



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İZMİR TEPECİK SAĞLIK UYGULAMA VE
ARAŞTIRMA MERKEZİ
TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ



**MEME TÜMÖRLERİNİN MOLEKÜLER ALT TIPLERİNE GÖRE
(LUMİNAL A, LUMİNAL B, HER2-POZİTİF VE TRİPLE-
NEGATİF) PD-L1 VE FOXP3 EKSPRESYONLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Özge KAYA KORKMAZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İZMİR/2020





T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İZMİR TEPECİK SAĞLIK UYGULAMA VE
ARAŞTIRMA MERKEZİ
TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ



**MEME TÜMÖRLERİNİN MOLEKÜLER ALT TİPLERİNE GÖRE
(LUMİNAL A, LUMİNAL B, HER2-POZİTİF VE TRİPLE-
NEGATİF) PD-L1 VE FOXP3 EKSPRESYONLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Özge KAYA KORKMAZ

Tez Danışmanları:

Prof. Dr. A. Gülden DİNİZ ÜNLÜ

Uzm. Dr. Gülen GÜL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İZMİR/2020

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince desteğini ve mesleki bilgisini esirgemeyen, değerli hocam Prof. Dr. Gülten Diniz'e,

Çalışmadaki katkılarından dolayı Dr. Gülen Gül'e,

Eğitimim süresince beni destekleyen, eğitim sorumlumuz Doç. Dr. Emel Ebru Pala'ya,

Bilgi ve tecrübeleriyle ışık tutan ve desteğini esirgemeyen idari sorumlumuz Doç. Dr. Sevil Sayan'a,

Deneyim ve bilgisini paylaşan Doç. Dr. Ülkü Küçük ve Doç. Dr. Esra Canan Kelten Talu'ya, Doç. Dr. Dudu Solakoğlu Kahraman'a mesleki bilgisiyle eğitimime katkıda bulunan tüm uzmanlarımıza, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan doktor arkadaşlarıma, asistanlık sürecimde hep yanımda olup yardımını esirgemeyen laboratuvar sorumlusu Yusuf Adanır'a, diğer özverili ve çalışkan patoloji teknisyenlerimiz ve sekreterlerimize,

Hayatım boyunca sevgi ve desteğini bir an bile esirgemeyen çok sevgili aileme ve biricik eşim Doğan Korkmaz'a teşekkür ederim.

Dr. Özge KAYA KORKMAZ

İzmir - 2020

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	vii
TABLOLAR DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Memenin Embriyolojisi.....	2
2.2. Memenin Anatomisi.....	3
2.3. Memenin Histolojisi.....	3
2.4. Memenin Fizyolojisi.....	5
2.5. Meme Kanseri.....	5
2.5.1. Epidemiyoloji.....	5
2.5.2. Risk Faktörleri.....	6
2.5.3. Genetik Predispozisyon.....	7
2.5.4. Klinik ve Radyolojik Özellikler.....	8
2.5.5. Memenin Epitelyal Tümörlerinin Sınıflandırılması.....	9
2.5.6. Derecelendirme.....	16
2.5.7. Evreleme.....	17
2.5.8. Meme Kanserlerinin Moleküler Sınıflandırması.....	20
2.5.9. Tedavi.....	22
2.5.10. Prognoz.....	23
2.6. PD-L1 ve Meme Kanserindeki Yeri.....	23
2.7. FOXP3 ve Meme Kanserindeki Yeri.....	24

3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Hastalar ve Doku Örnekleri.....	26
3.2. İmmunohistokimyasal PD-L1 ve FOXP3 Boyama ve Değerlendirme.....	27
3.3. İstatistiksel Yöntemler.....	30
4. BULGULAR	31
4.1. Demografik ve Histopatolojik Veriler.....	31
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular	33
4.3. PDL1 ve FOXP3 Boyanma Durumu ile Diğer Parametrelerin Karşılaştırılması.....	37
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇLAR	50
7. KAYNAKÇA	55

KISALTMALAR

PD-L1	: Programmed death-ligand 1
FOXP3	: Forkhead Box P3
HER2 (CERBB2)	: Human epidermal growth factor receptor 2
ER	: Östrojen Reseptörü
PR	: Progesteron reseptörü
TDLÜ	: Terminal duktal lobüler unite
EMA	: Epitelyal membran antijeni
BDH	: Basit duktal hiperplazi
ADH	: Atipili duktal hiperplazi
DKİS	: Duktal karsinoma in situ
İİAB	: İnce iğne aspirasyon biyopsisi
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
İDK	: İnvaziv duktal karsinom
REG	: Reglatuvar
İLK	: İnvaziv lobüler karsinom
PLK	: Pleomorfik lobüler karsinom
EGFR	: Epidermal büyüme faktör reseptörü
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
UICC	: Union for International Cancer
SLNB	: Sentinal lenf nodu biyopsisi
H&E	: Hemotoksilen & Eozin
İHK	: İmmunohistokimya

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1.	DSÖ Meme Epitelyal Tumorler Sınıflandırması (1)	11
Tablo 2.2.	Meme tumorlerinde histolojik derecelendirme sistemi (Modifiye Bloom Richardson) (44)	18
Tablo 2.3.	Meme tumorleri TNM evreleme sisteminde tumor boyutu (T) (45)	18
Tablo 2.4.	Meme tumorleri TNM evreleme sisteminde bölgesel lenf nodu (N) ve uzak bölge metastaz durumu (M) (45)	19
Tablo 2.5.	Meme tumorlerinde TNM evre grupları (45)	20
Tablo 2.6.	Meme kanserinin molekuler alt tiplerinin immunoprofilleri (1,47)	22
Tablo 4.1.1	Demografik ve histopatolojik veriler – I	31
Tablo 4.1.2.	Demografik ve histopatolojik veriler – II	32
Tablo 4.2.1.	İmmunohistokimyasal ve Molekuler Bulgular- I.	35
Tablo 4.2.2.	İmmunohistokimyasal ve Molekuler Bulgular- II.	35

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.2.1. Tez çalışması için hazırlanan çoklu blok ve preparatlar.	28
Resim 3.2.2. Tümörden örneklenmiş silindirik doku (HEX 40).	29
Resim 3.2.3. Mukozal inklüzyonlardaki karakteristik membranöz boyanma nedeniyle PD-L1 pozitif kontrol olarak kullanılan tonsil dokusu (DAB x 200).....	29
Resim 3.2.4. Tümörü infiltre eden bazı lenfositlerde nükleer FOXP3 ekspresyonu (DAB x 200).....	30
Resim 4.2.1. İmmunohistokimyasal c-erbB2 3+ olan bir olgu (DAB x 200).....	34
Resim 4.2.2. İHK'sal c-erbB2 ekspresyon ve FİSH ile Her2 amplifikasyonu saptanan olguların dağılımı.....	36
Resim 4.2.3. İmmunohistokimyasal olarak yangı hücrelerinde sitoplazmik PD-L1 pozitif olan bir olgu (DAB x 100).....	36
Resim 4.3.1. İHK'sal PD-L1 ekspresyonu ve hasta durumları (sağ- ölü) arasında anlamlı ilişki yoktu.....	37
Resim 4.3.2. Tümör (siyah ok) ve yangı hücrelerinde (beyaz ok) PD-L1 ekspresyonu izlenen bir olgu (DAB x 100).....	38
Resim 4.3.3. PD-L1 ekspresyonuna göre sağ kalım analizi (Log Rank, p=0,660)...	40
Resim 4.3.4. Az sayıda FOXP3 ekspresyonu gösteren Treg infiltrasyonu gösteren bir invaziv duktal karsinom.....	40
Resim 4.3.5. Tümörü infiltre eden hücreler arasında FOXP3 pozitif lenfosit varlığına göre sağ kalım analizi (Log Rank, p=0,077).....	41
Resim 4.3.6. İHK'sal FOXP3 ekspresyonu ve tümör multifokalitesi arasında anlamlı ilişki yoktu.....	42
Resim 4.3.7. Lenf nodu metastaz varlığına göre sağ kalım analizi (Log Rank, p=0,006).....	44

Resim 4.3.8. Kaplan Meier analizinde patolojik T evresi 3 ve 4 olan olgularda sağ kalım süresi pT1 ve pT2 olanlara göre belirgin olarak kısaydı	44
Resim 4.3.9. İnflamatuvar karsinom olan olgular arasında eksitus oranı daha yüksekti.....	45



ÖZET

MEME TÜMÖRLERİNİN MOLEKÜLER ALT TIPLERİNE GÖRE (LUMİNAL A, LUMİNAL B, HER2-POZİTİF VE TRİPLE-NEGATİF) PD-L1 VE FOXP3 EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Özge Kaya Korkmaz

balozge4@gmail.com

T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tepecik Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji Kliniği

Amaç: Meme kanseri dünya genelinde kadınlar arasında en sık görülen kanserdir ve kansere bağlı ölümlerin ikinci sık nedenidir. Meme kanserlerinin tümörgenezinde PD-L1 ve FOXP3'ün rolleri göreceli olarak daha az değerlendirilen konulardır. Bu çalışmanın amacı, meme kanserlerinde PD-L1 ekspresyonlarının prognostik değerlerini belirlemek ve tümör mikro-çevresinde FOXP3 pozitif T reg hücrelerinin varlığını değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya, 2011-2014 yılları arasında Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarında tanı konulan 210 meme kanseri hastası dahil edildi.

Bulgular: Bu seride moleküler özelliklere göre 66 (% 31,4) Luminal A, 80 (% 38,1) Luminal B, 46 (% 21,9) Her2 pozitif ve 18 (% 8,6) triple negatif tümör vardı. Ortalama yaş $55,46 \pm 12,5$ yıl olup, hastalar ortalama $61,9 \pm 20,6$ ay boyunca takip edildi. Sadece 6 olguda (% 2,9), tümör hücrelerinde zayıf PDL1 membranöz ekspresyonu vardı. Buna karşılık 15 olguda (%7,1) PD-L1 pozitif yangısal hücreler izlendi. PD-L1 ekspresyonu ile sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p = 0,660$). On dört (% 6,7) olguda FOXP3 pozitif lenfosit vardı. FOXP3-pozitif hücre aralığı 1 ila 30/ BBA arasındaydı. Sağkalım süresi ile Treg hücre varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p = 0,077$). Sağkalım ile nodal metastaz ($p = 0,006$), pT evresi ($p < 0,01$) ve inflamatuvar karsinom varlığı ($p < 0,01$) gibi bazı prognostik faktörler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı.

Sonuç: Bu çalışmada PD-L1 pozitifliği ile meme tümörünün histolojik derecesi, evresi ve hormon reseptör durumuyla istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır. Hem FOXP3 hem de

PD-L1 molekülünün genel sağkalım ile istatistiksel anlamlı ilişkisi saptanamamıştır. Ancak Treg inflamatuvar hücrelerin varlığının sağkalım üzerine minimal pozitif bir etkisi olduğu gösterilmekle birlikte bu ilişki istatistiksel analizlerle kanıtlanamamıştır.

Anahtar Sözcükler: PD-L1, FOXP3, Treg, Meme kanseri.



ABSTRACT

EVALUATION OF PD-L1 AND FOXP3 EXPRESSIONS ACCORDING TO THE MOLECULAR SUBTYPES (LUMINAL A, LUMINAL B, HER2-POSITIVE, TRIPLE-NEGATIVE) OF BREAST CANCER

Dr. Özge Kaya Korkmaz

balozge4@gmail.com

Republic of Turkey, Health Sciences University, Tepecik Health Practise and Research Hospital,
Department of Pathology

Objective: Breast cancer is the most common cancer among women and is the second frequent cause of cancer-related deaths worldwide. The roles of PD-L1 and FOXP3 in tumorigenesis of breast cancers are relatively less evaluated topics. The aim of this study is to determine the prognostic values of PD-L1 expressions in breast cancers and to detect the presence of FOXP3-positive Treg cells in tumor microenvironment.

Material and Method: This study included 210 females with breast cancer who had been histopathologically diagnosed in Pathology Laboratory of Tepecik Education and Research Hospital between the years 2011, and 2014.

Results: In this series, there were 66 (31.4%) Luminal A, 80 (38.1%) Luminal B, 46 (21.9%) Her2 positive, and 18 (8.6%) triple negative tumors according to the molecular features. The mean age is 55.46 ± 12.5 years and the patients were followed up for a mean period of 61.9 ± 20.6 months. In only 6 cases (2.9%), there were weak membranous expressions of PD-L1 in tumor cells. However, PD-L1-positive inflammatory cells were seen in 15 tumors (7.1%). There was no significant relationship between PD-L1 expression and survival ($p=0.660$). In 14 (6.7%) cases, there were FOXP3-positive lymphocytes. Range of FOXP3-positive cells were between 1 and 30/HPF. There was no statistically significant association between the survival times and presence of Tregs ($p=0.077$). Statistical significances between survival and some prognostic factors such as nodal metastasis ($p=0.006$), pT stage ($p<0.01$) and presence of inflammatory carcinoma ($p<0.01$) was determined.

Conclusion:

In this study, no statistically significant relation was found between PD-L1 positivity and histological grade, stage, and hormone receptor status of the breast tumor. There was no statistically significant relationship between both FOXP3 and PD-L1 molecule and overall survival. We have found a minimal positive effect of the presence of Treg inflammatory cells on the survival. But this relationship could not be proved by statistical analyses.

Keywords: PD-L1, FOXP3, Treg, Breast cancers.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnvaziv meme karsinomu, kadınlarda en sık görülen malignite olup meme karsinomunun dünya çapında kadın maligniteleri arasındaki insidansı %23, gelişmiş ülkelerdeki insidansı %27 kadardır (1). Meme karsinomları çeşitli morfolojik, moleküler özellikleri ve klinik sonuçları ile heterojen bir hastalıktır (2). İnvaziv meme karsinomları protein ekspresyonu ve moleküler profile göre sınıflandırıldığında; luminal A, luminal B, HER2-pozitif, bazal benzeri, normal benzeri ve claudin benzeri şeklinde sınıflandırılabilir ve bu alt tiplerin kendine özel tedavi yaklaşımları vardır (3-4).

PD-1 (Programmed cell death 1) molekülü T,B ve NK hücrelerinin yüzeylerinde eksprese olup bu hücrelerin aktivasyonunu sağlayarak onları apoptoza götüren bir reseptördür. Bu reseptörün ligandı (PD-L1) tümör hücreleri tarafından eksprese edilerek T,B hücreleri, makrofajları ve dendritik hücreleri apoptoza zorlar. Meme, akciğer, mide, kolorektal kanser, hepatosellüler ve renal hücreli karsinom gibi birçok tümörde eksprese olup kötü prognozu yansıtır (5-7).

FOXP3 regülatör T lenfositlerde eksprese olan, onların gelişmesi ve fonksiyon gösterebilmesi için gerekli olan bir transkripsiyon faktörüdür. Treg hücreler immün sistemin baskılanmasında rol oynar. Treg hücreler için spesifik bir marker olup Treg hücrelerin infiltre ettiği tümörlerde prognostik faktör olarak değerlendirilir. Yapılan araştırmalar göstermiştir ki PD-L1 ve FOXP3 meme karsinomlarında sinerjistik çalışan ve ekspresyonlarında tümörün immün sistemden kaçışını sağlayan yolaklardır. (5)

Günümüz gen çalışmaları sayesinde, prognoz ve tedavi hedefleri açısından belirgin farklılıklar gösteren moleküler alt tipler belirlenip bunlara yönelik tedaviler geliştirilmiştir.

Bu çalışmanın amacı; meme karsinomlarının, moleküler alt tipleri ile beraber farklı klinikopatolojik değişkenlerinin PD-L1 ve FOXP3 ekspresyonu ile ilişkisini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Memenin Embriyolojisi

Meme gelişimi, süt çizgisi olarak da adlandırılan ektodermin her iki tarafının kalınlaşmasıyla gebeliğin ilk üç ayında başlar. Süt çizgileri, aksilladan başlayarak kasıklara doğru uzanım gösterir. Fetal gelişim ilerledikçe, süt çizgileri pektoral bölgenin her iki tarafında birer tane olmak üzere geriler (8).

Meme gelişiminin erken evreleri seks steroid hormonlarından çoğunlukla bağımsızdır (9). Meme bezleri, her iki cinsten aynı yapıda olup, benzer bir gelişim gösterirler. Dişilerde bu bezler puberte boyunca hızlı bir büyüme gösterirler (10).

Gelişmekte olan meme, epitelyal bir sap etrafında yoğunlaşır, bu meme tomurcuğunu oluşturur. Mezenşim içinde gelişen solid epitel alanları, meme bezinin loblarına veya bölümlerine gelişime olanak verir. Dermisin kısımları giderek artan şekilde epitel sütunlarını sarar ve memenin bağ dokusuna dönüşür. Dermisin daha fibrokollajen elementleri gelişmekte olan memeye uzanır ve daha sonra Cooper'ın süspansiyon ligamentlerini oluşturur. Fetal papiller dermisin bazı bölgeleri, gelişen epitel kordonlarını kapsar ve nihai olarak, meme kanallarını ve lobüllerini çevreleyip besleyen, aynı zamanda destek sağlayan vaskülarize bağ dokusunu meydana getirir. Yirmi ve 32. haftalar arasında mezenşimin bazı komponentleri kollajenöz stromadaki yağ dokuya dönüşür. Gebeliğin son 8 haftasında, epitelyal kordlar, mezenkimal parakrin etkiler sayesinde kanalize olur, dallanır ve böylece lobuloalveoler yapıları oluşturur. Üçüncü trimesterde, gelişmekte olan meme bezleri anne hormonlarına yanıt verir ve hafif salgı değişiklikleri gösterir. Doğum üzerine, maternal hormonların geri çekilmesi, kolostrum salgılanmasını başlatan prolaktin salınımını uyarır. Bu, bir dereceye kadar, doğumdan sonraki ilk birkaç gün içinde her iki cinsiyetteki bebeklerin yaklaşık% 90'ında meydana gelir. Kolostrum aslında su, yağ ve organik materyellerden oluşur; doğumdan bir ay sonra yok olur. Bu süre zarfında ve bundan sonraki birkaç hafta boyunca, meme palpe edilebilir şekilde genişler. Ergenliğe kadar, meme dokusu neredeyse sadece büyük kanallardan oluşur. (10-12).

Meme gelişimi pubertenin sonunda yaklaşık 20 yaşlarında tamamlanır ve bu gelişim dolaşımdaki östrojen seviyelerindeki artışla doğru orantılıdır. Doğumdan puberteye kadar meme bezleri az gelişmiş olarak varlığını sürdürür (10).

2.2. Memenin Anatomisi

Meme pektoralis major kasının önünde ön göğüs duvarında yer alır ve tipik olarak vertikal aksta ikinciden altıncı kota ve horizontal aksta sternum kenarından orta aksiler çizgiye uzanır. Meme lateralde serratus anterior kası ve inferiorda eksternal oblik kas ve superior rektus kası kılıfı üzerinde uzanır. Yoğun fibröz doku demetleri olan, Cooper asıcı ligamanları deriden pektoral fasyaya uzanır ve memeyi destekler.

Memenin arteriyel dolaşımı, internal meme ve lateral torasik arterler tarafından oluşturulur. Torakoakromial, interkostal, subskapular ve torakodorsal arterlerin dalları meme kanlanmasına küçük katkıda bulunurlar.

Memenin venöz drenajı önemli ölçüde bireysel varyasyonlar göstermekle birlikte büyük oranda arteriyel sistemi takip eder. Memenin lenfatik drenajının %90'ından fazlası aksiller lenf düğümleri tarafından sağlanır. İnternal torasik ve posterior interkostal lenfatikler, internal mammarian ve posterior interkostal lenf düğümlerine drene olur ve memenin lenfatik drenajına katkıda bulunurlar (13).

2.3. Memenin Histolojisi

Epidermisteki modifiye ter bezlerinden köken alan tübüloalveolar meme bezleri subkutan dokuda yer almaktadırlar(15). Yetişkin kadın memesi, oranları yaş ve bireyler arasında değişen fibröz ve adipoz dokusundan oluşan stroma içine yerleşik terminal duktal lobüler ünite (TDLÜ) ve büyük duktal sistemden oluşur (11-12). Küçük glandüler yapılar olan asiniler birleşerek, lobülleri oluşturur. Lobül ve terminal duktulilerin oluşturduğu TDLÜ, memenin sekretuar görevini görür. Terminal duktuslar subsegmental duktuslara bağlanır, daha sonra sırasıyla segmental duktuslara ve kollektör (laktiferöz) duktuslara dönüşüp meme başına açılır (14).

Areolanın altında her bir laktiferöz kanal, laktiferöz sinüs adı verilen genişlemiş bölgeye sahiptir. Laktiferöz kanallar açıklıklarının yakınında keratinize çok katlı yassı epitel ile döşelidirler. Kanalin epitelyal döşemesi kademeli olarak çok katlı yassıdan laktiferöz sinüste iki katlı kübik hücrelere ve sonunda kanal sisteminin geriye kalan bölümünde tek katlı prizmatik ya da kübik hücrelere geçiş gösterir. Yetişkin meme başının ve areolasının epiteli yüksek düzeyde pigmentedir. Biraz büzüşmüş durumdadır ve alt yüzeyinde invazyon yapan uzun dermal papillalara sahiptir. Keratinize çok katlı yassı epitel ile kaplıdır. Meme başının pigmentasyonu pubertede artar ve meme başı

daha belirgin hale gelir. Gebelik sırasında areola genişler ve pigmentasyon derecesi daha da artar. Areolanın ve meme başının derinlerinde düz kas lif demetleri sıkı bağ dokusunda radial ve sirkumferansiyel, lakriferöz kanallar boyunca da longitudinal olarak düzenlenmiştir. Bu kas lifleri çeşitli stimuluslara yanıt olarak meme başının dikleşmesini sağlar. Areola; sebace bezler, ter bezleri ve modifiye meme bezleri (Montgomery bezleri) içermektedir. Bu bezler, gerçek meme bezleri ile ter bezleri arasında yapısal özellik gösterirler ve areolanın yüzeyinde küçük kabartılar meydana getirirler. Montgomery bezlerinin derinin pH'nı değiştiren ve mikrobiyal büyümeyi engelleyen kayganlaştırıcı ve koruyucu bir salgı ürettiğine inanılmaktadır. Meme başında çok sayıda duyuşal sinir sonlanması bulunmaktadır. Areolada daha az sayıda duyuşal sinir sonlanması vardır. Meme bezlerinin terminal duktal-lobüler birimleri intralobuler stroma tarafından çevrelenmiş salgı yapan küçük alveol kümelerine ya da terminal duktal kümelerine benzemektedirler(15).

Meme dokusu, hormonal uyarılar ve diğer etkilere duyarlı bir organdır. Puberte öncesi, gebelik, laktasyon dönemleri ve senilitede farklılıklar gösterir. Puberte öncesi meme dokusu, immatür nitelikte olup selüler proliferasyon epitelyal hücrelere bağlıdır. Gebelik ve laktasyonda tüm hücre tiplerinde proliferasyonun arttığı gözlenir. Senil dönemde ise involüsyon, TDLÜ' te daha belirgin olup epitel ve stromayı kapsar (13).

2.4. Memenin Fizyolojisi

Meme gelişiminde pek çok hormonun etkisi olmakla birlikte östrojen ve progesteron, meme gelişiminin başrol oyuncularındır. Östrojen memenin duktal sistemlerinin büyümesine ve etraflarında bol miktarda yağ birikmesine neden olurken; progesteron, kanalların ucundaki alveol bezlerinin gelişimini uyararak memede laktasyonun gerçekleşmesine olanak sağlar (16-17).

Memenin hem stromal hem de glandüler bileşenleri hormonal değişiklikler nedeniyle menstruasyon, hamilelik ve emzirme döneminde değişime uğrayarak emzirme döneminin sonunda tamamen olgunlaşır. Laktasyon döneminde, asini lümenleri bol miktarda salgı ile dolarken menopoz ile birlikte, lobüllerin sayısı ve hücreliliği azalır, yerini sadece duktuslara bırakabilir (18).

2.5. Meme Kanseri

2.5.1. Epidemiyoloji

İnvaziv meme kanseri kadınlarda en sık görülen ve sıklığı yaşla birlikte artan bir karsinomdur. Avustralya, Avrupa ve Kuzey Amerika'nın zengin nüfusları, meme kanseri gelişimi için yüksek risk taşımakta iken Sahra altı Afrika'nın daha az gelişmiş bölgelerinde bu risk düşüktür (1). Meme kanseri post-menapozal kadınlarda tüm kanser ölümlerinin %23'lük bir kısmını oluşturarak kanser mortalitesinin en önemli sebeplerinden bir tanesidir. Dünya çapında meme kanseri sağkalım oranlarında büyük bir fark vardır; sağkalım oranları gelişmiş ülkelerde 5 yıllık tahmini % 80, gelişmekte olan ülkeler için % 40'ın altına düşmektedir (19). Meme kanseri görülme sıklığı yaşla birlikte artsa da, meme kanseri her yaşta görülebilir (14).

Meme kanseri, erken evrelerde tespit edildiği zaman prognozu iyi seyreder. Son 10 yılda meme kanseri mortalitesi belirgin bir şekilde azalmaktadır. Popülasyon taraması, adjuvan hormonal tedavi ve kemoterapinin birlikte kullanımı bu azalmayı sağlamıştır. Özellikle ikinci, üçüncü kuşak kemoterapilerin ve aromataz inhibitörlerinin kullanılmaya başlanması ile hastalığın seyri konusundaki gelişmeler çarpıcı olmuştur (1).

2.5.2. Risk Faktörleri

Meme kanseri gelişimine sebep olan çok sayıda risk faktörü bildirilmiştir. Erken menopoz, geç menarş, geç doğum, obezite, nulliparite, yüksek yağlı diyet, oral kontraseptifler ve diğer ekzojen östrojenler gibi risk faktörleri düşünüldüğünde östrojen hormonuna maruziyetin kanser gelişiminde kalıtım ile birlikte en önemli sebepler olduğu gözlenmiştir. (20).

Aile öyküsü: Meme kanserinin diğer neoplaziler düşünüldüğünde daha fazla ailesel kümelenme gösterdiği görülmüştür. Meme kanseri gelişme riskini büyük ölçüde artıran iki yüksek penetrasyon geni (BRCA1 ve BRCA2) tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki birinci derece akrabalarından herhangi birinde meme kanseri gelişmiş bireylerin meme kanseri olma riski iki kat artarken aile bireylerinden ikisinde meme kanseri görülmüş bireylerde bu oran üç katına ulaşmaktadır (21) .

Doğum yeri: Meme karsinom insidansının bir popülasyondan diğer popülasyona büyük ölçüde değiştiği ile ilgili birçok kanıt mevcuttur. Gelişmiş ülkelerde risk artmıştır. Kuzey Amerika'da ve kuzey Avrupa ülkelerinde doğanlar, meme kanseri açısından artmış risk taşımaktadır (20).

Reproduktif özellik ve menstrüel siklus: Erken menarş, geç menapoz, nulliparite, ilk doğumun geç yaşta olması meme karsinomu riskini artırmaktadır. Üreme düzenindeki değişikliklerin, meme kanseri riskinde ciddi bir artışa neden olduğuna inanılmaktadır (22). İlk doğumun 30 yaşından önce yapılmasının meme kanserinden koruyucu etkisi olduğu görülmüştür (1). Laktasyonun koruyucu etkisi, bir zamanlar güçlü bir faktör olarak düşünülse de, son zamanlarda daha az etkili bulunmuştur (24).

Ekzojen Östrojenler: Son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki postmenapozal kadınlarda kullanılan hormon replasman tedavisi 2 grupta risk artışına sebep olmuştur. Bunlar uzun süreli östrojene maruz kalanlar ve mevcut kullanıcılarıdır. Risk östrojen ile birlikte progestin kullananlarda çeşitlilik göstermektedir (1). Risk artışı özellikle lobüler karsinomla ilişkili bulunmuştur (23).

Kontraseptif ajanlar: Yapılan çalışmalar göstermiştir ki; mevcut veya eski oral kontraseptif kullanımı meme kanseri riskinde önemli bir artış ile ilişkili değildi. Risk daha uzun kullanım dönemleriyle ya da yüksek doz kullanımla artmadı (25).

Intraduktal proliferatif lezyonlar: Klinik çalışmalar bu lezyonların, invaziv meme karsinomu gelişimini değişik seviyelerde etkilediğini göstermiştir. Basit duktal hiperplazide (BDH) 1,5 kat, atipili duktal hiperplazide (ADH) 3-5 kat, duktal karsinoma

in situda (DKİS) 8-10 kat artmış invaziv karsinom riski saptanmıştır (13). BDH önemli bir risk faktörü değildir ve çoğu olguda bir prekürsör lezyonu temsil etmekten uzaktır. Flat epitelyal atipi ise ADH ve düşük dereceli DKİS ile benzer morfolojik, immunohistokimyasal ve moleküler özelliklere sahip, neoplastik bir lezyondur. ADH ile DKİS birlikte “intraepitelyal neoplaziler”i temsil eder (1).

Benign proliferatif lezyonlar: Adenozis, fibroepitelyal ve sklerozan lezyonlar benign proliferatif lezyonları oluştururlar. Apokrin, tübüler ve duktal adenomlar benign lezyonlar olup bu lezyonlarda malignite riski bulunmazken sklerozan adenozisde malignite riskinde hafif bir artış mevcuttur. Mikrogländüler adenozis zemininde atipi veya karsinom gelişebilmekle birlikte, radyal skar ve kompleks sklerozan lezyonlarda epitelyal atipi geliştiğinde malignite riskinde artış mevcuttur. (1).

Obezite: Beden kitle endeksinin yüksekliğinin özellikle postmenopozal meme kanseri riskini arttırdığı gösterilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar, kepekli, lifli yiyeceklerin, meyve ve sebzelerin diyetlere dahil edilmesinin azalmış kanser riski ile ilişkili olduğunu ve erken yaşamda (<8 yaş) bu diyetlere başlanmasının kanser insidansı arasında güçlü görünür bir ilişkiye sahip olduğunu göstermektedir. Aşırı kilo ve obezite, meme kanseri nüksüyle de yakından ilişkilidir (26).

Fiziksel aktivite: Meme kanserine karşı bildirilmiş en güçlü koruyucu faktör menarştan başlayarak ömür boyu yapılan sürekli yüksek fiziksel aktivitedir (26-27).

Alkol ve sigara: Premalign ve invaziv meme kanseri için en tutarlı diyet risk faktörü, düşük seviyelerde bile erken veya geç yetişkin yaşamında tüketilen alkoldür.(26). Alkolün, ER'nin transkripsiyonel aktivitesini arttırdığı ve bu yüzden hormon reseptörü pozitif meme tümörleriyle daha güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir (28). Sigara artmış meme kanseri riski ile ilişkilidir. (29).

İyonizan radyasyon: Meme gelişiminin erken dönemlerinde maruz kalınan iyonizan radyasyonun, kanser gelişim riskinde artışa sebep olduğu bildirilmiştir (30).

Diğer: Ataksi-Telenjektazi, Cowden, Li-Fraumeni ve Lynch sendromları meme kanseri riskini arttıran diğer durumlardır (1).

2.5.3. Genetik Predispozisyon

Kalıtsal meme kanserlerinin % 25 kadarı spesifik genlerin germline mutasyonları ile bağlantılıdır. Germline mutasyonların keşfi bireyin yaşam boyu risk tayininin yapılmasında ve bu riskin azaltılmasında en önemli aşamadır. Genel olarak genetik

faktörler düşük penetrasyonlu genler ve yüksek penetrasyonlu genler olarak ikiye ayrılmıştır. Bunlardan yüksek penetrasyon gösteren ve en sık bilinenleri, otozomal dominant kalıtım gösteren 17q21 kromozom bölgesinde yerleşmiş BRCA1 ve 13q12.3 kromozom bölgesinde yerleşmiş BRCA2 genleridir . Bu genler, kodladıkları proteinler sayesinde DNA çift zincir kırıklarının onarımına katkıda bulunurlar (31).

BRCA1 mutasyon taşıyıcılarındaki meme kansinomu belirgin bir histolojik görünümle ilişkilidir. Bu tümörler yüksek dereceli, sinsityel büyüme paternine sahip olup itici tarzda ilerlerler. Konfluent nekroz ve yüksek mitotik aktivite gösterirler. (32). BRCA1 mutasyon taşıyıcılarında daha çok atipik medüller karsinom izlenirken pleomorfik lobuler karsinom ve intraduktal baskın tip karsinomlarda BRCA2 mutasyonu izlenir (32).

BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları over, prostat, pankreas kanserleri ve melanom gibi diğer tümörlerle de ilişkilidirler. (33).

2.5.4. Klinik ve Radyolojik Özellikler

Meme kanserinin en önemli klinik belirtisi ele gelen kitledir. Diğer klinik belirtiler meme derisinde retraksiyon, meme başında çöküntü, meme başı akıntısı ve daha az sıklıkla meme şekil ve boyutlarında değişiklik olabilir. Nadir de olsa sadece aksiler lenf nodunda büyüme olarak bulgu verebilir. Bütün bu semptomlar benign meme hastalıklarında da görülebileceği için kesin tanı görüntüleme, tru-cut biyopsi veya ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) ile doku örnekleme yapılarak konulabilir (1).

Görüntüleme: Mamografi 40 yaş üstü kadınlarda meme kanserinin saptanmasında temel radyolojik yöntemdir. Meme kanseri en sık mamografide mikrokalsifikasyon içerebilen, kötü sınırlı, spiküle kitle olarak görülür. Ancak bazen yapısal distorsiyon, fokal asimetrik dansite veya tek başına kalsifikasyon bulunabilir. Ultrasonografi yapısal olarak yoğun memelerde mamografinin sensitivitesini artırmak için kullanılabilir. Genç kadınlarda mamografi nadiren yardımcı olup kullanımı 40 yaşın altındaki kanıtlanmış meme kanseri olan kadınlarla sınırlandırılmalıdır. Bu yaş grubunda meme görüntülemesinde seçilmesi gereken ultrasonografidir. Manyetik rezonans görüntüleme meme kanserini saptamada en sensitif yöntemdir ancak yalnızca çok yüksek riskli kadınlar ve kesin meme kanseri tanısı alan hastalarda tedavi öncesi lokal evreleme için kullanılmalıdır (1).

Yerleşim yeri: Meme kanserinin yerleşim yeri genellikle ilişkili olduğu meme kadranı ile belirtilir. Yaklaşık %50 üst dış kadran, %15 üst iç kadran, %10 alt dış kadran, %5 alt iç kadran ve %17 santral bölgede yerleşirken %3 oranında diffüz (masif/multifokal) tümör gelişimi söz konusudur (14).

Multisentrisite ve multifokalite: Multisentrisite aynı memede baskın olan kitlenin bulunduğu kadranın dışında bir kadranda başka bir invaziv tümör bulunmasıdır. Multifokalite ise aynı memede, aynı kadran içinde iki veya daha fazla invaziv tümör varlığıdır. Multisentrisite lobüler karsinomlarda duktal karsinoma göre daha sıktır. Multisentrik tümörlerin unisentrik tümörlere oranla daha kötü prognoza sahip olduğu bildirilmiştir (34).

Bilateralite: Meme kanseri her iki memede de primer karsinom geliştiğinde bilateral olarak nitelendirilir. Bilateral meme kanseri tüm meme tümörlerinin %2-3'ünü oluşturur. Bilateral meme kanseri, karşı memedeki tümör, ilk tümörden sonra üç aylık süre zarfında tanı almışsa senkron, üç aydan daha uzun bir süre sonra tanı almışsa metakron olarak kabul edilir (35). Lobüler karsinom olgularında bilateralite oranı %25-50 kadar olabilir (14).

2.5.5. Memenin Epitelyal Tümörlerinin Sınıflandırılması

Günümüzde invaziv meme karsinomlarının sınıflandırılması, tüm dünyada kabul görmekte olup Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yapılmaktadır. Bu sınıflandırmanın temelini histopatolojik görünüm oluşturmaktadır.

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından 2016'da yayınlanan DSÖ Meme Tümörlerinin Sınıflandırılması, 5. baskısında yer alan, memenin epitelyal tümörleri sınıflandırması Tablo 2.1.'de gösterilmektedir.

İnvaziv meme karsinomlarının büyük çoğunluğu adenokarsinomdur. Meme karsinomları histopatolojik sınıflandırılması ise büyüme paterni ve sitolojik özelliklerine göre yapılmaktadır. En sık duktal ve lobüler tip tanımlanmakta olup, bu

ayrım tümörlerin köken aldığı bölgeyi tanımlamaz. Pek çok histolojik tip bulunmasına karşın invaziv meme karsinomlarının çoğu TDLÜ'ten köken alır (36).

Özellik göstermeyen invaziv karsinom (No Special Type, NST): Meme kanserlerinin büyük çoğunluğunu oluşturan ve genellikle invaziv duktal karsinom (İDK) olarak bilinen tümörlerdir. Karakteristik özellikler barındırmayan, heterojen tümörden oluşan bu grup, spesifik bir alt gruba dahil edilememektedir. Düzensiz, yıldız şeklinde özelliklere veya nodüler yapıya sahip olabilirler. Makroskobik olarak da karakteristik özelliklere sahip olmayıp sert, sarı-beyaz renkte ve sınırları düzensiz şekilde izlenebilir (1). Histopatolojik olarak tümör hücreleri iyi oluşmuş glandüler yapılar, kordonlar, yuvalanmalar ve çeşitli boyutta trabeküler yapılar ya da solid adalar şeklindedir (13).

Sitolojik olarak tümör hücreleri, normal meme epitelyal hücrelerinden hafif değişiklik gösteren tipte olabileceği gibi belirgin nükleer atipi ve pleomorfizm içeren tipte de olabilir. Mitotik aktivite tespit edilemeyecek düzeyde veya çok sayıda olabilir. Gland oluşum oranı, nükleer atipi ve mitotik aktivite birlikte önemli bir prognostik faktör olan kombine histolojik dereceyi oluşturur (13).

Skuamöz metaplazi, apokrin metaplazi veya berrak hücre değişikliği alanları görülebilir. Stroma, yoğun fibrotik veya sellüler olmakla birlikte yoğunluğu değişiklik göstermektedir. Olguların %90'ında büyük elastik doku kitleleri (elastozis) mevcuttur (14). Bu elastozis odakları periduktal veya perivenöz dağılım gösterebilir. Fokal nekroz odakları mevcut olabilir ve bu bazen sekonder kist oluşumu ile birlikte kendini gösterebilir (1). Tümör- stroma arası sınırdaki mononükleer hücre infiltrasyonu sıktır. Nadiren granüloamatöz inflamasyon görülebilir (14). Bir tümörün özellik göstermeyen invaziv meme karsinomu kategorisine girebilmesi için tümör kitlesinin %50'sinden fazlasının özelleşmemiş morfolojide olması gerekir. Eğer özelleşmemiş alanlar tümörün %10 ila 49'unu oluşturuyorsa mikst tip karsinom kategorisinde ele alınır (1).

Tümör hücreleri düşük molekül ağırlıklı sitokeratinler (özellikle tip 8, 18 ve 19) EMA, gros kistik hastalık sıvısı proteini (GCDFP-15) ve mammaglobin ile pozitif boyanma özelliğine sahiptir (37). Mammaglobin, GCDFP-15'e göre daha daha sensitif ancak daha az spesifiktir (14).

Tablo 2.1. DSÖ Meme Epitelyal Tümörler Sınıflandırması (1)

Epitelyal Tümörler	
Mikroinvaziv karsinom	Mukoepidermoid karsinom
İnvaziv meme karsinomu	Polimorfoz karsinom
İnvaziv meme karsinomu, özellik göstermeyen	Onkositik karsinom
<input type="checkbox"/> Pleomorfik karsinom	Lipitten zengin karsinom
<input type="checkbox"/> Osteoklast benzeri dev hücreler içeren karsinom	Glikojenden zengin şeffaf hücreli karsinom
<input type="checkbox"/> Koryokarsinomatöz özellikler gösteren karsinom	Sebase karsinom
<input type="checkbox"/> Melanotik özellikler gösteren karsinom	Tükrük bezi deri eki tipi tümörler
İnvaziv lobüler karsinom	▪ Silindroma
<input type="checkbox"/> Klasik lobüler karsinom	▪ Şeffaf hücreli hidradenoma
<input type="checkbox"/> Solid lobüler karsinom	Epitelyal myoepitelyal tümörler
<input type="checkbox"/> Alveoler lobüler karsinom	Pleomorfik adenom
<input type="checkbox"/> Pleomorfik lobüler karsinom	Adenomyoepitelyoma
<input type="checkbox"/> Tünülolobüler lobüler karsinom	Karsinom içeren adenomyoepitelyoma
<input type="checkbox"/> Mikst lobüler karsinom	Adenokistik karsinom
Tübüler karsinom	Prekürsör lezyonlar
Kribriform karsinom	Duktal karsinoma in situ
Müsinöz karsinom	Lobüler neoplazi
Medüller özellikler gösteren karsinom	▪ Lobüler karsinoma in situ
<input type="checkbox"/> Medüller karsinom	▪ Klasik lobüler karsinoma in situ
<input type="checkbox"/> Atipik medüller karsinom	▪ Pleomorfik lobüler karsinoma in situ
<input type="checkbox"/> Medüller özellikler gösteren invaziv karsinom	▪ Atipik lobüler hiperplazi
Apokrin diferansiyasyon gösteren karsinom	İntraduktal proliferatif lezyonlar
Taşlı yüzük hücre diferansiyasyon gösteren karsinom	Basit duktal hiperplazi
İnvaziv mikropapiller karsinom	Kolonmar hücreli lezyonlar
Özellik göstermeyen metaplastik karsinom	Atipik duktal hiperplazi
<input type="checkbox"/> Düşük dereceli adenoskumaöz karsinom	Papiller lezyonlar
<input type="checkbox"/> Fibromatozis benzeri metaplastik karsinom	İntraduktal papillom
<input type="checkbox"/> Skuamöz hücreli karsinom	Atipik hiperplazi içeren intraduktal papillom
<input type="checkbox"/> İğsi hücreli karsinom	Duktal karsinoma in situ içeren intraduktal papillom
<input type="checkbox"/> Mezenkimal diferansiyasyon gösteren metaplastik karsinom	Lobüler karsinoma in situ içeren intraduktal papillom
<input type="checkbox"/> Mikst metaplastik karsinom	İntraduktal papiller karsinom
<input type="checkbox"/> Miyoepitelyal karsinom	Enkapsüle papiller karsinom
Nadir tipler	İnvazyon içeren enkapsüle papiller karsinom
Nöroendokrin özellikler gösteren karsinom	Solid papiller karsinom, in situ ve invaziv
<input type="checkbox"/> İyi diferansiye nöroendokrin tümör	Benign epitelyal proliferasyonlar
<input type="checkbox"/> Az diferansiye nöroendokrin karsinom (küçük hücreli karsinom)	Sklerozan adenozis
<input type="checkbox"/> Nöroendokrin diferansiyasyon gösteren karsinom	Apokrin adenozis
Sekretuar karsinom	Mikroglandüler adenozis
İnvaziv papiller karsinom	Radyal skar/kompleks sklerozan lezyonlar
Asinik hücreli karsinom	Adenomlar

İnvaziv Lobuler Karsinom: İkinci sıklıkta görülen meme karsinomudur ve sıklığı %5 ile %15 arasındadır. İnvaziv lobuler karsinomun fiziksel inceleme ve mammagrofik görünüm bulguları oldukça belirgin olabilir. Makroskobik olarak sert, kumsu, gri-beyaz renkte kitleler olup invaziv duktal karsinomlardan ayıramayabilir. Kendine özgü sitolojik özellik ve patern oluşturan neoplastik hücrelerin stromal infiltrasyonu ile karakterizedir. Klasik form, küçük, rÖlatif olarak uniform neoplastik hücrelerin , stromada tek tek veya tek sıra infiltrasyonu ile karakterizedir ve bu görünümle çizgisel bir patern oluşturur(13)

Klasik İLK'nın dışında, sitolojik veya büyüme biçimini paylaşan ancak hücreler arası kohezyon kaybının izlendiği, nadir gözlenen varyantları tanımlanmıştır . Solid tip, tipik non- koheziv hücrelerden oluşur, ancak bunlar tabakalar halinde büyürler. Lobüler morfoloji korunmuş olmasına rağmen, genellikle pleomorfiktirler ve klasik tipten daha yüksek bir mitoz oranına sahiptirler . Alveoler varyantta hücreler, esas olarak en az 20 hücrenin globüler yapılanmalarıyla karakterlidir . Pleomorfik lobüler karsinom (PLK), lobüler karsinomun ayırt edici büyüme özelliklerini korur, ancak klasik İLK'dan daha yüksek derecede hücresel atipi, pleomorfizm ve daha yüksek mitotik oranlara sahiptir. Apokrin veya histiositoid farklılaşma gösterebilir ve taşlı yüzük hücrelerinden oluşabilir. Tübülobüler patern tübüler bir büyüme paterni ile lineer yerleşim gösteren küçük üniform hücrelerin karışımından oluşur (1). İLK'un hücre membranında E-kadherin ekspresyon kaybı, karakteristiktir bir özelliktir. Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki; lobüler karsinom hücreleri p120 katenin belirleyicisi ile karakteristik olarak sitoplazmik boyanmaya sahiptir (38). Morfolojik olarak İLK ile benzerlik gösteren düşük dereceli İDK'ları ayırmada E-Kadherin ve p120 katenin ekspresyonunun değerlendirilmesi yardımcıdır. Fakat; son yıllarda İLK'ların %15'inin E-kadherin eksprese ettikleri anlaşılmıştır, dolayısıyla pozitif boyanma İLK tanısını ekarte ettirmez (39).

Tübüler karsinom: Metastatik kapasitesi sınırlı ve prognozu iyi olan özel tip bir kanserdir. Çevresinde myoepitelyal hücre tabakası bulunmayan tek sıra epitelyum hücreleri ile döşeli gland ve tübül yapılarının dağınık proliferasyonu ile karakterizedir. Bu tübüller oval şekilli, keskin angulasyon yapan konturlu ve açık lümenlidir. Bu tübüllerini oluşturan hücreler düşük dereceli nükleuslara sahip olup sıklıkla apikal sitoplazmik çıkıntılara sahiptir (13). Makroskopik olarak ortalama 1 cm çapa sahiptir ve boyutlarının küçük olması temel özelliklerindedir (1). Tübüler karsinomların büyük bir kısmı DKİS ile ilişkilidir. Ek olarak flat epitelyal atipi ile birlikteliği de sıktır (13) Bazal

membranının olmaması, glandların stroma içerisinde organoid yapı göstermeksizin, rastgele dağılmış olması, lezyon periferindeki çevre yağ dokuya invazyon, selüler stroma varlığı, apokrin çıkıntılar ve düzensiz konturları olan, lümenlerinde bazofilik sekresyon barındıran glandların olması tanıyı destekleyen unsurlardır (14).

Kribriiform karsinom: İntraduktal kribriiform karsinomda izlenene benzer bir şekilde büyüyen, mükemmel prognozlu, oldukça nadir görülen invaziv bir karsinomdur. Görülme yaşı ortalama 53-58'dir. Kribriiform karsinomu, özellik göstermeyen invaziv karsinom veya karma tiplerinden ayıran spesifik bir makroskopik bulgu yoktur. Lezyonun % 90'ından fazlası invaziv kribriiform paterne sahiptir. Tümör, iyi sınırlı kribriiform boşlukları "elek" benzeri düzenlenimle dolduran, invaziv bir paterne sahiptir. Açılanma ve dallanmalar gösteren bu yapıların lümenlerinde müsin içerikli sekresyon ve mikro kalsifikasyonlar bulunabilir. Tümör hücreleri hafif veya orta derecede bir pleomorfizme sahiptir. Mitozlar nadirdir. Fibroblastik stroma dikkat çekicidir. Bazı vakalarda, histiyosit kökenli osteoklast benzeri dev hücreler bulunabilir (1).

Müsinöz Karsinom: Genel olarak büyük miktarda hücre dışı müsin içinde yüzen küçük ve uniform hücre kümeleriyle karakterize bir tümördür. Saf müsinöz karsinomlar tüm meme karsinomlarının %2'sini oluşturmaktadır . Makroskobik olarak itici sınırlar dikkati çekmektedir. Kesit yüzünde yumuşak kıvamlı ve jelatinöz görümlü lezyonlar bulunur. Tümör çapı oldukça değişkendir (1 cm'in altından 20 cm'in üstüne kadar) (1).

Müsinöz karsinomu oluşturan yapılar, kapiller kan damarları içeren ince fibröz septalar, müsin gölleri ve içinde yüzen hücre yuvalarıdır. Hücre kümelerinin boyut ve şekilleri değişkendir; bazen tübüler düzenlenim izlenebilir. Nükleer atipi genellikle azdır. Mikropapiller veya cribriform intraepitelyal bileşen nadiren görülür. Bol miktarda ekstraselüler müsin içeren Tip A müsinöz karsinomlar, klasik veya non-endokrin tipi oluştururlar. Geniş hücre kümeleri içeren müsinöz karsinomlar ise hiperselüler veya Tip B müsinöz karsinom olarak adlandırılır ve çoğunlukla nöroendokrin özellikler sergiler. Pür müsinöz karsinom diyebilmek için bir tümörün %90'ından fazlası müsinöz karsinomdan oluşmalıdır. Müsinöz karsinomlar tipik olarak östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) pozitif ve c-erbB2 negatiftir. Az oranda androjen reseptörü

eksprese edebilirler. Saf müsinöz karsinomlar genellikle düşük lokal rekürrens oranlarına sahiptir ve 5 yıllık hastalısız sağkalım oranları mükemmeldir (1).

Medüller özellikler gösteren karsinom: Medüller özellikli karsinomlar; medüller karsinomlar (MK), atipik MK ve özellik göstermeyen tip MK (NST) alt kümelerinden oluşmaktadır. Klasik medüller karsinom tüm meme karsinomlarının %1'inden azını oluşturur (1). Genellikle 50 yaş altı kadınlarda görülür. Makroskobik olarak sıklıkla iyi sınırlı, yumuşak veya orta sertlikte kitlelerdir. Nekroz ve hemoraji odakları sık görülür. Bazı olgularda kistik dejenerasyon karşımıza çıkabilir (1).

Histopatolojik olarak medüller karsinomu tanımlamak için kullanılan kriterler; itici sınırların varlığı, tümör kitlesinin %75'inden fazlasını oluşturan sinsityal büyüme paterni, tübüler diferansiasyonun bulunmayışı, diffüz lenfositik infiltrasyon ve yuvarlak, bol sitoplazmalı, yüksek dereceli, pleomorfik, veziküler nükleuslar içeren tümör hücrelerinin varlığıdır (40). Bu gruptaki tümörler sayılan özelliklerinden tümünü veya bir kısmını karşılamaktadır. Mitoz nadir olup, bazen atipik dev hücreler gözlenebilir. Medüller özellikli karsinomlar sıklıkla ER, PR ve c-erbB2 eksprese etmezler ("triple negatif") (1).

Metaplastik karsinom: Tüm meme karsinomlarının % 0,2- 5'ini oluşturur (1). Epitel ve/ veya mezenkimal bileşenleri olan hem glandüler hem de glandüler olmayan paternler içeren karma bir malign neoplazm grubudur. Bu neoplaziler tamamen metaplastik elementlerden oluşabileceği gibi karsinom alanları ile metaplastik alanların karışımından oluşabilir (1). Makroskobik olarak ayırıcı bir görüntüsü bulunmaz, düzgün sınırlı veya infiltratif olabilir. İDK ile kıyaslandığında daha büyük boyuta sahiptir. Ortalama tümör çapı 3,9 cm'dir (1).

Histopatolojik değerlendirme adına DSÖ tümör çalışma grubunun fikir birliği neticesinde belirlenen tanımlayıcı sınıflandırmada; düşük dereceli adenoskuamöz karsinom, fibromatozis benzeri metaplastik karsinom, skuamöz hücreli karsinom, iğsi hücreli karsinom, mezenkimal diferansiasyon gösteren metaplastik karsinom ve mikst metaplastik karsinom yer almaktadır (1). İmmunohistokimyasal olarak ER, PR ve c-erbB2'nin negatif olduğu triple-negatif meme kanserleridir (14). Bununla beraber keratin 5/6 ve 14 ile epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) eksprese ederler (41).

Metaplastik meme karsinomları diğer triple negatif meme kanseriyle karşılaştırıldıklarında; konvansiyonel adjuvan kemoterapiye yanıtı daha düşük karsinom olmalarının yanında, klinik gidişleri de daha kötüdür (1).

Apokrin diferansiasyon gösteren karsinomlar: Yaygın apokrin diferansiasyon invaziv meme karsinomlarının yaklaşık %4'ünde görülmekteyken; fokal apokrin diferansiasyon İDK'da sık görülen bir özelliktir. Memenin herhangi bir bölgesinde, herhangi bir boyutta gelişebilme özelliğine sahiptir. Tümörün morfolojik özellikleri; geniş nükleuslu ve belirgin nükleollü, abondan eozinofilik, bazen granüler sitoplazmalı hücrelerden oluşmasıdır. Tümörü oluşturan, kombinasyon halinde de karşımıza çıkabilen iki tip hücre mevcuttur. Tip A hücreleri bilinen hücreler sitoplazmik diastaz rezistan periodik-asit-Schiff (PAS) pozitivitesi gösterirken tip B hücreleri abondan köpüksü sitoplazmaya sahiptir. Tümörde glandüler diferansiasyon siktir (1). Tümördeki apokrin diferansiasyon alanları tipik olarak BCL-2 negatif ve GCDFP-15 pozitiftir. Ancak ileri evre tümörlerde GCDFP-15 ekspresyonunda kayıp gelişebilir (1). ER ve PR sıklıkla negatif olup androjen reseptörü pozitiftir. Olguların % 40-50'sinde HER2 overekspresyonu saptanabilir (13).

Nöroendokrin özellikler gösteren karsinom: Nöroendokrin özellikler gösteren ve nöroendokrin belirteçleri değişik düzeylerde eksprese eden nadir tümörlerdir. Gastrointestinal sistem ve akciğerin nöroendokrin tümörlerine benzer morfolojik özellikler gösterir. Altıncı veya yedinci dekatta daha sık görülür ve tüm meme karsinomlarının %1'inden azını oluştururlar (1). Primer meme karsinomuna eşlik eden nöroendokrin diferansiyasyon oldukça nadir görülür ve tüm vakaların %2-5'ini oluşturur. Nöroendokrin karsinomlar sıklıkla atlanabilen durumlardır vakaların yalnızca 1/3'üne doğru tanı konulabilmektedir (42).

Mikroskopik bulguları göz önüne alındığında yoğun selüler solid yuvalar ve trabeküller şeklinde düzenlenen, şekilleri iğsi, plazmositoid ve geniş şeffaf nitelikte çeşitliliğe sahip tümör hücreleri izlenir. Klasik gastrointestinal kanal ve akciğer karsinoidlerinde görülen rozet benzeti yapılar, şeritler ve kordonlar, memenin nöroendokrin karsinomlarında görülmez (1). Memenin primer nöroendokrin karsinomlarında en sık görülen iki histolojik patern papiller ve nested büyüme paternidir (42). Mitoz ve pleomorfizm, az diferansiye varyant haricinde sık görülmez. Az diferansiye varyantta sıkıca paketlenmiş, hiperkromatik, dar sitoplazmalı hücreler

dikkati çekmekte, yüksek mitotik aktivite ile fokal nekroz alanları göze çarpmaktadır (1). Pür nöroendokrin karsinomlar dışında İDK'ların ve diğer türlerin, yaklaşık %30'unda nöroendokrin özellikler gözlenebilir. Müsinöz karsinom ve solid papiller karsinomda da (in situ ve invaziv formları) sıklıkla nöroendokrin diferansiasyon izlenebilir. Nöroendokrin diferansiasyon gösteren karsinomların karakteristik immünohistokimyasal özelliği kromogranin ve sinaptofizin ekspresyonudur (1).

İnvaziv papiller karsinom: İnvaziv komponenti %90'ın üzerinde papiller özellik içeren invaziv adenokarsinomlardır. Gerçek invaziv papiller karsinomlar oldukça nadirdir. Histopatolojik olarak invaziv elemanlar; ince fibrovasküler korları döşeyen malign epitelyal hücrelerden oluşan papillalardan oluşur. Ayırt edici makroskopik özellikleri bulunmamaktadır (1).

İnvaziv mikropapiller karsinom: Saf mikropapiller karsinomlar oldukça nadirdir ve invaziv meme kanserlerinin %0,9-2'sini oluşturur. Tüm invaziv meme kanserlerinin % 7,4'ünde fokal mikropapiller patern alanları izlenebilir. Morfolojik olarak dikkat çeken unsur, çevrelerinde berrak stromal boşluklar bulunan, küçük, çukur veya morula benzeri tümör hücre kümeleridir. Tümör hücrelerinin ters polariteye sahip olması, karakteristik bulgusudur (1).

2.5.6. Derecelendirme

Özellik göstermeyen invaziv meme karsinomları da dahil olmak üzere, diğer tüm invaziv meme karsinomları tübül/ gland formasyonu, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısı irdelenerek derecelendirilir (1). Patey& Scarff ve Bloom& Richardson tarafından belirlenen orjinal metotların Elston& Ellis tarafından modifiye edilmesi neticesinde histolojik derecenin değerlendirilmesi daha objektif hale gelmiştir (43). Yapılan bir çok çalışma invaziv meme karsinomunda histolojik derece ile sağkalım arasında önemli bir ilişki bulunduğunu göstermiştir.

Derecelendirme Metodu: Tübül (gland) formasyonu, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısı olmak üzere üç unsur 1-3 arası skor verilerek değerlendirilmektedir (Tablo 2.2). Glandüler formasyon tüm tümör alanları dikkate alınarak, küçük büyütmede incelenir ve değerlendirilir. Nükleer pleomorfizm en kötü nükleer özelliklerin izlendiği alan seçilerek, mitoz sayısı ise proliferasyonun en yoğun olduğu bölgede ard arda 10 büyük büyütme alanı sayılarak değerlendirilir.

2.5.7. Evreleme

Meme karsinomlarını evrelemede en yaygın kullanılan sistem American Joint Committee on Cancer (AJCC)/Union for International Cancer Control (UICC) tarafından yayınlanan TNM sistemidir. En güncel kriterler 2016 yılında TNM sisteminin sekizinci baskısında tanımlanmış olup kriterler Tablo 2.3. ve Tablo 2.4'te tanımlanmıştır (45). Bu sistem primer bölgedeki tümörün genişliği (tümör veya T), bölgesel lenf nodları (nodlar veya N) ve tümörün uzak metastatik bölgelere uzanımı (metastaz veya M) konusunda bilgi vermektedir. T, N ve M hastalığın bölgesel yayılımı ve uzak bölge metastazları hakkında bilgi veren beş evreyi (Evre 0, I, II, III ve IV) oluşturmak için kombine edilir (Tablo 2.5.) (1-45).

Tablo 2.2. Meme tümörlerinde histolojik derecelendirme sistemi (Modifiye Bloom-Richardson) (44)

ÖZELLİK	SKOR
Tübül ve gland formasyonu	
Tümörün çoğunluğu (>%75)	1
Orta derecede (%10-75)	2
Çok az veya hiç (<%10)	3
Nükleer pleomorfizm	
Küçük, düzenli, tekdüze hücreler	1
Boyut ve şekilde orta derecede varyasyon	2
Belirgin varyasyon	3
Mitoz sayısı (mitoz sayısı mikroskop alanına bağlı olup burada 0,50 mm için kullanılan eşik değerler verilmiştir.)	
≤7	1
8-14	2
≥15	3
Final derecelendirme: tüm skorlar toplanarak elde edilir	
Derece 1 Total skor: 3-5	
Derece 2 Total skor: 6 veya 7	
Derece 3 Total skor: 8 veya 9	

Tablo 2.3. Meme tümörleri TNM evreleme sisteminde tümör boyutu (T) (45)

Primer Tümör (T)	
Tx	Primer tümör saptanamamaktadır.
T0	Primer tümör kanıtı yok
Tis	In situ karsinom (DCIS veya meme başının Paget hastalığı)
T1	Tümörün en büyük çapı ≤ 2 cm
T1mi	0,1 cm veya daha küçük mikroinvazyon odağı varlığı
T1a	Tümör > 0,1 cm fakat ≤ 0,5 cm
T1b	Tümör > 0,5 cm fakat ≤ 1 cm
T1c	Tümör > 1 cm fakat ≤ 2 cm
T2	Tümör > 2 cm fakat ≤ 5 cm
T3	Tümör > 5 cm
T4	Boyuttan bağımsız olarak tümörün göğüs duvarına ve/veya deriye direkt yayılımı (ülserasyon veya deri nodülleri)
T4a	Göğüs duvarına yayılım var. (Tek başına pektoral kas invazyonu bulunması hariç)
T4b	Deride ülserasyon, ipsilateral meme derisinde satellit nodül veya ödem (peau d'orange dahil)
T4c	T4a ve T4b'nin birlikteliği
T4d	İnflamatuvar karsinom

Tablo 2.4. Meme tümörleri TNM evreleme sisteminde bölgesel lenf nodu (N) ve uzak bölge metastaz durumu (M) (45)

<i>Klinik Lenf Nodu Durumu (cN)</i>	
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	İpsilateral level 1,2 aksiller lenf nodlarına metastaz
N2	İpsilateral level 1,2 aksiller lenf nodlarında klinik olarak fikse metastaz veya klinik olarak aksiller lenf nodu metastazının yokluğunda saptanmış ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı
N2a	Birbirlerine ya da çevre dokulara fikse ipsilateral level 1,2 aksiller lenf nodları
N2b	İpsilateral level 1, 2 aksiller lenf nodlarında metastazın klinik kanıtlarının yokluğunda internal mammarian lenf nodlarında klinik olarak saptanmış lenf nodu metastazları
N3	İpsilateral level 1,2 aksiller lenf nodlarının durumuna bakılmaksızın, ipsilateral infraklaviküler (level 3) lenf nodlarında ya da level 1, 2 aksiller lenf nodu ile ipsilateral internal mammarian lenf nodu tutulumunun birlikte olması veya supraklaviküler lenf nodu metastazı
N3a	İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı
N3b	İpsilateral internal mammarian ve aksiller lenf nodlarında metastaz
N3c	İpsilateral supraklaviküler lenf nodu metastazı
<i>Patolojik Lenf Nodu Durumu (pN)</i>	
pNx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi
pN0	Histolojik olarak saptanmış bölgesel lenf nodu metastazı yok
pN1	Mikrometastaz ya da 1-3 ipsilateral aksiller lenf nodunda metastaz ve/veya sentinal lenf nodu biyopsisi (SLNB) ile saptanmış internal mammarian lenf nodu metastazı
pN0(i+)	Bölgesel lenf nodlarında en büyük çapı 0,2mm'i geçmeyen kümelenmiş izole tümör hücreleri
pN0(mol+)	İzole tümör hücresi tespit edilmeyen RT-PCR ile pozitif moleküler bulgular
pN1mi	Mikrometastazlar (0,2 mm'den büyükve/veya 200 hücreden fazla ancak 2 mm'den küçük)
pN1a	En az bir metastazın >2 mm olduğu 1-3 aksiller lenf nodu metastazı
pN1b	İnternal mammarian lenf nodlarında klinik olarak saptanamayan fakat SLNB ile saptanan makro ya da mikro metastaz varlığı
pN1c	Aksiller lenf nodlarında 1-3 metastaz ve klinik olarak saptanamayan fakat SLNB ile makro ya da mikro metastazlı internal mammarian lenf nodu metastaz varlığı
pN2	4-9 aksiller lenf nodunda metastaz veya aksiller lenf nodunda metastaz olmadan klinik olarak saptanmış internal mammarian lenf nodu metastazları
pN2a	4-9 aksiller lenf nodunda metastaz (en az biri >2 mm)
pN2b	Aksiller lenf nodu metastazının yokluğunda klinik olarak saptanmış internal mammarian lenf nodu metastazı
pN3	Aşağıda tanımlanan mikrometastazlar;
pN3a	10 ya da daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz (en az biri >2 mm) ya da infraklaviküler lenf nodlarında metastaz
pN3b	Bir ya da daha fazla pozitif aksiller lenf nodunun varlığında klinik olarak saptanmış ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı; ya da 3 ten fazla aksiller lenf nodu ve klinik olarak saptanmamış fakat SLNB ile makro ya da mikro metastaz saptanmış internal mammarian lenf nodu metastazları
pN3c	İpsilateral supraklaviküler lenf nodlarına metastaz
M0	Uzak metastaz yok.
M1	Uzak metastaz var

Tablo 2.5. Meme tümörlerinde TNM evre grupları (45)

EVRE	T	N	M
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre IA	T1	N0	M0
Evre IB	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

2.5.8. Meme Kanserlerinin Moleküler Sınıflandırması

Son yirmi yılda moleküler veriler, karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH), sanger sekanslama, yeni nesil sekanslama gibi çeşitli teknikler ile geliştirilmiş bireysel terapi amacıyla prognostik ve prediktif alt grupların sınıflandırılması ve geliştirilmesi sağlanmıştır. Bu sayede meme kanserlerinin biyolojisine yeni bir bakış getirilmiş ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde önemli etkiler yaratılmıştır. Sözü edilen bu gruplama, zamanla moleküler sınıflandırma olarak geliştirilmiştir(46).

Bu histopatolojik sınıflanmada dünya çapında rutin biçimde kullanılan üç biyobelirteç mevcuttur: ER, PR ve HER2. Tümörlerin ER durumu; tümörün endokrin tedaviye yanıtını, erken rekürrens ve uzun dönem sağkalımını öngörebilmek için 1970'lerden beri kullanılan bir parametre olma özelliğini korumaktadır. ER, meme kanserlerinin yaklaşık %80'inde pozitifdir. ER antagonizması (tamoksifen) veya östrojen üretiminin baskılanması (aromataz inhibitörleri) yoluyla etki eden ilaçlar, meme kanseri tedavisinde, tümörün büyümesini kontrol eder. PR geni östrojen tarafından düzenlendiği için, ekspresyonunun gösterilmesi, intakt ve fonksiyonel bir ER yolağı adına fikir vermesi açısından anlamlıdır. Yaklaşık %40 ER-pozitif tümörde PR-negatif izlenmiştir. ER-pozitif, PR-negatif tümörlerin tamoksifen

tedavisine, her iki reseptör pozitif olan tümörlere göre daha düşük yanıt verdikleri bilinmektedir (13-46).

Progesteron reseptör geni östrojen tarafında düzenlenir. Bu yüzden progesteron ekspresyonu östrojen yolağının düzgün çalışmasına bağımlıdır. ER-pozitif tümörlerin yaklaşık% 40'ı PR-negatiftir. ER-pozitif / PR-negatif tümörler her iki reseptör için de pozitif olan tümörlere oranla tamoksifen'e daha az yanıt verirler. Rutin kullanımı önerilen bir diğer biyobelirteç olan Ki67, nükleer non-histon bir proteindir ve hücre proliferasyon belirteçidir. Ki67'nin yüksek oranda pozitif izlendiği meme kanseri olgularında daha kısa sağkalım ile ilişki bulunmasına rağmen; değerlendirilmesinde standart protokoller yoktur (46).

Sınıflandırmada en iyi tanımlanan tipler; luminal A, luminal B, HER2 ve bazal benzeri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu alt tipler, gen ekspresyon biçimleri, klinik özellikleri, tedaviye yanıtları açısından farklılık göstermektedir (13). Moleküler olarak luminal tip terimi; ER eksprese eden tümörler için kullanılır. Luminal A grubundaki tümörler düşük dereceli, ER eksprese eden tümörler için kullanılır ve HER2-negatif özelliğe sahiptir. Luminal B tümörler ise yüksek derecelidir, HER2 negatiftir, PR pozitif veya negatif olabilir. Ki67 skorları luminal B tümörlerde, luminal A tümörlere göre yüksektir. Luminal A tümörlerin çoğu düşük derecelidir ve bu tümöre sahip hastalar diğer gruplara nazaran daha iyi sağkalım oranlarına sahiptir (13-46).

ER, PR ve HER2 negatif tümörler, meme kanserlerinin % 10-15 ini oluşturmaktadır. Bazal-benzeri meme tümörleri ise daha çok yüksek histolojik dereceli, triple- negatif tümörlerin bir alt kümesidir. Bu tümörler immünohistokimyasal olarak CK 5/6 ve CK14 gibi yüksek molekül ağırlıklı keratinler ve EGFR eksprese ederler (13-46). Klinik olarak bir grup bazal-benzeri tümörlü hasta çok kötü prognoza sahiptir ve günümüzde bu tümörler için hedefe yönelik tedavi henüz mevcut değildir (46)

Gen ekspresyon çalışmaları sonucunda tanımlanan diğer meme kanser alt tipleri moleküler apokrin tip, claudin-düşük tip ve normal meme benzeri tiptir (13).

Yukarıda da bahsedilen immünohistokimyasal belirteçlerden ER, PR antikoru, HER2/ neu, CK5/6, EGFR ve Ki67, tümörlerin moleküler alt tiplerini belirlemek için rutin olarak kullanılmaktadır. (1-47) (Tablo 2.6).

Tablo 2.6. Meme kanserinin moleküler alt tiplerinin immunoprofilleri (1,47)

Luminal A	Luminal B	HER2/neu	Bazal-benzeri
ER (+) , HER2(-) ve bunlardan en az biri: - Ki67 <%14 - Ki67 %14-19 ve yüksek PR ekspresyonu (\geq %20)	ER (+/-) , HER2(-/+) ve bunlardan en az biri: - Ki67 \geq %20 - Ki67 %14-19 ve düşük PR ekspresyonu(\geq %20) veya PR(-)	ER-, PR- HER2+	ER-, PR- HER2-, CK5/6 ve/veya EGFR+

2.5.9. Tedavi

Meme kanseri bir çok alt tip bulunduran, çok çeşitli boyutta ve histolojik derecede olabilen heterojen bir tümördür. Bu nedenle tedavi protokolleri hastadan hastaya göre değişse de günümüz tedavisi; cerrahi, radyasyon tedavisi, hormonal terapi, kemoterapi ve hedefe yönelik tedavilerle şekillenmektedir. Günümüzde tümörün durumuna göre cerrahi olarak geniş seçenekler mevcuttur. Parsiyel mastektomi (lumpektomi veya segmentektomi) ve total mastektomi uygulanan seçenekler arasındadır. Radyasyon tedavisi sıklıkla post operatif adjuvan tedavi olarak uygulanırken, primer tedavi olarak veya lokal rekürren hastalığın kontrolü için de tercih edilebilmektedir. Kemoterapinin en iyi sonuç verdiği uygulama yöntemi, kombine kemoterapi rejimleridir. Hormonoterapinin ana unsuru olan Tamoksifen, ER-pozitif meme kanserlerinde, Trastuzumab, HER2/ neu reseptörüne karşı geliştirilen hümanize monoklonal bir antikör olup HER2 pozitif meme kanserlerinde etkili, hedefe yönelik tedavi seçenekleridir (13). Kanser immunolojisi üzerinde yapılan araştırmalar artıkça immunoterapiler de günümüzde önem kazanmaktadır. PDL1 inhibitörleri akciğer, melanom, mesane gibi çoğu tümörde kullanılmaya başlanmış olup meme tümörlerinin tedavisinde de klinik araştırmalar çerçevesinde kullanılmaktadır (5).

2.5.10. Prognoz

Meme kanserinin prognozu çok fazla sayıda klinik ve patolojik faktör ile ilişkilidir. Klinik olarak erken tanı, hasta yaşı ve BRCA1 durumu başlıca önemli faktörlerdir. Patolojik faktörler arasında invazyonun olup olmaması tek başına en önemli prognostik parametredir. Aksiller lenf nodlarında metastaz varlığı da en önemli parametrelerden biridir. Sitoarşitektürel tip, mikroskobik derece, lenfatik ve kan damarlarında tümör embolisi, internal mamarian lenf nodu metastazları, tümör nekrozu, stromal reaksiyon, deri ve meme başı invazyonu ile ER, PR, HER2 reseptörlerinin durumu, Ki67 proliferasyon indeksi ile gen ekspresyon profili diğer önemli parametreler arasında yer almaktadır (1-13).

Günümüzde meme kanseri tanısı alan hastalarda en iyi tedavi rejiminin planlanması amacıyla uygun tümör alt tipleri için genomik multiparametrelili prognostik paneller geliştirilmiştir. Bu testler; Oncotype DX, MammaPrint, Endopredict, PAM50, IHC4 ve Breast cancer index gibi testlerdir. Erken evre, östrojen reseptörü (ER)-pozitif, Ki67 indeksi düşük, lenf nodu tutulumu olmayan meme kanseri hastalarında kemoterapinin kullanım biçiminde bir değişikliğe yol açmışlardır. En yüksek rekürrens riski olan hastalara sistemik tedavi uygulanırken, kemoterapiye ihtiyacı olmayacak düşük riskli hastaları, kemoterapötik ajanların potansiyel olumsuz yan etkilerinden korumaktadırlar. Düşük riskli nüks skorları (0-17) olan hastalarda, adjuvan kemoterapi ve sadece hormonal ajanlarla sağkalım yararı elde etme olasılığı düşüktür. Tersine, adjuvan kemoterapinin yüksek riskli rekürrens skorları olan hastalarda sağkalımı önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir (≥ 31) (45).

MammaPrint, erken evre meme kanserinde uzak nüks riskini değerlendirmek için ilgili MammaPrint genlerinin (*BIRC*, *UBE2C*, *DHCR7*, *RBBP8*, *IL6ST*, *AZGP1*, *MGP* ve *STC2*, *CALM2*, *OAZ1* ve *RPL37A*) ekspresyon seviyelerini kullanan FDA onaylı mikroarray tabanlı bir testtir. Meme kanseri tanısı konulan kadın hastalarda, yaşı, patolojik derecesi, östrojen reseptörü durumu, HER2 ekspresyonu ve lenf nodu durumu değerlendirilerek test uygulanırken bu sayede hangi hastaların kemoterapiye uygun olduğu hangi hastaların ise kemoterapi almasına ihtiyaç olmadığı tespit edilir (48).

2.6. PD-L1 ve Meme Kanserindeki Yeri

Programmed death ligand 1 (PD-L1) B7 gen ailesinin bir üyesi olup 9. Kromozom üzerindeki CD274 gen bölgesinde kodlanan 40-kDa bir transmembran proteinidir. PD-1 (Programmed cell death 1) molekülü T,B ve NK hücrelerinin

yüzeylerinde eksprese olup bu hücrelerin aktivasyonunu sağlayarak onları apoptoza götüren bir reseptördür. Bu reseptörün ligandı (PD-L1) tümör hücreleri tarafından eksprese edilerek T,B hücreleri, makrofajları ve dendritik hücreleri apoptoza zorlar (5-6-7). PD-1/PD-L1 sinyal yolağı antitümör immunitisini destekleyen en önemli yollardan bir tanesidir. Meme kanserleri daha az immunojenik tümörler olarak bilinse de yapılan çalışmalarla immun sistem ve meme kanseri arasındaki ilişki günden güne artmaktadır. Çoğu çalışma göstermiştir ki meme tümörlerinde PD-1 pozitif TİL varlığı negatif prognostik faktör olup kötü klinikopatolojik özelliklerle ilişkilendirilmiştir (7). PD-L1 pozitifliği tümörün histolojik tipine göre değişmekle birlikte öncelikle derece 3 tümörlerle ilişkilendirilmiştir. Bu tümörler genellikle yüksek Ki67 oranına sahip ER ve PR reseptör negatif tümörlerdir (49).

Yapılan çalışmalarda anti-PD-1 tedavisinden yalnızca PD-L1 eksprese eden hastaların fayda gördüğü izlenmiştir. Bu ve bunun gibi çalışmalar PD-L1 molekülünün bir biyomarker olarak kullanılabileceği ve anti PD-L1 tedavisi için hasta seçiminin önemini vurgulamaktadır (50).

PD-L1 ile yapılan bir diğer araştırma ise PD-L1'nin tümör mikroçevresinde yer alan reglatuvar T hücrelerini aktive ederek T hücre inaktivasyonuna neden olduğunu göstermiştir. Bu nedenle PD-L1'nin reglatuvar T hücrelerinin temel transkripsiyon faktörü olan FOXP3 ile sinerjistik etkide çalıştıkları düşünülmektedir (51).

2.7. FOXP3 ve Meme Kanserindeki Yeri

TİL'ler tümörögenizde organizmanın anti-tümör mekanizmalarından biridir. TİL'lerin prognoz için önemi lenfositlerin tipine, fonksiyonlarına ve tümörle ilişkisine dayanır. Baskın olan T lenfositler CD8 sitotoksik T lenfositler olduğunda bu durum pozitif prognostik etkiye sahiptir. Sitotoksik T hücreleri tümöre karşı apoptozu uyarmaktadırlar. Antitümör immunitesinin ana düzenleyicisi olan FOXP3 pozitif reglatör T hücreleri sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonunu ve proliferasyonunu TGF-beta gibi sitokinler salgıyarak engellemektedir. Bu nedenle çoğu çalışmada Treg infiltrate tümörlerin kötü klinik gidişle seyrettiği bildirilmiştir (52).

Yapılan birçok araştırma göstermiştir ki tümör yatağındaki CD8⁺ /FOXP3 T hücrelerinin oranı bağımsız bir prognostik belirleyicidir. Tümörün moleküler ve histolojik alt tipiyle ilişkilidir. Genellikle bazal benzeri alt tipde eksprese olmaktadır (52). Yapılan bir diğer araştırma da göstermiştir ki PDL-1, düzenleyici T hücrelerinin

gelişimde ve fonksiyonunda önemli bir role sahiptir. PDL-1 ve FOXP3 sinerjistik olarak çalışmakta ve tümörün immün sistemden kaçışını kolaylaştırdığı için tümörlerde kötü prognozla ilişkilendirilmektedir. Meme tümörleri üzerinde yapılan bir araştırma PDL-1 ve FOXP3'ün birlikte ekspresyonunun bazal benzeri meme kanserleriyle ilişki olduğunu bildirmiştir (5).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastalar ve Doku Örnekleri

İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarında Ocak 2011 ile Aralık 2014 tarihleri arasında meme karsinomu tanısı almış, mastektomi ve meme eksizyonel biyopsi uygulanmış olgular çalışmaya dahil edildi. Preperatlarına ulaşılamayan ya da immunohistokimyasal boyama yapılamayan hastalar çalışma dışında bırakıldı.

Olgulara ait arşivde bulunan Hematoksilen-Eozin (H&E) boyalı kesitler DSÖ 2012 meme tümörleri sınıflamasına göre tekrar değerlendirildi. Moleküler alt tipleri belirlemek açısından ASCO/CAP 2013 güncellemesine göre İHK'sal c-erbB2 ekspresyonları yeniden değerlendirildi ve 2011 ve 2012 yıllarındaki olgular arasında FISH çalışılmayanlar olgular arasında c-erbB2 oranları %10- 30 arasındakiler HER2 pozitif gruba kaydırıldı. Östrojen (ER) ve progesteron reseptörü (PR) ekspresyonu ise yine güncel kriterlere göre >%1 pozitif kabul edildi. Patoloji kayıtları aşağıdaki parametrelere göre incelendi:

- Hastaların tanı anındaki yaşları
- Hastaların takip süreleri ve sağ kalım durumları
- Tümör lokalizasyonu (sağ, sol meme veya bilateral)
- Tümörün histolojik alt tipi ve derecesi
- In situ komponent durumu
- Lenf nodu diseksiyonu uygulanıp uygulanmadığı, lenf nodlarında metastaz durumu, varsa metastatik lenf nodu sayısı ve metastatik lenf nodlarında kapsül invazyon durumu
- İmmunohistokimyasal olarak ER ve PR boyanma durumu, pozitifse şiddet ve yüzdeleri
- İmmunohistokimyasal olarak c-erbB2 ile değerlendirilen HER2 over ekspresyon durumu, FISH testi uygulanıp uygulanmadığı ve sonucu
- Ki67 proliferasyon indeksi
- Lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon durumu
- Tümörün moleküler sınıfı
- Tümör boyutu (en büyük çap olarak)
- Multifokalite
- Meme başı, epidermis ve dermal lenfatiklerin durumu

3.2. İmmunohistokimyasal PDL1 ve FOXP3 Boyama ve Değerlendirme

Tümör dokusunu en iyi yansıtan ve İmmunohistokimyasal (İHK) boyama için en uygun olan alan önce lamlarda, sonra bloklarda işaretlendi. Daha sonra parafin bloklardan 2 mm çapta silindirik şekilli parafinize doku örnekleri manuel mikroarray cihazı ile haritalandırma-adresleme tekniği ile donör bloklardan alınarak çoklu bloklara aktarıldı (Resim 3.2.1). Çoklu bloklarda adresleme amacıyla kolon, dalak ve endometrium doku örnekleri kullanıldı.

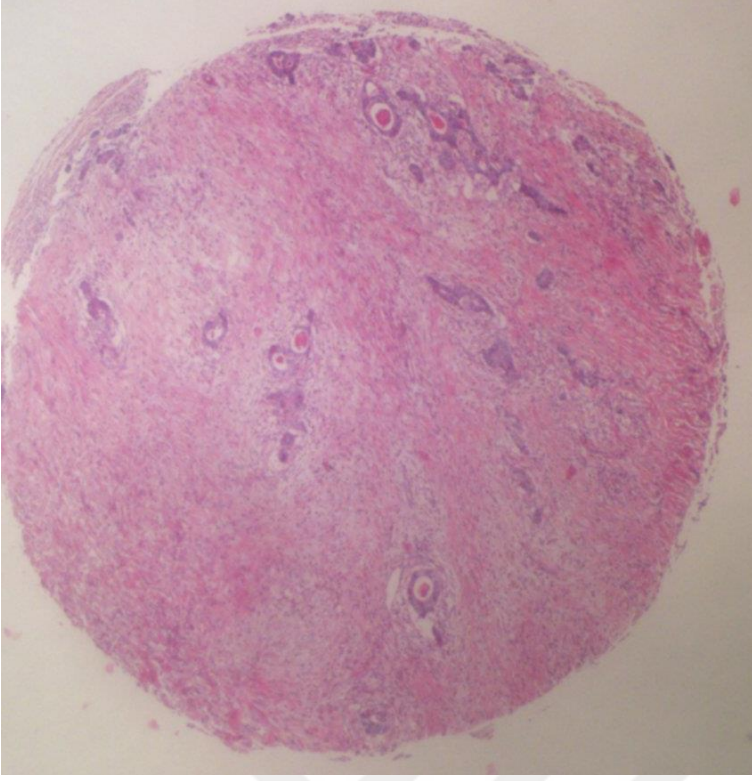
Hazırlanan her bloktan öncelikle H&E kesitler alınarak örneklenen alanlardaki tümör varlığı doğrulandı (Resim 3.2.2). Daha sonra poly-lizinli lamlara 4 mikrometre kalınlıkta kesitler alınarak streptavidin biotin peroksidaz yöntemiyle (Invitrogen, Camarillo, 85-9043, CA, USA), PDL1 ve FOXP3 antikolarıyla manuel boyandı. Kesitler 1 gece 60°C'lik etüvde bekletildi. Bir saat süreyle ksilen içerisinde oda ısısında bekletildi. Konsantrasyonu giderek azalan (%95, %90, %80, %70) etil alkol serilerinden geçirildi. Distile suda 10 dakika yıkandı. Hidrojen peroksitte 15 dakika tutuldu. Distile suda 5 dakika süreyle yıkandı. Sitrata tampon (pH:6.0) içerisinde, kapağı kapalı plastik şalelerde 40 dakika süreyle mikrodalga fırında 400 Watt'ta ısıtıldı. Oda ısısında soğuyuncaya dek beklendi. Distile suda 10 dakika yıkandı. PBS (pH:7,4) içinde 10 dakika bekletildi. Lamlar üzerindeki dokular sınırlayıcı kalemle çerçeveselendi. Blokan solüsyonda 5 dakika bekletildi. Yıkama yapılmadan primer antikolar PDL1 (Abcam; ab205921-pd-11), 1/100 dilüsyonda, anti-FOXP3 (236A/E7), (Abcam, ab20034) 1/300 dilüsyonda) uygulandı. 1 saat süreyle lamların kurumaması için altına ıslak kağıt yayılmış plastik boyama kabında lamlar bekletildi. PBS tampon solüsyonu içinde 10 dakika yıkandı. Anti polivalent biotinli antikor oda ısısında 20 dakika uygulandı. PBS tampon solüsyonu içinde 10 dakika yıkandı. Bayır turbu peroksidazı (horseradish peroxidase) eklenmiş streptavidin solüsyonuyla kaplanan kesitler oda ısısında 20 dakika bekletildi. PBS tampon solüsyonu içinde 10 dakika yıkandı. Diaminobenzidin (DAB) hidrojen peroksitli hazır solüsyonu 1/20 oranında sulandırıldı ve lamlar üzerinde 10 dakika tutuldu. Distile suda yıkandı. Harris hematoksilen ile 15 saniye zemin boyama yapıldı. Akar çeşme suyunda yıkandı. Konsantrasyonu giderek artan (%70, %80, %90, %95) etil alkol serilerinden geçirilip havada kurutuldu. Ksilen içinde 30 dakika bekletildi ve kapama maddesi damlatılıp lamelle kapatıldı.

Boyalı preparatlar ışık mikroskopisinde üç gözlemci patolog tarafından (ÖK, GD, GG) değerlendirildi. PDL1 için tümör hücrelerinde membranöz; yangısal hücrelerde sitoplazmik/ membranöz boyanmalar tümörde ve eşlik eden yangı hücrelerindeki pozitif ekspresyon olarak ayrı ayrı belirtildi. FOXP3 düzenleyici T lenfositlerde nükleer olarak

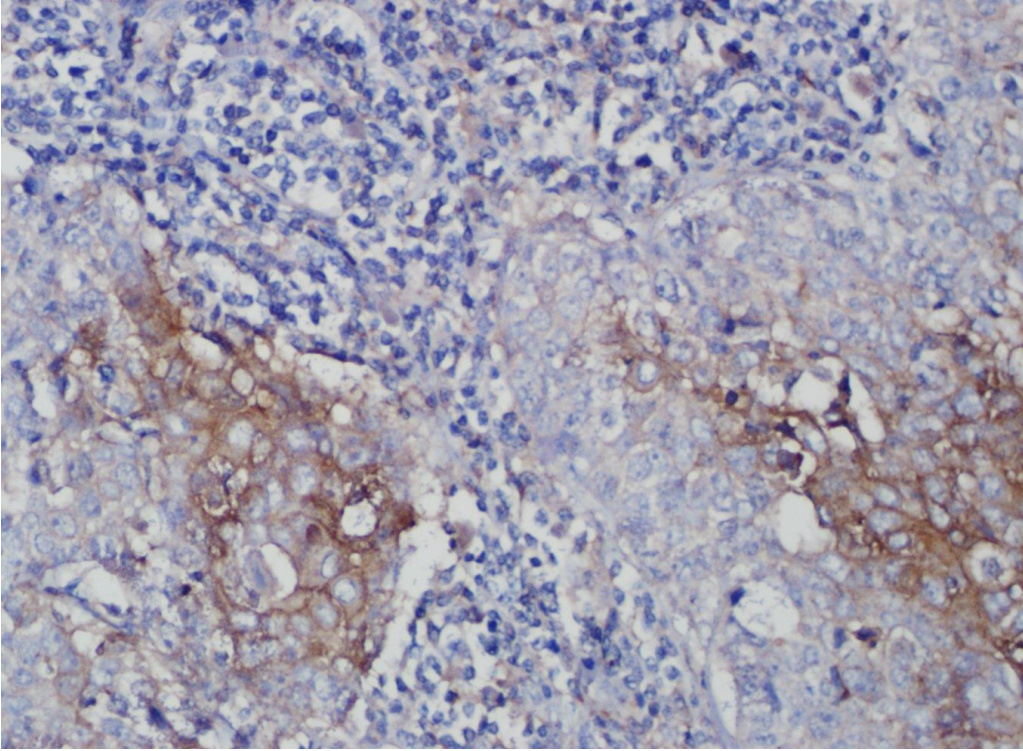
eksprese edilen bir biyobelirteç olduğundan tümörü infiltre eden lenfositlerin arasında nükleer pozitif boyanan lenfositler sayıldı. En yoğun gözlemlendiği bölgede bir büyük büyütme alanındaki (BBA) sayıları yazıldı. Her iki boyanma için de pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanıldı (Resim 3.2.3). FOXP3 için tonsil dışında da tümörlerde iç kontrol mevcuttu (Resim 3.2.4).



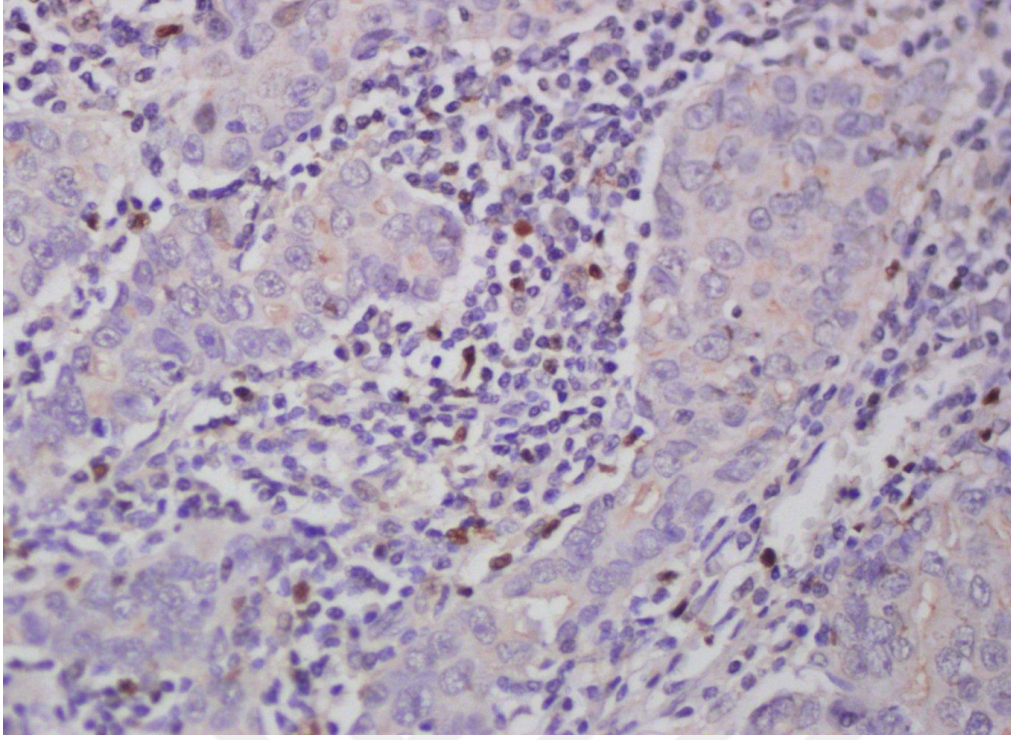
Resim 3.2.1: Tez çalışması için hazırlanan çoklu blok ve preparatlar.



Resim 3.2.2: Tümörden örneklenmiş silindirik doku (HEX 40).



Resim 3.2.3: Mukozal inklüzyonlardaki karakteristik membranöz boyanma nedeniyle PDL1 pozitif kontrol olarak kullanılan tonsil dokusu (DAB x 200).



Resim 3.2.4: Tümörü infiltre eden bazı lenfositlerde nükleer FOXP3 ekspresyonu (DAB x 200).

3.3. İstatistiksel Yöntemler

Değişkenlerin analizinde SPSS 22.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, United States) programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile varyans homojenliği Levene ile değerlendirildi. Bağımsız İkiden fazla grubun nicel verilere göre bir biriyle karşılaştırılmasında One-Way Anova, Kruskal-Wallis H Testleri kullanıldı. Kategorik değişkenlerin bir biri ile karşılaştırılmasında ise Pearson Chi-Square testi kullanıldı. PDL1 ve FOXP3 ekspresyonunun yaşam süreleri ve sağ kalım oranlarına etkisini incelemek için Kaplan-Meier- Log Rank (Mantel-Cox) analizi kullanıldı. Nicel değişkenler tablolarda ortalama \pm std.(standart sapma) ve medyan Range (Maksimum-Minimum), Kategorik değişkenler ise n (%) olarak gösterildi. Değişkenler %95 güven düzeyinde incelenmiş olup p değeri 0,05 ten küçük anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmaya İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarında meme karsinomu tanısı almış ve mastektomi veya meme eksizyonel biyopsi uygulanmış hastalar içinden immunohistokimyasal PDL1 ve FOXP3 ekspresyonları değerlendirilebilen 210 olgu dahil edildi. Patoloji kayıtlarında mevcut olan bilgiler değerlendirilerek demografik ve histopatolojik veriler elde edildi.

4.1.1. Demografik ve Histopatolojik Veriler

Çalışmaya alınan tüm olgular kadındı. Hastanın tanı anındaki yaşları 30 ile 85 arasında değişmekte olup ortalama tanı yaşı $55,46 \pm 12,5$ bulundu. Ortalama takip süresi $61,9 \pm 20,6$ (0,83- 100,3) aydı. Hastaların 170 (% 81) tanesi hayatta iken 40 (% 19) tanesi hayatını kaybetmişti.

Tablo 4.1.1 Demografik ve histopatolojik veriler - I

	Hasta sayısı (N/ %)	Ortalama \pm standart sapma	Medyan (Minimum- Maksimum)
Yaş (yıl)	210/ %100	$55,51 \pm 12,7$	54 yaş (28- 85)
İzlem Süresi (ay)	210/ %100	$61,5 \pm 20,3$	63,6 ay (1- 87,2)
Tümör çapı (cm)	205/ %100	$2,96 \pm 2$	2,4 (0,6- 16)
Lenf nodu sayısı (disseke edilen)	152/ %72,3	$9,7 \pm 7$	9 (1- 39)
Nükleer FOXP3	210/ % 100	$1,7 \pm 3,6$	1 (1- 30)

Tümör yerleşimi toplam 154 olguda bildirilmiş olup 69'u (% 44,8) sağ memede, 84'ü (% 54,6) sol memede yerleşim göstermekteydi. Seride bilateral tümörlü tek bir olgu (% 0,6) vardı. Ortalama tümör çapı $2,96 \pm 2$ (0,6- 16) cm bulundu. Patolojik T evrelemesine göre 91 olgu (% 43,1) evre pT1, 95 olgu (% 45) evre pT2, 7 olgu (% 3,3) pT3 ve 18 olgu (% 8,5) olgu pT4 idi. On iki (% 8,5) olguda tümör multifokal iken diğer olgularda tek odak mevcuttu. Kesin tümör lokalizasyonu bilinen olgular arasında en sık yerleşim yeri üst dış kadranda (%46,4) olup; sırasıyla diğer lokalizasyonlar; santral (%26,1), üst iç (% 11,6), alt iç (% 7,2) ve alt dış (% 8,7) kadrandı.

Histopatolojik olarak en sık invaziv duktal karsinom (% 61) ve in situ komponenti baskın İDK (% 23,3) görüldü. İnvaziv lobüler karsinom (% 7,6) üçüncü sırada yer almaktaydı.

Tablo 4.1.2. Demografik ve histopatolojik veriler – II

Durumu	Sağ Eksitus	170 40	% 81 % 19
Tümör Yerleşimi	Sağ Sol Bilateral	69 84 1	% 44,8 % 54,6 % 0,6
Tanı	İnvaziv Duktal Karsinom (İDK) İnvaziv Lobüler Karsinom (İLK) İnvaziv Papiller Karsinom İn situ komponenti baskın İDK Mikropapiller Karsinom Metaplastik Karsinom Müsinöz Karsinom Asinik hücreli karsinom Tübüler Karsinom Duktal+lobüler karsinom	128 16 6 49 2 3 2 1 1 2	% 61 % 7,6 % 2,9 % 23,3 % 1,0 % 1,4 % 1,0 % 0,5 % 0,5 % 1,0
Derece	Derece 1 Derece 2 Derece 3	13 99 98	% 6,3 % 47,1 % 46,6
Patolojik T evresi	pT1 pT2 pT3 pT4	91 95 7 18	% 43,1 % 45 % 3,3 % 8,5
İn Situ Komponent	Var	146	% 73,4
Varsa in Situ Komponentin Türü	Komedo Nonkomedo Mikst	11 69 66	% 7,2 % 47,1 % 45,7
Lenf nodu metastazı	Var Yok	70 82	% 46 % 54
Lenf nodunda kapsül invazyonu	Var Yok	51 19	% 72,8 % 27,2
Multifokalite	Tek Multifokal	198 12	% 91,5 % 8,5
Meme başı tutulumu	Var Yok	15 43	% 25,8 % 74,2
Dermal/ epidermal invazyon	Var	16	% 7,6
Lenfovasküler invazyon	Var	52	% 31,9
Perinöral invazyon	Var	43	% 25,9

Histopatolojik tümör derecesi 13 (% 6,3) olguda derece 1, 99 (% 47,1) olguda derece 2 ve 98 (% 46,6) olguda derece 3 idi. İn situ komponent 146 (% 73,4) tümörde mevcuttu.

Mevcut in situ komponentlerin 11'i (% 7,2) komedo, 69'u (% 47,1) non-komedo ve 66'sı (% 45,7) komedo+non-komedo mikst in situ karsinom tipindeydi.

Olguların 152'sine (%72,3) aksiller lenf nodu diseksiyonu uygulanmış olup bu olguların 70'inde (% 46) lenf nodunda metastaz saptanmıştı. Lenf nodu metastazı olan olguların 51'inde (% 72,8) ise metastatik lenf nodlarında kapsül invazyonu mevcuttu.

Meme başı incelenen 58 olgudan 15'inde (% 25,8) meme başı invazyonu saptandı. Olguların 8'inde (% 3,8) dermal lenfatiklerde tümör tutulumu mevcut olup; epidermis invazyonu da yine 8 (% 3,8) olguda izlendi. Lenfovasküler invazyon 52 (% 31,9) olguda, perinöral invazyon 43 (% 25,9) olguda saptandı (Tablo 4.1.1 ve 4.1.2).

4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

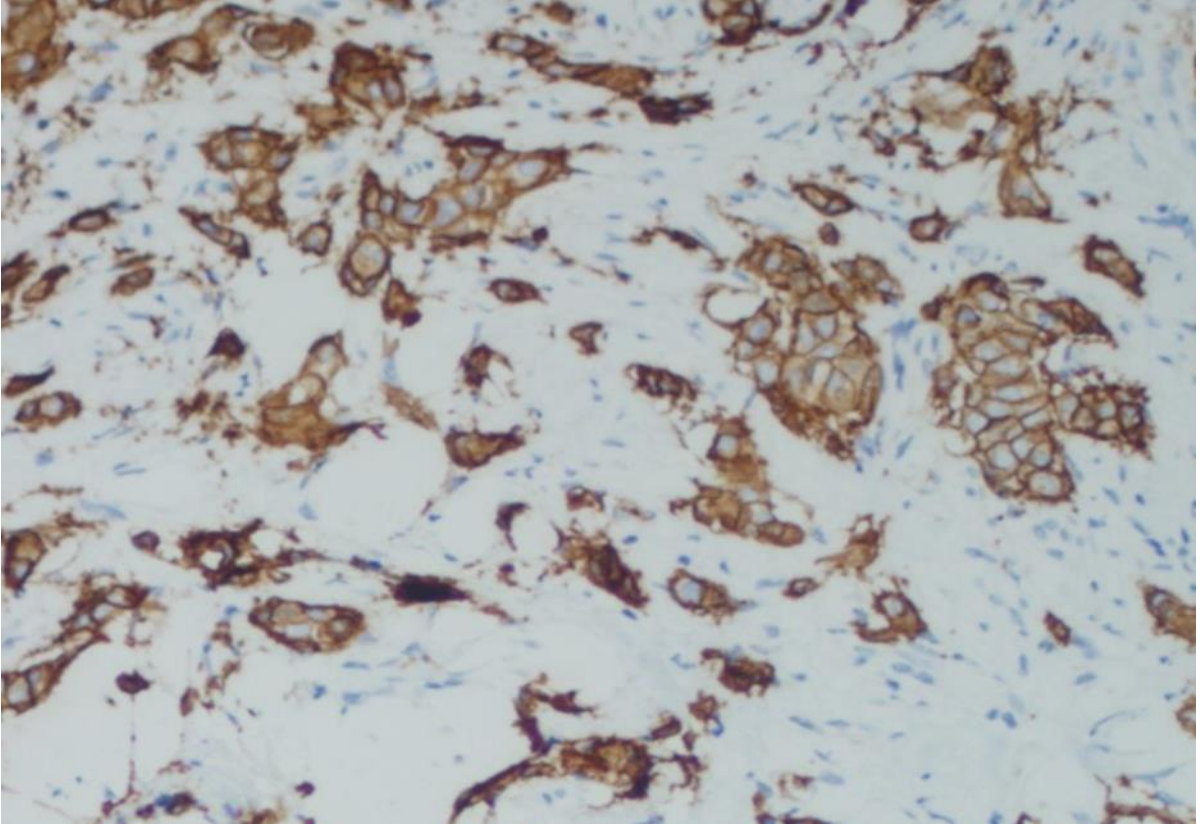
Çalışmaya dahil edilen 210 hastaya uygulanmış olan immunohistokimyasal çalışmalarda ER 176 (% 83,8) olguda pozitif olarak saptandı. ER pozitif olarak olgularda boyanma yüzdesi %3 ile % 100 arasında değişkenlik göstermekteydi. Ortalama değer ise $83,9 \pm 23,7$ olarak bulundu. PR immunohistokimyasal olarak 157 (% 74,8) olguda pozitif saptandı. Pozitif saptanan olgularda boyanma yüzdesi % 1 ile %100 arasında değişmekte olup ortalama değer $67,3 \pm 33,7$ olarak bulunmuştur (Tablo 4.2.1).

İmmunohistokimyasal olarak HER2/neu amplifikasyonunu değerlendirmek için uygulanan c-erbB2, 143 olguda (% 68) 1+ veya negatif bulunmuş olup her iki grup negatif olarak kabul edilmiştir. c-erbB2 2+ olarak değerlendirilen 51 (% 24,3) olguya moleküler tetkik (FISH) ile confirmasyon uygulanmıştır. Olguların 16'sı (% 7,6) ise immunohistokimyasal olarak c-erbB2 3+ (Resim 4.2.1) idi. FISH testi ile moleküler olarak HER2/neu amplifikasyonu değerlendirilen olguların 30'unda (% 58,8) pozitif, 21'inde negatif (% 41,2) sonuç saptanmıştır (Resim 4.2.2). Kombine İHK- FISH değerlendirmesinde 46 olgu (% 21,9) Her2 pozitif olarak kabul edilip, tümü hedefe yönelik tedavi görmüştür.

Olguların tümünde Ki67 proliferasyon indeksi çalışılmış, ortalama $21,98 \pm 20,6$ olarak bulunmuştur. Olgular arasında proliferasyon indeksi %1 ile % 95 arasında değişmekteydi. Moleküler sınıfları değerlendirildiğinde 66 (% 31,4) olgunun Luminal A, 80 (% 38,1) vakanın Luminal B, 46 (% 21,9) olgunun Her2 pozitif ve 18 (% 8,6) olgunun triple negatif grupta yer aldığı belirlenmiştir.

PDL1 için kabul gören pozitiflik tümör hücrelerindeki membranöz ekspresyon olup; sadece 6 olguda zayıf ekspresyon vardı. Onbeş olguda ise yangı hücrelerinde sitoplazmik ekspresyon saptandı (Resim 4.2.3).

İmmunohistokimyasal olarak tümörü infiltrate eden yangısal hücreler arasında nükleer ekspresyon gösterenler FOXP3 pozitif kabul edildi. Nükleer pozitif boyanma gösteren lenfositlerin en yoğun toplandıkları bölgede bir BBA'ndaki sayısı belirlendi. Nükleer ekspresyon izlenen 14 olguda (% 6,7) lenfositlerin sayısı bir büyük büyütme alanında 1 ile 30 arasında (ortalama $1,7 \pm 3,6$) değişiyordu (Tablo 4.2.2).



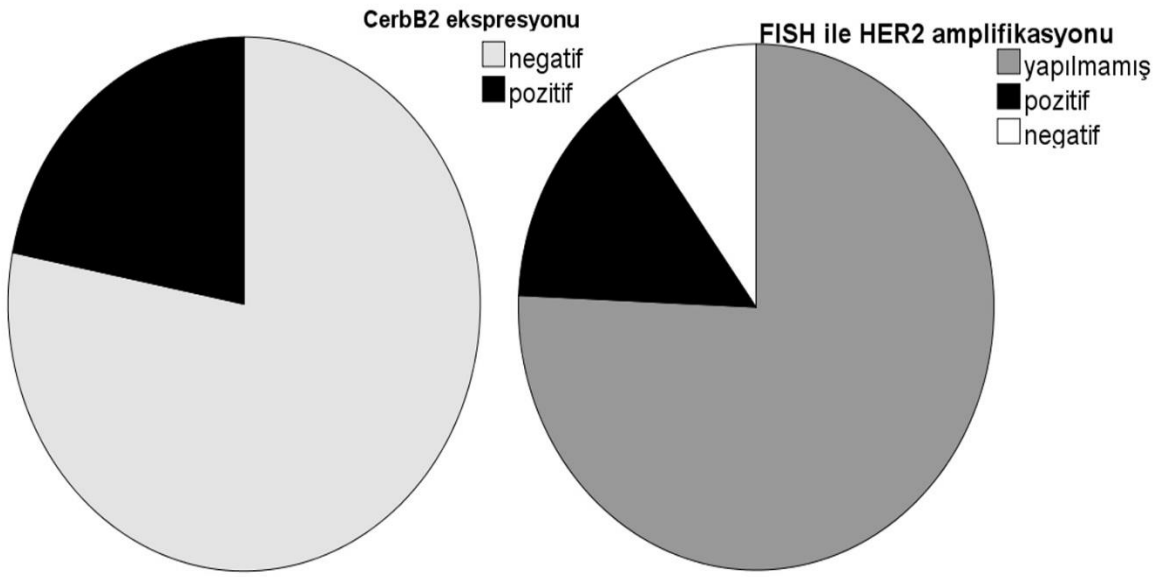
Resim 4.2.1. İmmunohistokimyasal c-erbB2 3+ olan bir olgu (DAB x 200).

Tablo 4.2.1. İmmunohistokimyasal ve Moleküler Bulgular- I.

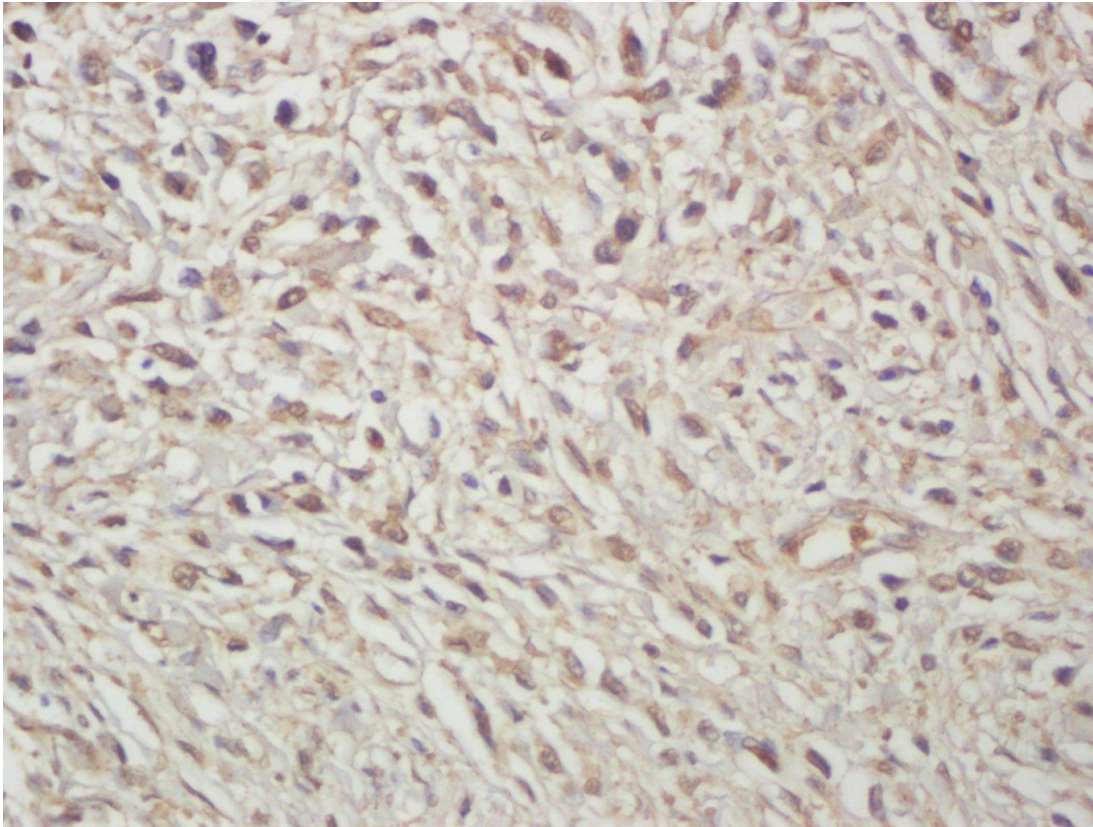
ER durumu	Pozitif	176	% 83,8
PR durumu	Pozitif	157	% 74,8
c-erbB2 ekspresyonu (ASCO/ CAP 2013'e göre)	Negatif veya 1+ 2+ 3+	156 21 18	%74,3 % 10 % 8,6
HER2 amplifikasyonu (FISH ile)	Pozitif Negatif	30 21	
Moleküler Tip	Luminal A Luminal B HER2 pozitif Triple negatif (Bazal- like)	66 80 46 18	% 31,4 % 38,1 % 21,9 % 8,6
PDL1 ekspresyonu	Pozitif (yangıda) Pozitif (tümörde) Negatif	15 6 189	% 7,1 % 2,9 % 90
FOXP3 ekspresyonu	Pozitif lenfosit olan tm	14	% 6,7

Tablo 4.2.2. İmmunohistokimyasal ve Moleküler Bulgular- II.

	Hasta sayısı (N/ %)	Ortalama ± standart sapma	Medyan (Minimum- Maksimum)
ER pozitifse yüzdesi	210/ %100	55,51± 12,7	54 yaş (28- 85)
PR pozitifse yüzdesi	210/ %100	61,5± 20,3	63,6 ay (1- 87,2)
Ki67 yüzdesi	210/ %100	21,9± 20,6	15 (1- 95)
FOXP3 pozitifliği/ BBA	210/ % 100	1,7±3,6	1 (0- 30)



Resim 4.2.2. İHK'sal c-erbB2 ekspresyon ve FİSH ile Her2 amplifikasyonu saptanan olguların dağılımı.



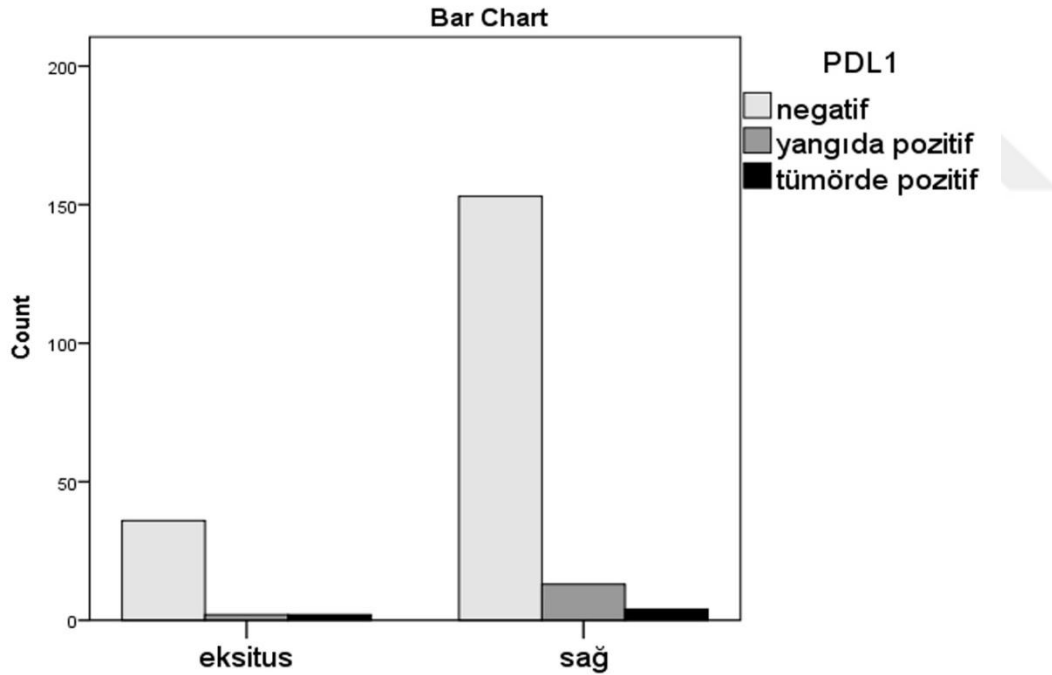
Resim 4.2.3. İmmunohistokimyasal olarak yangı hücrelerinde sitoplazmik PDL1 pozitif olan bir olgu (DAB x 100).

4.3. PDL1 ve FOXP3 Boyanma Durumu ile Diğer Parametrelerin Karşılaştırılması

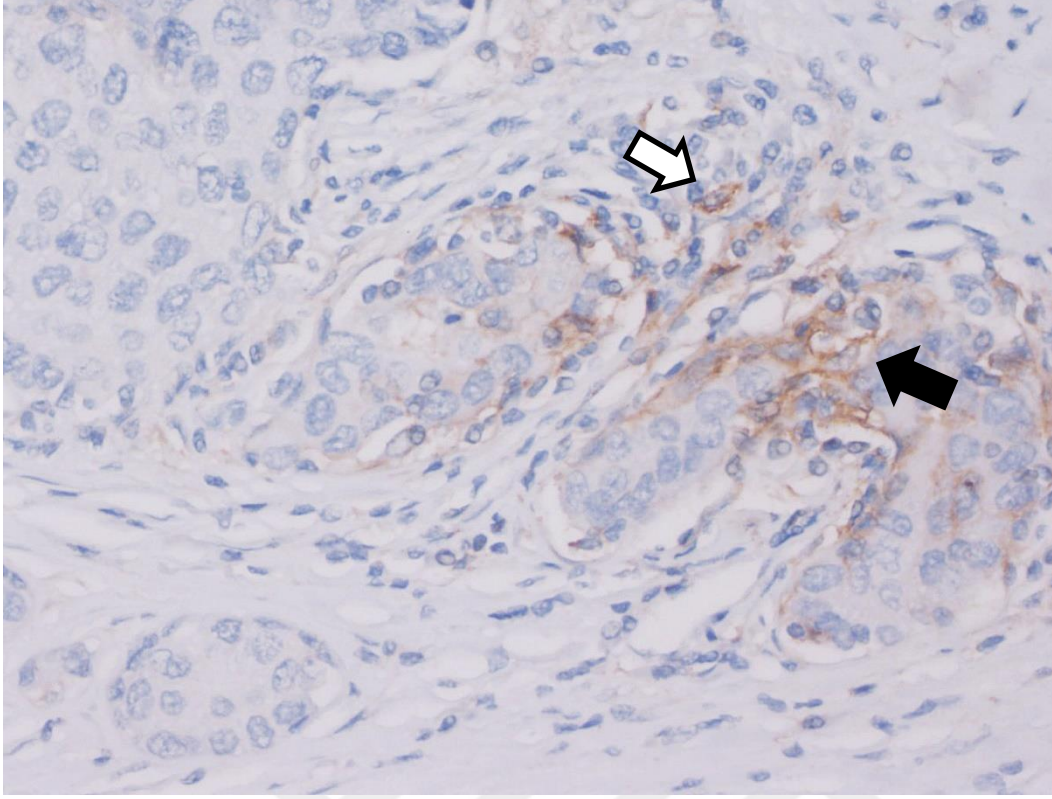
İmmünohistokimyasal olarak PDL1 ve FOXP3 boyama uygulanan 210 olguda meme tümörlerinin tanı ve tedavisinde önem taşıyan parametrelerle PDL1 ve FOXP3 pozitifliği karşılaştırıldı.

Demografik ve histopatolojik parametreler:

PDL1 pozitifliğine göre tanı anında yaş ortalamaları karşılaştırıldığında PDL1 negatif olanlarda $55,6 \pm 12,7$ iken, PDL1 tümörde pozitif olanlarda $61,3 \pm 8,4$ yangısal hücrelerde pozitif olanlarda $50,6 \pm 8,8$ bulunmuş olup, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,097$). Hastaların hayatta olup olmama durumları ile PDL1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (Resim 4.3.1)($p=0,715$). Tümörün yerleşim gösterdiği meme ile PDL1 pozitifliği karşılaştırıldığında sağ memede ya da sol memede yerleşim gösterenler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,526$).



Resim 4.3.1. İHK'sal PDL1 ekspresyonu ve hasta durumları (sağ- ölü) arasında anlamlı ilişki yoktu.



Resim 4.3.2. Tümör (siyah ok) ve genç hücrelerinde (beyaz ok) PDL1 ekspresyonu izlenen bir olgu (DAB x 100).

PDL1 pozitifliğine göre tümörlerin histolojik tipleri incelendiğinde; PDL1 pozitif ve negatif gruplarda histolojik tip farkı izlenmedi ($p=0,895$). Her iki grupta da invaziv duktal karsinom en sık görülen tipti. Hem duktal, hem de invaziv lobüler tümör grubunda olguların çok azında tümöral veya stromadaki yangısal hücrelerde PDL1 pozitifliği (Şekil 4.3.2). PD-L1 pozitifliği gösteren olguların 3 tanesi luminal A, diğer 3 tanesi luminal B moleküler alt grubundaydı. PDL1 pozitifliğine göre tümör dereceleri incelendiğinde de istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,746$). Tümörde in situ komponent varlığı göz önüne alındığında in situ komponent varlığı veya mevcut in situ komponentin türü ile PDL1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,450$, $p=0,121$). Aksiller lenf nodu diseksiyonu yapılan olgularda lenf nodu metastazı varlığı ile PDL1 ekspresyonu karşılaştırıldığında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,333$). Metastatik lenf nodlarında kapsül invazyon varlığı ile PDL1 boyanması arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,079$).

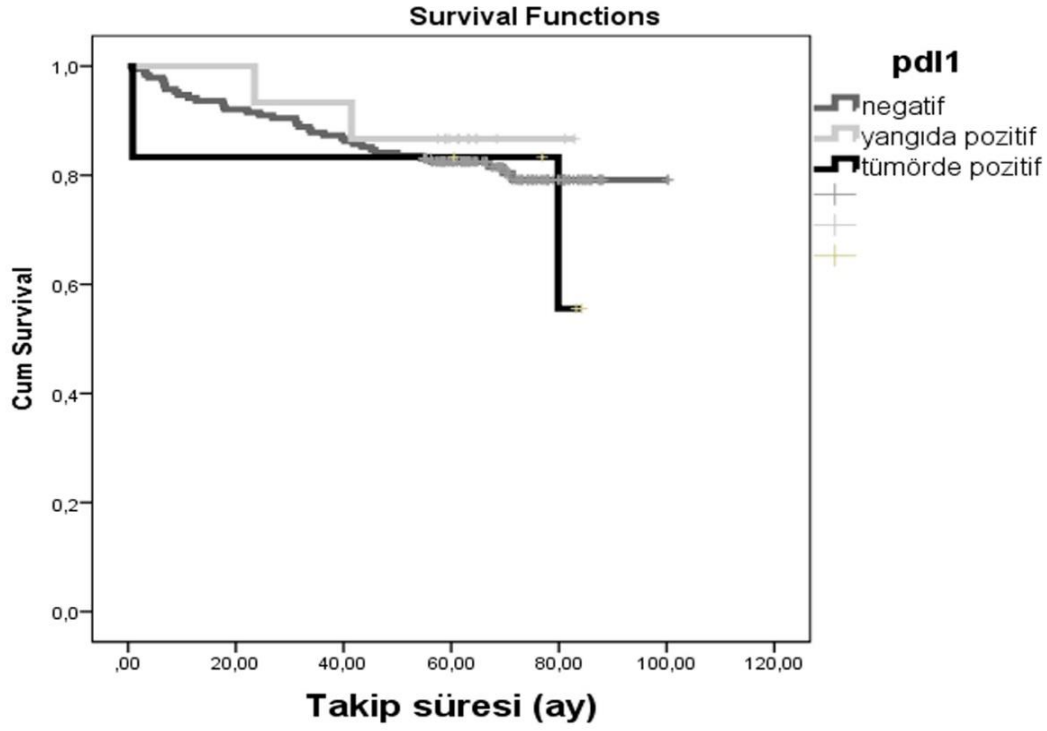
Tümör boyutu ile PDL1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,729$). Benzer şekilde patolojik tümör evresi (pT) ile PDL1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki yoktu ($p=0,270$). Multifokalite yönünden değerlendirildiğinde tümörün multifokal veya tek olması durumu ile PDL1 pozitivitesi arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,119$).

PDL1 ekspresyonu pozitif olgular arasında meme başı, epidermis ve dermal lenfatiklerin tutulduğu olgu bulunmadığından istatistiksel karşılaştırma yapılamadı. Lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon bulunan olgularla bulunmayanlar arasında PDL1 ekspresyonu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,314$ ve $p=0,130$).

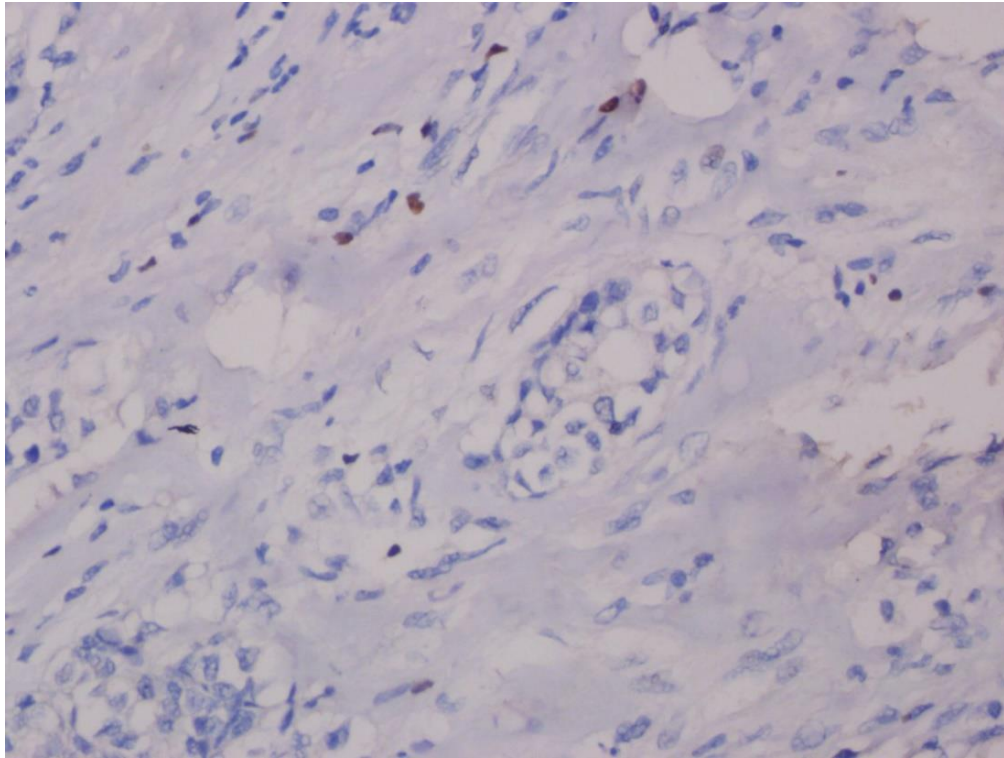
PDL1 ekspresyonuna göre hastaların mortalite ve yaşam süreleri dikkate alınarak yapılan survival analizine göre median yaşam süresi en kısa grup tümöral PDL1 ekspresyonu saptananlar olsa da, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,660$) (Resim 4.3.3).

Tümör ve çevre stromayı infiltre eden hücreler arasında FOXP3 pozitif lenfosit varlığına göre tanı anında yaş ortalamaları karşılaştırıldığında FOXP3 negatif olanlarda $55,4 \pm 12,3$ iken, FOXP3 pozitif olanlarda $55,5 \pm 14,7$ bulunmuş olup, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,935$). Tümörün yerleşim gösterdiği meme ile FOXP3 pozitifliği karşılaştırıldığında sağ memede ya da sol memede yerleşim gösterenler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,968$).

FOXP3 pozitifliğine göre tümörlerin histolojik tipleri incelendiğinde; FOXP3 pozitif ve negatif gruplarda histolojik tip farkı izlenmedi ($p=0,741$). Her iki grupta da invaziv duktal karsinom en sık görülen tipti (Resim 4.3.4). Hem duktal, hem de invaziv lobüler tümör grubunda olguların çok azında stromadaki yangısal hücrelerde FOXP3 pozitifliği. FOXP3 pozitifliğine göre tümör dereceleri incelendiğinde de istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,203$).



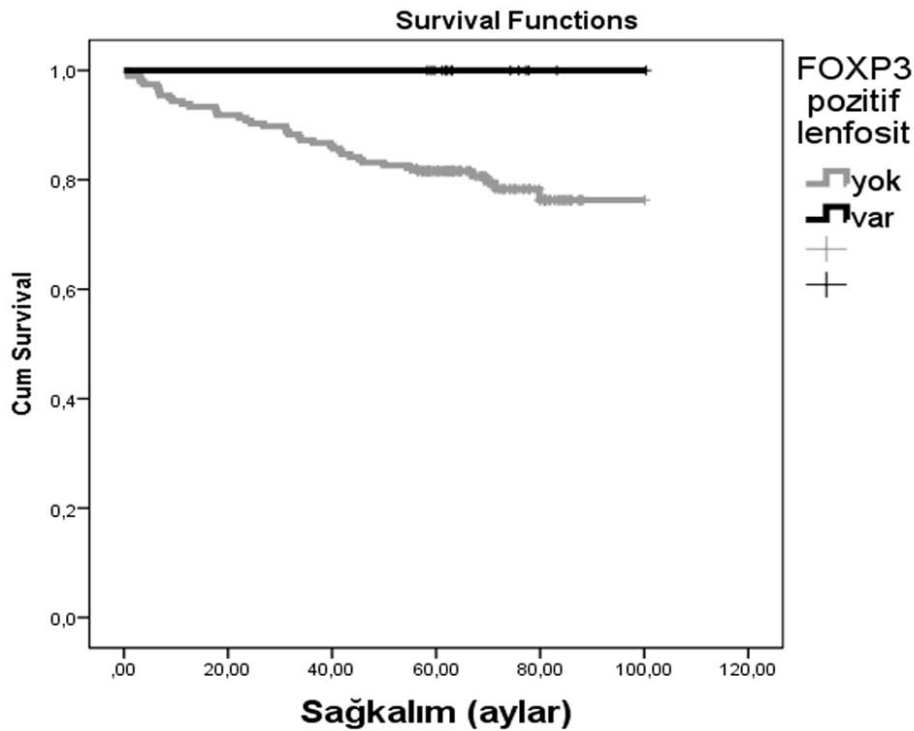
Resim 4.3.3. PDL1 ekspresyonuna göre sağ kalım analizi (Log Rank, $p=0,660$).



Resim 4.3.4. Az sayıda FOXP3 ekspresyonu gösteren T reg infiltrasyonu gösteren bir invaziv duktal karsinom (DABx 100).

Tümörde in situ komponent varlığı göz önüne alındığında in situ komponent varlığı veya mevcut in situ komponentin türü ile FOXP3 pozitif lenfosit varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,472$, $p=0,299$). Aksiller lenf nodu diseksiyonu yapılan olgularda lenf nodu metastazı varlığı ile FOXP3 ekspresyonu karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,440$). Metastatik lenf nodlarında kapsül invazyon varlığı ile FOXP3 boyanması arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p= 0,383$). Tümör boyutu ile FOXP3 pozitif lenfosit varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p= 0,673$). Benzer şekilde patolojik tümör evresi (pT) ile FOXP3 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki yoktu ($p= 0,402$). Multifokalite yönünden değerlendirildiğinde; multifokal tümörlerde FOXP3 pozitif Treg hücreleri daha az oranda saptansa da istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı ($p= 0,067$) (Resim 4.3.6).

Tümörle ilişkili lenfosit infiltrasyonunda FOXP3 pozitif olgular arasında meme başı, epidermis ve dermal lenfatiklerin tutulduğu olgu bulunmadığından istatistiksel karşılaştırma yapılamadı. Lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon bulunan olgularla bulunmayanlar arasında FOXP3 ekspresyonu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,314$ ve $p=0,130$). FOXP3 pozitif Treg hücreleri bulunan olgularda sağkalım süresi biraz daha uzun bulunsa da, istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (Resim 4.3.5) ($p=0,077$).



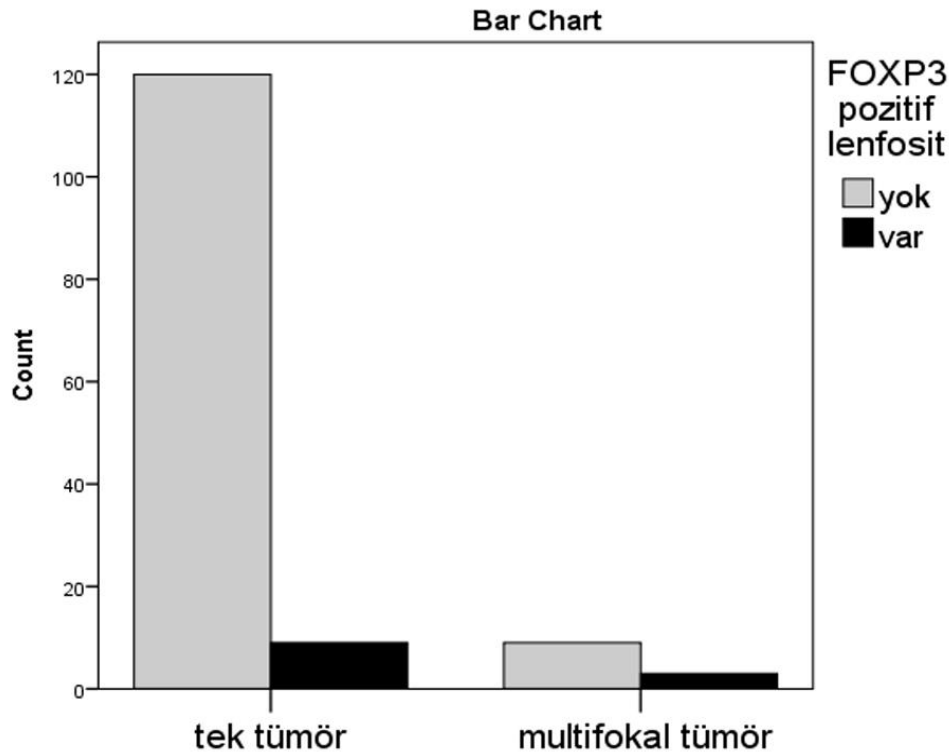
Resim 4.3.5. Tümörü infiltre eden hücreler arasında FOXP3 pozitif lenfosit varlığına göre sağ kalım analizi (Log Rank, $p=0,077$).

İmmünohistokimyasal parametreler:

PDL1 boyanma durumuna göre immünohistokimyasal olarak tespit edilmiş olan ER pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,452$). Ortalama ER pozitiflik yüzdesi PDL1 pozitif boyanan olgularda % 85 iken, PDL1 negatif olgularda % 83,7 idi. İstatistiksel olarak PDL1 ekspresyonuyla ER reseptörü yüzdesi arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,597$).

İmmünohistokimyasal PR pozitifliği ile PDL1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,348$). Ortalama PR pozitiflik yüzdesi PDL1 pozitif olgularda % 71,7 iken, PDL1 pozitif olgularda % 66,8 bulunmuş olup, PDL1 ekspresyonu ve PR yüzdesi arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,542$).

PDL1 pozitifliği ile Ki67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,831$). Benzer şekilde immünohistokimyasal c-erbB2 ekspresyon derecesi ve FISH pozitifliği ile PDL1 ekspresyonu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,465$, $p=0,439$). PDL1 boyanma durumuna göre tümörlerin moleküler alt tipleri incelendiğinde, dağılımlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,376$).



Resim 4.3.6. İHK'sal FOXP3 ekspresyonu ve tümör multifokalitesi arasında anlamlı ilişki yoktu.

FOXP3 boyanma durumuna göre immunohistokimyasal olarak tespit edilmiş olan ER pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,598$). Ortalama ER pozitiflik yüzdesi FOXP3 pozitif boyanan olgularda % 88,7 iken, FOXP3 negatif olgularda % 83,5 idi. İstatistiksel olarak FOXP3 ekspresyonu ile ER reseptörü yüzdesi arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,359$).

İmmunohistokimyasal PR pozitifliği ile FOXP3 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,973$). Ortalama PR pozitiflik yüzdesi FOXP3 pozitif olgularda %67,5 iken, FOXP3 pozitif olgularda % 67,3 bulunmuş olup, FOXP3 ekspresyonu ve PR yüzdesi arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,583$).

FOXP3 pozitifliği ile Ki67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,537$). Benzer şekilde immunohistokimyasal c-erbB2 ekspresyon derecesi ve FISH pozitifliği ile FOXP3 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,275$ ve $p=0,283$). FOXP3 boyanma durumuna göre tümörlerin moleküler alt tipleri incelendiğinde, dağılımlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,567$).

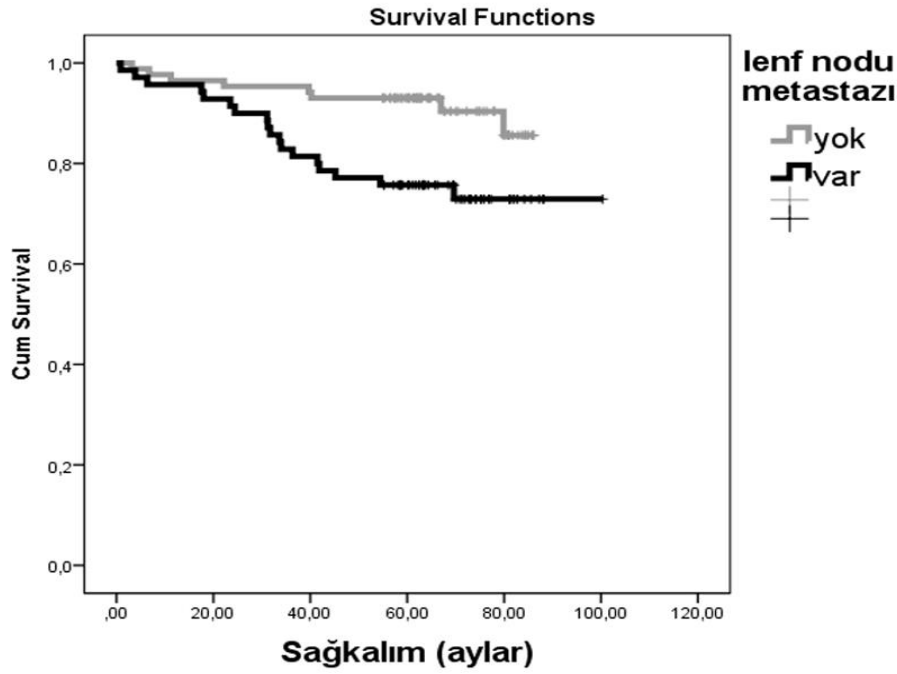
Sağ kalım üzerine etkili tüm faktörlerin değerlendirilmesi

İki yüz on hastanın ortalama takip süresi $61,9 \pm 20,6$ (0,83- 100,3) ay olup; median (ortanca) 63,3 aydı. Takip süresince hastaların 170 (% 81) tanesi sağ kalmış olup; 12 aylık, 24 aylık ve 5 yıllık genel sağkalım oranları sırası ile % 93,7 ve % 90,5 ve % 81,6 olarak bulunmuştur.

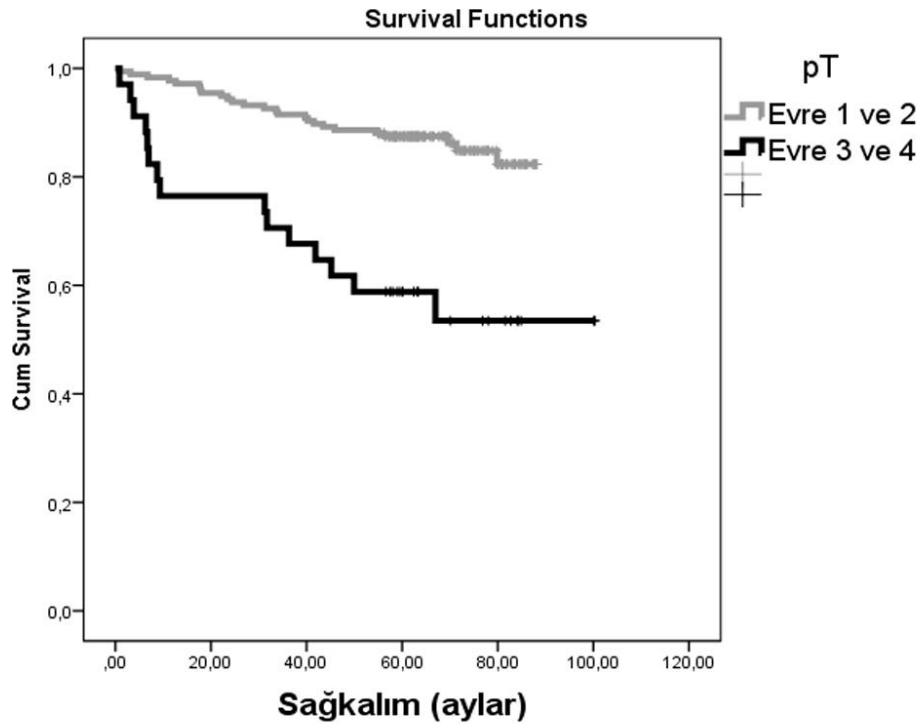
Histopatolojik tümör tipinin sağkalıma etkisi değerlendirilirken; hasta sayısının az olması nedeni ile invaziv papiller karsinom ($n=6$), invaziv mikropapiller karsinom ($n=2$), metaplastik karsinom ($n=3$), müsinöz karsinom ($n=2$), asinik hücreli karsinom ($n=1$), duktal-lobüler karsinom ($n=2$) ve tübüler karsinom ($n=1$) analiz dışında bırakıldı. İDK, İLK ve in situ komponenti baskın İDK üçlü olarak değerlendirildiğinde genel sağkalımlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,373$).

Değerlendirilen tüm parametreler incelendiğinde; tümöre eşlik eden in situ komponent varlığı ($p=0,240$), ER pozitifliği ($p=0,229$), PR pozitifliği ($p=0,441$), cERB derecesi ($p=0,275$) ve Her2 amplifikasyonu ($p=0,143$) ile sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu. Benzer şekilde tümörün lokalizasyonu ($p=0,170$), multifokalite ($p=0,140$), aksiller lenf nodu kapsülüne yayılım ($p=0,471$), meme başı tutulumu ($p=0,249$), tümörde

lenfovasküler invazyon varlığı ($p= 0,357$) ve tümörde perinöral invazyon varlığı ($p= 0,916$) ile sağ kalım arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu.

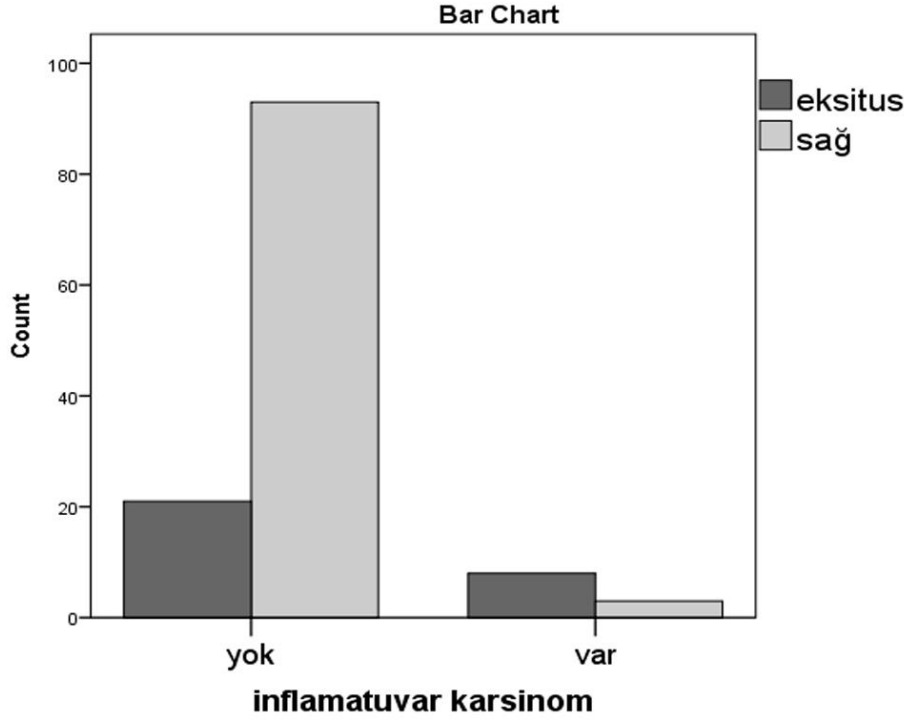


Resim 4.3.7. Lenf nodu metastaz varlığına göre sağ kalım analizi (Log Rank, $p=0,006$).



Resim 4.3.8. Kaplan Meier analizinde patolojik T evresi 3 ve 4 olan olgularda sağ kalım süresi pT1 ve pT2 olanlara göre belirgin olarak kısaydı (Log Rank, $p<0,01$).

İstatistiksel olarak sağ kalımı etkileyen faktörler ise sırasıyla; lenf nodu metastazı varlığı ($p= 0,006$)(Resim 4.3.7), patolojik tümör evresi ($p<0,01$)(Resim 4.3.8), epidermis invazyonu ($p=0,014$) ve materyalde dermal lenfatiklerde tümör trombu varlığı ($p< 0,01$) ya da başka bir deyişle inflamatuvar karsinom varlığıydı (Resim 4.3.9).



Resim 4.3.9. İnflamatuvar karsinom olan olgular arasında eksitus oranı daha yüksekti.

5. TARTIŞMA

Meme kanserleri, geçmişte her ne kadar histolojik tip ve derece ile sınıflandırılrsa da günümüzde gen ekspresyon profillerindeki benzerlikler kullanılarak moleküler olarak sınıflandırılmaya başlanmıştır. Moleküler sınıflandırma ve gen analizleri meme kansinomlarının tedavisinde yeni yaklaşımlar geliştirilmesine olanak sağlamıştır (53). Bizim çalışmamızda moleküler sınıflar değerlendirildiğinde 66 (% 31,4) olgunun Luminal A, 80 (% 38,1) olgunun Luminal B, 46 (% 21,9) olgunun Her2 pozitif ve 18 (% 8,6) olgunun basal benzeri grupta yer aldığı belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda tümörün moleküler özellikleri yanı sıra mikroçevresinin de sağkalım ve prognoz ile doğrudan ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. Tümörün mikroçevresini oluştururken immün yanıtı kolaylaştıran en önemli özelliklerinden bir tanesi PD-L1 ekspresyonudur. İmmünitinin pozitif ve negatif sinyalleri arasındaki dengenin, konağın dış etkenlerden korunması ile immunolojik toleransın gelişmesi arasında maksimize edilmesi çok önemlidir. Latchman ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada invitro ortamda oluşturdukları PD-L1 negatif farelerde CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerinin sayılarında ve fonksiyonlarında artış olduğu ve bu durumun otoimmüniteye sebebiyet verdiği izlenmiştir. Bu da PD-L1 pozitif T hücrelerinin efektör T hücrelerini inhibe ettiği ve immün toleransın gelişiminde önemli olduğunu vurgulamıştır (62).

Ali ve ark., 3916 olguluk oldukça geniş popülasyonlu çalışmasında hem pcr yöntemi ile hem de immunohistokimyasal yöntemle PD-L1 ekspresyonunu saptamayı amaçlamışlardır. Çalışmalarında PD-L1 ekspresyonunun aslında meme kanserlerinde hem tümör hücrelerinde hem de çevredeki immün hücrelerde oldukça az eksprese olduğunu saptamışlardır. Çalışmalarında yangı hücrelerinde PD-L1 pozitifliğini %6 oranında saptarken sadece 66 (1.7) olguda tümörde pozitiflik izlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da oldukça benzer veriler elde edilerek PD-L1 sadece 6 (%2.9) olguda zayıf ekspresyon gösterirken 15 olguda ise yangı hücrelerinde sitoplazmik ekspresyon saptanmıştır(54).

Muenst ve ark.'nın 650 olguluk çalışmasında 152 (%23.4) primer meme tümörlü olguda PD-L1 ekspresyonu pozitif olup bu pozitifliğin hastanın yaşı, tümör boyutu, evresi, derecesi ve Ki67 durumuyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (7). Ghebeh ve ark. 'nın

çalışması da PD-L1 ekspresyonunun kötü prognostik faktör olduğunu ortaya koyarken PD-L1 pozitifliği ile tümör çapının büyüklüğü (>4 cm; P = 0.042) ve histolojik derecenin yüksekliği arasında anlamlı ilişki bildirmiştir (49). Muenst ve ark.'nın çalışmasında PD-L1 ekspresyonuyla moleküler subtipler arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (7). Bizim çalışmamızda da PD-L1 pozitif ve negatif gruplarda moleküler alt tipler arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark izlenmemiştir (p=0,895). Tümörde PD-L1 pozitifliği gösteren 3 olgu luminal A, diğer 3 olgu luminal B moleküler alt grubunda olup bazal benzeri ve HER2 pozitif grupta pozitiflik izlenmemiştir. Fakat aynı zamanda PD-L1 pozitifliği ve tümör dereceleri arasında da anlamlı fark saptanmamıştır (p:0,746). Median yaşam süresi en kısa grup tümöral PD-L1 ekspresyonu saptananlar olsa da, istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir (p=0,660).

Çalışmamızda Abcam; ab205921-pd-11 antikoru mikroarray bloklarına manuel olarak uygulanmıştır. Farklı antikor kullanımının ekspresyonu yansıtmadaki belirleyiciliği Karnik ve ark. tarafından araştırılmıştır. Ventana, Dako ve BioCare gibi farklı markaların antikorlarında PD-L1 ekspresyonu değerlendirmede anlamlı bir fark saptanmamıştır (55).

Li ve ark. çalışmalarında 501 invaziv meme karsinomu olgusunun 231 'inde PD-L1 pozitifliği saptanmıştır. Bu pozitifliğin kötü prognostik bir faktör olduğu bildirilmiştir. Çalışmalarında 501 olguya İHK boyasını tam doku bloklarına uygulamışlardır (5). Bizim çalışmamızda ise çoklu blok yöntemi uygulanmış olup değerlendirme küçük bir alanı yansıtmakla birlikte tümörün tamamı hakkında prediktif bir değer vermektedir. Bu durum prognozla PD-L1 pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel farkın saptanamamasının bir sebebi olabilir.

Tringler ve ark. 'nın 173 primer meme karsinomlu, 246 metastatik meme karsinomlu olgular ile yaptığı çalışmada PD-L1 pozitifliği ile hastalığın evresi, derecesi ya da diğer klinikopatolojik durumlarla istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptayamamışlardır. Sadece negatif PR reseptörü ve HER2 durumuyla anlamlı bir fark gözlemlemişlerdir. Bu bulgular bizim çalışmamıza benzese de bizim çalışmamızın aksine invaziv meme karsinom olgularının %95'inde PD-L1 pozitifliği saptamışlardır(63).

Çalışmamızda yalnızca 14 (%6.7) olguda FOXP3 + tümör infiltrate lenfosit izlenmiştir. Ancak bu pozitifliğin tümörün prognozu ya da moleküler tiplendirilmesiyle anlamlı fark izlenmemiştir. Liu ve ark. 1270 olguyla yaptıkları çalışmada FOXP3 pozitifliği ve prognoz arasında istatistiksel anlamlı fark saptamışlardır. CD8+ T hücre ve FOXP3 + Treg hücre infiltrasyonunun bazal-benzeri meme karsinomlarında daha fazla arttığını gözlemlemişlerdir (56).

Bates ve ark.'nın çalışmasında Treg hücrelerin insitu karsinom, invaziv karsinom ve normal meme dokusu alanlarındaki sayıları karşılaştırılmıştır. FOXP3+ Treg hücreler invaziv meme kanserinde en yüksek oranda bulunurken en az normal meme dokusunda saptanmıştır. DKİS olgularında yüksek Treg sayısı erken relapsla ilişkilendirilirken, invaziv meme kanserlerinde de düşük sağkalımla ilişkilendirilmiştir (61). Bizim çalışmamızda ise tümörde in situ komponent varlığı göz önüne alındığında in situ komponent varlığı veya mevcut in situ komponentin türü ile FOXP3 pozitif lenfosit varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,472, p=0,299).

Birçok kanıt göstermiştir ki PD-L1/PD1 moleküler yolağı önemli moleküler sinyalleri düzenleyerek, periferik immunitiyi korumak amacıyla naif T hücrelerinin Treg hücrelerine dönüşümünde sinerjistik etki oluşmasını sağlamıştır. Li ve ark.'ı meme tümörlerinde PD-L1 ve FOXP3 ekspresyonlarını birlikte değerlendirerek iki belirleyicinin sinerjistik olarak çalıştıklarını bildirmiştir. İkisinin birlikte pozitifliğini kötü prognozla ilişkilendirmişlerdir (5). Bizim çalışmamızda ise PD-L1 ve FOXP3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu sonuca çalışmamızda kısıtlı örneklem kullanılması, vaka sayısının sınırlı olması ve bu sınırlı sayıdaki olguda çoklu blokla vakanın tamamını yansıtmayan kesitlerde değerlendirilmenin küçük bir alanı yansıtmaması etkili olmuştur.

Birçok klinik çalışma göstermiştir ki PD-L1 inhibitörleri güvenli, iyi tolere edilebilen ve az sayıda otoimmün yan etkinin gözlemlendiği tedavilerdir (57-58). Tedavinin sınırlı kaldığı bazal-benzeri meme kanserlerinde yeni tedavi opsiyonlarının geliştirilmesi önem arz etmektedir. PD-L1 ekspresyonlarının bazal- benzeri meme kanserlerinde artmış olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir(59). Nanda ve ark. 'nın PD-L1 inhibitörü olan pembrolizumab uyguladığı 111 hastada hastaların büyük çoğunluğunun tedaviye uyum sağladığını ve ciddi yan etkiler oluşturmadıklarını gözlemlemişlerdir (60).

Çalışmamızda istatistiksel olarak sağ kalımı etkileyen faktörler; Lenf nodu metastazı varlığı ($p= 0,006$), patolojik tümör evresi ($p<0,01$), epidermis invazyonu ($p=0,014$), dermal lenfatiklerde tümör trombu varlığı ($p< 0,01$) olarak belirlenmiştir. Meme karsinomlarında bilinen prognostik faktörler hastanın yaşı, tümör buyutu, histolojik derece, lenf nodu tutulumu ve hormon reseptörlerinin durumudur (64).

Son olarak PD-L1 immunohistokimyasal boyamasında farklı antikorların kullanılmasıyla boyama protokollerinin değişmesi, standardize olmuş bir eşik değer ve skorlama sisteminin bulunmaması, antikora yönelik farklı tedavilerin varlığı tanı ve tedavi açısından sıkıntılar yaratmaktadır. Antikor bazlı immün tedaviler kanser mikroçevresinin daha iyi anlaşılmasıyla gündem güne önem kazanmaktadır. Bu nedenle meme kanseri başta olmak üzere bir çok tümörde PD-L1 ve FOXP3 ekspresyonlarıyla ilgili ileri inceleme ve çalışmaların yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇLAR

- Çalışmaya dahil edilen 210 hastanın tanı anındaki yaşlarının ortalamaları $55,46 \pm 12,5$ bulundu.
- Hastaların 170 (% 81) tanesi hayatta iken 40 (% 19) tanesi hayatını kaybetmiştir, ortalama takip süresi $61,9 \pm 20,6$ aydı.
- Tümör yerleşimi toplam 154 olguda bildirilmiş olup 69'u (% 44,8) sağ memede, 84'ü (% 54,6) sol memede yerleşim göstermekteyken, seride bilateral tümörlü tek bir olgu (% 0,6) vardı.
- 12 (% 8,5) olguda multifokal tümör mevcut iken diğer olgularda tek odak mevcuttu.
- Ortalama tümör çapı $2,96 \pm 2$ (0,6- 16) cm bulundu.
- Patolojik T evrelemesine göre 91 olgu (% 43,1) evre pT1, 95 olgu (% 45) evre pT2, 7 olgu (% 3,3) pT3 ve 18 olgu (% 8,5) olgu pT4 idi.
- Kesin tümör lokalizasyonu bilinen olgular arasında en sık yerleşim yeri üst dış kadranda (%46,4) olup; sırasıyla diğer lokalizasyonlar; santral (%26,1), üst iç (% 11,6), alt iç (% 7,2) ve alt dış (% 8,7) kadrandı.
- Histopatolojik olarak en sık invaziv duktal karsinom (% 61) ve in situ komponenti baskın İDK (% 23,3) görüldü. İnvaziv lobüler karsinom (% 7,6) üçüncü sırada yer almaktaydı.
- Histopatolojik tümör derecesi 13 (% 6,3) olguda derece 1, 99 (% 47,1) olguda derece 2 ve 98 (% 46,6) olguda derece 3 idi.
- In situ komponent 146 (% 73,4) tümörde mevcuttu. Mevcut in situ komponentlerin 11'i (% 7,2) komedo, 69'u (% 47,1) non-komedo ve 66'sı (% 45,7) komedo+non-komedo mikst in situ karsinom tipindeydi.
- Olguların 152'sine (%72,3) aksiller lenf nodu diseksiyonu uygulanmış olup bu olguların 70'inde (% 46) lenf nodunda metastaz saptanmıştı. Lenf nodu metastazı olan olguların 51'inde (% 72,8) ise metastatik lenf nodlarında kapsül invazyonu mevcuttu.
- Meme başı incelenen 58 olgudan 15'inde (% 25,8) meme başı invazyonu saptandı.

- Olguların 8'inde (% 3,8) dermal lenfatiklerde tümör tutulumu mevcut olup; epidermis invazyonu da yine 8 (% 3,8) olguda izlendi.
- Lenfovasküler invazyon 52 (% 31,9) olguda, perinöral invazyon 43 (% 25,9) olguda saptandı.
- Tümörün moleküler sınıfları değerlendirildiğinde 66 (% 31,4) olgunun Luminal A, 80 (% 38,1) vakanın Luminal B, 46 (% 21,9) olgunun Her2 pozitif ve 18 (% 8,6) olgunun bazal benzeri grupta yer aldığı belirlenmiştir.
- İmmunohistokimyasal çalışmalarda ER 176 (% 83,8) olguda pozitif olarak saptandı. ER pozitif olarak olgularda boyanma yüzdesi ortalama $83,9 \pm 23,7$ olarak bulundu.
- PR immunohistokimyasal olarak 157 (% 74,8) olguda pozitif saptandı. Pozitif saptanan olgularda boyanma yüzdesi ortalama $67,3 \pm 33,7$ olarak bulunmuştur.
- Olguların 16'sı (% 7,6) ise immunohistokimyasal olarak c-erbB2 3+'ti.
- Kombine İHK- FISH değerlendirmesinde 46 olgu (% 21,9) Her2 pozitif olarak kabul edilip, tümü hedefe yönelik tedavi görmüştür.
- Olguların tümünde Ki67 proliferasyon indeksi çalışılmış, ortalama $21,98 \pm 20,6$ olarak bulunmuştur.
- PDL1 için kabul gören pozitiflik tümör hücrelerindeki membranöz ekspresyon olup; sadece 6(%2.9) olguda zayıf ekspresyon vardı. 15 (7.1) olguda ise yangı hücrelerinde sitoplazmik ekspresyon saptandı.
- İmmunohistokimyasal olarak tümörü infiltre eden yangısal hücreler arasında nükleer ekspresyon gösteren FOXP3 pozitif lenfositlerin en yoğun toplandıkları bölgede ki sayısı belirlendiğinde 14 olguda (% 6,7) lenfositlerin sayısı bir büyük büyütme alanında 1 ile 30 arasında (ortalama $1,7 \pm 3,6$) değişiyordu.
- PDL1 tümörde pozitif olanlarda yaş ortalaması $61,3 \pm 8,4$ olarak saptandı.
- Hastaların yaşı ve hayatta olup olmama durumları ile PDL1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,097$, $p=0,715$).
- Tümörün yerleşim gösterdiği meme ile PDL1 pozitifliği karşılaştırıldığında sağ memede ya da sol memede yerleşim gösterenler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,526$).

- PDL1 pozitifliğine göre tümörlerin histolojik tipleri incelendiğinde; PDL1 pozitif ve negatif gruplarda histolojik tip farkı izlenmedi ($p=0,895$).
- PDL1 pozitifliğine göre tümör dereceleri incelendiğinde de istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,746$).
- İn situ komponent varlığı veya mevcut in situ komponentin türü ile PDL1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,450$, $p=0,121$).
- Aksiller lenf nodu diseksiyonu yapılan olgularda lenf nodu metastazı varlığı ile PDL1 ekspresyonu karşılaştırıldığında anlamlı ilişki saptanmadı ($p:0,333$). Metastatik lenf nodlarında kapsül invazyon varlığı ile PDL1 boyanması arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p= 0,079$).
- Tümör boyutu ile PDL1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p= 0,729$). Benzer şekilde patolojik tümör evresi (pT) ile PDL1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki yoktu ($p= 0,270$).
- PDL1 ekspresyonuna göre hastaların mortalite ve yaşam süreleri dikkate alınarak yapılan survival analizine göre median yaşam süresi en kısa grup tümöral PDL1 ekspresyonu saptananlar olsa da, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,660$).
- Tümör ve çevre stromayı infiltre eden hücreler arasında FOXP3 pozitif lenfosit varlığına göre tanı anında yaş ortalamaları karşılaştırıldığında FOXP3 negatif olanlarda $55,4 \pm 12,3$ iken, FOXP3 pozitif olanlarda $55,5 \pm 14,7$ bulunmuş olup, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,935$).
- Tümörün yerleşim gösterdiği meme ile FOXP3 pozitifliği karşılaştırıldığında sağ memede ya da sol memede yerleşim gösterenler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,968$).
- FOXP3 pozitifliğine göre tümörlerin histolojik tipleri incelendiğinde; FOXP3 pozitif ve negatif gruplarda histolojik tip farkı izlenmedi ($p=0,741$).
- FOXP3 pozitifliğine göre tümör dereceleri incelendiğinde de istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,203$).

- Tümörde in situ komponent varlığı göz önüne alındığında in situ komponent varlığı veya mevcut in situ komponentin türü ile FOXP3 pozitif lenfosit varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,472$, $p=0,299$).
- Aksiller lenf nodu diseksiyonu yapılan olgularda lenf nodu metastazı varlığı ile FOXP3 ekspresyonu karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,440$). Metastatik lenf nodlarında kapsül invazyon varlığı ile FOXP3 boyanması arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p= 0,383$).
- Tümör boyutu ile FOXP3 pozitif lenfosit varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p= 0,673$).
- Patolojik tümör evresi (pT) ile FOXP3 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki yoktu ($p= 0,402$).
- FOXP3 pozitif Treg hücreleri bulunan olgularda sağkalım süresi biraz daha uzun bulunsa da, istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,077$).
- PDL1 ve FOXP3 boyanma durumuna göre immunohistokimyasal olarak tespit edilmiş olan ER pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı .
- İmmunohistokimyasal PR pozitifliği ile PDL1 ve FOXP3 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı .
- PDL1 ve FOXP3 pozitifliği ile Ki67 proliferasyon indeksi arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı.
- İmmunohistokimyasal c-erbB2 ekspresyon derecesi ve FISH pozitifliği ile PDL1 ve FOXP3 ekspresyonu arasında anlamlı fark saptanmadı.
- PDL1 ve FOXP3 boyanma durumuna göre tümörlerin moleküler alt tipleri incelendiğinde, dağılımlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
- Değerlendirilen tüm parametreler incelendiğinde; tümöre eşlik eden in situ komponent varlığı ($p= 0,240$), ER pozitifliği ($p= 0,229$), PR pozitifliği ($p= 0,441$), cERB derecesi ($p= 0,275$) ve Her2 amplifikasyonu ($p= 0,143$) ile sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu.

- İstatistiksel olarak sağ kalımı etkileyen faktörler ise sırasıyla; lenf nodu metastazı varlığı ($p= 0,006$), patolojik tümör evresi ($p<0,01$), epidermis invazyonu ($p=0,014$) ve materyalde dermal lenfatiklerde tümör trombus varlığı ($p< 0,01$) ya da başka bir deyişle inflamatuvar karsinom varlığıydı.



7. KAYNAKÇA

1. Lakhani, S.R., Ellis. I.O., Schnitt, S.J., Tan, P.H., van de Vijver, M.J. World Health Organization classification of tumours of the Breast, IARC, Lyon, 2012
2. 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.
3. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:8418–23.
4. Jaber MI, Song B, Taylor C, Vaske CJ, Benz SC, Rabizadeh S, Soon-Shiong P, Szeto CW. A deep learning image-based intrinsic molecular subtype classifier of breast tumors reveals tumor heterogeneity that may affect survival. *Breast Cancer Res.* 2020;22:12.
5. Li Z, Dong P, Ren M, Song Y, Qian X, Yang Y, Li S, Zhang X, Liu F. PD-L1 expression is associated with tumor FOXP3+ regulatory t-cell infiltration of breast cancer and poor prognosis of patient. *J Cancer.* 2016;7:784–793.
6. Kahraman DS, Diniz G, Sayhan S, Sayar C, Ayaz D, Gokcu M, Karadeniz T. The prognostic significance of pd11 and foxp3 expressions in tumor cells and the tumor microenvironment of ovarian epithelial tumors. *Int J Clin Exp Pathol* 2018;11(8): 3884-3890.
7. Muenst S, Schaerli AR, Gao F, Daster S, Trella E, Drosner RA, et al. Expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast cancer research and treatment.* 2014; 146: 15-24.
8. David J. Dabbs Breast Pathology Elsevier Health Sciences. 2012
9. McCarty KS, Nath M. Breast. In: Sternberg SS, ed. *Histology for Pathologists.* Philadelphia, PA: Lippincott-Raven; 1997:71-82.
10. Moore, Keith L., et al. Klinik yönleri ile insan embriyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:520.
11. Collins LC, Schnit SJ. Breast. In Mills SE (ed.): *Histology for pathologists*, ed. 3. Philadelphia, 2007, Lippincott Williams & Wilkins, pp.57-74
12. Mills, Stacey E. *Histology for Pathologists.* Lippincott Williams & Wilkins, 2012:67-68
13. Schnitt, Stuart J., and Laura C. Collins. *Biopsy interpretation of the breast.* Lippincott Williams & Wilkins, 2009.
14. Rosai, Juan. *Rosai and Ackerman's surgical pathology.* Elsevier Health Sciences, 2011:1659-1770.
15. Ross MH, Pawlina W. *Histology: A Text and Atlas : with Correlated Cell and Molecular Biology.* Lippincott Williams & Wilkins, 2010: 862-867.
16. Hole, John W, David Shier, Jackie Butler, and Ricki Lewis. *Hole's Essentials of Human Anatomy & Physiology.* Boston. 1998: 525-526
17. Marieb, E. N. *Essentials of Human Anatomy & Physiology.* (8th Edition). San Francisco, CA: Pearson Benjamin Cummings 2006
18. Puay Hoon Tan , Aysegul A. Sahin *Atlas of Differential Diagnosis in Breast Pathology,*
19. Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU. Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biol Res.* 2017;50(1):33. doi: 10.1186/s40659-017-0140-9.
20. Moore, Dan H. Cathleen T. Moore. "Breast carcinoma etiological factors." *Advances in cancer research* 40 (1983): 189-253.
21. Mansfield C.M. A review of the etiology of breast cancer. *J Natl Med Assoc,* (1993) ; 85(3):217-221
22. Wang, D. Y. et al. "Influence of reproductive history on age at diagnosis of breast cancer and prognosis." *International journal of cancer* 36.4 (1985): 427-432.

23. Schairer, Catherine, et al. "Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk." *Jama* 283.4 (2000): 485-491.
24. Loof-Johanson M, Brudin L, Sundquist M, Thorstenson S, Rudebeck CE . Breastfeeding and prognostic markers in breast cancer. *Breast* 20(2010).: 170–175.
25. Marchbanks PA, McDonald JA, Wilson HG, Folger SG, Mandel MG, Daling JR, Bernstein L, Malone KE, Ursin G, Strom BL, Norman SA, Wingo PA, Burkman RT, Berlin JA, Simon MS, Spirtas R, Weiss LK. Oral contraceptives and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 2002. 346: 2025–2032.
26. Kerr J, Anderson C, Lippman SM. Physical activity, sedentary behaviour, diet, and cancer: an update and emerging new evidence. *Lancet Oncol.* 2017;18(8):e457–e471. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30411-4.
27. Maruti, Sonia S., et al. "A prospective study of age-specific physical activity and premenopausal breast cancer." *Journal of the National Cancer Institute* 100.10 (2008): 728-737.
28. Liu Y et al. *Womens Health (Lond)*. Links between alcohol consumption and breast cancer: a look at the evidence. 2015
29. Active cigarette smoking and risk of breast cancer. Catsburg C et al. *Int J Cancer.* 2015;136(9):2204-2209.
30. Simon, N., and S. M. Silverstone. "Radiation as a cause of breast cancer." *Bulletin of the New York Academy of Medicine* 52.7 (1976): 741.
31. Schwartz GF, Hughes KS, Lynch HT et al. Proceedings of the international consensus conference on breast cancer risk, genetics, & risk management, 2007. *Breast J* 2009;15:4–16.
32. Armes JE1, Egan AJ, Southey MC, Dite GS, McCredie MR, Giles GG, Hopper JL, Venter DJ. The histologic phenotypes of breast carcinoma occurring before age 40 years in women with and without BRCA1 or BRCA2 germline mutations: a population-based study. *Cancer.* 1998 Dec 1;83(11):2335-
33. Parkes A, Arun BK, Litton JK. Systemic Treatment Strategies for Patients with Hereditary Breast Cancer Syndromes. *Oncologist.* 2017; 22(6): 655-666. doi: 10.1634 / theoncologist.2016-0430.
34. Andea, Aleodor A., et al. "Correlation of tumor volume and surface area with lymph node status in patients with multifocal/multicentric breast carcinoma." *Cancer* 100.1 (2004): 20-27.
35. Hartman, Mikael, et al. "Incidence and prognosis of synchronous and metachronous bilateral breast cancer." *Journal of Clinical Oncology* 25.27 (2007): 4210-4216.
36. Wellings, S. R., Hanne M. Jensen, and R. G. Marcum. "An atlas of subgross pathology of the human breast with special reference to possible precancerous lesions." *Journal of the National Cancer Institute* 55.2 (1975): 231-273
37. Jarasch, Ernst-Dieter, et al. "Differential diagnosis of benign epithelial proliferations and carcinomas of the breast using antibodies to cytokeratins." *Human pathology* 19.3 (1988): 276-289.
38. Dabbs, David J., Rohit Bhargava, and Mamatha Chivukula. "Lobular versus ductal breast neoplasms: the diagnostic utility of p120 catenin." *The American journal of surgical pathology* 31.3 (2007): 427-437.
39. Da Silva, Leonard, et al. "Aberrant expression of E-cadherin in lobular carcinomas of the breast." *The American journal of surgical pathology* 32.5 (2008): 773-783.
40. Ridolfi, Ren L., et al. "Medullary carcinoma of the breast. A clinicopathologic study with 10 year follow -up." *Cancer* 40.4 (1977): 1365-1385.
41. Reis -Filho, Jorge S., et al. "Metaplastic breast carcinomas are basal -like tumours." *Histopathology* 49.1 (2006): 10-21.

42. Tang F, Wei B, Tian Z, et al. Invasive mammary carcinoma with neuroendocrine differentiation: histological features and diagnostic challenges. *Histopathology*. 2011; 59 (1): 106–115.
43. Elston, Christopher W., and Ian O. 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* 19.5 (1991): 403-410.
44. Elston, Christopher W., and Ian O. 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* 19.5 (1991): 403-410.
45. Amin MB, Edge S, Greene FL. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. New York: Springer; 2016.
46. Vuong, Darina, et al. "Molecular classification of breast cancer." *Virchows Archiv* 465.1 (2014): 1-14.
47. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, Senn HJ. Panel members. 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. *Ann Oncol*. 2013;24:2206–2223. doi: 10.1093/annonc/mdt303.
48. Beumer I, Witteveen A, Delahaye L, Wehkamp D, Snel M, Dreezen C, Zheng J, Floore A, Brink G, Chan B, Linn S, Bernards R, van 't Veer L, Glas A. Equivalence of MammaPrint array types in clinical trials and diagnostics. *Breast Cancer Res Treat*. 2016;156(2):279-87. doi: 10.1007/s10549-016-3764-5.
49. Ghebeh, H., Mohammed, S., Al-Omair, A., Qattant, A., Lehe, C., Al-Qudaihi, G., ... Dermime, S. (2006). The B7-H1 (PD-L1) T Lymphocyte-Inhibitory Molecule Is Expressed in Breast Cancer Patients with Infiltrating Ductal Carcinoma: Correlation with Important High-Risk Prognostic Factors. *Neoplasia*, 8(3), 190–198. doi:10.1593/neo.05733
50. Topalian SL et al (2012) Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 366(26):2443–2454
51. Francisco LM, Salinas VH, Brown KE, Vanguri VK, Freeman GJ, Kuchroo VK, et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J Exp Med*. 2009; 206: 3015-29. doi:10.1084/jem.20090847.
52. 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
53. Perou, Charles M., et al. "Molecular portraits of human breast tumours." *Nature* 406.6797 (2000): 747-752.
54. Ali, H. R., Glont, S.-E., Blows, F. M., Provenzano, E., Dawson, S.-J., Liu, B. , Caldas C. (2015). PD-L1 protein expression in breast cancer is rare, enriched in basal-like tumours and associated with infiltrating lymphocytes. *Annals of Oncology*, 26(7), 1488–1493. doi:10.1093/annonc/mdv192
55. Karnik, T., Kimler, B. F., Fan, F., & Tawfik, O. (2018). PD-L1 in breast cancer: comparative analysis of 3 different antibodies. *Human Pathology*, 72, 28–34. doi:10.1016/j.humpath.2017.08.010
56. 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
57. Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *The New England journal of medicine*. 2012; 366: 2455-65. doi:10.1056/NEJMoa1200694
 58. Ascierto PA, Simeone E, Sznol M, Fu YX, Melero I. Clinical experiences with anti-CD137 and anti-PD1 therapeutic antibodies. *Seminars in oncology*. 2010; 37: 508-16. doi:10.1053/j.seminoncol.2010.09.008
 59. Soliman H, Khalil F, Antonia S. PD-L1 expression is increased in a subset of basal type breast cancer cells. *PloS one*. 2014; 9: e88557. doi:10.1371/journal.pone.0088557.
 60. Nanda, R., Chow, L. Q. M., Dees, E. C., Berger, R., Gupta, S., Geva, R., Buisseret, L. (2016). Pembrolizumab in Patients With Advanced Triple-Negative Breast Cancer: Phase Ib KEYNOTE-012 Study. *Journal of Clinical Oncology*, 34(21), 2460–2467. doi:10.1200/jco.2015.64.8931
 61. Bates GJ, Fox SB, Han C et al (2006) Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse. *J Clin Oncol* 24:5373–5380
 62. Latchman, Y. E., Liang, S. C., Wu, Y., Chernova, T., Sobel, R. A., Klemm, M., ... Sharpe, A. H. (2004). PD-L1-deficient mice show that PD-L1 on T cells, antigen-presenting cells, and host tissues negatively regulates T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(29), 10691–10696.
 63. Tringler B, Zhuo S, Pilkington G, Torkko KC, Singh M, Lucia MS, Heinz DE, Papkoff J, and Shroyer KR (2005). B7-H4 is highly expressed in ductal and lobular breast cancer. *Clin Cancer Res* 11, 1842 – 1848.
 64. Chang J, Clark GM, Allred DC, Mohsin S, Chamness G, and Elledge RM (2003). Survival of patients with metastatic breast carcinoma: importance of prognostic markers of the primary tumor. *Cancer* 97, 545 – 553.