



**2010-2019 YILLARI ARASINDA İNVAZİV MEME
KARSİNOMLARINDA CD68, CD163, CD11C, CD44
EKSPRESYONLARININ HORMON RESEPTÖR,
PATOLOJİK EVRE VE DİĞER PROGNOSTİK
PARAMETRELER İLE İLİŞKİSİNİN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM
İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
Arş. Gör. Dr. Suna SARI**

**DANIŞMAN
Dr. Öğrt. Üyesi Çiğdem Özdemir**

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

AFYONKARAHİSAR 2021

**T. C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**2010-2019 YILLARI ARASINDA İNVAZİV MEME
KARSİNOMLARINDA CD68, CD163, CD11C, CD44
EKSPRESYONLARININ HORMON RESEPTÖR, PATOLOJİK
EVRE VE DİĞER PROGNOSTİK PARAMETRELER İLE
İLİŞKİSİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM
İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş. Gör. Dr. Suna SARI

DANIŞMAN

Dr.Öğr. Üyesi Çiğdem ÖZDEMİR

**Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri Kurulu Birimince 20.TUS.003 proje
numarası ile desteklenmiştir.**

AFYONKARAHİSAR 2021

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Başlığı: 2010-2019 yılları arasında invaziv meme karsinomlarında CD68, CD163, CD11c, CD44 ekspresyonlarının hormon reseptör, patolojik evre ve diğer prognostik parametreler ile ilişkisinin immünohistokimyasal yöntem ile değerlendirilmesi

Tezi Hazırlayan : Arş. Gör. Dr. Suna SARI
Tez Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem ÖZDEMİR

İş bu çalışma jürimiz tarafından TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

ONAY

DEKAN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bana destek olan ve bilgilerinden sürekli yararlandığım tez danışmanım Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem Özdemir başta olmak üzere, öğrendikçe daha çok sevdiğim patoloji eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan hocalarım Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Çiğdem Tokyol ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm Şeyma Yalçın'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında bana destek olan çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Gözde Kurtuluş, Arş. Gör. Dr. Merve Şahin, Arş. Gör. Dr. Cansu Narin, Uz. Dr. Tuba Yiğit'e ve asistanlık dönemim boyunca her türlü yardımlarını benden esirgemeyen tüm laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederim.

Tez çalışmama verdiği maddi destekten ötürü Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Başkanlığına teşekkür ederim.

Hep yanımda olan, sevgisini ve desteği daima hissettiğim eşsiz insan eşim Dr.Halit Furkan Sarı'ya ve benim için hep en iyisini isteyen, iyi günlerimde benimle sevinen, kötü günlerimde bana her zaman desteklerini esirgemeyen ve her daim yanımda olan aileme çok teşekkür ederim. İyi ki varsınız ve iyiki benimlesiniz.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar ÇİZELGESİ	V
ŞEKİLLER ÇİZERGESİ	VII
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. MEMENİN EMBRİYOLOJİSİ VE GELİŞİMİ.....	3
2.2. MEME ANATOMİSİ.....	5
2.3. MEME HİSTOLOJİSİ.....	7
2.4. MEME KANSERİ.....	11
2.4.1. MEME KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ.....	11
2.4.2. MEME KANSERİ ETYOLOJİSİ.....	11
2.4.3. MEME KANSERİNDE KLİNİK VE RADYOLOJİ.....	12
2.4.4. MEME KANSERİNDE DERECELENDİRME.....	13
2.4.5. MEME KANSERİNDE EVRELEME	15
2.4.6. ER, PR, HER2 VE Kİ67 DURUMU	18
2.4.7. MEME KANSERİNDE MOLEKÜLER SINIFLAMA	20
2.5. MEME KANSERİ HİSTOLOJİK SUBTİPLERİ	22
2.5.1. İNVAZİV MEME KARSİNOMU, ÖZELLİK GÖSTERMEYEN TİP (İNVAZİV DUKTAL KARSİNOM-İDK)	22
2.5.2. İNVAZİV MEME KARSİNOMU, ÖZEL SUBTİPLER	25
2.5.2.1. İnvaziv Lobüler Karsinom.....	25
2.5.2.2. Tübüler Karsinom.....	27
2.5.2.3. Kribriform Karsinom	28

2.5.2.4. Medüller Özellik Gösteren Karsinomlar.....	28
2.5.2.5. Metaplastik Karsinom.....	30
2.5.2.6. Apokrin Diferansiasyon Gösteren Karsinom	30
2.5.2.7. Tükrük Bezi /Deri Adneksiyal Tip Tümörler.....	31
2.5.2.8. Adenoid Kistik Karsinom	31
2.5.2.9. Mukoepidermoid Karsinom	31
2.5.2.10. Polimorföz Karsinom.....	31
2.5.2.11. Müsinöz Karsinom	32
2.5.2.12. Taşlı Yüzük Hücre Diferansiasyonu Gösteren Karsinom	33
2.5.2.13. Nöroendekrin Özellik Gösteren Karsinom.....	33
2.5.2.14. İnvaziv Papiller Karsinom.....	33
2.5.2.15. İnvaziv Mikropapiller Karsinom	34
2.5.2.16. İnflamatuar Karsinom.....	34
2.6. MEME KANSERİ VE TÜMÖR İLİŞKİLİ MAKROFAJLAR.....	35
2.7. MEME KANSERİ VE KANSER KÖK HÜCRESİ.....	38
2.8. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER	40
2.8.1. CD68.....	40
2.8.2. CD163.....	41
2.8.3. CD11c.....	42
2.8.4. CD44.....	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	45
3.1. OLGU SEÇİMİ.....	45
3.2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME	45
3.3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM	46
3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME	49

3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	51
4.BULGULAR.....	52
5.TARTIŞMA.....	69
6.SONUÇLAR.....	87
7.ÖZET	94
8. SUMMARY.....	97
9. KAYNAKLAR	100



TABLÖLAR ÇİZELGESİ

Tablo 1: Modifiye Bloom Richardson Histolojik Derecelendirme Sistemi	14
Tablo 2: AJCC, patolojik TNM evreleme sistemi.....	16
Tablo 3: Meme tümörlerinde TNM evre grupları	17
Tablo 4: Meme kanseri moleküler subtiplerinin immünofenotipik özellikleri	21
Tablo 5: Meme Tümörleri Morfolojik Sınıflaması.....	23
Tablo 6: İmmünohistokimyasal Uygulama Prosedürü.....	46
Tablo 7: Vakaların tanımlayıcı özellikleri.....	54
Tablo 8: Histolojik tanı ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması	58
Tablo 9: Tümör çapı ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması.....	59
Tablo 10: Tümör odak sayısı ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması	60
Tablo 11: Lenf nodu metastazı ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması	61
Tablo 12: Lenfovasküler invazyon ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması	61
Tablo 13: Histolojik derece ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması	62
Tablo 14: Patolojik evre ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması	63
Tablo 15: ER durumu ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması	64
Tablo 16: PR durumu ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması	64
Tablo 17: HER2 skoru ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması	65

Tablo 18: Ki67 indeksi ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması	66
Tablo 19: Moleküler subtipleme ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması	67
Tablo 20: Meme karsinomlarında CD44 ekspresyon oranları	68
Tablo 21: İmmünohistokimyasal boyanma özelliklerinin korelasyon analizi.....	68



ŞEKİLLER ÇİZERGESİ

Şekil 1. Meme anatomisi.....	6
Şekil 2. Memenin fonksiyonel anatomisi	8
Şekil 3. Erişkin kadındaki TDLÜ yapısı	8
Şekil 4: İnvaziv Duktal Karsinom	25
Şekil 5: İnvaziv Lobüler Karsinom.....	26
Şekil 6: Tübüler karsinom	28
Şekil 7: Medüller karsinomlar.....	29
Şekil 8: Müsinöz karsinom	32
Şekil 9. Makrofaj subtipleri: M1 ve M2 makrofajlar	36
Şekil 10. TAM'ların tümör mikroçevresindeki etkileri	38
Şekil 11 : CD44 transmembran glikoproteini yapısı ve görevleri	43
Şekil 12: Tümör mikroçevresindeki makrofajlarda sitoplazmik ve membranöz CD68 pozitifliği	56
Şekil 13: Tümör mikroçevresindeki makrofajlarda sitoplazmik ve membranöz CD163 pozitifliği	56
Şekil 14: Tümör mikroçevresindeki makrofajlarda membranöz CD11c pozitifliği	57
Şekil 15: Tümörde membranöz CD44 pozitifliği	57

1.GİRİŞ

İnvaziv meme karsinomları kadınlarda en sık tanı alan kanser olup, Dünya’da kadın maligniteleri arasında insidansı %23’dür (1). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre de kadınlarda kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserlerinden sonra ikinci sıradadır (2). İnvaziv meme karsinomlarında mortalitede geliştirilmiş tedaviler ile azalma görülse de tanı ve tedavisini iyileştirmek için yeni prognostik faktörler ve terapötik hedeflerin belirlenmesi gerekmektedir (3).

Son zamanlarda yapılan çeşitli çalışmalarda tümör mikroçevresinin ve tümör kök hücrelerinin tedavi ve prognoz açısından önemi bildirilmiştir (4). İnflamatuar hücreler özellikle de makrofajlar meme tümörlerindeki mikroçevrenin temel bileşenlerini oluştururlar (5). Tümör mikroçevresinde bulunan makrofajlara Tümör İlişkili Makrofaj (Tumor Associated Macrophages-TAM) denir. TAM’ların tümör ilerlemesini teşvik ederek kötü prognoz, tümör büyümesi ve tümör metastazı ile ilişkili oldukları görülmüştür (4, 6). TAM’lar çevresel sinyaller sonrasında M1 ve M2 olmak üzere fenotiplere ayrılırlar. M1 makrofajlar, proinflamatuvar ve tümörisidal etkili iken M2 makrofajlar ise antiinflamatuvar sitokinlerin salınımı, doku onarımı, yara iyileşmesi, anjiogenez ve tümör ilerlemesinde rol oynarlar (6, 7). TAM’ları belirlemek için birçok immünohistokimyasal belirteç mevcut olup bunlardan CD68 pan-makrofaj, CD163 M2 makrofaj, CD11c ise M1 makrofaj için kullanılan belirteçlerdendir (4, 8).

Yapılan birçok çalışmada tümörde Kanser Kök Hücrelerinin (Cancer Stem Cell-CSC) sınırsız çoğalma ve tümörojenik potansiyele sahip olduğu, kök hücre benzeri özelliklerinden dolayı tümör büyümesi, ilerlemesi ve metastazında rol aldıkları görülmüştür (3). CD44, neoplastik formasyon ve meme CSC’lerini indükleyen, hücre yapışması, ekstrasellüler matriks

etkileşimleri ve inflamatuvar cevapta rol oynayan bir hücre yüzey reseptörüdür (5,6). CD44'ün ana ligandı hyalüronik asittir (3, 9).

İnvaziv meme karsinomlarında tümör mikroçevresinde yüksek TAM oranının ve tümörde CD44 ekspresyonunun yüksek histolojik derece, hormon reseptör negatifliği, HER2 pozitifliği, nodal metastaz ve zayıf prognoz ile korele oldukları görülmüştür (3-6).

Bizde çalışmamızda bölümümüzde tanı almış meme karsinomlarında tümör mikroçevresindeki CD68, CD163, CD11c ile pozitif TAM hücre ortalamalarının ve tümördeki CSC belirteci olan CD44 ekspresyonunun hormon reseptör durumu, patolojik evre, moleküler sınıflama ve diğer prognostik parametrelerle arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MEMENİN EMBRİYOLOJİSİ VE GELİŞİMİ

Meme bezleri bir tür modifiye ter bezlerinden oluşan epidermal uzantılardır (10). Bu bezler “süt çizgisi” olarak bilinen aksilladan uyluğa kadar devam eden ektodermin kalınlaşma yerinden gelişir (11). Her iki pektoral bölgede birer tane olmak üzere küçük bir alan dışında bu çizgi laktiferöz duktusların birleşmesi sonucunda embriyonel hayatın 9. haftasında geriler (11, 12).

İnsanda meme glandlarının gelişimi intrauterin 5. haftada fetüsün ventral yüzünde bulunan ektodermin kalınlaşma alanından gerçekleşir (13). 7-8.haftalarda globüler yapılar alttaki stromayı invaze etmeye başlar ve “meme diski” ortaya çıkar. 10-12. haftalarda parankimde epitelyal tomurcuklanmalar oluşurlar. 12-13. haftada bu tomurcukların epitelyal-stromal sınırlarında çentiklenmeler oluşur. 13-20 haftalar arasında oluşan dallanmalar sonucunda 15-25 adet solid kordon meydana gelir (13-15). 32. haftadan sonra epitelyal kordonlar kanalize olmaya başlar, dallanır ve duktal-lobüler ünite şekillenmeye başlar (11). Bazal hücrelerin çevresindeki myoepitelyal hücreler ise gestasyonun 23-28. haftalarında oluşmaya başlar (14). 32-40. haftalarda mezenkimal parakrin etkilerle meme lobüllerinin gelişmesi meme dokusunun hacmini büyük ölçüde artırır. Bu arada pigmente meme başı areola kompleksi gelişir (16).

Erken gebelik döneminde fetüste meme bezlerinin gelişimi seks hormonlarından bağımsızdır. 3. trimesterden sonra ise meme bezleri plasentadan salgılanan seks hormonlarının etkisi altındadır (10). Meme dokusu 15. haftada geçici bir süre testesterona duyarlı hale gelir. Testesteronun hedef dokusu mezenkimdir. Meme mezenkimi testesteron

etkisiyle epitelyal kalınlaşma çevresinde yoğunlaşarak duktal alveolar sistemin oluşumunu önler (15). Embriyolojik hayatın başında her iki cinstede aynı olan meme gelişimi ilk trimesterin sonuna doğru östrojen, progesteron ve testesteron etkisiyle farklılaşır. Antiandrojenik etkiler ile veya testesteron reseptör yokluğunda dişi tip meme gelişimi görülür (15). Puberteye kadar meme dokusu kısmen dallanmış laktiferöz duktuslardan oluşur. Ancak asiner diferansiasyon görülmemektedir. Erkek memesinde ise asinus yapısı görülmez (10).

Puberte döneminde kız çocuklarındaki meme dokusu menstrüel siklus dönemine göre değişiklik göstermektedir. Östrojen etkisindeki dönemde duktuslarda uzama, dallanma, duktus epitellerinde kalınlaşma ve periduktal bağ dokusunda artış görülür. Progesteron etkisindeki dönemde ise lobüloasiner yapılarda ve bağ dokusunda artış meydana gelir. Meme diskindeki büyüme ve yağ dokusunundaki artış sonucunda meme bezleri protrüde hale gelir. Erişkin kadında ise meme dokusu terminal duktal lobuler ünitelerden (TDLÜ) oluşur (10). Lobüler yapının karmaşıklığının derecesi kadından kadına hatta aynı kişideki iki meme arasında dahi farklılık gösterir. Doğum yapmamış kadında TDLÜ'de diferensiasyon tamamlanmaz (17, 18). Meme asinuslarında gerçekleşen terminal diferansiasyon sadece gebelikte meydana gelir (10). 35 yaşına kadar menstruasyon ile yeni dallanmalar olur ve 35 yaşında büyüme eğrisi plato yapar (17).

Embriyonel hayatta meme çizgisi bazı alanları gerilemezse buralarda aksesuar meme başları gelişir ve buna "politelia" denir. En sık aksillar bölgede görülür. Eğer tam bir meme bezi gelişirse bu duruma "polimastia" denir (11, 16, 19).

Meme glandları ve dallanan yapılardan oluşan duktuslar süt üretimi ve iletimini sağlamak ile görevlidir. Yetişkinlikte kapsamlı bir yeniden şekillenme ile birlikte meydana gelen hücresel plastisite, karsinogenezise duyarlılığı arttıran bir faktördür. Ayrıca meme gelişimi, sistemik hormonlar tarafından düzenlenen sinyal yollarının öncülüğündeki kompleks epitelyal-mezenkimal etkileşimler yoluyla farklı aşamalarda gerçekleşmektedir. Memenin konjenital ve edinsel hastalıkları, genellikle memenin gelişimi ile ilişkili bir temele sahiptir ve meme patolojisini doğru şekilde öğrenebilmek için bu ayrıntıların bilinmesi gereklidir (10).

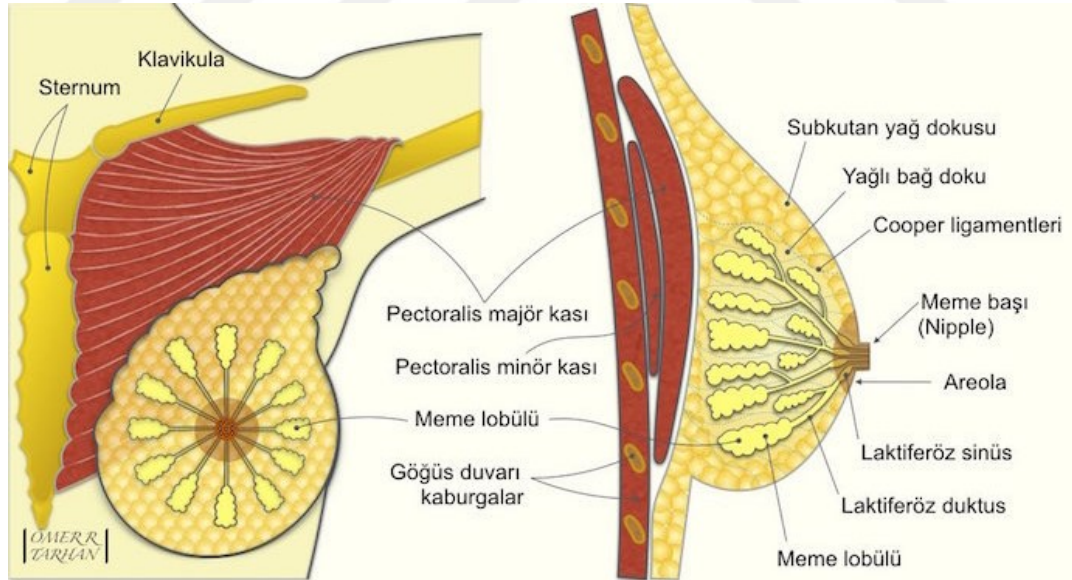
2.2. MEME ANATOMİSİ

Meme bezleri vücudun ön yüzünde, bilateral olarak süt çizgisi üzerinde gelişen ağırlığı oldukça değişken olan yağ dokusundan zengin yapılardır (20). Kostaların ön yüzünde yer alan pektoralis majör kasının üzerinde süperfisial ve derin fasyalar arasında yerleşir. Aksillaya Spence kuyruğu ile uzanım gösterir (20, 21). Vertikal olarak 2–6. kostaların sternum kenarı ile midaksiller çizgi arasında yer alır (20). Sınırları; lateralde serratus anterior kası, inferiorda eksternal oblik kas ve superior rektus kılıfı, medialde sternumdur (21) (Şekil 1).

Memenin kanlanması internal torasik arter, aksiller arter, mammarian internal-eksternal arterler ve interkostal arterler ile sağlanır. Venöz dönüşü de arterlere paralel seyretmekte olan internal torasik ven, aksiller ven, mammarian internal-eksternal venler ve interkostal venler ile sağlanır. Meme dokusunun duyuşal innervasyonu 2-6. interkostal sinirinin kutaneus anterior ve kutaneus lateralis dalları ile supraklaviküler sinirden gelen dallardan sağlanır (20). Memenin lenfatik drenaj ise üç önemli yoldan sağlanır. Drenajın %75'ini sağlayan en önemli yol aksiller lenf nodlarına uzanan lenfatik kanallardır. İkinci yol; akımın yaklaşık %20-25'ini sağlayan, pektoralis majör ve interkostal kasları penetre ederek internal

torasik lenf nodlarına ulaşan yoldur. Kostovertebral arkta yerleşik posterior interkostal lenf nodlarına ulaşan posterior interkostal lenfatikler üçüncü yolu oluşturur. Ayrıca minör lenfatik kanalların supraklavikular, infraklavikular ve intramammarian lenf nodlarına drenajı da görülebilir (21).

Erişkin kadınlarda meme, laktiferöz duktuslarla meme başına açılan, parankim ile ilişkili 15-25 adet farklı boyutlarda lobdan oluşur (22). Bu loblardan çıkan major laktiferöz duktuslar meme başında birbirlerinden bağımsız olarak sonlanır (Şekil 1). Meme başı çok katlı skuamöz epitelle örtülüdür ve prepubertal döneme kadar pigmentasyon göstermez. Menarş ile başlayan dönemde melanin sentezi pigmentasyonu başlatır ve gebelikte devam eder. Meme başını çevreleyen areolaya modifiye sebaseöz glandlar olan Montgomery glandları, Morgagni tüberkülleri olarak adlandırılan yapılara açılır (21).



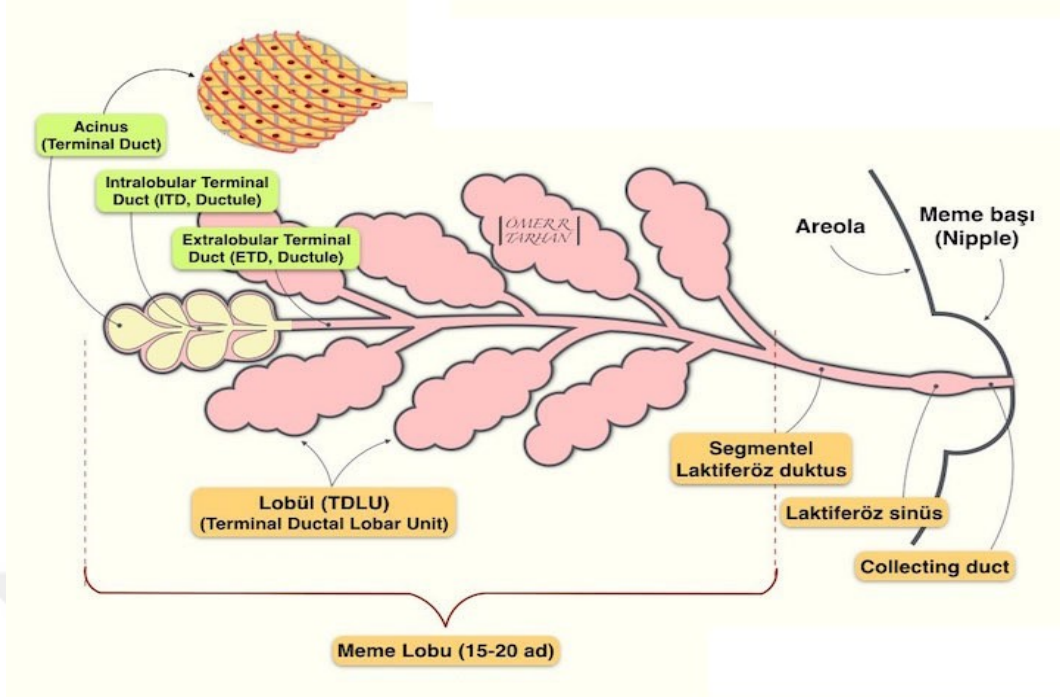
Şekil 1. Meme anatomisi

Memenin fonksiyonel glandüler ve duktal elemanları, fibrotik-yağlı doku içerisine gömülmüş durumdadır. Cooper ligamanları bu fibröz bağ dokusu içeren meme yapısını destekler (20). Kollajenöz stroma/yağlı doku oranı fizyolojik ve hormonal faktörlerden etkilenir. Bu durum yaşa ve hormonal duruma bağlı meme hacmindeki farklılıkları açıklamaktadır (21).

Meme anatomisi bilgisi, güvenli cerrahi operasyonlar planlamak ve istenmeyen komplikasyonlardan kaçınmak için hayati öneme sahiptir. Memedeki anahtar anatomik yapılar içerisinde deri, yağ dokusu, fasya tabakaları, Cooper ligamentleri, fibroglandüler dokular, lenfatikler ve nörovasküler yapılar sayılabilir. Erkeklerde, meme parankimi genelde sadece yağ dokudan oluşur ve fibroglandüler doku içermez. Kadınlarda memede fibroglandüler doku miktarı yaşa bağımlı olarak değişkenlik gösterir ve çoğu kadında postmenopozal dönemde yağ doku hakimdir. Kontrastlı meme manyetik rezonans (MR) ve lenfosintigrafi, memenin vasküler yapılarını ortaya koymayı sağlar ve meme için cerrahi girişimlere rehberlik eder (23).

2.3. MEME HİSTOLOJİSİ

Meme dokusu ana işlevsel birimi TDLÜ olmasına rağmen meme hacminin çoğunluğunu yağ dokusu oluşturur. TDLÜ'deki küçük glandüler yapılar olan asinüsler birleşerek lobülleri oluşturur. Lobül ve terminal duktusların oluşturduğu TDLÜ memenin sekretuar görevini görür. Terminal duktuslar subsegmental (ekstralobüler) duktuslara, subsegmental duktuslar segmental duktuslara ve segmental duktuslar da kollektör (laktiferöz) duktuslara dönüşerek meme başına açılırlar (11) (Şekil 2).



Şekil 2. Memenin fonksiyonel anatomisi



Şekil 3. Erişkin kadındaki TDLÜ yapısı; ekstralobüler duktus (ELD), terminal duktus (TD), lobülüs (L) ve asinustan oluşur.

Erişkin kadınlarda meme dokusu; iki tip epitelyal ve iki tip stromal hücre içermektedir. Lobül yapıları arasında lobülleri birbirinden ayıran yağ ve konnektif dokudan oluşan interlobüler stroma ve lobül içinde tek tek alveoler tomurcuklar arasında konnektif dokuyu çevreleyen intralobüler stroma bulunur. Duktus lümeni ve asinüslerinin iç yüzünü döşeyen luminal hücreler ile luminal hücrelerin hemen altında bulunan myoepitel hücreleri TDLÜ'yi döşeyen iki ana hücre tipidir (10-17). Bu iki hücre tipi birbirlerinden farklı ultrastrüktürel ve immünohistokimyasal özelliklere sahiptir (10).

Luminal hücreler, histolojik olarak küboidal ya da kolumnar özellikte olup TDLÜ'de süt üretimini yaparlar. Hücrelerin nükleusları küçük boyutta, oval ya da yuvarlak şekilde; sitoplazmaları eozinofilik görünümündedir. İmmünohistokimyasal olarak genellikle sitokeratin (cytokeratin: CK) 7, 8, 18 ve 19 dahil çeşitli düşük molekül ağırlıklı keratinler ile boyanırlar. Luminal epitel hücreleri östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) ile diffüz bir boyanma göstermezler. Bazı hücreler pozitif iken bazıları negatiftir. Bu boyanma paterni normal meme dokusunda görülen boyanma şeklidir. Ayrıca kazein, α -laktalbumin, "gross cystic disease fluid protein-15" (GCDFP-15), mammoglobin, c-kit ile de boyanabilirler (22).

Myoepitelyal hücreler luminal hücreler ile bazal membran arasında yerleşen, matriks üretimi yapan, kontraksiyon yeteneğine sahip hücrelerdir. Bu hücreler histolojik olarak içsi görünümde, küçük yuvarlak nükleuslu ve dens, eozinofilik, şeffaf sitoplazmalıdır (21, 22). İmmünohistokimyasal olarak CK5/6, CK14, CK17 ile boyanırlar. Ayrıca p63 ile nükleer, SMA (smooth muscle actin) ile sitoplazmik boyanmaları da tanıda yardımcı özellikleridir. S-100, kalponin, CD10 ve p75 ile de boyanabilirler (22). Meme duktus ve asinüslerindeki ikili epitel tabakasını

çevreleyen, epitel ile çevre stromayı birbirinden ayıran bazal membran vardır. Bu yapı tip IV kollajen ve lamininden oluşur (24).

TDLÜ'de bulunan üçüncü hücre tipi de dağılmış olarak bulunan, luminal hücreler ve myoepitelyal hücrelere dönüşüm kapasitesine sahip progenitör hücrelerdir. Bu hücreler CK5 ve CK14 eksprese ederler. Kendi kendine yenileme ve farklı hücre tiplerine dönüşebilme gibi kök hücre özelliklerine sahip bu hücreler hem meme gelişiminde hem de meme karsinogenezinde rol oynar (21).

Meme başı ve areola çok katlı yassı epitel ile kaplı olup kıl folikülleri ve çok sayıda sebase glandlar içerir (24). Meme başına kişiden kişiye değişmekle birlikte 5-20 adet laktiferöz sinüs açılır (10). Montgomery tüberkülleri, sayıları sıklıkla 10 ila 20 arasında olan, mikroskopik olarak laktiferöz duktus ile ilişkili sebase aparatından oluşan areolar kabarıklıklardır. Gebelik durumunda belirginleşirler (23). Meme başında yoğun bir stroma ve stroma içerisinde erektil düz kaslar mevcuttur (10,22). Meme başı epitelinde Toker hücreleri denilen şeffaf hücreler de bulunur ve bu hücreler histopatolojik olarak Paget hücreleriyle karışabilirler. İmmunohistokimyasal olarak Toker hücreleri, CK7 ve epitelial membran antijeni (EMA) ile pozitif boyanırlarken CD138 ve p53 ile negatif boyanırlar (25).

Meme dokusu, hormonal uyarı ve benzeri birçok etkiye duyarlı bir organdır. Puberte öncesi, gebelik, laktasyon dönemi ve postmenapozal dönemde farklılıklar gösterir. Puberte öncesi meme dokusu, immatür nitelikte olup selüler proliferasyon epitelial hücrelere bağlıdır. Gebelik ve laktasyon döneminde tüm hücre tiplerinde proliferasyonun arttığı gözlenir. Postmenapozal dönemde ise involüsyon TDLÜ'de daha belirgin olmak üzere tüm memede meydana gelir (24).

Erişkin erkeklerde meme dokusu kollajen ve adipöz doku içinde dallanan duktuslardan oluşur ve lobül yapısı içermez. Duktuslar alçak küboidal epitel ile döşelidir (11).

2.4. MEME KANSERİ

2.4.1. MEME KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ

Meme kanserleri kadınlarda en sık görülen kanser türü olup, kadınlarda kanserlerin yaklaşık olarak %23'ünü oluşturmaktadır. Gelişmiş ülkelerde bu oran %27'lere kadar çıkmaktadır (2). Kansere bağlı ölümlerde ise dünyada akciğer kanserlerinden sonra ikinci sıradadır (26).

Birçok epitelyal tümörde olduğu gibi meme kanseri insidansı da yaşla artar. Avusturalya, Kuzey Amerika ve Avrupa gibi gelişmiş ülkelerde meme kanseri insidansı yüksek iken Güney Afrika, Güney ve Doğu Asya gibi bölgelerde meme kanseri insidansı daha düşüktür. Ülkeler arası göç durumunda ise birkaç nesil sonra meme kanseri insidansının ev sahibi olan ülkenin riskine benzer olduğu görülmüştür. Bu durum meme kanseri insidansında çevresel faktörlerin büyük oranda etkili olduğunu göstermektedir (2). Türkiye'de ise meme kanseri insidansı %24,9 oranında olup kadınlarda kansere bağlı ölümlerin en sık sebebinin oluşturmaktadır. Bu verilere bakıldığında kabaca Türkiye'de kadınlarda tanı konulan her 4 kanserden 1'i meme kanseridir (27). Ülkemizde meme kanserinin ortalama yaşı 51 iken Kuzey Amerika'da 61'dir (28, 29).

2.4.2. MEME KANSERİ ETYOLOJİSİ

Meme kanseri etyolojisi multifaktöriyel olup, genetik, diyet, doğurganlık, hormonal dengesizlik gibi pek çok faktöre bağlıdır. Yapılan

son çalışmalar ile meme kanserinin hayvansal yağlar ve proteinden zengin, yüksek kalorili diyet ve fiziksel egzersizin az olduğu " batılı yaşam tarzı" ile arttığı gösterilmiştir (2).

Meme kanserinde ana risk faktörleri kadın cinsiyet ve ileri yaştır (2, 30). Diğer kanserlere oranla meme kanserinde aile öyküsü ciddi bir risk faktörüdür. Ailesel yatkınlığa sebep olan mutasyonların başında BRCA1 ve BRCA2 gelmektedir (2). Meme karsinomunda cinsiyet, ileri yaş, aile öyküsü ve genetik dışında tanımlanan risk faktörleri; erken menarş, geç menapoz, ilk doğumun 30 yaş sonrası olması veya doğum yapmamış olmak, emzirme öyküsü olmaması, ekzojen hormon almak, uzun süreli oral kontraseptif kullanmak, obezite, diyet, alkol, sigara, düzenli egzersiz yapmıyor olmak, meme bölgesine radyasyon almaktır. Ancak bu faktörlerin daha düşük risk taşıdığı görülmüştür (2, 31).

2.4.3. MEME KANSERİNDE KLİNİK VE RADYOLOJİ

Ele gelen kitle, meme kanserinin en yaygın belirtisidir. Daha az yaygın belirtiler ise meme derisinde retraksiyon, meme başının ters dönmesi, meme başı akıntısı, meme boyutunun artması ve meme şeklindeki değişikliktir. Tüm bu semptomlar benign meme hastalıklarında da görülebilir. Bu nedenle kesin tanı için görüntüleme ve iğne biyopsisi veya ince iğne aspirasyon sitolojisi ile birlikte değerlendirmek gerekir. Görüntüleme ile kist gibi kesin olarak benign bir hastalık tanısı konulmadıkça kesin tanı için iğne biyopsisi yapılmalıdır. Meme karsinomlarında tanı fizik muayene, radyolojik görüntüleme ve histolojik örnekleme ile birlikte multidisipliner konulur (2).

Görüntüleme yöntemlerinden mamografi 40 yaş üstü kadınlarda meme kanserini taramada temel radyolojik yöntemdir. Meme kanseri

mamografide sıklıkla mikrokalsifikasyon içeren, kötü sınırlı, spiküler kontürlü kitle olarak görülür. 40 yaş altı kadınlarda mamografinin sensitivitesi düşük olduğu için kullanımı sınırlıdır. Bu yaş grubundaki kadınlarda taramada ultrason daha faydalıdır. MR, meme kanserini taramada en sensitif yöntemdir. Ancak kullanımı maliyeti yüksek olduğu için çok yüksek riskli kadınlar ve kesin meme kanseri tanısı alan hastalarda tedavi öncesi lokal evreleme ile sınırlandırılmıştır (2). Görüntüleme yöntemleri tedavi öncesinde her iki memeyi değerlendirmek için her zaman kullanılmalıdır. Mamografi ve ultrason meme kanserinin multifokallitesini, boyutunu, lokalizasyonunu ve tedavi öncesi durumunu değerlendirmede bizlere büyük ölçüde yardımcı olmaktadır. Meme kanserlerinin birçoğunda cerrahi biyopsi gerekmeksizin ultrason eşliğinde iğne biyopsisi yapılarak tanı konulabilmektedir. Ultrason aynı zamanda aksiler lenf nodu durumunu değerlendirmek amacıyla da rutin olarak kullanılmaktadır (2).

Meme kanserinin yerleşim yeri genellikle ilişkili olduğu meme kadranı ile belirtilir. Meme kanserlerinin yaklaşık %50'si üst dış kadran, %15'i üst iç kadran, %10'u alt dış kadran, %5'i alt iç kadran ve %17'si santral bölgede yerleşirken %3'ünün memede diffüz yerleşim gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca meme kanserleri multisentrik, multifokal ve bilateral de görülebilirler. Bu durum hastalarda sağ kalım süresini azaltır ve kötü prognostik bir faktördür (32).

2.4.4. MEME KANSERİNDE DERECELENDİRME

İnvaziv meme karsinomları tübül/gland formasyonu, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısı incelenerek derecelendirilir. Histolojik derecenin değerlendirilmesi Patey & Scarff ve Bloom & Richardson tarafından belirlenen orjinal metotların Elston & Ellis tarafından modifiye

edilmesi sonrasında “Modifiye Bloom Richardson Histolojik Derecelendirme Sistemi” ile daha objektif hale gelmiştir (Tablo 1). Bu değişikliklerin benimsenmesi sonrasında histolojik derece ile sağ kalım arasında önemli bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Histolojik derece güçlü bir prognostik faktördür ve patoloji raporlarında mutlaka belirtilmelidir (2).

Tablo 1: Modifiye Bloom Richardson Histolojik Derecelendirme Sistemi

Tübül Formasyonu (Belirgin santral lümen oluşturan glandüler yapılar değerlendirilmeli)				Skor
- Tümörün %75'inden fazla				1
- Tümörün %10-75				2
- Tümörün %10'dan az				3
Nükleer pleomorfizm (Normal meme epitel boyutu ve şekli ile karşılaştırılmalı)				
- Düzgün sınırlı, küçük, uniform kromatinli nükleus				1
- Orta derecede boyut artışı ve şekil farklılığı, nükleolü seçilebilen veziküler nükleus				2
- Belirgin boyut artışı, şekil farklılığı, belirgin ve sıklıkla birden fazla nükleollü nükleus				3
Mikroskop saha çapı ve saha alanı	0,44-0,152	0,59-0,274	0,63-0,312	
Mitoz sayısı (tümör periferinde, birbiri ile devamlılık gösteren 10 BBA da sayılmalıdır. Mitoz sayısına göre verilecek skor mikroskobun saha alanına bağlıdır)	0-5	0-9	0-11	1
	6-10	10-19	12-22	2
	>11	>20	>23	3

Derecelendirme metodu: Bu derecelendirmede üç tümör özelliği değerlendirilir. Bu özellikler glandüler farklılaşmanın bir göstergesi olarak tübül oluşumu, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısıdır. Glandüler oluşum tüm tümör üzerinden, nükleer pleomorfizm en kötü pleomorfizm gösteren alandan, mitoz sayımı ise en çok proliferasyon gösteren alandan değerlendirilir. Her bir özellik için 1-3 arası skor verilir (Tablo 1). Toplamda en az 3 en fazla 9 olan bir skor elde edilir. Toplam skora göre tümörün histolojik derecesi belirlenir;

- 3-5 skor: Derece 1 veya iyi diferansiye
- 6-7 skor: Derece 2 veya orta diferansiye
- 8-9 skor: Derece 3 veya kötü diferansiye

2.4.5. MEME KANSERİNDE EVRELEME

Meme karsinomlarını evrelemede en yaygın kullanılan sistem American Joint Committee on Cancer/Union for International Cancer Control (AJCC/UICC) tarafından yayınlanan TNM sistemidir (2). TNM sisteminin 2018 yılında revize edilmiş 8. baskısında açıklanan en güncel kriterler Tablo 2’de tanımlanmıştır (33). Bu sistemde T primer bölgedeki tümörün boyutunu, N bölgesel lenf nodlarının durumunu ve M uzak metastaz varlığını/yokluğunu temsil etmektedir. 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 3) (2, 33). Hastalar için bu evreleme lokal hastalığın kontrolü ile ilgili karar vermede ve sistemik tedavinin değerinin belirlenmesinde önemlidir.

Meme kanserli hastalarda evrelemede hem klinik hem patolojik evreleme sistemi (TNM) kullanılır. Klinik evreleme fiziksel muayene ve görüntüleme yöntemlerine dayalıyken, patolojik evreleme cerrahi olarak çıkarılmış örneklerin makroskopik ve mikroskopik incelemesine dayalıdır. T, hastaların çoğunda tümörün boyutuna dayanmakta olup birden fazla odak varlığında en büyük odağın boyutu dikkate alınır. En iyi T kategorisi için makroskopik, mikroskopik ve görüntüleme yöntemlerinin korelasyonu gerekir. M sınıflandırması temel olarak radyolojik yöntemlerle belirlenir ve bazı gereklilik halinde biyopsi ile doğrulanır (2). Patoloji raporlarında değerlendirdiğimiz materyallerden elde ettiğimiz bulgularla evre “pTNM” şeklinde belirtilmelidir.

Tablo 2: AJCC, patolojik TNM evreleme sistemi

T- Primer tümör
pTis_ Karsinoma in situ
pT1mi_ 1 mm ve daha küçük tümör
pT1_ 20 mm veya daha küçük çapta tümör
pT2_ 20 mm'den büyük, 50 mm veya daha küçük olan tümör
pT3_ 50 mm'den büyük tümör
pT4_ Direkt göğüs duvarı ve/veya deri invazyonu gösteren herhangi bir çapta tümör
N- Bölgesel lenf nodları
pNx_ Rejyonel lenf nodları değerlendirilemiyor.
pN0_ Rejyonel lenf nodu metastazı yok.
pN1mi_ Mikrometastaz (0,2 mm'den büyük ve/ya 200 hücreden fazla, 2 mm'den küçük)
pN1_ 1-3 arası aksiller lenf nodu metastazı (en azından bir tanesi 2 mm'den büyük olacak şekilde) ve/veya ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı
pN2_ 4-9 arası aksiller lenf nodu metastazı (en azından bir tanesi 2 mm'den büyük olacak şekilde)
pN3_ 10 ve üzeri aksiller lenf nodu metastazı (en azından bir tanesi 2 mm'den büyük olacak şekilde) ve/veya infraklavikuler/supraklavikuler lenf nodu metastazı
M- Uzak metastaz
pM0_ Uzak metastaz yok
pM1_ Uzak metastaz mevcut (2 mm'den büyük olacak şekilde)

Tablo 3: Meme tümörlerinde TNM evre grupları (33)

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
Evre IIA	T2	N0	M0
Evre IIB	T2	N1	M0
Evre IIIA	T3	N0	M0
	T0, T1, T2	N2	M0
Evre IIIA	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

Lenf nodu durumu

Aksiler lenf nodu durumu meme karsinomları için en önemli prognostik faktördür. Hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım, her ilave metastatik lenf nodu ile azalır. Negatif lenf nodu durumu iyi prognostik faktör olmasına rağmen hastaların %10-30'unda daha sonra uzak metastaz gelişmektedir.

Sentinel lenf nodu biyopsisi çalışmak pozitif ve negatif lenf nodu durumunu belirlemede yararı kanıtlanmış bir tekniktir. Sentinel lenf nodu pozitif olduğunda aksiler lenf nodu diseksiyonu yapılırken, negatif olduğunda aksiler lenf nodu diseksiyonu gerekli görülmemektedir (2, 24).

Lenfovasküler invazyon

Lenfovasküler invazyon (LVİ) tümör çevresindeki küçük damarlarda veya tümörden uzak büyük damarlarda tümör kitlesinin bulunmasıdır. LVİ çoğunlukla dokunun Hematoksilen & Eozin (H&E) boyalı kesitlerinde değerlendirilir ve retraksiyon artefaktından ayırmak gerekir. Kararsız kalınan durumlarda vasküler ve lenfatik endotelyal belirteçleri ile immünohistokimyasal boyamalar yapılabilir (24). LVİ, lenf nodu metastazıyla ilişkili olmasına rağmen, aynı zamanda nüks için bağımsız bir prognostik faktördür ve klinik karar vermede yardımcı olmaktadır. Hem LVİ hem nodal metastazın birlikte varlığı, tek başlarına olduğundan daha kötü bir prognoza neden olur. Dermisteki LVİ, lokal rekürrens ve metastazlarla daha sık ilişkilidir. Yaygın dermal LVİ varlığı inflamatuvar karsinom karakteristiğinde deri değişikliklerine neden olabilir (2).

2.4.6. ER, PR, HER2 VE Kİ67 DURUMU

a. ER ve PR Durumu

Meme karsinomlarında ER/PR zayıf prognostik parametre ve endokrin tedaviye yanıtı belirleyen en güçlü prediktör faktördür (24). Bu reseptörlerin durumu birçok klinik çalışmada da gösterildiği gibi tamoksifen gibi hormonal tedavilerde güçlü bir öngörücü faktördür. Bu nedenle rutin olarak değerlendirilir ve patoloji raporlarında yer alırlar (2).

Güncel olarak ER/PR durumu sıklıkla parafin bloklarda immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilir. ER/PR skorlanmasında sıklıkla American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists (ASCO/CAP) klavuzu önerisi olan sistem kullanılmaktadır. Bu sistem ER/PR'nin nükleer boyanan tümör hücre yüzdesi ve boyanma şiddetini (zayıf, orta, kuvvetli) belirten iki parametrenin kombinasyonundan

oluşur. Nükleer boyanma gösteren tümör hücre yüzdesinin >%1 olması durumunda ER ve PR pozitif kabul edilir (24).

Meme kanserlerinin yaklaşık %80'i ER eksprese ederken, yaklaşık %60'ı PR eksprese eder. Bu ekspresyon değerleri ile hormonal tedaviye yanıt arasında önemli bir ilişki mevcuttur. ER ve PR ekspresyonlarının farklı kombinasyonlarından 4 farklı fenotip meydana gelir. Her kombinasyon hormonal tedaviye farklı seviyelerde yanıt verir. ER pozitif / PR pozitif fenotip en sık (%70) olan ve hormonal tedaviye en iyi yanıt verendir. ER negatif / PR negatif fenotipi ikinci en sık (%25) olan ve hormonal tedaviye cevapsız olanıdır. Diğer iki uyumsuz fenotip ise hormonal tedaviye ara yanıt ile ilişkilidir (2).

b. HER2 Durumu

Meme karsinomu materyallerinde HER2 overekspresyonu ve/veya gen amplifikasyonu analizi günümüzde rutin değerlendirmelerimizdendir. Hem lenf nodu pozitif hem de lenf nodu negatif vakalar için HER2 durumu prognostik bir parametredir. Ayrıca kemoterapi ve anti-endokrin ajanlara cevabı belirleyen prediktif bir faktördür. Bununla beraber HER2 durumu tespitinin başlıca klinik nedeni transtuzumab ve lapatinib gibi HER2 hedefli tedavi ajanlarını kullanılabilecek hastaların seçimidir (2, 24). Yapılan çalışmalarda meme kanserlerinin yaklaşık %15'inin HER2 overekspresyonu gösterdiği görülmüştür (2).

Günlük klinik uygulamada, immünohistokimya ile HER2 overekspresyonu ve florasan in situ hibridizasyon (FISH) ile HER2 gen amplifikasyonu en sık kullanılan yöntemlerdir. HER2 testi ASCO/CAP klavuzuna göre değerlendirilmektedir. Bu klavuza göre immünohistokimyasal yöntem ile tümör hücrelerinin en az %30'unda,

güçlü ve çepeçevre membranöz boyanma varlığı ve FISH yönteminde HER2/CEP17 oranının 2,2'den fazla olması yada tek prop sistemine göre >6 HER2 sinyal/hücre oranı varlığı durumunda HER2 pozitif olarak değerlendirilir (24).

c. KI67 indeksi

Proliferasyon hızı yıllardır incelenmiş ve defalarca meme kanserinde önemli bir prognostik faktör olduğu belirtilmiştir. Bunu belirlemede ise en çok KI67 antijeninin immünohistokimyasal boyaması kullanılmaktadır. Rutin kullanımda yöntem ve değerlendirme farklılıkları mevcuttur. Ortak bir sistem kullanılsa da en sık kullanılan yöntem nükleer boyanan tümör hücrelerinin yüzdesini vermektir (24).

2.4.7. MEME KANSERİNDE MOLEKÜLER SINIFLAMA

Kanser dokusuna uygulanan her türlü moleküler analitik yöntem, kanserin prognostik ve prediktif faktörlerini belirlememize yardımcıdır. Bu çalışmaların gelişmesi ve kullanımı, meme kanserinde morfolojiden çok tümör biyolojisi temeline dayanan sınıflandırma sisteminin geliştirilmesine neden olmuştur. Bu yöntemlerle yapılan çalışmalarda, meme kanserlerinin hem klinik, hem moleküler olarak heterojen ve prognozu belirleyen çok farklı gen ekspresyon paternlerini içeren kompleks bir hastalık olduğunu desteklemiştir (34).

Meme kanserinde “Moleküler Sınıflama” terminolojisi, ilk olarak 2000 yılında Perou ve Sorlie tarafından yapılan gen ekspresyon farklılıklarını gösteren kapsamlı bir çalışma ile önerilmiştir (35). Klinik özellikler, tedaviye yanıt, yaşam süresi ve metastatik paternlerin moleküler subtipi

göre değiştiğinin gösterilmesi moleküler sınıflamanın değerini daha da artırmıştır (24, 34-36).

Bugün için, geçerli moleküler sınıflama ile meme kanserleri, ilk olarak luminal A, luminal B, HER-2 overeksprese, bazal benzeri (triple negatif) ve normal meme benzeri olmak üzere beş ana gruba ayrılır (Tablo 4). Bu şekilde tanımlanan subtiplerin daha ileri boyutta gruplandırılması da mümkündür (34).

Tablo 4: Meme kanseri moleküler subtiplerinin immnfenotipik zellikleri

İntrensek Subtip	Klinikopatolojik Tanım
Luminal A	Luminal A ER ve/veya PR pozitif HER2 negatif Kİ67 düşük (<%14)
Luminal B	Luminal B (HER2 negatif) ER ve/veya PR pozitif HER2 negatif Kİ67 yüksek (>%15)
	Luminal B (HER2 pozitif) ER ve/veya PR pozitif HER2 pozitif Kİ67 düşük veya yüksek
HER2 overeksprese	HER2 pozitif (non-luminal) HER2 overeksprese ER ve/veya PR negatif
Bazal benzeri (Triple Negatif)	Bazal benzeri HER2 negatif ER ve/veya PR negatif

Luminal A ve B subtipleri hormon reseptörleri ile ilişkili olup meme kanserlerinin %70'ini oluşturur. Endokrin tedaviden genellikle fayda grrleri ve iyi prognozludurlar. HER2 overeksprese subtipi meme kanserlerinin %15'ini oluşturur. Bu tipler histolojik olarak yüksek histolojik

derece ve lenf nodu metastazı ile ilişkili olup kötü prognozludurlar. Bazal benzeri (Triple negatif) subtip ise meme kanserlerinin %15'ini oluşturur. Bu tümörler yüksek histolojik derece, solid yapılanma, tübül yapısı yapmama, yüksek mitoz, stromada lenfositik infiltrasyon, itici tarzda büyüme, tümör nekrozu ile ilişkilidirler. ER, PR ve HER2 negatif, bazal sitokeratinler, EGFR ve diğer bazal ilişkili belirteçler negatiftir. Oldukça kötü prognozludurlar (24). Normal benzeri subtipin tanımlanmasının önemi ve beraberinde getireceği sonuçlar belirsizdir. Çünkü bu grup, normal doku karşın tümör hücresi içeriği az olan örnekleri temsil ediyor gibi görünmektedir ve bu grup için hala çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır (34).

2.5. MEME KANSERİ HİSTOLOJİK SUBTİPLERİ

DSÖ memenin invaziv epitelyal karsinomlarını histolojik morfolojilerine göre sınıflandırılmıştır. Bu sınıflamaya göre en büyük grubu oluşturan invaziv duktal karsinom, “invasive carcinoma of no special type (NST)” olarak tanımlanırken, diğer tüm invaziv epitelyal karsinomlar “özel subtipler” başlığı altında toplanmıştır (Tablo 5) (2). Burada sadece memenin invaziv epitelyal tümörleri hakkında bilgi verilecektir.

2.5.1. İNVAZİV MEME KARSİNOMU, ÖZELLİK GÖSTERMEYEN TİP (İNVAZİV DUKTAL KARSİNOM-İDK)

Daha çok pratikte invaziv duktal karsinom (İDK) olarak bilinen bu grup invaziv meme kanserlerinin en sık tipidir. Yayınlanan serilerde %40-75 arasında sıklığı değişmektedir (2, 24). Bu tümörler patolojik özellikleri ve klinik gidişlerine bakıldığında oldukça heterojen bir gruptur. Histolojik olarak herhangi bir spesifik tümör tipini düşündürecek yeterli bulgu içermezler. Bu neden DSÖ sınıflaması bu tümörleri “invaziv meme karsinomu, özellik göstermeyen tip” olarak tanımlar (24).

Tablo 5: Meme Tümörleri Morfolojik Sınıflaması

İNVAZİV MEME KARSİNOMU, ÖZELLİK GÖSTERMEYEN TİP (İNVAZİV DUKTAL KARSİNOM-İDK)
İNVAZİV MEME KARSİNOMU, ÖZEL SUBTİPLER ❖ İnvaziv Lobüler Karsinom ❖ Tübüler Karsinom ❖ Kribriform Karsinom ❖ Medüller Özellik Gösteren Karsinomlar ❖ Metaplastik Karsinom ❖ Apokrin Diferansiasyon Gösteren Karsinomlar ❖ Tükrük Bezi/Deri eki tipi Tümörler ❖ Adenoid Kistik Karsinom ❖ Mukoepidermoid Karsinom ❖ Polimorföz Karsinom ❖ Müsinöz karsinom ❖ Taşlı Yüzük Hücreli Diferansiasyon Gösteren Karsinomlar ❖ Nöroendokrin Özellik Gösteren Karsinomlar ❖ İnvaziv Papiiller Karsinom ❖ İnvaziv Mikropapiller Karsinom ❖ İnflamatuvar Karsinom ❖ Bilateral Meme Karsinomu ❖ Nadir Görülen Meme Karsinomları ▪ Sekretuar Karsinom ▪ Onkositik Karsinom ▪ Sebace Karsinom ▪ Lipidden Zengin Karsinom ▪ Glikojenden Zengin Şeffaf Hücreli Karsinom ▪ Asinik Hücreli Karsinom
LOBÜLER NEOPLAZİLER
İNTRADUKTAL PROLİFERATİF LEZYONLAR
MİKROİNVAZİV KARSİNOM
İNTRADUKTAL PAPİLLER KARSİNOM
BENİGN EPİTELYAL PROLİFERASYONLAR
MYOEPİTELYAL VE EPİTELYAL-MYOEPİTALYAL LEZYONLAR
MEZENKİMAL TÜMÖRLER
FİBROEPİTELYAL TÜMÖRLER
LENFOİD VE HEMATOEPOTİK TÜMÖRLER
MEME BAŞI TÜMÖRLERİ
METASTATİK TÜMÖRLER
ERKEK MEMESİNİN TÜMÖRLERİ

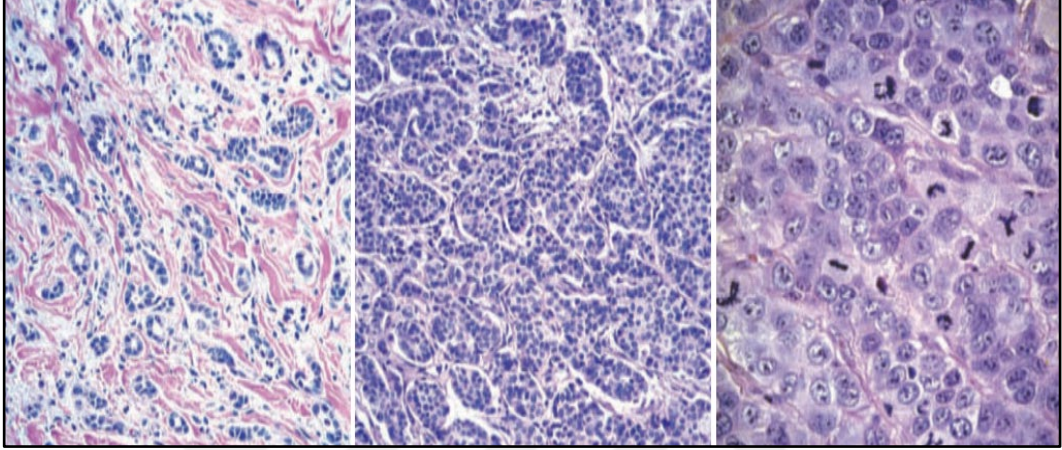
Daha çok palpe edilebilen kitle ve/veya mammografik olarak mikrokalsifikasyonlu veya mikrokalsifikasyonsuz dikensi kitle olarak bulgu verirler. Makroskopik olarak değişen boyutlarda klasik skiröz karsinomlardır. Sert, kesit yüzü gri beyazdan ten rengine kadar

değişebilen renkte, kumsu görünümde, yıldızsı uzantılı ve çoğunlukla düzensiz sınırlı lezyonlardır (24).

İDK'nın mikroskopik görünümü büyüme paterni, sitolojik özellikleri, mitotik aktivitesi, stromal desmoplazisi ve duktal karsinoma in situ (DKİS) ile ilişkisi dikkate alındığında oldukça heterojendir. Tümör hücreleri iyi oluşmuş glandüler yapılar, kordonlar, kümeler, trabeküller, sinsityal yapılar ve solid adalar şeklinde bulunabilirler. Bu hücreler bol ve eozinofilik sitoplazmalı olabilirler. Nükleusları düzenli, uniform veya belirgin olabilir iken genellikle birden çok sayıda nükleole sahip ve oldukça pleomorfik görünümde olabilirler. Mitotik aktivite hemen hemen hiç olmayabilir veya oldukça yoğun olabilir. Olguların yaklaşık %80'inde ilişkili DKİS odakları olacaktır ve DKİS yüzdesi oldukça değişkendir. Stromal desmoplazi bazı olgularda minimal iken bazı olgularda baskın komponenti oluşturur. Tümörlerde nekroz ve sekonder kist gelişimi izlenebilir. Stromal lenfoplazmositer infiltrasyon hiç olmayabilir veya tümör hücrelerini maskeleyecek düzeyde yoğun olabilir (Şekil 4). Tümör hücreleri düşük molekül ağırlıklı sitokeratinler (özellikle CK8, 18 ve 19) ve EMA ile pozitif boyanma özelliğine sahiptir. ER ve PR pozitifliği vakaların %70-80'inde görülürken, HER2 pozitifliği ise %15'inde görülür. İDK karakteristik olarak E-kadherin ekspresyonu gösterir ve meme ilişkili iki diğer önemli belirteç olan GCDFP-15 ve mammaglobin ile de boyanırlar (2, 24).

Bir tümörde İDK tanısı verebilmek için tümörün %50'den fazlasının özellik göstermeyen tip olması gerekmektedir. Eğer bu komponent %10-49 arasında ve eşlik eden başka bir subtip ile beraber ise "Mikst Karsinom" olarak adlandırılır. Ayrıca İDK'nın nadir görülen pleomorfik karsinom, osteoklast benzeri stromal dev hücreler içeren karsinom, koryokarsinomatöz özellik gösteren karsinom ve melanositik özellikler gösteren karsinom varyantları da mevcuttur (2).

Meme karsinomlarının büyük çoğunluğunu oluşturan bu grubun 10 yıllık sağkalımı %35-50 civarındadır. ER, PR, HER2 ekspresyon durumu, lenf nodu durumu ,histolojik derece, tümör çapı ve patolojik evre gibi faktörler prognozun belirlenmesinde rol oynamaktadır (2).



Şekil 4: İnvaziv Duktal Karsinom (2)

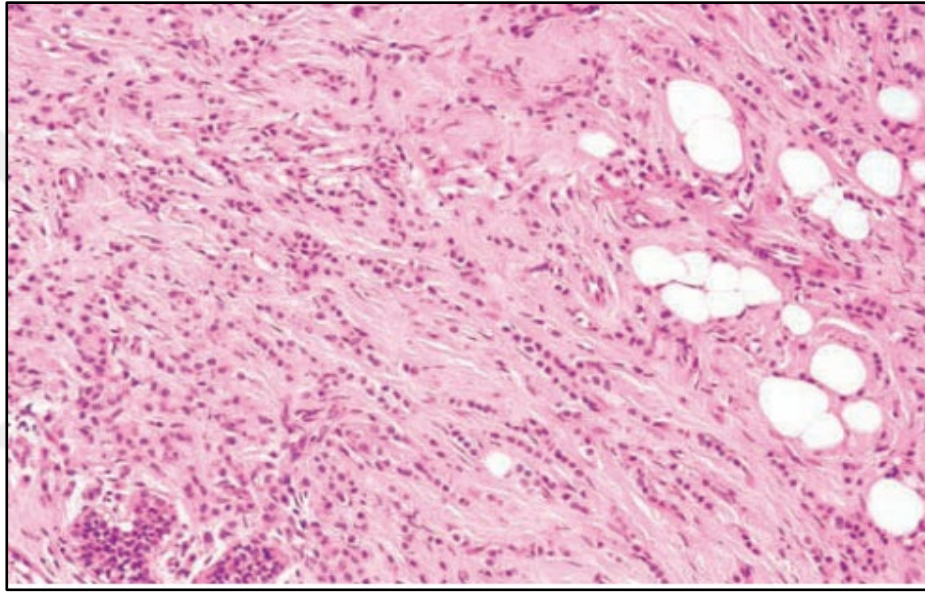
2.5.2. İNVAZİV MEME KARSİNOMU, ÖZEL SUBTİPLER

2.5.2.1. İnvaziv Lobüler Karsinom

İnvaziv lobüler karsinom (İLK), meme karsinomlarının yaklaşık %5-15 kadarını oluşturmaktadır. Ortalama görülme yaşı 57-65'dir (2). Sıklıkla lobüler karsinoma in situ (LKİS) ile ilişkili olup %70-80 oranında LKİS ile birlikte görülürler. İLK aynı taraf memede multifokal olması ve diğer meme karsinomu tiplerinden daha sık oranda bilateral olması ile karakterizedir (24).

Klasik tip İLK'lar, diskoheziv, fibröz stroma içinde kordonlar yapan veya dağınık tek tek duran küçük malign hücrelerin proliferasyonu ile karakterizedir. Tümör kordonları sıklıkla normal duktusların çevresini sararak konsantrik, hedef tahtası benzeri bir dizilim gösterirler. Ayrıca

tümör hücreleri hiç stromal reaksiyon oluşturmaz ya da minimal stromal reaksiyon oluşturlar. Bu durum zemindeki yapı bozulmaksızın meme stromasını ve çevre yağlı dokuyu infiltre etmesine olanak tanır. Tümörü oluşturan hücreler ince bir hat şeklinde sitoplazmaya, yuvarlak veya ovoid, ekzantrik yerleşimli nükleuslara ve genelde belirsiz nükleole sahiptir (Şekil 5). Bazen mukoid inklüzyon içeren intrasitoplazmik lümen ve eozinofilik globül yapısı bulundurabilirler. Mitoz nadirdir (2).



Şekil 5: İnvaziv Lobüler Karsinom (2)

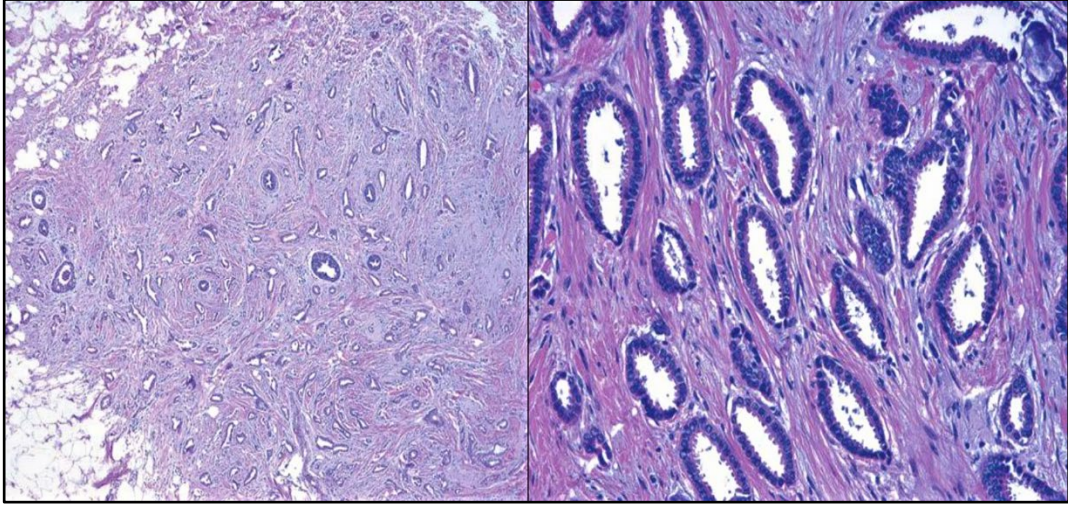
İLK klasik, alveoler, solid, trabeküler, tübülolobüler, pleomorfik, taşlı yüzük hücreli, histiyositik ve mikst varyantlara sahiptir. Klasik İLK'ların büyük kısmının (yaklaşık %76) histolojik derecesi 2 olup, derece 3 olan İLK'lar genel olarak klasik dışı varyantlardır (2, 24). İLK'ların %80-95'i ER, %60-70'i PR pozitifdir. İmmünohistokimyasal olarak HER-2 overekspresyonu nadir olarak görülür. p53, bazal belirteçler (CK14, CK5/6, EGFR) ve myoepitelyal belirteçler (SMA, p63) negatiftir. Ki67 indeksi genellikle düşüktür (2). Tümör hücrelerinin karakteristik histolojik

özelliği olan gevşek koheziv yapının moleküler nedeni 16q22.1 mutasyonu sonucunda tümör hücre membranında E-kaderin ekspresyonunun kaybıdır. %15 vakada E-kaderin ekspresyonu görülse de bu vakalar İDK olarak sınıflandırılmamalıdır. Bu vakalarda E-kaderin ekspresyonu aberan yollarla gerçekleşmektedir. Ayrıca p120 membranöz yerine sitoplazmik boyanma göstererek İLK tanısında bizlere yardımcı olan başka bir belirteçtir (24).

2.5.2.2. Tübüler Karsinom

Tübüler Karsinom, etrafında myoepitel tabakası bulunmayan, tek tabakalı, açık lümenli hücreler ile döşeli iyi diferansiye tübüllerden oluşan, iyi prognozlu özel bir meme karsinomu tipidir. Bu tübüller tümörün $\geq$ %90 oluşturmaktadır. Eğer $<$ %90 oranında ise mikst karsinom olarak kabul edilir ve eşlik eden komponent belirtilmelidir. Tübüller oval, yuvarlak ve keskin angülasyonlar gösteren şekillerde geliş gösteren güzel dağılımda olabilir. Tübülleri döşeyen hücreler düşük nükleer özellikte olup sıklıkla apikal sitoplazmik çıkıntılar içerirler. Bu tümörün önemli diğer bir özelliği ise sellüler desmoplastik stromadır (Şekil 6) (2, 24).

Tübüler Karsinomların radial skar ile ilişkili oldukları düşünülmektedir. Bu nedenle radial skar ve kompleks sklerozan lezyonlar ile ayırıcı tanıya girmektedir. Tübüler karsinomlar hemen her zaman ER ve PR pozitif iken, HER2, EGFR, P-Cadherin, p53 ve yüksek molekül ağırlıklı keratinler ile negatif boyanırlar. Meme karsinomlarının yaklaşık %2'sini oluşturur ve genellikle T1 evresinde ($\leq$ 2cm) küçük boyutlu tümörlerdir (2, 24).



Şekil 6: Tübüler karsinom (sol: küçük büyütme, sağ: büyük büyütme)(24)

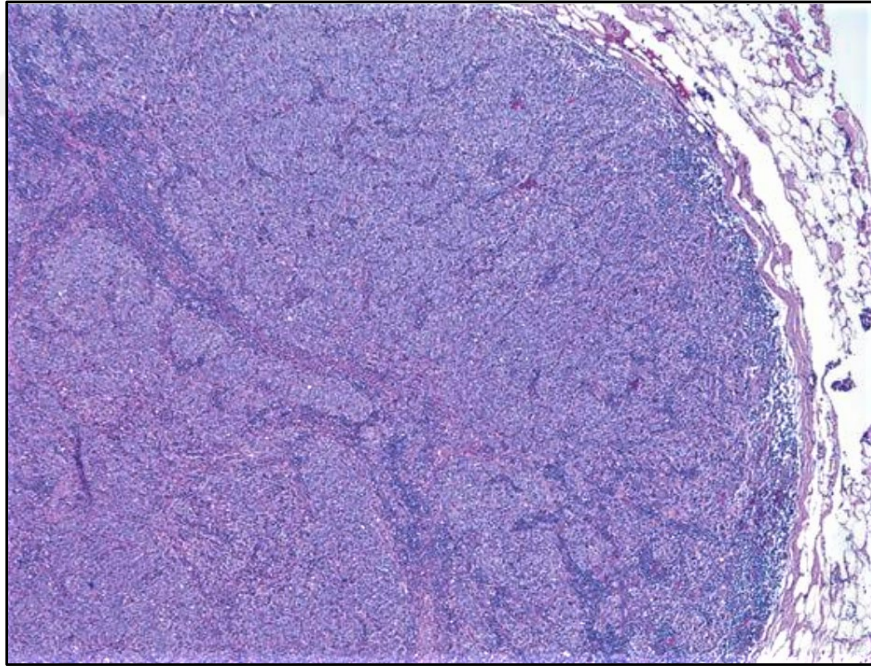
2.5.2.3. Kribriform Karsinom

İnvaziv kribriform karsinom, intraduktal kribriform karsinomda görülen morfolojiye benzer patern sergileyen iyi prognozlu ve iyi diferansiye bir karsinomdur. Tübüler karsinomla birlikte olabilirler. İnvaziv meme karsinomlarının %0,3-0,8'ini oluşturur. Bu tümör küçük, hafif nükleer pleomorfizmi olan, kribriform boşluklar içinde, invazyon gösteren adalar yapan hücrelerden oluşmaktadır. Apikal çıkıntıları yaygındır. Lümen içinde mikrokalsifikasyonlar taşıyan müsin pozitif sekresyonlar bulunabilir. Belirgin fibroblastik stroma yaygın olup, %80 vakada DKİS eşlik eder. Tüm vakalar ER pozitif ve HER2 negatifken vakaların üçte ikisi PR'de pozitifdir (2, 24).

2.5.2.4. Medüller Özellik Gösteren Karsinomlar

Medüller özellik gösteren karsinomlar, atipik medüller karsinom ve İDK'un bir alt tipini de içine alan bir tümör grubudur. Bütün meme karsinomlarının <%1'ini oluştururlar. Ortalama görülme yaşı 45-52 arasında olup vakaların %26'sı 35 yaşın altındadır. Makroskopik olarak düzgün sınırlı, yumuşak kitlelerdir ve nekroz, hemoraji, metaplastik değişiklikler ya da kistik dejenerasyon sıktır. DKİS ile ilişkili değildir.

Klasik medüller karsinom için tümör kitlesinin %75'ten fazlasının sinsityal büyüme paterni göstermesi, mikroskopik olarak düzgün ve itici tarzda sınır oluşturması, tübüler diferansiasyonun olmaması, stromada belirgin ve diffüz lenfoplazmositik infiltrasyon olması, geniş sitoplazmalı, yuvarlak, yüksek dereceli (derece 2-3) veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü tümör hücrelerinin varlığı tanı kriteri olarak kullanılır (Şekil 7) (24). Sık mitoz ve atipik dev hücrelerin varlığı da tanıya yardımcı olur. Bu tanı kriterlerini tam olarak karşılamayan tümörlerde "atipik medüller karsinom" ya da "medüller özellikler gösteren karsinom" terimleri kullanılmaktadır. Bu tümör grubunda sıklıkla ER, PR ve HER-2 negatif (triple negatif) iken değişen oranlarda CK5/6 ve 14, SMA, EGFR, P-kaderin, p53 ve caveolin-1 pozitifliği izlenir. Yapılan çalışmalarda bu grup tümörlerin moleküler olarak bazal benzeri fenotip gösterdiği bildirilmiştir (2, 24).



Şekil 7: Medüller karsinomlar, itici tarzda sınır oluşturan, tübüler diferansiasyon göstermeyen, belirgin lenfoplazmositik infiltrasyon gösteren tümörlerdir (24).

2.5.2.5. Metaplastik Karsinom

Metaplastik karsinom, neoplastik epitel hücrelerinin skuamöz ya da mezenkimal görünümlü (iğsi, kondroid, osseöz ve rabdomyoid) hücrelere differansiye olmasıyla karakterize neoplazileri içeren bir gruptur. Bu tümörler tamamen metaplastik elemanlardan oluşabileceği gibi karsinom ve metaplastik alanların karışımı şeklinde de olabilir. Tüm meme karsinomlarının yaklaşık %0.2-5'ini oluşturur (2). Ayırt edici klinik, radyolojik veya makroskopik özellikleri yoktur (24). Mikroskopik olarak heterojen bir grup olup DSÖ'de düşük dereceli adenoskuamöz karsinom, fibromatozis benzeri metaplastik karsinom, skuamöz hücreli karsinom, iğsi hücreli karsinom, mezenkimal diferansiasyonlu metaplastik karsinom ve mikst metaplastik karsinom olarak alt tipler ayrılmıştır. İmmünohistokimyasal olarak vakaların %90'dan fazlası ER, PR ve HER-2 negatiftir. Bazal belirteçler olan CK5/6, CK14, p63 ve EGFR pozitif olarak izlenmektedir (2). Gen ekspresyon profili çalışmalarına bakıldığında bazıları bazal benzeri subtipde yer alırken bazıları da normal benzeri subtip grubunda yer alırlar. Özellikle p53 mutasyonu sık görülür (24).

2.5.2.6. Apokrin Diferansiasyon Gösteren Karsinom

İDK'da fokal apokrin diferansiasyon sık görülen bir özellik olmasına rağmen yaygın apokrin diferansiasyon invaziv meme karsinomlarının yaklaşık olarak %4'ünde görülür. Apokrin diferansiasyon ayrıca tübüler, lobüler, mikropapiller, medüller karsinomda ve DKİS ile LKİS'da da görülebilmektedir. İki tip hücre görülür. A tipi hücreler, büyük nükleuslu, belirgin nükleollü, dPAS (diastaza dirençli periyodik asit schiff) pozitif, granüler eozinofilik sitoplazmalı iken, B tipi hücreler köpüksü sitoplazmalıdır (2). Tipik olarak bu tümörler Bcl-2 negatif, GCDPF-15 pozitifdir. Sıklıkla ER, PR negatif, androjen reseptörü (AR) pozitiflerdir. Yaklaşık %50 vakada ise HER2 overekspresyonu tespit edilebilir (24).

2.5.2.7. Tükrük Bezi /Deri Adneksiyal Tip Tümörler

Memenin silindroma ve berrak hücreli hidradenomu, kutanöz analoglarıyla benzer özelliktedir. Oldukça nadir ve genellikle yaşlı kadınlarda görülürler (2).

2.5.2.8. Adenoid Kistik Karsinom

Tükrük bezinde bulunan analoğuna benzer özellikte düşük malignite potansiyelli bir karsinomdur. Meme karsinomlarının <%0,1'ini oluşturur. Daha çok santral ve subareolar yerleşimlidirler. Boyutları 0,5cm ile 12cm arasında değişir (2). Değişen oranlarda glandüler, sebasöz, skuamöz diferansiasyon gösteren epitelyal hücreler, myoepitelyal/bazaloid hücreler ve asellüler eozinofilik bazal membran benzeri materyali ile karakterizedir. Gerçek lümen ve psödölümenler görülebilir. Bu tümörler ER, PR, HER2 negatif iken CD117 pozitifliği karakteristiktir (24).

2.5.2.9. Mukoepidermoid Karsinom

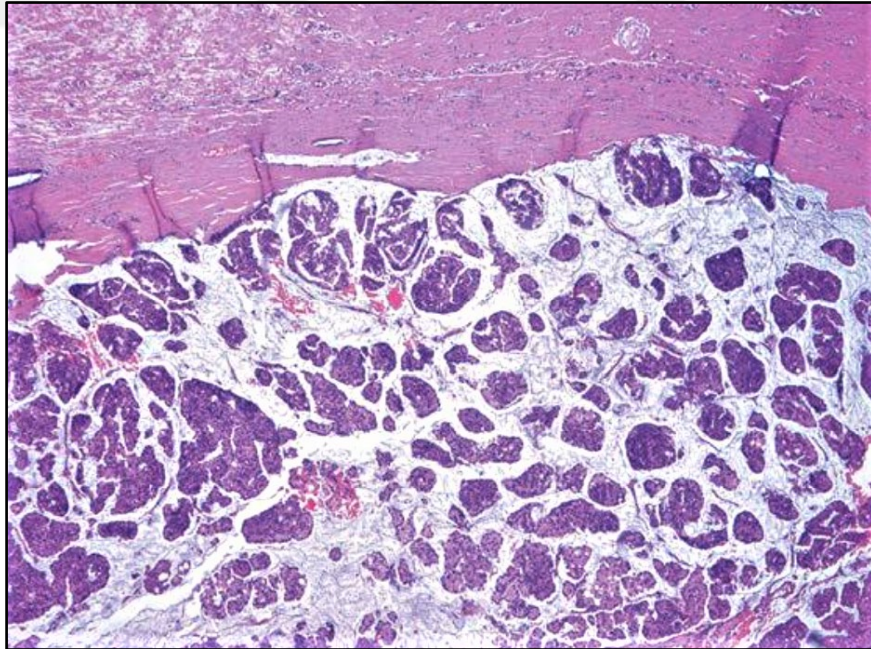
Tükürük bezindeki analoğu ile benzer histolojik özellikte bazaloid, intermediate, epidermoid ve müsinöz hücrelerin eşlik ettiği, primer meme karsinomudur. Meme tümörlerinin %0,3'ünü oluşturur. Boyutları 0,5cm ile 15cm arasında değişir. Yapılan çalışmalarda hormon reseptörlerinin negatif olduğu görülmüştür (2).

2.5.2.10. Polimorföz Karsinom

Tükrük bezindeki polimorföz düşük dereceli karsinoma benzer histolojik özelliklere sahip tümördür. Bugüne kadar sadece üç vaka bildirilmiştir. Bcl-2, CK7 ve E-kaderin pozitifken, EMA, ER, PR, CK14, SMA, HER2 ve CD117 negatiftir (2).

2.5.2.11. Müsinöz Karsinom

Müsinöz karsinomlar iyi prognozlu olan, meme karsinomlarının yaklaşık %2'sini oluşturan, 1-20cm arasında değişen boyutlarda, genellikle 55 yaş üzerinde görülen, ekstrasellüler müsin üreten tümörlerdir (24). Tümör kapiller damarlar içeren ince fibröz septalarla bölünmüş geniş müsin gölleri içinde yüzen küçük, uniform hücrelerin oluşturduğu gruplardan meydana gelir (Şekil 8) (2). Bu karakteristik özellik tümörün %90'ından fazlasını oluşturduğunda müsinöz karsinom olarak adlandırılırken non-müsinöz alanlar içeren tümörler mikst tümör olarak adlandırılırlar. Nükleuslar genellikle düşük ya da orta derece atipi gösterir. Müsinöz tümörlerin hücreliliği değişken olup, bazıları hücreden zengin (Tip B), bazıları da hücreden fakirdir (Tip A). Tip B karsinomlar sıklıkla endokrin diferansiasyon gösterirler. Bu tümörler ER, PR ve düşük seviyede AR pozitif ve HER2 negatiftirler (2, 24).



Şekil 8: Müsinöz karsinom, ince fibröz septalarla bölünmüş geniş müsin gölleri (24)

2.5.2.12. Taşlı Yüzük Hücre Diferansiasyonu Gösteren Karsinom

Taşlı yüzük hücre diferansiasyonu gösteren karsinomlar, intrasellüler müsin üretimi ile karakterli, nükleusu bir tarafa itilmiş görünümdeki taşlı yüzük morfolojisinde hücrelerden oluşan tümörlerdir. Pür taşlı yüzük hücre morfolojisindeki tümörler çok nadir iken fokal taşlı yüzük hücre diferansiasyonu İLK başta olmak üzere tüm meme karsinomlarında oldukça sıktır. Metastazdan özellikle de mide karsinomu metastazından ayrımları önemlidir. Bu tümörler ER, PR ve GCDFP-15 ile pozitifler (2).

2.5.2.13. Nöroendokrin Özellik Gösteren Karsinom

Akciğer ve gastrointestinal sistemde izlenen nöroendokrin tümörlere benzer özellikler gösteren, nöroendokrin belirteçlerle az ya da çok boyanan tümörlerdir. Meme karsinomlarının tüm tiplerinde nöroendokrin özellikler izlenebilirken pür nöroendokrin özellik gösteren karsinomlar bütün meme karsinomlarının <%1'ini oluştururlar. DSÖ bu tümörleri histopatolojik olarak iyi diferansiye, az diferansiye ve nöroendokrin diferansiasyon gösteren invaziv karsinom olarak alt başlıklarda sınıflandırılmışlardır. Diğer nöroendokrin karsinomlarda da olduğu gibi histolojik dereceleme ve evreleme önemli prognostik parametrelerdir (2). NSE, kromogranin A, sinaptofizin, ER (iyi diferansiye tümörlerin çoğunluğu, az diferansiye tümörlerin >%50) ve PR ile pozitif iken, HER2 negatiftir (24).

2.5.2.14. İnvaziv Papiller Karsinom

İnvaziv komponentin >%90'ında papiller morfoloji gösteren, fibrovasküler kor çevresinde malign epitel hücrelerin izlendiği tümör hücrelerinden oluşan tümörlerdir. Bu lezyonlar son derece nadir olduklarından metastaz olasılığı mutlaka dışlanmalıdır (2).

2.5.2.15. İnvaziv Mikropapiller Karsinom

Çevresinde lenfovasküler invazyonu anımsatan stromal boşluklar bulunan, küçük, morula benzeri hücre gruplarından oluşan, fibrovasküler kor içermeyen, küboidal veya kolumnar neoplastik hücrelerden oluşan tümörlerdir. Tüm meme karsinomlarının %0,9-2'sini oluşturmaktadır. Ancak meme karsinomlarının %7,4'ünde mikropapiller patern oluşturan alanlar görülebilmektedir. Çevrelerinde bulunan boşlukların fiksasyon sonrası artefakt oldukları düşünülmektedir. Sitoplazmalar eozinofilik görünümde olup bazen apokrin değişiklikler gösterebilir. Genellikle pleomorfizm, nekroz ve lenfositik infiltrasyon görülmez. Mikropapiller karsinomu oluşturan neoplastik hücreler 'ters polarite' gösterir. Bunun anlamı tümör hücrelerinin apikal yüzlerinin santraldeki boşluğa değil stromal taraftaki boşluğa dönük olmasıdır. Bu özellik sonucunda immünohistokimyasal olarak MUC-1 ve EMA ile stromaya bakan yüzlerin boyaması tanıda en yararlı yöntemdir. Bu tümörler ER (%61-100) ve PR (%46-83) pozitifdir. HER-2 overekspresyonu için literatürde birbiri ile çelişen sonuçlar (bazılarında %100 iken, bazılarında %10'un altında) bildirilmiştir. Sıklıkla lenf nodu metastazı ve LVİ mevcuttur (2, 24).

2.5.2.16. İnflamatuar Karsinom

Meme karsinomlarının nadir ve agresif bir formudur. İnsidansı %1-10 arası değişir ve evre T4d kabul edilirler. Bu vakalarda klinik olarak memenin 1/3'ünden fazlasını etkileyen, meme derisinde eritem, ödem, sertlik, sıcaklık ve hassasiyet ile karakterize portakal kabuğu görünümü mevcuttur (2). Bu karakteristik görünüm dermal lenfatiklerin tümör embolisi ile obstrüksiyonu sonucu oluşur. Belirgin inflammatuar hücre infiltrasyonu yoktur ve "inflammatuar" tanımlaması derinin klinik görüntüsü nedeniyle verilmiş yanlış bir tanımlamadır. Memede sıklıkla yüksek dereceli bir karsinom vardır. Vakaların yaklaşık %50'si ER ve PR, %60'ı HER2 negatifdir (24).

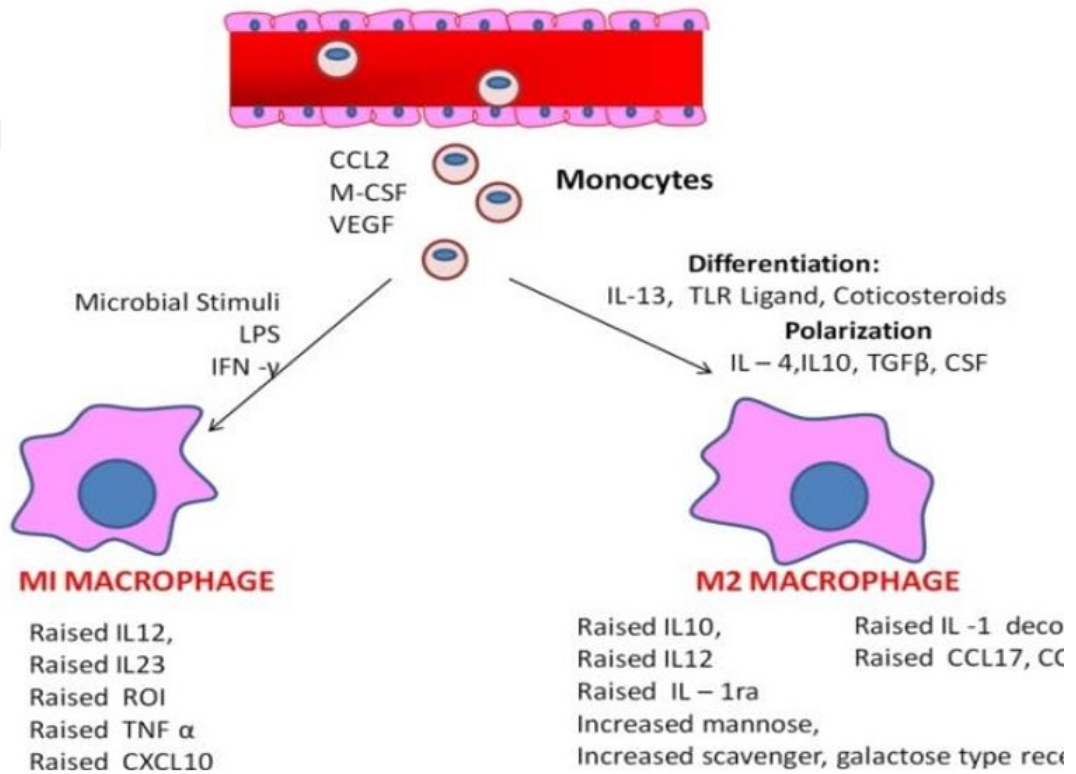
2.6. MEME KANSERİ VE TÜMÖR İLİŞKİLİ MAKROFAJLAR

Tümör mikroçevresi, tümör hücreleri ile etkileşim yoluyla tümörün başlamasında ve ilerlemesinde önemli bir role sahiptir (37). Son zamanlarda meme karsinomlarında tümör mikroçevresinin önemi üzerinde birçok çalışma yapılmıştır (38-42). Tümör mikroçevresi, inflamatuvar hücreler, makrofajlar, hücre dışı matriks, endotel hücreleri ve fibroblastlar tarafından oluşturulur (4). Meme karsinomunda tümör mikroçevresi makrofajlardan oldukça zengin olup makrofaj oranı bazı vakalarda %50'ye ulaşabilmektedir (43).

Mononükleer fagositer sistemin hücrelerinden biri olan makrofajlar, kemik iliği progenitörlerini ve kan monositlerini de içine alan bu sistemin ana bileşenlerindendir (44). Son çalışmalarda mononükleer fagositer sistemin komponentlerinin embriyolojik hayatta geliştiği ve hepsinin aynı soydan olmadığı gösterilmiştir (45, 46). Makrofajların fonksiyonları oldukça çeşitli olup, hemostaz, yara yeri iyileşmesi, anjiogenez, malignite, immünsupresyon, otoimmün bozukluklar, akut ve kronik inflamatuvar hastalıklar gibi birçok durumda görev alırlar (44).

Makrofajlar mikroçevresel sinyallere karşı reaksiyon verebilen ve bunlara karşı spesifik fenotip oluşturma plastisitesine sahip hücrelerdir (44). Makrofajlar, çevre ve kendileri tarafından salgılanan büyüme faktörlerine göre belirli immünolojik süreçlere katılarak alt gruplara ayrılır (Şekil 9). İlk subtip "aktif makrofaj" veya "M1 makrofaj" olarak adlandırılır. Bunlar interferon- γ ve toll benzeri reseptörlerin (TLR'lerin) salgıladığı sitokinler ile aktive edilirler. M1 makrofajlar, tümör nekrozis faktör (TNF), interlökin 12 (İL-12), İL-23, İL-6 gibi proinflamatuvar sitokinleri, reaktif oksijen radikallerini ve nitrik oksidi büyük miktarlarda salgılayarak patojenleri yok edecek olan yardımcı T hücreleri 1'i (Th1'i) uyarır (47, 48). Alternatif olarak aktive edilmiş makrofajlar olan "M2 makrofajlar" ise

sıklıkla İL-4 ve İL-13 ile aktive edilerek anti-inflamatuar özellik gösteren farklı bir subtip oluşturur. M2 makrofajlar, İL-10, İL-12 ve dönüştürme büyüme faktörü β (TGF β) gibi sitokinleri salgılayarak Th2'yi uyarırlar. (Şekil 9). Bu iki ana grup dışında birçok farklı makrofaj türü olduğunu belirten ve bu makrofaj alt tiplerini araştıran birçok çalışma mevcuttur (6, 44, 47-50).



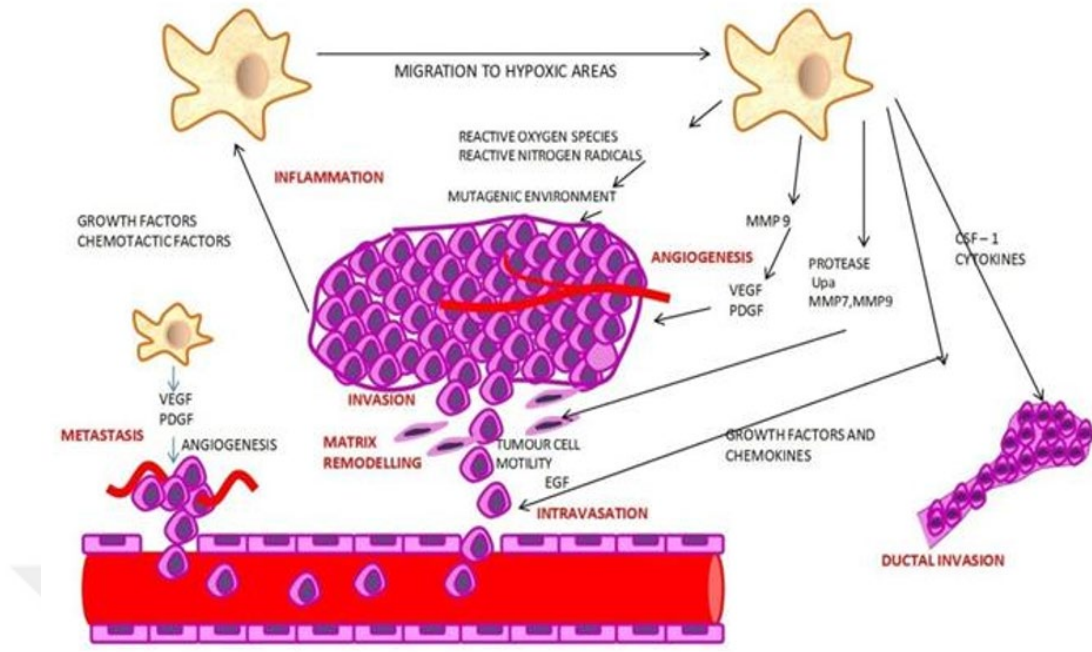
Şekil 9. Makrofaj subtipleri: M1 ve M2 makrofajlar (47)

TAM'lar, yüksek miktarda İL-10 üreten, anti-inflamatuar fonksiyon ve doku onarım fonksiyonları gibi özellikler sergileyen M2 makrofaj grubu ile büyük oranda benzerlik gösterirler (6, 44, 47, 49). Makrofajların M1 ve M2 olarak polarizasyonu sonucunda glukoz, aminoasitler, demir ve lipid metabolizmaları da farklılık gösterir (51).

Tümör mikroçevresinde yaptıkları etki sebebi ile M1 makrofajları “anti-tümöral makrofaj”, M2 makrofajları “pro-tümöral makrofaj” olarak isimlendiren çalışmalar da mevcuttur (44). Tümör mikroçevresinde, tümör gelişim sürecine etki eden M2 makrofajlar daha fazla olmak üzere her iki makrofaj popülasyonu da mevcuttur (52).

Bir tümör mikroçevresindeki TAM'lar, stromal hücreler ve neoplastik hücreleri uyaran koloni uyarıcı faktör 1 (CSF-1), makrofaj CSF (M-CSF), TGF β 1, makrofaj uyarıcı protein (MSP), makrofaj inflamatuvar protein-1 α (MIP1 α -CCL3), MIP-1 β ve makrofaj migrasyon inhibe edici faktör (MIF), VEGF, fibronektin, fibrinojen dahil birçok çeşitli büyüme faktörlerini salgılar. Bunlardan en önemlisi C-C motif kemokin ligand-2 (CCL2)'dir. Bu faktörler, dolaşımdaki monositlerin dokuya alımında, daha sonra da dokuya alınan makrofajların TAM'a dönüşmesinde rol oynarlar (47). Tümör mikroçevresindeki TAM'lar, alternatif olarak aktive edilmiş makrofajlara benzer olup, M2 fenotipe sahiptirler (47). TAM'lar tümör invazyon kenarlarında ve perivasküler alanda daha fazla bulunur ve buralardan salgılanan büyüme faktörlerince dokuya alınırlar. TAM'lar bu alanlarda EGFR, VEGF gibi migrasyon faktörlerini de salgılayarak hücre dışı matriksi şekillendirir, tümör büyümesini, tümör hücre göçünü, angiogenezisini, invazyonu ve metastazını indüklerler (Şekil 10) (6). Ayrıca TAM'lar hipoksik bölgelerde de toplanırlar (6).

Tümörlerde artmış M1 makrofajlar çoğunlukla iyi prognoz, M2 makrofajlar ise kötü prognoz ile ilişkilendirilir (44). Artmış TAM sayısı akciğer karsinomları, böbrek hücreli karsinom, hepatosellüler karsinom, kutanöz skuamöz hücreli karsinom, tiroid papiller karsinomu ve meme karsinomu gibi birçok tümörde kötü prognoz ile ilişkili iken kolon adenokarsinomunda iyi prognoz ile ilişkili bulunmuştur (5, 6, 44, 53, 54).



Şekil 10. TAM'ların tümör mikroçevresindeki etkileri (47)

Meme karsinomunda artmış TAM sayısı yüksek histolojik derece, hormon reseptör negatifliği, HER2 pozitifliği, nodal metastaz ve zayıf prognoz ile ilişkili bulunmuştur (4, 6, 42, 44, 55).

2.7. MEME KANSERİ VE KANSER KÖK HÜCRESİ

Kök hücreler, birçok hücre tipine farklılaşabilen ve kendini yenileme özelliğine sahip olan immatür ve özelleşmemiş hücrelerdir. En aktif oldukları dönem embriyolojik hayattır ve vücuttaki tüm dokuların bu hücrelerden çoğaldığı düşünülmektedir. Erişkin kök hücreleri, farklılaşmış dokularda bulunur ve köken aldıkları dokuda var olan tüm hücrelere dönüşme yeteneğine sahiptirler.

Son yıllarda özellikle moleküler çalışmaların artmasıyla meme kanserinin moleküler subtipleri tanımlanmış olup, Kanser kök hücre (CSC) teorisi ortaya atılmıştır. Bu teoriye göre kanserin köken aldığı hücre grubu

kendi kendini yenileme ve diferansiasyon yeteneğine sahip olup farklı hastalarda, farklı dönemlerde, farklı oranlarda oluşabilmektedir (56, 57). Bu hücreler sınırsız çoğalma ve tümörojenik potansiyeli olan kök hücre benzeri özelliklerinden dolayı tümör büyümesi, ilerlemesi ve metastazında rol alırlar. Böylece hastalığın seyrinin kişiden kişiye değişmesi, tedavi yanıtının farklılığı, metastaz oranlarının değişkenliği gibi konulara ışık tutan ve aynı zamanda tedaviye dirençten sorumlu tutulan bir faktör olarak görülürler (3, 56).

CSC'nin nasıl oluştuğu hakkında ise çok farklı çalışmalar yapılmış ve değişik görüşler ortaya atılmıştır. Bu görüşlerden biri, aslında bu hücrelerin organizmada embriyolojik dönemden beri var olduğu ve değişik etkenlerle hayatın bir döneminde aktive olarak kanser hücrelerinin çoğalmasını başlattığı görüşüdür. Diğer bir görüş ise, kanser hücrelerinin oluşuktan sonra tümör hücrelerinden bazılarının bu hücrelere diferansiasyon göstererek fonksiyonel olarak kök hücre özelliği kazandığıdır (56-58). Yapılan moleküler çalışmalarda bu hücreleri tanımlamak için CD44, CD24, CD133, CD34 ve ALDH1 gibi birçok farklı yüzey belirteçleri tanımlanmıştır (3, 56-59).

CSC'leri meme karsinomu, melanom, kolon karsinomu, akciğer karsinomları ve beyin tümörleri gibi pek çok tümörde tanımlanmışlardır (60). Meme kanserlerinde birçok çalışmada kök hücre belirteçlerinin ekspresyonunu ileri patolojik ve klinik evre, lenf nodu metastazı, tümör boyutu gibi kötü prognostik faktörle ilişkili (3, 56, 59, 61-65) olduğu az sayıdaki çalışmada ise iyi prognostik faktörler ile ilişkili (9) olduğu gösterilmiştir.

2.8. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER

2.8.1. CD68

KP1 veya makrosialin olarak da bilinen CD68, makrofajlarda ve diğer mononükleer fagositer sistemde yüksek oranda eksprese edilen, yoğun şekilde glikosile edilmiş tip I transmembran glikoproteinidir. CD68, lizozomal ilişkili membran proteinleri (LAMP'leri) ile yapısal benzerlikleri mevcuttur ve LAMP glikoprotein ailesine aittir (66). Çünkü LAMP glikoprotein ailesi hücre soyuna özgü değil lizozomlara özgü bir protein ailesidir (67). LAMP ailesinde LAMP-4 olarak adlandırılan CD68 ile birlikte 5 adet protein daha vardır ve LAMP ailesi lizozomlardaki zar proteininin yaklaşık %50'sini oluştururlar (66). CD68'in lizozomlardaki konumu ile peptit taşıması ve antijen sunumu gibi birçok görevi vardır. Esas olarak intrasellüler havuzda bulunur ve yüzeye değişen oranlarda eksprese edilirler. Makrofajların yüzeyinde yaklaşık olarak 5,000 adet CD68 proteini eksprese edilir. Diğer hücrelerde de CD68 eksprese edilebilir ancak bu hücrelerdeki ekspresyon miktarı makrofajlara oranla oldukça düşüktür (66).

Geleneksel olarak CD68, iltihaplı dokuların, tümör dokularının ve diğer immünohistopatolojik uygulamaların analizinde monosit/makrofajları boyamak için değerli bir immünohistokimyasal belirteç olarak kullanılır (66). CD68 pan-makrofaj belirteç olarak bilinir, bu nedenle de hem M1 hem M2 makrofajların tanınmasını sağlar (4, 6, 68).

CD68, daha çok histiyositlerin ve histiyositik tümörlerin belirteci olarak kullanılır. Ancak tek başına veya TAM'ların diğer hücre belirteçleri ile birlikte kullanıldığında kanser hastalarının hayatta kalmasını öngören prognostik bir belirteç olarak da kullanılmaktadır (66). Meme karsinomu da

dahil birçok tümörde yüksek CD68 ekspresyonu kötü prognoz ile ilişkili bulunmuş olup, tümör stromasında ve mikroçevresinde artışı ise sağkalımı azaltan bağımsız bir prognostik faktör olarak tespit edilmiştir (4, 7, 37, 54).

2.8.2. CD163

CD163 diğer adı ile “Hemoglobin (Hb) çöpçü reseptörü”, makrofaja özgü bir proteindir. Bu reseptörün yüksek ekspresyonu, iltihaplanma durumlarında makrofajların alternatif aktive fenotipe geçişindeki en büyük değişikliklerden biridir. Buna göre, makrofajlarda yüksek CD163 ekspresyonu inflamasyona cevap veren dokuların bir özelliğidir. Hem-oksijenaz-1'in uyarılmasına ve anti-inflamatuar hem metabolitlerinin üretilmesine yol açarak oksidatif ve proinflamatuar Hb'i temizlemesi, CD163'ün dolaylı olarak anti-inflamatuar yanıtta katkıda bulunduğu bir göstergesidir (53). CD163 ekspresyonunu en güçlü uyaranlar glikokortikoidler, İL-6, İL-10 ve hemoglobindir. Bunun sonucunda makrofajlar M2 fenotipine yönelirken M1 makrofajlar da M2 makrofaja dönüşürler (53). Bu nedenle CD163, M2 makrofajlar için oldukça spesifik bir göstergedir (4).

Kronik inflamasyonlu bölgelerde, aterosklerotik plakta ve tümör çevrelerinde oldukça yüksek oranlarda CD163 eksprese eden makrofajlar tespit edilmiştir (53). Meme karsinomunda tümör mikroçevresinde yüksek CD163 ekspresyonu yüksek histolojik derece, büyük boyutta kitle, yüksek Kİ67 indeksi, hormon reseptör negatifliği, triple negatiflik, bazal benzeri moleküler subtip, nodal metastaz ve azalmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur. Bu nedenle bağımsız bir kötü prognostik parametre olarak değerlendirilmiştir (4, 7, 8, 38-40, 42, 54).

2.8.3. CD11c

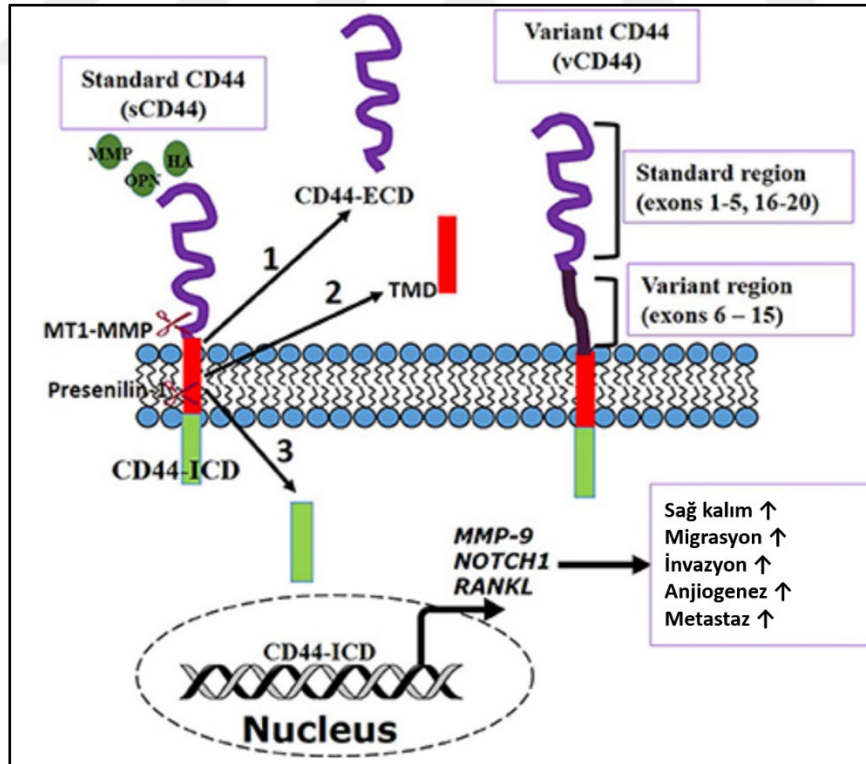
CD11c, integrin alfa X, CR4, iNOS ve LeuM5 olarak da adlandırılabilen bir fibrinojen reseptör proteinidir. Bu protein fibrinojene bağlanır, monositlerin ve nötrofillerin endotele adezyonunda ve kemotaksisinde rol oynar. Opsonize parçacıkları ve bağışıklık komplekslerini temizler. Pro-inflamatuar durumlarda salınan TNF- α , GM-CSF gibi birçok sitokin makrofajda CD11c ekspresyonunu artırır (69). Bu nedenle CD11c pro-inflamatuar durumlarda artan M1 makrofajların belirlenmesinde kullanılan birçok belirteçten biridir (4). CD11c, M1 makrofajlar dışında NK hücreleri, dentritik hücreler ve aktive T hücrelerinin bir kısmında da pozitif reaksiyon verir (69).

İnflamatuar durumlarda, diyabette, polikistik overde, kronik hepatitte, obezitede, bazı lösemi tiplerinde ve tümör çevrelerindeki inflammatuar hücreler içerisinde CD11c eksprese eden makrofajlar tespit edilmiştir (4, 69, 70). Meme karsinomunda tümör mikroçevresinde yüksek CD11c ekspresyonu yüksek histolojik derece, tümör boyutu, yüksek KI67 indeksi ve hormon reseptör negatifliği ile ilişkili bulunmuştur (4). Ayrıca tümör mikroçevresinde artmış CD11c oranı genel ve hastalıksız sağ kalım ile ilişkili bulunarak olumlu bir prognostik faktör olarak değerlendirilmiştir (4, 71).

2.8.4. CD44

Fagositik glikoprotein-1 olarak da bilinen CD44, embriyolojik kök hücreler, bağ dokular ve kemik iliği dahil diğer hücre tiplerinde çeşitli seviyelerde eksprese edilen kinaz olmayan, yapısal olarak değişken ve çok fonksiyonlu bir transmembran glikoprotein ailesidir (63, 72). CD44, ana ligandı hyalüronik asit (HA) ile bağlanarak hücre bölünmesi, adhezyon ve migrasyon gibi birçok hücresel sürecin düzenlenmesinde rol alır (63).

İnsanlarda, CD44 geni kromozom 11p13'te lokalizasyon göstermekte olup 19 ekson tarafından kodlanır. Bu eksonların 10'u tüm izoformlarda sabit bulunurken 9'u değişebilen eksonlardır. Standart CD44 (CD44s), on sabit ekson tarafından kodlanan CD44 formudur. CD44 varyant izoformları (CD44v) ise alternatif eklemeler (on sabit eksona kalan dokuz değişken eksonun herhangi bir kombinasyon şeklinde eklenmesi) ile oluşan formlardır (Şekil 11). Diğer tüm adezyon proteinleri gibi CD44 de hücreler arası ve hücre-matriks etkileşimleri, hücre motilitesi, migrasyonu, diferansiasyonu, hücre sinyalizasyonu ve gen transkripsiyonunda görevlidir (73, 74). Neoplastik bir hücrenin metastazı için gereken adezyon kaybı, penetrasyon, ekstrasellüler matriks invazyonu, vasküler sisteme giriş gibi süreçlerde CD44 gibi adezyon proteinlerinin önemli rolleri vardır (74). CD44, tümör invazyonunu ve metastazını kolaylaştırmaya ek olarak epitelyal-mezenkimal geçiş sürecine de dahil olur (63).



Şekil 11 : CD44 transmembran glikoproteini yapısı ve görevleri (75)

Meme, mide, kolorektal, pankreas, mesane, prostat kanserleri, lösemi ve baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlarda CD44 ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (72). Meme karsinomlarında yapılan birçok çalışmada özellikle CD44s izoformunun ekspresyonu nüks, metastaz ve lenfovasküler invazyonla ilişkili bulunmuştur (61-63, 72-74, 76). Ancak bunlar ile çelişen ve yüksek CD44 ekspresyonunun iyi prognostik faktörler ile ilişkili olduğunu savunan çalışmalar da mevcuttur (9, 77, 78). Bu nedenle meme karsinomlarında CD44 ekspresyonunun önemi henüz anlaşılmamıştır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. OLGU SEÇİMİ

Bu çalışma kapsamına 01.01.2010-30.09.2019 tarihleri arasında Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda histopatolojik incelemesi yapılmış ve meme karsinomu tanısı almış olan vakalara ait H&E boyalı preparatlar ile bloklar retrospektif olarak yeniden gözden geçirildi. Bu vakalardan operasyon öncesi neoadjuvan kemoterapi ve/veya radyoterapi alan, arşivimizde tümör kayıtlı doku bloğunda yeterli materyali olmayan, tümör kayıtlı blokları olmayan (dış merkezlerde incelenmek üzere hasta/hasta yakınlarına teslim edilen fakat geri getirilmeyen), immünohistokimyasal işlemlere uygun parafin blokları olmayan ve dış merkezden tarafımıza konsültasyon amaçlı gönderilen ve arşivimizde parafin blokları bulunmayan vakalar dışlanarak 150 adet MRM ve meme koruyucu cerrahi materyali çalışmaya dahil edildi. Vakalara ait demografik veriler hastane otomasyon sistemi kullanılarak elde edildi. Her bir hastaya ait uygun fiksasyona sahip, takip artefaktı içermeyen, nekroz alanı bulunmayan, yeterli tümör alanı bulunan ve immünohistokimyasal boyamalar için uygun birer adet tümör bloğu seçildi.

Çalışma için Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 4 Kasım 2019 tarihinde 2019/324 numaralı karar ile yerel etik kurulu onayı alınmıştır.

3.2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME

Olgulara ait H&E boyalı preparatlar Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Laboratuvarı arşivinden temin edildi. Olgular yaş, histolojik alt tip, histolojik derece, moleküler sınıflama, ER, PR ve HER2 durumu, KI67 indeksi, tümör çapı, odak sayısı, aksiller

lenf nodu metastazı, LVİ ve patolojik evre (AJCC 8. baskı) açısından patoloji raporu esas alınarak yeniden değerlendirildi ve uyumsuzluk durumunda veriler güncellendi. Tümör lokalizasyonu; sağ veya sol meme, operasyon tipi; MRM ve meme koruyucu cerrahi, tümör derecesi (Modifiye Bloom Richardson Histolojik Derecelendirme Sistemi); derece 1, derece 2, derece 3, tümör çapı; ≤2cm, 2-5cm, >5cm, tümör patolojik evresi; 1, 2A, 2B, 3A, 3B VE 4, tümör moleküler sınıflaması; Luminal A, Luminal B (HER2-), Luminal B (HER2+), HER2 overekspresye ve bazal benzeri, Kİ67 indeksi; ≤14 ve >14, ER, PR, HER2 durumu, LVİ, lenf nodu metastazı; var ve yok olarak değerlendirildi.

3.3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM

İmmünohistokimyasal inceleme %10'luk formalin solüsyonunda fikse edilmiş olan dokuların seçilen parafin bloklarından alınan kesitlere uygulandı. Primer antikor olarak CD68, CD163, CD11c ve CD44 uygulandı. Primer antikor için Bond Polymer Refine Detection (Leica marka, DS9800) kit kullanıldı. Her bir antikor için immünohistokimyasal uygulama tüm olgulara Leica Bond Max marka otomatik immünohistokimya cihazında çalışıldı. İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan primer antikorlar ve yapılan uygulamalar Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6: İmmünohistokimyasal Uygulama Prosedürü

Primer Antikor	Klon	Dilüsyon	İnkübasyon Süresi	Antijen Açığa Çıkarma	Firma
CD68	514H12	1:100	30 dakika	ER2	Novocastra
CD163	10D6	1:200	30 dakika	ER1	Novocastra
CD11c	5D11	1:100	30 dakika	ER1	Novocastra
CD44	MRQ-13	1:100	30 dakika	ER1	Cell Marque

Çalışmaya dahil edilen vakalara ait parafin bloklardan adezivli lamlara 1-1,5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Leica Bond Max marka otomatik immünohistokimya cihazında aşağıdaki boyama prosedürü uygulandı.

1. Deparafinizasyon İşlemi - 30 dakika (60°C)
2. Dewax solüsyonu – 0 dakika (72°C)
3. Dewax solüsyonu – 0 dakika (72°C)
4. Dewax solüsyonu – 0 dakika
5. Alkol – 0 dakika
6. Alkol – 0 dakika
7. Alkol – 0 dakika
8. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika
9. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika
10. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 5 dakika
11. ER 2 Solüsyonu – 0 dakika
12. ER 2 Solüsyonu – 0 dakika
13. ER 2 Solüsyonu (Süre antikora göre değişkenlik gösterir)-100°C
14. ER 2 Solüsyonu – 12 dakika
15. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika (35°C)
16. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika (35°C)
17. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika (35°C)
18. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 3 dakika

19. Perokside Blok – 10 dakika
20. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika
21. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika
22. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika
23. Primer Antikor – 15 dakika
24. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika
25. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika
26. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika
27. Post Primary – 7 dakika
28. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 2 dakika
29. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 2 dakika
30. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 2 dakika
31. Polymer – 7 dakika
32. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika
33. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika
34. Distile Su – 0 dakika
35. Mixed DAP – 0 dakika
36. Mixed DAP – 7 dakika
37. Distile Su – 0 dakika
38. Distile Su – 0 dakika
39. Distile Su – 0 dakika
40. Hematoksilen – 5 dakika

41. Distile Su – 0 dakika

42. Yıkama Solüsyonu (Bond Wash) – 0 dakika

43. Distile Su – 0 dakika

NOT: 13. basamak antikora göre değişkenlik gösterir.

3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Çalışma için seçilen bloklara CD68, CD163, CD11c ve CD44 boyaları immünohistokimyasal yöntemle çalışıldı. Vakalara ait H&E boyalı preperatlar ile yeni ve eski immünohistokimyasal boyalı preperatlar binoküler mikroskopta incelendi.

Vakalara ait arşivde bulunan ER, PR, HER2 VE Kİ67 immünohistokimyasal boyaları yeniden değerlendirildi. ER ve PR skorlanmasında ASCO/CAP klavuzu önerisi olan >%1 nükleer boyanma üzerindeki vakalar pozitif kabul edildi . HER2 testi ASCO/CAP klavuzuna göre immünohistokimyasal metod ile pozitif boyanma izlenmeyen veya tümör hücrelerinde ≤%10 zayıf ve inkomplet membranöz boyanma izlenen olgular skor 0; tümör hücrelerinde >%10 zayıf ve inkomplet membranöz boyanma izlenen olgular skor 1; tümör hücrelerinde >%10 zayıf-orta yoğunlukta komplet membranöz boyanma ya da tümör hücrelerinin < %10 güçlü komplet membranöz boyanma skor 2; tümör hücrelerinin >%10 şiddetli yoğunlukta komplet membranöz boyanma skor 3 olarak kabul edildi. Kİ67 değerlendirmesinde nükleer boyanan tümör hücresinin yüzdesi verildi. Bu değerlendirmeler sonrasında vakaların moleküler subtipleri belirlendi.

Çalışmamızda uygulanan CD68, CD163 ve CD11c immünohistokimyasal boyalarının değerlendirilmesi ve skorlaması ile ilgili olarak Hasong J. ve arkadaşlarına ait 2019 tarihli yayın esas alındı (4).

İmmünohistokimyasal boyamalarda CD68 ve CD163 boyalarındaki sitoplazmik ve membranöz boyanma, CD11c boyasındaki membranöz boyanma pozitif olarak kabul edildi. Bu markerların immünohistokimyasal boyaları değerlendirirken her vakada x40 büyütmede taranarak en yüksek boyanma gösteren alanlar belirlendi ve en yoğun makrofaj infiltrasyonu olan 3 alan seçildi. Daha sonra seçilen bu alanlarda x400'lük büyütmede tümör mikroçevresinde bulunan, bu boyaları eksprese eden makrofajlar sayıldı. Seçilen 3 alanda boyanan makrofaj sayılarının ortalaması alındı.

Çalışmamızda uygulanan CD44 immünohistokimyasal boyasının değerlendirilmesi için Ryspayeva D.S. ve arkadaşlarına ait 2017 tarihli yayın esas alındı (79).

İmmünohistokimyasal boyamada CD44 ile membranöz boyanma dikkate alındı. Tümör hücrelerindeki $\geq 10\%$ oranında membranöz boyanma pozitif, sitoplazmik ve $< 10\%$ membranöz boyanma ise negatif kabul edildi.

İmmünohistokimyasal boyalar eşliğinde olgular ışık mikroskobu altında tekrar değerlendirilerek verilerin toplanması işlemleri tamamlandı. İstatiksel değerlendirmede bu veriler ve bu verilerden elde edilen sonuçlar kullanıldı.

3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Elde edilen veriler tanımlayıcı istatistikler (aritmetik ortalama, ortanca, standart sapma, yüzde dağılımlar) ile değerlendirildi. Parametrik verilerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogorow-Smirnov testi ve grafiksel incelemeler ile sınıandı. İki bağımsız grubun ortalamasının karşılaştırılması normal dağılım gösteren veriler için Student T testi, normal dağılım göstermeyen veriler için Mann Whitney U testi kullanılarak yapıldı. İki veya daha fazla grubun ortalamasının karşılaştırılmasında parametrik veriler için tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA), parametrik olmayan veriler için Kruskal Wallis testi uygulandı. Sonucun anlamlı olması durumunda farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla One Way ANOVA testi kullanılan durumlarda Tukey testi, Kruskal Wallis testi kullanılan durumlarda Donald testi uygulandı. Kategorik verilerin gruplar arası yüzde dağılımları Ki-Kare testi, Ki-Kare koşulları sağlanamadığı durumlarda ise Fisher's Exact testi ile değerlendirildi. Verilerin analizinde SPSS v22 programı kullanıldı ve $p < 0,05$ düzeyi anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen 150 meme karsinomu vakasının tamamı (%100) kadın idi. Hastanemizde 2010-2019 yılları arasında tanı alan 2 erkek invaziv meme karsinomu vakasının biri arşivdeki bloğunun olmaması (dış merkeze konsültasyon amaçlı gönderilmesi), diğeri ise operasyon öncesi neoadjuvan tedavi alması nedeniyle çalışmaya dahil edilemedi.

Hastaların yaş aralığı 30-83 olup, yaş ortalaması 55,72±12,16 idi.

Çalışmamızdaki invaziv meme karsinomlarının 81'i (%54) sağ meme, 69'u (%46) sol meme yerleşimli idi.

Çalışmaya dahil edilen vakaların 51'ine (%34) modifiye radikal mastektomi (MRM), 99'una (%66) meme koruyucu cerrahi (lumpektomi, basit mastektomi ve benzeri eksizyonel biyopsi) uygulanmış idi.

Çalışmaya dahil edilen 150 meme karsinomunun 130'u (%86,7) İDK, 10'u (%6,7) İLK, 5'i (%3,3) medüller karsinom, 2'si (%1,3) müsinöz karsinom, 1'i (%0,7) tübüler karsinom, 1'i (%0,7) sekretuar karsinom, 1'i (%0,7) mikst karsinom tanısı almıştı.

Vakalara ait materyallerin makroskopik değerlendirmesinde, tümörlerin en küçüğü 0,5 cm, en büyüğü 10 cm çapa sahip olup, bu vakaların 64'ü (%42,7) ≤2cm, 77'si (%51,3) 2-5cm, 9'u (%6) >5cm çapındaydı.

Vakaların 138'inde (%92) tümör tek odak halinde bulunurken, 12'sinde (%8) tümör birden fazla odak halinde bulunmaktaydı.

Vakaların 113'ünde (%75,3) aksiller lenf nodu metastazı mevcut değil iken, 37'sinde (%24,7) aksiller lenf nodu metastazı mevcut idi.

Vakaların 83'ünde (%55,3) LVI izlenmezken, 67'sinde (%44,7) LVI izlendi.

Çalışmaya dahil edilen 150 meme karsinomu vakasının histolojik derecelerine bakıldığında 34'ünün (%22,7) derece 1, 71'inin (%47,3) derece 2, 45'inin (%30) derece 3 olduğu saptandı.

Vakaların patolojik evrelerine bakıldığında 54'ü (%36) evre I, 67'si (%44,7) evre IIA, 24'ü (%16) evre IIB, 5'i (%3,3) evre IIIA idi.

Vakaların ER açısından immünohistokimyasal değerlendirmesinde 124'ünde (%87,7) ER pozitif iken, 26'sında (%17,3) ER negatif tespit edildi.

Vakaların PR açısından immünohistokimyasal değerlendirmesinde 112'inde (%74,7) PR pozitif iken, 38'sinde (%25,3) PR negatif tespit edildi.

Vakaların HER2 açısından immünohistokimyasal değerlendirmesinde 132'sinde (%88) skor 0, 1'inde (0,7) skor 1, 4'ünde (%2,7) skor 2, 13'ünde (%8,7) skor 3 HER2 overekspresyonu izlendi.

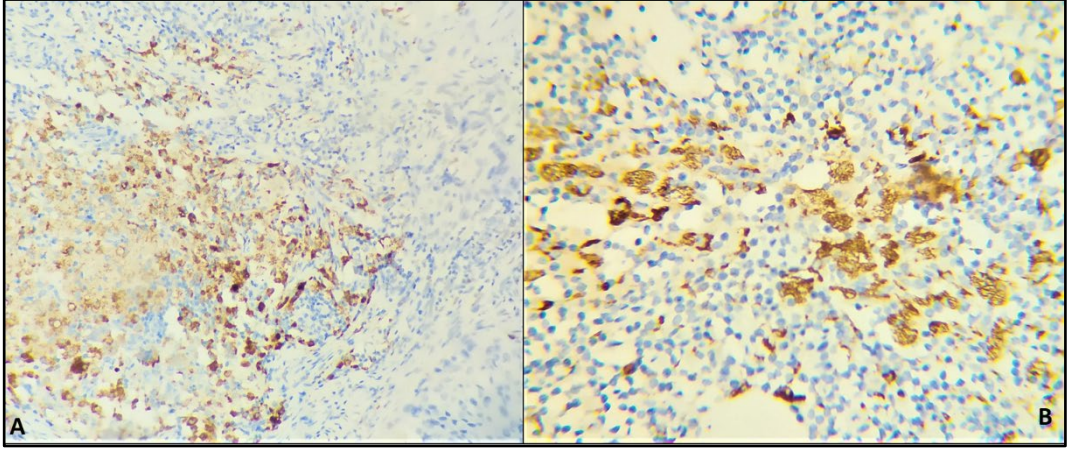
Vakaların Ki67 açısından immünohistokimyasal değerlendirmesinde 94'ünde (%62,7) Ki67 indeksi ≥ 14 iken, 56'sında (%37,3) Ki67 indeksi < 14 idi.

Çalışmaya dahil edilen 150 meme karsinomu vakasının moleküler subtiplerine (Tablo 4) bakıldığında 56'sının (%37,3) luminal A, 60'ının (%40) luminal B-HER2 negatif, 9'unun (%6) luminal B-HER2 pozitif, 9'unun (%6) HER2 pozitif, 16'sının (10,7) bazal benzeri subtip olduğu saptandı (Tablo 7).

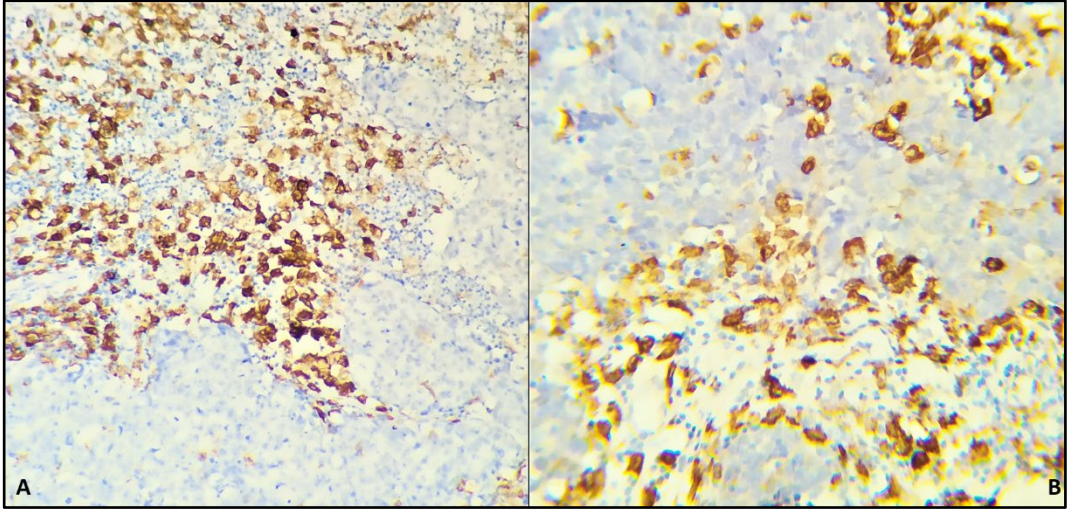
Tablo 7: Vakaların tanımlayıcı özellikleri

Cinsiyet	N	%
Erkek	0	0
Kadın	150	100
Yaş	Min-Max	ORT$\pm$SS
	30-83	55,72 $\pm$ 12,16
Lokalizasyon	N	%
Sağ Meme	81	54
Sol Meme	69	46
Operasyon Tipi	N	%
MRM	51	34
Meme Koruyucu Cerrahi	99	66
Tanı	N	%
İDK	130	86,7
İLK	10	6,7
Medüller Karsinom	5	3,3
Müsinöz Karsinom	2	1,3
Tübüler Karsinom	1	0,7
Sekretuar Karsinom	1	0,7
Mikst Karsinom	1	0,66
Tümör Çapı	N	%

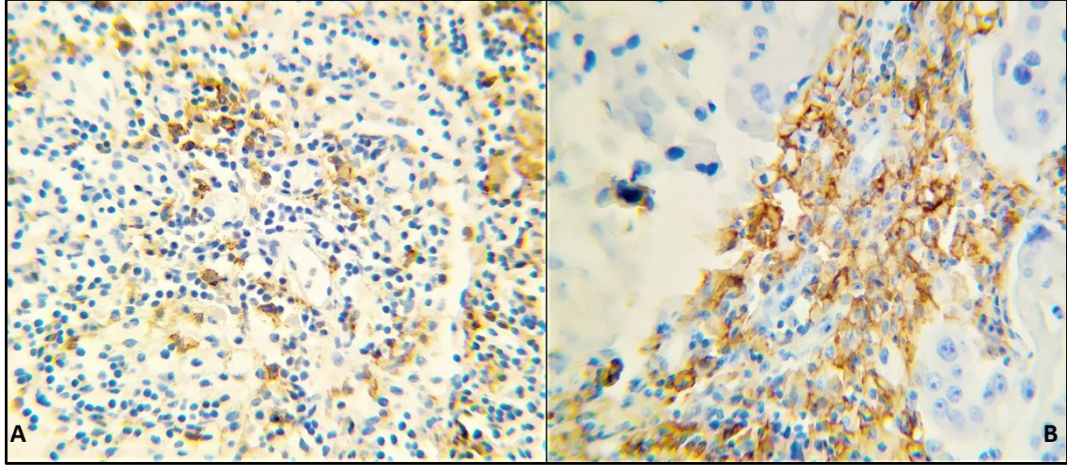
≤2 cm	64	42,7
2-5 cm	77	51,3
≥5 cm	9	6
Odak sayısı	N	%
1 odak	138	92
≥2 odak	12	8
Lenf Nodu Metastazı	N	%
Yok	113	75,3
Var	37	24,7
Lenfovasküler İnvazyon	N	%
Yok	83	55,3
Var	67	44,7
Histolojik Derece	N	%
1/3	34	22,7
2/3	71	47,3
3/3	45	30
Patolojik Evre	N	%
I	54	36
IIA	67	44,7
IIB	24	16
IIIA	5	3,3
IIIB-C	0	0
IV	0	0
ER	N	%
Negatif	26	17,3
Pozitif	124	87,7
PR	N	%
Negatif	38	25,3
Pozitif	112	74,7
HER2	N	%
Skor 0 (Negatif)	132	88
Skor 1 (1+)	1	0,7
Skor 2 (2+)	4	2,7
Skor 3 (3+)	13	8,7
Ki67	N	%
<14	56	37,3
≥14	94	62,7
Moleküler Sınıflama	N	%
Luminal A	56	37,3
Luminal B (HER2-)	60	40
Luminal B (HER2+)	9	6
HER2 overekspresye	9	6
Bazal benzeri (Triple negatif)	16	10,7



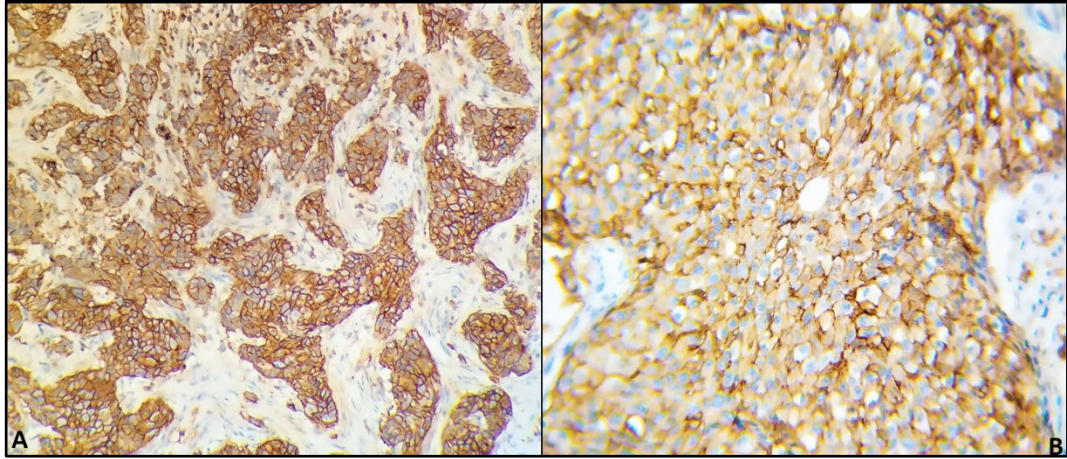
Şekil 12: Tümör mikroçevresindeki makrofajlarda sitoplazmik ve membranöz CD68 pozitifliği (A: x200, B:x400)



Şekil 13: Tümör mikroçevresindeki makrofajlarda sitoplazmik ve membranöz CD163 pozitifliği (A: x200, B:x400)



Şekil 14: Tümör mikroçevresindeki makrofajlarda membranöz CD11c pozitifliği (A: x200, B:x400)



Şekil 15: Tümörde membranöz CD44 pozitifliği (A: x200, B:x400)

İstatistiksel analizlerin daha anlamlı olması için Vahit Özmen ve arkadaşlarının yaptığı çalışma esas alınarak İDK ve İLK tanısı dışında kalan ve sayıları yetersiz olan tanı alt grupları “Diğer” adı altında toplanmıştır (28).

Yapılan değerlendirmede meme karsinomlarında tümörün histolojik tanısı ile tümör mikroçevresindeki CD68 pozitif makrofaj ortalaması arasında yapılan One-Way ANOVA testinde anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,05$, $p=0,010$). Post hoc Tukey testi ile farkın İLK ve diğer olarak gruplanan tümörler arasında olduğu görüldü ($p<0,05$, $p=0,007$). Ancak meme karsinomlarında tümörün histolojik tanısı ile tümör mikroçevresindeki CD163 ve CD11c pozitif makrofajlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Ayrıca meme karsinomlarında tümörün histolojik tanısı ile tümörde CD44 pozitifliği arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi (Tablo 8).

Tablo 8: Histolojik tanı ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

Histolojik Tanı							
	İDK		İLK		Diğer		
	N	ORT±SS	N	ORT±SS	N	ORT±SS	p
CD68	130	30,19±14,64	10	20,50±9,54	10	41,50±24,71	0,010
CD163	130	23,31±13,09	10	15,00±7,78	10	28,10±15,24	0,070
CD11c	130	12,00±8,13	10	9,30±6,14	10	17,60±14,80	0,079
CD44	N	%	N	%	N	%	P
Pozitif	78	%60	5	%50	5	%50	0,699
Negatif	52	%40	5	%50	5	%50	

Yapılan değerlendirmede meme karsinomlarında tümör çapı ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Ancak tümör çapı artışı ile birlikte bu boyalarla pozitif makrofaj ortalamasının artma eğilimde olduğu görüldü. Bu durum daha fazla vaka sayısı ile yapılan çalışmalarda tümör çapı ile CD68, CD163 ve CD11c

pozitif makrofajlar arasında anlamlı bir fark elde edilebileceğini düşündürmüştür. İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Meme karsinomlarında tümör çapı ile CD44 pozitifliği arasında yapılan değerlendirmede tümör çapı büyümesi ile tümörde CD44 pozitiflik oranında artış görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi (Tablo 9).

Tablo 9: Tümör çapı ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

Tümör Çapı							
	≤2cm		2-5cm		≥5cm		
	N	ORT±SS	N	ORT±SS	N	ORT±SS	p
CD68	64	30,83±15,39	77	29,75±15,97	9	34,11±14,66	0,712
CD163	64	23,38±13,15	77	22,57±13,44	9	25,22±8,94	0,826
CD11c	64	11,56±8,59	77	12,55±8,85	9	13,67±8,35	0,669
CD44	N	%	N	%	N	%	p
Pozitif	34	%53	47	%61	7	%78	0,310
Negatif	30	%47	30	%39	2	%22	

Yapılan değerlendirmede meme karsinomlarında tümör odağı sayısı ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Meme karsinomlarında yapılan değerlendirmelerde tümör odağı sayısı ile tümörde CD44 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi (Tablo 10).

Tablo 10: Tümör odak sayısı ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

Odak Sayısı					
	1 odak		≥2 odak		
	N	ORT±SS	N	ORT±SS	p
CD68	138	30,64±15,66	12	28,58±15,19	0,663
CD163	138	23,17±13,10	12	21,92±13,99	0,752
CD11c	138	12,09±8,54	12	13,33±10,48	0,632
CD44	N	%	N	%	p
Pozitif	84	%60	4	%33	0,063
Negatif	54	%40	8	%67	

Yapılan değerlendirmede meme karsinomlarında lenf nodu metastazı varlığı ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Ancak lenf nodu metastazının varlığı ile birlikte CD68, CD163 ve CD11c ile pozitif makrofaj ortalamasının azalma eğilimde olduğu görüldü. Bu durum daha fazla vaka sayısı ile yapılan çalışmalarda lenf nodu metastazı varlığı ile CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında anlamlı bir fark elde edilebileceğini düşündürmüştür. İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Meme karsinomlarında yapılan değerlendirmelerde lenf nodu metastazı varlığı ile tümörde CD44 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi (Tablo 11).

Tablo 11: Lenf nodu metastazı ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

Lenf Nodu Metastazı					
	Yok		Var		
	N	ORT±SS	N	ORT±SS	p
CD68	113	31,00±15,98	37	28,86±14,40	0,471
CD163	113	23,48±13,02	37	21,84±13,55	0,511
CD11c	113	12,53±9,22	37	11,16±6,75	0,407
CD44	N	%	N	%	p
Pozitif	68	%60	20	%45	0,320
Negatif	45	%40	17	%55	

Yapılan değerlendirmede meme kansinomlarında LVİ varlığı ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Ancak LVİ varlığı ile birlikte CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj miktarının azalma eğilimde olduğu olduğu görüldü. Bu durum daha fazla vaka sayısı ile yapılan çalışmalarda LVİ varlığı ile CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofajlar arasında anlamlı bir fark elde edilebileceğini düşündürmüştür. İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Meme kansinomlarında yapılan değerlendirmelerde LVİ varlığı ile tümörde CD44 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi (Tablo 12).

Tablo 12: Lenfovasküler invazyon ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

Lenfovasküler İnvazyon					
	Yok		Var		
	N	ORT±SS	N	ORT±SS	p
CD68	83	31,07±16,67	67	29,73±14,22	0,106
CD163	83	23,52±13,22	67	22,53±13,09	0,881
CD11c	83	12,01±9,17	67	12,42±0,08	0,334
CD44	N	%	N	%	p
Pozitif	54	%35	34	%51	0,077
Negatif	29	%65	33	%49	

Yapılan değerlendirmede meme karsinomlarında tümörün histolojik derecesi ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında yapılan One-Way ANOVA testinde anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,05$, tüm gruplarda $p<0,001$). Post hoc Tukey testinde farkın CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasının tümünde histolojik derece derece 1 ile derece 3 ve derece 2 ile derece 3 arasında olduğu görüldü ($p<0,05$). Tüm makrofaj belirteçleri ile pozitif makrofaj sayısının histolojik derece ile artma eğiliminde olduğu vaka sayısı artırıldığında bu belirteçlerin boyanma oranları ile histolojik derece 1 ve derece 2 arasında da anlamlı fark elde edilebileceğini düşündürmüştür. İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Meme karsinomlarında yapılan değerlendirmelerde histolojik derece ile tümörde CD44 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi (Tablo 13).

Tablo 13: Histolojik derece ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

Histolojik Derece							
	Derece 1		Derece 2		Derece 3		
	N	ORT±SS	N	ORT±SS	N	ORT±SS	p
CD68	34	24,03±14,34	71	28,90±13,86	45	37,82±16,48	<0,001
CD163	34	17,44±11,76	71	21,42±10,97	45	29,93±14,52	<0,001
CD11c	34	11,15±8,40	71	9,55±6,17	45	17,16±10,20	<0,001
CD44	N	%	N	%	N	%	p
Pozitif	20	%59	40	%57	28	%59	0,821
Negatif	14	%41	31	%43	17	%41	

Yapılan değerlendirmede meme karsinomlarında patolojik evre ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj

ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Meme karsinomlarında yapılan değerlendirmelerde patolojik evre ile tümörde CD44 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi (Tablo 14).

Tablo 14: Patolojik evre ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

Patolojik Evre									
	1		2A		2B		3A		
	N	ORT±SS	N	ORT±SS	N	ORT±SS	N	ORT±SS	p
CD68	54	20,41±15,30	67	30,75±16,54	24	31,21±15,04	5	24,00±8,45	0,820
CD163	54	22,87±13,02	67	23,66±13,62	24	23,23±13,16	5	17,20±7,85	0,770
CD11c	54	11,86±8,59	67	12,28±9,42	24	13,00±7,42	5	10,40±2,96	0,781
CD44	N	%	N	%	N	%	N	%	p
Pozitif	30	%57	39	%58	14	%58	5	%100	*0,290
Negatif	24	%43	28	%42	10	%42	0	%0	

*CD44 hücre değeri değeri 0 olan (eksprese etmeyen) hücre mevcut olduğu için test sonucunun güvenilirliği yoktur.

Yapılan değerlendirmede meme karsinomlarında tümörün ER negatifliği ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında yapılan Mann Whitney U testinde anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,05$, CD68- $p<0,001$, CD163- $p<0,001$, CD11c- $p<0,001$). İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Meme karsinomlarında yapılan değerlendirmelerde ER durumu ile tümörde CD44 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi (Tablo 15).

Tablo 15: ER durumu ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

ER Durumu					
	Yok		Var		
	N	ORT±SS	N	ORT±SS	p
CD68	26	41,73±17,72	124	28,11±14,07	<0,001
CD163	26	32,62±14,08	124	21,07±11,80	<0,001
CD11c	26	18,19±10,75	124	10,94±7,65	<0,001
CD44	N	%	N	%	p
Pozitif	16	%61	72	%58	0,744
Negatif	10	%39	52	%42	

Yapılan değerlendirmede meme karsinomlarında tümörün PR negatifliği ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj sayıları arasında yapılan Mann Whitney U testinde anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,05$, CD68- $p=0,032$, CD163- $p=0,006$, CD11c- $p=0,037$). İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Meme karsinomlarında yapılan değerlendirmelerde PR durumu ile tümörde CD44 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi (Tablo 16).

Tablo 16: PR durumu ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

PR Durumu					
	Yok		Var		
	N	ORT±SS	N	ORT±SS	p
CD68	38	36,08±18,69	112	28,57±13,97	0,032
CD163	38	28,71±15,20	112	21,16±11,82	0,006
CD11c	38	15,26±10,77	112	11,15±7,62	0,037
CD44	N	%	N	%	p
Pozitif	24	%63	64	%57	0,515
Negatif	14	%37	48	%43	

İstatistiksel analizlerin daha anlamlı olması ve kayıp veri yaşanmaması için HER2 immünohistokimyasal inceleme sonuçları skor 0, 1 ve 2 olan vakalar aynı grup, skor 3 olan vakalar ise diğer bir grup altında değerlendirildi. Bu grupta hastalara tedaviye trantuzumab eklenmesinde kullanılan HER2 overekspresyon kriterleri uygulandı (3,7,79).

Yapılan değerlendirmede meme karsinomlarında tümörün HER2 skoru ile tümör mikroçevresindeki CD11c pozitif makrofaj ortalamaları arasında yapılan Mann Whitney U testinde anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,05$, $p=0,014$). Ancak meme karsinomlarında tümörün HER2 skoru ile tümör mikroçevresindeki CD68 ve CD163 pozitif makrofaj ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Ayrıca meme karsinomlarında tümörün HER2 skoru ile tümörde CD44 pozitifliği arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi (Tablo 17).

Tablo 17: HER2 skoru ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

HER2 skoru					
	Skor 0, 1 ve 2		Skor 3		
	N	ORT $\pm$ SS	N	N	P
CD68	137	30,67 $\pm$ 15,60	13	137	0,615
CD163	137	23,26 $\pm$ 13,02	13	137	0,568
CD11c	137	11,66 $\pm$ 8,55	13	137	0,014
CD44	N	%	N	N	P
	73	%53	5	73	0,123
	54	%47	8	54	%47

Yapılan değerlendirmede meme karsinomlarında tümörün Kİ67 indeksi ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında yapılan Student T testinde anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,05$, CD68- $p<0,001$, CD163- $p<0,001$, CD11c- $p<0,001$). Kİ67 indeksi ≥ 14 olan vakalarda Kİ67 indeksi <14 olan vakalara oranla tümör mikroçevresinde daha fazla makrofaj olduğu gözlemlendi. İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Meme karsinomlarında yapılan değerlendirmelerde Kİ67 indeksi ile tümörde CD44 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi (Tablo 18).

Tablo 18: Kİ67 indeksi ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

Kİ67 İndeksi					
	<14		≥ 14		
	N	ORT $\pm$ SS	N	ORT $\pm$ SS	P
CD68	56	24,43 $\pm$ 12,76	94	34,07 $\pm$ 16,05	<0,001
CD163	56	18,46 $\pm$ 9,71	94	25,82 $\pm$ 14,13	<0,001
CD11c	56	9,07 $\pm$ 5,97	94	14,05 $\pm$ 9,49	<0,001
CD44	N	%	N	%	P
Pozitif	35	%63	53	%56	0,462
Negatif	21	%37	41	%44	

Yapılan değerlendirmede meme karsinomlarında tümörün moleküler subtiplemesi ile tümör mikroçevresindeki CD163 pozitif makrofaj ortalaması arasında yapılan One-Way ANOVA testinde anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,05$, $p=0,040$). Post hoc Tukey testi ile yapılan karşılaştırmada farkın luminal A ve luminal B grupları arasında olduğu görüldü ($p<0,05$, $p=0,045$). Ancak meme karsinomlarında tümörün moleküler subtiplemesi ile tümör mikroçevresindeki CD68 ve CD11c pozitif makrofajlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

CD68 ile yapılan istatistiksel incelemede sırası ile luminal A, luminal B, HER2 overeksprese ve bazal benzeri subtipine doğru makrofaj ortalamalarının azalma eğiliminde olduğu ve p değeri 0,054 olarak sınır değere (0,05) çok yakın olduğu görüldü. Bu durum daha fazla vaka sayısı ile yapılan çalışmalarda tümörün moleküler subtipleri ile CD68 pozitif makrofajlar arasında anlamlı bir fark elde edilebileceğini düşündürmüştür. İncelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalaması CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazladır. Ayrıca meme karsinomlarında tümörün moleküler subtiplemesi ile CD44 pozitifliği arasında ise sırası ile luminal A, luminal B, HER2 overeksprese ve triple negatif subtipine doğru pozitiflik oranında azalma izlenmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi. Bu durum daha fazla vaka sayısı ile yapılan çalışmalarda tümör moleküler subtipleri ile tümörde CD44 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki elde edilebileceğini düşündürmüştür (Tablo 19).

Tablo 19: Moleküler subtipleme ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

Moleküler Subtip									
	Luminal A		Luminal B		HER2 overeksprese		Triple Negatif		
	N	ORT±SS	N	ORT±SS	N	ORT±SS	N	ORT±SS	p
CD68	44	37,11±17,42	55	29,22±13,88	8	29,13±13,72	16	28,75±13,19	0,054
CD163	44	29,07±14,35	55	22,18±14,06	8	19,38±10,01	16	24,25±12,15	0,040
CD11c	44	14,11±10,51	55	11,62±7,46	8	12,75±8,29	16	8,13±4,84	0,109
CD44	N	%	N	%	N	%	N	%	p
Pozitif	29	%66	36	%65	4	%50	6	%38	0,170
Negatif	15	%34	19	%35	4	%50	10	%63	

Çalışmaya dahil edilen 150 meme karsinomu vakasının CD44 açısından immünohistokimyasal değerlendirmesinde tümörlerin 83'ü (%55) pozitif iken, 57'si (%45) negatif idi (Tablo 20).

Tablo 20: Meme karsinomlarında CD44 ekspresyon oranları

CD44 ekspresyonu				
	Pozitif		Negatif	
	N	%	N	%
CD44	83	%55	57	%45

Yapılan değerlendirmelerde immünohistokimyasal pozitif boyanma özelliklerinin birbirleriyle olan korelasyonları değerlendirildiğinde ise CD68 pozitif makrofaj ortalaması ile CD163 ($p<0,001$, $r=0,878$) ve CD11c ($p<0,001$, $r=0,602$) pozitif makrofaj ortalaması arasında ve de CD163 pozitif makrofaj ortalaması ile CD11c ($p<0,001$, $r=0,502$) pozitif makrofaj ortalaması arasında yüksek düzeyli doğrusal bir korelasyon varlığı saptandı. CD44 immünohistokimyasal pozitif boyanma özelliği ile diğer immünohistokimyasal boyanmalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olmadığı saptandı (Tablo 21).

Tablo 21: İmmünohistokimyasal boyanma özelliklerinin korelasyon analizi

		CD68	CD163	CD11c	CD44
CD68	r	1,000			
	p	-			
CD163	r	0,878	1,000		
	p	<0,001	--		
CD11c	r	0,602	0,502	1,000	
	p	<0,001	<0,001	-	
CD44	r	0,074	0,082	0,091	1,000
	p	0,366	0,317	0,269	-

5.TARTIŞMA

Meme kanseri, dünyada ve ülkemizde kadınlarda en sık görülen kanser türü olup, kadınlarda kansere bağlı ölümlerde akciğerden sonra ikinci sıradadır (2, 80, 81). Meme karsinomları, dünyada kadın kanserlerinin %22'sini, gelişmiş ülkelerde ise %26'sını oluşturmaktadır. Bu oran kadınlardaki diğer organ kanserlerinin yaklaşık iki katıdır (2). Tedavisinde hastalığın tipine ve yaygınlığına bağlı olarak cerrahi, kemoterapi, radyoterapi ve hormonoterapi yanı sıra hedefe yönelik tedaviler ile bu tedavi yöntemlerinin kombinasyonları yer almaktadır (32). Erken evrelerde teşhis edildiğinde iyi prognozlu olan meme karsinomları, tüm çalışmalara, çeşitli ve etkili tedavi yöntemlerine rağmen halen yüksek mortalite ve morbiditeye sahiptir (1). İnvaziv meme karsinomlarında mortalitede geliştirilmiş tedaviler ile azalma görülse de tanı ve tedaviyi iyileştirmek için yeni prognostik faktörler ve terapötik hedeflerin belirlenmesi gerekmektedir (3).

Kanser hücreleri ile immun sistem arasındaki oldukça kompleks ve dinamik ilişki bulunur ve tümör mikroçevresindeki makrofajlar bu ilişkide oldukça önemli role sahiptirler (6). Çeşitli çalışmalarda meme tümörü de dahil birçok kanser türünde, TAM infiltrasyonu tarafından tümör mikroçevresinden salgılanan faktörler ve bunların yanı sıra, TAM'ların kendileri de tümör başlangıcı, ilerlemesi ve metastazının çeşitli adımlarını düzenlemede anahtar rol oynadığı, bunun sonucu olarak da kanser hastalarında kötü prognoz ve düşük hayatta kalma oranları ile güçlü bir ilişkisi olduğuna dair kanıtlar elde edilmiştir (38, 44, 55, 82). TAM'ların plastisite göstermesi ve pro-tümöral olarak görev yapan M2 makrofajların tümör mikroçevresinde görece olarak daha yüksek oranda bulunması, TAM'ların meme kanserleri başta olmak üzere birçok kanserin tedavisinde hedef olarak kullanılabileceğini düşündürmüştü ve bu konuda birçok çalışma yapılmıştır (4, 6, 7, 38, 44, 46, 54, 55, 82, 83). Çalışmalarda M2

makrofajlar için CD163, CD204, CD206 gibi birçok marker kullanılırken, M1 makrofajlar için CD11c, CD80 ve CD86 gibi markerlar kullanılmıştır (4, 8, 84-86). Fenotip ayırt etmeksizin makrofajların tamamını göstermede ise en yaygın kullanılan marker CD68'dir (4, 6).

Prognoz ve tedavi yönetimlerindeki farklılıklar açısından oldukça heterojen bir grup olan meme kanserleri kök hücreler bakımından da oldukça zengindir (72). CSC'de neoplastik bir hücrenin metastazı için gereken adezyon kaybı, penetrasyon, ekstrasellüler matriks invazyonu, vasküler sisteme giriş gibi süreçlerde CD44 gibi adezyon proteinlerinin önemli rolleri vardır. Bunun sonucunda yapılan birçok çalışmada tümörde yüksek CD44 ekspresyonunun kötü prognoz ile korele olduğu ileri sürülmüştür (72, 74, 87).

TAM'ları ve CD44 proteinini hedef alan tedaviler, meme karsinomu tedavisi için ilgi çekici ve umut vadeci yeni stratejiler olarak ortaya çıkar (6, 72). Ayrıca, mevcut kanser tedavilerinin yan etki olarak normal hücrelerde de ciddi toksisite oluşturması, yan etkileri daha az olan hedefe yönelik bu gibi tedavilere ihtiyacı daha da artırmaktadır (6).

Bizde çalışmamızda invaziv meme karsinomlarında tümör mikroçevresinde TAM belirteçleriyle (CD68, CD163 ve CD11c) pozitif makrofaj ortalamalarını ve CSC belirteci olarak kullanılan CD44'ün tümördeki ekspresyonunu inceledik. Meme karsinomlarında bu belirteçlerin hormon reseptör durumu, patolojik evre ve diğer prognostik parametreler ile ilişkisinin olup olmadığını değerlendirdik. Bu markerlarla immunohistokimyasal incelemenin prognoza ve tedaviye olabilecek katkılarını araştırdık.

Epitelyal tümörlerin çoğunda olduğu gibi meme kanseri sıklığı da yaşla birlikte artmaktadır. Ancak aile öyküsü sahip kişilerde ve

ilişkilendirilmiş genetik mutasyona sahip bireylerde daha erken yaşta görülebirlirler. Meme karsinomu DSÖ verilerine göre dünyada sıklıkla 55-64 yaşları arasında tanı alır (2).

Çalışmamızdaki meme karsinomu hastalarının yaş ortalamaları $55,72 \pm 12,16$ 'dir. Vahit Özmen, Tolga Özmen ve Volkan Doğru'nun Türkiye'de yaptığı 20000 kişilik bir çalışmada meme kanseri tanısı alan kadınların yaş ortalaması 51,8 olarak bulunmuştur (28). Bulgularımız literatür ile uyumlu olmakla beraber Vahit Özmen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın bir miktar altındadır. Bunun nedeninin coğrafi ve genetik farklılıklar olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızdaki meme karsinomlarının %54'ü sağ meme, %46'sı sol meme yerleşimli olduğu görüldü. Helen A. Weiss ve arkadaşlarının Amerika Birleşik Devletlerinde 250000 meme karsinomu vakasında yaptığı araştırmada tümör yerleşim lokalizasyonu olarak sağ ve sol meme arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (88). H. Tulinius ve arkadaşlarının 2139 meme karsinomu vakasında yaptıkları çalışmada meme tümörlerinin %51'inin sağ meme, %49'unun sol meme yerleşimli olduğunu belirtmişlerdir (89). Bu çalışmalardaki bulgular bizim çalışmamız ile benzer niteliktedir.

Çalışmamıza dahil edilen vakaların %34'üne MRM, %66'sına meme koruyucu cerrahi yapılmıştır. Vahit Özmen ve arkadaşlarının Türkiye'de yaptığı 20000 vakalık çalışmada vakaların %60'ına MRM, %40'ına meme koruyucu cerrahi yapıldığı bildirilmiştir (28). Walley J. Temple ve arkadaşlarının meme karsinomlarında yaptıkları çalışmada vakaların %71'ine meme koruyucu cerrahi, %29'una MRM yapıldığı bildirilmiştir (90). Douglas Stafford ve arkadaşlarının meme karsinomlarında yaptıkları çalışmada vakaların %64'ünde meme koruyucu cerrahi, %36'sında MRM yapıldığı belirtilmiştir (91). Bu çalışmalardaki cerrahi prosedürü yöntemi ile

bizim vakalarımızda izlediğimiz cerrahi prosedür yöntemi oranları benzerlik göstermektedir. Ancak literatürde bu oranların oldukça değişkenlik gösterdiği görülmüştür. Bunun nedeninin coğrafi olarak hastaların erken ve geç evrede tanı alması, doktor ve hastaların cerrahi yöntem seçimi eğilimlerindeki farklılıklar, çalışmalara dahil edilen grupların seçimlerindeki değişkenlikler gibi birçok nedenden kaynaklanabileceği savunulmuştur (28, 90, 91).

Meme karsinomlarının histolojik tanılarına göre dağılımı DSÖ verilerine göre %40-75 oranında özellik göstermeyen tip (İDK), %5-15 oranında İLK, %0,5-5 oranında medüller karsinom, %2 oranında müsinöz karsinom ve değişen oranlarda diğer subtipler şeklindedir. Bu tanı subtiplerinin önemi İLK, medüller karsinom ve inflamatuvar karsinom gibi bazı histolojik subtipler bize hastalığın prognozunun kötü, tübüler karsinom ve kribriform karsinom gibi bazı subtipler ise prognozun iyi yönde ilerleyeceğini öngörmeye yardımcı olur (2).

Çalışmamızdaki meme karsinomlarının %86,7'si İDK, %6,7'si İLK, %3,3'ü medüller karsinom, %1,3'ü müsinöz karsinom, %0,7'si tübüler karsinom, %0,7'si sekretuar karsinom, %0,7'si mikst karsinom tanısı almıştı. Vahit Özmen, Tolga Özmen ve Volkan Doğru'nun Türkiye'de yaptığı 20000 vakalık çalışmada vakaların %72,8'unun İDK, %6,5'inin İLK, %4,2'sinin mikst karsinom ve %12,4'ünün diğer tipler olduğu tespit edilmiştir (28). Dünyadaki ve Türkiye'deki verilerle karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda İDK oranının ortalamasının üstünde olduğu ancak diğer subtiplerin literatür ile uyumlu olduğunu gözlemlenmiştir. Bu durum çalışmamızda vaka sayımızın kısıtlı olması ve vaka seçimi yaparken özellikle dış merkeze konsültasyon amacıyla blokları gönderilmiş ve çalışmaya dahil edilememiş vakaların özellikli tümör subtipleri olması çalışmamızdaki İDK tanılı vakaların ortalamasının artmasına neden olmuş

olabileceği düşünölmüştür. Vaka sayısının artırılması ve dış merkezdeki gönderilen blokların tekrar incelenmesi ile literatür ile daha uyumlu sonuçlar elde edilebilir.

Meme karsinomlarında tümör boyutu hastanın tümör evrelemesinde kullanılmakta ve hastanın prognozunu öngörme gibi birçok durumda bizlere fikir vermektedir.

Çalışmamızdaki 150 vakalara ait materyallerin makroskopik değerlendirmesinde, tümörlerin çapları 0,5-10cm aralığında olup, bu vakaların %42,7'si ≤ 2 cm, %51,3'ü 2-5cm, %6'ü > 5 cm çapındaydı. DSÖ verilerinde invaziv meme karsinomlarında tümör boyutu %39-42 oranında ≤ 2 cm, %45-53 oranında 2-5cm, %4-9 oranında > 5 cm olarak tespit edilmiştir (2). Victoria Sopik ve Steven A. Narod'un 811647 vaka ile yaptığı çalışmada meme karsinomu vakalarının %93'ünde tümör boyutu ≤ 5 cm iken, %7'sinde > 5 cm'dir (92). Lynn Ferguson ve arkadaşlarının 628 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada vakaların %95'inde tümör boyutu ≤ 5 cm iken, %5'inde > 5 cm'dir (93). Satu Tianinen ve arkadaşlarının 253 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada vakaların %92'inde tümör boyutu ≤ 5 cm iken, %8'inde > 5 cm'dir (7). Hasong Jeong ve arkadaşlarının 367 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada vakaların %40,2'inde tümör boyutu ≤ 2 cm iken, %59,8'inde > 2 cm'dir (4). Bu çalışmalardaki tümör boyutu oranları ile bizim vakalarımızda izlediğimiz tümör boyutu oranları benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızdaki meme karsinomu vakalarının %92'sinde tümör tek odak halinde bulunurken, %8'inde tümör birden fazla odak (multifokal) halinde olduğu saptandı. Francisco E Vera-Badillo ve arkadaşlarının yaptığı 67557 meme karsinomu vakasının yer aldığı meta-analizde %9,5 oranında multifokalite tespit edilmiştir (94). Coco J. E. F. Walstra ve

arkadaşlarının meme karsinomlarında yaptığı çalışmada %8 oranında multifokalite saptanmıştır (95). Bu çalışmalardaki bulgular bizim çalışmamızdaki bulguları destekler niteliktedir.

Aksiller lenf nodu durumu meme karsinomları için en önemli ve tek prognostik faktördür. Hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım, her ilave pozitif lenf nodu ile azalır. LVİ, lenf nodu metastazıyla ilişkili olmasına rağmen, aynı zamanda nüks için bağımsız prognostik faktördür. Hem LVİ hem nodal metastazın birlikte varlığı, tek başlarına olduğundan daha kötü bir prognoza neden olur (2).

Çalışmamızdaki 150 vakanın aksiller lenf nodu durumuna bakıldığında vakaların %75,3'ünde metastaz yok iken, %24,7'sinde metastaz varlığı tespit edildi. Young-Sil An ve arkadaşlarının yaptığı 173 meme karsinomu vakasında yaptığı çalışmada vakaların %26'sında aksiller lenf nodu metastaz saptanmıştır (96). Seong Jong Yun ve arkadaşlarının 369 meme karsinomu vakasında yaptığı çalışmada vakaların %31'inde aksiller lenf nodu metastazının olduğu tespit edilmiştir (97). Yuting Sanga ve arkadaşlarının 1724 vakalık çalışmasında ise vakaların %40'ında aksiller lenf nodu metastazının olduğu bulunmuştur (98). Bu çalışmalardaki lenf nodu durumu ile bizim vakalarımızdaki lenf nodu durumu benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızdaki 150 vakanın LVİ durumuna bakıldığında vakaların %44,7'sinde LVİ tespit edilmiştir. Ying Liu ve arkadaşlarının 166 meme karsinomu vakasında yaptığı çalışmada vakaların %45'inde LVİ saptanmıştır (99). Sultan N. Sonbul ve arkadaşlarının 167 vakalık çalışmasında vakaların %49'unda LVİ tespit edilmiştir (100). Young Jae Ryu ve arkadaşlarının yaptığı 187 vakalık çalışmada ise vakaların

%35'inde LVİ saptanmıştır (101). Bu çalışmalardaki LVİ oranları ile bizim vakalarımızda izlediğimiz LVİ oranı benzerdir.

Meme karsinomlarında, tümörleri objektif olarak değerlendirmek için Modifiye Bloom-Richardson Histolojik Derecelendirme Sistemi kullanılır (Tablo 1). Bu sistem önemli bir prognostik faktör olmakla beraber aynı zamanda sağ kalımı ve nüks ile arasında güçlü bir korelasyon da mevcuttur (2).

Çalışmamızdaki vakaların histolojik derecelerine bakıldığında %22,7'si derece 1, %47,3'ü derece 2, %30'u derece 3 olduğu izlendi. Satu Tianinen ve arkadaşlarının 253 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada vakaların %14'ü derece 1, %55'i derece 2, %31'i derece 3 olduğu saptanmıştır (7). C.W.Elston ve I.O.Ellis'in 2,200 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada vakaların %26'sı derece 1, %45'i derece 2, %29'u derece 3 olduğu tespit edilmiştir (102). Michael Aho ve arkadaşlarının 101 vaka ile yaptığı çalışmada vakaların %19'u derece 1, %48'i derece 2, %33'ü derece 3 olduğu saptanmıştır (103). Bu çalışmalardaki histolojik derece dağılımları ile bizim çalışmamızdaki dağılım benzerlik göstermektedir.

Meme karsinomlarını evrelemede en yaygın kullanılan sistem TNM sistemidir (2). Bu sistemde bölgesel yayılımı ve uzak bölge metastazları hakkında bilgi veren Evre 0, I, II, III ve IV'ü oluşturmak için kullanılan bir kombinasyon sistemidir (2, 33). Meme kanserli hastalarda hem klinik evreleme hem patolojik evreleme (pTNM) kullanılmalıdır (2). Hastalar için bu evreleme sistemi lokal hastalığın kontrolü ile ilgili karar vermede ve sistemik tedavinin değerini belirlemek için önemlidir.

Çalışmamızdaki vakaların patolojik evrelerine bakıldığında vakaların %36'sının evre I, %60'ının evre II, %4'ünün evre III olduğu izlendi. Omar Abdel-Rahman'ın yaptığı 270,304 meme karsinomu vakasında yaptığı çalışmada vakaların %59'u evre I, %33'ü evre II, %8'i evre III olarak tespit edilmiştir (104). Suzanna Maria Zick ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vakaların %34'ü evre I, %54'ü evre II, %12'si evre III olarak saptanmıştır (105). Ian Campbell ve arkadaşlarının 470 meme karsinomu vakasında yaptığı çalışmada %22'si evre I, %56'sı evre II, %22'si evre III olarak tespit edilmiştir (83). Bu çalışmalarda da evreler arasında farklılıklar görülse de bizim çalışmamız evre I ve II oranları açısından literatür ile benzerlik göstermektedir. Ancak evre III vakalarımızın oranı literatürden düşüktür. Bu durum vakalarımızın T4 evresinin tespitindeki sıkıntı ve hastanemizde ipsilateral infraklaviküler, internal mammarian ve subraklaviküler lenf nodlarının diseke edilmemesi ve bu lenf nodlarının tutulumuna (N3) radyolojik olarak karar verilmesi sonucu patolojik evreye yansımaması neden olmuş olabilir. Vaka sayısı artırıldığında ve klinik verilerle korele edildiğinde literatür ile uyumlu sonuçlar elde edilebilir.

Çalışmamızdaki 150 vakanın ER ve PR durumlarına ve HER2 overekspresyonun durumuna bakıldığında vakaların %87'si ER pozitif, %74'ü PR pozitif ve %8,7'sinin HER2 overekspresyon gösterdiği tespit edilmiştir. DSÖ verilerine göre meme karsinomu vakalarının %80'i ER pozitif, %60'ı PR pozitif ve %15'i HER2 overekspresyon gösterir (2). Satu Tiainen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vakaların %82'sinin ER pozitif, %72'sinin PR pozitif ve %42'sinin HER2 overekspresyon gösterdiği izlenmiştir (7). Lidija Stevanovic ve arkadaşlarının 2214 meme karsinomu vakasında yaptığı çalışmada vakaların %79'unun ER pozitif, %74'ünün PR pozitif ve %11'inin HER2 overekspresyon gösterdiği saptanmıştır (106). (3). E.D. Ryspayeva ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada meme karsinomu vakalarının %76'sının ER pozitif, %68'inin PR pozitif ve %6,7'sinin HER2 overekspresyon gösterdiği izlenmiştir (79). Lynn Ferguson ve

arkadaşlarının meme karsinomlarında yaptığı çalışmada vakaların %74'ünün ER pozitif, %63'ünün PR pozitif ve %7,7'sinin HER2 overekspresyon gösterdiği izlenmiştir (93). Bizim çalışmamızdaki ER ve PR durumu ve HER2 overekspresyon durumu literatür ile benzer özellik göstermektedir.

Çalışmamızdaki 150 vakanın Kİ67 indekslerine bakıldığında vakaların %62,7'sinde Kİ67 indeksi ≥ 14 iken %37,3'ünde Kİ67 indeksi < 14 olarak tespit edilmiştir. Lidija Stevanovic ve arkadaşlarının 2214 meme karsinomu vakasında yaptığı çalışmada vakaların %67'sinde Kİ67 indeksi ≥ 14 iken %33'ünde Kİ67 indeksi < 14 olarak saptanmıştır (106). Vahit Özmen, Tolga Özmen ve Volkan Doğru'nun yaptığı çalışmada vakaların %65'inde Kİ67 indeksi ≥ 14 iken %35'inde Kİ67 indeksi < 14 olarak izlenmiştir (28). Hasong Jeong ve arkadaşlarının 367 meme karsinomu vakasında yaptığı çalışmada vakaların %54'ünde Kİ67 indeksi ≥ 14 iken %46'sında Kİ67 indeksi < 14 olarak tespit edilmiştir (4). Bu çalışmalardaki Kİ67 indeksi dağılımları bizim çalışmamız ile benzerdir.

DSÖ'nün 2012'de yaptığı öneriye göre meme karsinomları histolojik tiplere ek olarak moleküler sınıflamasının da yapılması önerilmektedir (2, 3, 34, 35, 77). Luminal A/B subtipleri meme karsinomlarının %70-80'ini (%40-50 luminal A, %20-40 luminal B), HER2 overeksprese subtipi %10-15'ini, bazal benzeri subtip %10-15'ini oluşturur. Luminal A/B subtipleri iyi prognozlu ve endokrin tedaviden fayda görürlerken; HER2 overeksprese ve bazal benzeri subtipleri ise kötü prognozlu ve yüksek histolojik derece, lenf nodu metastazı ile ilişkilidir (24, 34).

Çalışmamızdaki vakaların %83 luminal A/B (%37'i luminal A, %46'sı luminal B), %6'sı HER2 overeksprese, %11'i bazal benzeri moleküler subtipte sahiptir. Jiehua Li ve arkadaşlarının 475 meme karsinomu

vakasında yaptığı çalışmada %73'ü luminal A/B (%36 luminal A, %37 luminal B), %15'i HER2 overeksprese, %12'ü bazal benzeri subtip sahiptir (81). Anna Karin Falck ve arkadaşlarının yaptığı 467 vakalık çalışmada %89'u luminal A/B (%56 luminal A, %33 luminal B), %4'i HER2 overeksprese, %7'si bazal benzeri subtip sahiptir (107). Bu çalışmalardaki moleküler subtip dağılımları ile bizim çalışmamızdaki dağılımlar benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızdaki meme karsinomların tümör mikroçevresindeki CD68 pozitif makrofaj ortalaması ile histolojik tanı, histolojik derece, ER ve PR negatifliği ve yüksek Kİ67 indeksi arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edildi; ancak tümör çapı, lenf nodu metastazı, lenfovasküler invazyon (LVİ), patolojik evre, HER2 overekspresyonu ve moleküler subtipi arasında anlamlı bir fark izlenmedi. Bu anlamlı ilişkilere daha ayrıntılı baktığımızda; diğer olarak gruplandırılan histolojik tanıli meme karsinomlarının İLK tanıli hastalara oranla, histolojik derecesi 3 olan meme karsinomlarının derece 1 ve 2 tümörlere oranla, ER ve PR negatif olan vakaların ER ve PR pozitif olan vakalara oranla ve Kİ67 indeksi ≥ 14 olan vakaların Kİ67 indeksi < 14 olan vakalara oranla tümör mikroçevresinde daha fazla CD68 pozitif makrofaj ortalamasına sahip olduğu görüldü.

Hasong Jeong ve arkadaşlarının 367 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD68 pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği, yüksek Kİ67 indeksi ve bizim çalışmamızdaki aksine tümör boyutu, moleküler subtip ile ilişkili olduğu; ancak HER2 durumu, lenf nodu metastazı ve LVİ ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (4). Xixi Zhao ve arkadaşlarının yaptığı 4541 vakalık meta-analizde tümör mikroçevresindeki CD68 pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği ve bizim çalışmamızın aksine tümör boyutu, LVİ ve bazal benzeri moleküler subtip ile ilişkili

olduğu; HER2 overekspresyonu ve lenf nodu metastazı ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (68). Chao Ni ve arkadaşlarının yaptığı 1579 vakalık meta-analizde tümör mikroçevresindeki CD68 pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği, yüksek Kİ67 indeksi ve bizim çalışmamızdaki aksine lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu; ancak tümör boyutu, patolojik evre ve HER2 durumu ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (54). Catharina Medrek, Fredrik Pontén ve Karin Jirstrom'un yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD68 pozitif makrofaj ortalamasının tümör boyutu ve yüksek Kİ67 indeksi ile ilişkili olduğu; ancak lenf nodu metastazı, HER2 durumu ve bizim çalışmamızın aksine ER ve PR negatifliği ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (39). Sofia Sousa ve arkadaşlarının 562 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD68 pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği, yüksek Kİ67 indeksi ve bizim çalışmamızdaki aksine moleküler subtip ile ilişkili olduğu; ancak tümör boyutu, histolojik tanı ve HER2 durumu ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (108). Michael J. Campbell ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD68 pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği ve bizim çalışmamızdaki aksine bazal benzeri moleküler subtip ile ilişkili olduğu; ancak tümör boyutu, patolojik evre ve lenf nodu metastazı ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (55). Birçok çalışmada tümör boyutu arttıkça tümör mikroçevresinde CD68 pozitif makrofaj ortalamasının arttığını gösterse de bizim çalışmamızdaki gibi bu ilişkiyi desteklemeyen çalışmaları sayısı son yıllarda artmaktadır (109). Ancak literatürdeki çalışmalarda bizim çalışmamızın aksine tümör mikroçevresinde CD68 pozitif makrofaj ortalamasının moleküler subtip özellikle de bazal benzeri subtip ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bizim bulgularımızı destekleyen bir çalışma bulunamamıştır. Vaka sayımızın kısıtlılığı buna sebep olduğu ve vaka sayısı artırıldığında literatür ile uyumlu veriler elde edebileceğini düşünmekteyiz. Bu çalışmalardaki moleküler subtip dışındaki bulgular bizim çalışmamızdaki bulguları desteklemektedir.

Çalışmamızdaki meme karsinomların tümör mikroçevresindeki CD163 pozitif makrofaj ortalaması ile histolojik derece, ER ve PR negatifliği, Kİ67 indeksi ve moleküler subtipi arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edildi; ancak histolojik tanı, tümör çapı, lenf nodu metastazı, lenfovasküler invazyon (LVİ), patolojik evre ve HER2 overekspresyonu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. Bu anlamlı ilişkilere daha ayrıntılı baktığımızda; histolojik derecesi 3 olan meme karsinomlarının derece 1 ve 2 tümörlere oranla, ER ve PR negatif olan vakaların ER ve PR pozitif olan vakalara oranla, Kİ67 indeksi ≥ 14 olan vakaların Kİ67 indeksi < 14 olan vakalara oranla ve luminal A subtipinin luminal B subtipine oranla daha fazla CD163 pozitif makrofaj ortalamasına sahip olduğu görüldü.

Hasong Jeong ve arkadaşlarının 367 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD163 pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği, yüksek Kİ67 indeksi, moleküler subtipi ve bizim çalışmamızdaki aksine tümör boyutu ile ilişkili olduğu; ancak histolojik tanı, HER2 durumu, lenf nodu metastazı ve LVİ ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (4). Xixi Zhao ve arkadaşlarının yaptığı 4541 vakalık meta-analizde tümör mikroçevresindeki CD163 pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği ve bizim çalışmamızın aksine tümör boyutu, LVİ ve bazal benzeri moleküler subtip ile ilişkili olduğu; HER2 overekspresyonu ve lenf nodu metastazı ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (68). Catharina Medrek, Fredrik Pontén ve Karin Jirstrom'un yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD163 pozitif makrofaj ortalamasının ER ve PR negatifliği, yüksek Kİ67 indeksi ve luminal A ve bazal benzeri moleküler subtip ve bizim çalışmamızın aksine tümör boyutu ile ilişkili olduğu; ancak lenf nodu metastazı ve HER2 durumu ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (39). Chao Ni ve arkadaşlarının yaptığı 1579 meme karsinomu vakasına ait çalışmada tümör mikroçevresindeki CD163 pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği, yüksek Kİ67 indeksi ve bizim çalışmamızın aksine

tümör boyutu ve lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu; ancak tümör boyutu, HER2 durumu ve patolojik evre ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (54). Sofia Sousa ve arkadaşlarının yaptığı 562 meme karsinomu vakasına ait çalışmada tümör mikroçevresindeki CD163 pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği, yüksek Kİ67 indeksi, bizim çalışmamızın aksine duktal histolojik tip ve HER2 overekspresyonu ile ilişkili olduğu; ancak tümör boyutu ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (108). Karla Esbona ve arkadaşlarının yaptığı 562 meme karsinomu vakasına ait çalışmada tümör mikroçevresindeki CD163 pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği, yüksek Kİ67 indeksi, bizim çalışmamızın aksine duktal histolojik tip ve tümör boyutu ile ilişkili olduğu; ancak patolojik evre ve HER2 overekspresyonu ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (110). Yuko Miyasato ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD163 pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği, yüksek Kİ67 indeksi ile ilişkili olduğu; ancak tümör boyutu, lenf nodu metastazı ve bizim çalışmamızın aksine moleküler subtip ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (111). Bu çalışmalardaki bulgular bizim çalışmamızdaki bulguları desteklemektedir.

Çalışmamızdaki meme karsinomlarının tümör mikroçevresindeki CD11c pozitif makrofaj ortalaması ile histolojik derece, ER ve PR negatifliği, HER2 overekspresyonu ve Kİ67 indeksi arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edildi; ancak histolojik tanı, tümör çapı, lenf nodu metastazı, lenfovasküler invazyon (LVI), patolojik evre ve moleküler subtip arasında anlamlı bir fark izlenmedi. Bu anlamlı ilişkilere daha ayrıntılı baktığımızda; histolojik derecesi 3 olan meme karsinomlarının derece 1 ve 2 tümörlere oranla, ER ve PR negatif olan vakaların ER ve PR pozitif olan vakalara oranla, Kİ67 indeksi ≥ 14 olan vakaların Kİ67 indeksi < 14 olan vakalara oranla ve HER2 overekspresyonu skor 3 olanların skor 0, 1 ve 2 olanlara oranla daha fazla CD11c pozitif makrofaj ortalamasına sahip olduğu görüldü.

Hasong Jeong ve arkadaşlarının 367 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD11c pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, ER ve PR negatifliği, yüksek KI67 indeksi ve bizim çalışmamızın aksine tümör boyutu ve moleküler subtipi ile ilişkili olduğu; ancak histolojik tanı, HER2 durumu, lenf nodu metastazı ve LVİ ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (4). Hee Jae Lee ve arkadaşlarının 471 triple negatif meme karsinomu vakasında yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD11c pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece ile ilişkili olduğu; patolojik evre, lenf nodu metastazı ve LVİ ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (71). Sofia Laforest ve arkadaşlarının 164 meme karsinomu vakasında yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD11c pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece ile ilişkili olduğu; tümör boyutu, patolojik evre, lenf nodu metastazı, bizim çalışmamızın aksine ER/PR durumu ve LVİ ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (112). Jun Fang ve arkadaşlarının meme karsinomunda yaptığı çalışmada tümör mikroçevresinde M1 fenotip makrofajları göstermek için kullanılan CD80 pozitif makrofaj ortalaması ile moleküler subtip arasında ilişki izlenmemiştir (113). Heng Zhang ve arkadaşlarının 180 mide karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD11c pozitif makrofaj ortalamasının histolojik derece, tümör boyutu, patolojik evre, tümör lokalizasyonu, cinsiyet, lenf nodu metastazı ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (114). Qing-Hua Shu ve arkadaşlarının 80 hepatosellüler karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki CD11c pozitif makrofaj ortalamasının yaş, cinsiyet, histolojik derece, tümör boyutu, patolojik evre, lenf nodu metastazı ve LVİ ile ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (115). Ancak literatür taramasında meme karsinomlarındaki histolojik tanı ile tümör çevresindeki CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasındaki bulgularımızı destekleyecek veya yanlışlayacak herhangi bir yayın bulunamamıştır. Bu çalışmalardaki bulgular bizim çalışmamızdaki histolojik tanı dışındaki bulguları direkt ya da dolaylı olarak destekler niteliktedir.

Çalışmamızdaki meme karsinomlarının CD44 açısından immünohistokimyasal değerlendirmesine bakıldığında tümörlerin %55'i pozitif, %45'i negatif iken; tümörde CD44 pozitifliği ile histolojik tanı, tümör çapı, lenf nodu metastazı, LVİ, histolojik derece, patolojik evre, ER ve PR durumu, HER2 overekspresyonu, Kİ67 indeksi ve moleküler subtip arasında anlamlı bir ilişki izlenmedi.

Zhengquan Han ve arkadaşlarının 325 meme karsinomu vakasıyla yaptığı çalışmada tümörlerin %54'ü CD44 pozitifken, %46'sı negatif izlenmiştir (61). W. Ma ve arkadaşlarının meme karsinomlarında yaptığı çalışmada tümörlerin %55'i CD44 pozitifken, %45'i negatif olarak tespit edildi (77). Bu çalışmalardaki meme karsinomlarında CD44 ekspresyon oranları ile bizim çalışmamızdaki oranlar benzerdir.

Sara Ricardo ve arkadaşlarının 466 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümörde CD44 pozitifliği ile tümör çapı, histolojik derece, ER ve PR durumu, HER2 durumu, Kİ67 indeksi arasında ilişki izlenmemişken; bizim çalışmamızın aksine lenf nodu metastazı ve moleküler subtip ile arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (3). E.D. Ryspayeva ve arkadaşlarının 45 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümörde CD44 pozitifliği ile moleküler subtip ve lenf nodu metastazı arasında ilişki izlenmemişken; bizim çalışmamızın aksine patolojik evre ile ilişkisi olduğu belirtilmiştir (79). Elena Sanmartin ve arkadaşlarının yaptığı 264 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümörde CD44 pozitifliği ile tümör boyutu, lenf nodu metastazı ve patolojik evre arasında ilişki izlenmemişken; bizim çalışmamızın aksine histolojik derece, LVİ ve moleküler subtip ile ilişki olduğu belirtilmiştir (9). Ying Zhong ve arkadaşlarının 126 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümörde CD44 pozitifliği ile tümör çapı, ER ve PR durumu, HER2 durumu, patolojik evre ve moleküler subtip arasında ilişki izlenmemişken; bizim

çalışmamızın aksine lenf nodu metastazı ile arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (64). Francisco Ferro de Beça ve arkadaşlarının 117 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümörde CD44 pozitifliği ile yüksek histolojik derece, bazı özel histolojik tanımlar (medüller ve metaplastik subtip) ve bazal benzere moleküler subtip arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (56). Francesca Collina ve arkadaşlarının 160 triple negatif meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümörde CD44 pozitifliği ile histolojik tip, histolojik derece, tümör çapı, Ki67 indeksi ve lenf nodu metastazı arasında ilişki izlenmediği belirtilmiştir (116). Tahani Louhichi ve arkadaşlarının 157 meme karsinomu vakası ile yaptığı çalışmada tümörde CD44 pozitifliği ile tümör çapı, lenf nodu metastazı, ER ve PR durumu ve moleküler subtip arasında ilişki izlenmemişken; bizim çalışmamızın aksine histolojik derece ile ilişki olduğu belirtilmiştir (117). Bu çalışmalardaki bulgulara bakıldığında bizim çalışmamızdaki bulguları destekleyen ve yanlışlayan birçok yayın mevcuttur. Buradaki çalışmalara ve literatürde tümörde CD44 ekspresyonu yönündeki diğer çalışmalara bakıldığında bulgular oldukça değişken ve birbirleri ile çelişir nitelikte oldukları gözlemlenmiştir.

Çalışmamızdaki meme karsinomlarının tümör mikroçevresindeki CD68, CD163, CD11c pozitif makrofaj ortalaması ve tümörde CD44 pozitifliği ile tümör odağı sayısı, sağ-sol taraf memede tümör varlığı ve meme karsinomlarındaki cerrahi yöntem arasında anlamlı bir ilişki izlenmedi. Yapılan literatür taramasında bu bulguları destekleyecek ya da yanlışlayacak herhangi bir yayın bulunamamıştır.

Çalışmamızdaki immünohistokimyasal pozitif boyanma miktarlarının birbirleriyle olan korelasyonları değerlendirildiğinde CD68 pozitif makrofaj ortalaması ile CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında ve de CD163 pozitif makrofaj ortalaması ile CD11c pozitif makrofaj ortalaması

arasında yüksek düzeyli doğrusal bir korelasyon varlığı saptandı. Bu korelasyona daha ayrıntılı baktığımızda; incelenen tüm gruplarda CD68 pozitif makrofaj ortalamasının CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından ve CD163 pozitif makrofaj ortalamasının da CD11c pozitif makrofaj ortalamasından daha fazla olduğunu görüldü. CD163 boyasının M2 fenotip makrofajları ve CD11c boyasının da M1 fenotip makrofajları boyarken, CD68 boyasının pan-makrofajları boyayan bir marker olması nedeniyle CD68 pozitif makrofaj ortalamasının CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamasından fazla olması beklenen bir durum idi. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara bu yönde oldu. Hasong Jeong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bizim çalışmamızı destekler nitelikte CD68 pozitif makrofaj ortalaması ile CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında yüksek düzeyli korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (4). TAM'lar genellikle M2 benzeri fenotip göstermeleri nedeniyle, tümör mikroçevresinde M2 fenotip makrofajlar daha baskındır (50, 118). Bu durum bizim çalışmamızdaki CD163 pozitif makrofaj ortalamaları ve CD11c pozitif makrofaj ortalamaları arasında bulunan yüksek düzeyli korelasyonu desteklemektedir. Tümör çevresindeki baskın M2 fenotip makrofaj ortamını M1 fenotip makrofaj ortamına çevirerek tümördeki ilerlemeyi yavaşlatmayı amaçlayan tedaviler için araştırmalar mevcuttur (118).

CD44 immünohistokimyasal pozitif boyanma özelliği ile diğer immünohistokimyasal boyamalar (TAM markerları: CD68, CD163, CD11c) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olmadığı saptandı. Satu Tiainen ve arkadaşlarının 278 meme karsinomu vakasında yaptığı çalışmada bizim çalışmamızın aksine TAM markerı için kullanılan CD163 ile CD44 arasında korelasyon olduğu izlenmiştir (7). Guoliang Zhang ve arkadaşlarının meme karsinomlarında yaptığı çalışmada bizim çalışmamızın aksine TAM markerı olarak kullanılan CD204 ve CD206 ile CD44 arasında korelasyon olduğu belirtilmiştir (119). Chaoya Ma ve

arkadaşlarının Renal Hücreli Karsinom vakalarındaki çalışmada bizim çalışmamızın aksine TAM markerı için kullanılan CD163 ile CD44 arasında korelasyon olduğu izlenmiştir (120). Patrice M. Witschen ve arkadaşlarının ratlarda üzerindeki meme karsinomlarında yaptığı çalışmada TAM için kullanılan CD206 ile CD44 arasında bir ilişki saptanamamıştır. Ancak bu çalışma insanlardaki meme karsinomlarındaki çalışmalarla desteklenememiştir (87). Bu konuda yapılan sınırlı çalışmalar bizim bulgularımızı desteklememektedir.

Tüm bu verilerle çalışmamızda invaziv meme karsinomlarında tümör mikroçevresinde yüksek TAM sayısı ortalaması (hem M1 hem M2 makrofajlar) yüksek histolojik derece, ER ve PR negatifliği ve yüksek Ki67 indeksi gibi kötü prognostik parametreler ile ilişkili bulunmuştur. Bu bulgular, TAM'ların meme kanserlerinde tümör oluşmasını ve ilerlemesini teşvik ettiği, tedaviye yanıtın azaldığı bunun sonucunda prognozu ve hastalıksız sağ kalımı olumsuz etkilediği öne süren çalışmaları destekler niteliktedir (3, 4, 56-59, 65, 79, 121).

TAM infiltrasyonu derecesi gelecek günlerde yeni bir prognostik belirteç olarak gündeme gelebilir (4) ve TAM'ları hedef alan tedavi yöntemleri geliştirilebilir. Bu tedavi yöntemleri ile tümör ilerlemesi engellenebilir, tedaviye yanıt artırılabilir, böylece prognoz daha olumlu hale gelerek hastalıksız sağ kalım süresi uzayabilir. Tüm bu öngörülerimizin kanıtlanması için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

Ayrıca meme karsinomlarında CSC tespiti için CD44 ile yaptığımız boyamalarda anlamlı bir ilişki saptanamamasının literatürdeki çelişkili bulgulara bu yönde katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

6.SONUÇLAR

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Bölümü'nde, 2010-2019 yılları arasında invaziv meme karsinomlarında CD68, CD163, CD11c ve CD44 ekspresyonlarının hormon reseptör, patolojik evre ve diğer prognostik parametreler ile ilişkisi immünohistokimyasal yöntem ile değerlendirilmiştir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar maddeler halinde aşağıda özetlenmiştir:

1- Çalışmamızdaki 150 hastanın hepsi kadındı. Hastaların yaş ortalaması $55,72 \pm 12,16$ olup hastalar 30-83 aralığındaydı.

2- Çalışmamızdaki meme karsinomlarının 81'i (%54) sağ meme, 69'u (%46) sol meme yerleşimli idi. Gönderilen materyallerin 51'i (%34) MRM, 99'u (%66) meme koruyucu cerrahi idi.

3- Çalışmamızdaki meme karsinomlarının 130'u (%86,7) İDK, 10'u (%6,7) İLK, 5'i (%3,3) Medüller Karsinom, 2'si (%1,3) Müsinöz Karsinom, 1'i (%0,7) Tübüler Karsinom, 1'i (%0,7) Sekretuar Karsinom, 1'i (%0,7) Mikst Karsinom tanısı almıştı.

4- Çalışmamızdaki meme karsinomlarının en küçüğü 0,5 cm, en büyüğü 10 cm çapa sahip olup, bu vakaların 64'ü (%42,7) ≤ 2 cm, 77'si (%51,3) 2-5cm, 9'u (%6) > 5 cm çapındaydı. Bu vakaların 138'inde (%92) tümör tek odak halinde bulunurken, 12'sinde (%8) tümör birden fazla odak halinde bulunmaktaydı.

5- Vakaların 83'ünde (%55,3) lenfovasküler invazyon izlenmezken 67'sinde (%44,7) lenfovasküler invazyon mevcuttu.

6- Vakaların 113'ünde (%75,3) aksiller lenf nodu metastazı izlenmezken, 37'sinde (%24,7) aksiller lenf nodu metastazı izlendi.

7- Çalışmamızdaki vakaların 34'ünün (%22,7) derece 1, 71'inin (%47,3) derece 2, 45'inin (%30) derece 3 histolojik dereceye sahip olduğu saptandı. Vakaların 54'ü (%36) evre I, 67'si (%44,7) evre IIA, 24'ü (%16) evre IIB, 5'i (%3,3) evre IIIA idi.

8- Vakaların 124'ünde (%87,7) ER pozitif iken 26'sında (%17,3) ER negatifdi, 112'ünde (%74,7) PR pozitif iken 38'sinde (%25,3) PR negatifdi.

9- Vakaların 132'sinde (%88) skor 0, 1'inde (0,7) skor 1, 4'ünde (%2,7) skor 2, 13'ünde (%8,7) skor 3 HER2 overekspresyonu izlendi.

10- Vakaların 94'ünde (%62,7) Kİ67 indeksi ≥ 14 iken 56'sında (%37,3) Kİ67 indeksi < 14 idi.

11- Çalışmaya dahil edilen vakaların 56'sının (%37,3) luminal A, 60'ının (%40) luminal B-HER2 negatif, 9'unun (%6) luminal B- HER2 pozitif, 9'unun (%6) HER2 pozitif, 16'sının (10,7) bazal benzeri moleküler fenotipte olduğu tespit edildi.

12- Çalışmamızdaki meme kansinolarında histolojik tanısı ile tümör mikroçevresindeki CD68 pozitif makrofaj ortalaması arasında anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,010$). Bu farkın İLK ve diğler olarak gruplanan tümörler arasında olduğu görüldü ($p=0,007$). Ancak meme kansinolarında tümörün histolojik tanısı ile tümör mikroçevresindeki CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

13- Çalışmamızdaki meme kansinolarında tümör çapı ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

14- Çalışmamızdaki meme kansinolarında tümör odağı sayısı, sağ-sol taraf memede tümör varlığı ve meme kansinolarındaki cerrahi yöntem ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olmadığı saptandı.

15- Çalışmamızdaki meme kansinolarında lenf nodu metastazı varlığı ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

16- Çalışmamızdaki meme kansinolarında LVİ varlığı ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

17- Çalışmamızdaki meme karsinomlarında tümörün histolojik derecesi ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalamalarının histolojik derece derece 1 ile derece 3 ve derece 2 ile derece 3 arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edildi (tüm gruplarda $p<0,001$); ancak derece 1 ile derece 2 arasında anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edildi.

18- Çalışmamızdaki meme karsinomlarında patolojik evre ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

19- Çalışmamızdaki meme karsinomlarında tümörün ER negatifliği ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında anlamlı bir fark tespit edildi (CD68- $p<0,001$, CD163- $p<0,001$, CD11c- $p<0,001$).

20- Çalışmamızdaki meme karsinomlarında tümörün PR negatifliği ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortalaması arasında anlamlı bir fark tespit edildi (CD68- $p=0,032$, CD163- $p=0,006$, CD11c- $p=0,037$).

21- Çalışmamızdaki meme karsinomlarında tümörün yüksek HER2 skoru ile tümör mikroçevresindeki CD11c pozitif makrofaj sayıları arasında anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0,001$). Ancak meme karsinomlarında tümörün HER2 skoru ile tümör mikroçevresindeki CD68 ve CD163 pozitif makrofaj ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

22- Çalışmamızdaki meme kansinolarında tümörün yüksek Kİ67 indeksi ile tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj ortaması arasında anlamlı bir fark tespit edildi (CD68-p<0,001, CD163-p<0,001, CD11c-p<0,001).

23- Çalışmamızdaki meme kansinolarında tümörün moleküler subtiplemesi ile tümör mikroçevresindeki CD163 pozitif makrofajlar arasında anlamlı bir fark tespit edildi (p=0,040). Luminal A subtipinin luminal B subtipine göre daha fazla CD163 pozitif makrofaj ortalamasına sahip olduğu görüldü (p=0,045). Ancak meme kansinolarında tümörün moleküler subtiplemesi ile tümör mikroçevresindeki CD68 ve CD11c pozitif makrofajlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

24- Çalışmamızdaki meme kansinolarının %55'i CD44 ile pozitifken, %45'i CD44 ile negatif olduğu tespit edildi.

25- Çalışmamızdaki meme kansinolarında tümörde CD44 pozitifliği ile histolojik tanı, tümör çapı, lenf nodu metastazı, lenfovasküler invazyon (LVI), histolojik derece, patolojik evre, ER ve PR negatifliği, HER2 overekspresyonu, Kİ67 indeksi, moleküler subtipi, tümör odağı sayısı, sağ-sol taraf memede tümör varlığı ve meme kansinolarındaki cerrahi yöntem arasında anlamlı bir ilişki olmadığı saptandı.

26- Çalışmamızdaki immünohistokimyasal pozitif boyanma özelliklerinin birbirleriyle olan korelasyonunda CD68 pozitif makrofaj ortalaması ile CD163 (p<0,001, r=0,878) ve CD11c (p<0,001, r=0,602) pozitif makrofaj ortalaması arasında ve de CD163 pozitif makrofaj

ortalaması ile CD11c ($p<0,001$, $r=0,502$) pozitif makrofaj ortalaması arasında yüksek düzeyli doğrusal bir korelasyon varlığı saptandı.

27- Çalışmamızdaki CD44 immünohistokimyasal pozitif boyanma özelliği ile diğer immünohistokimyasal boyaların (TAM markerları) boyanma özellikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olmadığı saptandı.

28- Çalışmamızda meme karsinomlarında TAM belirteçleri olarak kullanılan CD68, CD163 ve CD11c eksprese eden makrofaj yoğunluğu ile yüksek histolojik derece, ER ve PR negatifliği ve yüksek Kİ67 indeksi gibi kötü prognostik parametreler arasında anlamlı ilişki bulundu. Bu ilişki gelecekte meme kanserinde yeni bir prognostik faktör olarak kullanılabilir ve meme kanserlerinde hedefe yönelik tedaviler için alternatif yeni bir yol olarak kullanılabilir.

29- Çalışmamızda meme karsinomlarında tümörde CD44 pozitifliği ile kötü prognostik parametreler arasında öngördüğümüz ilişki bulunamamıştır. Daha fazla vaka ile bu ilişkiyi araştırılmaya devam edilmeli ve literatürdeki çelişkili veriler aydınlatılmalıdır.

30- Meme karsinomlarında TAM ile CSC'nin birlikte değerlendirildiği ve klinik parametreler ile karşılaştırıldığı çalışmalar oldukça az sayıda olmakla birlikte çelişkili bulgular da içermektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar literatürdeki verileri genişletecek ve bu konudaki araştırmalara ışık tutacak niteliktedir.

31- Bu konularda geniş seriler ile ve klinik tedavi basamaklarını da içine alan ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.



7.ÖZET

İnvaziv meme karsinomu dünyada kadınlarda en sık tanı alan kanserdir. Mortalitesi gelişen tedavilerle azalmış olsa da hala kadınlarda kansere bağlı ölümlerde ikinci sıradadır. Meme kanseri tedavisi her hastada tümörün özelliklerine göre değişkenlik göstermekte ve cerrahi, radyoterapi, kemoterapi, hormonoterapi, hedefe yönelik tedaviler gibi birçok yöntemin kombinasyonu şeklinde uygulanmaktadır.

Meme karsinomlarında, tümör mikroçevresinde oldukça farklı hücre popülasyonları mevcut olup bu hücrelerin başında TAM'lar gelir. TAM'lar M1 ve M2 olarak polarite gösterir. Tümör mikroçevresinde pro-tümörojenik ve anti-inflamatuar özellik gösteren M2 makrofajlar baskın olarak bulunur. Meme karsinomlarında TAM'ların tümör ilerlemesini teşvik ederek kötü prognoz, tümör büyümesi ve metastaz ile ilişkili oldukları düşünülmektedir. Bununla birlikte CSC'lerin sınırsız çoğalma ve tümörojenik potansiyele sahip, kök hücre benzeri özelliklerinden dolayı tümör büyümesi, ilerlemesi ve metastazında rol aldıklarına inanılır. İnvaziv meme karsinomlarında tümör mikroçevresinde TAM oranının ve tümörde CSC belirteçlerinin önemi anlaşılabilirse bu antiteler yeni prognostik faktörler olarak kullanılabilir ve hatta bunları hedef alan tedavi yaklaşımları geliştirilebilir.

Bu çalışmada 2010-2019 yılları arasında tanı alan invaziv meme karsinomlarında tümör mikroçevresinde CD68, CD163, CD11c ve tümörde CD44 ekspresyonlarının hormon reseptör durumu, patolojik evre ve diğer prognostik parametreler ile ilişkisini immünohistokimyasal yöntem ile değerlendirildik. Çalışmamız için 01.01.2010-30.09.2019 tarihleri arasında hastanemizde meme karsinomu sebebiyle opere edilmiş 150 vakaya ait rezeksiyon materyallerinin tümör blokları kullanıldı. Bu bloklara ait kesitlere CD68, CD163, CD11c ve CD44 antikorları ile immünohistokimyasal boyama yöntemi uygulandı. Boyama sonuçları ışık mikroskopu altında

değerlendirildi. İstatiksel değerlendirmede elde edilen veriler SPSS v22 programı kullanılarak hesaplandı.

İnvaziv meme karsinomlarında histolojik derecesi yüksek olan vakalarda, ER ve PR negatif olan vakalarda ve yüksek Kİ67 indeksine sahip vakalarda tümör mikroçevresinde CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj sayısı daha fazla idi. Bunlara ek olarak invaziv meme karsinomları özel alt tiplerinde tümör mikroçevresinde CD68 makrofaj sayısı, moleküler subtiplerden luminal B'ye oranla luminal A'da tümör mikroçevresinde CD163 makrofaj sayısı ve HER2 skor 3 vakalarda tümör mikroçevresinde CD11c makrofaj sayısı daha fazla idi. Ancak tümör mikroçevresinde CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj sayısının tümör çapı, odak sayısı, operasyon tipi, lenf nodu metastazı, LVİ ve patolojik evre ile ilişkili olmadıkları saptandı. Tümör mikroçevresinde CD68 pozitif makrofaj sayısı CD163 ve CD11c pozitif makrofaj sayısından ve CD163 pozitif makrofaj sayısı da CD11c pozitif makrofaj sayısından fazla olduğu tespit edildi.

İnvaziv meme karsinomlarında tümörde CD44 ekspresyonunun histolojik tanı, tümör çapı, odak sayısı, operasyon tipi, lenf nodu metastazı, LVİ, histolojik derece, patolojik evre, ER ve PR negatifliği, HER2 overekspresyonu, Kİ67 indeksi, moleküler subtip ile ilişkili olmadığı görüldü.

Ayrıca CD68 pozitif makrofaj sayısı ile CD163 ve CD11c pozitif makrofaj sayısı arasında ve CD163 pozitif makrofaj sayısı ile CD11c pozitif makrofaj sayısı arasında yüksek düzeyli doğrusal bir korelasyon saptandı. Tümörde CD44 boyanması ile diğer parametreler arasında herhangi bir korelasyon görülmedi.

Sunu olarak invaziv meme karsinomlarında tümör mikroçevresindeki CD68, CD163 ve CD11c pozitif makrofaj sayısı gelecekte yeni bir prognostik faktör ve hedefe yönelik tedaviler için alternatif yeni bir yol olarak kullanılabilir. Meme karsinomlarında CD44 pozitifliği ile prognostik parametreler arasında ilişki izlenmemesi de literatüre bu yönde katkı sağlayacaktır.



8. SUMMARY

Invasive breast carcinoma is the most common cancer diagnosed in women in the world. Although mortality has decreased with the developing treatments, it still ranks second in cancer-related deaths in women. Breast cancer treatment varies according to the characteristics of the tumor in each patient and is applied in a combination of many methods such as surgery, radiotherapy, chemotherapy, hormonotherapy and targeted therapies.

In breast carcinomas, there are quite different cell populations in the tumor microenvironment, and TAMs are the most important cells. TAMs show polarity as M1 and M2. Within the tumor microenvironment, M2 macrophages with pro-tumorigenic and anti-inflammatory properties are predominant. TAMs in breast carcinomas are thought to be associated with poor prognosis, tumor growth and metastasis by promoting tumor progression. However, CSCs are believed to play a role in tumor growth, progression and metastasis due to their stem cell-like properties that have unlimited proliferation and tumorigenic potential. If the importance of TAM ratio in tumor microenvironment and CSC markers in tumor in invasive breast carcinomas can be understood, these entities can be used as new prognostic factors and even treatment approaches targeting them can be developed.

In this study, we evaluated the relationship between the expression of CD68, CD163, CD11c in the tumor microenvironment and CD44 in the tumor with hormone receptor status, pathological stage and other prognostic parameters in invasive breast carcinomas diagnosed between 2010 and 2019 by immunohistochemical method. For our study, tumor blocks of resection materials of 150 cases who were operated for breast

carcinoma in our hospital between the dates 01.01.2010-30.09.2019 were used. Immunohistochemical staining method was applied to the sections of these blocks with antibodies CD68, CD163, CD11c and CD44. Staining results were evaluated under a light microscope. The data obtained in the statistical evaluation were calculated using the SPSS v22 program.

The number of CD68, CD163 and CD11c positive macrophages in all microenvironment was higher in cases with high histological grade in invasive breast carcinomas, negative ER and PR cases, and cases with high KI67 index. In addition, the number of CD68 macrophages in the tumor microenvironment in invasive breast carcinomas special subtypes, CD163 macrophages in the tumor microenvironment in luminal A compared to the molecular subtypes and CD11c macrophages in the tumor microenvironment in HER2 score 3 cases were higher. However, it was found that the number of CD68, CD163 and CD11c positive macrophages in the tumor microenvironment was not associated with tumor size, number of foci, type of operation, lymph node metastasis, LVI, and pathological stage. In the tumor microenvironment, the number of macrophages stained for CD68 was higher than the number of macrophages stained with CD163 and CD11c, and the number of macrophages stained with CD163 was higher than the number of macrophages stained with CD11c.

It was observed that CD44 expression in the tumor in invasive breast carcinomas was not associated with histological diagnosis, tumor diameter, focal number, type of operation, lymph node metastasis, LVI, histological grade, pathological stage, ER and PR negativity, HER2 overexpression, KI67 index, molecular subtype.

In addition, a high level linear correlation was found between the number of macrophages stained with CD68 and the number of macrophages stained with CD163 and CD11c, and between the number of macrophages stained with CD163 and the number of macrophages stained with CD11c. There was no correlation observed between CD44 staining in the tumor and other parameters.

Presently, the number of CD68, CD163 and CD11c positive macrophages in the tumor microenvironment in invasive breast carcinomas can be used as a new prognostic factor and an alternative new route for targeted therapies in the future. Failure to observe a relationship between CD44 positivity and prognostic parameters in breast carcinomas will contribute to the literature in this direction.

9. KAYNAKLAR

1. Ferlay J, Shin H, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin D. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 10 Lyon. France: International Agency for Research on Cancer. 2014.
2. Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH, Vijver MJvd. WHO Classification of Tumours of the Breast. 4 ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2012.
3. Ricardo S, Vieira AF, Gerhard R, Leitão D, Pinto R, Cameselle-Teijeiro JF, et al. Breast cancer stem cell markers CD44, CD24 and ALDH1: expression distribution within intrinsic molecular subtype. Journal of clinical pathology. 2011;64(11):937-46.
4. Jeong H, Hwang I, Kang SH, Shin HC, Kwon SY. Tumor-associated macrophages as potential prognostic biomarkers of invasive breast cancer. Journal of breast cancer. 2019;22(1):38-51.
5. Can NY, Ayturk S, Celik M, Sezer YA, Ozyilmaz F, Tastekin E, et al. Histological perspective on the effects of tumor-associated macrophages in the tumor microenvironment surrounding papillary thyroid carcinoma. Polish Journal of Pathology. 2016;67(4):332-44.
6. Aras S, Zaidi MR. TAMEless traitors: macrophages in cancer progression and metastasis. British journal of cancer. 2017;117(11):1583-91.
7. Tiainen S, Tumelius R, Rilla K, Hämäläinen K, Tammi M, Tammi R, et al. High numbers of macrophages, especially M2-like (CD 163-positive), correlate with hyaluronan accumulation and poor outcome in breast cancer. Histopathology. 2015;66(6):873-83.
8. Mou W, Xu Y, Ye Y, Chen S, Li X, Gong K, et al. Expression of Sox2 in breast cancer cells promotes the recruitment of M2

macrophages to tumor microenvironment. *Cancer letters*. 2015;358(2):115-23.

9. Sanmartín E, Ortiz-Martínez F, Pomares-Navarro E, García-Martínez A, Rodrigo-Baños M, García-Escolano M, et al. CD44 induces FOXP3 expression and is related with favorable outcome in breast carcinoma. *Virchows Archiv*. 2017;470(1):81-90.

10. Javed A, Lteif A. *Development of the human breast*: Thieme Medical Publishers; 2013. 5-12 p.

11. Mills S. *Histology for pathologists*: Lippincott Williams & Wilkins; 2012. 62-82 p.

12. Dabbs DJ. *Breast Pathology*: Elsevier Health Sciences; 2012. 65-71 p.

13. Cowin P, Wysolmerski J. Molecular mechanisms guiding embryonic mammary gland development. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2010;2(6):a003251.

14. Osin P, Anbazhagan R, Bartkova J, Nathan B, Gusterson B. Breast development gives insights into breast disease. *Histopathology*. 1998;33(3):275-83.

15. Hovey RC, Trott JF, Vonderhaar BK. Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*. 2002;7(1):17-38.

16. Tavassoli FA. *Pathology of the Breast*: McGraw Hill Professional; 1999. 403-41 p.

17. Mills SE, Greenson JK, Hornick JL, Longacre TA, Reuter VE. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. 6 ed. Istanbul-2015: Wolters Kluwer Health; 2015. 323-30 p.

18. Russo J, Rivera R, Russo I. Influence of age and parity on the development of the human breast. Breast cancer research and treatment. 1992;23(3):211-8.
19. Sadler TW, Başaklar AC, Sönmez K. Langman's medikal embriyoloji: Palme Yayıncılık; 1996.
20. Moore K. Clinically Oriented Anatomy. 4th ed. 1999: Lippincott Williams & Wilkins - Wolters Kluwer Health. 71-9 p.
21. Rosen PP. Rosen's breast pathology: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. 27-35 p.
22. Going JJ, Moffat DF. Escaping from Flatland: clinical and biological aspects of human mammary duct anatomy in three dimensions. The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland. 2004;203(1):538-44.
23. Jesinger RA. Breast anatomy for the interventionalist. Techniques in vascular and interventional radiology. 2014;17(1):3-9.
24. Schnitt SJ, Collins LC. Biopsy interpretation of the breast: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
25. Russo J, Russo IH. Techniques and methodological approaches in breast cancer research. 2014.
26. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. CA: a cancer journal for clinicians. 2007;57(1):43-66.
27. Rehberi UTT, Bakanlığı S. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Sağlık Bakanlığı Yayın. 2014(935).
28. Özmen V, Özmen T, Doğru V. Breast Cancer in Turkey; An analysis of 20.000 patients with breast cancer. European Journal of Breast Health. 2019;15(3):141.

29. Warner E. Breast-cancer screening. *New England Journal of Medicine*. 2011;365(11):1025-32.
30. Alteri R, Bertaut T, Brooks D, Chambers W, Chang E, DeSantis C, et al. Cancer facts & figures 2015. American Cancer Society, Atlanta. 2015:58-72.
31. Kumar A, Abbas AK, Jon C. Aster. Robbins basic pathology. An Imprint of Elsevier, 9th Edition, Reprinted in. 2013;2016.
32. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology e-book: Elsevier Health Sciences; 2011.
33. Fitzgibbons PL, Connolly JL, Bose S, Chen Y-Y, Monica P, Baca Ed, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with invasive carcinoma of the breast. College of American Pathologists. 2020(8).
34. Eliyatkin N, Yalçın E, Zengel B, Aktaş S, Vardar E. Molecular classification of breast carcinoma: from traditional, old-fashioned way to a new age, and a new way. *The journal of breast health*. 2015;11(2):59.
35. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, Van De Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *nature*. 2000;406(6797):747-52.
36. Korde LA, Lusa L, McShane L, Lebowitz PF, Lukes L, Camphausen K, et al. Gene expression pathway analysis to predict response to neoadjuvant docetaxel and capecitabine for breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2010;119(3):685-99.
37. Burugu S, Asleh-Aburaya K, Nielsen TO. Immune infiltrates in the breast cancer microenvironment: detection, characterization and clinical implication. *Breast cancer*. 2017;24(1):3-15.

38. Mahmoud S, Lee A, Paish E, Macmillan R, Ellis I, Green A. Tumour-infiltrating macrophages and clinical outcome in breast cancer. *Journal of clinical pathology*. 2012;65(2):159-63.
39. Medrek C, Pontén F, Jirstrom K, Leandersson K. The presence of tumor associated macrophages in tumor stroma as a prognostic marker for breast cancer patients. *BMC cancer*. 2012;12(1):306.
40. Gwak JM, Jang MH, Kim DI, Seo AN, Park SY. Prognostic value of tumor-associated macrophages according to histologic locations and hormone receptor status in breast cancer. *PloS one*. 2015;10(4):e0125728.
41. Yang J, Li X, Liu X, Liu Y. The role of tumor-associated macrophages in breast carcinoma invasion and metastasis. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015;8(6):6656.
42. Lindsten T, Hedbrant A, Ramberg A, Wijkander J, Solterbeck A, Eriksson M, et al. Effect of macrophages on breast cancer cell proliferation, and on expression of hormone receptors, uPAR and HER-2. *International journal of oncology*. 2017;51(1):104-14.
43. Lewis C, Leek R, Harris A, McGee JD. Cytokine regulation of angiogenesis in breast cancer: the role of tumor-associated macrophages. *Journal of leukocyte biology*. 1995;57(5):747-51.
44. Ngambenjawong C, Gustafson HH, Pun SH. Progress in tumor-associated macrophage (TAM)-targeted therapeutics. *Advanced drug delivery reviews*. 2017;114:206-21.
45. Schulz C, Perdiguero EG, Chorro L, Szabo-Rogers H, Cagnard N, Kierdorf K, et al. A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells. *Science*. 2012;336(6077):86-90.

46. Mass E, Ballesteros I, Farlik M, Halbritter F, Günther P, Crozet L, et al. Specification of tissue-resident macrophages during organogenesis. *Science*. 2016;353(6304).
47. Ramanathan S, Jagannathan N. Tumor associated macrophage: a review on the phenotypes, traits and functions. *Iranian journal of cancer prevention*. 2014;7(1):1.
48. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nature reviews immunology*. 2003;3(1):23-35.
49. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends in immunology*. 2004;25(12):677-86.
50. Belgiovine C, D'Incalci M, Allavena P, Frapolli R. Tumor-associated macrophages and anti-tumor therapies: complex links. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2016;73(13):2411-24.
51. Biswas SK, Mantovani A. Orchestration of metabolism by macrophages. *Cell metabolism*. 2012;15(4):432-7.
52. Mantovani A, Sica A. Macrophages, innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity. *Current opinion in immunology*. 2010;22(2):231-7.
53. Etzerodt A, Moestrup SK. CD163 and inflammation: biological, diagnostic, and therapeutic aspects. *Antioxidants & redox signaling*. 2013;18(17):2352-63.
54. Ni C, Yang L, Xu Q, Yuan H, Wang W, Xia W, et al. CD68- and CD163-positive tumor infiltrating macrophages in non-metastatic breast cancer: a retrospective study and meta-analysis. *Journal of Cancer*. 2019;10(19):4463.
55. Campbell MJ, Tonlaar NY, Garwood ER, Huo D, Moore DH, Khramtsov AI, et al. Proliferating macrophages associated with high

grade, hormone receptor negative breast cancer and poor clinical outcome. *Breast cancer research and treatment*. 2011;128(3):703-11.

56. de Beça FF, Caetano P, Gerhard R, Alvarenga CA, Gomes M, Paredes J, et al. Cancer stem cells markers CD44, CD24 and ALDH1 in breast cancer special histological types. *Journal of clinical pathology*. 2013;66(3):187-91.

57. Owens TW, Naylor MJ. Breast cancer stem cells. *Frontiers in physiology*. 2013;4:225.

58. Roberto Oliveira L, Jeffrey SS, Ribeiro Silva A. Stem cells in human breast cancer. *Histology and histopathology*. 2010.

59. Rabinovich I, Sebastião APM, Lima RS, de Andrade Urban C, Schunemann Jr E, Anselmi KF, et al. Cancer stem cell markers ALDH1 and CD44+/CD24–phenotype and their prognosis impact in invasive ductal carcinoma. *European journal of histochemistry: EJH*. 2018;62(3).

60. Dawood S, Austin L, Cristofanilli M. Cancer stem cells: implications for cancer therapy. *Oncology*. 2014;28(12).

61. Han Z, Chen Z, Zheng R, Cheng Z, Gong X, Wang D. Clinicopathological significance of CD133 and CD44 expression in infiltrating ductal carcinoma and their relationship to angiogenesis. *World journal of surgical oncology*. 2015;13(1):56.

62. Qiu Y, Pu T, Guo P, Wei B, Zhang Z, Zhang H, et al. ALDH+/CD44+ cells in breast cancer are associated with worse prognosis and poor clinical outcome. *Experimental and molecular pathology*. 2016;100(1):145-50.

63. Xu H, Wu K, Tian Y, Liu Q, Han N, Yuan X, et al. CD44 correlates with clinicopathological characteristics and is upregulated by EGFR in breast cancer. *International journal of oncology*. 2016;49(4):1343-50.

64. Zhong Y, Shen S, Zhou Y, Mao F, Guan J, Lin Y, et al. ALDH1 is a better clinical indicator for relapse of invasive ductal breast cancer than the CD44+/CD24- phenotype. *Medical oncology*. 2014;31(3):864.
65. Butti R, Gunasekaran VP, Kumar TV, Banerjee P, Kundu GC. Breast cancer stem cells: Biology and therapeutic implications. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2019;107:38-52.
66. Chistiakov DA, Killingsworth MC, Myasoedova VA, Orekhov AN, Bobryshev YV. CD68/macrosialin: not just a histochemical marker. *Laboratory Investigation*. 2017;97(1):4-13.
67. Holness CL, Simmons DL. Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. 1993.
68. Zhao X, Qu J, Sun Y, Wang J, Liu X, Wang F, et al. Prognostic significance of tumor-associated macrophages in breast cancer: a meta-analysis of the literature. *Oncotarget*. 2017;8(18):30576.
69. Fujisaka S, Usui I, Bukhari A, Ikutani M, Oya T, Kanatani Y, et al. Regulatory mechanisms for adipose tissue M1 and M2 macrophages in diet-induced obese mice. *Diabetes*. 2009;58(11):2574-82.
70. Bilsland C, Diamond MS, Springer TA. The leukocyte integrin p150, 95 (CD11c/CD18) as a receptor for iC3b. Activation by a heterologous beta subunit and localization of a ligand recognition site to the I domain. *The Journal of Immunology*. 1994;152(9):4582-9.
71. Lee H, Lee HJ, Song IH, Bang WS, Heo S-H, Gong G, et al. CD11c-positive dendritic cells in triple-negative breast cancer. *in vivo*. 2018;32(6):1561-9.
72. Chen C, Zhao S, Karnad A, Freeman JW. The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *Journal of hematology & oncology*. 2018;11(1):64.

73. Goodison S, Urquidi V, Tarin D. CD44 cell adhesion molecules. *Molecular pathology*. 1999;52(4):189.
74. Bourguignon LY. CD44-mediated oncogenic signaling and cytoskeleton activation during mammary tumor progression. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*. 2001;6(3):287-97.
75. Senbanjo LT, Chellaiah MA. CD44: a multifunctional cell surface adhesion receptor is a regulator of progression and metastasis of cancer cells. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2017;5:18.
76. Brown RL, Reinke LM, Damerow MS, Perez D, Chodosh LA, Yang J, et al. CD44 splice isoform switching in human and mouse epithelium is essential for epithelial-mesenchymal transition and breast cancer progression. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(3):1064-74.
77. Ma W, Deng Y, Zhou L. The prognostic value of adhesion molecule CD44v6 in women with primary breast carcinoma: a clinicopathologic study. *Clinical oncology*. 2005;17(4):258-63.
78. Morris S, McLaughlin R, McHale T, Connolly G, Given H. The prognostic significance of CD44s and CD44v6 expression in stage two breast carcinoma: an immunohistochemical study. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*. 2001;27(6):527-31.
79. Ryspayeva D, Smolanka I, Dudnichenko A, Lyashenko A, Grinevich YA, Gurianov V, et al. Are CD44⁺/CD24⁻ cells the assumed cancer stem cells in breast cancer? *Experimental oncology*. 2017.
80. Benson JR, Jatoi I. Breast Cancer in Turkey; An analysis of 20.000 patients with breast cancer
Future oncology. 2012;8(6):697-702.

81. Li J, Chen Z, Su K, Zeng J. Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015;8(7):8500.
82. Komohara Y, Hasita H, Ohnishi K, Fujiwara Y, Suzu S, Eto M, et al. Macrophage infiltration and its prognostic relevance in clear cell renal cell carcinoma. *Cancer science*. 2011;102(7):1424-31.
83. Campbell I, Lao C, Blackmore T, Edwards M, Hayes L, Ng A, et al. Surgical treatment of early stage breast cancer in the Auckland and Waikato regions of New Zealand. *ANZ journal of surgery*. 2018;88(12):1263-8.
84. Liu C, Li Y, Yu J, Feng L, Hou S, Liu Y, et al. Targeting the shift from M1 to M2 macrophages in experimental autoimmune encephalomyelitis mice treated with fasudil. *PloS one*. 2013;8(2):e54841.
85. Jayasingam SD, Citartan M, Thang TH, Mat Zin AA, Ang KC, Ch'ng ES. Evaluating the polarization of tumor-associated macrophages into M1 and M2 phenotypes in human cancer tissue: technicalities and challenges in routine clinical practice. *Frontiers in oncology*. 2020;9:1512.
86. Mitsi E, Kamng'ona R, Rylance J, Solórzano C, Reiné JJ, Mwandumba HC, et al. Human alveolar macrophages predominately express combined classical M1 and M2 surface markers in steady state. *Respiratory research*. 2018;19(1):1-4.
87. Witschen PM, Chaffee TS, Brady NJ, Huggins DN, Knutson TP, LaRue RS, et al. Tumor Cell Associated Hyaluronan-CD44 Signaling Promotes Pro-Tumor Inflammation in Breast Cancer. *Cancers*. 2020;12(5):1325.
88. Weiss HA, Devesa SS, Brinton LA. Laterality of breast cancer in the United States. *Cancer Causes & Control*. 1996;7(5):539-43.

89. Tulinius H, Sigvaldason H, Olafsdottir G. Left and right sided breast cancer. *Pathology-Research and Practice*. 1990;186(1):92-4.
90. Temple WJ, Russell ML, Parsons LL, Huber SM, Jones CA, Bankes J, et al. Conservation surgery for breast cancer as the preferred choice: a prospective analysis. *Journal of Clinical Oncology*. 2006;24(21):3367-73.
91. Stafford D, Szczys R, Becker R, Anderson J, Bushfield S. How breast cancer treatment decisions are made by women in North Dakota. *The American journal of surgery*. 1998;176(6):515-9.
92. Sopik V, Narod SA. The relationship between tumour size, nodal status and distant metastases: on the origins of breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2018;170(3):647-56.
93. Ferguson NL, Bell J, Heidel R, Lee S, VanMeter S, Duncan L, et al. Prognostic value of breast cancer subtypes, Ki-67 proliferation index, age, and pathologic tumor characteristics on breast cancer survival in Caucasian women. *The breast journal*. 2013;19(1):22-30.
94. Vera-Badillo FE, Napoleone M, Ocana A, Templeton AJ, Seruga B, Al-Mubarak M, et al. Effect of multifocality and multicentricity on outcome in early stage breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast cancer research and treatment*. 2014;146(2):235-44.
95. Walstra CJ, Schipper R-J, Poodt IG, Maaskant-Braat AJ, Luiten EJ, Peeters M-JTV, et al. Multifocality in ipsilateral breast tumor recurrence-A study in ablative specimens. *European Journal of Surgical Oncology*. 2020;46(8):1471-6.
96. An Y-S, Kang DK, Jung Y, Kim TH. Volume-based metabolic parameter of breast cancer on preoperative 18F-FDG PET/CT could predict axillary lymph node metastasis. *Medicine*. 2017;96(45).

97. Yun SJ, Sohn Y-M, Seo M. Risk stratification for axillary lymph node metastases in breast cancer patients: what clinicopathological and radiological factors of primary breast cancer can predict preoperatively axillary lymph node metastases? *Ultrasound Quarterly*. 2017;33(1):15-22.
98. Sang Y, Kong X, Li X, Jiang L, Ma T, Zhao W, et al. Langer's axillary arch lymph node metastasis in breast cancer patients: A prospective clinical study. *Surgical oncology*. 2019;29:48-52.
99. Liu YL, Saraf A, Lee SM, Zhong X, Hibshoosh H, Kalinsky K, et al. Lymphovascular invasion is an independent predictor of survival in breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Breast cancer research and treatment*. 2016;157(3):555-64.
100. Sonbul SN, Aleskandarany MA, Kurozumi S, Joseph C, Toss MS, Diez-Rodriguez M, et al. *Saccharomyces cerevisiae*-like 1 (SEC14L1) is a prognostic factor in breast cancer associated with lymphovascular invasion. *Modern Pathology*. 2018;31(11):1675-82.
101. Ryu YJ, Kang SJ, Cho JS, Yoon JH, Park MH. Lymphovascular invasion can be better than pathologic complete response to predict prognosis in breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Medicine*. 2018;97(30).
102. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19(5):403-10.
103. Aho M, Irshad A, Ackerman SJ, Lewis M, Leddy R, Pope TL, et al. Correlation of sonographic features of invasive ductal mammary carcinoma with age, tumor grade, and hormone-receptor status. *Journal of Clinical Ultrasound*. 2013;41(1):10-7.

104. Abdel-Rahman O. Validation of the 8th AJCC prognostic staging system for breast cancer in a population-based setting. *Breast cancer research and treatment*. 2018;168(1):269-75.
105. Zick SM, Colacino J, Cornellier M, Khabir T, Surnow K, Djuric Z. Fatigue reduction diet in breast cancer survivors: a pilot randomized clinical trial. *Breast cancer research and treatment*. 2017;161(2):299-310.
106. Stevanovic L, Choschzick M, Moskovszky L, Varga Z. Variability of predictive markers (hormone receptors, Her2, Ki67) and intrinsic subtypes of breast cancer in four consecutive years 2015–2018. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2019;145(12):2983-94.
107. Falck A-K, Bendahl P-O, Chebil G, Olsson H, Fernö M, Rydén L. Biomarker expression and St Gallen molecular subtype classification in primary tumours, synchronous lymph node metastases and asynchronous relapses in primary breast cancer patients with 10 years' follow-up. *Breast cancer research and treatment*. 2013;140(1):93-104.
108. Sousa S, Brion R, Lintunen M, Kronqvist P, Sandholm J, Mönkkönen J, et al. Human breast cancer cells educate macrophages toward the M2 activation status. *Breast cancer research*. 2015;17(1):1-14.
109. Cha YJ, Kim E-S, Koo JS. Tumor-associated macrophages and crown-like structures in adipose tissue in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2018;170(1):15-25.
110. Esbona K, Yi Y, Saha S, Yu M, Van Doorn RR, Conklin MW, et al. The presence of cyclooxygenase 2, tumor-associated macrophages, and collagen alignment as prognostic markers for invasive breast carcinoma patients. *The American journal of pathology*. 2018;188(3):559-73.

111. Miyasato Y, Shiota T, Ohnishi K, Pan C, Yano H, Horlad H, et al. High density of CD 204-positive macrophages predicts worse clinical prognosis in patients with breast cancer. *Cancer science*. 2017;108(8):1693-700.
112. Laforest S, Ennour-Idrissi K, Ouellette G, Gauthier M-F, Michaud A, Durocher F, et al. Associations between markers of mammary adipose tissue dysfunction and breast cancer prognostic factors. *International Journal of Obesity*. 2020:1-11.
113. Fang J, Chen F, Liu D, Gu F, Chen Z, Wang Y. Prognostic value of immune checkpoint molecules in breast cancer. *Bioscience reports*. 2020;40(7).
114. Zhang H, Wang X, Shen Z, Xu J, Qin J, Sun Y. Infiltration of diametrically polarized macrophages predicts overall survival of patients with gastric cancer after surgical resection. *Gastric cancer*. 2015;18(4):740-50.
115. Shu QH, Ge YS, Ma HX, Gao XQ, Pan JJ, Liu D, et al. Prognostic value of polarized macrophages in patients with hepatocellular carcinoma after curative resection. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2016;20(6):1024-35.
116. Collina F, Di Bonito M, Li Bergolis V, De Laurentiis M, Vitagliano C, Cerrone M, et al. Prognostic value of cancer stem cells markers in triple-negative breast cancer. *BioMed research international*. 2015;2015.
117. Louhichi T, Ziadi S, Saad H, Dhiab MB, Mestiri S, Trimeche M. Clinicopathological significance of cancer stem cell markers CD44 and ALDH1 expression in breast cancer. *Breast Cancer*. 2018;25(6):698-705.
118. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili SA, Mardani F, et al. Macrophage plasticity,

polarization, and function in health and disease. *Journal of cellular physiology*. 2018;233(9):6425-40.

119. Zhang G, Guo L, Yang C, Liu Y, He Y, Du Y, et al. A novel role of breast cancer-derived hyaluronan on inducement of M2-like tumor-associated macrophages formation. *Oncoimmunology*. 2016;5(6):e1172154.

120. Ma C, Komohara Y, Ohnishi K, Shimoji T, Kuwahara N, Sakumura Y, et al. Infiltration of tumor-associated macrophages is involved in CD 44 expression in clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Science*. 2016;107(5):700-7.

121. Horimoto Y, Arakawa A, Sasahara N, Tanabe M, Sai S, Himuro T, et al. Combination of cancer stem cell markers CD44 and CD24 is superior to ALDH1 as a prognostic indicator in breast cancer patients with distant metastases. *PloS one*. 2016;11(10):e0165253.