4 (50,0)	
<b>ypT</b>	Tis	0 (0,0)	7 (10,9)	2 (25,0)	<sup>a</sup> 0,020*
	T0	2 (6,1)	6 (9,4)	2 (25,0)	
	T1	8 (24,2)	25 (39,1)	3 (37,5)	

	<b>T2</b>	17 (51,5)	22 (34,4)	1 (12,5)	
	<b>T3</b>	6 (18,2)	4 (6,3)	0 (0,0)	
<b>ypN</b>	<b>N0</b>	4 (12,1)	25 (39,1)	6 (75,0)	<sup>a</sup> <b>0,001**</b>
	<b>N1</b>	13 (39,4)	24 (37,5)	0 (0,0)	
	<b>N2</b>	7 (21,2)	3 (4,7)	1 (12,5)	
	<b>N3</b>	9 (27,3)	12 (18,8)	1 (12,5)	
<b>Evre</b>	<b>Evre 0</b>	2 (6,1)	13 (20,3)	4 (50,0)	<sup>a</sup> <b>0,001**</b>
	<b>Evre 1</b>	0 (0,0)	9 (14,1)	2 (25,0)	
	<b>Evre 2</b>	14 (42,4)	24 (37,5)	0 (0,0)	
	<b>Evre 3</b>	17 (51,5)	18 (28,1)	2 (25,0)	
<b>Miller Payne Skor</b>	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	2 (2-3)	3 (2-4)	5 (3-5)	<sup>c</sup> <b>0,017*</b>
<b>Tedavi Yanıtı</b>	<b>pCR</b>	2 (6,1)	13 (20,3)	4 (50,0)	<sup>b</sup> <b>0,015*</b>
	<b>Non-pCR</b>	31 (93,9)	51 (79,7)	4 (50,0)	
<b>PNİ</b>	<b>Var</b>	15 (45,5)	20 (31,3)	2 (25,0)	<sup>b</sup> <b>0,313</b>
	<b>Yok</b>	18 (54,5)	44 (68,8)	6 (75,0)	
<b>LVİ</b>	<b>Var</b>	30 (90,9)	46 (71,9)	3 (37,5)	<sup>b</sup> <b>0,004**</b>
	<b>Yok</b>	3 (9,1)	18 (28,1)	5 (62,5)	
<b>Nüks/ Metastaz</b>	<b>Yok</b>	21 (63,6)	43 (67,2)	7 (87,5)	<sup>b</sup> <b>0,430</b>
	<b>Var</b>	12 (36,4)	21 (32,8)	1 (12,5)	
<b>Son Durum</b>	<b>Sağ</b>	24 (72,7)	48 (75,0)	7 (87,5)	<sup>b</sup> <b>0,775</b>
	<b>Exitus</b>	9 (27,3)	16 (25,0)	1 (12,5)	

<sup>a</sup>Fisher Freeman Halton Test

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

<sup>c</sup>Kruskal Wallis Test

\* $p < 0,05$

\*\* $p < 0,01$

NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 düzeylerini medyan değerlerine göre;

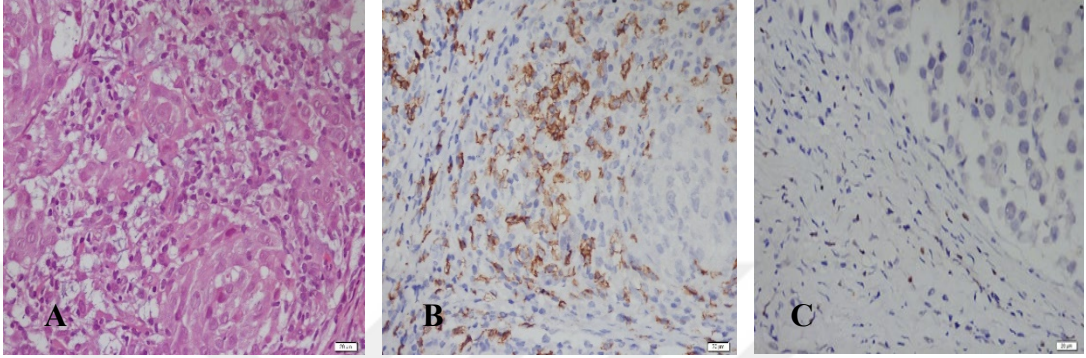
Yaş gruplarına göre olguların NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p > 0,05$ ).

Tedavi yanıtına göre; tedavi yanıtı pCR olan olguların NAT öncesi TİL değeri, tedavi yanıtı non-PCR olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p = 0,004$ ;  $p < 0,01$ ).



Tedavi yanıtı pCR olan olguların NAT öncesi CD8 değeri, tedavi yanıtı non-pCR olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,019$ ;  $p<0,05$ ) (Şekil 16).

Tedavi yanıtına göre olguların NAT öncesi FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).



**Şekil 16:** Patolojik komplet yanıt gösteren olguya ait tru-cut biyopsi örneğinde %60, yüksek TİL H&E(A), CD8(B) ve FOXP3(C) immunohistokimyasal boyamaları

*Histolojik tipi* NST olan olguların NAT öncesi TİL değeri, diğer tiplere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,007$ ;  $p<0,01$ ).

Histolojik tiplere göre olguların NAT öncesi CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*Moleküler alt tiplere göre* olguların NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*ER durumuna göre* olguların NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*PR durumuna göre* olguların NAT öncesi CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*HER2 durumuna göre* olguların NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

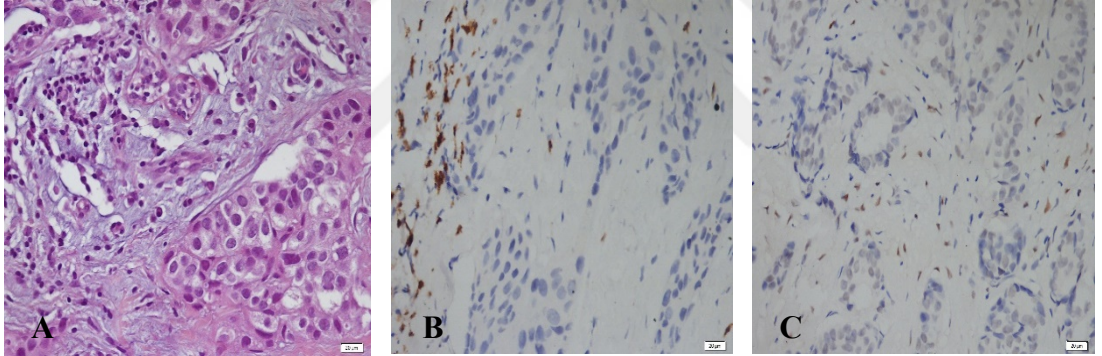
*Histolojik dereceye göre* olguların NAT öncesi TİL ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,019$ ;  $p<0,05$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; histolojik derecesi 2

olan olguların TİL değeri, derecesi 3 olanlara göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,022$ ;  $p<0,05$ ).

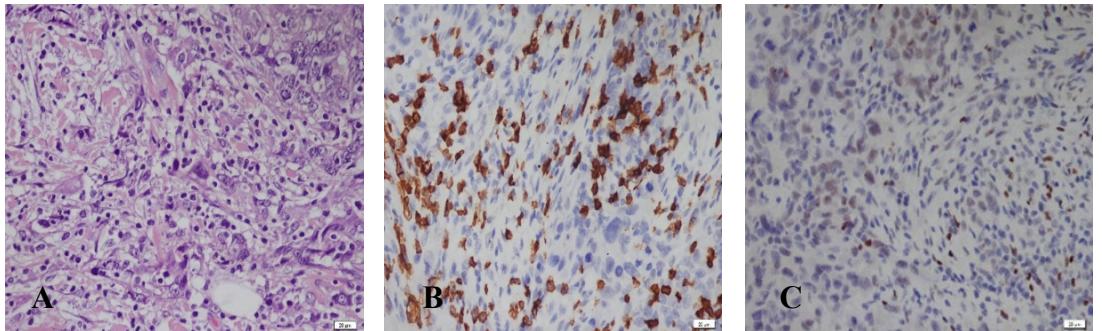
Histolojik dereceye göre olguların NAT öncesi CD8 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Histolojik dereceye göre olguların NAT öncesi FOXP3 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,005$ ;  $p<0,01$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; histolojik derecesi 2 olan olguların FOXP3 değeri, derecesi 3 olanlara göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,007$ ;  $p<0,01$ ).

Histolojik dereceye göre olguların NAT öncesi CD8/FOXP3 oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,039$ ;  $p<0,05$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; histolojik derecesi 2 olan olguların CD8/FOXP3 değeri, derecesi 3 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,018$ ;  $p<0,05$ ) (Şekil 17, 18).



**Şekil 17:** Histolojik derecesi 2 olan olguya ait tru-cut biyopsi örneğinde %20, orta TİL H&E(A), CD8(B) ve FOXP3(C) immunohistokimyasal boyamaları



**Şeki 18:** Histolojik derecesi 3 olan olguya ait tru-cut biyopsi örneğinde %50, yüksek TİL H&E(A), CD8(B) ve FOXP3(C) immunohistokimyasal boyamaları

*Tedavi sonrası T evrelerine göre* olguların NAT öncesi TİL ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; ypT evresi Tis olan olguların TİL değeri, ypT evresi T2 ve T3+ T4 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,017$ ;  $p=0,001$ ;  $p<0,05$ ).

ypT evrelerine göre olguların NAT öncesi CD8 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; ypT evresi Tis olan olguların CD8 değeri, ypT evresi T2 ve T3+ T4 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,014$ ;  $p=0,001$ ;  $p<0,05$ ).

ypT evrelerine göre olguların NAT öncesi FOXP3 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,016$ ;  $p<0,05$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; ypT evresi T1 olan olguların FOXP3 değeri, ypT evresi T3+ T4 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,008$ ;  $p<0,01$ ).

ypT evrelerine göre olguların NAT öncesi CD8/FOXP3 oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

*Tedavi sonrası N evrelerine göre* olguların NAT öncesi TİL ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,002$ ;  $p<0,01$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; ypN evresi N0 olan olguların TİL değeri, ypN evresi N1 ve N2 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,003$ ;  $p=0,039$ ;  $p<0,05$ ).

ypN evrelerine göre olguların NAT öncesi CD8 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,009$ ;  $p<0,01$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; ypN evresi N0 olan olguların CD8 değeri, ypN evresi N3 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,014$ ;  $p<0,05$ ).

ypN evrelerine göre olguların NAT öncesi FOXP3 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,031$ ;  $p<0,05$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; ypN evresi N0 olan olguların FOXP3 değeri, ypN evresi N1 ve N2 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,018$ ;  $p=0,012$ ;  $p<0,05$ ).

ypN evrelerine göre olguların NAT öncesi CD8/FOXP3 oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

*Tedavi sonrası evrelerine göre* olguların NAT öncesi TİL ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; evresi 0 olan olguların TİL değeri, evresi 2 ve 3 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,010$ ;  $p=0,012$ ;  $p<0,05$ ). Aynı şekilde evresi 1 olan olguların TİL değeri, evresi 2 ve 3 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,004$ ;  $p=0,005$ ;  $p<0,01$ ).

Evrelerine göre olguların NAT öncesi CD8 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,004$ ;  $p<0,01$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; evresi 3 olan olguların CD8 değeri, evresi 0 ve 1 olanlara göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,010$ ;  $p=0,040$ ;  $p<0,05$ ).

Evrelerine göre olguların NAT öncesi FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*PNİ varlığına göre* olguların NAT öncesi TİL, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

PNİ olan olguların NAT öncesi CD8 değeri, PNİ gözlenmeyen olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,018$ ;  $p<0,05$ ).

*LVİ durumuna göre* LVİ olan olguların NAT öncesi TİL değeri, LVİ gözlenmeyen olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,002$ ;  $p<0,01$ ).

LVİ olan olguların NAT öncesi CD8 değeri, LVİ gözlenmeyen olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,017$ ;  $p<0,05$ ).

LVİ varlığına göre olguların NAT öncesi FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*Nüks/metastaz durumuna göre* olguların NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*Son duruma göre* olguların NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

**Tablo 15:** NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerine ilişkin değerlendirmeler

		NAT Öncesi TİL	NAT Öncesi CD8	NAT Öncesi FOXP3	NAT Öncesi CD8/FOXP3
		Medyan (Q1- Q3)	Medyan (Q1- Q3)	Medyan (Q1- Q3)	Medyan (Q1- Q3)
Yaş	<65 yaş	15 (5-30)	31,5 (21-44)	12 (7-17)	2,8 (1,9-4,5)
	≥65 yaş	10 (3-20)	29 (20-35)	11 (6-14)	2,6 (2,2-4,8)
	<i>p</i>	<sup>a</sup> <b>0,136</b>	<sup>a</sup> <b>0,468</b>	<sup>a</sup> <b>0,402</b>	<sup>a</sup> <b>0,812</b>
Histolojik tip	NST	15 (10-30)	32 (21-44)	11 (7-17)	2,8 (2-4,3)
	Diğer	6,5 (3-17,5)	27,5 (20,5- 36,5)	13 (5-16)	2,7 (1,7-4,8)
	<i>p</i>	<sup>a</sup> <b>0,007**</b>	<sup>a</sup> <b>0,157</b>	<sup>a</sup> <b>0,825</b>	<sup>a</sup> <b>0,785</b>
Moleküler tip	Luminal A	5 (3-10)	24 (22-29)	5,5 (3-7)	4,6 (3,7-5,3)
	Luminal B	12 (5-25)	32 (21-44)	12 (8-18)	2,5 (1,9-4,6)
	HER2- pozitif	32,5 (6,5-40)	34 (25-42,5)	10,5 (6,5-14)	2,9 (2,4-6,1)
	Triple negatif	15 (12-30)	26 (20-27)	12,5 (8-15)	2,4 (1,6-3,3)
	<i>p</i>	<sup>c</sup> <b>0,204</b>	<sup>c</sup> <b>0,190</b>	<sup>c</sup> <b>0,070</b>	<sup>c</sup> <b>0,063</b>
ER Durumu	Pozitif	10 (5-25)	31 (21-44)	12 (7-17)	2,8 (1,9-4,8)
	Negatif	20 (10-40)	27,5 (20-37)	11 (7-15)	2,9 (2-3,6)
	<i>p</i>	<sup>a</sup> <b>0,243</b>	<sup>a</sup> <b>0,636</b>	<sup>a</sup> <b>0,576</b>	<sup>a</sup> <b>0,997</b>
PR Durumu	Pozitif	10 (5-25)	29,5 (20-41)	11,5 (6,5- 16,5)	2,7 (1,8-4,7)
	Negatif	20 (10-40)	35 (26-45)	12 (8-16)	2,8 (2-3,6)
	<i>p</i>	<sup>a</sup> <b>0,046*</b>	<sup>a</sup> <b>0,156</b>	<sup>a</sup> <b>0,694</b>	<sup>a</sup> <b>0,844</b>
HER2 Durumu	Pozitif	15 (10-40)	36 (23-45)	11 (8-15)	2,8 (2,1-4,6)
	Negatif	10 (5-25)	28 (20-40)	12 (5-17)	2,6 (1,8-4,5)
	<i>p</i>	<sup>a</sup> <b>0,063</b>	<sup>a</sup> <b>0,057</b>	<sup>a</sup> <b>0,979</b>	<sup>a</sup> <b>0,654</b>
Histolojik derece	1	10 (3-25)	29 (17-44)	7 (5-12)	3 (2,4-4,8)
	2	10 (5-20)	30 (20-41)	10 (5-14)	3,5 (2,2-5)
	3	20 (10-35)	36 (26-45)	15 (10-26)	2,3 (1,7-3,4)
	<i>p</i>	<sup>c</sup> <b>0,019*</b>	<sup>c</sup> <b>0,300</b>	<sup>c</sup> <b>0,005**</b>	<sup>c</sup> <b>0,039*</b>
ypT	Tis	40 (20-40)	49 (45-52)	14 (9-17)	3,7 (3,4-4,6)
	T1	15 (10-32,5)	33,5 (24-44)	13 (9-19)	2,5 (2,1-3,7)
	T2	10 (5-25)	28 (21,5-38,5)	11,5 (6,5-16)	2,7 (1,8-4,3)
	T3 + T4	5 (3-10)	19 (15-23)	4 (3-7)	4,9 (4,3-5,8)

	<i>p</i>	<sup>c</sup> <b>0,001**</b>	<sup>c</sup> <b>0,001**</b>	<sup>c</sup> <b>0,016*</b>	<sup>c</sup> <b>0,165</b>
<b>ypN</b>	<b>N0</b>	20 (15-40)	40 (26-49)	13 (10-20)	2,3 (1,9-3,7)
	<b>N1</b>	10 (5-15)	28 (20-40)	10 (5-15)	3,2 (2,2-4,7)
	<b>N2</b>	5 (4-30)	27 (16-32)	6 (4-12)	3,5 (2,5-5,4)
	<b>N3</b>	12,5 (5-25)	26 (20-34)	11,5 (7-17)	2,3 (1,4-3,5)
	<i>p</i>	<sup>c</sup> <b>0,002**</b>	<sup>c</sup> <b>0,009**</b>	<sup>c</sup> <b>0,031*</b>	<sup>c</sup> <b>0,117</b>
<b>Evre</b>	<b>Evre 0</b>	30 (10-40)	45 (24-52)	12 (9-17)	3,4 (2-4,6)
	<b>Evre 1</b>	25 (15-40)	39 (33-44)	14 (12-20)	2,3 (2,2-3)
	<b>Evre 2</b>	10 (5-15)	29 (20-41)	12 (7-17)	2,7 (1,7-4,5)
	<b>Evre 3</b>	10 (5-25)	26 (17-34)	8 (4-15)	2,8 (2-5)
	<i>p</i>	<sup>c</sup> <b>0,001**</b>	<sup>c</sup> <b>0,004**</b>	<sup>c</sup> <b>0,059</b>	<sup>c</sup> <b>0,687</b>
<b>Tedavi Yanıtı</b>	<b>pCR</b>	30 (10-40)	45 (24-52)	12 (9-17)	3,4 (2-4,6)
	<b>Non-pCR</b>	10 (5-25)	28,5 (20-40)	11,5 (6-16)	2,7 (1,9-4,5)
	<i>p</i>	<sup>d</sup> <b>0,004**</b>	<sup>d</sup> <b>0,019*</b>	<sup>d</sup> <b>0,453</b>	<sup>d</sup> <b>0,739</b>
<b>PNİ</b>	<b>Var</b>	10 (5-20)	26 (17-35)	10 (4-14)	2,5 (1,9-5,3)
	<b>Yok</b>	15 (8-35)	34 (23-44,5)	12 (7,5-17,5)	2,8 (2-4,2)
	<i>p</i>	<sup>d</sup> <b>0,094</b>	<sup>d</sup> <b>0,018*</b>	<sup>d</sup> <b>0,081</b>	<sup>d</sup> <b>0,846</b>
<b>LVI</b>	<b>Var</b>	10 (5-25)	28 (20-40)	11 (6-16)	2,8 (1,9-4,8)
	<b>Yok</b>	22,5 (10-40)	39,5 (27-48)	13,5 (10-17)	2,5 (2-3,7)
	<i>p</i>	<sup>d</sup> <b>0,002**</b>	<sup>d</sup> <b>0,017*</b>	<sup>d</sup> <b>0,121</b>	<sup>d</sup> <b>0,694</b>
<b>Nüks/Metastaz</b>	<b>Yok</b>	15 (5-30)	33 (20-45)	11 (7-16)	2,8 (2-4,5)
	<b>Var</b>	10 (5-30)	26 (21-40)	12 (7-17)	3 (1,5-4,9)
	<i>p</i>	<sup>d</sup> <b>0,586</b>	<sup>d</sup> <b>0,229</b>	<sup>d</sup> <b>0,848</b>	<sup>d</sup> <b>0,639</b>
<b>Son Durum</b>	<b>Sağ</b>	15 (5-35)	32 (20-44)	12 (7-16)	2,8 (2-4,4)
	<b>Exitus</b>	10 (5-25)	26,5 (21-40)	10,5 (4-17)	3,2 (1,7-5)
	<i>p</i>	<sup>d</sup> <b>0,315</b>	<sup>d</sup> <b>0,427</b>	<sup>d</sup> <b>0,511</b>	<sup>d</sup> <b>0,632</b>

<sup>c</sup>Kruskal Wallis Test

<sup>d</sup>Mann Whitney U test

\**p*<0,05

\*\**p*<0,01

#### 4.4. NAT SONRASI TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ÖLÇÜMLERİNE İLİŞKİN VERİLER

NAT sonrası TİL düzeylerini hafif-orta-şiddetli olarak grupladığımızda olguların yaş, moleküler alt tip, ER, PR ve HER2 durumları, histolojik derece, ypT, ypN, evre, Miller Payne skoru, PNİ, LVI, nüks/metastaz ve son duruma göre, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (*p*>0,05).

NAT sonrası TİL düzeylerine göre olgularda histolojik tip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,005$ ;  $p<0,01$ ). TİL düzeyi arttıkça NST görülme oranı artmaktadır.

NAT sonrası TİL düzeylerine göre olguların Ki-67 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,040$ ;  $p<0,05$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; TİL düzeyi orta olan olguların Ki-67 değeri, TİL düzeyi hafif olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,044$ ;  $p<0,05$ ).

NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 düzeylerini medyan değerlerine göre;

*Yaş* gruplarına göre olguların NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*Histolojik tipi* NST olan olguların NAT sonrası TİL değeri, histolojik tipi diğer olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,002$ ;  $p<0,01$ ).

Histolojik tipi NST olan olguların NAT sonrası CD8 değeri, histolojik tipi diğer olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,037$ ;  $p<0,05$ ).

Histolojik tipine göre olguların NAT sonrası FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*Moleküler alt tipe* göre olguların NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*ER durumu* pozitif olan olguların NAT sonrası TİL değeri, negatif olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,018$ ;  $p<0,05$ ).

ER durumuna göre olguların NAT sonrası CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

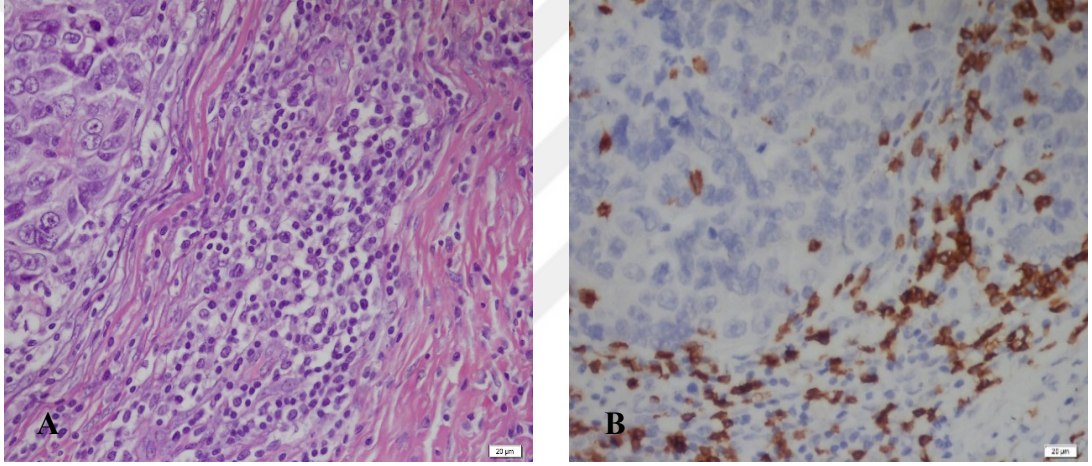
*PR durumu* pozitif olan olguların NAT sonrası TİL değeri, negatif olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,022$ ;  $p<0,05$ ).

PR durumuna göre olguların NAT sonrası CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

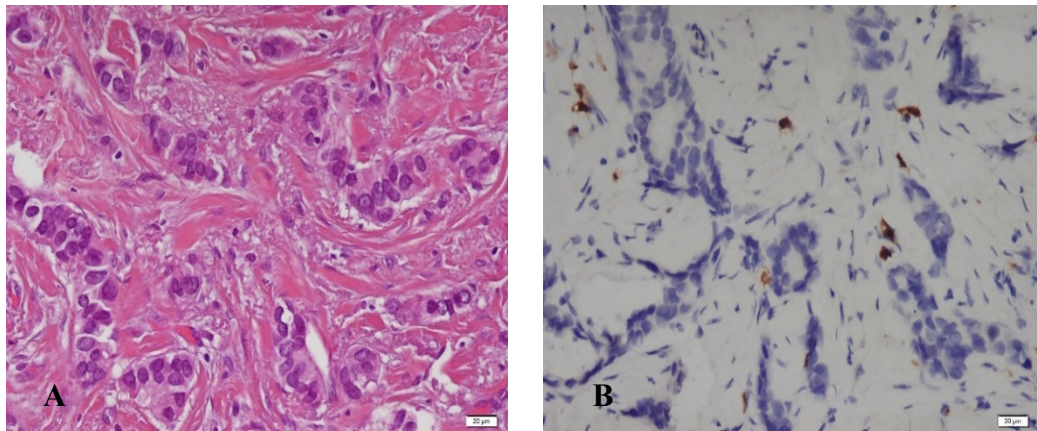
*HER2 durumuna* göre olguların NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*Histolojik dereceye* göre olguların NAT sonrası TİL, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

Histolojik dereceye göre olguların NAT sonrası CD8 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,047$ ;  $p<0,05$ ). Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarına göre; histolojik derecesi 1 olan olguların CD8 değeri, 3 olan olgulara göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,023$ ;  $p<0,05$ ) (Şekil 19, 20).



**Şekil 19:** Histolojik derecesi 3 olan olguya ait rezeksiyon materyalinde %60, yüksek TİL H&E(A), CD8(B) immunohistokimyasal boyamaları



**Şekil 20:** Histolojik derecesi 1 olan olguya ait rezeksiyon materyalinde %5, düşük TİL H&E(A), CD8(B) immunohistokimyasal boyamaları



*ypT*, *ypN* ve *evrelerine* göre olguların NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*PNİ* varlığına göre olguların NAT sonrası TİL, CD8 ve FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*PNİ* gözlenen olguların NAT sonrası CD8/FOXP3 değeri, *PNİ* gözlenmeyen olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ( $p=0,031$ ;  $p<0,05$ ).

*LVİ* varlığına göre olguların NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

*Nüks/metastaz varlığı ve son duruma göre* olguların NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ) (Tablo 16).

**Tablo 16:** NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerine ilişkin değerlendirmeler

		NAT Sonrası TİL	NAT Sonrası i CD8	NAT Sonrası FOXP3	NAT Sonrası CD8/FOXP3
		Medyan (Q1- Q3)	Medyan (Q1- Q3)	Medyan (Q1- Q3)	Medyan (Q1- Q3)
Yaş	<65 yaş	17,5 (8-35)	40 (26-51)	8,5 (5-17)	3,7 (2,6-6,5)
	≥65 yaş	17,5 (7,5-30)	36 (24,5-44)	6,5 (4-10)	4,2 (3,1-9,1)
	<i>p</i>	<sup>d</sup> 0,876	<sup>d</sup> 0,645	<sup>d</sup> 0,228	<sup>d</sup> 0,254
Histolojik tip	NST	20 (10-40)	40 (28-51)	10 (5-20)	3,9 (2,6-7)
	Diğer	8 (5-20)	27 (18-47)	6 (5-10)	3,3 (3-6,7)
	<i>p</i>	<sup>d</sup> 0,002**	<sup>d</sup> 0,037*	<sup>d</sup> 0,178	<sup>d</sup> 0,716
Moleküler tip	Luminal A	15 (5-15)	37 (28-42)	8,5 (4-11)	4,1 (3,5-6,4)
	Luminal B	15 (6-30)	38 (24-50,5)	7 (4,5-16)	3,8 (2,6-6,9)
	HER2-pozitif	30 (20-40)	44 (27-48)	10 (5-20)	2,7 (2,4-9,2)
	Triple negatif	30 (20-50)	44 (39-51)	10 (6-14)	3,9 (3,6-4,7)
	<i>p</i>	<sup>c</sup> 0,118	<sup>c</sup> 0,702	<sup>c</sup> 0,799	<sup>c</sup> 0,792
ER Durumu	Pozitif	15 (6-30)	38 (25-50)	7,5 (4-13)	3,9 (2,7-6,7)
	Negatif	30 (20-47,5)	44 (33-49,5)	10 (5,5-19,5)	3,6 (2,7-6)
	<i>p</i>	<sup>d</sup> 0,018*	<sup>d</sup> 0,272	<sup>d</sup> 0,358	<sup>d</sup> 0,799
PR Durumu	Pozitif	15 (5-30)	38 (23-50)	8 (5-13)	3,8 (2,6-6,7)

	<b>Negatif</b>	25 (15-35)	43 (28-49)	10 (5-17)	3,6 (2,9-6,5)
	<b>p</b>	<sup>d</sup> <b>0,022*</b>	<sup>d</sup> <b>0,432</b>	<sup>d</sup> <b>0,962</b>	<sup>d</sup> <b>0,555</b>
<b>HER2 Durumu</b>	<b>Pozitif</b>	20 (10-37,5)	41,5 (25,5-56,5)	9 (5-20)	3,5 (2,4-6,4)
	<b>Negatif</b>	15 (6-30)	39 (26-47)	8 (4-14)	4 (2,8-7)
	<b>p</b>	<sup>d</sup> <b>0,415</b>	<sup>d</sup> <b>0,464</b>	<sup>d</sup> <b>0,454</b>	<sup>d</sup> <b>0,447</b>
<b>Histolojik derece</b>	<b>1</b>	15 (6-55)	28 (23-33)	10 (4-11)	3,5 (2,6-6,6)
	<b>2</b>	15 (5-25)	38 (23-47,5)	7 (4-17,5)	3,7 (2,7-7,5)
	<b>3</b>	25 (12-40)	44 (30-53)	10 (5-19)	4,3 (2,8-6,7)
	<b>p</b>	<sup>c</sup> <b>0,055</b>	<sup>c</sup> <b>0,047*</b>	<sup>c</sup> <b>0,551</b>	<sup>c</sup> <b>0,847</b>
<b>ypT</b>	<b>T1</b>	20 (9-37,5)	34,5(23-46,5)	7 (4-11)	4,1 (2,8-6,6)
	<b>T2</b>	20 (10-35)	44 (29-50,5)	10 (5-20)	3,6 (2,6-6,6)
	<b>T3 + T4</b>	8 (5-15)	35,5 (21-51)	7,5 (4-15)	4,8 (1,8-8,7)
	<b>p</b>	<sup>c</sup> <b>0,071</b>	<sup>c</sup> <b>0,369</b>	<sup>c</sup> <b>0,409</b>	<sup>c</sup> <b>0,651</b>
<b>ypN</b>	<b>N0</b>	30 (11-40)	51 (31-66,5)	10,5 (6-16,5)	3,9 (2,7-8,4)
	<b>N1</b>	15 (10-30)	39 (28-47)	7 (5-11)	4 (2,6-7)
	<b>N2</b>	15 (5-30)	28 (23-39)	6 (4-25)	3,8 (2,7-8,8)
	<b>N3</b>	17,5 (5-35)	42 (20-48)	9 (4-15)	3,5 (2,6-4,4)
	<b>p</b>	<sup>c</sup> <b>0,346</b>	<sup>c</sup> <b>0,118</b>	<sup>c</sup> <b>0,753</b>	<sup>c</sup> <b>0,793</b>
<b>Evre</b>	<b>Evre 1</b>	35 (10-40)	42 (24-75)	7 (4-11)	6 (3,6-10,5)
	<b>Evre 2</b>	20 (10-30)	40 (29-50)	10 (5-20)	3,6 (2,6-6,4)
	<b>Evre 3</b>	15 (5-30)	36 (21-46)	6 (4-13)	3,8 (2,7-7)
	<b>p</b>	<sup>c</sup> <b>0,135</b>	<sup>c</sup> <b>0,315</b>	<sup>c</sup> <b>0,457</b>	<sup>c</sup> <b>0,159</b>
<b>PNİ</b>	<b>Var</b>	15 (5-30)	40 (26-51)	10 (6-25)	3,2 (2,1-6,4)
	<b>Yok</b>	20 (8-35)	39 (25-47)	7 (4-11)	4,2 (2,9-7)
	<b>p</b>	<sup>d</sup> <b>0,560</b>	<sup>d</sup> <b>0,501</b>	<sup>d</sup> <b>0,053</b>	<sup>d</sup> <b>0,031*</b>
<b>LVİ</b>	<b>Var</b>	15 (7-32,5)	38,5 (24-47)	8 (5-16)	3,7 (2,6-6,6)
	<b>Yok</b>	20 (10-35)	51 (31-64)	9 (5-14)	5,7 (3,6-10,7)
	<b>p</b>	<sup>d</sup> <b>0,740</b>	<sup>d</sup> <b>0,051</b>	<sup>d</sup> <b>0,968</b>	<sup>d</sup> <b>0,096</b>
<b>Nüks/ Metastaz</b>	<b>Yok</b>	15 (8-30)	38 (25-49)	7 (5-12)	3,9 (2,8-6,6)
	<b>Var</b>	20 (9-37,5)	43,5 (27-51)	10 (5-19,5)	3,6 (2,3-7,8)
	<b>p</b>	<sup>d</sup> <b>0,719</b>	<sup>d</sup> <b>0,369</b>	<sup>d</sup> <b>0,382</b>	<sup>d</sup> <b>0,514</b>
<b>Son Durum</b>	<b>Sağ</b>	20 (6-35)	38 (25-47)	7 (4-12)	3,8 (2,8-6,6)
	<b>Ex</b>	15 (10-30)	44 (30-51)	10 (5-19)	3,6 (2,3-8,7)
	<b>p</b>	<sup>d</sup> <b>0,778</b>	<sup>d</sup> <b>0,268</b>	<sup>d</sup> <b>0,383</b>	<sup>d</sup> <b>0,559</b>

<sup>c</sup>Kruskal Wallis Test

<sup>d</sup>Mann Whitney U test

\* $p < 0,05$

\*\* $p < 0,01$

#### 4.5. Ki-67 ile NAT ÖNCESİ TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ÖLÇÜMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ki-67 ölçümü ile NAT öncesi FOXP3 ölçümleri arasında pozitif yönlü (Ki-67 değeri arttıkça FOXP3 değeri artan) 0,266 düzeyindeki zayıf ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $r=0,266$ ;  $p=0,006$ ;  $p<0,01$ ).

Ki-67 ölçümü ile NAT öncesi CD8/FOXP3 ölçümleri arasında negatif yönlü (Ki-67 değeri arttıkça CD8/FOXP3 değeri azalan) 0,266 düzeyindeki zayıf ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $r=-0,266$ ;  $p=0,006$ ;  $p<0,01$ ).

#### 4.6. NAT ÖNCESİ ve NAT SONRASI TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ÖLÇÜMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

NAT öncesine göre NAT sonrası TİL değerindeki artış, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ).

NAT öncesine göre NAT sonrası CD8 değerindeki artış, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ).

NAT öncesine göre NAT sonrası FOXP3 değerindeki değişim, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

NAT öncesine göre NAT sonrası CD8/FOXP3 değerindeki artış, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ) (Tablo 17).

**Tablo 17:** NAT öncesine göre NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerinin değerlendirilmesi

		NAT Öncesi	NAT Sonrası	<i>p</i>
<b>TİL</b>	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	15 (5-30)	17,5 (8-35)	<b><i>e0,001**</i></b>
<b>CD8</b>	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	31 (21-41)	39,5 (26-50)	<b><i>e0,001**</i></b>
<b>FOXP3</b>	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	12 (7-16)	8 (5-15)	<b><i>e0,240</i></b>
<b>CD8/FOXP3</b>	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	2,82 (1,96-4,5)	3,83 (2,67-6,71)	<b><i>e0,001**</i></b>

*eWilcoxon Signed Ranks Test*

***\*\*p<0,01***

NAT öncesine göre NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerinin farkının histolojik derece ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 18).

NAT öncesine göre NAT sonrası TİL, CD8 ve CD8/FOXP3 ölçümlerinin farkının ypT evresi ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

NAT öncesine göre NAT sonrası FOXP3 farkı ile ypT evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Anlamlılığın hangi evreden kaynaklandığı incelendiğinde; T1 de görülen fark T3+T4 farkından anlamlı düzeyde büyük saptanmıştır ( $p=0,006$ ;  $p<0,01$ ). Diğer T evreleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 19).

**Tablo 18:** Histolojik derece ile NAT öncesine göre NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerinin fark değerlendirmeleri

Histolojik derece		TİL farkı	CD8 farkı	FOXP3 farkı	CD8/FOXP3 farkı
<b>Evre 1</b>	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	3 (-5/35)	22 (11/26)	-2 (-3/2)	0,45 (-1,4/4,2)
<b>Evre 2</b>	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	4 (-4/11)	26,5 (15/42)	0 (-7,5/9)	0,86 (-0,1/2,4)
<b>Evre 3</b>	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	7 (-5/15)	26 (13/39)	-5 (-12/3)	1,40 (0,7/3,2)
<i>p</i>		<b>0,883</b>	<b>0,379</b>	<b>0,158</b>	<b>0,192</b>
<i>Kruskal Wallis test &amp; post hoc Dunn test</i>			<b>*<math>p&lt;0,05</math></b>		

**Tablo 19:** YpT evresi ile NAT öncesine göre NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerinin fark değerlendirmeleri

YpT evre		TİL farkı	CD8 farkı	FOXP3 farkı	CD8/FOXP3 farkı
<b>T1</b>	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	2,5 (-7/10)	21,5(8,5/31,5)	-5 (-12/1)	1,36 (0,5/4,1)
<b>T2</b>	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	8 (-3/16,5)	28 (16/42)	0,5 (-8/7,5)	0,86 (-0,1/2,1)
<b>T3 + T4</b>	<i>Medyan (Q1-Q3)</i>	3,5 (0/10)	31 (17/48)	3,5 (-1/6)	0,49 (-2,1/2,1)
<i>p</i>		<b>0,303</b>	<b>0,112</b>	<b>0,013*</b>	<b>0,145</b>
<i>Post Hoc</i>		-	-	T1>T3+T4	-
<i>Kruskal Wallis test &amp; post hoc Dunn test</i>			<b>*<math>p&lt;0,05</math></b>		

#### 4.7. GENEL SAĞKALIM ve HASTALIKSIZ SAĞKALIM ÜZERİNE DEĞERLENDİRMELER

GS üzerine yaşın, histolojik derecelerin, tedavi yanıtının, NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD/FOXP3 oranının etkilerini Cox regresyon analizi ile değerlendirdiğimizde modelin anlamlı bulunmadığı görülmektedir ( $p=0,666$ ;  $p>0,05$ ). GS 'ye yaşın histolojik gradelerin, NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD/FOXP3 oranının etkilerini Cox regresyon analizi ile değerlendirdiğimizde modelin anlamlı bulunmadığı görülmektedir ( $p=0,928$ ;  $p>0,05$ ) (Tablo 20, 21).

HS'ye yaşın, histolojik gradelerin, tedavi yanıtının, NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD/FOXP3 oranının etkilerini Cox regresyon analizi ile değerlendirdiğimizde modelin anlamlı bulunmadığı görülmektedir ( $p=0,666$ ;  $p>0,05$ ).

**Tablo 20:** Cox Regresyon analizine göre NAT öncesi Mortalite üzerine etkili faktörlerin değerlendirmeleri

	p	HR	95,0 % CI for HR	
			Lower	Upper
Yaş	0,904	0,923	0,252	3,381
NAT öncesi TİL	0,226	0,980	0,947	1,013
NAT öncesi CD8	0,767	0,996	0,969	1,023
NAT öncesi FOXP3	0,578	1,018	0,955	1,086
NAT öncesi CD8/FOXP3	0,583	1,051	0,879	1,257
Histolojik derece	0,660			
Histolojik derece (1)	0,385	2,478	0,319	19,225
Histolojik derece (2)	0,365	2,672	0,319	22,352
Tedavi Yanıtı	0,108	0,192	0,026	1,436

**Tablo 21:** Cox Regresyon analizine göre NAT sonrası Mortalite üzerine etkili faktörlerin değerlendirmeleri

	p	HR	95,0 % CI for HR	
			Lower	Upper
<b>Yaş</b>	0,560	0,647	0,150	2,797
<b>NAT sonrası TİL</b>	0,262	0,984	0,957	1,012
<b>NAT sonrası CD8</b>	0,770	1,005	0,971	1,040
<b>NAT sonrası FOXP3</b>	0,925	1,003	0,934	1,078
<b>NAT sonrası CD8/FOXP3</b>	0,990	1,001	0,828	1,210
<b>Histolojik derece</b>	0,719			
<b>Histolojik derece (1)</b>	0,448	2,234	0,280	17,851
<b>Histolojik derece (2)</b>	0,417	2,426	0,285	20,633

## 5. TARTIŞMA

Meme kanseri, dünya genelinde kadınlarda görülen en sık kanser tipidir (1). Meme kanserinde tedaviyi yönlendirmek için demografik, klinik ve histopatolojik parametrelere gereksinim duyulmaktadır. Son yıllarda meme kanseri insidansının artışına bağlı olarak yeni prognostik belirteçler ve tedavi seçenekleri araştırılmakta olup bunların başında TİL yer almaktadır. Meme kanseri tedavisinde NAT, lokal ileri meme kanserinde evreyi küçültmek ve operabl meme kanserlerinde de meme koruyucu cerrahi şansını arttırmak amacı ile sıklıkla uygulanan bir tedavi rejimi olarak karşımıza çıkmaktadır (13,14). Yüksek TİL varlığı neoadjuvan kemoterapiden sonra daha yüksek patolojik tam yanıt (pCR) oranları ile ilişkili bulunmuştur (5,6,8,11,12). Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak NAT uygulanan meme kanserli hastalar arasında, tedavi öncesi TİL düzeyi şiddetli olan olguların pCR yanıt oranı, TİL düzeyi hafif olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır.

Lee ve arkadaşlarının antrasiklin ve antrasiklin/taksan bazlı neoadjuvan kemoterapi rejimi uygulanan 175 meme kanseri hastasında yaptıkları çalışmada, tümörle ilişkili lenfositlerin pCR ile önemli ölçüde bağlantılı olduğunu ve tedaviye yanıtı öngören önemli bir patolojik faktör olduğu gösterildi (106). Denkert ve arkadaşları 2015 yılında, antrasiklinler ve taksanlar ile neoadjuvan tedavi alan meme kanseri olgularını inceledikleri 1058 hastayı içeren retrospektif bir çalışmada TİL düzeyleri %60'ın üzerinde olan hastalar, düşük düzeyde TİL'e sahip olan hastalara kıyasla daha yüksek pCR oranlarına sahip olduğunu gösterdi (6). Lokal ileri TNMK ve HER2-pozitif meme karsinomlu NAT uygulanan 474 hastanın dahil edildiği başka bir çalışma, tanı anında yüksek TİL seviyelerine sahip TNMK olgularını düşük TİL seviyelerine sahip hastalardan daha yüksek pCR'ye sahip olduğunu öne sürdü (99).

Literatürde özellikle TNMK ve HER2-pozitif meme kanseri gibi yüksek hücrel proliferasyon aktivitesine sahip tümörlerde tedaviye yanıtın öngörücüsü olarak değerlendirilmiş olup tedaviye yanıtı tahmin etmenin en zor olduğu grup en yaygın olan hormon pozitif grup olarak değerlendirilmiştir (6). Bizim çalışmamızda moleküler alt tip olarak baktığımızda olguların %5,7'sinin (n=6) Luminal A olduğu, %73,3'ünün (n=77) Luminal B, %11,4'ünün (n=12) HER2- pozitif ve %9,5'inin (n=10) triple negatif olduğu gözlenmiş olup; Luminal B ile birlikte HER2 pozitifliği

gösteren 40 olgu mevcuttur. Çalışmamızda TNMK ve HER2-pozitif moleküler alt tipte değerlendirilen hasta sayısı az olmakla beraber NAT öncesi TİL ölçümleri ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir.

Seo ve diğerlerinin çalışmasına göre, antrasiklin veya antrasiklin/taksan bazlı NAT ile tedavi edilen meme kanseri hastalarında CD8+ TİL infiltrasyonunun pCR için bağımsız bir prediktif faktör olduğu gösterildi (104). 2014 yılında Brown ve arkadaşları neoadjuvan tedaviden önce meme tümörleri için, CD3, CD8 ve CD20'nin yüksek stromal ekspresyonu, tek değişkenli analizde pCR'yi öngördü. Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak tedavi yanıtı pCR olan olguların NAT öncesi CD8 değeri, tedavi yanıtı non-PCR olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.

Literatürde FOXP3'ün pCR sonucu ile ilişkisi tartışmalıdır. Ladoire ve ark.'nın çalışmasına göre FOXP3+ lenfositlerin kaybolması ile pCR sonucu arasında pozitif ilişki bulundu (111). Literatürde Oda ve ark. ile Lee ve ark. çalışmalarına göre bu beklentinin aksine FOXP3+ T lenfositlerinin yüksek düzey infiltrasyonun pCR ile ilişkilendirildiği çalışmalar da mevcuttur (105,106). FOXP3+ Treg hücrelerinin, çeşitli bağışıklık hücrelerinin efektör fonksiyonlarını baskılayarak anti-tümör bağışıklığını bozduğu bilinmektedir ve kanser hücrelerinin bağışıklık gözetiminden kaçmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, FOXP3+ Treg hücrelerinden fakir olan tümörlerin pCR elde etme olasılığının daha yüksek olacağını öngörsek de çalışmamızda anlamlı ilişki bulunmadı.

TİL'ler, bir kansere yanıt olarak konakçıdaki tümör immün mikroçevresinin düzenlenmesi için bir gösterge görevi görür. TİL alt kümeleri, kanser hücrelerini yok eden CD8+ T lenfositleri ve kanser hücrelerinin hayatta kalmasını ve çoğalmasını destekleyen Treg hücreleri gibi hücreleri içerir (55). Bu nedenle, tümör immün mikroçevresini iyileştirmek için Treg hücrelerinin sayısı ve işlevi kontrol edilmelidir. Bir tümördeki CD8+ TİL'ler ve Treg hücreleri arasındaki dengenin bir göstergesi olarak CD8/FOXP3 oranının, kemoterapi ile tedaviye yanıtı tahmin etmede faydalı olabileceği düşünülmektedir. Literatürde özellikle TNMK'de yüksek CD8/FOXP3 oranı ile daha yüksek pCR oranları da rapor edilmiştir (104,106). Bununla birlikte, farklı meme kanseri alt tipleri ile az sayıda çalışma yapılmıştır. 2016 yılında Asano ve arkadaşlarının çalışmasında agresif meme kanseri alt tipleri ile yüksek CD8/FOXP3



oranı olan hastalarda pCR anlamlı olarak daha yaygındı, ancak hormon pozitif meme kanseri vakalarında anlamlı ilişki bulunmadı (17). Miyashita ve ark çalışmasına göre, yüksek CD8/ FOXP3 oranına sahip TNMK olgularında CD8+ /FOXP3+ oranı, NAT sonrası pCR'yi tahmin edebilir olarak değerlendirilmiştir (15). 2017 yılında Lee ve ark çalışmasında ise CD8/FOXP3 oranı yüksek tedavi yanıtı gösteren grupta daha düşük bulundu ve bu, önceki çalışmalara göre beklenen sonuç değildi (97). Çalışmamızda NAT öncesi CD8/FOXP3 oranı ile tedavi yanıtı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Çalışmamızın potansiyel bir sınırlaması olarak TNMK ve HER2-pozitif moleküler alt tipte değerlendirilen hasta sayısının az olması kaynaklı olabileceği düşünülmüştür.

Literatürde Loi ve ark.'nın tüm moleküler alt tipleri içeren çalışmasına göre, yüksek tümör derecesi yüksek TİL oranları ile korele idi (112). Çalışmamızda da histolojik derecesi 3 olan olguların NAT öncesi TİL değeri histolojik derecesi 2 olan olgulara göre yüksek saptanmıştır. Literatüre baktığımızda derece 3 tümörlerde CD8+ TİL'ler daha fazla sayıdaydılar (73, 107,108) ancak zıt veriler de rapor edildiği çalışmalar mevcuttur. (109,110). Bizim çalışmamızda histolojik dereceye göre olguların NAT öncesi CD8 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Histolojik derecesi 2 olan olguların FOXP3 değeri, derecesi 3 olanlara göre anlamlı düzeyde düşük; histolojik derecesi 2 olan olguların CD8/FOXP3 değeri, derecesi 3 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.

2020 yılında Lee ve arkadaşlarının TNMK olgularında yaptıkları çalışmada RCB sınıfı arttıkça NAT öncesi TİL'ler azalma eğiliminde olarak değerlendirildi (121). Bizim çalışmamızda tümör regresyon skoru olarak Miller-Payne Sistemi kullanılmıştır. NAT öncesi TİL düzeyi şiddetli olan olguların Miller Payne skoru, TİL düzeyi hafif olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.

Asano ve arkadaşlarının çalışmasında CD8/FOXP3 oranı yüksek ve düşük olarak gruplandırıldığında nükleer derece, Ki-67 ve pCR oranı CD8/FOXP3 oranı yüksek grupta anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır. Ancak bu çalışmada tümör çapı, lenf nodu durumu gibi diğer klinikopatolojik özellikler arasında korelasyon bulunmamıştır. Çalışmamızda tedavi sonrası Tis olan olguların NAT öncesi TİL ve CD8 değeri, ypT evresi T2 ve T3+ T4 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek

saptanmıştır. Ancak histolojik derece, tedavi yanıtı ile CD8/FOXP3 oranı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Ki-67 değeri arttıkça NAT öncesi FOXP3 değerinin arttığını gösteren pozitif yönlü ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ki-67 değeri arttıkça NAT öncesi CD8/FOXP3 değerinin azaldığı negatif yönlü zayıf ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

2020 yılında Li ve arkadaşlarının NAT öncesi TİL değerleri ile NAT sonrası nodal tutulum arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarında; NAT sonrası TİL'ler ile aksiller lenf nodu tutulumu arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Bu çalışmaya göre TİL'leri yüksek olan hastaların %88'inde daha az sayıda lenf nodu tutulumu vardı (117). Meme kanserinde daha yüksek sayıda FOXP3+ Treg, lenf nodu metastazı ile ilişkilendiren çalışmalar mevcuttur (118,119). Ancak bu bulgunun gözlenmediği çalışmalar da mevcuttur (120). Bizim çalışmamızda da lenf nodu negatif olan olguların (ypN0) NAT öncesi TİL düzeyleri; ypN evresi N1 ve N2 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. NAT öncesi CD8 ve FOXP3 değeri tedavi sonrası lenf nodu negatif olan (ypN0) olgularda diğerlerine göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. Ancak NAT öncesi CD8/FOXP3 oranı ile ypN evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda tedavi sonrası patolojik evrelerine göre; evresi 0 ve 1 olan olguların NAT öncesi TİL değeri, evresi 2 ve 3 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.

NAT öncesi TİL düzeyi arttıkça olgularda LVİ görülme oranının düştüğü saptanmıştır. NAT öncesi CD8 düzeyi arttıkça olgularda LVİ ve PNİ görülme oranının düştüğü saptanmıştır. Perinöral invazyon sıklıkla yüksek dereceli tümörlerde ve lenfovasküler invazyonla birlikte saptandığı için bağımsız bir prognostik faktör olup olmadığı tartışmalıdır (18).

2020 yılında Li ve arkadaşlarının çalışmasında NAT öncesi TİL'ler ve HS arasında pozitif bir korelasyon vardı ancak GS'de istatistiksel bir fark yoktu (117). CD8+ sitotoksik T lenfositler kolorektal, akciğer, özofagus, epitelial over tümörleri, böbrek ve pankreas kanserlerinin daha iyi sağkalımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (63-69). Fukunaga ve diğ. çalışmalarında total CD8+ sitotoksik T lenfositlerin ER-negatif ve HER2-negatif meme karsinomlarında iyi prognoz ile ilişkili olduğunu

gösterdi (70). Liu ve ark. ise ne intratümoral ne stromal CD8+ sitotoksik T lenfositlerin meme kanseri hastalarının hayatta kalması üzerinde etkili olmadığını göstermiştir (71). Yine bir çalışmada CD8/FOXP3 oranı meme kanseri için bağımsız prognostik faktör ve tümörün moleküler alt tiplerinin prognozu ile bağlantılı olarak bulundu. Bu çalışmaya göre çevre dokudaki CD8/FOXP3 oranı luminal alt tiplerde non-luminallere göre derecede daha yüksek bulunmuştur (96). Asano ve arkadaşlarının NAT öncesi tüm moleküler alt tipleri içeren çalışmasında HS, CD8/FOXP3 oranı yüksek olan grupta anlamlı ölçüde daha uzundu, ancak genel sağkalım anlamlı olarak farklı değildi. Adjuvan tedavi alacak meme tümörlerinde yapılan bir çalışmada FOXP3+ TİL'ler, sitotoksik T hücre sızıntıları olmayan ER-pozitif meme kanserlerinde zayıf sağkalım ile önemli ölçüde ilişkili bulunmuş olup buna karşılık, Treg infiltrasyonu, CD8+ T-hücresi infiltratları olan HER2-pozitif/ER-negatif meme tümörleri olan meme kanseri hastalarında bağımsız ve olumlu bir sağkalım göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Literatürde yine FOXP3+ TİL lerin ER-negatif meme kanserinde olumlu prognoz ile ilişkili olduğunu gösteren çalışma da mevcuttur (95). Literatürde hem adjuvan tedavi alacak hem de neoadjuvan tedavi almış olgularla yapılan çalışmalarda TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ile GS ve HS arasında farklı sonuçlar elde edilmiş olup çalışmamızda NAT öncesi TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 oranı ile GS ve HS arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

2011 yılında Baker ve ark. CD8+ sitotoksik T lenfositlerin olumlu etkisinin sadece ER-negatif, yüksek histolojik dereceli meme kanserleri ile sınırlı olduğunu ortaya koymuştur (72). Çalışmamızda histolojik dereceye göre olguların NAT sonrası CD8 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Histolojik derecesi 1 olan olguların CD8 değeri, 3 olan olgulara göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır.

2011 yılında Mahmoud ve ark. adjuvan tedavi alacak meme kanserli olgularla yaptıkları çalışmada FOXP3 + TİL sayısı, daha yüksek tümör derecesi, ER negatifliği, HER2 ekspresyonu ve bazal fenotip alt sınıfı ile pozitif korelasyon gösterdi (92). 2014 yılında Liu ve arkadaşlarının çalışmasında meme kanserinde yüksek seviyelerde FOXP3+ TİL'lerin varlığının genç yaş, yüksek derece, pozitif nodal durum ve ER negatifliği ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Yine bu çalışmada ER-pozitif meme

kanserlerinde, yüksek FOXP3+ TİL'ler kötü klinik sonuçla önemli ölçüde ilişkili olduğu gösterildi (93).

NAT sonrası rezidü hastalık için literatüre baktığımızda; Dieci ve diğerleri tarafından TNMK olgularında rezidüel hastalıkta yüksek TİL seviyeleri, NAT sonrası küçük tümör boyutu (< 2 cm, ypT1) ile ilişkili olduğu gösterildi (8). Benzer şekilde Miyashita ve ark. 130 TNMK olgusunun değerlendirdikleri çalışmada NAT sonrası yüksek CD8+ TİL seviyelerinin, küçük tümör boyutu ile ilişkili olduğunu gösterdi (15). Yine TNMK olgularda yapılan çalışmada TİL seviyeleri, NAT sonrası tümör boyutu, nodal evre arttıkça önemli ölçüde daha düşüktü (116). 2020 yılında Lee ve arkadaşlarının TNMK olgularında yaptıkları çalışmada NAT sonrası TİL seviyesi, NAT sonrası patolojik T evresi ile negatif korelasyon gösterdi, ancak patolojik N evresi ile anlamlı bir korelasyon göstermedi (121). Bizim çalışmamızda ypT ve ypN evreleri ile NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Histolojik tipi NST olan olguların NAT sonrası TİL ve CD8 değeri, histolojik tipi diğer olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmış olup; FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir. Bu farkı açıklamak NST dışı vaka sayımızın azlığı nedeniyle bizim çalışmamızda mümkün olmamakta olup bu çalışmamızın önemli bir kısıtlayıcı noktasını oluşturmaktadır.

Literatürde NAT sonrası rezidüel hastalıkta yüksek TİL varlığının daha iyi sağkalım ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (8-10). GS ve HS için literature baktığımızda Garcia Martinez ve arkadaşları, NAT sonrası yüksek tümör lenfosit infiltrasyonu seviyeleri ile daha kötü bir hastaliksız sağkalım arasında bir ilişki bildirilmiştir (9). Başka bir çalışmada NAT sonrası rezidüel karsinomdaki TİL'lerin, HER2+ meme karsinomlarında önemli bir prognostik etkiye sahip olduğu değerlendirildi (99). Luen ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptıkları çalışmaya göre NAT sonrası daha yüksek TİL'ler, daha iyi HS ve GS ile önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada NAT sonrası TİL'lerin pozitif prognostik etkisi, RCB sınıf II için sınıf III'e göre daha büyük bir pozitif etki gözlemlendi (116).

Miyasitha ve arkadaşlarının TNMK olgularında yaptıkları çalışmada NAT sonrası rezidüel tümörlerde yüksek CD8+ TİL ve CD8/FOXP3 oranı ile daha iyi

prognoz arasındaki pozitif korelasyon bulunmuştur ve TNMK'lar için adjuvan düzeyde CD8+ TİL'lerin değerini araştıran önceki birkaç çalışma ile tutarlıdır (15, 70). Literatürde FOXP3'ün paradoksal olarak hem kötü GS (71,112) hem de daha iyi sağkalım (95) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. 2016 yılında 15 çalışmanın dahil edildiği bir meta analizde yüksek FOXP3+ TİL seviyesinin genel sağkalım (GS) açısından kötü prognozla anlamlı şekilde ilişkili olduğu gösterildi (94). Literatürde yine FOXP3+ TİL'lerin ER-negatif meme kanserinde olumlu prognoz ile ilişkili olduğunu gösteren çalışma da mevcuttur (95). Ladoire ve ark. 111 HER2-pozitif meme kanseri olgusunda tedavi sonrası tümör lenfosit infiltratını araştırdı ve NAT sonrası düşük CD8+ hücre infiltrasyonu seviyelerinin zayıf hastalıklı sağkalım ile ilişkili olduğunu ve NAT sonrası düşük FOXP3+ hücre infiltrasyonu seviyelerinin daha iyi hastalıklı sağkalım ile ilişkili olduğunu gösterdi (114).

Literatürde rezidüel tümörlerdeki yüksek CD8+ TİL seviyelerinin ve CD8/FOXP3 oranının, NAT sonrası pCR'si olmayan meme karsinomu hastalarında prognoza etkisini araştıran çalışma sayısı oldukça azdır. Bu parametreler, neoadjuvan ortamda rezidüel hastalığı olan hastalarda adjuvan tedavi için bir yol gösterici olabileceğinden son yıllarda rezidü tümörde TİL değerlendirmelerine yönelik çalışmalar ivme kazanmaktadır. Bizim çalışmamızda NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri ve GS ile HS arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

NAT sonrası TİL düzeylerini hafif-orta-şiddetli olarak grupladığımızda olguların yaş, moleküler alt tip, ER, PR ve HER2 durumları, histolojik derece, ypT, ypN, evre, Miller Payne skoru, PNI, LVI, nüks/metastaz ve son duruma göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Literatürde TİL'leri gruplamak için farklı cut-of değerleri kullanılmıştır (59,99,100). Çalışmamızda literatürdeki benzer çalışmalar dikkate alınarak TİL'ler hafif, orta, yüksek olarak gruplandırılarak da çalışılmıştır (99). İlerleyen yıllarda yapılacak yeni çalışmalarla sürekli bir parametre olarak TİL oranlarının ayrıntılarına dayalı olarak daha optimal bir kesme noktası oluşturulabilir.

Neoadjuvan tedavi tümörleri ve tümör mikroçevresini etkileyebilir. NAT sonrasında TİL'lerdeki değişiklikler ve sonucunda ortaya çıkan klinik önem net olarak tanımlanmamıştır. Miyashita ve arkadaşları TNMK olgularında yaptıkları çalışmada NAT öncesi ve sonrasında CD8/FOXP3 oranındaki değişiklikleri kaydettiler. Dahil

edilen 101 TNMK olgusunun 78'i için tedavi öncesi biyopsi örnekleri mevcuttu. 78 hastanın 37'sinde (% 47) CD8/FOXP3 oranının arttığı tespit edildi. CD8/FOXP3 oranının yüksek ve düşük değişim grupları olarak sınıflandırıldığında iki grubun nüks oranları istatistiksel olarak farklı değildi. 2020 yılında Lee ve arkadaşlarının çalışmasında TİL'lerin ikili analizinde, seviyeler NAT sonrası numunelerde NAT öncesi biyopsilere göre daha düşüktü ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. TİL'lerdeki değişiklikler, NAT sonrası patolojik T evresi, patolojik N evresi ile anlamlı korelasyon göstermedi (121). Bizim çalışmamızda da TİL'lerdeki değişiklikler, pCR olmayan gruptaki NAT sonrası örneklerin TİL seviyesinden NAT öncesi TİL seviyesinin çıkarılmasıyla hesaplandı. Çalışmamızda NAT öncesine göre NAT sonrası TİL, CD8 ve CD8/FOXP3 oranı artış gösterirken FOXP3 azalmıştır. NAT öncesinde CD8/FOXP3 oranı medyan değeri 2,82 (1,96-4,5) iken NAT sonrası 3.83(2,67-6,71) olarak artış göstermiş ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak NAT öncesine göre NAT sonrası CD8/FOXP3 değerindeki artış ile GS arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Histolojik derece ile NAT öncesine göre NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümlerinin farkını değerlendirdiğimizde istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir.

YpT evresi ile NAT öncesine göre NAT sonrası TİL, CD8 ve CD8/FOXP3 ölçümlerinin farkını değerlendirdiğimizde istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemekte ancak NAT öncesine göre NAT sonrası FOXP3 farkları, ypT evrelerine göre anlamlı farklılık göstermektedir. T1 de görülen fark T3+T4 farkından anlamlı düzeyde büyük saptanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada, NAT öncesi TİL düzeyi şiddetli olan olguların pCR oranı, TİL düzeyi hafif olanlara göre yüksek olduğu saptanmıştır. Tedavi yanıtı pCR olan olguların NAT öncesi CD8 değeri, tedavi yanıtı non-pCR olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. NAT öncesi ve sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri ve GS ile HS arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

NAT sonrası rezidüel tümör ile yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Bizim çalışmamızın 2 önemli sınırlaması vardı: Çalışmamızda değerlendirilen meme kanseri olgularının moleküler alt tip açısından homojen bir grup olmaması ve GS/HS

değerlendirmeleri için nispeten kısa takip süresine sahip olan olguların varlığı. Çalışmamız gelecekte yapılacak prospektif araştırmalar ile desteklenirse, bulgularımız kemoterapi ve immünoterapi kombinasyonlarından oluşan yeni terapötik yaklaşımlar için bir temel sağlayabilir.



## 6. SONUÇLAR

- 1- Çalışmamızda neoadjuvan tedavi uygulanan meme karsinomu olgularının NAT öncesi ve sonrası tümör dokularında TİL'leri öncelikle H&E ile sonrasında CD8 ve FOXP3 immunohistokimyasal boyaları ile değerlendirerek tedavi yanıtı ve genel sağkalım/hastaliksız sağkalım üzerine etkisini, meme kanserinin bilinen prognostik faktörleri ile ilişkisini araştırdık.
- 2- NAT öncesi TİL yüzdelerini hafif (%1-10), orta (%11-49) ve yüksek (%50≤) olarak sınıflandırıldığımızda TİL düzeyi şiddetli olan olguların pCR yanıt oranı, TİL düzeyi hafif olanlara göre yüksek olduğu saptanmıştır.
- 3- Tedavi yanıtı pCR olan olguların NAT öncesi CD8 değeri, tedavi yanıtı non-pCR olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.
- 4- Tedavi yanıtına göre olguların NAT öncesi FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir.
- 5- Rezidü tümörü olan olgularda TİL düzeyi şiddetli olan olguların hafif olanlara göre Miller Payne Sistemi ile değerlendirdiğimiz tümör regresyon oranının da yüksek olduğu saptanmıştır.
- 6- NAT öncesi TİL düzeyi orta ve şiddetli olan olguların tedavi sonrası lenf nodu negatif olma oranı (ypN0) hafif olan olgulara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.
- 7- NAT öncesi CD8 ve FOXP3 değeri tedavi sonrası lenf nodu negatif olan (ypN0) olgularda diğerlerine göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.
- 8- NAT öncesi TİL düzeyi arttıkça olgularda LVİ görülme oranının düştüğü saptanmıştır.
- 9- NAT öncesi CD8 düzeyi arttıkça olgularda LVİ ve PNİ görülme oranının düştüğü saptanmıştır.
- 9- NAT öncesi TİL ve FOXP3 değerlerinin histolojik derecesi 3 olan olgularda histolojik derecesi 2 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.
- 10- Histolojik dereceye göre olguların NAT öncesi CD8/FOXP3 oranı histolojik derecesi 2 olan olgularda derecesi 3 olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.



**11-** NAT öncesi TİL, CD8, ve FOXP3 değerlerinin tedavi sonrası rezeksiyonda değerlendirilen insitu karsinomlar ile 2 cm'den küçük tümörlerde 2 cm'den büyük tümörlere göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.

**12-** Ki-67 ölçümü ile NAT öncesi FOXP3 ölçümleri arasında pozitif yönlü (Ki-67 değeri arttıkça FOXP3 değeri artan) ve CD8/FOXP3 ölçümleri arasında negatif yönlü (Ki-67 değeri arttıkça CD8/FOXP3 değeri azalan) 0,266 düzeyindeki zayıf ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

**13-** NAT sonrası CD8 değeri histolojik derecesi 3 olan olgularda 1 olan olgulara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.

**14-** Moleküler alt tip, ER, PR ve HER2 durumuna göre olguların NAT sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 oranı istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir.

**15-** NAT sonrası TİL düzeyi orta olan olguların Ki-67 değeri, TİL düzeyi hafif olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.

**16-** NAT sonrası CD8/FOXP3 değeri, PNI gözlenmeyen olgularda anlamlı PNI gözlenen olgulara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır.

**17-** NAT öncesinde CD8/FOXP3 oranı medyan değeri 2,82 (1,96-4,5) iken NAT sonrası 3.83(2,67-6,71) olarak artış göstermiş ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak bu artış ile GS arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

**18 -** NAT öncesi ve sonrası TİL, CD8, FOXP3 ve CD8/FOXP3 ölçümleri ve GS ile HS arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Sung, H., et al., Global cancer statistics 2020 GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2020
2. Kara F. ve arkadaşları, Türkiye Kanser İstatistikleri. 2019, Ankara: Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu
3. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:10869–74.
4. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Breast tumours. 5th ed. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer 2019
5. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Muller BM, Komor M, Budczies J, DarbEsfahani S, Kronenwett R, Hanusch C, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28(1):105–13.
6. Denkert C, von Minckwitz G, Brase JC, Sinn BV, Gade S, Kronenwett R, Pfitzner BM, Salat C, Loi S, Schmitt WD, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without carboplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. *J Clin Oncol*. 2015;33(9):983–91.
7. Schalper KA, Velcheti V, Carvajal D, Wimberly H, Brown J, Pusztai L, Rimm DL. In situ tumor PD-L1 mRNA expression is associated with increased TILs and better outcome in breast carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2014;20(10):2773–82.
8. Dieci MV, Criscitiello C, Goubar A, Viale G, Conte P, Guarneri V, Ficarra G, Mathieu MC, Delaloge S, Curigliano G, et al. Prognostic value of tumorinfiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study. *Ann Oncol*. 2014;25(3):611–8.
9. Garcia-Martinez E, Gil GL, Benito AC, Gonzalez-Billalabeitia E, Conesa MA, Garcia Garcia T, Garcia-Garre E, Vicente V, Ayala dela Pena F. Tumorinfiltrating immune cell profiles and their change after neoadjuvant chemotherapy predict response and prognosis of breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2014;16(6):488.
10. Gonzalez-Angulo AM, Iwamoto T, Liu S, Chen H, Do KA, Hortobagyi GN, Mills GB, Meric-Bernstam F, Symmans WF, Pusztai L. Gene expression, molecular class changes, and pathway analysis after neoadjuvant systemic therapy for breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2012;18(4):1109–
11. Brown JR, Wimberly H, Lannin DR, Nixon C, Rimm DL, Bossuyt V. Multiplexed quantitative analysis of CD3, CD8, and CD20 predicts response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2014; 20(23):5995–6005.
12. Brown JR, DiGiovanna MP, Killelea B, Lannin DR, Rimm DL. Quantitative assessment Ki-67 score for prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Lab Invest*. 2014;94(1):98–106.

13. Sahoo S, Lester SC. Pathology of breast carcinomas after neoadjuvant chemotherapy: an overview with recommendations on specimen processing and reporting. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133:633-642
14. Gralow, J. R., Burstein, H. J., Wood, W., Hortobagyi, G. N., Gianni, L., von Minckwitz, G., ... Winer, E. P. (2008). Preoperative Therapy in Invasive Breast Cancer: Pathologic Assessment and Systemic Therapy Issues in Operable Disease. *Journal of Clinical Oncology*, 26(5), 814–819. doi:10.1200/jco.2007.15.3510
15. Miyashita M, Sasano H, Tamaki K, Chan M, Hirakawa H, Suzuki A et al. Tumour-infiltrating CD8+ and FOXP3+ lymphocytes in triple-negative breast cancer: its correlation with pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 148: 525–534.
16. Nabholz JM, Abrial C, Mouret-Reynier MA, Dauplat MM, Weber B, Gligorov J et al. Multicentric neoadjuvant phase II study of panitumumab combined with an anthracycline/taxane-based chemotherapy in operable triple-negative breast cancer: identification of biologically defined signatures predicting treatment impact. *Ann Oncol* 2014; 25: 1570–1577.
17. Asano, Y., Kashiwagi, S., Goto, W., Kurata, K., Noda, S., Takashima, T., ... Hirakawa, K. (2016). Tumour-infiltrating CD8 to FOXP3 lymphocyte ratio in predicting treatment responses to neoadjuvant chemotherapy of aggressive breast cancer. *British Journal of Surgery*, 103(7), 845–854. doi:10.1002/bjs.10127
18. Rosen PP. *Rosen's breast pathology: 4th Edition*, 2014, Lippincott Williams & Wilkins;
19. Mills SE., *Histology for Pathologists, 5th Edition*, 2019, Lippincott Williams and Wilkins
20. Dabbs D, *Breast Pathology*, Elsevier 2012
21. Standring S, *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice; 41st Edition*; Elsevier
22. Goldblum J, Lamps L, McKenney J, Myers J; Rosai and Ackerman's *Surgical Pathology*, 11th Edition, Elsevier, 2018
23. Vinay Kumar, Abul K. Abbas, Jon C. Aster, Robbins & Cotran *Pathologic Basis of Disease*, 10th Edition, 2021, Elsevier
24. Skolnick MH, Cannon-Albright LA. Genetic predisposition to breast cancer. *Cancer.* 1992;70(6 suppl):1747-1754.
25. T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, *Meme Kanseri Korunma, Tarama, Tanı, Tedavi ve İzlem Klinik Rehberi*, Ankara, 2020
26. Lester SC, Hicks DG. *Diagnostic pathology: breast: Elsevier Health Sciences; 2016.*
27. Ping Tang, Gary M. Tse. Immunohistochemical Surrogates for Molecular Classification of Breast Carcinoma: A 2015 Update. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 2016;140(8):806-14.
28. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000;406(6797):747-752.
29. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumors. *Nature.* 2012 Oct 4;490(7418):61-70 PMID: 23000897
30. Parker JS, Mullins M, Cheang MC, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol.* 2009 Mar 10;27(8):1160-7. PMID:19204204

31. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann 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.
32. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 736–750.
33. Prat A, Cheang MC, Martin M et al. Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. *J Clin Oncol* 2013; 31: 203–209
34. Tao L, Schwab RB, San Miguel Y, et al. Breast cancer mortality in older and younger patient in California. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2019 Feb;28(2):303-10. PMID:30333222
35. CW Elston, JO Ellis. 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): 403-410.
36. Documents.cap.org/protocols/cp-breast-invasive-biopsy-20-1100.pdf
37. Dawson PJ, Ferguson DJ, Karrison T. The pathological findings of breast cancer in patients surviving 25 years after radical mastectomy. *Cancer*. 1982;50(10):2131-2138.
38. Abramowitz, M.C., et al., Dermal lymphatic invasion and inflammatory breast cancer are independent predictors of outcome after postmastectomy radiation. *Am J Clin Oncol*, 2009. 32(1): p. 30-3.
39. Van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med*. 2002;347(25):1999-2009.
40. Correa Geyer F, Reis-Filho JS. Microarray-based gene expression profiling as a clinical tool for breast cancer management: are we there yet? *Int J Surg Pathol*. 2009;17(4):285-302.
41. Carbognin L, Pilotto S, Nortilli R, et al. Predictive and prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes for early breast cancer according to disease subtypes: sensitivity analysis of randomized trials in adjuvant and neoadjuvant setting. *Oncologist*. 2016;21(3):283-291.
42. NCCN Guidelines Version 4.2021, Invasive Breast Cancer
43. Kuroi K, Toi M, Tsuda H, Kurosumi M, Akiyama F. Issues in the assessment of the pathologic effect of primary systemic therapy for breast cancer. *Breast Cancer*. 2006;13:38-48.
44. Ogston KN, Miller ID, Payne S, et al. A new histological grading system to assess response of breast carcinomas to primary chemotherapy: prognostic significance and survival. *Breast*. 2003;12:320–327.
45. Sataloff DM, Mason BA, Prestipino AJ, et al. Pathologic response to induction chemotherapy in locally advanced carcinoma of the breast: a determinant of outcome. *J Am Coll Surg*. 1995;180:297–306
46. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2007;25:4414–4422

47. Grivnenkov, S.I., F.R. Greten, and M. Karin, Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*, 2010. 140(6): p. 883-99. 172. Shankaran, V., et al., IFN $\gamma$
48. Gajewski TF, Schreiber H, Fu YX. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol*. 2013;14:1014–1022
49. Fridman, W. H., Pagès, F., Sautès-Fridman, C., & Galon, J. (2012). The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nature Reviews Cancer*, 12(4), 298–306. doi:10.1038/nrc3245
50. Galon J, Mlecnik B, Bindea G, et al. Towards the introduction of the ‘Immunoscore’ in the classification of malignant tumours. *J Pathol*. 2014;232:199–209.
51. Donnem T, Kilvaer TK, Andersen S, et al. Strategies for clinical implementation of TNM-immunoscore in resected non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2016;27:225–232.
52. Ernst, B., & Anderson, K. S. (2015). Immunotherapy for the Treatment of Breast Cancer. *Current Oncology Reports*, 17(2). doi:10.1007/s11912-014-0426-9
53. Pockaj BA, Basu GD, Pathangey LB, Gray RJ, Hernandez JL, Gendler SJ, et al. Reduced T-cell and dendritic cell function is related to cyclooxygenase-2 overexpression and prostaglandin E2 secretion in patients with breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2004;11(3):328–39
54. Sharma P, Wagner K, Wolchok JD, Allison JP. Novel cancer immunotherapy agents with survival benefit: recent successes and next steps. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(11):805–12. doi:10.1038/nrc3153.
55. 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*. 2014;26(2):259-71.
56. Dieci, M. V., Radosevic-Robin, N., Fineberg, S., van den Eynden, G., Ternes, N., Penault-Llorca, F., ... Salgado, R. (2017). 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*. doi:10.1016/j.semcancer.2017.10.003
57. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol*. 2012;30(15):1796-804.
58. Asano Y, Kashiwagi S, Goto W, Takada M, Takashima T, Morisaki T, et al. Prediction of survival after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer by evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) and residual cancer burden (RCB). [abstract]. *Proceedings of the 2016 San Antonio Breast Cancer Symposium*; 2016 Dec 6-10; San Antonio, TX Philadelphia (PA): AACR; Cancer Research. 2016;77(4 Suppl):Abstract nr P2-
59. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Ingold Heppner B, Klauschen F, Furlanetto J, et al. Evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) as predictive and prognostic biomarker in different subtypes of breast cancer treated with neoadjuvant therapy - A metaanalysis of 3771 patients [abstract]. *Proceedings of the 2016 San Antonio Breast Cancer Symposium*; 2016 Dec 6-

- 10; San Antonio, TX Philadelphia (PA): AACR; Cancer Research. 2017;77(4 Suppl):Abstract nr S1-09.
60. Galluzzi L, Buque A, Kepp O, Zitvogel L, Kroemer G. Immunological Effects of Conventional Chemotherapy and Targeted Anticancer Agents. *Cancer Cell*. 2015;28(6):690-714.
61. Demaria S, Volm MD, Shapiro RL, Yee HT, Oratz R, Formenti SC, et al. Development of tumor infiltrating lymphocytes in breast cancer after neoadjuvant paclitaxel chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2001;7(10):3025-30.
62. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD (2002) Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 3(11): 991–998
63. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, et al. (2006) Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* 313(5795): 1960–1964.
64. Page's F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Asslaber M, Tosolini M, et al. (2009) In situ cytotoxic and memory T cells predict outcome in patients with early-stage colorectal cancer. *J Clin Oncol* 27(35): 5944–5951.
65. Kawai O, Ishii G, Kubota K, Murata Y, Naito Y, et al. (2008) Predominant infiltration of macrophages and CD8(+) T cells in cancer nests is a statistically relevant predictor of survival in stage IV nonsmall cell lung cancer. *Cancer* 113(6): 1387–1395.
66. Ashida A, Boku N, Aoyagi K, Sato H, Tsubosa Y, et al. (2006) Expression profiling of esophageal squamous cell cancer patients treated with definitive chemoradiotherapy: clinical implications. *Int J Oncol* 28(6): 1345–1352
67. Zhang L, Conejo-Garcia JR, Katsaros D, Gimotty PA, Massobrio M, et al. (2003) Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med* 348(3): 203–213.
68. Nakano O, Sato M, Naito Y, Suzuki K, Orikasa S, et al. (2001) Proliferative activity of intratumoral CD8(+) T lymphocytes as a prognostic factor in human renal cell cancer: clinicopathological demonstration of antitumor immunity. *Cancer Res* 61(13): 5132–5136.
69. Fukunaga A, Miyamoto M, Cho Y, Murakami S, Kawarada Y, et al. (2004) CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes together with CD4+ tumor-infiltrating lymphocytes and dendritic cells improve the prognosis of patients with pancreatic adenocarcinoma. *Pancreas* 28(1): e26–31.
70. Mahmoud SM, Paish EC, Powe DG, Macmillan RD, Grainge MJ, et al. (2011) Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer. *J Clin Oncol* 29(15): 1949–1955.
71. Liu F, Lang R, Zhao J, Zhang X, Pringle GA, et al. (2011) CD8+ cytotoxic T cell and FOXP3+ regulatory T cell infiltration in relation to breast cancer survival and molecular subtypes. *Breast Cancer Res Treat* 130(2): 645–655
72. Baker K, Lachapelle J, Zlobec I, Bismas TA, Terracciano L, et al. (2011) Prognostic significance of CD8 (+) T lymphocytes in breast cancer depends upon both oestrogen receptor status and histological grade. *Histopathology* 58(7): 1107–1116.
73. Matsumoto, H., et al., Increased CD4 and CD8-positive T cell infiltrate signifies good prognosis in a subset of triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2016. 156(2): p. 237-47

74. Ziegler, S. F. (2007). FOXP3: Not just for regulatory T cells anymore. *Eur. J. Immunol.*, 37(1), 21–23
75. Müller S, Poehnert D, Müller JA, Scheumann GWF, Koch M, Lück R: Regulatory T cells in peripheral blood, lymph node, and thyroid tissue in patients with medullary thyroid carcinoma. *World J Surg* 34: 1481-1487, 2010.
76. Grimmig T, Kim M, Germer C-T, Gasser M, Waaga-Gasser AM: The role of FOXP3 in disease progression in colorectal cancer patients. *Oncoimmunology*
77. Coffey PJ, Burgering BM. Forkhead-box transcription factors and their role in the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2004;4(11):889–99.
78. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science (New York, NY)*. 2003;299(5609):1057–61.
79. Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R, Yagi H, Hori S, Fehervari Z, et al. Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol Rev.* 2006;212:8–27.
80. Wang L, Liu R, Li W, Chen C, Katoh H, Chen GY, et al. Somatic single hits inactivate the X-linked tumor suppressor FOXP3 in the prostate. *Cancer cell.* 2009;16(4):336-46.
81. Zuo T, Wang L, Morrison C, Chang X, Zhang H, Li W, et al. FOXP3 is an X-linked breast cancer suppressor gene and an important repressor of the HER-2/ErbB2 oncogene. *Cell.* 2007;129(7):1275-86.
82. Szyllberg L, Karownik D, Marszalek A, The Role of FOXP3 in Human Cancer, , *Anticancer Research* 36: 3789-3794 (2016)
83. Gupta, S., et al., Intratumoral FOXP3 expression in infiltrating breast carcinoma: Its association with clinicopathologic parameters and angiogenesis. *Acta Oncol*, 2007. 46(6): p. 792-7.
84. Flammiger A, Weisbach L, Huland H, Tennstedt P, Simon R, Minner S, Bokemeyer C, Sauter G, Schlomm T, Trepel M: High tissue density of FOXP3+ T cells is associated with clinical outcome in prostate cancer. *Eur J Cancer.* 2013, 49: 1273-1279. 10.1016/j.ejca.2012.11.035.
85. DeLeeuw RJ, Kost SE, Kakal JA, Nelson BH: The prognostic value of FoxP3+ tumor-infiltrating lymphocytes in cancer: a critical review of the literature. *Clin Cancer Res.* 2012, 18: 3022-3029. 10.1158/1078-0432.CCR-11-3216.
86. Petersen RP, Campa MJ, Sperlazza J, Conlon D, Joshi MB, Harpole DH, Patz EF: Tumor infiltrating Foxp3+ regulatory T-cells are associated with recurrence in pathologic stage I NSCLC patients. *Cancer.* 2006, 107: 2866-2872. 10.1002/cncr.22282
87. Gao Q, Qiu SJ, Fan J, Zhou J, Wang XY, Xiao YS, Xu Y, Li YW, Tang ZY: Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection. *J Clin Oncol.* 2007, 25: 2586-2593. 10.1200/JCO.2006.09.4565.
88. Li JF, Chu YW, Wang GM, Zhu TY, Rong RM, Hou J, Xu M: The prognostic value of peritumoral regulatory T cells and its correlation with intratumoral cyclooxygenase-2 expression in clear cell renal cell carcinoma. *BJU Int.* 2009, 103: 399-405. 10.1111/j.1464-410X.2008.08151.x.

89. Pages F, Berger A, Camus M, Sanchez-Cabo F, Costes A, Molitor R, Mlecnik B, Kirilovsky A, Nilsson M, Damotte D, Meatchi T, Bruneval P, Cugnenc PH, Trajanoski Z, Fridman WH, Galon J: Effector memory T cells, early metastasis, and survival in colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2005, 353: 2654-2666. doi:10.1056/NEJMoa051424.
90. Frey DM, Drosner RA, Viehl CT, Zlobec I, Lugli A, Zingg U, Oertli D, Kettelhack C, Terracciano L, Tornillo L: High frequency of tumor-infiltrating FOXP3(+) regulatory T cells predicts improved survival in mismatch repair-proficient colorectal cancer patients. *Int J Cancer.* 2010, 126: 2635-2643.
91. Haas M, Dimmler A, Hohenberger W, Grabenbauer GG, Niedobitek G, Distel LV: Stromal regulatory T-cells are associated with a favourable prognosis in gastric cancer of the cardia. *BMC Gastroenterol.* 2009, 9: 65-10.1186/1471-230X-9-65.
92. Mahmoud, S. M. A., Paish, E. C., Powe, D. G., Macmillan, R. D., Lee, A. H. S., Ellis, I. O., & Green, A. R. (2010). An evaluation of the clinical significance of FOXP3+ infiltrating cells in human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 127(1), 99–108. doi:10.1007/s10549-010-0987-8
93. Liu, S., Foulkes, W. D., Leung, S., Gao, D., Lau, S., Kos, Z., & Nielsen, T. O. (2014). Prognostic significance of FOXP3+ tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer depends on estrogen receptor and human epidermal growth factor receptor-2 expression status and concurrent cytotoxic T-cell infiltration. *Breast Cancer Research*, 16(5). doi:10.1186/s13058-014-0432-8
94. Shou, J., Zhang, Z., Lai, Y., Chen, Z., & Huang, J. (2016). Worse outcome in breast cancer with higher tumor-infiltrating FOXP3+ Tregs: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*, 16(1). doi:10.1186/s12885-016-2732-0
95. West, N. R., Kost, S. E., Martin, S. D., Milne, K., deLeeuw, R. J., Nelson, B. H., & Watson, P. H. (2012). Tumour-infiltrating FOXP3+ lymphocytes are associated with cytotoxic immune responses and good clinical outcome in oestrogen receptor-negative breast cancer. *British Journal of Cancer*, 108(1), 155–162. doi:10.1038/bjc.2012.524
96. Liu, F., Lang, R., Zhao, J., Zhang, X., Pringle, G. A., Fan, Y., ... Fu, L. (2011). CD8+ cytotoxic T cell and FOXP3+ regulatory T cell infiltration in relation to breast cancer survival and molecular subtypes. *Breast Cancer Research and Treatment*, 130(2), 645–655. doi:10.1007/s10549-011-1647-3
97. Lee, K. H., Kim, E. Y., Park, Y. L., Do, S.-I., Chae, S. W., & Park, C. H. (2017). Expression of epithelial–mesenchymal transition driver brachyury and status of tumor-infiltrating CD8+ and FOXP3+ lymphocytes in predicting treatment responses to neoadjuvant chemotherapy of breast cancer. *Tumor Biology*, 39(6), 101042831771057. doi:10.1177/1010428317710575
98. Fitzgibbons PL, B.S., Chen Y, Connolly JL, Baca ME, Edgerton M, Hayes DF, Hill KA, Kleer C, Lester SC, O'Malley FP, Page DL, Simpson JF, Simpson R, Smith BL, Tan LK, Weaver DL, Winer E, American Joint Committee on Cancer (AJCC) Cancer Staging Manual 8th ed. 2018.



99. Hida, A.I., et al., Prognostic and predictive impacts of tumor-infiltrating lymphocytes differ between Triple-negative and HER2-positive breast cancers treated with standard systemic therapies. *Breast Cancer Res Treat*, 2016. 158(1): p. 1-9
100. Ohtani, H., et al., Defining lymphocyte-predominant breast cancer by the proportion of lymphocyte-rich stroma and its significance in routine histopathological diagnosis. *Pathol Int*, 2015. 65(12): p. 644-51.
101. Evans, J. D. (1996). *Straightforward statistics for the behavioral sciences*. Pacific Grove, CA: Brooks/Cole Publishing
102. Hasita H, Komohara Y, Okabe H, Masuda T, Ohnishi K, Lei XF et al. Significance of alternatively activated macrophages in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma. *Cancer Sci* 2010; 101: 1913–1919.
103. Teng MW, Ngiew SF, von Scheidt B, McLaughlin N, Sparwasser T, Smyth MJ. Conditional regulatory T-cell depletion releases adaptive immunity preventing carcinogenesis and suppressing established tumour growth. *Cancer Res* 2010; 70: 7800–7809
104. Seo, A. N., Lee, H. J., Kim, E. J., Kim, H. J., Jang, M. H., Lee, H. E., ... Park, S. Y. (2013). Tumour-infiltrating CD8<sup>+</sup> lymphocytes as an independent predictive factor for pathological complete response to primary systemic therapy in breast cancer. *British Journal of Cancer*, 109(10), 2705–2713. doi:10.1038/bjc.2013.634
105. Oda N, Shimazu K, Naoi Y, Morimoto K, Shimomura A, Shimoda M, Kagara N, Maruyama N, Kim SJ, Noguchi S (2012) Intratumoral regulatory T cells as an independent predictive factor for pathological complete response to neoadjuvant paclitaxel followed by 5-FU/epirubicin/cyclophosphamide in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 136: 107–116
106. Lee HJ, Seo JY, Ahn JH, Ahn SH, Gong G (2013) Tumor-associated lymphocytes predict response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *J Breast Cancer* 16: 32–39
107. Chung YR, Kim HJ, Jang MH and Park SY: Prognostic value of tumor infiltrating lymphocyte subsets in breast cancer depends on hormone receptor status. *Breast Cancer Res Treat* 161: 409-420, 2017. PMID: 27913931, DOI: 10.1007/s10549-016-4072-9
108. Blok EJ, van den Bulk J, Dekker-Ensink NG, Derr R, Kanters C, Bastiaannet E, Kroep JR, van de Velde CJ and Kuppen PJ: Combined evaluation of the FAS cell surface death receptor and CD8<sup>+</sup> tumor infiltrating lymphocytes as a prognostic biomarker in breast cancer. *Oncotarget* 8: 15610-15620, 2017. PMID: 28121628, DOI: 10.18632/oncotarget.14779
109. Sun S, Fei X, Mao Y, Wang X, Garfield DH, Huang O, Wang J, Yuan F, Sun L, Yu Q, Jin X, Wang J and Shen K: PD-1(+) immune cell infiltration inversely correlates with survival of operable breast cancer patients. *Cancer Immunol Immunother* 63: 395-406, 2014. PMID: 24514954, DOI: 10.1007/s00262-014-1519-x
110. Khedr RAE, Ghannam AAE, El-Rashidy MA and El-Deen AAS: The prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes CD8 and Foxp3 and their impact on recurrence in breast cancer patients. *J Cancer Sci Ther* 8: 206-212, 2016. PMID: 22495453, DOI: 10.1097/COC.0b013e3182467d90

111. Ladoire S, Arnould L, Apetoh L et al. Pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy of breast carcinoma is associated with the disappearance of tumor-infiltrating Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 2008; 14(8):2413–2420
112. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eeno F, Rouas G, Francis P, Crown JP, Hitre E, 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. *J Clin Oncol* 31: 860-867, 2013
113. Mahmoud SM, Paish EC, Powe DG et al (2011) An evaluation of the clinical significance of FOXP3<sup>+</sup> infiltrating cells in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 127:99–108
114. Ladoire S, Mignot G, Dabakuyo S et al. In situ immune response after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer predicts survival. *J. Pathol.* 2011; 224(3):389–400.
115. Brown, J. R., Wimberly, H., Lannin, D. R., Nixon, C., Rimm, D. L., & Bossuyt, V. (2014). Multiplexed Quantitative Analysis of CD3, CD8, and CD20 Predicts Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. *Clinical Cancer Research*, 20(23), 5995–6005. doi:10.1158/1078-0432.ccr-14-1622
116. Luen, S. J., Salgado, R., Dieci, M. V., Vingiani, A., Curigliano, G., Gould, R. E., ... Loi, S. (2018). Prognostic implications of residual disease tumor-infiltrating lymphocytes and residual cancer burden in triple negative breast cancer patients after neo-adjuvant chemotherapy. *Annals of Oncology*.
117. Li, X., Tan, Q., Li, H., & Yang, X. (2020). Predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes for response to neoadjuvant chemotherapy and breast cancer prognosis. *Journal of Surgical Oncology*. doi:10.1002/jso.26252
118. Jiang D, Gao Z, Cai Z, Wang M and He J: Clinicopathological and prognostic significance of FOXP3<sup>+</sup> tumor infiltrating lymphocytes in patients with breast cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer* 15: 727, 2015. PMID: 26475790, DOI: 10.1186/s12885-015-1742-7
119. Shou J, Zhang Z, Lai Y, Chen Z and Huang J: Worse outcome in breast cancer with higher tumor-infiltrating FOXP3<sup>+</sup> Tregs: A systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer* 16: 687, 2016. PMID: 27566250, DOI: 10.1186/s12885-016-2732-0
120. Qian F, Qingping Y, Linqun W, Xiaojin H, Rongshou W, Shanshan R, Wenjun L, Yong H and Enliang L: High tumor-infiltrating FoxP3<sup>+</sup> T cells predict poor survival in estrogen receptor-positive breast cancer: A meta-analysis. *Eur J Surg Oncol* 43: 1258-1264, 2017. PMID: 28214052, DOI: 10.1016/j.ejso.2017.01.011
121. LEE, H., LEE, M., SEO, J.-H., GONG, G., & LEE, H. J. (2020). Changes in Tumor-infiltrating Lymphocytes After Neoadjuvant Chemotherapy and Clinical Significance in Triple Negative Breast Cancer. *Anticancer Research*, 40(4), 1883–1890. doi:10.21873/anticancerres.14142