

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI



İNVAZİV MEME KARSİNOMLARINDA PD-L1, PTEN, PHH3
VE Ki-67 EKSPRESYONLARININ PROGNOSTİK ÖNEMİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

EDA HİLAL İMAMOĞLU

BOLU, 2021

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI



İNVAZİV MEME KARSİNOMLARINDA PD-L1, PTEN, PHH3
VE Ki-67 EKSPRESYONLARININ PROGNOSTİK ÖNEMİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

EDA HİLAL İMAMOĞLU

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Selma Erdoğan Düzcü

BOLU, 2021

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

EDA HİLAL İMAMOĞLU

ÖZET

İNVAZİV MEME KARSİNOMLARINDA PD-L1, PTEN, PHH3 VE Ki-67 EKSPRESYONLARININ PROGNOSTİK ÖNEMİ

BOLU, 2021

XVII + 101

Giriş: Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanserdir. Meme kanserinde prognozun belirlenmesinde, lokal rekürrens ve mortaliteyi önlemede prognostik faktörler önem kazanmaktadır. Geleneksel prognostik faktörlerin yetersiz kaldığı durumlarda, yüksek riskli hastaları belirleyecek ve tedavi kararına yön verebilecek yeni belirteçlere ihtiyaç vardır. Bu çalışmada PD-L1, PTEN, PHH3 ve Ki-67 immünohistokimyasal boya ekspresyonlarının meme kanserinde prognostik klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Bu çalışmada 2014-2019 yılları arasında Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde tedavi gören ve ameliyat edilen 85 hastanın lumpektomi ve mastektomi materyalleri retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Hastalara ait klinik bilgiler hastane bilgi sisteminden elde edilmiştir. Patolojik prognostik parametreler cerrahi rezeksiyon materyallerine ait lamlarda tekrar değerlendirilmiştir. Formalin ile tespit edilmiş, parafine gömülü bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitlere uygulanan immünohistokimyasal boyama sonucunda tümör immünolojisinde yer alan PD-L1 ekspresyonu ile hücre siklusunda görevleri olan PTEN, PHH3 ve Ki-67 ekspresyonları incelenmiştir. İmmünohistokimyasal boyama sonuçları prognoz ile ilişkisi kanıtlanmış klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler frekans, yüzde, ortalama, standart sapma değerleri ile verilmiştir. Çalışmadaki prognostik faktör ölçümlerinin PD-L1, PHH3, Ki-67 ve PTEN pozitiflik durumuna göre farklı olup olmadığını incelemek için ise Mann Whitney U testi analizi yapılmıştır. Çalışmada $p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir. Analizler SPSS 25.0 programı ile yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmada 85 adet invaziv meme karsinomu olgusunun yaş ortalaması $58,33 \pm 12,50$ olup 82'si (%96,4) kadın, 3'ü (%3,6) erkektir. Hastaların 21'inde (%24) PD-L1 pozitifliği, 42 (%49,4) vakada PTEN kaybı (H-skor<90), 36 (%42,3) vakada PHH3 pozitifliği görülmüştür. Ki-67 ekspresyonu 57 vakada (%67) %20'nin altındayken, 28 vakada (%33) %20'nin üzerindedir. PD-L1 ile

büyük tümör boyutu, yüksek histolojik derece, multifokalite, lenfovasküler invazyon, Ki-67 ekspresyonu, östrojen ve progesteron reseptör negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. PTEN kaybı ile büyük tümör boyutu, multifokalite, östrojen ve progesteron reseptör negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. PHH3 ile ileri yaş, büyük tümör boyutu, yüksek histolojik derece, multifokalite, Ki-67 ekspresyonu, östrojen ve progesteron reseptör negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Ki-67 ile büyük tümör boyutu, yüksek histolojik derece, lenfovasküler invazyon, östrojen ve progesteron reseptör negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

Sonuç: Meme karsinomlarında PD-L1, PHH3 ve Ki-67 ekspresyonu kötü prognostik parametreler ile ilişkili iken PTEN kaybı ile negatif yönde ilişki bulunmuştur. PD-L1, PTEN, PHH3 ve Ki-67 ekspresyonlarının değerlendirilmesinin meme kanserinin prognozunun tahmininde kullanılabilecek potansiyel biyobelirteç olabileceği, tümörün immünolojik temellerini daha iyi anlayarak uygun immünoterapi ajanları geliştirilmesine katkıda bulunabileceği ve hedefe yönelik tedavilerin gelişmesinde yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: İnvaziv Meme Karsinomu, İmmünohistokimya, PD-L1, PTEN, PHH3, Ki-67

ABSTRACT

PROGNOSTIC IMPORTANCE OF PD-L1, PTEN, PHH3 AND KI-67 EXPRESSIONS IN INVASIVE BREAST CARCINOMAS

BOLU, JULY 2020

XVII + 101

Introduction: Breast cancer is the most common cancer in women. Prognostic factors gain importance in determining the prognosis in breast cancer and preventing local recurrence and mortality. Where traditional prognostic factors are insufficient, new markers are needed to identify high-risk patients and guide treatment decisions. The aim of this study was to investigate the relationship between PD-L1, PTEN, PHH3 and Ki-67 immunohistochemical stain expressions with prognostic clinicopathological parameters in breast cancer.

Materials and methods: In this study, lumpectomy and mastectomy materials of 85 patients who were treated and operated in Bolu Abant İzzet Baysal University İzzet Baysal Training and Research Hospital between 2014-2019 were evaluated retrospectively. Clinical information about the patients was obtained from the hospital information system. Pathological prognostic parameters were re-evaluated on slides of surgical resection materials. As a result of immunohistochemical staining applied to 4 micron thick sections from formalin-fixed, paraffin-embedded blocks, PD-L1 expression in tumor immunology and PTEN, PHH3 and Ki-67 expressions that have roles in the cell cycle were examined. Immunohistochemical staining results were compared with clinicopathological parameters proven to be related to prognosis. Descriptive statistics are given with frequency, percentage, average, and standard deviation values. To examine whether the prognostic factor measurements in the study are different according to PD-L1, PHH3, Ki-67 and PTEN positivity, Mann Whitney U test analysis was performed. In the study, $p < 0.05$ was considered significant. The analyzes were made with the SPSS 25.0 program.

Results: In the study, the mean age of 85 invasive breast carcinoma cases was 58.33 ± 12.50 , 82 (96.4%) were female and 3 (3.6%) were male. PD-L1 positivity was observed in 21 (24%) of the patients, PTEN loss (H-score < 90) in 42 (49.4%) cases, and PHH3 positivity in 36 (42.3%) cases. While Ki-67 expression was below 20% in 57 cases (67%), it was above 20% in 28 cases

(33%). A statistically significant relationship was found between PD-L1 and large tumor size, high histological grade, multifocality, lymphovascular invasion, Ki-67 expression and estrogen and progesterone receptor negativity. A statistically significant relationship was found between PTEN loss and large tumor size, high histological grade, estrogen and progesterone receptor negativity. A statistically significant relationship was found between PHH3 and advanced age, large tumor size, high histological grade, multifocality, Ki-67 expression, estrogen and progesterone receptor negativity. A statistically significant relationship was found between Ki-67 and large tumor size, high histological grade, lymphovascular invasion, estrogen and progesterone receptor negativity.

Conclusion: While PD-L1, PHH3 and Ki-67 expression was associated with poor prognostic parameters in breast carcinomas, a negative correlation was found with loss of PTEN. It is thought that the evaluation of PD-L1, PTEN, PHH3 and Ki-67 expressions can be a potential biomarker that can be used in predicting the prognosis of breast cancer, can contribute to the development of appropriate immunotherapy agents by understanding the immunological bases of the tumor, and may guide the development of targeted therapies.

KEYWORDS: Invasive Breast Carcinoma, Immunohistochemistry, PD-L1, PTEN, PHH3, Ki-67

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	ii
ÖZET.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ABSTRACT	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
İÇİNDEKİLER	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
TABLO LİSTESİ	xiii
FOTOĞRAF LİSTESİ.....	xiv
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xv
TEŞEKKÜR.....	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Memenin Embriyolojisi.....	4
2.2 Memenin Anatomisi	4
2.3 Memenin Histolojisi	5
2.4 Meme Kanserinin İnsidansı ve Epidemiyolojisi.....	6
2.5 Etiyoloji ve Risk Faktörleri	8
2.6 Meme Tümörlerinde Sınıflama	10
2.6.1 Meme Tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütüne Göre Morfolojik Sınıflandırılması (DSÖ 2017).....	10
2.6.2 Meme Tümörlerinin Evrelendirilmesi (TNM sınıflandırılması) ..	13
2.6.3 Meme Tümörlerinin Moleküler Sınıflandırılması	17
2.7 Meme Tümörlerinde Prognostik Faktörler.....	18
2.7.1 Tümör Boyutu.....	19
2.7.2 Aksiller Lenf Nodu Tutulumu	19
2.7.3 Tümör Evresi	20
2.7.4 Hastanın Yaşı.....	20
2.7.5 Histolojik Tip.....	20
2.7.6 Histolojik Derece	21
2.7.7 Lenfovasküler İnvazyon	24
2.7.8 Östrojen ve Progesteron Reseptörü Ekspresyonu	25
2.7.9 HER2 Ekspresyonu.....	26
2.7.10 Tümör Büyüme Hızı ve Proliferasyon.....	27
2.7.11 Çeşitli Moleküler Belirteçler	28
2.8 Tümör ve İmmünite.....	28
2.8.1 Tümör Antijenleri	29
2.8.2 Tümörlere İmmün Yanıt	29
2.8.3 Tümörün Bağışıklık Yanıtından Kaçış Mekanizmaları	31
2.8.4 Tümörler için İmmünoterapi.....	33
2.8.5 Meme Kanserinde Tümörü İnfiltrate Eden Lenfositler ve Prognoz	33
2.8.6 PD-1 / PDL-1 Yolağı	34
2.9 Meme Karsinomunun Moleküler Temeli	36
2.9.1 PTEN	36

2.10	Meme Karsinomlarında Proliferatif Aktivitenin Değerlendirilmesi ..	38
2.10.1	Ki-67 Proliferasyon İndeksi.....	39
2.10.2	PHH3	40
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	42
3.1	Olgu Seçimi	42
3.2	İmmünohistokimyasal Boyama	42
3.3	İstatistiksel Analiz	44
4.	BULGULAR	45
4.1	Klinikopatolojik Özellikler.....	45
4.2	İmmünohistokimyasal Boyanma Özellikleri ve Klinikopatolojik Parametreler ile Karşılaştırılması	51
4.2.1	PD-L1 Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Bulgularla İlişkisi	53
4.2.2	PTEN Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Bulgularla İlişkisi	62
4.2.3	PHH3 Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Bulgularla İlişkisi	69
4.2.4	Ki-67 Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Bulgularla İlişkisi	74
5.	TARTIŞMA	79
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	87
7.	KAYNAKLAR	90
8.	ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 Türkiye’de kadınlarda 2020 yılı kanser insidansı, GLOBOCAN 2020 (41)	7
Şekil 2.2 PTEN protein yolağı (112)	37
Şekil 4.1 PD-L1, PTEN, Ki-67 ve PHH3 İHK’sal boyanma durumu	52
Şekil 4.2 PD-L1 boyanma özelliği.....	53
Şekil 4.3 PD-L1 boyanma yoğunluğu.....	53
Şekil 4.4 PTEN boyanma yoğunluğu.....	62



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1 DSÖ 2017 Meme Tümörleri Sınıflandırılması	10
Tablo 2.2 Patolojik kriterlere göre T sınıflaması	13
Tablo 2.3 Patolojik kriterlere göre N sınıflaması	15
Tablo 2.4 Patolojik kriterlere göre M sınıflaması	16
Tablo 2.5 TNM sınıflaması, evrelendirme (AJCC 2017)	17
Tablo 2.6 Alan Çapına ve Mitoz Sayımına Göre Puan Kategorileri	23
Tablo 4.1 Hastalara ait klinikopatolojik özellikler	45
Tablo 4.2 Prognostik Faktörlere göre PD-L1	58
Tablo 4.3 Prognostik Faktörlere göre PTEN	65
Tablo 4.4 Prognostik Faktörlere göre PHH3	70
Tablo 4.5 Prognostik Faktörlere göre Ki-67	75

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 4.1 İnvaziv duktal karsinom.....	46
Fotoğraf 4.2 İnvaziv lobüler karsinom.....	46
Fotoğraf 4.3 Müsinöz karsinom.....	47
Fotoğraf 4.4 Tübülopapiller karsinom.....	47
Fotoğraf 4.5 İyi diferansiye (derece1) İDK.....	49
Fotoğraf 4.6 Orta derece diferansiye (derece 2) İDK.....	49
Fotoğraf 4.7 Kötü diferansiye (derece 3) İDK.....	49
Fotoğraf 4.8 Tümör hücrelerinde negatif PD-L1 ekspresyonu.....	54
Fotoğraf 4.9 Tümör hücrelerinde hafif şiddette membranöz ve sitoplazmik PD-L1 ekspresyonu.....	54
Fotoğraf 4.10 Tümör hücrelerinde orta şiddette membranöz ve sitoplazmik PD-L1 ekspresyonu,.....	55
Fotoğraf 4.11 Tümör hücrelerinde yoğun membranöz PD-L1 ekspresyonu ...	55
Fotoğraf 4.12 TİL'lerde negatif PD-L1 ekspresyonu.....	56
Fotoğraf 4.13 TİL'lerde hafif yoğunlukta PD-L1 ekspresyonu.....	56
Fotoğraf 4.14 TİL'lerde orta yoğunlukta PD-L1 ekspresyonu.....	57
Fotoğraf 4.15 TİL'lerde yoğun PD-L1 ekspresyonu.....	57
Fotoğraf 4.16 Tümör hücrelerinde yoğun PTEN ekspresyonu.....	63
Fotoğraf 4.17 Tümör hücrelerinde orta yoğunlukta PTEN ekspresyonu	63
Fotoğraf 4.18 Tümör hücrelerinde hafif yoğunlukta PTEN ekspresyonu	64
Fotoğraf 4.19 Tümör hücrelerinde negatif PTEN ekspresyonu.....	64
Fotoğraf 4.20 Tümör hücrelerinde düşük nükleer PHH3 ekspresyonu	69
Fotoğraf 4.21 Tümör hücrelerindeyüksek nükleer PHH3 ekspresyonu.....	69
Fotoğraf 4.22 Tümör hücrelerinde düşük nükleer Ki-67 ekspresyonu	74
Fotoğraf 4.23 Tümör hücrelerinde yüksek nükleer Ki-67 ekspresyonu	74

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

AJCC: American Joint Committee on Cancer

ASCO: College of American Pathologists

ASH: Antijen Sunan Hücre

BBA: Büyük Büyütme Alanı

CAP: College of American Pathologists

CTLA-4: Sitotoksik T lenfosit ile ilişkili Protein

DKİS: Duktal Karsinoma İn Situ

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

ER: Östrojen Reseptörü

H&E: Hematoksilen ve Eozin

HER2: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü 2

HRT: Hormon Replasman Tedavisi

İDK: İnvaziv Duktal Karsinom

İFN- γ : İnterferon- γ

İHK: İmmünohistokimya

İLK: İnvaziv Lobüler Karsinom

İTH: İzole Tümör Hücresi

LN: Lenf Nodu

LVİ: Lenfovasküler İnvazyon

MAİ: Mitotik Aktivite İndeksi

MDSC: Miyeloid Türevi Baskılayıcı Hücreler

NCCN: National Comprehensive Cancer Network

NGS: Nottingham Grade'leme Sistemi

NK: Natural Killer

NPI: Nottingham Prognostik İndeks

NTPBCS: Nottingham / Tenovus Primer Meme Kanseri Çalışması

PD-1: Programlanmış Hücre Ölümü 1

PD-L1: Programlanmış Hücre Ölüm Ligandı 1

PHH3: Fosfohiston H3

PR: Progesteron Reseptörü

SBR: Scarff-Bloom-Richardson

SEER: Sürveyans Epidemiyoloji and End Results (Sürveyans Epidemiyoloji ve Nihai Sonuçlar)

STL: Sitotoksik T lenfositleri

THR: T hücre Reseptörü

TİL: Tümörü İnfiltrate Eden Lenfositler

TDLÜ: Terminal Duktal Lobüler Ünite

TNMK: Triple Negatif Meme Kanseri

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince geniş bilgi ve tecrübelerinden faydalanma fırsatı bulduğum saygıdeğer hocalarım, başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Çetin Boran’a, Prof Dr. Fahri Yılmaz’a ve Doç Dr. H. Müzeyyen Astarıcı’ya,

Eğitim sürecimde ve tezimin her aşamasında özverisi, bilgi birikimi, çalışma azmi ve motivasyonu her daim destek ve örnek olan tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Selma Erdoğan Düzcü’ye,

Dostlukları huzur veren ve beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli asistan arkadaşlarım Dr. Ertunç Çinpolat, Dr. Nur Tunç Karabekiroğlu, Dr. Gülşah Ünsal Kayar ve Dr. Şeyma Öztürk’e,

Benden güler yüzlerini hiç esirgemeyen, harcadıkları emek ve desteklerinden dolayı Patoloji Anabilim Dalı personeline, patoloji laboratuvarı çalışanlarına, tüm hasta kabul ve rapor sekreterlerimize,

Zorlu ve zahmetli asistanlık süresince her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen çok sevdiğim eşime, bu günlere gelmemde katkısı çok büyük olan desteğini ve dualarını esirgemeyen annem, babam ve kardeşime, umut ve neşe kaynağım bir tanecik kızım Zeynep’e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. **Proje No: 2019.08.19.1409**

1. GİRİŞ

Meme karsinomu kadınlarda en sık görülen kanserdir (1). Kanserlerin %25'ini ve kansere bağılı ölümlerin %15'ini oluşturur (2). Akciğer kanserinden sonra ikinci en yaygın ölüm nedenidir (1).

Erken teşhis nedeniyle, batılı ülkelerde meme kanseri hastalarının çoğu erken evrede yakalanmaktadır. Ancak lokal ileri evre meme kanseri gibi kadınları erken yaşta etkileyen ve yüksek ölüm riski taşıyan agresif tümörler daha nadir de olsa tespit edilmektedir (3). Meme kanserinde prognoz belirlenmesinde, lokal rekürrens ve mortaliteyi önlemede prognostik faktörler önem kazanmaktadır (4). Meme kanserinin tedavisinde kullanılan adjuvan kemoterapi ve hormonal tedavi sağkalımı artırmakla birlikte ciddi yan etkilere sahiptir. Bu nedenle prognostik faktörler, hangi hastaların adjuvan tedavi alması gerektiğine karar verme konusunda da yararlı olmaktadır (5). Meme kanserinde geleneksel prognostik faktörler (hastanın yaşı, tümör boyutu, histolojik derecesi, lenf nodu durumu, İnsan Epidermal Büyüme Faktörü 2 (HER2) durumu, steroid hormon reseptör durumu ve lenfovasküler invazyon gibi) bulunmakla birlikte yüksek riskli hastaları ve hastaların tedaviye yanıtını belirlemek için daha iyi prognostik belirteçlere ihtiyaç vardır (6).

Son yıllarda meme kanserlerinde immünitinin rolü fark edilmiştir. Meme tümörlerinde tümörü infiltre eden lenfositlerin ve immün cevap işaretlerinin varlığı iyi prognostik özelliklerdir (7). Bu immün işaretçilerden biri olan “programlanmış hücre ölümü 1 (PD-1)” yolağının ve inhibitörlerinin keşfedilmesi immünoterapi için ümit vaat etmektedir (8). PD-1, T lenfositler de dahil olmak üzere çeşitli immün sistem hücreleri tarafından eksprese edilen yüzey membran antijenidir (9). Programlanmış hücre ölüm ligandı 1 (PD-L1) ekspresyonu ise meme tümörlerinde ve tümörü infiltre eden lenfositlerde vardır, ancak sağlıklı meme dokusunda görülmemektedir. PD-1, ligandı PD-L1 ile etkileşime girdikten sonra lenfosit aktivasyonunu zayıflatarak immün cevabın inhibisyonunu sağlar (10). Bu yol, PD-L1 ekspresyonu görülen lokalizasyonlarda, tümör hücrelerinin kullandığı bağışıklık kaçışının yaygın bir mekanizmasını temsil etmektedir (11).

Meme kanseri hastalarında özellikle immünojenik potansiyeli olan bazı alt tiplerinde yüksek PD-L1 ekspresyonu bulunmuştur (12). Yapılan çalışmalarda meme kanserinde PD-L1 ekspresyonunun negatif prognostik faktörler ile ilişkili

olduğu gösterilmiştir. Yüksek PD-L1 ekspresyonu büyük tümör boyutu, yüksek histolojik derece, lenfovasküler invazyon (LVI), negatif hormon reseptörleri, HER2 pozitifliği, artmış tümörü infiltre eden lenfosit (TIL) sayısı ile ilişkili bulunmuştur (10, 13). Agresif gidişli olarak bilinen triple negatif ve HER2 eksprese eden tip meme karsinomu grupları immunoterapiden fayda görecektir hasta gruplarıdır (12).

PTEN, kromozomal bant 10q23 üzerinde bulunan yeni bir tümör baskılayıcı gendir. PTEN'in temel görevi hücre proliferasyonu ve hayatta kalmasında rol oynayan PI3K/AKT yolağının inhibisyonudur (14). PTEN fonksiyonunun kaybı, çeşitli kanser türlerinin ilerlemesinde rol oynamaktadır (15). Ancak PTEN ekspresyon kaybı ile prognostik faktörler arasındaki ilişki henüz çok iyi belirlenememiştir (16).

PTEN kaybı meme kanserinde yaygın olarak görülür. Bazı çalışmalar, meme kanseri hastalarında PTEN kaybı ile kötü prognoz arasında bir ilişki olduğunu öne sürmektedir (1, 17). Bu çalışmalarda PTEN kaybının hastalığa bağlı ölüm, lenf nodu metastazı ve östrojen reseptörü kaybı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (1, 18).

Birçok meme kanseri prognostik faktörü doğrudan veya dolaylı olarak proliferasyonla ilişkilidir (19). Hücre döngüsü regülasyonu ve mitozda yer alan nükleer antijenleri göstermek için mitotik aktivite indeksi ve immünohistokimya (IHK) dahil çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (20). İmmünohistokimyasal olarak en iyi bilinen proliferasyonu ölçme metodlarından biri Ki-67'dir (21). Ki-67 proliferasyon alan hücrelerden eksprese olan bir proteindir (19).

İnvaziv meme karsinomunda yüksek Ki-67 varlığı kötü prognoz ile ilişkili olup proliferatif indeks artmış ve sınırsız hücre bölünmesini göstermektedir (19). Yapılan çalışmalarda Ki-67'nin, hormon reseptörü durumu, HER2 durumu, tümör evrelemesi ve aksiller lenf nodu durumu gibi biyobelirteçlerle çok güçlü korelasyon gösterdiği bulunmuştur (22, 23).

Fosfohiston H3 (PHH3) uzun süredir çeşitli kanserlerde hücre proliferasyonu belirteci olarak kabul edilmiş ve son zamanlarda yapılan birkaç çalışmada prognostik değeri olduğu ortaya çıkmıştır (24). Çalışmalar, histon 3'ün fosforilasyonu ile mitotik kromatin yoğunlaşması arasında sıkı bir korelasyon olduğunu göstermiştir. PHH3 hücre siklusunda geç G2 ve M evresindeki hücrelerin belirteci olarak kullanılmaktadır. PHH3 immünohistokimyası ile

hematoksilen & eozin (H&E) boyalı preparatlarda gerçekleştirilen standart mitotik sayımlar arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (25). Böylece PHH3 sayımlarının meme karsinomlarının derecelendirilmesinde kullanılabileceği ileri sürülmüştür (26, 27).

Çalışmada 85 meme kanserli hastaya ait formalinle tesbit edilmiş ve parafine gömülmüş dokulara PD-L1, PTEN, PHH3 ve Ki-67 immünohistokimyasal boyaları uygulanarak bu boyalarda izlenen ekspresyonların meme kanserinde prognostik klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini araştırmak amaçlanmıştır. Ayrıca çalışmanın sonucunda elde edilen veriler meme kanserinde yeni potansiyel biyobelirteçlerin kullanımına olanak sağlayacak ve tümörün immünolojik temellerini daha iyi anlayarak uygun immünoterapi ajanları geliştirilmesine katkıda bulunacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Memenin Embriyolojisi

Meme dokusu embriyolojik olarak gestasyonel hayatın ilk trimesterinde oluşmaya başlar. Fetusun ventral yüzündeki ektodermin kalınlaşması ile oluşan süt çizgisi aksilladan inguinale doğru iki ventral bant halinde uzanır. Süt çizgisi fetal gelişim ilerledikçe pektoral bölgenin küçük bir alanı dışında geriler (28).

Meme gelişiminin erken evreleri seks steroid hormonlarından bağımsızdır. Gebeliğin 15. haftasından sonra testesteronun etkisi ile parankimde değişiklikler meydana gelir. Mezenkim, bir epitelyal sap boyunca yoğunlaşır ve meme bezi gelişim bölgesi olan meme tomurcuğunu meydana getirir. Bu tomurcuktan 15-20 adet ikincil tomurcuk gelişir. İkincil tomurcuklardan epitelyal kordonlar gelişerek mezenkim içerisine uzanır. Epitel kordlarının mezenkim içerisine doğru ilerlemesiyle meme glandları loblara ayrılır (29).

Fetal dermis gelişmekte olan epitelyal kordonları sararak memenin bağ dokusunu meydana getirir. Dermisin daha fibröz elementleri meme içine girerek, asıcı bağ olan Cooper ligamanını oluşturur. Yavaş yavaş epitelyal kordonlar kanalize olur, dallanmalar yapar ve lobüloalveolar paterni meydana getirir (28).

Üçüncü trimesterde, gelişen meme bezleri maternal hormonlara duyarlıdır ve hafif sekretuar aktivite gösterir. Ergenliğe kadar her iki cinsiyette de meme glandüler dokusu ana kanallardan oluşur. Puberte ile birlikte östrojen ve progesteronun siklik salgılanması sonucu meme gelişimi başlar (28, 29).

2.2 Memenin Anatomisi

Meme ön göğüs duvarında pektoral fasyanın içinde yer alır. Deriden yüzeysel fasya ve cilt altı yağ tabakası ile ayrılır. Sınırları dikey ekseninde 2-6. kosta arasında ve yatay ekseninde sternal kenar ve aksilla orta hat arasında yer alır (30). Memenin glandüler dokusu genel olarak bu sınırların ötesine uzanır (23). Pektoral fasyanın uzantısı olan Cooper ligamentleri meme lobları arasından cilde doğru ilerleyerek memeyi destekler (31).

Kadın memesinin ağırlığı genellikle 30 ile 100 gram arasında değişir. Yetişkin kadınlarda, meme, fibrotik doku ve yağ dokusu bir stroma içine gömülmüş çok sayıda duktus ve lobuloasiner birimlerden oluşur (30). Meme ağırlığının büyük kısmı, vücut ağırlığına ve bireyin yaşına bağlı olarak değişen miktarlarda fibröz doku ve yağ dokusundan meydana gelir (30, 32).

Memenin kanlanması torakoakromiyal, lateral torasik ve subskapular arterler ile aksiller arterden ve internal torasik arter yoluyla subklavyen arterden gelir. Venler zengin bir subareolar plexus oluşturarak interkostaller ile aksiller vene ve internal torasik venlere drene olurlar (29).

Memenin lenfatik drenajı malign hastalığın yayılmasında büyük önem taşır. Memedeki lenflerin çoğu, ön aksiller lenf nodlarından başlayarak sırasıyla merkezi aksiller ve apikal grup lenf nodlarına devam eden bir zincir boyunca ipsilateral aksiller lenf nodlarına geçer. İnternal torasik ve posterior interkostal lenfatikler, internal mammarian ve posterior interkostal lenf nodlarına drene olur ve memenin lenfatik drenajına katkıda bulunur (29).

Memenin innervasyonu esas olarak kan damarlarına eşlik eden somatik duyu sinirler ve otonom sinirler tarafından yapılır (30). Genel olarak, areola ve meme uçları somatik duyu sinirleri ile uyarılırken, meme parankimi çoğunlukla sempatik otonom sinirlerle uyarılır (33).

2.3 Memenin Histolojisi

Duktal-lobuler sistemin organizasyonunu ve histolojisini tanımak memenin malign ve benign lezyonlarının ayırt edilmesinde önemlidir. Lobül, terminal duktus ile kombinasyon halinde, memenin yapısal ve fonksiyonel birimi olan Terminal Duktal Lobüler Ünite (TDLÜ) olarak adlandırılır. Kistler, atipi olan/ atipi olmayan duktus epitel hiperplazisi ve duktal karsinom gibi çeşitli patolojiler TDLÜ’de meydana gelir (32).

TDLÜ santral duktuslardan lobüllere kadar kübik ya da alçak kolumnar epitel ile döşelidir. Bu iç tabakayı myoepitelyal hücreler çevrelemektedir (30). Duktal lobüler sistem, tip IV kollajen ve lamininden oluşan bir bazal lamina ile çevrelenir. Ekstralobüler duktuslar bazal laminadan sonra fibroblastlar ve kılcal damarlarla çevrilidir (32).

Lobüller özel bir intralobüler miksoid stroma içeren kompakt yuvarlak oval şekilli asini olarak adlandırılan kör uçlu kanallardan oluşmaktadır. Lobüllerin toplam boyutu ve asinus sayısı değişken olmakla birlikte çoğu 0,5 ile 2 mm arasındadır (30).

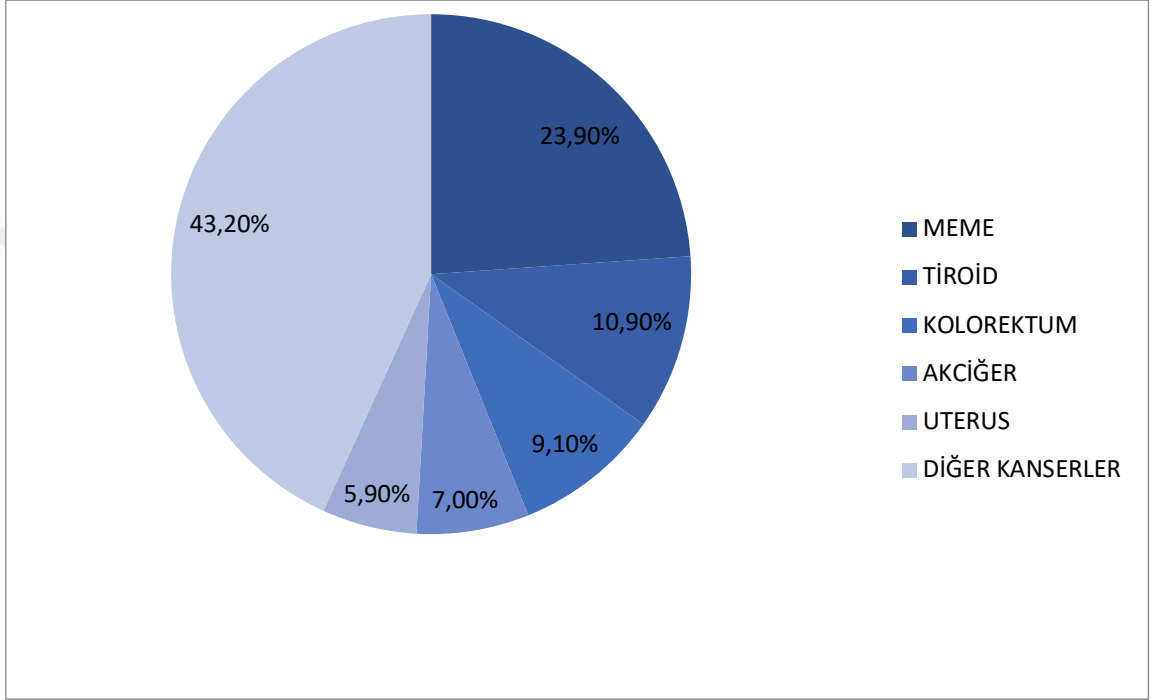
Meme başı ve areola keratinize skuamöz epitel ile kaplıdır. 5 ile 9 arasında büyük toplayıcı duktus meme başına açılmaktadır. Ayrıca meme başı çok sayıda yağ bezi, kıl folikülleri ve erektile düz kas lifleri içerir. Montgomery tüberkülleri, genellikle 10 ile 20 arasında olan ve hamilelik sırasında öne çıkan areolar çıkıntılardır. Mikroskopik olarak, bir toplayıcı (laktiferöz) kanalın sebace bezlerle birleşmesiyle oluşurlar. Ayrıca meme başı ve areolada mikroskopik incelemede soluk şeffaf sitoplazmalı Tokel hücreleri izlenebilir (34).

2.4 Meme Kanserinin İnsidansı ve Epidemiyolojisi

Meme kanseri dünya çapında kadınlarda en sık görülen malignitedir (35). Kadınlarda meme kanseri, yeni kanser vakalarının %29'unu ve kanser ölümlerinin %14'ünü oluşturur (36). Dünyada meme kanseri insidansı Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Kadınların yaklaşık %12,3'ünde (8 kadından biri) yaşamları boyunca meme karsinomu gelişim riski bulunmaktadır. 2014 yılında ABD'de yaklaşık 234.190 kadına invaziv meme kanseri teşhisi konulmuştur ve 40.730 hasta ölmüştür (37). Meme kanseri ABD'li kadınlarda akciğer kanserinden sonra kadınlar arasındaki kansere bağlı ölümlerin ikinci sebebidir (37).

Amerikan Kanser Derneğinin 2012-2016 yılları arasında yapmış olduğu çalışmada meme kanseri insidansı oranı %0,3 oranında hafifçe artmış olarak bulunmuştur. Bu artış büyük oranda lokal ileri evre ve hormon reseptörü pozitif kanserlerinin artmasına bağlıdır (31). 1989-2017 yılları arasında meme kanserinden ölüm 375.000 olup 1989'dan 2017'ye kadar ölüm oranı %40'a düşmüştür (38). Avrupada meme kanseri 1990'lı yıllardan bu yana kadınlarda kanserden ölümün en sık ikinci nedeni olmuştur (39).

Dünyada olduğu gibi Türkiye’de de meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser tipidir. Türkiye’de kadınlarda meme kanseri insidansı %23.9’dur. Tüm yaş gruplarındaki kadınlarda en sık görülen bazı kanserlerin bu grup içindeki yüzde dağılımları Şekil 2.1’de gösterilmiştir (40).



Şekil 2.1 Türkiye’de kadınlarda 2020 yılı kanser insidansı, GLOBOCAN 2020 (41)

Sürveyans Epidemiyoloji ve Nihai sonuçlar (SEER) veri tabanından elde edilen verilere göre 2019'da ABD'de meme kanserinin %82'si 50 yaş ve üzeri yaş grubundadır. Meme kanseri ölümlerinin %90'ı bu yaş grubunda görülmüştür. Meme kanseri tanısı için median yaş 62 ve meme kanserinden ölüm için median yaş 68 olarak bulunmuştur (42).

Hormon reseptörü pozitif meme kanserleri meme kanserinin en yaygın formudur ve insidansı genç kadınlarda artmaktadır (43). ABD'de hormon reseptörü pozitif meme kanseri insidansının artması, vücut ağırlığının artması ve doğurganlık oranlarının düşmesinden kaynaklanmaktadır. Daha düşük sağkalım ile ilişkili hormon reseptörü negatif meme kanseri insidansının azalması meme kanseri mortalitesindeki düşüşlere katkıda bulunmuştur (42).

Meme kanseri erkeklerde kanser tanılarının %5'inden azını ve Amerika Birleşik Devletler'indeki tüm meme kanseri vakalarının %1'ini temsil etmektedir (44).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) meme kanseri mortalitesini etkileyen en etkili tanı yöntemlerinden birinin mammografi kullanan tarama programları olduğunu göstermektedir. DSÖ etkili tarama yöntemlerinin 50 yaş civarında kadınlar arasında meme kanseri mortalitesinde azalmaya yol açabileceğini tahmin etmektedir (45). Mammografi ve yeni görüntüleme tekniklerindeki gelişmeler meme karsinomunun daha erken tanı alarak sağkalım oranlarının artmasına neden olmuştur (7).

2.5 Etiyoloji ve Risk Faktörleri

Meme kanseri gelişimi için multiple risk faktörleri tanımlanmıştır. Bu risk faktörleri demografik özellikler, östrojen maruziyeti, yaşam tarzı, ailesel meme özellikleri, ailesel ve kalıtsal genetik mutasyonlar ve radyasyona maruz kalma gibi birkaç kategoriye ayrılabilir (46). Bu ilişkilerin altında yatan kesin mekanizmalar henüz bilinmemekle birlikte bu faktörlerin birçoğu hormon bağımlı yollarla ilişkilidir (47).

Meme kanseri için başlıca risk faktörlerinden biri kadın cinsiyettir (48). Yaş da meme kanseri gelişimi için en güçlü risk faktörlerinden biri olmaya devam etmektedir. SEER veri tabanından elde edilen verilere göre 70 yaşında ve daha

ileri yaşlarda meme kansinomuna yakalanma oranı %6.58 (15 kadında 1) iken doğumdan 39 yaşına kadar meme kanseri gelişme olasılığı %0.49 (203 kadında 1) olduğu bildirilmektedir (49).

Meme kanseri insidansı coğrafi bölgeye göre değişiklik göstermektedir. En yüksek oranlar Kuzey Amerika, Avustralya/Yeni Zellanda, Batı ve Kuzey Avrupa'dadır. Doğu Avrupa Güney Afrika, Japonya ve Karayipler kadınlardaki görülme sıklığı açısından orta risk grubu oluşturmaktadır. En düşük insidanslar ise Asya ve Sahra altı Afrika'da bulunmaktadır (46).

Östrojene maruz kalınan süre ile meme kanseri gelişme riski doğru orantılıdır. 12 yaşından önce menarş başlangıcı, 30 yaşından sonra ilk canlı çocuk doğumu, nulliparite ve 55 yaşından sonra menopoz, riskli durumları oluşturmaktadır. Ayrıca çalışmalar premenopozal dönemlerde kontrasepsiyon için, postmenopozal dönemlerde hormon replasman tedavisi (HRT) ve diğer endikasyonlar için alınan ekzojen hormon kullanımının meme kanseri riskini artırdığını, ilacın kesilmesiyle riskin azaldığını göstermektedir (50).

Obezite ile meme kanseri riski arasında açık bir ilişki vardır. Aşırı kilolu (vücut kitle indeksi (VKİ): 25-30) veya obez (VKİ > 30) olan kadınların meme kanseri riskinde artış olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, artan VKİ, meme kanseri ölüm riskinde de artışla ilişkili bulunmuştur. Postmenopozal kadınlarda obezite ile artan meme kanseri riskine yüksek endojen östrojen ve insülin seviyelerinin aracılık ettiği görülmektedir (35).

Ayrıca alkol tüketimi, fiziksel aktivite eksikliği ve menopoz sonrası obezite meme kanseri için belirlenmiş risk faktörleri arasındadır. Yapılan çalışmalar, bu meme kanseri risk faktörlerinin hormon bağımlı faktörlerle ilişkili olduğunu ve kanser gelişmeden önce bile normal meme dokusunun moleküler özelliklerini etkileyebileceğini düşündürmektedir (47).

Mammografinin daha sıklıkla kullanılması memenin en yaygın lezyonları olan benign lezyonların sıklığını artırmıştır. Benign meme lezyonları nonproliferatif lezyonlar, atipisiz proliferatif lezyonlar ve atipili proliferatif lezyonlar olmak üzere 3 ana gruba ayrılmaktadır (49). Kompleks fibroadenom, atipili ya da atipisiz orta veya florid hiperplazi, sklerozan adenozis ve papilloma invaziv meme kanseri geliştirme riskinde hafif bir artışla ilişkili lezyonlardır. Özellikle atipili ve atipisiz proliferatif hastalık tanısı almış premenopozal kadınlarda invaziv meme kanseri gelişim riski daha fazladır (51, 52).

Terapötik radyasyon, meme kanseri riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir. Radyasyona maruz kalma yaşı önemlidir ve menopozdan sonra radyasyona maruz kalan kadınlar için risk minimaldir (53).

Meme kanserinin yaklaşık %20'si ailede meme kanseri öyküsü olan kadınlarda görülür; 50 yaşından küçük birinci derece akrabalarda meme kanseri tanısı artan risk ile ilişkilidir (50). Meme kanseri ile ilişkili moleküler anormalliklere sahip çeşitli ailesel meme kanseri sendromları tanımlanmıştır. Bunların başında BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları ve meme kanseri duyarlılık genlerindeki germ hattı mutasyonları ile ilişkili meme-over kanser sendromu gelmektedir (17).

BRCA1 ve BRCA2, ailesel meme kanserinde rol oynayan iki gendir. Ancak tüm meme kanseri vakalarının %10'undan daha azını oluşturmaktadır. BRCA mutasyonları genç, premenopozal kadınlarda meydana gelen meme kanseri ile yakından ilişkilidir. 40 yaşından önce meme kanseri teşhisi konan kadınların %9'unda BRCA mutasyonu vardır, buna karşılık meme kanseri teşhisi konmuş herhangi bir yaştaki kadınların sadece %2'sinde bulunmaktadır (49).

Diğer kalıtsal kanser sendromları arasında PALB2 ve diğer DNA onarım genlerinde germline fonksiyon kaybı mutasyonları, Li-Fraumeni sendromu (p53 tümör baskılayıcı genindeki germ hattı mutasyonları ile ilişkili) ve Cowden sendromu (PTEN genindeki kalıtsal mutasyonlarla ilişkili) yer almaktadır (51).

2.6 Meme Tümörlerinde Sınıflama

Meme tümörlerinde günümüzde DSÖ'nün önerdiği sınıflama kullanılmaktadır.

2.6.1 Meme Tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütüne Göre Morfolojik Sınıflandırılması (DSÖ 2017)

Tablo 2.1 DSÖ 2017 Meme Tümörleri Sınıflandırılması (54)

Epitelyal Tümörler
1 - İnvaziv duktal karsinom (İDK), NOS
a) Mikst tip İDK
b) Pleomorfik tip İDK
c) Osteoklastik dev hücreli tip İDK
d) Koryokarsinomatöz tip İDK

e) Melanositik tip İDK
2- İnvaziv lobüler karsinom (İLK)
3- Tubüler karsinom
4- İnvaziv kribriform karsinom
5- Medüller karsinom
6- Müsinöz karsinom ve belirgin müsin içeren diğer tümörler
a) Müsinöz karsinom
b) Kistadenokarsinom ve kolumnar hücreli müsinöz karsinom
c) Taşlı yüzük hücreli karsinom
7- Nöroendokrin tümörler
a) Solid nöroendokrin karsinom
b) Atipik karsinoid tumor
c) Küçük hücreli/ yulaf hücreli karsinom
d) Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
8- İnvaziv papiller karsinom
9- İnvaziv mikropapiller karsinom
10- Apokrin karsinom
11- Metaplastik karsinom
a) Pür epitelyal metaplastik karsinom
*Skumöz hücreli karsinom
*İğsi hücreli metaplastik karsinom
*Adenoskumöz karsinom
*Mukoepidermoid karsinom
b) Mikst epitelyal ve mezenkimal metaplastik karsinom
12- Yağdan zengin karsinom
13- Sekretuar karsinom
14- Onkositik karsinom
15- Adenoid kistik karsinom
16- Asinik hücreli karsinom
17- Glikojenden zengin berrak hücreli karsinom
18- Sebasöz karsinom
19- İnflamatuar karsinom
20- Lobüler neoplazi
a) Lobüler in situ karsinom
21- İntraduktal proliferatif lezyonlar
a) Basit duktal hiperplazi
b) Flat epitelyal atipi
c) Atipik duktal hiperplazi
d) Duktal in situ karsinom
22- Mikroinvaziv karsinom
23- İntraduktal papiller neoplaziler
a) Santral papilloma
b) Periferik papilloma
c) Atipik papilloma
d) İntraduktal papiller karsinom
e) İntrakistik papiller karsinom
24- Benign epitelyal proliferasyonlar
a) Adenozis ve varyantları
*Sklerozan adenozis
*Apokrin adenozis
*Blunt-duct adenozis
*Mikroglandüler adenozis
*Adenomyoepitelyal adenozis
b) Radyal skar/kompleks sklerozan lezyon
25- Adenomlar
a) Tubüler adenoma
b) Laktasyonel adenoma
c) Apokrin adenoma

d) Pleomorfik adenoma
e) Duktal adenoma
Myoepitelyal Lezyonlar
1- Myoepiteliyozis
2- Adenomyoepiteliyal adenozis
3- Adenomyoepiteliyoma
4- Malign myoepiteliyoma
Mezenkimal Tümörler
1 – Hemanjiyom
2- Anjiyomatozis
3- Hemanjiyoperistom
4- Psödoanjiyomatöz stromal hiperplazi
5- Myofibroblastom
6- Fibromatozis (agresif)
7- İnflamatuvar myofibroblastik tumor
8- Lipom
a)Anjiyolipom
9- Granüler hücreli tumor
10- Nörofibrom
11- Schwannom
12- Anjiyosarkom
13- Liposarkom
14- Rabdomyosarkom
15- Osteosarkom
16- Leiomyom
17- Leiomyosarkom
Fibroepitelyal Tümörler
1-Fibroadenom
2-Filloides tumor
a) Benign
b) Borderline
c) Malign
3-Periduktal stromal sarkom
4-Mamaryal hamartom
Meme Başı Tümörleri
1- Meme başı adenoma
2- Siringomatöz adenoma
3- Meme başının Paget hastalığı
Malign Lenfoma
1- Diffüz B-hücreli lenfoma
2- Burkitt lenfoma
3- Ekstranodal malt tipi marjinal zon B-hücreli lenfoma
4- Folliküler lenfoma
Metastatik Tümörler
Erkek Memesinin Tümörleri
1- Jinekomasti
2- Karsinom
a) İn situ
b) İnvaziv

2.6.2 Meme Tümörlerinin Evrelendirilmesi (TNM sınıflandırılması)

Meme karsinomu tanısı alan hastaların prognozu birbirlerinden farklıdır. Hastalığın takibi ve tedavisinin planlaması için evreleme yapılarak tümörle ilgili parametrelere bakılmaktadır. Günümüzde 2017 yılında American Joint Committee on Cancer (AJCC) 8. basımının biçimlendirdiği TNM sistemi kullanılmaktadır (44).

Klinik evreleme; fizik muayene ve görüntüleme yöntemleri ile bakılarak tümörün anatomik yayılımı esas alınarak yapılırken, patolojik evreleme; hormon reseptör durumu, tümörün derecesi gibi önemli prognoz ölçütlerini içerir. Bu nedenle prognoz açısından en doğru bilgiye cerrahi olarak çıkartılan materyalin patolojik incelenmesi ile ulaşılır.

TNM evrelendirilmesi yapılırken aşağıdaki kriterler değerlendirilir.

- **T:** Tümör
- **N:** Bölgesel lenf nodları (aksilla, supraklavikular ve infraklavikular, internal mamarial)
- **M:** Metastaz (uzak organ metastazı)

Bu veriler klinik bulgularla değerlendiriliyorsa “c”, patolojik kanıt varsa “p”, hasta operasyon öncesinde neoadjuvan tedavi almışsa “yp”, invaziv multiple odaklar varsa “m”, rekürren tümörse “r”, eklerini almakta; klinik ya da patolojik inceleme yapılmamış ve ilgili parametrenin durumu bilinmiyorsa sonuna “x” ekini alarak yazılmaktadır (55).

2.6.2.1 Tümör

Tablo 2.2 Patolojik kriterlere göre T sınıflaması (46)

Tx Değerlendirilemeyen primer tumor
T0 Primer tümöre ait bulgu yok
Tis (DCIS) Duktal karsinoma in situ
Tis(Paget) İnvaziv kanser ve/veya in situ karsinom ile birlikte olmayan meme başının Paget hastalığı. Meme parankiminden kaynaklanan bir kanser ve Paget hastalığı birlikteliği varsa T sınıflaması meme parankiminden kaynaklanan tümöre göre yapılır.
T1 En büyük çapı ≤ 2 cm tümör
T1mic En büyük çapı ≤ 0.1 cm mikroinvaziv tümör

T1a Tümör çapı >0.1 cm, ancak $\leq$ 0.5 cm
T1b Tümör çapı >0.5 cm, ancak $\leq$ 1 cm
T1c Tümör çapı > 1 cm, ancak $\leq$ 2 cm
T2 Tümör çapı > 2 cm ancak $\leq$ 5 cm
T3 Tümör çapı > 5 cm
T4 Tümör herhangi bir boyutta fakat göğüs duvarı ve/veya cilt tutulumu (ülserasyon veya cilt nodülleri) varlığı. Sadece dermis invazyonu T4 olarak değerlendirilmez.
T4a Göğüs duvarına yayılım var fakat pektoral kas tutulumu yok
T4b İnflamatuvar kanser özelliklerini içermeyen ciltte ülserasyon ve/veya aynı taraf memede satellit nodüller ve/veya ödem (portakal kabuğu görünümü)
T4c Hem T4a hem de T4b
T4d İnflamatuvar karsinom

İnvaziv karsinomun en büyük boyutu T sınıflandırmasını belirlemek için kullanılır. İdeal yaklaşımda; radyolojik görüntülemelerle, makroskopide ve mikroskopide ölçülen tümör boyutlarının karşılaştırılması gerekmektedir. Tümör boyutu verilirken, tümörün bütünlüğü bozulmadan çıkarılmış olması gerekmektedir. Primer tümör çevresinde bulunan mikroskobik satellit odakları, tümör hacmini değiştirmez ve maksimum tümör boyutuna eklenmez (44).

Lobüler karsinoma in situ benign bir oluşum kabul edilerek 8. baskı AJCC Kanser Evreleme Kılavuzu'ndaki TNM evrelemesinden çıkarılmıştır (45). Tümörde invaziv alanın ölçüsü 1 mm'den küçük ise "mikroinvaziv karsinom" olarak sınıflandırılmaktadır (44).

Çoklu senkron tümörlerin T kategorizasyonu 8. baskı AJCC Kanser Evreleme Kılavuzu'ndaki TNM evrelemesinde açıklığa kavuşturulmuştur. Bunlar klinik ve / veya makroskopik patolojik inceleme ile tanımlanır ve varlıkları T kategorisi için (m) modifiye eki kullanılarak belgelenir. Bu yeni baskı özellikle klinik (cT) ve patolojik (pT) T sınıflandırması için en büyük tümörün maksimum boyutunu kullanmaya devam etmektedir. Çoklu tümörlerin boyutu birbirine eklenmez (44, 45).

İpsilateral memeden çıkarılan tümörlerde tümör boyutu en büyük tümöre göre yapılır. Diğer tümör odaklarının özelliklerine ek patolojik bulgular olarak raporda yer verilmelidir. Bilateral memede yer alan tümörler ise ayrı ayrı raporlanmalıdır (44).

Derideki satellit nodüllerin T4b olarak makroskopik olarak tanımlanması gerekmektedir. Sadece mikroskobik incelemede saptanan epidermal ülserasyon

veya cilt ödemi yokluğunda tanımlanan deri satellit nodülleri T4b olarak nitelendirilmez (44).

“İnflamatuvar karsinom” terimi meme derisinin en az üçte birinde veya daha fazlasında ödem ve eritem varlığıyla karakterize tümörlerde kullanılmaktadır. Bu değişiklikler lenfatiklerde bulunan tümör trombüslerinin neden olduğu lenfödem nedeniyle görülmektedir ve bu hastalar “cT4d” olarak değerlendirilmektedir. Klinik bulgular olmaksızın mikroskopta görülen tümör trombüslerinin varlığı “inflamatuvar karsinom” terminolojisi içerisinde kullanılmamaktadır. Klinik cilt değişiklikleri olmadan doğrudan dermisi infiltre eden veya meme derisinde ülserasyona neden olan meme kanserleri de inflamatuvar karsinom olarak nitelendirilmez (55, 56).

2.6.2.2 Bölgesel Lenf Nodları

Tablo 2.3 Patolojik kriterlere göre N sınıflaması (46)

pNx Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor (örneğin önceden çıkarılmış)
pN0 Histolojik olarak lenf nodlarında metastaz yok ya da izole tümör hücresi (İTH) için ek tetkik yapılmadı.
pN0(i-) Bölgesel lenf nodu metastazı yok, negatif İHK
pN0(i+) Bölgesel lenf nodlarında 0.2 mm’yi geçmeyen İHK veya H&E ile tespit edilmiş malign hücreler (İTH dahil)
pN0(mol-) Histolojik olarak lenf nodlarında metastaz yok, negatif moleküler tetkikler (Reverse transkriptaz /polymerase chain reaction)
pN0(mol+) Histolojik olarak lenf nodlarında metastaz yok, pozitif moleküler tetkikler (Reverse transkriptaz /polymerase chain reaction)
pN1 Mikrometastaz veya 1-3 aksiller lenf nodunda metastaz ve/veya internal mammaryan lenf nodlarında klinik olarak tespit edilemeyen Sentinel lenf nodu biyopsisi (SLNB)’de tespit edilen internal mammaryan lenf nodlarında metastaz
pNmi Mikrometastaz (>0.2 mm ve/veya 200’den fazla hücre), fakat 2 mm’den büyük değil
pN1a 1-3 aksiller lenf nodunda metastaz, en az bir tanesi 2 mm’den büyük
pN1b İnternal mammaryan lenf nodlarında klinik olarak tespit edilemeyen SLNB ile saptanmış mikro veya makrometastaz
pN1c 1-3 aksiller lenf nodunda metastaz ve internal mammaryan lenf nodlarında klinik olarak tespit edilemeyen fakat SLNB ile saptanan mikro veya makrometastaz
pN2 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz veya aksiller lenf nodlarında metastaz olmaksızın klinik olarak tespit edilen internal mammaryan lenf nodlarında metastaz

pN2a 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz (en az birinde 2 mm'den daha büyük tümör varlığı)
pN2b Aksiller lenf nodunda metastaz olmaksızın klinik olarak tespit edilen internal mammaryan lenf nodunda metastaz
pN3 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz; veya infraklavikuler lenf nodunda metastaz (Düzey III); veya bir ya da daha fazla düzey I, II aksiller lenf nodu metastazı varlığında aynı taraf internal mammaryan lenf nodlarında klinik olarak tespit edilen metastaz; veya klinik olarak tespit edilemeyen, SLNB ile saptanan internal mammaryan lenf nodunda mikro veya makrometastaz ve 3'den fazla aksiller lenf nodunda metastaz; veya aynı taraf supraklavikuler lenf nodlarında metastaz
pN3a 10 ya da daha fazla aksiller lenf nodu metastazı (en az birinde 2 mm'den daha büyük tümör depoziti); veya infraklavikuler lenf nodu metastazı (Düzey III)
pN3b Bir ya da daha fazla aksiller lenf nodu metastazı varlığında aynı taraf internal mammaryan lenf nodlarında klinik olarak tespit edilebilen lenf nodu metastazı; veya klinik olarak tespit edilmeyen SLNB ile saptanan internal mammaryan lenf nodlarında mikro veya makrometastaz ve 3'den fazla aksiller lenf nodunda metastaz
pN3c Supraklavikuler lenf nodu metastazı

Patolojik sınıflandırmanın temelinde sentinel lenf nodu diseksiyonu olsun veya olmasın aksiller lenf nodu diseksiyonu bulunmaktadır. Sınıflandırma aksiller lenf nodu diseksiyonu olmadan sadece sentinel lenf nodu biyopsisine dayanılarak yapıldı ise (sn) kısaltması kullanılır (örnek: pN0 (sn)) (45).

Lenf nodlarındaki sınırlı tek tümör hücreleri veya küçük hücre kümeleri şeklindeki metastazlar izole tümör hücreleri (İTH) olarak sınıflandırılır. İTH en büyük çapı 0.2 mm'den fazla olmayan 200'den az bir hücre kümesidir. İTH rutin histoloji veya İHK ile tespit edilebilir. Yalnızca İTH içeren lenf nodları, N sınıflandırması amacıyla toplam pozitif lenf nodu sayısından hariç tutulur, ancak değerlendirilen toplam lenf nodu sayısına dahil edilmelidir. Sadece lenf nodlarında sadece İTH bulunduran olgular pN0 olarak sınıflandırılır (55, 56).

2.6.2.3 Uzak Metastaz

Tablo 2.4 Patolojik kriterlere göre M sınıflaması (46)

M0 Uzak metastaza ait klinik veya radyolojik bulgu yok
cM0(İ+) Uzak metastaza ait klinik veya radyolojik bulgu yok fakat metastaza ait semptom ve bulgusu olmayan hastada kanda, kemik iliğinde veya bölgesel olmayan lenf nodlarında 0.2 mm'den büyük olmayan moleküler veya mikroskopik olarak saptanmış tümör hücreleri
M1 Klinik ve radyolojik olarak tespit edilen uzak metastaz ve/veya histolojik olarak 0.2 mm'den büyük uzak metastaz

2.6.2.4 Evrelendirme TNM Sınıflaması (AJCC 2017)

Meme kanseri doku tanısı konduktan sonra, ek değerlendirme hastanın potansiyel olarak tedavi edilebilecek ameliyat edilebilir bir hastalığı olup olmadığını belirleyecektir. Tedavi seçenekleri cerrahi, radyasyon tedavisi ve sistemik tedavidir. Tedavi seçimi, bireysel hasta özelliklerine ek olarak, hem hastalığın evresine hem de prediktif ve prognostik faktörlere bağlıdır (35).

Tablo 2.5 TNM sınıflaması, evrelendirme (AJCC 2017) (46)

T	N	M	EVRE
Tis	N0	M0	0
T1	N0	M0	1A
T0	N1mi	M0	1B
T1	N1mi	M0	1B
T0	N1	M0	2A
T1	N1	M0	2A
T2	N0	M0	2A
T2	N1	M0	2B
T3	N0	M0	2B
T1	N2	M0	3A
T2	N2	M0	3A
T3	N1	M0	3A
T3	N2	M0	3A
T4	N0	M0	3B
T4	N1	M0	3B
T4	N2	M0	3B
Herhangi bir T	N3	M0	3C
Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1	4

2.6.3 Meme Tümörlerinin Moleküler Sınıflandırılması

Meme karsinomları birbirinden çok farklı histomorfolojik özellikler ve klinik seyir gösterebilen bir grup tümörü kapsamaktadır (57). Histomorfoloji ve klinikteki bu farklılıkların moleküler temellere dayandığı ilk kez 2000 senesinde Perou ve arkadaşları tarafından ifade edilmiştir (58). Meme karsinomu gelişirken farklı yolaklarda biriken mutasyonlar görülmektedir (27). Genlerin ekspresyon profiline göre meme karsinomları 5 moleküler sınıfa ayrılmaktadır. Bu sınıflama prognoz ve tedaviye yön verme açısından önemlidir (58, 59).

Luminal A: En sık görülen, prognozu ve hormon tedavisine yanıtı en iyi olan tiptir. ER; pozitif, PR; pozitif veya negatif, HER2, EGFR ve CK5/6 negatiftir. En fazla ER ekspresyonu gösteren gruptur (60). Diğer gruplara göre daha yüksek sağkalım oranları görülmektedir (59). BRCA2 mutasyonları olan bireylerde en sık ortaya çıkan kanser türüdür (57).

Luminal B: ER, PR ekspresyonuna ek olarak HER-2 ekspresyonu görülür. Daha yüksek oranda proliferasyon gösterir. Prognozu luminal A'ya göre daha kötüdür. Luminal gruba ait genleri orta düzeyde eksprese eder (61).

HER-2 Overeksprese eden: Bu tümörler HER-2 pozitif; ER, PR, CK5/6 ve EGFR negatiftir. Prognozu kötü olmasına rağmen neoadjuvan kemoterapiye iyi yanıt vermektedir (59,60). Meme kanserinin %20'si bu gruptadır (57).

Bazal Benzeri: CK5/6, CK8/18 ve/veya EGFR pozitif; ER, PR, HER-2 negatiftir. Bu tümörler BRCA-1 mutasyonu ile ilişkili olup prognozu en kötü tiptir (62). Özellikle, triple negatif meme kanseri (TNMK) olarak bilinen bu tip tüm meme kanseri vakalarının % 10-15'ini içerir (28) ve agresif klinik davranış ile karakterizedir (29, 30).

Normal Meme Benzeri: Luminal A tipine benzer: ER ve PR pozitif, HER2 negatif ve Ki-67 düşük düzeydedir. Normal benzeri meme kanseri iyi bir prognoza sahip olmakla birlikte luminal A kanserinin prognozundan biraz daha kötüdür (63).

2.7 Meme Tümörlerinde Prognostik Faktörler

Meme kanserinde tedavi kararının verilmesi, bireysel hasta özelliklerine ek olarak hem hastalığın evresine hem de prediktif ve prognostik faktörlere bağlıdır. (52). Son otuz yılda meme kanseri tedavisi önemli değişikliklere uğramıştır ve günümüzde çok çeşitli tedavi seçenekleri mevcuttur. Bu nedenle, tedavi kararı vermeden önce her hasta için prognostik faktörleri değerlendirmek önemlidir (64). Erken evre meme kanserinde, rutin uygulamada kullanılan üç ana prognostik belirleyici lenf nodu (LN) durumu, tümör boyutu ve histolojik derecedir (65).

2.7.1 Tümör Boyutu

Prognostik amaçlar için, tümörlerin boyutu patoloğ tarafından değerdendirilmelidir, çünkü klinik veya görüntüleme ile ölçümü yeterince doğru sonuç vermemektedir (64). AJCC Kanseri Evreleme Kılavuzunun 8. baskısında, mikroskopik ölçümün küçük invaziv kanserlerde tümör boyutunu belirlemek için tercih edilen en doğru yöntem olduğu vurgulanmıştır (66).

Minimal invaziv karsinom terimi, prognozu iyi olan küçük tümörleri tanımlamak için kullanılmıştır. Mikroinvaziv karsinomdan farklı bir lezyonu temsil eder (tipik olarak yüksek dereceli) (67). Bu olumlu klinik sonuçla uyumlu olarak, küçük karsinomlarda aksiller LN metastazlarının sıklığı (%15-20), 15 mm'den daha büyük çaplı tümörlerden (%40) daha azdır (67).

Ayrıca, Nottingham/Tenovus Primer Meme Kanseri Çalışması (NTPBCS), çok değişkenli analizle, tümör büyüklüğünün önemli bir bağımsız değişken olduğunu ve böylece Nottingham Prognostik İndeksinin (NPI) ayrılmaz bir bileşeni olduğunu doğrulamıştır (68).

Yapılan çalışmalarda 5 cm'den büyük tümörler daha kötü bir prognoz taşımaktadır. Bu tümörler için genellikle konservatif cerrahi önerilmez. Buna karşılık, lenf nodu negatif küçük tümörler (≤ 10 mm) lokal tedavi ile mükemmel sonuçlar göstermektedir (64).

2.7.2 Aksiller Lenf Nodu Tutulumu

Lenf nodu (LN) evrelemesi meme kanserinde çok güçlü prognostik bilgi sağlamaktadır. AJCC Kanseri Evreleme Kılavuzunun N evresi pozitif lenf nodlarının sayısına dayanmaktadır ve meme kanserinde en güçlü prognostik faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (69, 70). Lenf nodu pozitif hastalarda 10 yıllık sağkalım %35-45 iken lenf nodu negatif hastalarda %75 civarındadır (71).

Yapılan çalışmalarda lenf nodu durumunun meme kanserinde tek başına en önemli sağkalım belirleyicisi olduğu gösterilmiştir. Çok küçük tümörü olan ve tek bir aksiller lenf nodunda minimal düzeyde tutulum tespit edilen hastalar bile aksiller LN tutulumu olmayan hastalara göre anlamlı olarak daha kötü prognoza

sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca ilgili pozitif aksiller LN sayısı ile uzak metastaz ve nüks riski arasında da doğrudan bir ilişki saptanmıştır (72).

Aksiller lenf nodlarını çevreleyen yağ dokusunda metastatik karsinom varlığı, ektranodal yayılım veya ekstrakapsüler metastaz olarak sınıflandırılır ve kötü prognostik faktördür (64).

2.7.3 Tümör Evresi

Meme kanseri için AJCC kanser evreleme klavuzu 8. baskının revizyonu multidisipliner bir meme kanseri uzmanları ekibi tarafından belirlendi. Panel, tümör derecesi, proliferasyon oranı, östrojen ve progesteron reseptör ekspresyonu, HER2 ekspresyonu ve gen ekspresyon panelleri gibi biyolojik faktörlerin evreleme sistemine dahil edilmesi gerektiğini kabul etmiştir (55).

2.7.4 Hastanın Yaşı

Yaş, muhtemelen meme kanseri gelişimi için en önemli risk faktörüdür. Meme kanseri insidansı, kadınlarda yaş ilerledikçe artmaya devam etmektedir (50). Yapılan çalışmalarda meme kanseri olan genç kadınların yaşlı kadınlara göre nüks ve ölüm riski daha yüksek bulunmuştur (73, 74, 75).

2.7.5 Histolojik Tip

İnvaziv meme tümörlerinde histolojik tipin klinik evreden, lenf nodu durumundan ve tümör boyutundan daha az etkili olduğu bilinmektedir (50). İnvaziv karsinomlar, büyüme paternlerine ve diferensiyasyon derecelerine göre morfolojik olarak alt bölümlere ayrılır. Tümör tipi yararlı prognostik bilgi sağlamasına rağmen, meme kanserlerinin çoğu (%60-%75) özel tipte olmayan invaziv duktal karsinomdur. Prognozu farklılık gösteren özel tipler daha nadir görülmekte olup klinik yönetimde histolojik tipten rolü halen sınırlıdır (65).

Tübüler, papiller veya medüller kanserler % 10'dan daha az uzun süreli nüks oranları göstermektedir ve iyi prognoz ile ilişkilidir (76).

2.7.6 Histolojik Derece

Meme kanserinde en iyi bilinen prognostik faktörlerden biri, tümör biyolojik özelliklerinin morfolojik değerlendirilmesini temsil eden ve meme kanserlerinin klinik davranışı ile ilgili önemli bilgiler veren histolojik derecedir (40).

Şu anda en yaygın kullanılan derecelendirme sistemi, Scarff-Bloom-Richardson derecelendirme sisteminin Elston-Ellis modifikasyonudur (Nottingham Grade'leme Sistemi (NGS)). Bu sistem nükleer derece, tübül oluşumu ve mitotik oranı içermektedir (77).

Meme kanserinde NGS'nin prognostik önemi ilk olarak 1991'de gösterilmiştir (77). Daha sonra çoklu bağımsız çalışmalarda doğrulanmıştır ve uluslararası alanda çeşitli meslek kuruluşları tarafından önerilmektedir (DSÖ, AJCC, Avrupa ve Birleşik Krallık Kraliyet Patologlar Koleji) (65, 70, 78, 79). Birden fazla bağımsız çalışma NGS'nin LN durumu ile eşdeğer ve tümör büyüklüğünden daha yüksek prognostik değere sahip olduğunu göstermiştir (80, 81).

Glandüler ya da tübüler diferansiyasyon

Tübül veya bez (asiner) oluşumu, tümör diferansiyasyon derecesini ve memenin normal glandüler dokusuna benzerliğini yansıtan histolojik bir özelliktir. Tübül veya bez oluşumunun değerlendirilmesinde, tümörün tüm alanları taranır ve merkezi bir lümen boşluğuna sahip tübüler yapılar gösteren tümör adaları kantitatif olarak değerlendirilir.

Tümörün %75'inden fazlası tübül oluşumu gösterdiğinde 1 puan, %10 ile %75'inin tübül oluşumu gösterdiğinde 2 puan, %10'u veya daha azı tübül oluşturduğunda 3 puan verilir (64).

Nükleer Pleomorfizm

Nükleer pleomorfizm, sitolojik düzeyde tümör farklılaşmasının morfolojik ölçümüdür. Genetik açıdan anöploidi, genetik instabilite ve transkripsiyon seviyelerinin dolaylı bir ölçüsü olarak düşünülmektedir. Nükleer pleomorfizmin değerlendirilmesi histolojik derecenin en öznel ögesidir (52).

Meme dokusunda tümör içinde veya bitişğinde bulunan normal epitel hücreleri, lenfoid hücreler veya eritrositlerin boyutu ve şeklinin referans alınması kısmen objektif bir değerlendirme sağlamaktadır (52).

Çekirdeklerin küçük ve düzenli olduğu, normal çekirdeklere kıyasla boyut ve şekil bakımından çok az değişiklik gösteren tümörlere 1 puan verilir. Çekirdekler normalden daha büyük olup boyut ve şekillerde orta bir varyasyon görüldüğünde 2 puan verilir. Özellikle boyut ve şekil bakımından belirgin değişiklik gösteren çok büyük ve bizar çekirdeklere 3 puan verilir. Son iki kategoride nükleoller sıklıkla bulunur ve birden çok nükleol varlığında 3 puan verilir (64).

Mitotik Oran

Mitoz sayımı, tümörlerin proliferatif aktivitesini yansıtır ve muhtemelen histolojik derecenin en önemli prognostik bileşenidir. Mitoz sayımı rutin olarak hazırlanan H & E boyalı preparatlar üzerinde değerlendirilir (52).

Mitotik bir figürün tanımlanması, nükleer membranın bulunmamasına ve mitotik figürün ana hatlarında genellikle küçük bir çıkıntı görülen veya net bir tüylü çıkıntı olarak görülen en az bir ayrı kromozomun gözlemlenmesine dayanır. İki paralel, ayrı kromozom topluluğu (metafaz figürü) bir mitoz olarak sayılmalıdır. Mitozdaki üçgen veya dikenli hiperkromatik çekirdekler apoptozu desteklemektedir. Çevredeki sitoplazma eozinofilik olmamalıdır. Eozinofilik sitoplazma, hücrenin apoptoz geçirdiğini düşündürmektedir (52).

Mitoz skoru 10 Büyük Büyütme Alanı (BBA) başına mitoz sayısına bağlıdır. BBA'ların boyutu çok değişken olduğundan, mitotik sayımı standartlaştırmak gerekir. BBA'nın boyutu, bir mikroskoptan diğerine altı kata kadar değişebilir ve farklı cihazlar tarafından değerlendirilen aynı tümör için sayının, 10 BBA başına 3 ile 20 mitoz arasında değişebileceği hesaplanmıştır. Alan çapına ve mitotik sayımına göre puana kategorileri Tablo 2.6'da verilmiştir. Bu nedenle en doğru yöntem mitotik indekstir (yüzde olarak ifade edilen mitoz fraksiyonu). Bu yöntem zahmetli ve zaman alıcı olduğundan rutin kullanımda çok uygun değildir (52).

Tümörün farklı bölgelerindeki mitoz sayısında varyasyon varsa, en az diferansiye alan (en yüksek mitotik sayımı olan alan) değerlendirilmelidir. Heterojenite kanıtı görülmezse, mitotik skora rastgele seçilen tümör çevresinin bir kısmında yapılmalıdır. En az bir mitotik şekil görüldüğünde alanlar sayılmaya başlanır ve 10 ardışık olmayan alanda sayıma devam edilir (64).

Total Skor

Tübül oluşumu (1-3), nükleer pleomorfizm (1-3) ve mitozlar (1-3) için skorlar birbirine eklenir ve aşağıdaki gibi total skor verilir:

3, 4 veya 5 = derece 1

6 veya 7 = derece 2

8 veya 9 = derece 3

Tablo 2.6 Alan Çapına ve Mitoz Sayımına Göre Puan Kategorileri

Field diameter (mm)	Area (mm ²)	Score 1	Score 2	Score 3
0.40	0.125	≤4	5 to 9	≥10
0.41	0.132	≤4	5 to 9	≥10
0.42	0.139	≤5	6 to 10	≥11
0.43	0.145	≤5	6 to 10	≥11
0.44	0.152	≤5	6 to 11	≥12
0.45	0.159	≤5	6 to 11	≥12
0.46	0.166	≤6	7 to 12	≥13
0.47	0.173	≤6	7 to 12	≥13
0.48	0.181	≤6	7 to 13	≥14
0.49	0.189	≤6	7 to 13	≥14
0.50	0.196	≤7	8 to 14	≥15
0.51	0.204	≤7	8 to 14	≥15
0.52	0.212	≤7	8 to 15	≥16
0.53	0.221	≤8	9 to 16	≥17
0.54	0.229	≤8	9 to 16	≥17
0.55	0.238	≤8	9 to 17	≥18
0.56	0.246	≤8	9 to 17	≥18
0.57	0.255	≤9	10 to 18	≥19
0.58	0.264	≤9	10 to 19	≥20
0.59	0.273	≤9	10 to 19	≥20
0.60	0.283	≤10	11 to 20	≥21
0.61	0.292	≤10	11 to 21	≥22
0.62	0.302	≤11	12 to 22	≥23
0.63	0.312	≤11	12 to 22	≥23
0.64	0.322	≤11	12 to 23	≥24
0.65	0.332	≤12	13 to 24	≥25
0.66	0.342	≤12	13 to 24	≥25
0.67	0.353	≤12	13 to 25	≥26
0.68	0.363	≤13	14 to 26	≥27
0.69	0.374	≤13	14 to 27	≥28

2.7.7 Lenfovasküler İnvazyon

Vasküler ve lenfatik invazyon meme karsinomlarının %50'sinde mevcut olabilen kötü bir prognostik belirteçtir. Lenfovasküler invazyon (LVİ), nodal evreden bağımsız olarak hastanın sağkalımı ile ilişkili bulunmuştur. Ancak LVİ'nin derece ile ilişkisini gösteren çalışmalar da yapılmıştır (81). LVİ tümörlerin anjiyogenezinin moleküler belirteci olarak 2005'teki St. Gallen toplantısında, lenf nodu negatif hastalar için prognostik faktörler arasına eklenmiştir. LVİ'si olmayan hastalarla karşılaştırıldığında, LVİ olan lenf nodu negatif meme kanserli hastalarda %60 daha yüksek mortalite gözlenmiştir (82). Ayrıca nodal tutulumu olmayan hastalarda LVİ'nin rekürrensi gösterdiği bulunmuştur (33, 37).

LVİ varlığının belirlenmesi için kesin kriterler uygulanmalıdır. Değerlendirme primer karsinomun periferindeki meme parankiminde yapılmalıdır. Fiksasyon büzülme artefaktı, özellikle malign hücrelerin yuvaları çevresinde boşluklar ortaya çıktığında LVİ'yi taklit edebilir. Duktal karsinoma in situ (DKİS), özellikle invaziv tümörün dışına uzanıyorsa, LVİ ile karıştırılmamalıdır. Bunların varlığını doğrulamak için gerekirse miyoepitelyal hücreler için immünohistokimya yapılabilir (55).

LVİ tanısı için tümör embolisi etrafında endotel ile çevrili olmalıdır. Hemen bitişiğindeki küçük kan damarlarının varlığı, şüpheli odağın gerçekten bir lenfovasküler boşluk olabileceğini gösterebilir. Gerçek emboli sıklıkla çevredeki lenfovasküler kanalla aynı taslağa sahip değildir. Nadir durumlarda, CD31 gibi endotelial belirteçler veya D2-40 gibi daha spesifik lenfatik endotelial belirteçler uygulanabilir (67).

2.6.1. Nottingham Prognostik İndeks

Meme kanserinde sağkalımı gösteren en güçlü, bağımsız prognostik faktörler bir prognostik indeksi formüle etmek için birleştirilmiştir. Bu yaklaşımla Nottingham Prognostik İndeksini (NPI) belirlemek için aşağıdaki formül kullanılmıştır. NPI skoru ne kadar yüksek olursa prognoz o kadar kötü bulunmuştur (67).

$$NPI = LN \text{ evresi} + \text{Histolojik derece} + (\text{Tümör Boyutu} \times 0,2)$$

NPI skoruna göre hastalar beş prognostik gruba ayrılmıştır (67).

Mükemmel prognostik grupta olanlar (NPI skoru <2.41, 15 yıllık sağkalım %84),

İyi prognostik grup (NPI skoru 2.41 ve 3.4, 15 yıllık sağkalım % 74),

Orta prognostik grup I (NPI skoru 3.41 ve 4.4 arasında, 15 yıllık sağkalım %63),

Orta prognostik grup II (NPI skoru 4.41 ve 5.4 arasında 15 yıllık sağkalım %46),

Kötü prognostik grup (NPI skoru >5.4, 15 yıllık sağkalım %18) (67)

2.7.8 Östrojen ve Progesteron Reseptörü Ekspresyonu

Östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR), invaziv meme kanseri olan hastaların tedavisinin belirlenmesinde büyük rol oynayan prognostik ve prediktif biyobelirteçlerdir (39). ER ve PR, prognostik faktörleri modifiye etmek için zayıf, ancak endokrin tedavilere yanıt açısından çok güçlü prediktif faktörlerdir. Günümüzde tedavi yanıtını öngörmek amacıyla tüm invaziv meme karsinomlarında ER ve PR'nin değerlendirilmesi zorunludur (83).

American Society of Clinical Oncology (ASCO) ve College of American Pathologists (CAP), meme kanserinde ER ve PR testi için ortak İHK testlerinin standartlaştırılması ve rutin klinik uygulamalarda kullanılması gerektiğini yayınlamışlardır (84).

ER, meme gelişimi, büyümesi, farklılaşması ve tümör oluşumunda rol oynayan nükleer transkripsiyon faktörlerinin steroid reseptör süper ailesinin bir üyesidir ve pS2, PR ve bcl-2 gibi çoklu genlerin ekspresyonunu düzenler. Bu nedenle, bir tümörde PR varlığı ER'nin mevcut ve işlevsel olduğunu gösterir (7, 85, 86).

Östrojen, meme kanseri hücresinin hayatta kalmasını ve tümör büyümesini artırabilir. ER ve PR seviyeleri hasta yaşı ile ilişkili olup histolojik derece, proliferasyon oranı, tümör boyutu, lenf nodu durumu, HER2 ekspresyonu, p53 ve diğer birçok faktörle ters orantılıdır (85).

İnvaziv meme kanserlerinin yaklaşık %70'inin önemli düzeyde ER ve PR eksprese ettiği çok sayıda randomize klinik çalışmada belirlenmiştir. ER pozitif tümörleri olan kadınların 5 yıllık tamoksifen tedavisinden önemli bir fayda sağladığı gösterilmiştir, nüks ve ölüm ihtimalinde yaklaşık %40-50 oranında azalma görülürken, ER negatif tümörleri olanlarda bu fayda görülmemiştir (43).

Knight ve ark. LN durumundan bağımsız olarak ER pozitifliğinin genellikle daha iyi prognozla ilişkili olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, başka bir çalışmada PR pozitif hastaların PR negatif hastalara göre daha uzun süre hayatta kaldıkları gösterilmiştir. Reseptör durumu kemoterapi alan hastada tedaviye yanıtı öngörmektedir (80).

2.7.9 HER2 Ekspresyonu

Epidermal büyüme faktörü reseptör ailesinin bir transmembran tirozin kinaz reseptörünü kodlayan HER2/neu onkogeninin amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu, meme karsinomlarının %25'inde tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda HER2 pozitif hastaların prognozunun HER2 negatif hastalara kıyasla daha kötü olduğu gösterilmiştir (87, 88).

HER2'yi aşırı eksprese eden tümörler p53 anormallikleri, hormon reseptörü ve bcl-2 negatifliği, tümör derecesi, lenfoid infiltrasyon ve yüksek mitotik indeks ile ilişkili bulunmuştur (37, 89). HER2 ekspresyonu, trastuzumab, bazı endokrin tedaviler ve kemoterapiye verilen tedavi cevabını tahmin etmede değerlidir (41, 82).

Trastuzumab, 1998'de FDA tarafından metastatik meme kanserinde kullanım için onaylanmış HER2'ye karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikordur. Trastuzumab, tek başına veya metastatik meme kanseri tedavisinde kemoterapi ile birlikte kullanıldığında tedaviye yanıt oranlarını, progresyona kadar geçen süreyi ve sağkalımı artırır. İlk olarak metastatik kanserde kullanımı onaylanmış olmasına rağmen, prospektif randomize klinik çalışmalar da erken evre meme kanserlerinde trastuzumabın büyük terapötik faydalarını göstermiştir (41).

The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Meme Kanseri Paneli, ASCO'nun HER2 testinin sadece bu testi yapmak üzere onaylanmış laboratuvarlarda yapılmasını önermektedir (90).

2.7.10 Tümör Büyüme Hızı ve Proliferasyon

Meme kanseri prognostik faktörlerinin çoğu doğrudan veya dolaylı olarak proliferasyonla ilişkilidir ve proliferasyonun artması kötü prognozun göstergesidir. Tümörün ikiye katlanma süresinin prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (80).

Mitotik Aktivite İndeksi

Mitotik Aktivite İndeksi (MAİ), tümörün belirli bir bölgesindeki mitozu temsil eden proliferatif aktivitenin bir göstergesidir. MAİ'nin uzun dönem sağkalımın değerlendirilmesinde faydalı olduğu kanıtlanmıştır (39).

Nüfusa dayalı bir çalışmada, lenf nodu negatif 5cm'den küçük tümörlerde MAİ ≥ 10 olan kadınlarda 10 yıllık sağkalım %80 iken, MAİ 10'dan küçük olan kadınlarda %90 olarak gösterilmiştir (91).

Proliferasyon faktörü MAİ, lenf nodu negatif invaziv meme kanseri olan, adjuvan sistemik tedavisi olmayan ve uzun süreli takip edilen 71 yaşından küçük hastalarda en güçlü prognostik faktörlerden biri olarak bulunmuştur. Ayrıca, hızla çoğalan tümörleri olan hastaların, düşük proliferasyona sahip olanların aksine, adjuvan sistemik tedaviden önemli ölçüde faydalandığı tespit edilmiştir (80).

Gen ekspresyon profili

Hücre proliferasyonu doku kesitlerinde proliferasyona bağlı antijenlerin İHK'sı ile değerlendirilebilir. Ki-67 ve çoğalan hücre nükleer antijeni (PCNA) dahil olmak üzere proliferasyona bağlı antijenler tanımlanmıştır (92). Bunlardan Ki-67, tek başına veya Ki-67'ye karşı reaksiyona giren bir antikör olan MIB1 ile kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (37).

Inwald ve ark. Ki-67'nin hem hastalıksız hem de genel sağkalım için bağımsız bir prognostik faktör olduğunu göstermişlerdir (93). Ki-67 değerlendirilmesinin uluslararası düzeyde tekrarlanabilirliğini inceleyen Polley ve ark. laboratuvarların düşük bir tekrarlanabilirlik gösterdiğini belirttiler. Bu farklılığın tümör bölgesi seçimi, sayma yöntemi ve boyanmanın subjektif değerlendirmesi gibi faktörlere bağlı olduğuna dikkat çekmişlerdir (94).

2.7.11 Çeşitli Moleküler Belirteçler

BRCA1 / BRCA2 mutasyonları ilk olarak 1994 yılında tanımlanmıştır ve bazı spesifik gruplar için meme kanseri risk faktörleridir (95). Uzun süreli (10 yıldan fazla) sağkalım için prognostik gösterge olarak rolleri henüz belirlenmemiştir. 56'sı (% 11) BRCA1 / BRCA2 mutasyonu taşıyan 496 kadın üzerinde yapılan bir çalışmada, BRCA1 mutasyonları olan kadınlarda olmayanlara göre sağ kalım oranları daha düşük bulunmuştur. Fakat BRCA2 mutasyonu olan kadınlar için bu durum söz konusu değildir. Bununla birlikte, BRCA1 ve BRCA2 mutasyonu olan aileler ile BRCA1 / BRCA2 mutasyonu olmayan ailelerden gelen hastaları ve sporadik olguları karşılaştıran başka bir çalışma BRCA1 / BRCA2'nin prognostik rolü olmadığını göstermiştir (52).

2.8 Tümör ve İmmünite

Kanser hücreleri, organizmanın kendi dokularından bir dizi mutasyon ile oluşan temel olarak bölünme kontrolü bozulmuş hücrelerdir. Normal hücrelerden farklı antijenler ürettiği için immün yanıtı neden olurlar ve hücresel bağışıklık sistemini aktive ederler (86).

Klinik olarak anlamlı çoğu çalışma, immün yanıtın T lenfositleri ve özellikle CD8 + sitotoksik T lenfositleri (STL) içerdiğini göstermektedir. Kolon kanseri gibi diğer bazı tümör tiplerinde daha fazla sayıda STL içeren tümörlerin daha iyi bir prognozla ilişkili olduğu bulunmuştur (86).

İmmün yanıtlar sıklıkla tümörlerin büyümesini engelleyemez. Tümöre karşı oluşan immün yanıtın kanserleri yok edememesinin birkaç nedeni olabilir. Birincisi, birçok tümör konakçı immün cevabını azaltmak için özel mekanizmalar geliştirir. İkincisi, tümör hücreleri konakçı immün sistemi tarafından tanınabilecek antijenlerin ekspresyonunu kaybeder. Etkili immün yanıtı ortaya çıkaran tümörler bile zaman içinde daha az immünojenik hale gelebilir. Üçüncüsü, bir tümörün hızlı büyümesi ve yayılması, tüm malign hücrelerin yok edilmesi için gerekli bağışıklık sisteminin kapasitesini aşabilir (96, 97).

2.8.1 Tümör Antijenleri

Koruyucu immün yanıtı ortaya çıkaran tümör antijenlerinin çoğu, farklı tümör hücresi klonlarında mutasyona uğramış genler tarafından üretilen neoantigenlerdir. Tümörlerin protein neoantigenleri çoğunlukla mutasyona uğramış onkogenlerin veya onkogeneizde rol oynayan tümör baskılayıcı genlerin ürünleridir (99). Normal dokuda bulunmaması nedeniyle immün sistem bu antijenlere toleranslı değildir. Modern yeni nesil sekanslama teknolojisi, farklı tümörlerde üretilen neoantijenlerin çeşitliliğini ortaya çıkarmıştır (96).

Neoantijenler genellikle proteozomlar tarafından parçalanan ve tümör hücrelerinde sınıf I MHC moleküllerinde sunulan sitozolik veya nükleer proteinlerdir. Ayrıca dendritik hücreler tarafından fagositozdan sonra sınıf II MHC antijen sunum yolağına girebilir ve çapraz olarak T hücrelerine sunulabilirler (86).

Ayrıca, aynı hastada bile, tümör büyüdükçe yeni mutasyonlar kazanabilir ve böylece yeni neoantijenler üretebilir. Bu bulgular tümör hücresi klonları arasında değişkenlik anlamına gelen “klonal neoantigenler” kavramına yol açmıştır. Bu neoantijenlerin tanımlanması, hastalarda tümörlere karşı immün yanıtları takip etmek ve aşı gelişimi için antijenleri belirlemek açısından önemlidir (96).

2.8.2 Tümörlere İmmün Yanıt

Hastalarda ve deney hayvanlarında tespit edilen çeşitli immün mekanizmalar, tümör hücrelerini in vitro öldürebilir. Tümör immünologları bu mekanizmalardan hangilerinin tümörlere karşı korumada önemli ölçüde katkıda bulunabileceğini belirlemeyi ve bu mekanizmaları tümöre özgü şekilde kullanılabilecek terapiler geliştirmeyi amaçlamıştır (96).

T Lenfositler

Tümörlere karşı immünitinin temel mekanizması, tümör hücrelerinin CD8 + STL'lerle öldürülmesidir. STL'ler, tümör antijenlerinden türetilen ve sınıf I MHC molekülleri ile birlikte sunulan peptitleri eksprese eden malign hücreleri tanıyıp öldürerek işlevi gerçekleştirir (87).

Antijen sunan hücreler (ASH), tümör antijenlerini lenf düğümlerine taşıır ve naive T hücrelerine sunar. T hücreleri ASH'ler tarafından aktive edildiğinde, naive T hücresi yüzeyindeki yardımcı uyarıcı CD28, ASH'deki B7 proteinlerine bağlanır. Bu sinyal T hücrelerinin aktivasyonunu, proliferasyonunu, efektör fonksiyonunu ve migrasyonunu indükler. Efektör STL'ler oluşturulduktan sonra herhangi bir dokudaki tümör hücrelerini kostimülasyona gerek duymadan tanıyabilir ve öldürebilirler (97).

CD4 + yardımcı T hücreleri, çeşitli mekanizmalarla antitümör immün yanıtlara katkıda bulunur. Tümörlerde STL'ler gibi Th1 hücrelerinin varlığı da iyi prognoz ile ilişkilidir. Th1 hücreleri tümör nekroz faktör (TNF) ve interferon- γ (IFN- γ) salgılanması yoluyla CD8 + T hücre yanıtını artırarak ve makrofajları aktive ederek antitümör etkisi gösterir (96).

T-reg hücreleri transkripsiyon faktörü Foxp3'ü eksprese eder ve sağlıklı bireylerde dolaşımdaki CD4 lenfositlerinin %5-10'unu temsil eder. T-reg'ler, CD4+Th1, CD8+T, NK, B hücreleri ve diğer ASH gibi birçok bağışıklık hücrelerini baskılamak için farklı sitokinler ve büyüme faktörleri salgılar. Ayrıca T-reg'ler, PD1 ve CTLA-4 dahil olmak üzere yüksek seviyelerde immün kontrol noktası reseptörlerini de eksprese eder (99, 100).

Dördüncü tip T hücresi alt tipi, tercihen IL-17, IL-21 ve IL-22 üreten ve otoimmün hastalıkların patogeneğinde önemli olan Th17 hücresidir (101).

Natural Killer Hücreler

Natural Killer (NK) hücreleri birçok tümör hücrelerini öldürebilir ve kansere karşı immunitenin geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Tümör hücreleri, sınıf I MHC'nin ekspresyonunu azaltarak veya aktive edici NK hücre reseptörlerini bağlayan ligandların ekspresyonunu artırarak NK hücreleri tarafından öldürülmeye yatkın hale gelirler. NK hücreleri, sağlıklı hücreler üzerinde eksprese edilen sınıf I MHC moleküllerini bağlayan inhibitör reseptörlerini eksprese eder (86).

NK hücreleri, antikora bağlı hücre aracılı sitotoksiste ile antitümör antikoları ile kaplanmış tümör hücrelerini öldürmek için de aktive edilebilir. NK hücrelerinin efektör fonksiyonları IL-2, IFN- γ ve IL-12 gibi sitokinler ile artmaktadır (96, 98).

Makrofajlar

Makrofajlar, aktivasyon durumlarına bağı olarak kanserlerin büyümesini ve yayılmasını hem inhibe hem de teşvik edebilir. Tümörlerdeki makrofajlar, tümöre spesifik Th 1 hücreleri veya STL'ler tarafından üretilen IFN- γ ile tümör hücrelerini öldürmek için aktive edilebilir. Bu nedenle, bazı tümörlerde çok sayıda Th1 hücresi iyi bir prognoz ile ilişkili olabilir. M1 makrofajları, enfeksiyöz organizmaları öldürmek için kullandıkları mekanizmalarla tümör hücrelerini öldürebilir. Tümörler tarafından aktive edilen M2 makrofajlar antitümör bağışıklığını inhibe edebilir ve tümör büyümesini teşvik edebilir (96).

2.8.3 Tümörün Bağışıklık Yanıtından Kaçış Mekanizmaları

Tümörlerin konakçı bağışıklığından kaçma yeteneği biyolojik olarak ayırt edici bir özelliği olarak görülmektedir. Tümör immünolojisinin amacı bu immün kaçış mekanizmalarını anlamaktır. İmmün yanıtı kaçışı önleme çalışmaları tümörlerin immünojenisitesini artıracak ve konağın yanıtını en üst düzeye çıkaracaktır (96).

2.8.3.1 Bağışıklık Kontrol Noktaları ve Bağışıklık Yanıtının İnhibisyonu

Bağışıklık kontrol noktaları, T hücre reseptörüne (THR) karşı uyarıcı ve inhibitör sinyaller arasındaki dengeyi sağlar. İnhibitör sinyal yolları, otoimmüniteyi önler ve bir patojene karşı savaşırken dokuları kollateral hasardan korur. Tümörler, bu kontrol noktalarını inhibe ederek bağışıklık direnci geliştirebilir (90).

Tümörler, normalde otoimmüniteyi önlemek veya mikroorganizmalara karşı immün yanıtı düzenlemek için işlev gören inhibitör molekülleri kullanarak antitümör T hücresi yanıtından kaçır. Bazı tümörlerde T lenfosit yanıtının CTLA-4 (sitotoksik T lenfosit ile ilişkili protein 4) veya PD-1'in katılımıyla inhibe edildiğine dair güçlü deneysel ve klinik kanıtlar vardır. Bunlar T hücreleri üzerinde en çok çalışılan inhibitör bağışıklık kontrol noktası reseptörlerinden ikisidir (96).

CTLA-4 yalnızca T hücrelerinde bulunur ve erken T hücresi aktivasyonunu düzenler. CTLA-4, daha yüksek bir afinite ile B7'ye bağlanan ve TCR sinyalleme ile indüklenen bir CD28 homologudur. CTLA-4 ayrıca immün yanıtları baskılayan CD4 düzenleyici T hücrelerini (Tregs) artırır (100).

PD-1, normal olarak aktive edilmiş T hücreleri üzerinde indüklenen bir CD28 ve CTLA-4 homologudur, fakat kanserdeki kronik antijenik maruziyet PD-1 reseptörünün sentezinin artmasına yol açabilir. PD-1 reseptörünün artması, doğal ve adaptif bağışıklığı engellediği gösterilmiştir. PD-1 ligandı olan PD-L1 (B7 ailesi proteini), tümör hücrelerinde artar. Bu durum kanser progresyonu ve kötü prognoz ile koreledir (100).

Tümörlerin antitümör yanıtlarını düzenlemek için CTLA-4'ü kullanmasının olası nedeni, tümör antijenlerine karşı doğuştan bağışıklığın olmaması nedeniyle düşük seviyelerde B7 kostimulatörleri ile ASH'ler tarafından sunulmasıdır. Bu düşük seviyeler, yüksek afiniteli reseptör CTLA-4'ü bağlamak için yeterli olabilir.

CTLA-4 ve PD-L1 / PD-1 yollarının blokajı, klinikte tümöre özgü T hücrelerinin tümör hücrelerini öldürme yeteneklerini arttırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (96).

Tümör hücrelerinde salgılanan ürünler antitümör immün yanıtlarını baskılayabilir. TGF- β immünsüpresif tümör ürününün bir örneğidir ve birçok tümör tarafından salgılanarak lenfositlerin ve makrofajların proliferasyonunu ve efektör fonksiyonlarını inhibe eder (86).

Fare tümör çalışmalarından ve kanser hastalarından elde edilen verilere göre, tümörlü bireylerde Treg hücre sayısının arttığı gösterilmiştir. Bu hücreler antitümör T hücre yanıtını baskılamaktadır (86).

Miyeloid türevi baskılayıcı hücreler (MDSC) dendritik hücrelerin, monositlerin ve nötrofillerin öncüleri dahil olmak üzere heterojen bir hücre tipidir (86). MDSC'lerin, IL-10, TGF- β ve prostaglandinler gibi immünsüpresif sitokinlerin salgılanması dahil olmak üzere birçok farklı mekanizma ile doğuştan gelen ve kazanılmış bağışıklık yanıtını baskıladığı ve Treg farklılaşmasını teşvik ettiği bildirilmektedir (96, 102).

2.8.3.2 Tumor Antijen Ekspresyon Kaybı

Tumor antijenlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar veya delesyonlar yaygın olarak görülmektedir. Antijen ekspresyon kaybı gösteren tumor hücreleri, konakçı immün yanıtından kaçarak tumorün büyümesine neden olacaktır (96).

Tümöre özgü antijenlerin kaybına ek olarak, bazı tümörler, MHC ekspresyonunu azaltarak ve antijeni T hücrelerine sunma yeteneğini kaybederek bağışıklık sisteminden kaçır. Sınıf I MHC'yi kaybeden tümörler NK hücreleri tarafından mükemmel bir hedef haline gelir. Bununla birlikte, tumor hücrelerinde NK hücresi aktive edici reseptörler için ligandların ekspresyonunu engelleyen ek mutasyonlar ortaya çıkabilir ve NK hücresi saldırısından kaçınan alt klonların büyümesine neden olabilir (98).

2.8.4 Tümörler için İmmünoterapi

Tumorün kullanılan tedavilerin çoğuna dirençli olması ve bu tedavilerin normal çoğalan hücreler üzerinde zararlı etkilerinin olması immünolojik tedavilere yönelmenin önemli bir nedenidir. Tümörlere immün yanıt teorik olarak tumor hücreleri için oldukça spesifik olabilir ve çoğu normal hücreye zarar vermez. Bu nedenle immünoterapi, tümöre özgü tedavi olma potansiyeline sahiptir. Tumor antijenlerinin tanımlanmasındaki son ilerlemeler bizi tümöre özgü immünoterapiye daha yakın hale getirmiştir (96).

İmmünoterapi, bağışıklık kontrol noktası inhibisyonu, monoklonal antikorlar, aşılarda, antikor-ilaç konjugatları ve tumor mikro çevresini hedef alan diğer yeni müdahalelerin tanımlanması dahil olmak üzere çok çeşitli tedavileri kapsar (100).

2.8.5 Meme Kanseri Tumorü İnfiltrate Eden Lenfositler ve Prognoz

Tumor mikroçevresinde dendritik hücreler, M1 makrofajlar, CD4+Th1, sitotoksik CD8+T hücreleri ve NK hücreleri dahil olmak üzere proinflatuar hücreler ile M2 makrofajlar, miyeloid türevi baskılayıcı hücreler (MDSC'ler), nötrofiller, Th2, Th17 ve Treg gibi T hücrelerini baskılayıcı fonksiyonu bulunan immünsüpresif etkiye sahip hücreler bulunur. Tumorü infiltrate eden lenfositler

(TİL) tümör dokusunun içinde ve çevresinde bulunan mononükleer immün hücrelerdir (100). Yapılan çalışmalarda meme kanserinde TİL'lerin prognostik ve prediktif rollerini göstermiştir (99, 103).

Meme kanserinde, TİL'ler daha agresif tümör tiplerinde görülmekte olup kemoterapiye daha iyi yanıt ile ilişkilendirilmiştir (64). T lenfositler TİL'lerin önemli bir bölümünü oluşturur. Yapılan çalışmalarda yüksek CD8+T lenfositler ve düşük Treg'ler olumlu klinik sonuçların önemli bir belirleyicisi olarak gösterilmiş olup daha iyi hastalıksız ve genel sağkalımla ilişkili bulunmuştur (58) (63, 100).

Meme kanseri genellikle daha az immünojenik bir kanser olarak kabul edilir. Bununla birlikte, bazı meme kanseri alt tipleri, en önemlisi triple negatif meme kanseri ve HER pozitif meme kanserinin, luminal A kanserlerinin daha immünojenik olduğu düşünülmektedir (3, 103). Triple negatif ve HER2 pozitif meme kanserlerinde artmış TİL seviyeleri ve artmış nüksüz sağkalım arasında güçlü bir ilişki gösterilmiştir (58). Ayrıca triple negatif meme kanserinde tümör mikroçevresinde artmış PD-L1 ekspresyonuna sahip olması daha olasıdır. PD-L1 ekspresyonu triple negatif meme kanserinde % 5-85 arasında değişirken, diğer meme kanseri alt tiplerinde % 0-46 arasında değişmektedir (99).

Yüksek TİL seviyelerine sahip hastalarda anti-PD-1 antikorlarına yanıt oranları artmıştır. Yapılan çalışmalar TİL'lerin anti-PD-1 veya anti-PD-L1 ekspresyonu gösteren hastaları tanımlamak için biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (94).

Işık mikroskopisi kullanarak TİL seviyelerini değerlendirme önerisi, ESMO kılavuzlarının Ağustos 2019 güncellemesine dahil edilmiştir ve WHO Meme Tümörleri Sınıflandırması'nın gelecek beşinci baskısına dahil edilmiştir (104).

2.8.6 PD-1 / PDL-1 Yolağı

PD-1 ilk olarak 1992 yılında bildirilen immünoglobulin süper ailesinin bir üyesidir (105). PD-1, B-lenfositlerin alt kümelerinde, NK hücrelerinde, miyeloid hücrelerde ve aktive edilmiş T hücrelerinde bulunan bağışıklık kontrol noktası reseptörüdür (58). PD-1, inflamasyon sırasında efektör T hücre fonksiyonunu sınırlamak için periferik dokularda veya tümör mikroçevresinde bulunur (100).

PD-L1 (B7-H1 veya CD274) PD-1'e bağlanan ligandır. Bağlanmaları PD-1 yoluyla T hücresi reseptör aktivasyonunu ve efektör fonksiyonunu azaltan bir inhibitör sinyali gönderir (106). PD-1 ve ligandı olan PD-L1 arasında gelişen aktivasyon T hücre aktivitesini, sitokin üretimini azaltırken, T hücre lizisini ve antijenlere olan toleransı artırır (3, 75, 100). PD-1 ve ligandı PD-L1, otoimmün hastalıklarda, kronik enfeksiyonlarda ve kanserde T hücrelerinin aktivasyonunu down regüle etmek için etkileşime girer (64). PD-L1, aktive edilmiş T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar, dendritik hücreler ve mezenkimal kök hücreler ve ayrıca çeşitli tümör hücreleri üzerinde eksprese edilir (64). Normal dokulardaki seviyeleri son derece düşük olmasına rağmen neoplastik hücreler üzerinde daha fazla sentezlenirler (67).

PD-L1'in tümör hücre zarı (%64), sitoplazma (%80) ve stromal (%93) hücrel bölmelerde eksprese edildiği bulunmuştur (3, 7). Tümör hücrelerinde eksprese edilen PDL-1 normal meme dokusunda ekspresyon göstermemiştir (3). Tümör hücresinde eksprese edildiği gibi aynı zamanda TIL'lerde ekspresyon gösterilmiştir (106). PD-L1, kanda flow sitometri ve ELISA; dokuda immunohistokimyasal antikor ile boyama veya İn situ hibridizasyon gibi tekniklerle saptanabilmektedir (63).

Dikkat çekici bir şekilde, PD-L1 ekspresyonu küçük hücreli dışı akciğer karsinomunda, malign melanom, kolorektal karsinom, mide kanseri, oral skuamöz hücreli karsinom, renal hücreli karsinom dahil olmak üzere birçok epitelyal kanserde keşfedilmiştir (63, 66). Bazı meme kanseri tiplerinde, PD-L1'in primer tümör hücreleri üzerindeki ekspresyonu, genç yaş, ileri histolojik derece, hormon reseptör negatifliği, HER2 pozitifliği gibi tümör hücrelerinin agresif özellikleri ile ilişkilidir (107). Bu küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında, renal hücreli karsinomda ve özefagus kanserlerinde gösterilmiştir (3). Yapılan çalışmalarda tümör hücresi ve TIL'lerde sitoplazmik PD-L1 ekspresyonunun daha iyi sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (99).

Genel olarak, tüm meme kanseri alt tiplerinde PD-L1 ekspresyonu %0 ile %83 arasında değişmekte olup, çoğu çalışmada PD-L1 ekspresyonu %50'nin altında bulunmuştur (99). Çalışmalar triple negatif meme kanserinin daha sık PD-L1 ekspresyonuna sahip olduğunu gösterdiği gibi anti-PD-L1 / anti-PD-1 terapisi triple negatif meme kanseri için umut verici bir terapötik strateji haline gelmiştir (12).

2.9 Meme Karsinomunun Moleküler Temeli

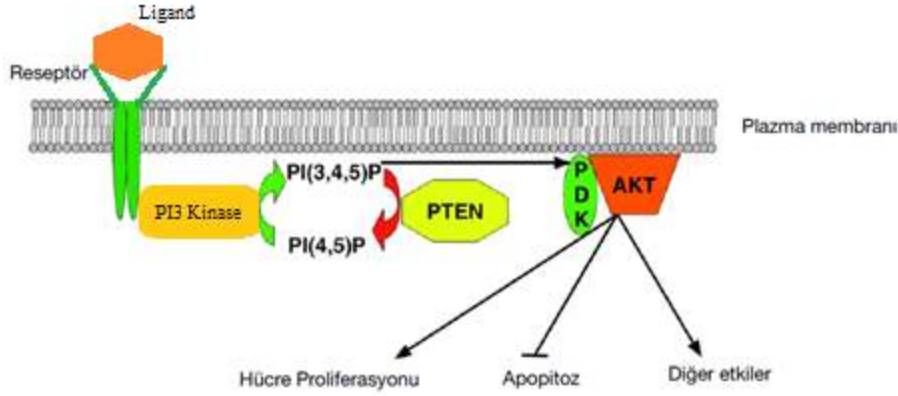
Diğer kanserlerde olduğu gibi meme dokusu kök hücrelerinin tüm meme kanserleri için başlangıç hücresi olduğu varsayılmıştır. Bu tür hücrelerde bir mutasyon başladığında, üç ana genetik karsinojenez yolu olduğu görülmektedir (57). Bunlar ER, HER2 ve Wnt yolaklarıdır. Bu üç yola ek olarak, normal meme gelişiminin düzenlenmesinde olduğu kadar meme kanseri gelişiminde de önemli rol oynayan siklin bağımlı kinaz, Notch, SHH, PI3K / Akt / mTOR yolakları da yer almaktadır (108).

2.9.1 PTEN

PTEN, 10q23 kromozomal bant üzerinde bulunan fosfatidilinositol fosfat fosfatazi kodlayan, tensin homoloğu tümör baskılayıcı bir gendir (16, 109, 110). PTEN fonksiyonunun kaybı, bazı kanser türlerinin ilerlemesinde rol oynamaktadır (16).

PTEN'in temel görevi hücre proliferasyonu ve hayatta kalmasında rol oynayan PI3K/AKT yolağının inhibisyonudur. PTEN, PI3K/AKT yolunun inhibisyonunu yaparken fosfatidilinositol (3-5)-trifosfat (PIP3)'ü defosforile eden lipit fosfataz olarak görev almaktadır (Şekil 2.2) (91).

PTEN mutasyonlarının tümörojenik etkisi PTEN'in PI3K/AKT yolu üzerindeki inhibitör etkisinin kaybı ile meydana gelmektedir. AKT aktivitesi büyüme faktörü stimülasyonu olmadığında normalde düşüktür. Bununla birlikte, PTEN kaybı ile yüksek düzeyde AKT aktivitesi izlenmektedir. Aktive olan AKT [fosforile AKT (pAKT)] tümör oluşumunda gerekli olduğuna inanılan hücre döngüsünün ilerlemesini destekleyen anti-apoptotik yolları teşvik eder (110). Ayrıca PTEN, siklin D'yi azaltarak ve p27'yi artırarak da hücre döngüsünü kontrol eder (111).



Şekil 2.2 PTEN protein yolağı (112)

Fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) / AKT yolağı, tümör başlangıcı, ilerlemesi, büyüme ve proliferasyon, metabolizma, motilite, göç, invazyon, anjiyogenez, hayatta kalma ve otofaji dahil olmak üzere kritik çoklu hücresel fonksiyonlara aracılık eder (113, 114, 115).

Bu genin mutasyonu, hamartomatöz tümör, meme kanseri veya tiroid kanseri ile karakterize edilen Cowden hastalığının nedenidir (35, 90). Prostat karsinomu, meme karsinomu, glioblastom, endometriyal karsinom gibi çok sayıda kanserde PTEN fonksiyon kaybı gözlenmiştir (88, 110, 116).

Sporadik meme kanserinde PTEN mutasyonlarının ve PTEN ekspresyonunun kaybının önemi net olarak bilinmemekle birlikte immünohistokimyasal boyama ve mutasyon analizi çalışmalarında %1 ile %50 arasında değişmektedir (110, 111).

Meme kanserinde, PTEN fonksiyon kaybının sadece tümör oluşumunda değil, aynı zamanda hedefe yönelik tedaviye dirençte önemli olabileceğini gösteren kanıtlar ortaya çıkmaktadır (35, 92). Bu nedenle, PI3K / AKT/ mTOR yolunu hedefleyen ilaçlar, meme kanserinde monoterapi ve kombinasyon tedavisi olarak geliştirilmektedir (114). PI3K/PTEN yolu, moleküler tedavi için potansiyel bir hedef olarak yoğun araştırmaların odak noktasıdır (92). PTEN ekspresyon kaybı, yeni PI3K yolu inhibitörlerine cevabın potansiyel prediktörü olduğundan primer tümördeki PTEN kaybını belirlemek önemlidir (93).

Normal meme dokusunun belirgin bir PTEN ekspresyon paterni vardır. Miyoeptelyal hücreler düzgün bir şekilde güçlü PTEN ekspresyonu gösterirken meme epitel hücrelerinde PTEN protein seviyesi değişkendir. Atipi olan ve olmayan duktal hiperplazide ise normal meme epitel hücrelerine göre daha yüksek PTEN proteini seviyeleri gösterilmiştir. PTEN pozitif tümörlerde ve normal epitelde, protein sitoplazmada ve çekirdekte (veya nükleer membranda) lokalizedir (116).

Yapılan çalışmalarda ileri meme kanserlerinde PTEN ekspresyonunun sıklıkla azaldığı (88), PTEN ekspresyon kaybının tümör invazivliği, lenf nodu metastazı ve ER reseptör kaybı ile ilişkili olduğu ancak tümör boyutu, tümör derecesi ve rekürrens ile korele olmadığı bulunmuştur (1, 16, 115). Böylece meme kanserinde PTEN protein kaybının meme kanseri hastalarında kötü prognoz ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (117). Ayrıca bir tümörün anjiyogenez kapasitesinin büyüme ve metastazda çok önemli bir rol oynadığı bilinmektedir ve PTEN'in anjiyogenez ile ilgili olduğu da bildirilmiştir (16).

2.10 Meme Karsinomlarında Proliferatif Aktivitenin Değerlendirilmesi

Hücre proliferasyonu, neoplazmların davranışını belirlemede önemli bir faktördür. Hücre, profaz, metafaz, anafaz ve telofaz gibi mitozun çeşitli aşamalarından geçer. Bunlar dokuda rutin mikroskopla görülebilir. Artan ve anormal mitotik aktivite, malign lezyonların tanı ve prognozu için doku kesitlerinde gözlemlenen önemli özelliklerden biridir (118).

Tümör proliferasyon oranı, mitotik aktivite indeksi (MAİ) olarak histolojik derecenin değerlendirilmesine dahil edilir (27). MAİ'nin ölçülmesi zaman alıcıdır ve mitotik figürlerin çoğalan lenfositler ve stromal hücreler gibi diğer hücre fenotiplerinden ayırt edilmesi zordur. Bununla birlikte MAİ patoloğlar tarafından farklı yorumlanabildiği için, gözlemciler arası sınırlı tekrarlanabilirliğe neden olmaktadır (119, 120). Sonuç olarak, hücresel proteinlerin immünohistokimyasal tespiti de dahil olmak üzere çoğalmayı değerlendirmek için başka yöntemler geliştirilmiştir (27). Mitotik figürler mikroskopi, İHK,

morfometri, flow sitometrisi ve nükleotid radyoaktif etiketleme gibi çeşitli yöntemlerle tanımlanmıştır (118).

MAİ bir çok proliferasyon markerinden daha önemli bir prediktif öneme sahiptir (121). MAİ hücre döngüsünde mitotik figürlerin görüldüğü çok küçük bir pencereyi yansıtmaktadır. Oysa Ki-67 gibi immünohistokimyasal proliferasyon belirteçleri proliferasyona gidecek hücrelerin yanında apoptoza gidecek hücreleri de boyamaktadır. Bu durum Ki-67'nin proliferatif aktiviteyi değerlendirmekteki önemini azaltmaktadır (26, 27). Mitotik figürlerin mitozla spesifik antikor anti-PHH3 ile boyanması, çeşitli karsinomlarda mitotik figürleri tanımlamak için umut verici bir yöntem olarak önerilmiştir (118).

Kemoterapi hızla çoğalan tümörleri olan hastalar için anlamlı derecede yararlı bulunurken, yavaş çoğalan tümörleri olan hastalar için anlamlı değildir (26).

2.10.1 Ki-67 Proliferasyon İndeksi

Ki-67, polimeraz I'e bağlı ribozomal RNA sentezinin erken aşamalarında rol oynayan histonik olmayan bir nükleer korteks proteinidir (122). Ki-67, çoğalan hücrelerde G0 hariç (G1, S, G2 ve mitoz) hücre döngüsünün tüm aşamalarında eksprese edilir (123). Ki-67'nin ekspresyonu hücre döngüsü boyunca değişir ve mitoz sırasında zirveye ulaşır. Ki-67'nin işlevi tam olarak aydınlatılmamış olsa da, hücre bölünmesi ve ribozomal RNA sentezindeki rolünün kanıtları vardır (122).

Doku proliferasyonunun değerlendirilmesi için Ki-67 ekspresyonu tipik olarak İHK ile tespit edilir ve araştırılan hücre popülasyonu içindeki işaretli hücrelerin yüzdesini temsil eden Ki-67 indeksi olarak rapor edilir (122).

Ki-67 skorlamasında, tümörün hangi alanının değerlendirilmesi gerektiği (tümör invaziv kenarı, bir tümör kesitinin tamamı veya hot spot alanlar) ve sayma yöntemi hakkındaki farklı görüşler düşük tekrarlanabilirliğe neden olmuştur (58, 117).

Uluslararası Meme Kanseri Ki-67 Çalışma Grubu, Ki-67 skorlamasını kapsayan kılavuz ilkeler belirlemiştir. Tüm kesitin boyama spektrumunu temsil etmek için en az 3 BBA seçilmelidir. Tümörün invaziv kenarı sayılmalı ve genel skora hot spot alanlar dahil edilmelidir. Ki-67 skoru veya indeksi, skorlanan

alandaki toplam invaziv kanser hücrelerinde pozitif olarak boyanmış hücrelerin yüzdesi olarak ifade edilmelidir (124).

Son yıllarda Ki-67 antijeninin MIB-1 antikoru kullanılarak immünohistokimyasal tespiti, meme kanserinde rutin kullanılan proliferasyonu belirleyen bir yöntem haline gelmiştir (119, 122, 123, 124). Ki-67, adjuvan sitotoksik kemoterapi alacak hastaları ve önemli nüks riski olanları ayırt etmek için birçok laboratuvar da yaygın olarak kullanılmaktadır (124). Ayrıca meme kanseri alt tiplendirilmesinde de bir kriter olarak kullanılmaktadır (120).

Ki-67 neoadjuvan antihormonal tedavi ve kemoterapiye yanıt için prediktif bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda tedaviden sonra Ki-67 ekspresyonunda değişiklikler tespit edilmiştir. Sonuç olarak Ki-67 ekspresyonunun azalmasının tedaviye olumlu klinik yanıt ile ilişkili olduğu bulunmuştur (22, 125).

Wiesner ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada yüksek Ki-67 ekspresyonunun hem genel sağkalım hem de hastalıksız sağkalım için prognostik bir faktör olduğu doğrulanmıştır (22).

2.10.2 PHH3

“Histon H3” fosforilasyonu mitozda spesifik bir basamaktır. DNA için bir paketleme işlevi gören histon proteinlerinden H3’ün fosforilasyonu G2 evresinin sonlarında başlayıp mitozun profaz ve metafaz evrelerinde devam eder. Telofaz evresinde “Histon H3” defosforile olur (121, 126, 127). Mitotik hücrelerde histon H3, Ser10 ve Ser28’de fosforile edilir. PHH3, histon H3’ü sadece serin 28’de fosforillendiğinde tespit eder (25, 120). H3 fosforilasyonu ve mitotik kromozom yoğunlaşması arasında sıkı bir korelasyon vardır (27, 121). İlginç bir şekilde, bu fosforilasyon işlemi apoptoz sırasında gözlenmemektedir. Böylece PHH3 ile boyama, mitozların güvenilir bir şekilde tanımlanmasına, mitotik ve apoptotik hücreler arasındaki ayrımı izin vermektedir (119).

PHH3 ile yapılan değerlendirme 10 BBA’da yapılan sayıma ve tümör hücrelerindeki boyanma yüzdesine dayanmaktadır. İnce granüler nükleer boyanma gösterenler değerlendirmeye dahil edilmemektedir (26). PHH3’ün en önemli özelliği mitoz spesifik olması ve mitoz sayımında mitozun önemli

taklitçileri olan apoptoz, piknoz, nekroz, ezilme artefaktı ya da koter artefaktında boyanma olmamasıdır (118, 128).

PHH3, mitotik figürleri geleneksel MAİ'den daha doğru bir şekilde tespit etmektedir. Ayrıca, PHH3'ün tekrarlanabilirlik açısından Ki-67'den daha üstün olabileceği ve proliferasyonu daha iyi temsil edebileceği varsayılmaktadır (120, 129).

PHH3 ekspresyonu, uterus düz kas tümörlerinde, kolorektal kanserlerde, overin seröz adenokarsinomlarında ve meningiomlarda karakterize edilmiştir (120, 26). Yapılan çalışmalarda PHH3 farklı klinikopatolojik parametrelerle ilişkili olarak saptanmıştır (119). Ancak meme karsinomlarında yapılan çalışmalar prognozu gösterme açısından yeterli sayıya ulaşmamıştır.

Yapılan çalışmalarda PHH3 ekspresyonu MAİ ile korelasyon göstermektedir. Yazarlar PHH3'ün meme karsinomu derecelendirilmesinde yardımcı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (25). Gerring ve arkadaşları PHH3'ün tanıdan sonraki 5 yıl içinde Ki-67'ye göre daha güçlü bir sağkalım belirleyicisi olduğunu bildirmiştir (130).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olgu Seçimi

2014-2019 yılları arasında Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde tedavi gören ve ameliyat edilen 85 hastanın lumpektomi ve mastektomi materyalleri çalışmaya dahil edildi. Hastalara ait klinik bilgiler hastane bilgi sisteminden, patolojik prognostik parametreler patoloji raporlarından elde edildi. Bu çalışmaya, meme kanserinin en yaygın alt tipi olan invaziv duktal karsinom tanısı konmuş meme kanseri hastaları ve daha nadir görülen lobüler karsinom, medüller karsinom, tübülopapiller, kribriform ve mikroinvaziv karsinom gibi diğer tümör alt tipleri dahil edildi.

Olgulara ait Hematoksilen & Eosin boyalı lamalar, tanı sırasında kullanılan immünohistokimyasal boyalı lamalar ve tümörlere ait yeterli doku içeren bloklar arşivden çıkarıldı. Olgulara ait lamalar Leica DM 2000 LED ışık mikroskopu ile tekrar değerlendirildi ve tümörü en iyi yansıtan ve immünohistokimyasal çalışma için en uygun bloklar seçildi. Hastalara ait klinik verilere (yaş, operasyon yöntemi, neoadjuvan kemoterapi ve metastaz varlığı) hastanemizin dijital arşivleme sisteminden ulaşıldı. Meme kanseri kesitlerinin histolojik dereceleri Scarff-Bloom-Richardson (SBR) sınıflandırmasına göre değerlendirildi. AJCC 8. basımının biçimlendirdiği TNM sistemi kullanılarak evreleme yapıldı.

3.2 İmmünohistokimyasal Boyama

Formalin ile tespit edilmiş, parafine gömülü bloklardan 4 mikron kalınlığında ince kesitler alındı. Alınan kesitler ksilen ile deparafinize edilerek, seri alkol solüsyonları ile rehidrate edildi. Kesitler tam otomatik immünohistokimya cihazı kullanılarak, Ki-67, PHH3, PTEN, PD-L1 primer antikorları ile boyandı. İmmünohistokimya için standart compact polymer teknoloji kit ile boyama yapıldı. Antijen açığa çıkarma işleminde sitrat ve EDTA, boyanmanın görülebilmesi için diaminobenzidin (DAB) kromojen kullanıldı.

HER2 durumu, American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists tarafından tanımlanan kılavuzlara göre değerlendirildi.

Cerb-B2/HER2 durumunu değerlendirirken ise skor 0 ve 1 negatif, skor 2 şüpheli pozitif, skor 3 pozitif olarak kabul edildi (120). ER ve PR pozitifliği St Gallen Konsensüs Konferansı'nda belirlenen kılavuzlara göre belirlendi. Tümörde herhangi bir pozitif hücre tespit edilirse, ER ve PR durumu pozitif olarak değerlendirildi (121).

Kesitler PD-L1 antikor (Cell Signaling Technology, klon: E1L3N; 1/200 seyreltilmiş) ile boyandı. PD-L1 için plasenta kesitleri pozitif kontrol olarak kullanıldı. PD-L1 invaziv karsinomun sınırları içerisinde tümör ve lenfositlerde değerlendirildi. Membranöz ve sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi (3). Pozitif hücrelerin genel yüzdesi ve boyanma yoğunlukları (0-3) belirlendi. Tümör hücrelerinin boyanma yoğunluğuna göre: skor 0 (boyanma görülmeyenler), skor 1 (hafif boyanma), skor 2 (orta boyanma), skor 3 (yoğun boyanma) olarak gruplandırıldı. Hastanın prognostik faktörleri ile ilişkisini belirlemek için Muenst ve ark.'ın çalışmasında olduğu gibi modifiye Histo-skoru (H-skoru) kullanıldı (PD-L1 boyanma yoğunluğu x pozitif hücrelerin yüzdesi, 0-300 arasında). Cut-off değeri 100 olacak şekilde iki gruba ayrıldı (H-skoru 0-99: negatif/zayıf ekspresyon, 100-300: pozitif ekspresyon) (10).

Kesitler anti-PTEN (Dako, monoklonal fare anti-PTEN, klon 6H2.1; 1/40 seyreltilmiş) antikorunu kullanılarak boyandı. PTEN için kolon tümörü kesitleri pozitif kontrol olarak kullanıldı. PTEN ile hem sitoplazmik hem nükleer boyanma görüldü. PTEN immünskoru H-skoru kullanılarak yapıldı. PTEN için boyanma yoğunluğu (0: yok, 1: zayıf boyanma, 2: orta boyanma, 3: güçlü boyanma) ve pozitif boyanan tümör hücrelerinin yüzdesi hesaplandı. Boyanma yoğunluğu ve tümör hücrelerinin yüzdesi çarpılarak H-skoru elde edildi. H-skoru 0-300 arasında değişmektedir. Skor 90'dan küçük olan vakalar PTEN kaybı olarak değerlendirilmiştir (122).

Kesitler PHH3 (Cell Marque Corp. Rocklin, tavşan poliklonal antikor; 1/200 seyreltme) ile boyandı. Tonsil kesitleri pozitif kontrol olarak kullanıldı. En yüksek PHH3 konsantrasyonuna sahip bölgede pozitif nükleer boyanan tümör hücrelerinin yüzdesi belirlendi. PHH3 ince granüler çekirdek boyaması pozitif sayılmadı, çünkü bunlar mitoz ve G2 fazındaki hücreleri yansıtmıyordu (1).

Formalin ile fikse edilmiş dokulara Ki-67 (Dako Autostainer/Autostainer Plus, monoklonal Mouse Anti-Human Ki-67 antijen klon MIB-1) uygulandı. Ki-67 ile boyanan kesitlerde sadece nükleer boyanma gösteren tümör hücrelerinin

yüzdesi Ki-67 skorunu belirledi. Skor belirlenirken tümörün invaziv kenarından alınan kesitin tamamı incelendi ve en yüksek boyanmanın olduğu en az 1000 hücre x40 objektifte değerlendirildi ve ortalaması alındı (112). Ki-67 için %20 cut-off değeri olarak belirlendi ve iki gruba ayrıldı.

3.3 İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi konusunda; tanımlayıcı istatistikler frekans, yüzde, ortalama, standart sapma değerleri ile verilmiştir. Çalışmadaki prognostik faktör ölçümlerinin PD-L1, PHH3, Ki-67 ve PTEN pozitiflik durumuna göre farklı olup olmadığını incelemek için ise Mann. Whitney U testi analizi yapılmıştır. PD-L1 pozitiflik PHH3, Ki-67 ve PTEN pozitif gruplarının grup içi sayılarının az olması ve ölçümlerinin parametrik dağılım göstermemesi nedeni ile Mann Whitney U testi uygulanmıştır. PD-L1, PHH3, Ki-67 ve PTEN pozitiflik durumuna göre prognostik faktörlerin oransal değerleri arasındaki ilişkilerin incelenmesi amacı ile ki-kare analizi ve Fisher testi uygulanmıştır. Çalışmada 0,05'den küçük p değerleri anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS 25.0 programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmada Ocak 2013 ve Mart 2019 tarihleri arasında Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelenmiş olan meme rezeksiyon materyallerinden 85 adet invaziv meme karsinomu olgusu seçildi.

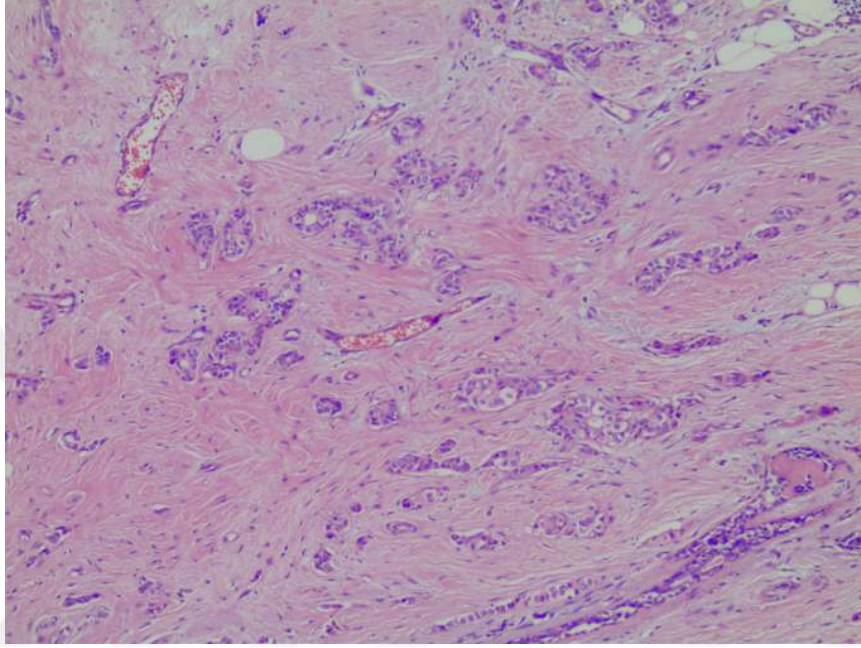
4.1 Klinikopatolojik Özellikler

Çalışmada 85 adet invaziv meme karsinomu olgusu mevcuttu. Yaşları 35-88 (ort. $58,33 \pm 12,50$) arasında değişen hastaların klinikopatolojik özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir. Hastaların 82'si (%96,4) kadın, 3'ü (%3,6) erkektir. Tümör materyallerin 44'ünde (%51,8) sağ meme, 41'inde (%48,2) sol meme yerleşimliydi. Olgularda izlenen tümörler 47'sinde (%55,3) üst dış kadranda, 10'unda (%11,8) üst iç kadranda, 8'sinde (%9,4) alt dış kadranda, 16'sında (%18,8) alt iç kadranda, 4'ünde (%4,7) retroareolar alanda yerleşmektedir.

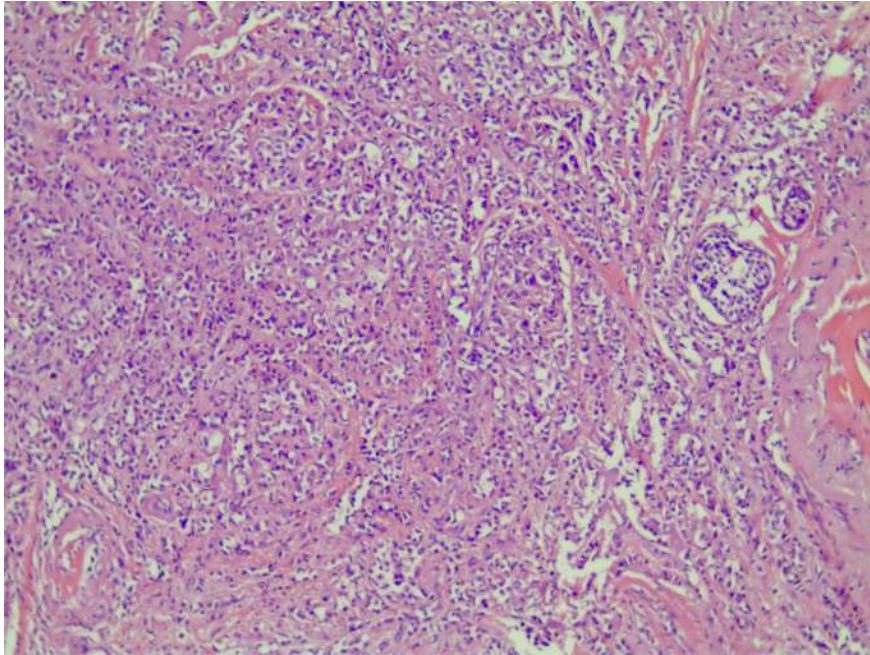
Tablo 4.1 Hastalara ait klinikopatolojik özellikler

Prognostik Faktörler	Kategori	Sayı	%
Yaş	40 <	7	%8,2
	40 ≥	78	%91,8
Cinsiyet	Kadın	82	%96,5
	Erkek	3	%3,5
Tümör Yerleşimi	Sağ	44	%51,8
	Sol	41	%48,2
Kadran Yerleşimi	Üst iç kadran	10	%11,8
	Üst dış kadran	47	%55,3
	Alt iç kadran	16	%18,8
	Alt dış kadran	8	%9,4
	Santral	4	%4,7
Ameliyat Prosedürü	Eksizyon	19	%22,4
	Mastektomi	2	%2,4
	Mastektomi+Aksiller LN	56	%65,9
	Eksizyon+ Sentinel LN	3	%3,5
	Eksizyon+Aksiller LN	5	%5,9

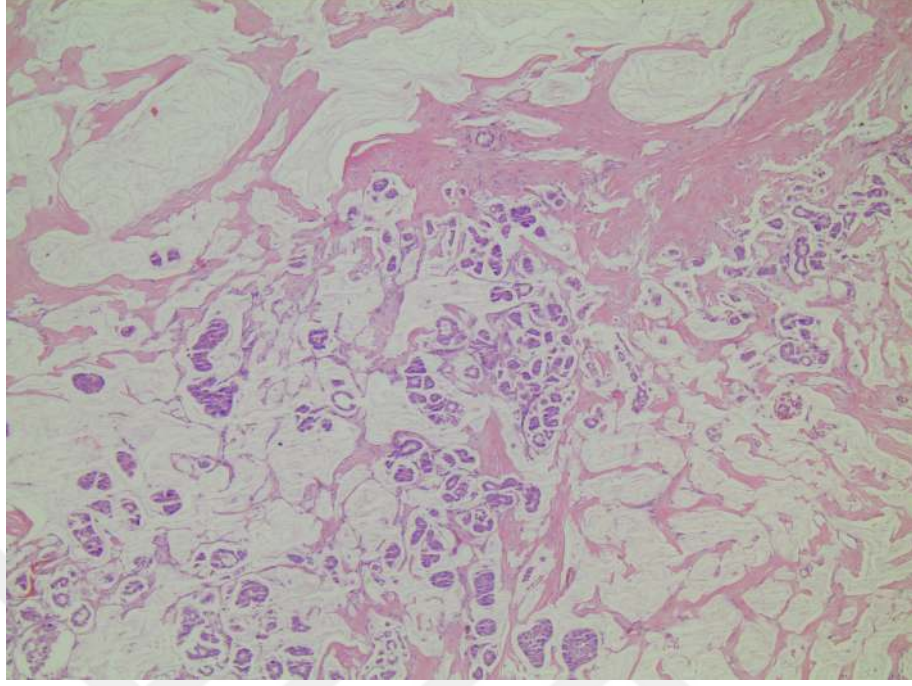
Meme karsinomu tanısı alan olguların 71 tanesi invaziv duktal karsinom (%83,5), 8 tanesi invaziv lobüler karsinom (%9,4), 3 tanesi müsinöz karsinom (%3,8), 1 tanesi mikroinvaziv karsinom (%1,1), 1 tanesi tübülopapiller karsinom (%1,1), 1 tanesi kribriform karsinom (%1,1) morfolojisindeydi (Fotoğraf 4.1-4.4).



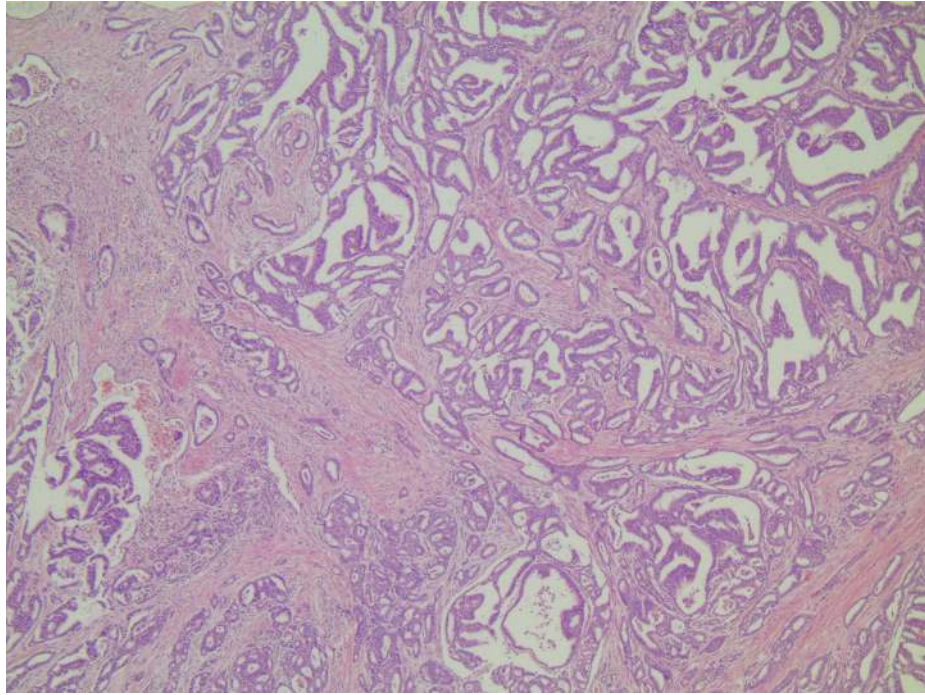
Fotoğraf 4.1 İnvaziv duktal karsinom, H&E x100



Fotoğraf 4.2 İnvaziv lobüler karsinom, H&E x100



Fotoğraf 4.3 Müsinöz karsinom, H&E x40



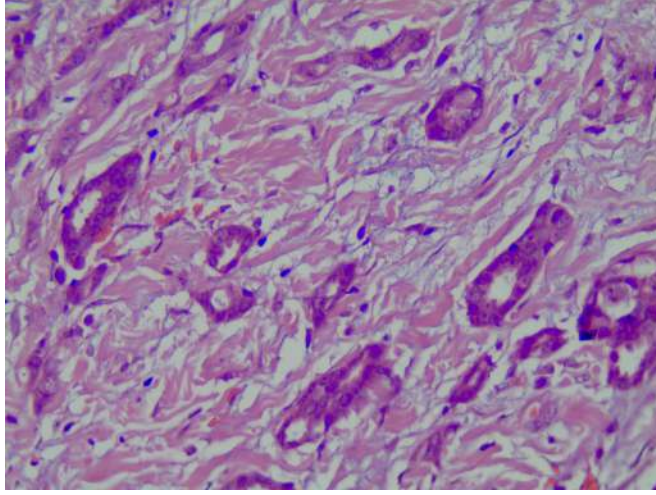
Fotoğraf 4.4 Tübülopapiller karsinom, H&E x40

Tümör boyutu maksimum 7 cm ve minimum 0,2 (ort. $2,83 \pm 1,59$) cm boyutlarındadır. Tümör boyutuna göre hastalar <2 cm ve ≥ 2 cm değerlendirmek üzere 2 gruba ayrılarak incelendiğinde 34 (%40) hasta ilk grupta, 51 (%60) hasta ikinci grupta yer almaktadır. Multiple tümörü olan olgularda tümör çapı olarak en büyük odağın çapı esas alındı. Olguların 69 tanesinde (%81,2) tek odaklı tümör izlenirken, 16 olguda (%18,8) birden fazla odakta tümör izlendi.

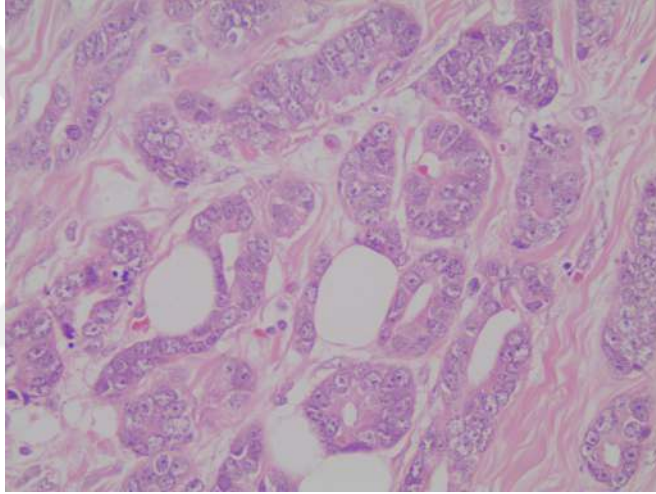
Hastaların Nottingham histolojik derecesi incelediğinde %12,9'unun derece 1, %56,5'inin derece 2, %30,6'sının ise derece 3 olduğu görülmüştür (Fotoğraf 4.5 - 4.7). 45 olguda (%52,9) meme dokusunda tümör dışı alanlarda DKİS dikkat çekmekteyken, 40 olguda (%47,1) DKİS izlenmedi.

Tablo 4.1 Devam

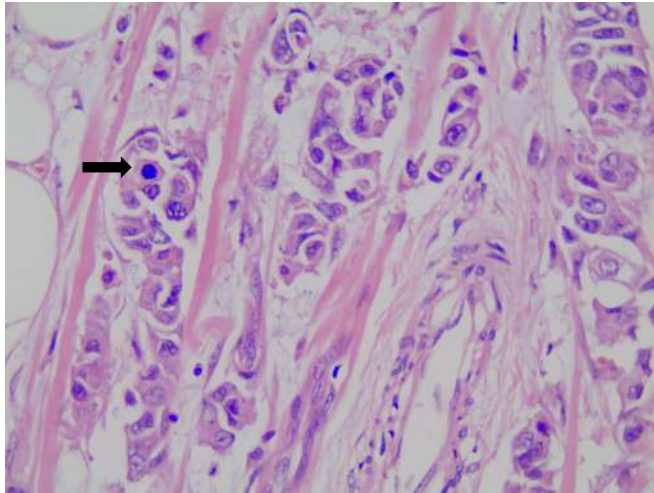
Prognostik Faktörler	Kategori	Sayı	%
Tümör Boyutu (cm)	<2	34	%40,0
	≥ 2	51	%60,0
Histolojik Derece	Derece 1	11	%12,9
	Derece 2	48	%56,5
	Derece 3	26	%30,6
Tümör Fokalitesi	Unifokal	69	%81,2
	Multifokal	16	%18,8
DKİS	Yok	42	%49,4
	Var	43	%50,6
DKİS Derece	Yok	42	%49,4
	Derece 1	2	%2,4
	Derece 2	26	%30,6
	Derece 3	15	%17,6



Fotoğraf 4.5 İyi diferansiye (derece 1) İDK, H&E x400



Fotoğraf 4.6 Orta derece diferansiye (derece 2) İDK, H&E x400



Fotoğraf 4.7 Kötü diferansiye (derece 3) İDK, mitoz (ok) H&E x400

Olguların 57 tanesinde beraberinde lenf nodu diseksiyonu bulunmaktaydı. Aksiller lenf nodunda tümör metastazı 45 (%52,9) hastada tespit edildi. Bunların 17 tanesinde (%20,0), 1-3 lenf nodunda, 15 (%17,6) tanesinde 4-9 lenf nodunda, 13 (%15,3) tanesinde 10 ve üzeri lenf nodunda metastaz saptandı.

Hastaların %30,'i Evre 1, %31,8'i Evre 2, %20,2'si Evre 3 ve %17,9'u Evre 4 olarak bulundu.

Tablo 4.1 devam

Prognostik Faktörler	Kategori	Sayı	%
Metastatik LN Sayısı	Yok	40	%47,1
	1-3	17	%20,0
	4-9	15	%17,6
	10 ve üzeri	13	%15,3
Tedavi Etkisi	Yok	83	%97,6
	Var	2	%2,4
Lenfovasküler İnvazyon	Yok	47	%55,3
	Var	38	%44,7
Perinöral İnvazyon	Yok	66	%77,6
	Var	19	%22,4
Patolojik T	T1	36	%42,4
	T2	40	%47,1
	T3	4	%4,7
	T4	5	%5,9
Patolojik N	N0	3	%6,8
	N1	7	%15,9
	N2	23	%52,3
	N3	11	%25,0
Patolojik M	M0	78	%91,8
	M1	7	%8,2
Evre	1A	25	%29,4
	1B	1	%1,2
	2A	17	%20,0
	2B	10	%11,8
	3A	14	%16,5
	3B	2	%2,4
	3C	13	%15,3
	4	3	3,5%

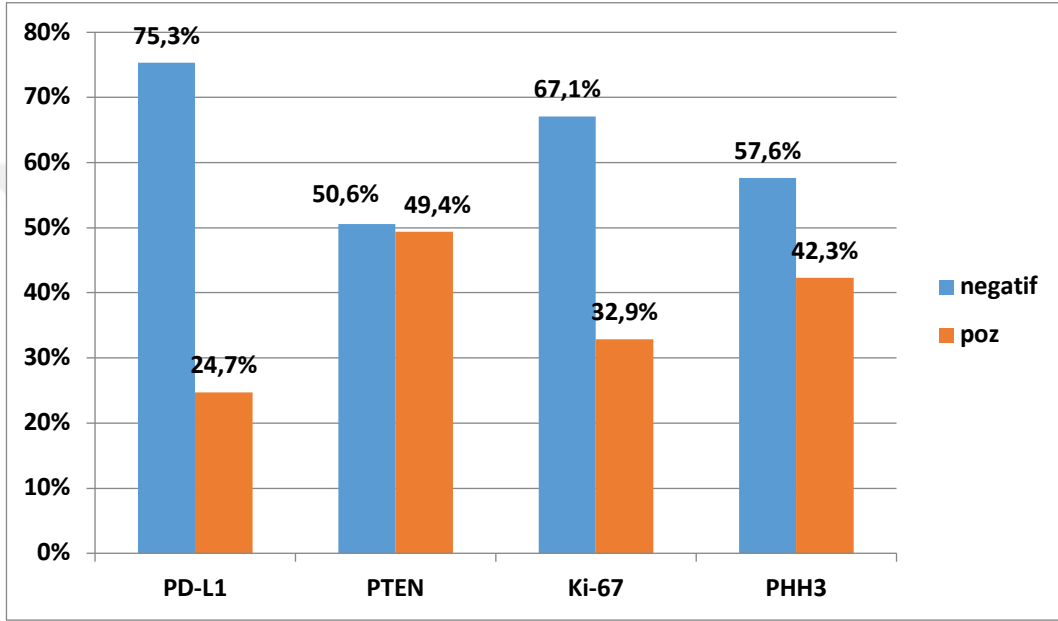
4.2 İmmünohistokimyasal Boyanma Özellikleri ve Klinikopatolojik Parametreler ile Karşılaştırılması

Hastalara ait immünohistokimyasal boyalar ve boyanma yüzdeleri Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2: Hastalara ait immünohistohimyasal boyalar ve boyanma yüzdeleri

Prognostik Faktörler	Kategori	Sayı	%
HER2	0	40	%47,1
	1	17	%20,0
	2	14	%16,5
	3	14	%16,5
ER	Negatif	12	%14,1
	Pozitif	73	%85,9
PR	Negatif	20	%23,5
	Pozitif	65	%76,5
Ki-67	<%20	57	%67,1
	>%20	28	%32,9
PHH3	0-1	82	%96,5
	>1	3	%3,5
PD-L1 Boyanma Özelliği	Boyanma Yok	48	%56,5
	Membranöz	13	%15,3
	Sitoplazmik	3	%3,5
	Membranöz+Sitoplazmik	21	%24,7
PD-L1 Yoğunluk	Boyanma Yok	48	%56,5
	Hafif	20	%23,5
	Orta	12	%14,1
	Yoğun	5	%5,9
PD-L1 Skor	Negatif	64	%75,3
	Pozitif	21	%24,7
PTEN	Negatif	60	%70,6
	Pozitif	25	%29,4

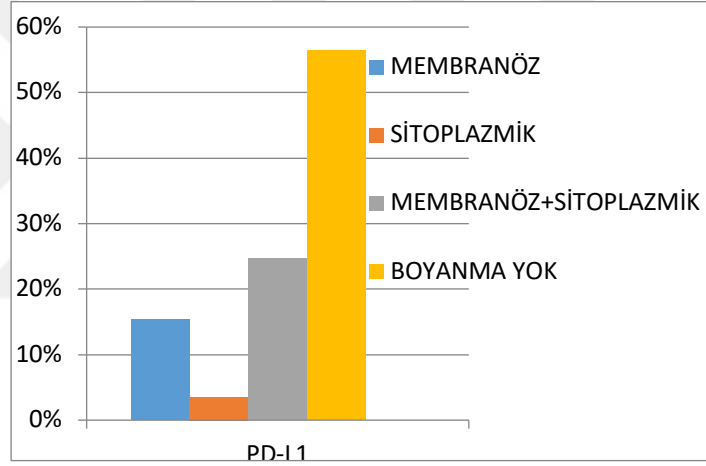
İHK'sal boyama sonucuna göre PD-L1, 21 (%24,7) vakada pozitif (H-skor ≥ 100) 64 vakada (%75,3) negatif boyandı. PTEN kaybı 42 (%49,4) vakada (H-skor < 90) izlenirken, 43(%50,6) vakada ekspresyon kaybı görülmedi. PHH3, 36 (%42,3) vakada %2'nin üzerinde iken , 49 vakada (%57,6) %2'nin altında boyandı. Ki-67 ekspresyonu 57 vakada (%67) %20'nin altındayken, 28 vakada (%33) %20'nin üzerindedir (Şekil 4.1).



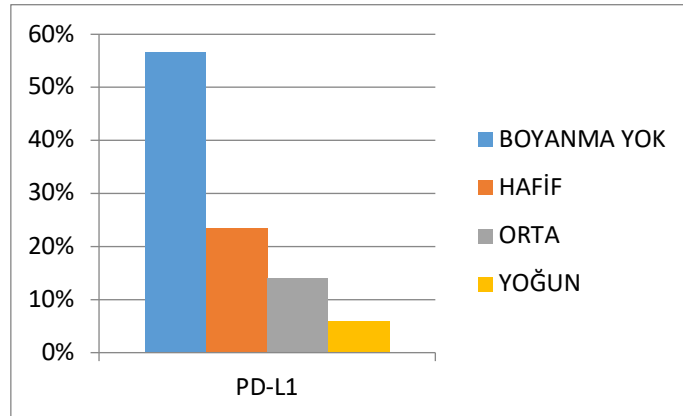
Şekil 4.1 PD-L1, PTEN, Ki-67 ve PHH3 İHK'sal boyanma durumu

4.2.1 PD-L1 Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Bulgularla İlişkisi

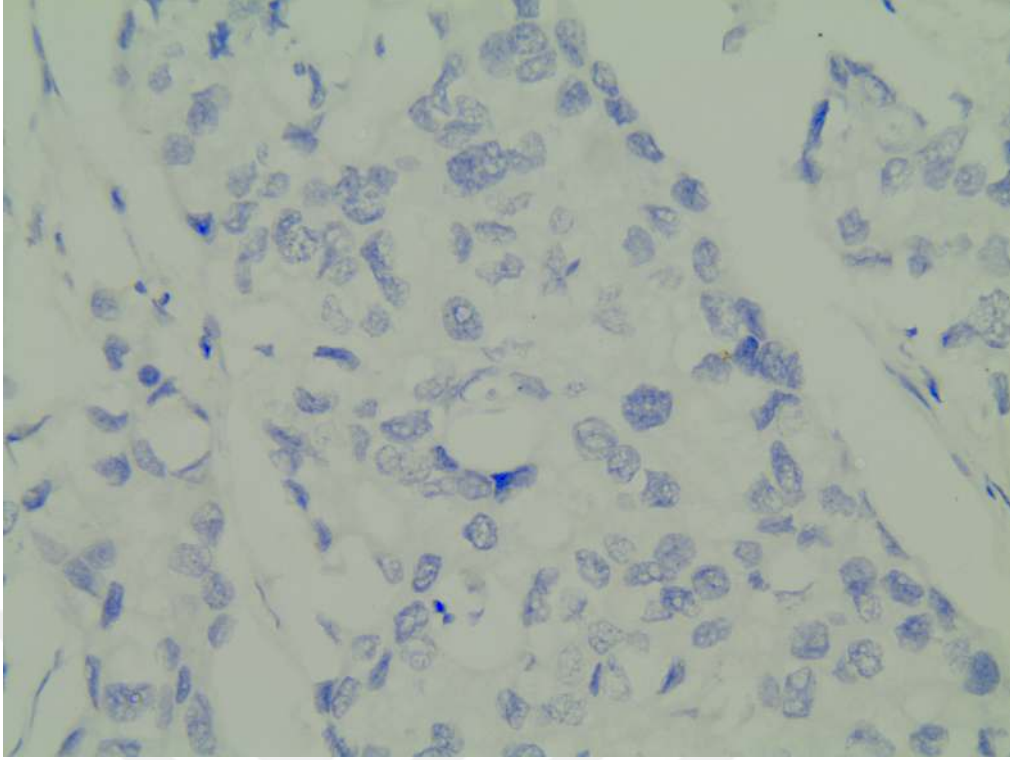
İnvaziv meme kanserine ait bloklardan hazırlanan kesitlerde, immünohistokimyasal PD-L1 ile boyanmış 85 hastanın 21'i (%24,7) PD-L1 eksprese ediyordu. Tümör hücrelerinde ve / veya lenfositlerde PD-L1 ekspresyonunun tespit edildiği örnekler PD-L1 pozitif olarak tanımlandı. PD-L1 ekspresyonu hem sitoplazmik hem membranöz görüldü. Olguların 13'ünde (%15,3) membranöz, 3'ünde (%3,5) sitoplazmik, 21'inde (%24,7) sitoplazmik ve membranöz boyanma görüldü (Şekil 4.2). Bazı tümörlerde fokal olarak izlenen stromal boyanma değerlendirilmedi. Ayrıca PD-L1 ekspresyonu tümörün periferinde daha sıklıkla dikkat çekmekteydi. Olguların 20'sinde (%23,5) hafif yoğunlukta, 12'sinde (%14,1) orta yoğunlukta, 5'inde (%5,9) yoğun boyanma görüldü (Şekil 4.3). (Fotoğraf 4.8 - 4.15)



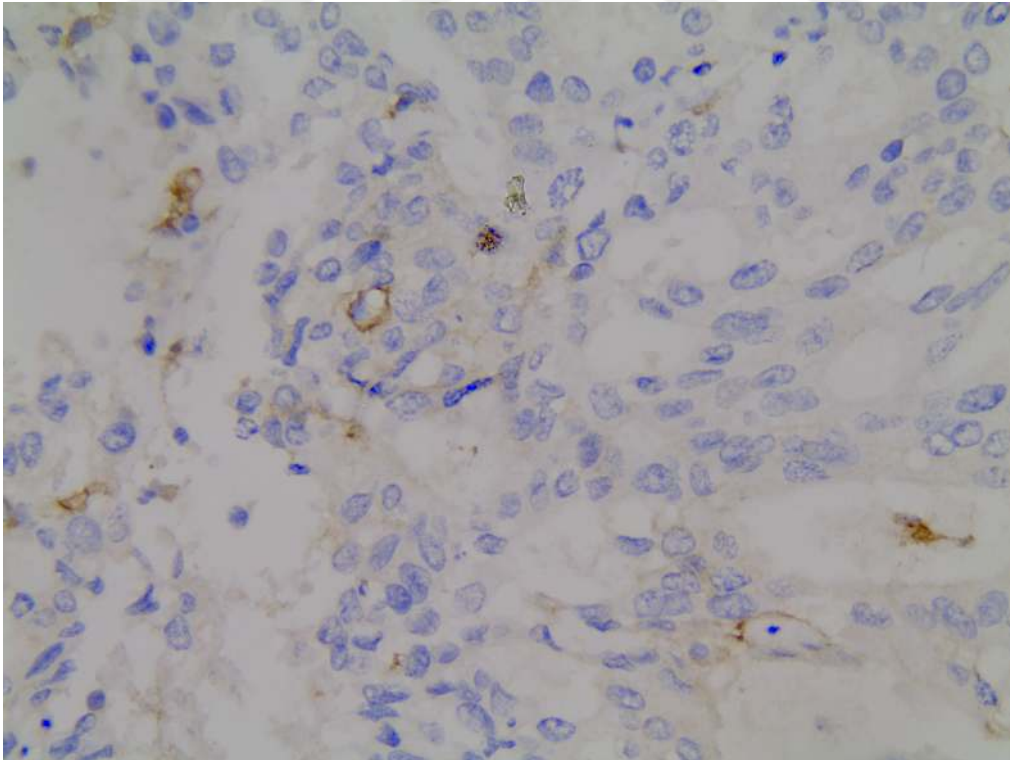
Şekil 4.2 PD-L1 boyanma özelliği



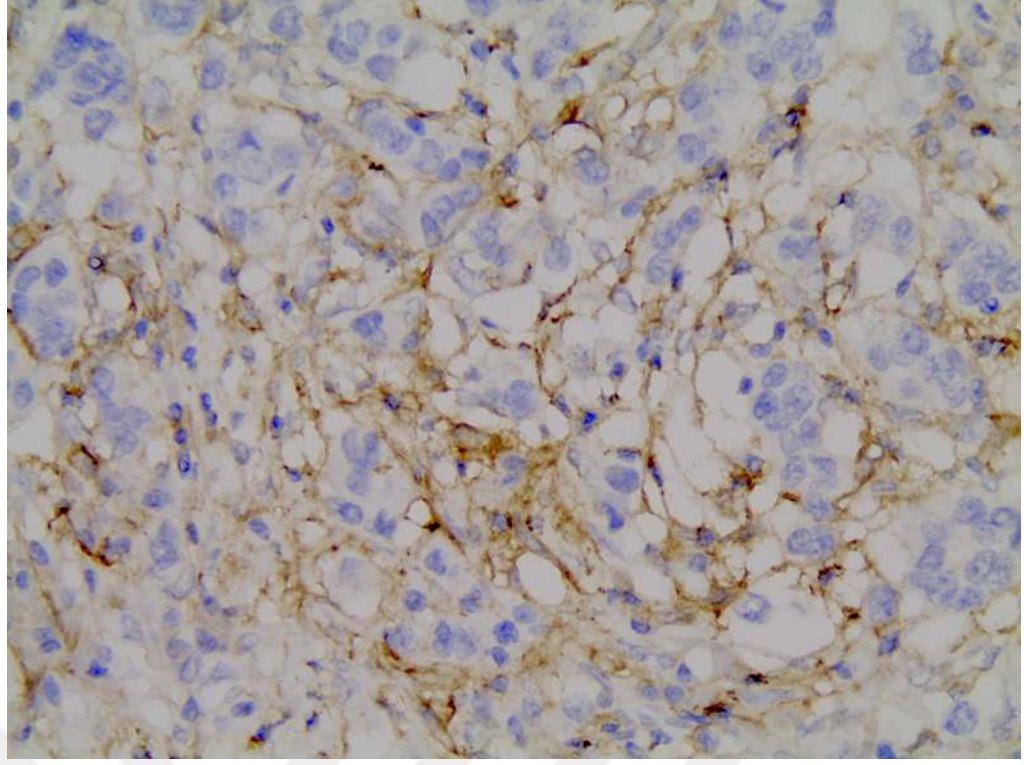
Şekil 4.3 PD-L1 boyanma yoğunluğu



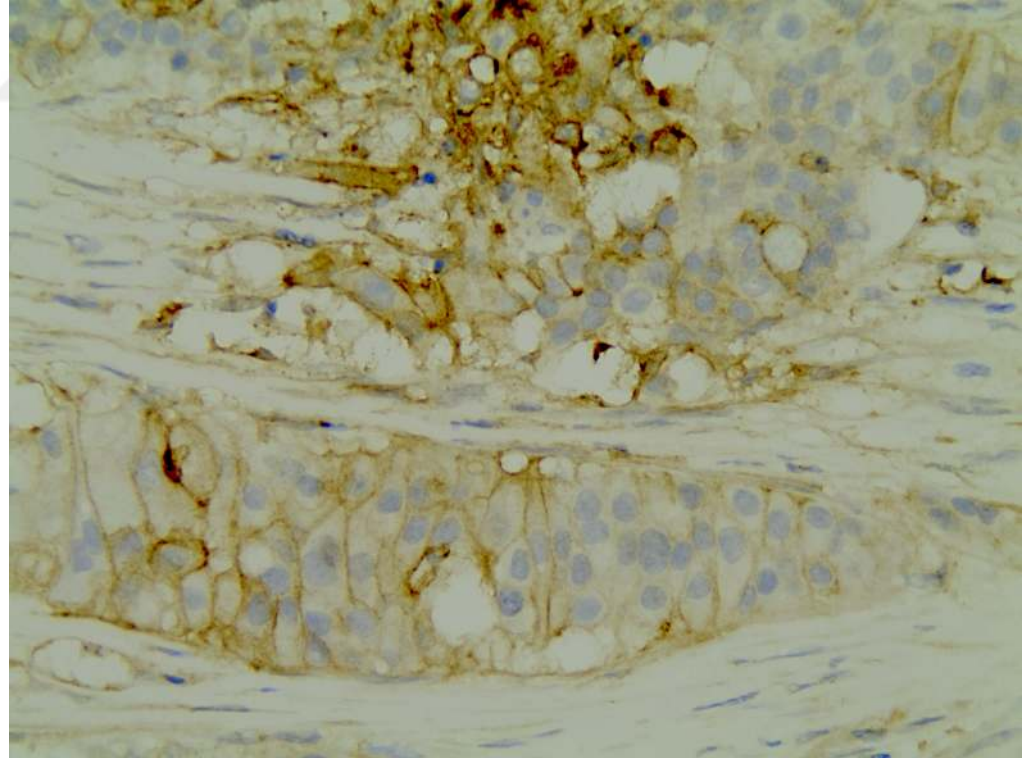
Fotoğraf 4.8 Tümör hücrelerinde negatif PD-L1 ekspresyonu, immün peroksidaz, x400



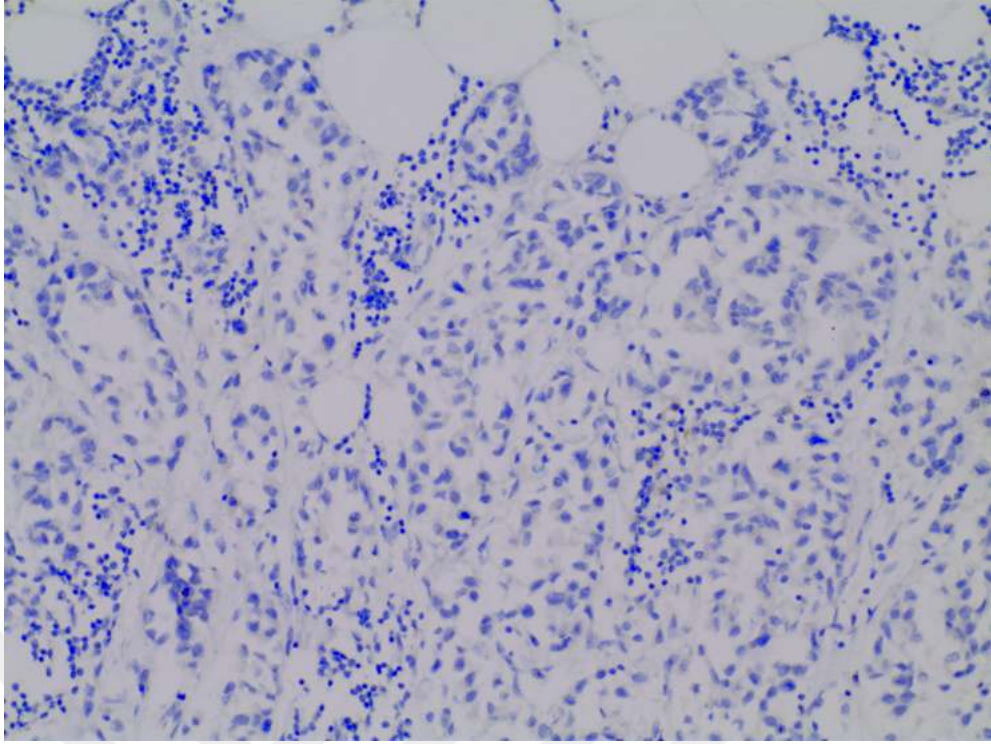
Fotoğraf 4.9 Tümör hücrelerinde hafif şiddette membranöz ve sitoplazmik PD-L1 ekspresyonu, immün peroksidaz, x400



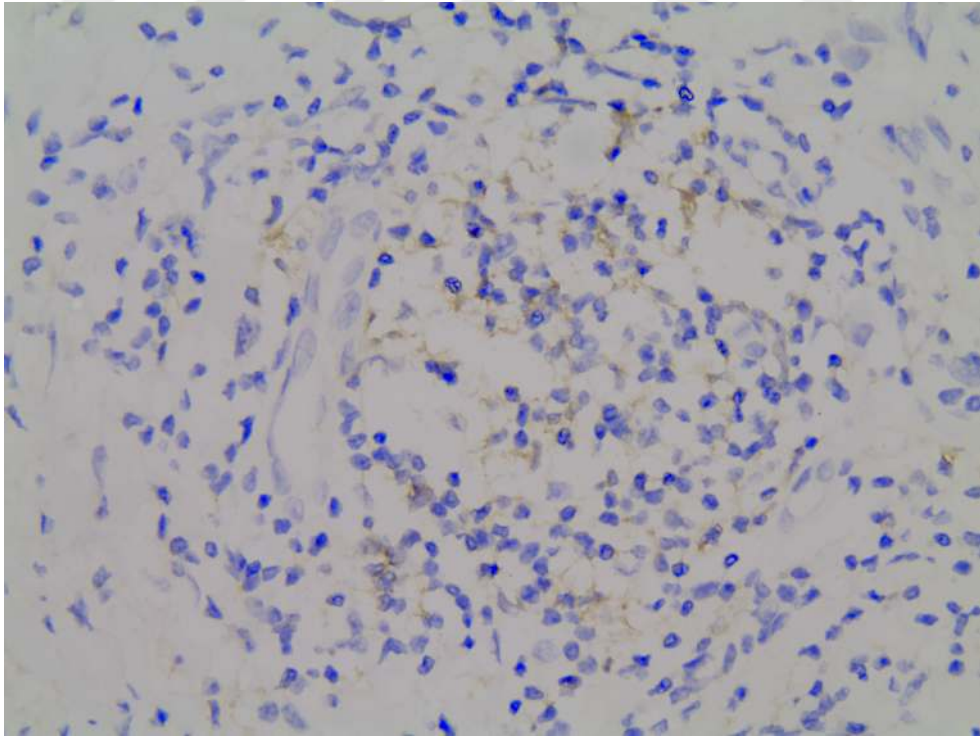
Fotoğraf 4.10 Tümör hücrelerinde orta şiddette membranöz ve sitoplazmik PD-L1 ekspresyonu, immün peroksidaz, x400



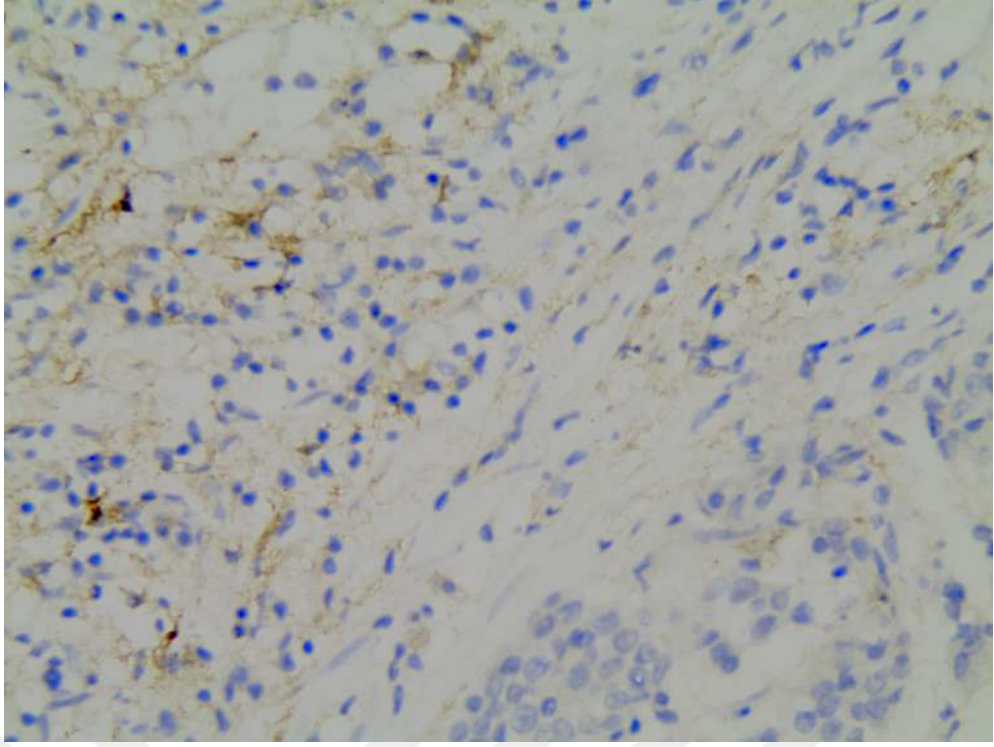
Fotoğraf 4.11 Tümör hücrelerinde yoğun membranöz PD-L1 ekspresyonu, immün peroksidaz, x400



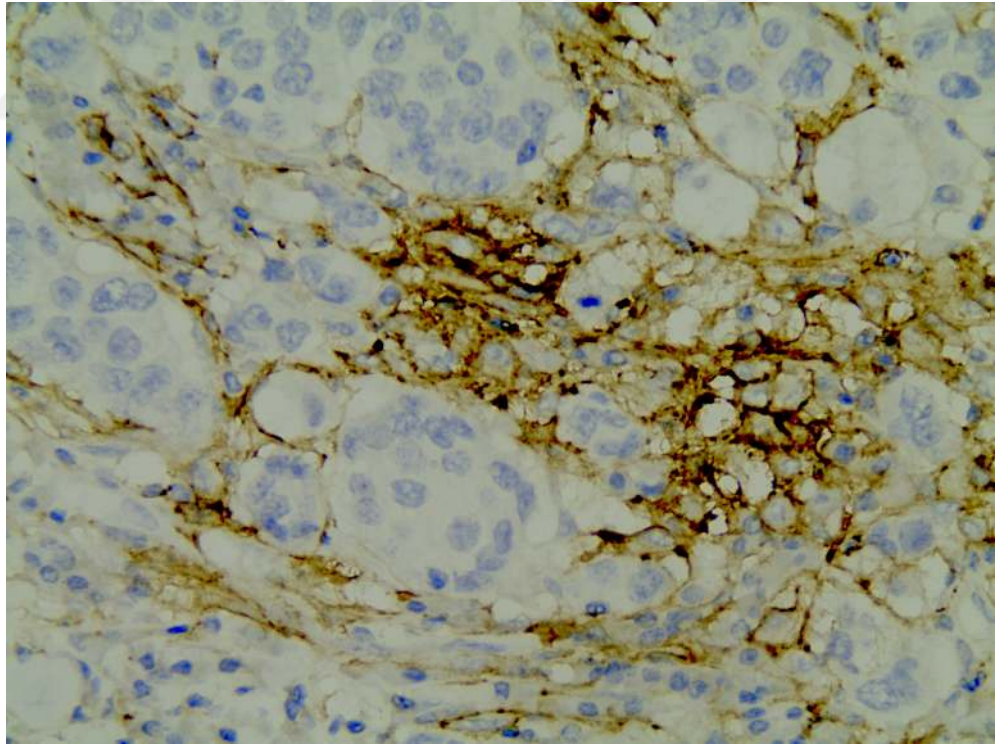
Fotoğraf 4.12 TİL'lerde negatif PD-L1 ekspresyonu, immün peroksidaz, x200



Fotoğraf 4.13 TİL'lerde hafif yoğunlukta PD-L1 ekspresyonu, immün peroksidaz, x400



Fotoğraf 4.14 TİL’lerde orta yoğunlukta PD-L1 ekspresyonu, immün peroksidaz, x400



Fotoğraf 4.15 TİL’lerde yoğun PD-L1 ekspresyonu, immün peroksidaz, x400

Olguların 48 tanesi (%56,5) skor 0, 20 tanesi (%23,5) skor 1, 12 tanesi (%14,1) skor 2 ve 5 tanesi (%5,9) skor 3 olarak değerlendirildi. İmmünohistokimyasal PD-L1 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi Tablo 4.2’ de gösterildi.

Hastaların yaş gruplarına, cinsiyete ve ameliyat prosedürüne göre PD-L1 pozitiflik düzeylerinin farklı olmadığı görüldü ($p=0,67$, $p=0,73$, $p=0,73$).

Tümör yerleşim yerine göre pozitif ve negatiflik oranlarının farklı seviyelerde olduğu görüldü. PD-L1 pozitif olan hastaların yerleşimlerinin daha yüksek oranda sağ (%61,9) ve negatif hastaların % 51,6 ile sol bölgede olduğu ifade edilebilir ($p=0,01$). Kadran yerleşimlerine göre PD-L1 pozitiflik düzeylerinin farklı olmadığı görüldü ($p=0,73$).

Tümör boyutu 2 cm’den büyük ve küçük olarak sınıflandırılmasına göre PD-L1 pozitiflik oranlarının farklı olduğu görüldü ($p=0,04$). Tümör boyutu 2 cm ve daha büyük gruptaki PD-L1 pozitiflik oranının tümör boyutu 2 cm’den küçük olan hastalara göre daha yüksek düzeylerde olduğu görüldü.

Hastaların histolojik derece skorlarına göre PD-L1 pozitiflik düzeylerinin farklı olduğu görüldü ($p=0,03$). Derece 1 olan gruptaki PD-L1 pozitiflik oranının derece 2 ve 3 olan hastalara göre daha düşük düzeylerde olduğu görüldü.

Tablo 4.3 Prognostik Faktörlere göre PD-L1

Prognostik Faktörler		PD-L1 Pozitiflik				P
		Negatif		Pozitif		
		say1	%	say1	%	
Yaş	40 <	5	%7,8	2	%9,5	0,67
	40≥	59	%92,2	19	%90,5	
Cinsiyet	Kadın	62	%96,9	20	%95,2	0,73
	Erkek	2	%3,1	1	%4,8	
Tümör Yerleşimi	Sağ	31	%48,4	13	%61,9	0,01*
	Sol	33	%51,6	8	%38,1	
Tümör Boyutu (cm)	<2	27	%42,2	7	%33,3	0,04*
	≥2	37	%57,8	14	%66,7	
Histolojik Derece	Derece 1	10	%15,6	1	%4,8	0,03*
	Derece 2	37	%57,8	11	%52,4	
	Derece 3	17	%26,6	9	%42,9	

PD-L1 pozitif grupta multifokalite daha yüksek düzeyde görüldü (p=0,04). DKİS olan gruptaki PD-L1 pozitiflik oranının olmayan gruba göre daha düşük düzeylerde olduğu görüldü(p=0,02). Ancak DKİS tipine göre PD-L1 pozitiflik oranının farklı olmadığı görüldü (p=0,29).

Meme başı, cilt ve fasyaya tümör infiltrasyonu olma durumuna göre PD-L1 pozitiflik oranının farklı olduğu görüldü. Meme başı, cildi ve fasyasında tümör olan hasta grubunda PD-L1 pozitiflik oranının olmayan gruba göre daha yüksek düzeylerde olduğu görüldü(p=0,03; p=0,01; p=0,01). Lenfovasküler invazyon olan gruptaki PD-L1 pozitiflik oranının olmayan gruba göre daha düşük düzeylerde olduğu görüldü (p=0,01).

Tablo 4.2 Devam

Prognostik Faktörler		PD-L1 Pozitiflik				P
		Negatif		Pozitif		
		Sayı	%	sayı	%	
Tümör Fokalitesi	Unifokal	54	%84,4	15	%71,4	0,04*
	Multifokal	10	%15,6	6	%28,6	
DKİS	Yok	28	%43,8	12	%57,1	0,02*
	Var	36	%56,3	9	%42,9	
DKİS Derece	Yok	30	%46,9	12	%57,1	0,16
	Derece 1	2	%3,1	0	%0,0	
	Derece 2	21	%32,8	5	%23,8	
	Derece 3	11	%17,2	4	%19,0	
Lenfovasküler invazyon	Yok	38	%59,4	9	%42,9	0,01*
	Var	26	%40,6	12	%57,1	
Perinöral İnvazyon	Yok	50	%78,1	16	%76,2	0,56
	Var	14	%21,9	5	%23,8	

Mikrokalsifikasyon ve nekroz durumuna göre PD-L1 pozitiflik düzeylerinin farklı olduğu görüldü. PD-L1 pozitif olan gruplarda mikrokalsifikasyon ve nekroz oranı daha yüksektir (p=0,02, p=0,01).

Tablo 4.2 devam

Prognostik Faktörler		PD-L1 Pozitiflik				p
		Negatif		Pozitif		
		Sayı	%	Sayı	%	
Patolojik T	T1	29	%45,3	7	%33,3	0,06
	T2	27	%42,2	13	%61,9	
	T3	3	%4,7	1	%4,8	
	T4	5	%7,8	0	%0,0	
Patolojik N	N0	3	%9,4	0	%0,0	0,12
	N1	5	%15,6	2	%16,7	
	N2	15	%46,9	8	%66,7	
	N3	9	%28,1	2	%16,7	
Patolojik M	M0	57	%89,1	21	%100,0	0,03*
	M1	7	%10,9	0	%0,0	
Evre	1A	20	%31,3	5	%23,8	0,14
	1B	1	%1,6	0	%0,0	
	2A	12	%18,8	5	%23,8	
	2B	9	%14,1	1	%4,8	
	3A	7	%10,9	7	%33,3	
	3B	2	%3,1	0	%0,0	
	3C	10	%15,6	3	%14,3	
	4	3	%4,7	0	%0,0	

PD-L1 pozitif olan gruplarda ER ve PR negatiflik oranının daha yüksek düzeylerde olduğu görüldü (p=0,03, p=0,01). PD-L1 pozitif olan gruplarda Ki67 düzeyi %20 ve üzerinde olan hasta oranı daha yüksek düzeydedir (p=0,01). PD-L1 pozitif olan gruplarda lenfosit infiltrasyonu durumunun daha yüksek düzeylerde olduğu görüldü (p=0,01).

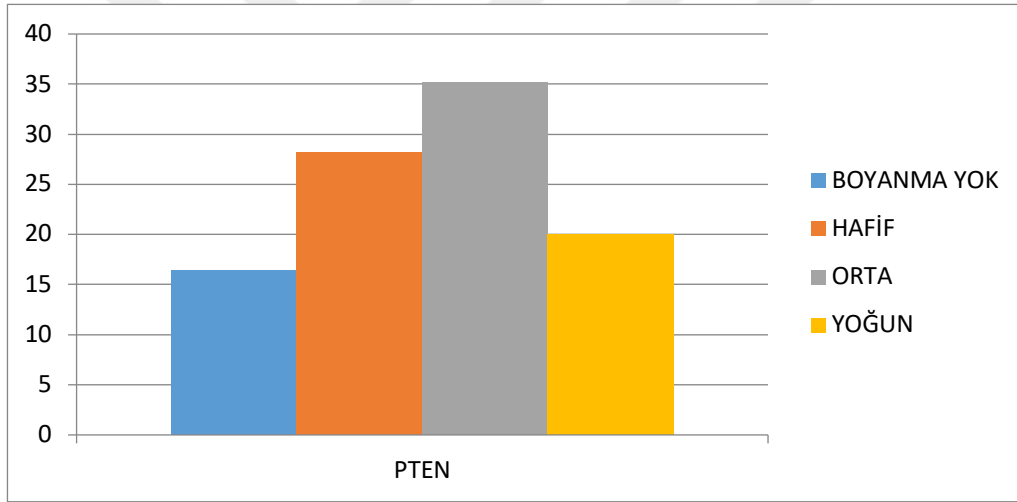
PD-L1 ekspresyonu ile yaş, lenf nodu metastazı, patolojik T ve N sınıflaması, evre ve HER2 skoru arasında önemli bir korelasyon bulunmadı.

Tablo 4.2 devam

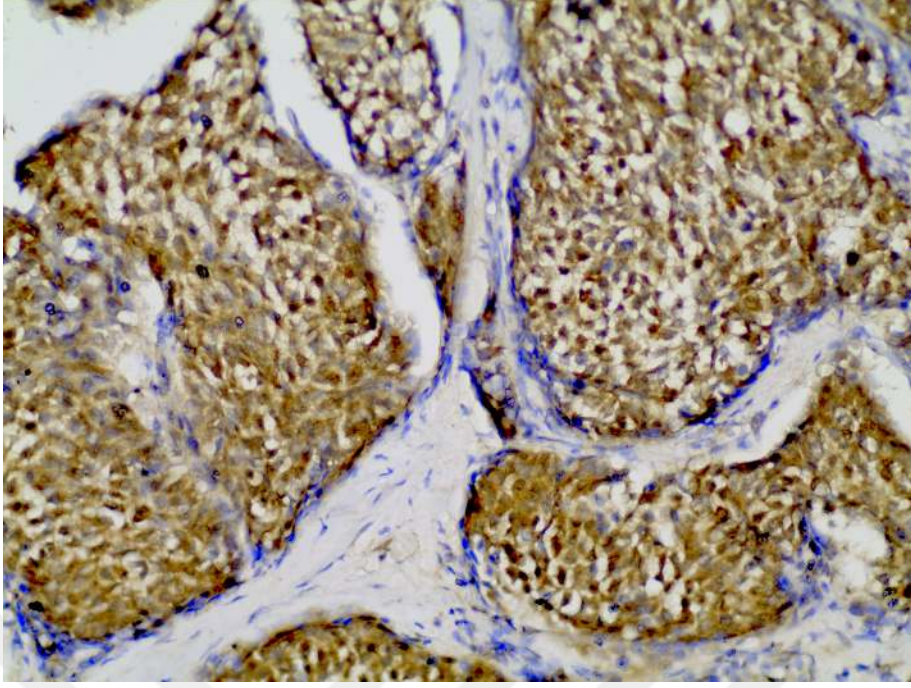
Prognostik Faktörler		PD-L1 Pozitiflik				p
		Negatif		Pozitif		
		sayı	%	sayı	%	
ER	Negatif	7	10,9%	5	23,8%	0,03*
	Pozitif	57	89,1%	16	76,2%	
PR	Negatif	11	17,2%	9	42,9%	0,01*
	Pozitif	53	82,8%	12	57,1%	
Ki-67	<%20	47	73,5%	5	47,6%	0,01*
	≥%20	17	26,6%	11	52,4%	
PHH3	<2	64	100,0 %	18	85,7%	0,10
	≥2	0	0,0%	3	14,3%	
PD-L1 boyanma özelliği	Yok	47	73,4%	1	4,8%	0,04*
	Membranöz	7	10,9%	6	28,6%	
	Sitoplazmik	1	1,6%	2	9,5%	
	Memranöz+Sitoplaz mik	9	14,1%	12	57,1%	
PTEN	Negatif	47	73,4%	13	61,9%	0,02*
	Pozitif	17	26,6%	8	38,1%	
HER2	0	32	50,0%	8	38,1%	0,16
	1	12	18,8%	5	23,8%	
	2	10	15,6%	4	19,0%	
	3	10	15,6%	4	19,0%	

4.2.2 PTEN Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Bulgularla İlişkisi

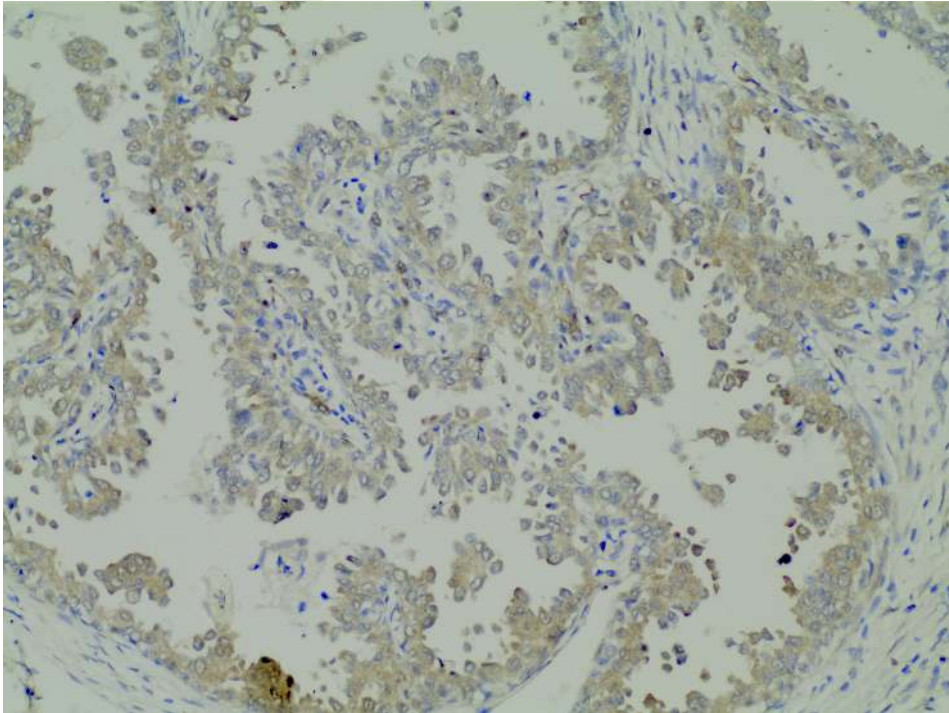
Memeye ait normal duktus yapılarındaki miyoepitelyal ve epitelyal hücreler PTEN eksprese etmektedir. Bu durum internal kontrol olarak değerlendirildi. Tümör hücrelerindeki PTEN ekspresyonu çoğunlukla sitoplazmik olmakla birlikte nükleer boyanma da görüldü. DKİS alanları da PTEN eksprese ediyordu. 85 invaziv meme karsinomu vakalarının 42'sinde (%49,4) PTEN ekspresyon kaybı görüldü. Olguların 14'ünde (%16,4) boyanma görülmedi, 24'ünde (%28,2) hafif yoğunlukta, 30'unda (%35,2) orta yoğunlukta, 17'sinde (%20) yoğun boyanma görüldü (Şekil 4.4)(Fotoğraf 4.16 - 4.19).



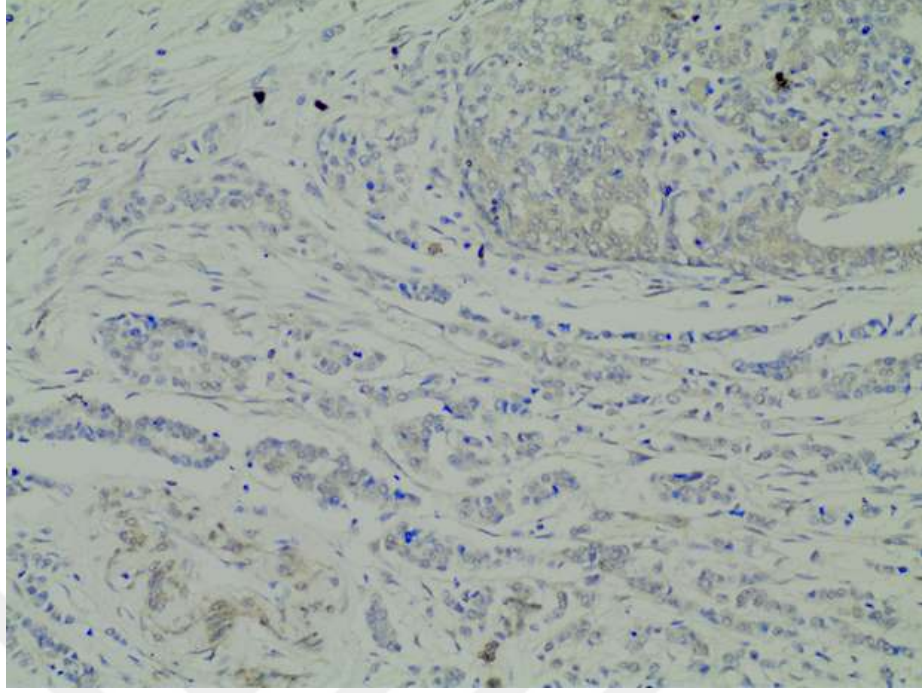
Şekil 4.4 PTEN boyanma yoğunluğu



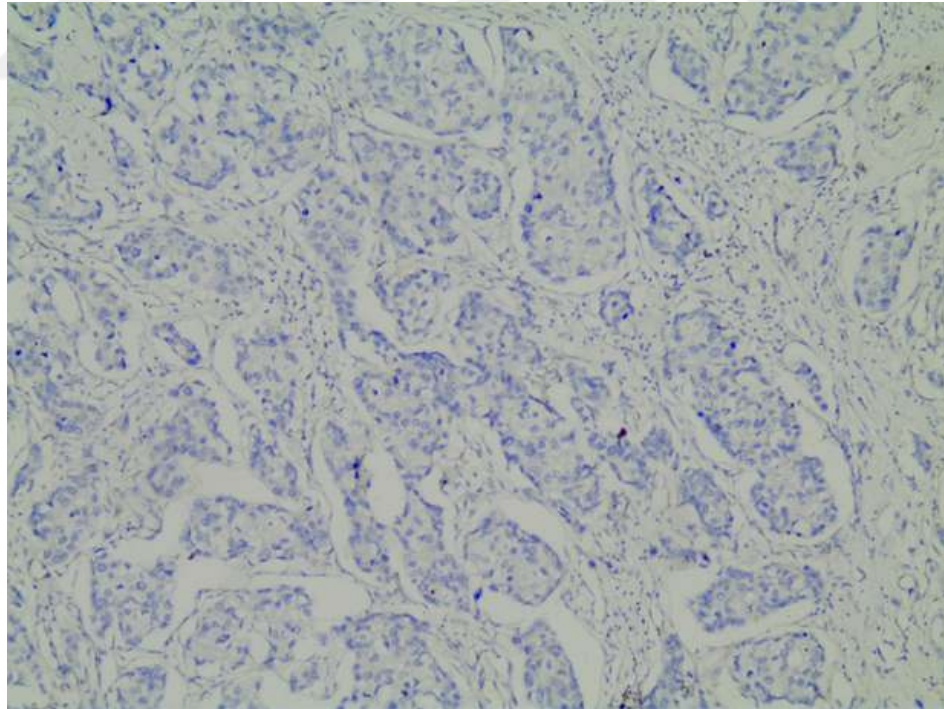
Fotoğraf 4.16 Tümör hücrelerinde yoğun PTEN ekspresyonu, immün peroksidaz, x400



Fotoğraf 4.17 Tümör hücrelerinde orta yoğunlukta PTEN ekspresyonu, immün peroksidaz, x200



Fotoğraf 4.18 Tümör hücrelerinde hafif yoğunlukta PTEN ekspresyonu, immün peroksidaz, x200



Fotoğraf 4.19 Tümör hücrelerinde negatif PTEN ekspresyonu, immün peroksidaz x200

PTEN ekspresyon kaybı ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki Tablo 4.3'te gösterilmiştir. PTEN ekspresyon kaybı tümör boyutu ile ilişkilidir. Tümör boyutu 2 cm'den büyük grupta PTEN ekspresyon kaybının daha yüksek düzeyde olduğu görüldü (p=0,03).

Tablo 4.4 Prognostik Faktörlere göre PTEN

Prognostik Faktörler		PTEN Skor				p
		<90		≥90		
		sayı	%	Sayı	%	
Yaş	<40	4	%9,5	3	%7,0	0,60
	≥40	38	%90,5	40	%93,0	
Tümör boyutu (cm)	<2	14	%33,3	20	%46,5	0,03*
	≥2	28	%66,7	23	%53,5	
Histolojik Tip	İDK	35	%83,3	36	%83,7	0,45
	İLK	5	%11,9	3	%7,0	
	Müsinöz	1	%2,4	2	%4,7	
	Tübülopapiller	0	%0,0	1	%2,3	
	Mikroinvaziv	0	%0,0	1	%2,3	
	Kribriform	1	%2,4	0	%0,0	

Hastaların histolojik derecesine göre PTEN ekspresyon kaybı olan grupta daha düşük oranda derece 3 hastalarının olduğu görüldü (p=0,03).

Hastaların tümör fokalitesine göre PTEN gruplarında farklılık olup, PTEN ekspresyon kaybı olan grupta daha yüksek oranda multifokalite görüldü (p=0,01) .

PTEN kaybı gösteren grupta mikrokalsifikasyon oranının daha düşük düzeylerde olduğu görüldü (p=0,04).

Tablo 4.3 devam

Prognostik Faktörler		PTEN Skor				p
		<90		≥90		
		n	%	n	%	
Histolojik Derece	Derece 1	7	%16,7	4	%9,3	0,03*
	Derece 2	25	%59,5	23	%53,5	
	Derece 3	10	%23,8	16	%37,2	
Tümör Fokalitesi	Unifokal	33	%78,6	36	%83,7	0,01*
	Multifokal	9	%21,4	7	%16,3	
DKİS	Yok	22	%50,0	17	%40,0	0,06
	Var	22	%50,0	25	%60,0	
Lenfovasküler İnvazyon	Yok	22	%52,38	25	%58,1	0,13
	Var	20	%47,62	18	%41,9	
Perinöral İnvazyon	Yok	32	%76,19	34	%79,07	0,21
	Var	10	%23,81	9	%20,93	

PTEN ekspresyon kaybı ile yaş, histolojik tip, perikapsüler invazyon, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, patolojik TNM sınıflaması, evre, HER2 ve Ki-67 ekspresyonu arasında önemli bir korelasyon bulunmadı.

Tablo 4.3 devam

Prognostik Faktörler		PTEN Skor				p
		<90		≥90		
		sayı	%	sayı	%	
Perinöral İnvazyon	Yok	32	%76,19	34	%79,07	0,21
	Var	10	%23,81	9	%20,93	
Patolojik T	T1	15	%35,71	21	%48,84	0,24
	T2	23	%54,76	17	%39,53	
	T3	2	%4,76	2	%4,65	
	T4	2	%4,76	3	%6,98	
Patolojik N	N0	1	%4,55	2	%9,09	0,13
	N1	1	%4,55	6	%27,27	
	N2	13	%59,09	10	%45,45	
	N3	7	%31,82	4	%18,18	
Patolojik M	M0	38	%90,48	40	%93,02	0,11
	M1	4	%9,52	3	%6,98	
Evre	1A	12	%28,57	13	%30,23	0,25
	1B	0	%0,00	1	%2,33	
	2A	9	%21,43	8	%18,60	
	2B	4	%9,52	6	%13,95	
	3A	7	%16,67	7	%16,28	
	3B	0	%0,00	2	%4,65	
	3C	9	%21,43	4	%9,30	
	4	1	%2,38	2	%4,65	

DKIS'nin PTEN kaybı olan grupta kayıp olmayan gruba göre daha yüksek düzeylerde olduğu görüldü (p=0,01).

PTEN kaybı olan grupta ER, PR, PHH3 ve PD-L1 ekspresyonu anlamlı derecede daha düşük seviyelerde olduğu bulundu (p=0,03; 0,02; 0,01; 0,01).

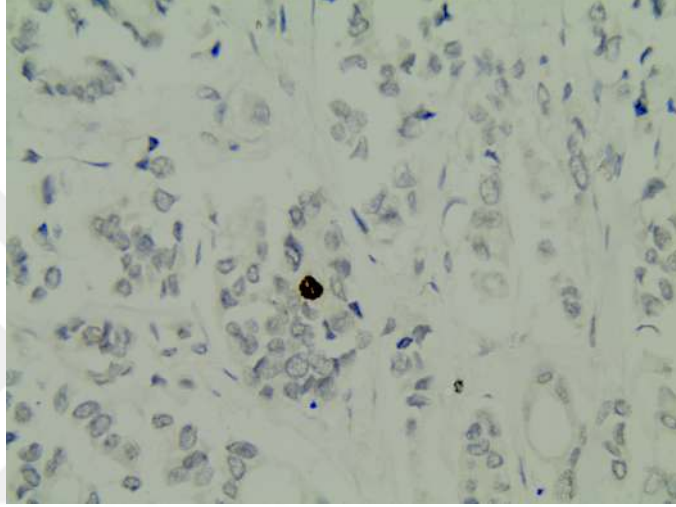
Tübüler diferansiasyon, nükleer pleomorfizm, mitotik oran, metastatik lenf nodu sayısı, Ki-67 ekspresyonu ile PTEN gruplarında farklılık görülmedi.

Tablo 4.3 devam

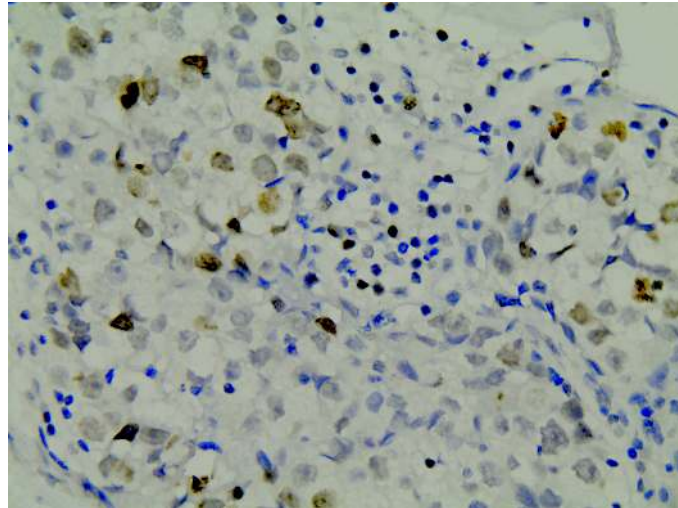
Prognostik Faktörler	PTEN Skor					p
	<90			≥90		
	N		%	N	%	
	Var	16	%38,10	18	%41,86	
HER2	0	17	%40,48	23	%53,49	0,13
	1	10	%23,81	7	%16,28	
	2	9	%21,43	5	%11,63	
	3	6	%14,29	8	%18,60	
ER	Negatif	9	%15,00	3	%12,00	0,08
	Pozitif	51	%85,00	22	%88,00	
PR	Negatif	14	%23,30	6	%24,00	0,21
	Pozitif	46	%76,70	19	%76,00	

4.2.3 PHH3 Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Bulgularla İlişkisi

PHH3, 36 (%42,3) vakada pozitif 49, (%47,7) vakada negatif boyandı. Ki-67 ve PHH3 proliferasyon indeksleri tüm vakalarda benzerlik gösterdi. Mitoza özgü PHH3 belirteci, Ki-67'den daha düşük bir genel hücre yüzdesini vurgulamaktadır. Vakalarda PHH3 cut off değerleri log analizleri ile %2 olarak bulunmuştur. Bu değer kullanılarak iki kategorili bir gruplama sistemi yapılmış ve olgular “düşük” ve “yüksek” ekspresyon gruplarına ayrılmıştır (Fotoğraf 4.20 - 4.21).



Fotoğraf 4.20 Tümör hücrelerinde düşük nükleer PHH3 ekspresyonu, immün peroksidaz, x400



Fotoğraf 4.21 Tümör hücrelerindeyüksek nükleer PHH3 ekspresyonu, immün peroksidaz, x400

Hastaların yaşlarına göre PHH3 ekspresyonunun farklı olduğu, PHH3 düzeyi ≥ 2 olan gruplarda daha yüksek oranlarda 40 yaş ve üzeri bireyler olduğu görüldü ($p=0,01$). Tümör boyutu 2 cm'den büyük gruptaki PHH3 düzeyinin daha yüksek oranda olduğu görüldü ($p=0,01$).

Tablo 4.5 Prognostik Faktörlere göre PHH3

Prognostik Faktörler		PHH3				p
		<2		≥2		
		n	%	N	%	
Yaş	<40	2	%4,1	5	%13,9	0,01*
	≥40	47	%95,9	31	%86,1	
Cinsiyet	Kadın	47	%95,9	35	%97,2	0,42
	Erkek	2	%4,1	1	%2,8	
Tümör Yerleşimi	Sağ	25	%51,0	19	%52,8	0,48
	Sol	24	%49,0	17	%47,2	
Tümör Boyutu (cm)	<2	23	%46,9	11	%30,6	0,01*
	≥2	26	%53,1	25	%69,4	
Histolojik Tip	İDK	39	%79,6	32	%88,9	0,42
	İLK	5	%10,2	3	%8,3	
	Müsinöz	2	%4,1	1	%2,8	
	Tübülopapiller	1	%2,0	0	%0,0	
	Mikroinvaziv	1	%2,0	0	%0,0	
	Kribriform	1	%2,0	0	%0,0	

Hastaların histolojik derecesine göre PHH3 grubuna göre farklılık olduğu, PHH3 pozitif grupta daha yüksek oranda derece 3 hastalarının olduğu görüldü (p=0,02).

Hastaların tümör fokalitesine göre PHH3 grubuna göre farklılık olduğu, PHH3 pozitif grupta daha yüksek oranda multifokalite olduğu görüldü (p=0,01). PHH3 düzeyi ≥ 2 olan grupta daha yüksek oranda meme başı tutulumu olduğu görüldü (p=0,01).

Metastatik LN sayısı ve lenfovasküler invazyonun PHH3 gruplarına göre farklı olmadığı görüldü (p=0,48, p=0,58). Perinöral invazyonun PHH3 gruplarında farklı olduğu tespit edildi (p=0,01). Perinöral invazyon gösteren gruptaki PHH3 pozitifliğinin daha düşük düzeylerde olduğu görüldü.

Tablo: 4.4 devam

Prognostik Faktörler		PHH3				p
		<2		≥2		
		n	%	n	%	
Histolojik Derece	Derece 1	10	%20,4	1	%2,8	0,02*
	Derece 2	26	%53,1	22	%61,1	
	Derece 3	13	%26,5	13	%36,1	
Tümör Fokalitesi	Unifokal	43	%87,8	26	%72,2	0,01*
	Multifokal	6	%12,2	10	%27,8	
Metastatik LN sayısı	Yok	24	49,0%	16	44,4%	0,48
	1-3	10	20,4%	7	19,4%	
	4-9	8	16,3%	7	19,4%	
	≥10	7	14,3%	6	16,7%	
Lenfovasküler invazyon	Yok	29	59,2%	18	50,0%	0,58
	Var	20	40,8%	18	50,0%	
Perinöral invazyon	Yok	39	79,6%	27	75,0%	0,01*
	Var	10	20,4%	9	25,0%	

Patolojik T, N, M sınıflaması ve evrelemesine göre PHH3 grubunun farklı olmadığı görüldü ($p=0,06$; $p=0,12$; $p=0,51$; $p=0,35$).

Mikrokalsifikasyon ve nekroz PHH3 gruplarında farklılık göstermekte olup PHH3 2 ve üzeri olan grupta daha yüksek düzeylerde olduğu görüldü ($p=0,01$).

Tablo: 4.4 devam

Prognostik Faktörler		PHH 3 grup				p
		<2		≥2		
		N	%	n	%	
Patolojik T	T1	24	%49,0	12	%33,3	0,05
	T2	20	%40,8	20	%55,6	
	T3	2	%4,1	2	%5,6	
	T4	3	%6,1	2	%5,6	
Patolojik N	N1	2	%8,0	1	%5,3	0,36
	N2	3	%12,0	4	%21,1	
	N3	15	%60,0	8	%42,1	
	N4	5	%20,0	6	%31,6	
Patolojik M	M0	45	%91,8	33	%91,7	0,51
	M1	4	%8,2	3	%8,3	
Evre	1A	16	%32,7	9	%25,0	0,35
	1B	1	%2,0	0	%0,0	
	2A	9	%18,4	8	%22,2	
	2B	6	%12,2	4	%11,1	
	3A	6	%12,2	8	%22,2	
	3B	2	%4,1	0	%0,0	
	3C	7	%14,3	6	%16,7	
	4	2	%4,1	1	%2,8	
	Var	16	%32,7	18	%50,0	

HER2 durumuna göre PHH3 ≥ 2 olan grubunun farklı olmadığı görüldü ($p=0,05$). ER ve PR grubuna göre PHH3 grup düzeylerinin farklı olduğu görülmüştür. PHH3 ≥ 2 olan gruplarda ER ve PR negatiflik oranının daha yüksek düzeylerde olduğu görüldü ($p=0,02$, $p=0,01$).

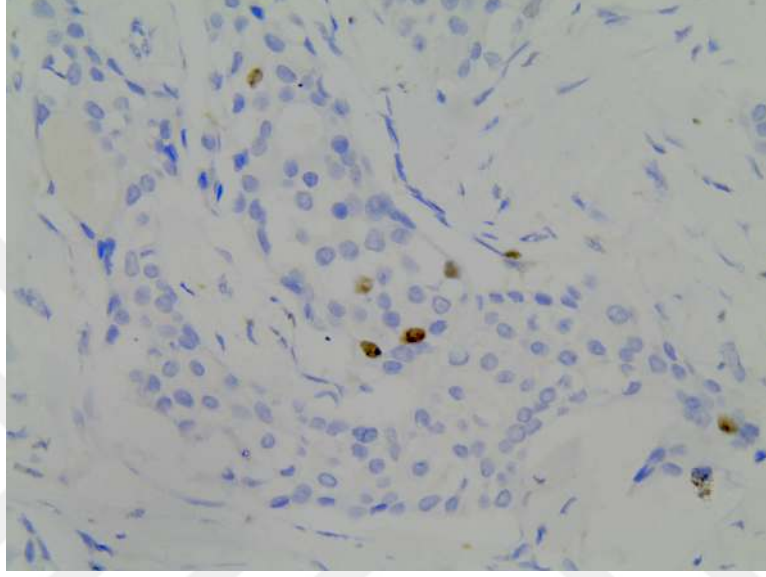
PD-L1 pozitiflik düzeylerinin PHH3 gruplarına göre farklı olduğu görülmüştür. PD-L1 pozitif olan gruplarda daha yüksek düzeylerde PHH3 ≥ 2 olduğu görüldü ($p=0,01$). Ki-67'nin PHH3 gruplarına göre farklı olduğu, Ki-67'nin %20 ve üzerinde olduğu gruplarda daha yüksek oranda PHH3 ekspresyonu olduğu görüldü ($p=0,01$). PTEN ekspresyonuna göre PHH3 gruplarının farklı olduğu görüldü. PTEN kaybı olan grupta PHH3 ekspresyonunun daha düşük olduğu görüldü ($p=0,01$).

Tablo :4.4 devam

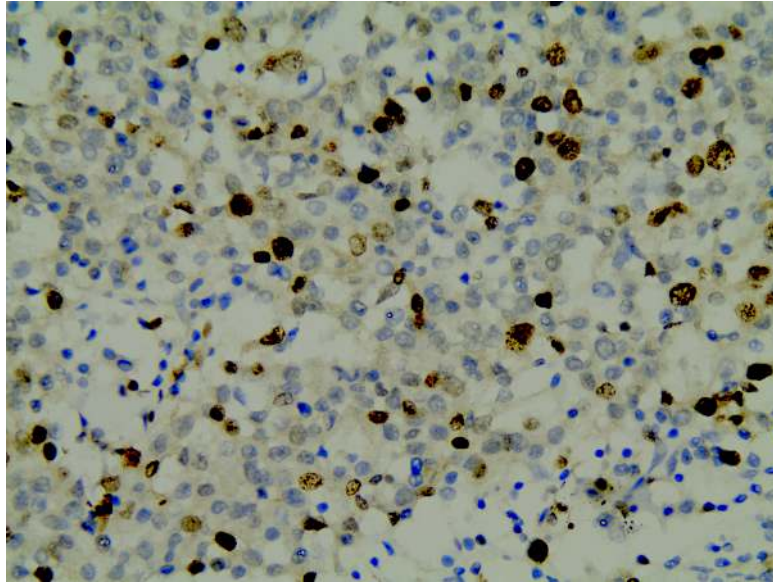
Prognostik Faktörler		PHH 3 grup				p
		<2		≥2		
		N	%	n	%	
HER2	0	25	51,0%	15	41,7%	0,05
	1	9	18,4%	8	22,2%	
	2	7	14,3%	7	19,4%	
	3	8	16,3%	6	16,7%	
ER	Negatif	4	8,2%	8	22,2%	0,02*
	Pozitif	45	91,8%	28	77,8%	
PR	Negatif	9	18,4%	11	30,6%	0,01*
	Pozitif	40	81,6%	25	69,4%	
	Yoğun	0	0,0%	0	0,0%	
PD-L1	Negatif	43	87,8%	21	58,3%	0,01*
	Pozitif	6	12,2%	15	41,7%	
Ki-67	<%20	41	83,7%	16	44,4%	0,01*
	≥%20	8	16,3%	20	55,6%	
PTEN	Negatif	36	73,5%	24	66,7%	0,01*
	Pozitif	13	26,5%	12	33,3%	

4.2.4 Ki-67 Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Bulgularla İlişkisi

Hastaların yaşlarına göre Ki-67 %20'nin altında ve üzerindeki gruplarda farklılık göstermedi ($p=0,09$). Ki-67 ekspresyonu 57 vakada (%67) %20'nin altındayken 28 vakada (%33) %20'nin üzerindeydi (Fotoğraf 4.22 - 4.23). Ki-67'nin prognostik faktörler ile ilişkisi Tablo 4.5'te gösterilmiştir.



Fotoğraf 4.22 Tümör hücrelerinde düşük nükleer Ki-67 ekspresyonu, immün peroksidaz, x400



Fotoğraf 4.23 Tümör hücrelerinde yüksek nükleer Ki-67 ekspresyonu, immün peroksidaz, x400

Tümör boyutu 2 cm'den büyük olmasına göre Ki-67 grubunun düzeylerinin farklı olduğu görülmüştür (p=0,01). Tümör boyutu 2 cm'den büyük gruptaki hastaların Ki-67 düzeyinin daha yüksek oranda olduğu görüldü.

Hastaların histolojik tiplerine göre Ki-67 grubunun farklılık göstermediği tespit edildi (p=0,46).

Hastaların histolojik derecesine göre Ki-67 grubunda farklılık olduğu, Ki-67 20 üzeri olan grupta daha yüksek oranda derece 3 hastalarının olduğu görüldü (p=0,01).

Tablo 4.6 Prognostik Faktörlere göre Ki-67

Prognostik Faktörler		Ki-67				p
		<%20		≥%20		
		sayı	%	sayı	%	
Yaş	<40	2	3,5%	5	17,9%	0,09
	≥40	55	96,5%	23	82,1%	
Cinsiyet	Kadın	54	94,7%	28	100,0%	0,13
	Erkek	3	5,3%	0	0,0%	
Tümör Yerleşimi	Sağ	28	49,1%	16	57,1%	0,38
	Sol	29	50,9%	12	42,9%	
Tümör boyutu (cm)	<2	28	49,1%	6	21,4%	0,01*
	≥2	29	50,9%	22	78,6%	
Histolojik Tip	İDK	46	80,7%	25	89,3%	0,46
	İLK	6	10,5%	2	7,1%	
	Müsinöz	2	3,5%	1	3,6%	
	Tübülopapiller	1	1,8%	0	0,0%	
	Mikroinvaziv	1	1,8%	0	0,0%	
	Kribriform	1	1,8%	0	0,0%	
Histolojik Derece	Derece 1	11	19,3%	0	0,0%	0,01*
	Derece 2	35	61,4%	13	46,4%	
	Derece 3	11	19,3%	15	53,6%	

Hastaların tümör fokalitesine göre Ki-67 grubunda farklılık olduğu, Ki-67 20 üzeri olan grupta daha yüksek oranda unifokalite görüldü (p=0,01).

Meme başında tümör olması durumuna göre Ki-67 grubunun farklı olduğu tespit edilmiştir. Farkın nedeninin Ki-67 düzeyi 20 ve üzerinde olan grupta daha yüksek oranda tümör olduğu görüldü (p=0,01).

Metastatik LN sayısına grubuna göre Ki-67 grubunun farklı olmadığı görüldü (p=0,39). Lenfovasküler invazyon durumuna göre Ki-67 grubunun farklı olduğu görüldü (p=0,01). Lenfovasküler invazyon olan grupta Ki-67 ekspresyonu daha yüksek düzeyde bulundu.

Mikrokalsifikasyon ve nekroz durumuna göre Ki-67 grubunun farklı olduğu görüldü. Ki-67 20 ve üzeri olan grubun mikrokalsifikasyon oranının daha yüksek düzeylerde olduğu görüldü (p=0,01).

Tablo: 4.5 devam

Prognostik Faktörler		Ki-67				p
		<%20		≥%20		
		sayı	%	sayı	%	
Tümör Fokalitesi	Unifokal	48	84,2%	21	75,0%	0,01*
	Multifokal	9	15,8%	7	25,0%	
DKİS	Yok	28	49,1%	12	42,9%	0,55
	Var	29	50,9%	16	57,1%	
	Tümör var	4	7,0%	3	10,7%	
	Tümör Var	4	7,0%	0	0,0%	
Metastatik LN Sayısı	Yok	29	50,9%	11	39,3%	0,39
	1-3	11	19,3%	6	21,4%	
	4-9	8	14,0%	7	25,0%	
	≥10	9	15,8%	4	14,3%	
Lenfovasküler İnvazyon	Yok	37	64,9%	10	35,7%	0,01*
	Var	20	35,1%	18	64,3%	
Perinöral İnvazyon	Yok	43	75,4%	23	82,1%	0,01*
	Var	14	24,6%	5	17,9%	

Patolojik T, N, M grubuna ve evreye göre Ki-67 grubunun farklı olmadığı görülmüştür (p=0,05, p=0,28, p=0,30, p=0,38).

Tablo. 4.5 devam

Prognostik Faktörler		Ki-67				p
		<%20		≥%20		
		sayı	%	Sayı	%	
Patolojik T	T1	29	50,9%	7	25,0%	0,05
	T2	23	40,4%	17	60,7%	
	T3	3	5,3%	1	3,6%	
	T4	2	3,5%	3	10,7%	
Patolojik N	N0	1	3,7%	2	11,8%	0,28
	N1	4	14,8%	3	17,6%	
	N2	14	51,9%	9	52,9%	
	N3	8	29,6%	3	17,6%	
Patolojik M	M0	53	93,0%	25	89,3%	0,30
	M1	4	7,0%	3	10,7%	
Evre	1A	21	36,8%	4	14,3%	0,38
	1B	1	1,8%	0	0,0%	
	2A	10	17,5%	7	25,0%	
	2B	6	10,5%	4	14,3%	
	3A	7	12,3%	7	25,0%	
	3B	1	1,8%	1	3,6%	
	3C	9	15,8%	4	14,3%	
	4	2	3,5%	1	3,6%	

HER2 durumuna göre Ki-67 20 gruplarında farklılık izlenmedi (p=0,07).

ER ve PR grubuna göre Ki-67 grup düzeylerinin farklı olduğu görüldü. Ki-67 20 üzerinde olan gruplarda ER negatiflik oranının daha yüksek düzeylerde olduğu görüldü (p=0,01).

PTEN dağılımının Ki-67 gruplarına göre farklı olmadığı görüldü (p=0,18).

Tablo. 4.5 devam

Prognostik Faktörler		Ki-67				P
		<20		≥20		
		say1	%	say1	%	
HER2	0	31	54,4%	9	32,1%	0,07
	1	12	21,1%	5	17,9%	
	2	10	17,5%	4	14,3%	
	3	4	7,0%	10	35,7%	
ER	Negatif	4	7,0%	8	28,6%	0,01*
	Pozitif	53	93,0%	20	71,4%	
PR	Negatif	8	14,0%	12	42,9%	0,01*
	Pozitif	49	86,0%	16	57,1%	
PHH3	<2	41	71,9%	8	28,6%	0,01*
	≥2	16	28,1%	20	71,4%	
PTEN	Negatif	41	71,9%	19	67,9%	0,18
	Pozitif	16	28,1%	9	32,1%	

5. TARTIŞMA

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, kadınlarda en sık görülen kanser meme kanseridir (1). Son yıllarda meme kanseri insidansının artması, yeni tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde çalışmalar yapılmasına neden olmuştur (11). Meme kanserinin prognozunu ve sistemik tedavisini belirlemek için tümör boyutu, histolojik tip, histolojik grade, lenf nodu metastazı, lenfovasküler invazyon, ER, PR ve HER2 durumu gibi çeşitli klinikopatolojik parametreler kullanılmaktadır. Bu parametreler bazen bireyler arasındaki farklılıkları saptamada yetersiz kalmaktadır. Yüksek riskli hastaları belirlemek ve hastaların tedavi yanıtını takip etmek için daha iyi prognostik belirteçlere ihtiyaç vardır (5).

İmmüitedeki pozitif ve negatif sinyallerin dengesi konakçının bağışıklığını sağlarken otoimmüniteyi önler. Bu sinyallerde stimülatörlerden birinin tümör hücreleri tarafından eksprese edilmesi bağışıklık yanıtı üzerindeki dengeyi bozabilir. Bu durum bir tümör kaçış mekanizması oluşturarak tümör hücrelerinin istilasına ve otoimmünitenin uyarılmasına neden olabilir (3).

Tümör hücrelerinin immün kaçışında kritik rol oynayan yollardan biri PD-1 / PD-L1 yoludur. PD-1, T lenfositler de dahil olmak üzere çeşitli immün sistem hücreleri tarafından eksprese edilen yüzey membran antijenidir. PD-1 ve ligandı olan PD-L1, arasında gelişen aktivasyon T hücre aktivitesini, sitokin üretimini azaltırken, T hücre lizisini ve antijenlere olan toleransı artırır (3).

Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu, renal hücreli karsinom, mesane, over ve özefagus kanseri gibi çeşitli tümörlerde PD-L1 ekspresyonu ile hastanın klinikopatolojik durumu arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir (3, 131, 132). Meme kanseri üzerine yapılan çalışmaların bazılarında, meme kanserlerinde PD-L1'in kötü bir prognostik parametre olduğu ve PD-L1 ekspresyonu arttıkça yaşam süresinin azaldığı gösterilmiştir (127).

Meme kanseri daha az immünojenik bir tümör olarak kabul edilmektedir. Ancak çok sayıda çalışma ile meme karsinomunda PD-L1'in hem tümör hücrelerinde hem de TİL'de ekspresyonu gösterilmiştir. Mevcut standart tedavilerin yerini almasa da meme kanseri tedavisinde immunoterapi önemli bir bileşen olarak ortaya çıkmaktadır (11).

Yapılan çalışmalarda tüm meme kanseri alt tiplerinde PD-L1 ekspresyonu %0 ile %83 arasında değişmekte olup, çoğu çalışma ekspresyonunun %50'nin

altında göstermektedir (12, 86, 133, 134). Bu çalışmada 85 meme kanseri hastasının 21'inde (%24) PD-L1 pozitifliği tespit ettik ve kötü prognostik parametrelerle ilişkili olduğunu saptadık. Böylece son zamanlarda yapılan çalışmalarla benzer sonuçlar elde ettik.

PD-L1'in immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesinde çok çeşitli stratejiler kullanılmaktadır. Bu nedenle literatürdeki PD-L1 ekspresyonu ile ilgili bilgiler farklılık göstermektedir. Bu durum farklı cut-off değerleri, antikor klonları, skorlama sistemi ve PD-L1 için farklı pozitiflik (sitoplazmik ve membran boyaması) algısının kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Bir çalışmada PD-L1'in 3 farklı klonu (E1L3N, SP142, 28-8) kullanılmış ancak birbirlerine üstünlüğü belirtilmemiştir. Üç klonda da boyanma oranları birbirinden farklılık göstermiştir (126). Bu çalışmada immünohistokimyasal olarak E1L3N klonu kullanılmıştır.

PD-L1'in değerlendirilmesinde çalışmalar arasında yöntem farklılıkları bulunmaktadır. En sık kullanılan yöntemlerden biri boyanma yüzdesine göre <%1, %5, %10, %50 eşik değerlerini kullanarak boyanmayı skorlamaktır (75, 132, 135, 136, 137). Diğer bir yöntem bu çalışmada da kullanılan tümörün boyanma şiddetini 0-3 olarak skorlayıp, bu değeri boyanma yüzdesi ile çarparak elde edilen H skorunu ($H \text{ skoru} = \text{boyanma yüzdesi} \times \text{boyanma şiddeti skoru}$) karşılaştırmaktır (10, 107). H- skoru 99 ve altı negatif iken üzeri pozitif kabul edilmiştir.

PD-L1'in saptanması için İHK protokollerinin doğru standardizasyonu ve pozitif hücrelerin yüzdesi açısından standart bir cut-off değerinin saptanması bu belirtecin prognostik değerinin yeniden değerlendirilmesini sağlayacaktır (126).

Meme karsinomları alt tiplerinde yapılan bir çalışmada medüller özellikler gösteren İDK ile apokrin ve metaplastik özellikler gösteren tümörlerde PD-L1'in eksprese olduğu görülmüştür (138) Özellikle ER negatif meme tümörlerinin (TNMK ve HER2 pozitif tipleri) immünojenik olduğu ve immünolojik tedaviye potansiyel olarak uygun olduğu saptanmıştır (139). Bu çalışmada meme karsinomunun histolojik tipi ile PD-L1 ekspresyonu arasında ilişki saptanmamıştır.

Sabatier ve ark. tüm histolojik tipleri içeren 5454 meme karsinomunda yaptığı çalışmada, PD-L1 pozitifliğinin prognostik öneminin olmadığı görülmekle

birlikte, moleküler alt tiplere göre değerlendirdiklerinde, bazal tip meme kanserlerinde, yüksek PD-L1 ekspresyonu büyük tümör boyutu, yüksek histolojik derece, yüksek proliferasyon indeksi, iyi sitotoksik kemoterapi yanıtı, ER-negatifliği ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca bazal tip meme kanserinde PD-L1 ekspresyonu arttıkça yaşam süresinin de arttığı saptanmıştır (140). Muesent ve ark. ise PD-L1 ekspresyonunu bazal grup, luminal B grubu ve HER2 grubunda kısa sağkalım ile ilişkili bulmuştur (10).

Wang ve ark. yaptıkları çalışmada meme kansinomlarının tüm histolojik tipleri değerlendirildiğinde %16,5 oranında PD-L1 ekspresyonu görülürken triple negatif ve bazal tip meme kansinomunda daha yüksek oranda PD-L1 (%33, %31) ekspresyonu görülmüştür. PD-L1 ekspresyonu genç yaş, yüksek derece ve ER negatifliği ile ilişkili bulunmuştur (141).

Xiaoxian ark. triple negatif meme kanserlerinin %51'inin tümöral veya stromal PD-L1 ekspresyonuna sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca PD-L1 ekspresyonu tümör boyutu, lenfovasküler invazyon ve uzak metastaz ile önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur (142).

Ming Li ve ark. adet triple negatif meme kanserinde yaptığı çalışmada hastaların %38,6'sında PD-L1 pozitif olup PD-L1 pozitifliği yüksek histolojik derece, rekürrens ve uzak metastaz ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur (12).

Hazem ve ark. yaptıkları bir çalışmada 44 meme kanserli hastanın %34'ünde PD-L1 pozitifliği tespit etmiştir (3). PD-L1 ekspresyonu klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırıldığında büyük tümör boyutu, histolojik derece, HER 2 pozitifliği, ER ve PR negatifliği ile ilişkili bulunmuştur (3).

Muenst ve ark. 650 hastadan aldıkları örneklerin %23,4'ünde PD-L1'i pozitif olarak bildirmiştir. Ayrıca PD-L1 ekspresyonu ileri yaş, büyük tümör boyutu, yüksek histolojik derece, LN durumu, ER negatifliği, Ki-67 ve HER 2 ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur. Histolojik alt tiplere göre PD-L1 ekspresyonunda bir fark tespit edilmemiştir (9).

Meme kansinomlarında PD-L1'in prognostik önemini değerlendiren çalışmalarda birbirine ters düşen sonuçlar da mevcuttur. Bu çalışmaların bazılarında, meme kanserlerinde PD-L1'in kötü bir prognostik parametre olduğu ve PD-L1 ekspresyonu arttıkça yaşam süresinin kısaldığı gösterilmiştir. Mauricio ve ark. yaptıkları çalışmada ise tümör hücrelerinin %56,6'sında PD-L1 pozitifliği

tespit etmiştir. PD-L1 ekspresyonunun kötü klinik ve patolojik özelliklerle ilişkili olup, meme kanserinde pozitif bir prognostik biyobelirteç olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir. PD-L1 ekspresyonuna yol açan güçlü bir antitümör immün yanıtının varlığından kaynaklandığı düşünülmüştür (144).

Hou ve ark HER2 pozitif meme kanserlerinde yaptığı bir çalışmada PD-L1 ekspresyonu iyi prognostik belirteç olarak değerlendirilmiştir ve PD-L1 ekspresyonu, yüksek CD8 pozitif hücre seviyeleri, lenf nodu metastazının olmaması, daha düşük T evreleri ve daha iyi sağ kalım ile korelasyon göstermiştir (133).

Bu çalışmada literatüre benzer bir şekilde tümörün histolojik derecesi arttıkça PD-L1 ekspresyonunun da arttığı görüldü (3, 9, 95, 143). Ayrıca yine literatürle uyumlu olarak ER ve PR negatif vakalarda PD-L1 ekspresyonunun daha yüksek olduğu saptanmıştır (3, 133, 140).

Çalışmada PD-L1 pozitif vakaların %47,6'sının Ki-67 indeksi %20'nin altında iken, % 52,4'ü %20'nin üzerinde saptandı. Yüksek Ki-67 indeksi ile PD-L1 pozitifliği arasında literatür ile uyumlu olarak anlamlı pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardı (10, 140)

Bu çalışmada tümör çapı ve HER2 overekspresyonu gibi kötü prognostik parametrelerde PD-L1 pozitifliği daha yüksek oranlarda saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. Bu durumun kullanılan vaka sayısına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Yapılan bazı çalışmalar triple negatif meme kanserinin daha sık PD-L1 ekspresyonuna sahip olduğunu gösterdiği gibi bu hastalar için anti-PD-L1 / anti-PD-1 terapisi umut verici bir terapötik strateji haline gelmiştir (12). Klinik çalışmalara göre tedaviye cevap oranı ileri evre TNMK'lerde %5-23 arasındadır. Yüksek oranlı cevaplar PD-L1 pozitifliği ile ilişkilidir (139).

PD-L1'in düzenlenmesinde IFN-gama eylemine yanıt olarak onkojenik sinyalleme, PTEN'in silinmesi veya etkisiz hale getirilmesinin rol alabileceği belirtilmiştir. Bunun sonucunda PI3K yolağının aşırı ekspresyonu görülmektedir (145).

PTEN birçok farklı tümör patogenezinde rol alan PI3K/Akt yolunda inhibitör etkili bir tümör supresör gendir. PTEN inaktivasyonu, potansiyel olarak tümör hücre proliferasyonu, göçü ve invazyonu yoluyla tümör hücrelerinin agresif davranışına yol açabilir (1).

PTEN lokusundaki değişiklikler çok sayıda malignitede tanımlanmıştır. Prostat karsinomu, meme karsinomu, glioblastom, endometriyal karsinom gibi çok sayıda kanserde PTEN fonksiyon kaybı gözlenmiştir (88, 110, 116). Son çalışmalar PTEN'in meme karsinomunda düzenleyici bir rolü olduğunu, prediktif ve prognostik bir belirteç olabileceğini göstermiştir (146, 147).

Shaham ve ark. 1000 hasta üzerinde yaptığı bir çalışmada vakaların %77'sinde PTEN ekspresyon kaybı görülmüştür. PTEN kaybı büyük tümör boyutu, yüksek grade ve triple negatif meme kanserleri ile anlamlı şekilde ilişkili bulunmuştur (148).

Ling-Li ve ark. yaptığı bir çalışmada LN metastazı olan meme kanserli hastalarda PTEN ekspresyon kaybı daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca PTEN negatif grupta daha yüksek düzeyde ER pozitifliği, düşük HER2 ekspresyonu ve daha küçük tümör boyutu ile ilişkili bulunmuştur (18). Gizeh ve ark. yaptığı bir çalışmada PTEN kaybı ER pozitiflik durumu, küçük tümör boyutu, düşük HER2 ekspresyonu ile korele bulunmuştur (147).

PTEN ekspresyon kaybının tümör patogeneğinde daha geç dönemlerde meydana gelebileceği hipotezi ileri sürülmüştür. Derece 1 tümörlerde yüksek PTEN ekspresyonu görülmesi, ER ve PR negatifliği ile PTEN kaybının ilişkili olması bunu desteklemektedir (149, 150). Çeşitli çalışmalarda PTEN'in tümör büyümesi ve metastaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu durum PTEN kaybının anjiogenezi uyarması ile açıklanmaktadır (150).

Myoung ve ark. PTEN ekspresyon kaybının lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğunu bulmuştur ancak tümör boyutu, tümör derecesi ve rekürrens ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (16). Peter ve ark. 151 kadın hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada PTEN ekspresyon kaybı LN metastazı, ER kaybı ve hastalığa bağlı ölüm ile ilişkili bulunmuştur (1).

Wang ve ark. 296 meme kanseri üzerinde yaptığı çalışmada PTEN ekspresyon kaybının aksiller LN metastazı ile ilişkili olduğunu tespit etmiş ve 5 yıllık sağkalım PTEN kaybı gösteren grupta daha düşük bulunmuştur. Ayrıca PTEN ekspresyon kaybı büyük tümör boyutu, yüksek T evresi ve yüksek histolojik derece ile ilişkilidir (18).

Perez ve ark. yaptığı çalışmada meme kanseri hastalarının %37'sinde PTEN ekspresyon kaybı görülmüş olup PTEN kaybı, literatürde yer alan diğer

Çalışmaların aksine küçük tümör boyutu, ER pozitifliği ve düşük HER2 ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur (147).

Tsutsui ve ark. yaptığı çalışmada 236 meme kanseri hastasının %27'sinde PTEN ekspresyon kaybı izlenmiştir. PTEN kaybı lenf nodu metastazı ile ilişkili bulunmuştur. Tümör boyutu, nükleer derece ve Ki-67 ekspresyonu ile ilişki tespit edilememiştir. PTEN kaybı olan hastaların, normal bir PTEN ekspresyonuna sahip olanlara göre daha kısa hastalıksız sağkalıma sahip olduğu belirtilmiştir (151).

85 hasta üzerinde yaptığımız çalışmada %49,4 hastada PTEN kaybı gözlenmiştir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bu sonuç literatürde %5-%86 olarak bulunan PTEN ekspresyon kaybı ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir (110, 148, 149). Bu alışmada PTEN ekspresyon kaybı bk tümör boyutu, multifokalite, ER, PR ekspresyon kaybı, düşük PHH3, PD-L1 ekspresyonu ve düşük histolojik derece ile ilişkili bulunmuştur. Histolojik derecenin düşük bulunması az sayıda vaka üzerinde çalışılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bu alışmada LN metastazı olan grupta daha yüksek PTEN ekspresyon kaybı görülse de bu istatistiksel olarak anlamlı değildir.

PHH3 hücre proliferasyonu, neoplazmların davranışını belirlemede önemli bir faktördür. PHH3 uzun süredir çok çeşitli kanserlerde bir hücresel proliferasyon belirteci olarak kabul edilmiş ve son zamanlarda yapılan glioma, meningiom, kutanöz melanom, gastrointestinal stromal tümör, uterin düz kas tümörlerinde, overin seröz adenokarsinomlarında ve kolorektal karsinomlarda prognostik değeri olduğu ortaya çıkmıştır (24, 152, 153, 154, 155).

Meme kanserleri ile ilgili yapılan birden fazla çalışmada, PHH3 ekspresyonu ile mitotik sayımlar arasında güçlü bir korelasyon vardır. Böylece PHH3 sayımlarının meme adenokarsinomlarının derecelendirilmesinde kullanılabileceği ileri sürülmüştür (128, 155, 156, 157).

PHH3 ekspresyonunun aksiller lenf nodu durumu, tümör boyutu, histolojik derece, ER ve PR gibi klasik prognostik faktörlerden daha güçlü olduğu gösterilmiştir (158, 159). Meme kanserinde PHH3 ekspresyonunda artış lenf damarı invazyonu ile ilişkili bulunmuştur (24).

Ivar ve ark. 241 meme kanseri hastasında yaptıkları çalışmada PHH3 ekspresyonunun 55 yaş altı lenf nodu negatif meme kanseri hastalarında çok güçlü bir prognostik faktör olduğunu ve düşük PHH3 ekspresyonunun mükemmel

prognoz ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. PPH3 yaş, tümör çapı, derece, tübül oluşum, nükleer atipi, MAİ, ER ve PR ile ilişkili bulunmuştur (159).

Tokes ve ark. yaptığı çalışmada 52 meme kanserli hastadan alınan kor biyopsi örneklerinde PPH3 ekspresyonu yüksek histolojik dereceli ve triple negatif meme karsinomlarında daha yüksek bulunmuştur. PPH3 ekspresyonunun nükleer atipi ile pozitif ve tübül oluşturma kabiliyeti ile negatif korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (160).

Bu çalışmada yüksek PPH3 ekspresyonu ileri yaş, büyük tümör boyutu, yüksek histolojik grade, multifokalite, meme başı tutulumu, nekroz, ER ve PR negatifliği ve yüksek Ki-67 ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur. Bu sonuç nükleer PPH3 ekspresyonunun meme kanseri hastaları için kötü bir prognostik faktör olabileceğini göstermektedir.

PPH3'ün prognostik öneminin yanısıra aynı zamanda mitoz sayımını da kolaylaştırarak tümör derecelendirmesine de katkı sağlar. PPH3 tabanlı IHK ile H&E ile boyanan numunelerde gerçekleştirilen standart mitotik sayımlar arasında güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (25). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda PPH3 sayımları prognostik olarak MAİ'den daha güçlü bulunmuştur (146). Ayrıca Gerring ve ark. tarafından yapılan bir çalışma, meme kanserlerinde PPH3'ün Ki-67'den daha güçlü bir prognostik değere sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır (130). Marie ve ark. yaptıkları bir çalışmada bununla ters düşen sonuçlar da bulmuştur. MAİ Ki-67 ve PPH3'e göre daha güçlü bir prognostik belirteç olarak rapor edilmiştir (158).

PPH3 ile yapılan değerlendirmenin esasları H&E kesitlerdeki gibi 10 BBA'da mitoz sayımına veya Ki-67 gibi 1000 hücrede boyanan hücre oranına dayanmaktadır. Her iki yöntem de bugüne kadar yapılmış çalışmalarda denenmiştir (26, 101).

Mitoz sayımı ardışık 10 BBA'nda sayılmaktadır ve hala tam olarak standardize edilmemiş, çok vakit alan ve gözlemciler arası uyumu düşük bir yöntemdir. Ayrıca H&E kesitlerde apoptoz, piknoz, nekroz, ezilme ve koter artefaktları mitoz ile çok sık birbirine karıştırılmakta ve tümöre olduğundan daha yüksek derece verme problemine yol açmaktadır. Bu da hastanın tedavi ve takip protokolünü etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda PPH3'ün daha net bir boyanma profili sergilemesi nedeniyle proliferatif indeksi belirlemede kullanışlı bir yöntem olabileceği vurgulanmıştır (107, 121, 159). PPH3'ün en önemli özelliği mitoz

spesifik olması ve mitoz sayımında mitozun önemli taklitçileri olan apoptoz, piknoz, nekroz, ezilme artefaktı ya da koter artefaktında boyanma olmamasıdır (15). PHH3, Ki-67 gibi proliferasyonun yoğun olduğu bölgelerin tespitini kolaylaştırmakla kalmayıp, aynı kesitte mitotik figürün morfolojik teyidinde de imkan vermektedir. Bu özelliklerine bakıldığında gözlemciler arası uyumu daha yüksektir (120).

PHH3 ekspresyonu, glioma dokularında yüksektir ve yüksek PHH3 ekspresyonu olan hastalar, daha düşük PHH3 ekspresyon seviyeleri olan hastalara kıyasla daha kısa bir sağ kalım gösterir (24, 152). Artmış PHH3 ekspresyonu prostat kansinoma ileri klinik evre ile ilişkili bulunmuştur (18).

Ki-67 proliferasyon biyobelirteci olup meme kanseri için prognostik bir faktördür (161). Ki-67, hücre döngüsünün tüm aşamalarında bulunur. Ki-67 için pozitif boyanan hücrelerin yüzdesi, proliferasyon ölçüsü ve prognostik faktör olarak kullanılmıştır (161).

Bugüne kadar meme kanserli olgularda Ki-67 proliferasyon indeksinin sağ kalımla ve prognostik faktörler ile ilişkisini araştıran pek çok makale yayınlanmıştır (23). Wiesner ve ark. yaptığı bir çalışmada Ki-67'nin, negatif ER, PR durumu, HER2 durumu, tümör evrelemesi ve aksiller lenf nodu durumu gibi diğer biyobelirteçlerle çok güçlü korelasyon gösterdiğini bulmuştur (22). Veronese ve ark. ise büyük tümör boyutu, negatif ER ve PR durumu ile ilişki saptamışlardır (162). Molino ve ark. yüksek Ki-67 ekspresyonu ile büyük tümör boyutu, pozitif lenf nodu durumu, negatif östrojen ve progesteron reseptör durumu arasında önemli bir ilişki tespit etmişlerdir (163).

ER ve PR durumu ile ilgili olarak, çoğu çalışmada Ki-67 ile ER, PR arasında ters bir korelasyon bulmuştur (22, 161). HER2 durumu ve Ki-67 arasındaki ilişki tartışmalıdır, çünkü bazı çalışmalarda pozitif bir korelasyon tespit edilirken diğerlerinde anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (22, 161). Ki-67 ile lenf nodu durumu ve tümör evresi arasındaki ilişki açısından tutarsız veriler mevcuttur (161).

Bu çalışmada yüksek Ki-67 ekspresyonu büyük tümör boyutu, yüksek histolojik derece, multifokalite, meme başı tutulumu, nekroz, lenfovasküler invazyon, ER ve PR negatifliği ile ilişkili bulunmuştur.

Ki-67 neoadjuvan antihormonal tedavi ve kemoterapi alan hastalarda tedaviye yanıtı değerlendirmede prediktif bir belirteç olarak görev almaktadır. Ki-

67 ekspresyonunun azalmasının tedaviye olumlu klinik yanıt ile ilişkili olduğu bulunmuştur (22, 161, 164).

Birçok çalışma Ki-67'nin prognostik değerini göstermiştir ancak çoğu çalışma retrospektiftir ve heterojen hasta grubunu içermektedir. Ayrıca Ki-67'nin ölçüm yönteminde ve cut off değerinde farklılıklar gösterilmektedir. Sonuç olarak, Amerikan Klinik Onkoloji Derneği (ASCO) Tümör Belirteç Yönergeleri Komitesi, yeni teşhis edilmiş meme kanseri hastalarında prognoz için bu belirtecin rutin kullanımının yetersiz olduğunu belirlemiştir (124).

Ki-67, G0 fazı dışında hücre döngüsündeki tüm hücreleri işaretlediği için proliferasyonu temsil etmek için uygun olmayabilir. Çeşitli çalışmalar, G1 fazı hücrelerinin belirsiz sonları olduğunu göstermiştir, bu nedenle G1'in dahil edilmesinin proliferasyonu ölçmek için yanlış olabileceği belirtilmiştir (112). Bu yanlışlık aşırı ve yetersiz tedaviye neden olur. Sankt-Gallen ve Norveç Meme Kanseri Grubu (NBCG) kılavuzları, lenf nodu negatif hastaların % 85'ini yüksek risk olarak tanımlarken, sadece %15-20'si hastalıktan ölmektedir (165).

Çalışmamızda çeşitli kısıtlılıklar mevcuttu. Olgu sayımız azdı ve histolojik subtiplerdeki dağılım heterojendi. Olgulara ait blokların bir kısmında immunohistokimyasal boyamada dökülme, optimal boyanma elde edilememesi gibi teknik sıkıntılar da mevcuttu. Kurumumuzda tedavi modalitelerinin eksikliği nedeniyle, hastaların daha büyük merkezlere başvurmasından dolayı klinik takipleri yeterli değildi. Hastaların prognozları ile ilişkili, hastalıksız sağkalım ve ortalama sağkalım süreleri çalışma kapsamında incelenememiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda invaziv meme karsinomlarında prognostik parametreler ile PD-L1, PTEN, PHH3 ve Ki-67 immunohistokimyasal boyama sonuçlarını karşılaştırmayı amaçladık. Bu çalışmada 85 invaziv meme karsinom tanısı almış olgu incelendi. Vakaların 82'si (%96,4) kadın, 3'ü (%3,6) erkekti. Olguların 78 (%91,8)'i 40 yaş üzeriydi.
2. Olgularda en sık izlenen histolojik tip invaziv duktal karsinom (%83,5) olup onu ikinci en sık invaziv lobüler karsinom (%16,5) izliyordu.

3. Olguların 51'inde (%60) tanı anında tümör boyutu ≥ 2 dir.
4. Hastaların histolojik derecesi incelediğinde %12,9'unun derece 1, %56,5'inin derece 2, %30,6'sının ise derece 3 olduğu görülmüştür.
5. Tanı sırasında 45 (%52,9) vakada lenf nodu pozitifliği mevcuttu.
6. Olgulara ait parafin bloklardan hazırlanan kesitlere PD-L1, PTEN, PHH3 ve Ki-67 antikorları uygulandı. Antikorların ekspresyon oranlarına ışık mikroskopi ile bakılarak tüm prognostik faktörler ile ilişkisi incelendi.
7. İHK'sal boyama sonucuna göre PD-L1, 21 (%24,7) vakada pozitif (H-skor ≥ 100) boyandı.
8. İHK'sal boyama sonucuna göre 42 (%49,4) vakada PTEN kaybı (H-skor < 90) izlendi.
9. İHK'sal boyama sonucuna göre PHH3, 36 (%42,3) vakada pozitif boyandı.
10. İmmunohistokimyasal boyamada Ki-67 ekspresyonu 57 vakada (%67) %20'nin altındayken 28 vakada (%33) %20'nin üzerindeydi.
11. PD-L1 ile büyük tümör boyutu, yüksek histolojik derece, tümör fokalitesi, lenfovasküler invazyon, Ki-67 ekspresyonu, ER ve PR negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı.
12. PTEN kaybı ile büyük tümör boyutu, multifokalite, ER ve PR negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı.
13. PHH3 ile ileri yaş, büyük tümör boyutu, yüksek histolojik derece, multifokalite, meme başı tutulumu, nekroz, Ki-67 ekspresyonu, ER ve PR negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı.
14. Ki-67 ile büyük tümör boyutu, yüksek histolojik derece, multifokalite, meme başı tutulumu, nekroz, lenfovasküler invazyon, ER ve PR negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı.
15. Hastaların histolojik tiplerine göre PD-L1, PTEN, PHH3 ve Ki-67 ekspresyonlarının farklılık göstermediği tespit edildi.
16. Lenfovasküler invazyon olan gruptaki PD-L1 ve Ki-67 pozitiflik oranının olmayan gruba göre daha düşük düzeylerde olduğu görülmektedir.
17. Ki-67 grubuna göre PD-L1 pozitiflik düzeylerinin farklı olduğu görülmüştür. PD-L1, PHH3 pozitif olan gruplarda Ki-67 düzeyi ≥ 20 olan hasta oranının daha yüksek olduğu görülmüştür

18. PD-L1 ekspresyonu ile yaş, lenf nodu metastazı, patolojik T ve N sınıflaması, evre ve HER2 arasında önemli bir korelasyon görülmüştür.
19. PTEN ekspresyon kaybı ile yaş, histolojik tip, perikapsüler invazyon, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, patolojik TNM sınıflaması, evre, HER2 ve Ki-67 ekspresyonu arasında önemli bir korelasyon bulunmadı.
20. PHH3 ekspresyonu ile lenf nodu metastazı, lenfovasküler invazyon, patolojik T, N ve M sınıflaması, evre, HER2 ve PD-L1 ekspresyonu arasında önemli bir korelasyon bulunmadı.
21. Ki-67 ekspresyonu ile yaş lenf nodu metastazı, patolojik T, N ve M sınıflaması, evre, HER2 ve PD-L1 ekspresyonu arasında önemli bir korelasyon bulunmadı.
22. PTEN ekspresyon kaybı gösteren hastalarda PHH3 ve PD-L1'in daha düşük düzeylerde olduğu bulundu.
23. PD-L1 pozitif olan gruplarda daha yüksek düzeylerde PHH3 ekspresyonu olduğu görüldü.
24. Ki-67 grubu ≥ 20 olan gruplarda daha yüksek oranlarda PHH3 ekspresyonu olduğu görüldü.
25. PTEN kaybı olan grupta PHH3 pozitifliğinin daha düşük olduğu görüldü.

7. KAYNAKLAR

Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.

1. Depowski PL, Rosenthal SI, Ross JS. Loss of Expression of the PTEN Gene Protein Product Is Associated with Poor Outcome in Breast Cancer. 2001.
2. Lee LH, Swanson PE, Tang PA, Bigras G, Yang H. Association between phosphorylated histone H3 and oncotype DX recurrence scores in breast cancer. Vol. 25, *Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology*. Lippincott Williams and Wilkins; 2017. p. 25–31.
3. Ghebeh H, Mohammed S, Al-Omair A, Qattan A, Lehe C, Al-Qudaihi G, et al. The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: Correlation with important high-risk prognostic factors. *Neoplasia*. 2006;8(3):190–8.
4. Arciero CA, Styblo TM. Clinically established prognostic factors in breast cancer. In: *The Breast: Comprehensive Management of Benign and Malignant Diseases*. Elsevier Inc.; 2018. p. 250-257.e3.
5. Diest PJ Van, Wall E Van Der, Baak JPA. Prognostic value of proliferation in invasive breast cancer: a review. 2004;675–81.
6. Mori I, Yang Q, Kakudo K. Predictive and prognostic markers for invasive breast cancer. 2002;
7. Beckers RK, Selinger CI, Vilain R, Madore J, Wilmott JS, Harvey K, et al. Programmed death ligand 1 expression in triple-negative breast cancer is associated with tumour-infiltrating lymphocytes and improved outcome. *Histopathology*. 2016 Jul 1;69(1):25–34.
8. Buqué A, Bloy N, Aranda F, Castoldi F, Eggermont A, Cremer I, et al. Trial Watch: Immunomodulatory monoclonal antibodies for oncological indications. *Oncoimmunology*. 2015;4(4).
9. Ghebeh H, Mohammed S, Al-Omair A, Qattan A, Lehe C, Al-Qudaihi G, et al. The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: Correlation with important high-risk prognostic factors. *Neoplasia*. 2006;8(3):190–8.
10. Muenst S, Schaerli AR, Gao F, Däster S, Trella E, Droeser RA, et al. Expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;146(1):15–24.
11. Alsaab HO, Sau S, Alzhrani R, Tatiparti K, Bhise K, Kashaw SK, et al. PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for cancer immunotherapy: mechanism, combinations, and clinical outcome. Vol. 8, *Frontiers in Pharmacology*. Frontiers Media S.A.; 2017.
12. Li M, Li A, Zhou S, Xu Y, Xiao Y, Bi R, et al. Heterogeneity of PD-L1 expression in primary tumors and paired lymph node metastases of triple negative breast cancer. *BMC Cancer*. 2018 Jan 2;18(1).
13. Muenst S, Soysal SD, Gao F, Obermann EC, Oertli D, Gillanders WE. The presence of programmed death 1 (PD-1)-positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2013 Jun;139(3):667–76.
14. Panigrahi AR, Pinder SE, Chan SY, Paish EC, Robertson JFR, Ellis IO. The role of PTEN and its signalling pathways, including AKT, in breast cancer; an assessment of relationships with other prognostic factors and with outcome. *J Pathol*. 2004;204(1):93–100.

15. Lee C, Kim JS, Waldman T. PTEN gene targeting reveals a radiation-induced size checkpoint in human cancer cells. *Cancer Res.* 2004;64(19):6906–14.
16. Chung J, Ja Chung M, Hoo Jung S, Ju Lee B, Jae Kang M, Geun Lee D. Correspondence: Myoung Inactivation of the PTEN gene protein product is associated with the invasiveness and metastasis, but not angiogenesis, of breast cancer. Vol. 54, *Pathology International*. 2004.
17. Li S, Shen Y, Wang M, Yang J, Lv M, Li P, et al. Loss of PTEN expression in breast cancer: association with clinicopathological characteristics and prognosis [Internet]. Vol. 8, *Oncotarget*. 2017. Available from: www.impactjournals.com/oncotarget/
18. Wang LL, Hao S, Zhang S, Guo LJ, Hu CY, Zhang G, et al. PTEN/PI3K/AKT protein expression is related to clinicopathological features and prognosis in breast cancer with axillary lymph node metastases. *Hum Pathol*. 2017 Mar 1;61:49–57.
19. Bosch DE, Kilgore MR, Schmidt RA, Swanson PE, Rendi MH, Chang OH. Comparison of Proliferation Markers Ki67 Carcinoma In Situ. 2017;25(8):543–7.
20. Karn KMT, Schmidt M, Wirtz RM. Validity of the proliferation markers Ki67 , TOP2A , and RacGAP1 in molecular subgroups of breast cancer. 2013;57–67.
21. Sevinç Ş, I İ, Çakır A, Seçkin S, Uluo Ö. Clinicopathological Significance of the Proliferation Markers Ki67 , RacGAP1 , and Topoisomerase 2 Alpha in Breast Cancer. 2016;
22. Wiesner FG, Magener A, Fasching PA, Wesse J, Bani MR, Rauh C, et al. Ki-67 as a prognostic molecular marker in routine clinical use in breast cancer patients. *Breast*. 2009;18(2):135–41.
23. Bustreo S, Osella-Abate S, Cassoni P, Donadio M, Airolidi M, Pedani F, et al. Optimal Ki67 cut-off for luminal breast cancer prognostic evaluation: a large case series study with a long-term follow-up. *Breast Cancer Res Treat*. 2016;157(2):363–71.
24. Hao Q, Dai C, Deng Y, Xu P, Tian T, Lin S, et al. Pooling analysis on prognostic value of PHH3 expression in cancer patients. *Cancer Manag Res*. 2018;10:2279–88.
25. Sun A, Zhou W, Lunceford J, Strack P, Dauffenbach LM, Kerfoot CA. Level of phosphohistone H3 among various types of human cancers. *BMJ Open*. 2012;2(5):1–6.
26. Skaland I, Janssen EAM, Gudlaugsson E, Klos J, Kjellevoid KH, Söiland H, et al. Phosphohistone H3 expression has much stronger prognostic value than classical prognosticators in invasive lymph node-negative breast cancer patients less than 55 years of age. *Mod Pathol*. 2007 Dec 14;20(12):1307–15.
27. Gerring Z, Pearson JF, Morrin HR, Robinson BA, Harris GC, Walker LC. Phosphohistone H3 outperforms Ki67 as a marker of outcome for breast cancer patients. *Histopathology*. 2015 Oct 1;67(4):538–47.
28. Hoda SA. Normal Breast and Developmental Disorders [Internet]. Second Edi. *Breast Pathology*. Elsevier Inc.; 2012. 1–21 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-38961-7.00001-0>
29. Larson J V, Nelson ME, Sener SF, Patel KM. Breast anatomy for plastic surgeons [Internet]. Fourth Edi. *Plastic Surgery*. Elsevier Inc.; 2020. 1-14.e1 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-35709-8.00001-1>
30. Going JJ. Normal Breast [Internet]. Second Edi. *Breast Pathology*. Elsevier Inc.; 2011. 53–64 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4377-1757-0.00006-8>
31. Johnson MC, Cutler ML. Anatomy and physiology of the breast [Internet]. Sixth Edit. *Management of Breast Diseases: Second Edition*. Elsevier Ltd.; 2016. 1–39 p. Available

from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-7241-3.00001-9>

32. Kitayama JM, Longacre TA. 1 - The Normal Breast [Internet]. Practical Breast Pathology: A Diagnostic Approach. Elsevier Inc.; 2020. 1–14 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4377-0763-2.00001-3>
33. Hall-findlay E, Evans G. CHAPTER 1 - History and Anatomy [Internet]. Aesthetic and Reconstructive Surgery of the Breast. Elsevier Ltd.; 2020. 1–7 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-7020-3180-9.00001-9>
34. Collins LC. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, Eleventh Edition. 2018. 1434–1527 p.
35. Henry NL, Shah PD, Haider I, Freer PE, Jagsi R, Sabel MS. Cancer of the Breast [Internet]. Sixth Edit. Abeloff's Clinical Oncology. Elsevier Inc.; 2020. 1560-1603.e12 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47674-4.00088-8>
36. Korde LA, Zujewski JA, Kamin L, Giordano S, Domchek S, Anderson WF, et al. Multidisciplinary meeting on male breast cancer: Summary and research recommendations. J Clin Oncol. 2010;28(12):2114–22.
37. Population I, Population M, Sum P. World Source: Globocan 2018. 2019;876:2018–9.
38. DeSantis CE, Ma J, Gaudet MM, Newman LA, Miller KD, Goding Sauer A, et al. Breast cancer statistics, 2019. CA Cancer J Clin. 2019;69(6):438–51.
39. Malvezzi M, Carioli G, Bertuccio P, Boffetta P, Levi F, La Vecchia C, et al. European cancer mortality predictions for the year 2019 with focus on breast cancer. Ann Oncol. 2019;30(5):781–7.
40. Türkyılmaz M, Deniz EB, Ergin AK, Sevinç A, Tütüncü S, Seymen E. Türkiye kanser istatistikleri 2016. 2019; Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Trkiye_Kanser_statistikleri_2016.pdf
41. Registry AC, Registry BC, Registry C, Registry EC, Cancer E, Registry IC, et al. 84 339 067. 2020;264:1–2.
42. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. CA Cancer J Clin [Internet]. 2019;69(1):7–34. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.3322/caac.21551>
43. Rathore B. Breast Cancer. 2020.
44. Liu N, Johnson KJ, Ma CX. Male Breast Cancer: An Updated Surveillance, Epidemiology, and End Results Data Analysis. Clin Breast Cancer. 2018 Oct 1;18(5):e997–1002.
45. Koczkodaj P, Sulkowska U, Gotlib J, Mańczuk M. Breast cancer mortality trends in Europe among women in perimenopausal and postmenopausal age (45+). Arch Med Sci. 2020;16(1):146–56.
46. Sandadi S, Rock DT, Orr Jr JW, Valea FA. 15 – Breast Diseases: Detection, Management, and Surveillance of Breast Disease. 2017.
47. Oh H, Eliassen AH, Beck AH, Rosner B, Schnitt SJ, Collins LC, et al. Breast cancer risk factors in relation to estrogen receptor, progesterone receptor, insulin-like growth factor-1 receptor, and Ki67 expression in normal breast tissue. npj Breast Cancer. 2017 Dec;3(1).
48. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. CA Cancer J Clin [Internet]. 2015;65(1):5–29. Available from: <http://doi.wiley.com/10.3322/caac.21254>
49. Vogel VG. Epidemiology of breast cancer [Internet]. Fifth Edit. The Breast: Comprehensive Management of Benign and Malignant Diseases. Elsevier Inc.; 2018. 207-218.e4 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-35955-9.00015-5>

50. Hunt KK, Mittendorf EA. Diseases of the Breast. In: Chapter 34. p. 819–64.
51. Davidson NE. Chapter 188 Breast CanCER and Benign Breast disorders Breast Cancer And Benign Breast Disorders.
52. Vogel VG, Dabbs DJ. Epidemiology of Breast Cancer and Pathology of Heritable Breast Cancer.
53. Ronckers CM, Erdmann CA, Land CE. Radiation and breast cancer: A review of current evidence. *Breast Cancer Res.* 2005;7(1):21–32.
54. WHO Classification of Tumours of the Breast. 4th Editio. 2017.
55. AJCC Cancer Staging Manuel. 8th ed. In 2017. p. 588–628.
56. Giuliano AE, Connolly JL, Edge SB, Mittendorf EA, Rugo HS, Solin LJ, et al. Breast Cancer-Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(4):290–303.
57. Lester SC. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease Ninth Edition. 2015. Chapter 23, 1043-1071.
58. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O P, A, Williams C, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL BP, 2000. Molecular portraits of human breast tumours. 2000;747-752. (PMID: 10963602).
59. Sotiriou C, Neo S, Mcshane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. 2003;100(18):10393–8.
60. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and Clinical Characterization of the Basal- Like Subtype of Invasive Breast Carcinoma. 2004;10(919):5367–74.
61. Çavuşoğlu AÇ, Saydam S, Canda T, Sakızlı M. Meme tümör siniflamasında yeni ilik çabaları. 2009;(14):187–90.
62. Kreike B, Kouwenhove M Van, Horlings H, Weigelt B, Peterse H, Bartelink H, et al. Research article Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative / basal-like breast carcinomas. 2007;9(5):1–14.
63. Bhargava R. Molecular Classification of Breast Carcinoma [Internet]. Second Edi. Breast Pathology. Elsevier Inc.; 2012. 365–379 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-38961-7.00020-4>
64. Teixeira MR, Pandis N, Heim S. Tumors of the breast [Internet]. Fifth Edit. Cancer Cytogenetics: Fourth Edition. Elsevier Inc.; 2015. 426–446 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42860-6.00027-2>
65. Rakha EA, Reis-Filho JS, Baehner F, Dabbs DJ, Decker T, Eusebi V, et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: The role of histological grade. *Breast Cancer Res.* 2010;12(4).
66. springer. AJCC Cancer Staging Manuel. 8th ed. 2017. 588–628 p.
67. Gonzalez MA, Pinder SE. Invasive Carcinoma [Internet]. Second Edi. Breast Pathology. Elsevier Inc.; 2011. 272–278 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4377-1757-0.00020-2>
68. Haybittle JL, Blamey RW, Elston CW, Johnson J, Doyle PJ, Campbell FC, et al. Research, Cardiff. 1982;361–6.

69. Jin ML, Gong Y, Pei YC, Ji P, Hu X, Shao ZM. Modified lymph node ratio improves the prognostic predictive ability for breast cancer patients compared with other lymph node staging systems. *Breast* [Internet]. 2020;49:93–100. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.breast.2019.11.003>
70. Yarbrow JW, Page DL, Fielding LP, Partridge EE, Murphy GP. American Joint Committee on Cancer prognostic factors consensus conference. *Cancer*. 1999;86(11):2436–46.
71. Colpaert C, Vermeulen P, Jeuris W, Van Beest P, Goovaerts G, Weyler J, et al. Early distant relapse in “node-negative” breast cancer patients is not predicted by occult axillary lymph node metastases, but by the features of the primary tumour. *J Pathol*. 2001;193(4):442–9.
72. Colleoni M, Rotmensz N, Peruzzotti G, Maisonneuve P, Mazzarol G, Pruneri G, et al. Size of breast cancer metastases in axillary lymph nodes: Clinical relevance of minimal lymph node involvement. *J Clin Oncol*. 2005;23(7):1379–89.
73. Anders CK, Hsu DS, Broadwater G, Acharya CR, Foekens JA, Zhang Y, et al. Young age at diagnosis correlates with worse prognosis and defines a subset of breast cancers with shared patterns of gene expression. *J Clin Oncol*. 2008;26(20):3324–30.
74. Bharat A, Aft RL, Gao F, Margenthaler JA. Patient and tumor characteristics associated with increased mortality in young women (≤ 40 years) with breast cancer. *J Surg Oncol*. 2009;100(3):248–51.
75. Evangelou ZOI, Papoudou-bai A, Karpathiou G, Kourea H, Kamina S, Goussia A, et al. PD-L1 Expression and Tumor-infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer: Clinicopathological Analysis in Women Younger than 40 Years Old. 2020;647:639–47.
76. Hayes DF, Isaacs C, Stearns V. Prognostic factors in breast cancer: Current and new predictors of metastasis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2001;6(4):375–92.
77. 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.
78. Guidelines Working Group of the UK National Coordinating Committee for Breast Pathology. Pathology Reporting of Breast Disease in Surgical Excision Specimens Incorporating the Dataset for Histological Reporting of Breast Cancer. London, England: The Royal.
79. Tavassoli FA, Devilee P: World Health Organization classification of tumours. In Pathology and Genetics Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon:
80. Neumayer L, Viscusi RK. Assessment and designation of breast cancer stage [Internet]. Fifth Edit. The Breast: Comprehensive Management of Benign and Malignant Diseases. Elsevier Inc.; 2018. 531-552.e6 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-35955-9.00037-4>
81. Galea MH, Blamey RW, Elston CE, Ellis IO. The Nottingham prognostic index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1992;22(3):207–19.
82. Soerjomataram I, Louwman MWJ, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh JWW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2008;107(3):309–30.
83. Allred DC, Bhargava R, Dabbs DJ. Predictive and Prognostic Marker Testing in Breast Pathology: Immunophenotypic Subclasses of Disease [Internet]. Second Edi. Breast Pathology. Elsevier Inc.; 2012. 151–172 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-38961-7.00009-5>
84. Hammond MEH, Fitzgibbons PL, Compton CC, Grignon DJ, Page DL, Fielding LP, et al.

College of American Pathologists Conference XXXV: Solid tumor prognostic factors - Which, how and so what? Summary document and recommendations for implementation. Arch Pathol Lab Med. 2000;124(7):958–65.

85. Ibrahim M, Bartlett JM, Miller K, Jasani B. Breast Cancer Biomarkers [Internet]. Second Edi. Breast Pathology. Elsevier Inc.; 2011. 306–316 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4377-1757-0.00024-X>
86. Clarke RB. Steroid receptors and proliferation in the human breast. Steroids. 2003;68(10–13):789–94.
87. Ménard S, Balsari A, Casalini P, Tagliabue E, Campiglio M, Bufalino R, et al. HER-2-positive breast carcinomas as a particular subset with peculiar clinical behaviors. Clin Cancer Res. 2002;8(2):520–5.
88. Ross JS, Fletcher JA. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: Prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. Stem Cells. 1998;16(6):413–28.
89. Ferrero-pou M. Relationship between c-erbB-2 and Other Tumor Characteristics in. 2000;6(December):4745–54.
90. Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, Blair SL, Burstein HJ, Cyr A, et al. NCCN Guidelines Insights Breast Cancer. JNCCN-Journal Natl Compr Cancer Netw | [Internet]. 2017;15(4):433–51. Available from: <http://www.jnccn.org/content/15/4/433.full.pdf>
91. Louwman WJ, Van Beek MWPM, Schapers RFM, Tutein Nolthenius-Puylaert MBCJE, Van Diest PJ, Roumen RM, et al. Long-term survival of T1 and T2 lymph node-negative breast cancer patients according to mitotic activity index: A population-based study. Int J Cancer. 2006;118(9):2310–4.
92. Karina B, Hirata B, Massayo J, Oda M, Guembarovski RL, Ariza CB, et al. 513158.Pdf. 2014;2014.
93. Inwald EC, Klinkhammer-Schalke M, Hofstädter F, Zeman F, Koller M, Gerstenhauer M, et al. Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: Results of a large population-based cohort of a cancer registry. Breast Cancer Res Treat. 2013;139(2):539–52.
94. Polley MYC, Leung SCY, Gao D, Mastropasqua MG, Zabaglo LA, Bartlett JMS, et al. An international study to increase concordance in Ki67 scoring. Mod Pathol. 2015;28(6):778–86.
95. Vijver V De. Numb Er 25 a Gene-Expression Signature As a Predictor of Survival in Breast Cancer. 2008;347(25):1999–2009.
96. Abul K. Abbas MBBS, Andrew H. Lichtman MD, PhD and Shiv Pillai MBBS P. Cellular and Molecular Immunology, Ninth Edition, Immunity to Tumors. 2018. 397–416 p.
97. Nathan MR, Schmid P. The emerging world of breast cancer immunotherapy. Breast [Internet]. 2018;37:200–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.breast.2017.05.013>
98. Matthew Helbert, MBChB, FRCP, FRCPath P. Immunology for Medical Students Third Edition, Immunity to Cancers. 2017. Chapter 35, 280-289.
99. Zhang L, Wang XI, Ding J, Sun Q, Zhang S. The predictive and prognostic value of Foxp3+/CD25+ regulatory T cells and PD-L1 expression in triple negative breast cancer. Ann Diagn Pathol. 2019 Jun 1;40:143–51.
100. Spellman A, Tang SC. Immunotherapy for breast cancer: past, present, and future. Cancer Metastasis Rev [Internet]. 2016;35(4):525–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10555-016-9654-9>
101. Economou JS, Yang JC, Tomlinson JS. Chapter 29 - Tumor Immunology and

- Immunotherapy [Internet]. Twentieth. Sabiston Textbook of Surgery. Elsevier Inc.; 2016. 705–723 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-29987-9.00029-1>
102. David Male PhD MA, Jonathan Brostoff MA DM DSc FRCP FRCPath FIBiol, David B. Roth MD PhD and Ivan M. Roitt MA DSc (Oxon) Hon FRCP (Lon) FRCPath FRSDavid Male PhD MA, Jonathan Brostoff MA DM DSc FRCP FRCPath FIBiol DBRMP and IMRMDs (Oxon) HF (Lon) FrcpF. Immunology, Eighth Edition. 2013. Chapter 22, 355-359.
 103. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILS) in breast cancer: Recommendations by an International TILS Working Group 2014. Vol. 26, Annals of Oncology. Oxford University Press; 2015. p. 259–71.
 104. Byrne A, Savas P, Luen SJ, Beavis PA, Mackay LK, Neeson PJ. Tissue-resident memory T cells in breast cancer control and immunotherapy responses. Nat Rev Clin Oncol [Internet]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41571-020-0333-y>
 105. Bae SB, Cho HD, Oh MH, Lee JH, Jang SH, Hong SA, et al. Expression of programmed death receptor ligand 1 with high tumor-infiltrating lymphocytes is associated with better prognosis in breast cancer. J Breast Cancer. 2016 Sep 1;19(3):242–51.
 106. Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC, Lohse CM, Dong H, Webster WS, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients : Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. 2004;
 107. Park IH, Kong SY, Ro JY, Kwon Y, Kang JH, Mo HJ, et al. Prognostic Implications of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Association with Programmed Death Ligand 1 Expression in Early-Stage Breast Cancer. Clin Breast Cancer. 2016 Feb 1;16(1):51–8.
 108. Feng Y, Spezia M, Huang S, Yuan C, Zeng Z, Zhang L, et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. Genes Dis [Internet]. 2018;5(2):77–106. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.05.001>
 109. Bose S, Crane A, Hibshoosh H, Mansukhani M, Sandweis L, Parsons R. Reduced expression of PTEN correlates with breast cancer progression. Hum Pathol. 2002;33(4):405–9.
 110. Panigrahi AR, Pinder SE, Chan SY, Paish EC, Robertson JFR, Ellis IO. The role of PTEN and its signalling pathways, including AKT, in breast cancer; an assessment of relationships with other prognostic factors and with outcome. J Pathol. 2004 Sep;204(1):93–100.
 111. Okutur K, Bassulu N, Dalar L, Aydin K, Bozkurt M, Pilanci KN, et al. Predictive and prognostic significance of p27, Akt, PTEN and PI3K expression in HER2-positive metastatic breast cancer. Asian Pacific J Cancer Prev. 2015;16(7):2645–51.
 112. Planchon SM, Waite KA, Eng C. The nuclear affairs of PTEN. J Cell Sci. 2008;121(3):249–53.
 113. Sakr RA, Barbashina V, Morrogh M, Chandarlapaty S, Andrade VP, Arroyo CD, et al. Protocol for PTEN expression by immunohistochemistry in formalin-fixed paraffin-embedded human breast carcinoma. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2010 Jul;18(4):371–4.
 114. Gonzalez-Angulo AM, Ferrer-Lozano J, Stemke-Hale K, Sahin A, Liu S, Barrera JA, et al. PI3K pathway mutations and PTEN levels in primary and metastatic breast cancer. Mol Cancer Ther. 2011 Jun;10(6):1093–101.
 115. APJCP_Volume 17_Issue 9_Pages 4527-4531.

116. Perren A, Weng L-P, Boag AH, Ziebold U, Thakore K, M Dahia PL, et al. Immunohistochemical Evidence of Loss of PTEN Expression in Primary Ductal Adenocarcinomas of the Breast.
117. Neto JC, Ikoma MM, Carvalho KC, Vassallo J, De Brot M, Gobbi H, et al. MGMT and PTEN as potential prognostic markers in breast cancer. *Exp Mol Pathol*. 2012 Feb;92(1):20–6.
118. Sudarshini N, Banavar SR, Nambiar SK, Augustine D, Sowmya S V., Haragannavar VC, et al. Immunohistochemical stain-phosphohistone H3: Most specific mitotic marker. *J Clin Diagnostic Res*. 2018 Feb 1;12(2):ZC18–21.
119. Sillem M, Timme S, Bronsert P, Bogatyreva L, Hauschke D, Zur Hausen A, et al. Anti-phosphohistone H3-positive mitoses are linked to pathological response in neoadjuvantly treated breast cancer. *Breast Care*. 2017 Sep 1;12(4):244–50.
120. Kim J-Y, Sook Jeong H, Chung T, Kim M, Hee Lee J, Hee Jung W, et al. Oncotarget 1 www.impactjournals.com/oncotarget The value of Phosphohistone H3 as a proliferation marker for evaluating invasive breast cancers: A comparative study with Ki67 [Internet]. 2017. Available from: www.impactjournals.com/oncotarget/
121. Tapia C, Kutzner H, Mentzel T, Savic S, Baumhoer D, Glatz K. Two Mitosis-Specific Antibodies, MPM-2 and Phospho-Histone H3 (Ser28), Allow Rapid and Precise Determination of Mitotic Activity [Internet]. Available from: <https://journals.lww.com/ajsp>
122. Penault-Llorca F, Radosevic-Robin N. Ki67 assessment in breast cancer: an update. *Pathology*. 2017 Feb 1;49(2):166–71.
123. Ekholm M, Beglerbegovic S, Grabau D, Lövgren K, Malmström P, Hartman L, et al. Immunohistochemical assessment of Ki67 with antibodies SP6 and MIB1 in primary breast cancer: A comparison of prognostic value and reproducibility. *Histopathology*. 2014;65(2):252–60.
124. Dowsett M, Nielsen TO, Hern RA, Bartlett J, Coombes RC, Cuzick J, et al. Assessment of Ki67 in Breast Cancer : Recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer Working Group. 2011;103(22).
125. To L, Editor THE. Assessment of Biomarker Expression in Predicting Pathologic Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Locally Advanced Breast Cancer. 2003;27:1–2.
126. Hendzel MJ, Wei Y, Mancini MA, Hooser A Van, Ranalli T, Brinkley BR, et al. Mitosis-specific phosphorylation of histone H3 initiates primarily within pericentromeric heterochromatin during G2 and spreads in an ordered fashion coincident with mitotic chromosome condensation. 1997;348–60.
127. Juan G, Traganos F, James WM, Ray JM, Roberge M, Sauve DM, et al. Histone H3 Phosphorylation and Expression of Cyclins A and B1 Measured in Individual Cells During Their Progression Through G 2 and Mitosis. 1998;77:71–7.
128. Winther TL, Arnli MB, Salvesen Ø, Torp SH. Phosphohistone-H3 Proliferation Index Is Superior to Mitotic Index and MIB-1 Expression as a Predictor of Recurrence in Human Meningiomas. 2016;510–20.
129. Woo JS, Moatamed NA, Sullivan PS, Lu DY, Callahan R, Apple S. *Journal Of Brain and Spinal Cancer* ISSN NO: 0000-0000 Comparison of Phosphohistone H3 Immunohistochemical Staining, Ki-67, and H&E Mitotic Count in Invasive Breast Carcinoma Keywords: phosphohistone-H3 (PHH3), mitotic count, Ki-67, [Internet]. 2015. Available from: www.openaccesspub.org
130. Gerring Z, Pearson JF, Morrin HR, Robinson BA, Harris GC, Walker LC. Phosphohistone

H3 outperforms Ki67 as a marker of outcome for breast cancer patients. 2015;538–47.

131. Hamanishi J, Mandai M, Iwasaki M, Okazaki T, Tanaka Y, Yamaguchi K, et al. Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8⁺ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(9):3360–5.
132. Inman BA, Sebo TJ, Frigola X, Dong H, Bergstralh EJ, Frank I, et al. PD-L1 (B7-H1) expression by urothelial carcinoma of the bladder and BCG-induced granulomata: Associations with localized stage progression. *Cancer*. 2007;109(8):1499–505.
133. Hou Y, Nitta H, Wei L, Banks PM, Lustberg M, Wesolowski R, et al. PD-L1 expression and CD8-positive T cells are associated with favorable survival in HER2-positive invasive breast cancer. *Breast J*. 2018;24(6):911–9.
134. Mori H, Kubo M, Yamaguchi R, Nishimura R, Osako T, Arima N, et al. The combination of PD-L1 expression and decreased tumor-infiltrating lymphocytes is associated with a poor prognosis in triple-negative breast cancer [Internet]. Available from: www.impactjournals.com/oncotarget
135. Scognamiglio G, De Chiara A, Di Bonito M, Tatangelo F, Losito NS, Anniciello A, et al. Variability in immunohistochemical detection of programmed death ligand 1 (PD-1) in cancer tissue types. *Int J Mol Sci*. 2016;17(5):1–11.
136. Cimino-Mathews A, Thompson E, Taube JM, Ye X, Lu Y, Meeker A, et al. PD-L1 (B7-H1) expression and the immune tumor microenvironment in primary and metastatic breast carcinomas. *Hum Pathol*. 2016 Jan 1;47(1):52–63.
137. Botti G, Collina F, Scognamiglio G, Rao F, Peluso V, De Cecio R, et al. Programmed death ligand 1 (PD-L1) tumor expression is associated with a better prognosis and diabetic disease in triple negative breast cancer patients. *Int J Mol Sci*. 2017 Feb 21;18(2).
138. Dill, Erik A. 1 ; Gru, Alejandro A. 1 ; Atkins, Kristen A. 1 ; Friedman, Lisa A. 2 ; Moore, Margaret E. 2 ; Bullock, Timothy N. 1 ; Cross, Janet V. 1 ; Dillon, Patrick M. 3 ; Mills AM 1. PD-L1 Expression and Intratumoral Heterogeneity Across Breast Cancer Subtypes and Stage.
139. Cyprian FS, Akhtar S, Gatalica Z, Vranic S. Targeted immunotherapy with a checkpoint inhibitor in combination with chemotherapy: A new clinical paradigm in the treatment of triple-negative breast cancer. *Bosn J Basic Med Sci*. 2019;19(3):227–33.
140. Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, Adelaide J, Chaffanet M, Ali HR, et al. Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget*. 2015;6(7):5449–64.
141. Wang ZQ, Milne K, Derocher H, Webb JR, Nelson BH, Watson PH. PD-L1 and intratumoral immune response in breast cancer. *Oncotarget*. 2017;8(31):51641–51.
142. Li X, Wetherilt CS, Krishnamurti U, Yang J, Ma Y, Styblo TM, et al. Stromal PD-L1 expression is associated with better disease-free survival in triple-negative breast cancer. *Am J Clin Pathol*. 2016 Oct 1;146(4):496–502.
143. Guo L, Li W, Zhu X, Ling Y, Qiu T, Dong L, et al. PD-L1 expression and CD274 gene alteration in triple-negative breast cancer: implication for prognostic biomarker. *Springerplus*. 2016 Dec 1;5(1).
144. Baptista MZ, Sarian LO, Derchain SFM, Pinto GA, Vassallo J. Prognostic significance of PD-L1 and PD-L2 in breast cancer. *Hum Pathol*. 2016 Jan 1;47(1):78–84.
145. Castaneda CA, Mittendorf E, Casavilca S, Wu Y, Castillo M, Arboleda P, et al. Tumor infiltrating lymphocytes in triple negative breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy. *World J Clin Oncol*. 2016;7(5):387–94.

146. Ghosh AK, Grigorieva I, Steele R, Hoover RG, Ray RB. PTEN transcriptionally modulates c-myc gene expression in human breast carcinoma cells and is involved in cell growth regulation. *Gene*. 1999;235(1–2):85–91.
147. Pérez-Tenorio G, Alkhori L, Olsson B, Waltersson MA, Nordenskjöld B, Rutqvist LE, et al. PIK3CA mutations and PTEN loss correlate with similar prognostic factors and are not mutually exclusive in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2007 Jun 15;13(12):3577–84.
148. Beg S, Siraj AK, Prabhakaran S, Jehan Z, Ajarim D, Al-Dayel F, et al. Loss of PTEN expression is associated with aggressive behavior and poor prognosis in Middle Eastern triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2015 Jun 4;151(3):541–53.
149. Heikkinen T, Greco D, Peltari LM, Tommiska J, Vahteristo P, Heikkilä P, et al. Variants on the promoter region of PTEN affect breast cancer progression and patient survival. *Breast Cancer Res*. 2011;13(6).
150. Jiang BH, Zheng JZ, Aoki M, Vogt PK. Phosphatidylinositol 3-kinase signaling mediates angiogenesis and expression of vascular endothelial growth factor in endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(4):1749–53.
151. Tsutsui S, Inoue H, Yasuda K, Suzuki K, Higashi H, Era S, et al. Reduced Expression of PTEN Protein and Its Prognostic Implications in Invasive Ductal Carcinoma of the Breast. 2005;0011:398–404.
152. Zhu P, Zhang CB, Yang P, Chen J, Liu YQ, Hu HM, et al. Phosphohistone H3 (pHH3) is a prognostic and epithelial to mesenchymal transition marker in diffuse gliomas. *Oncotarget*. 2016;7(29):45005–14.
153. Alkhasawneh A, Reith JD, Toro TZ, Ayed AO, Lu X, George TJ, et al. Interobserver variability of mitotic index and utility of PHH3 for risk stratification in gastrointestinal stromal tumors. *Am J Clin Pathol*. 2015;143(3):385–92.
154. Chow KL, Tse KY, Cheung CL, Wong KW, Cheung ANY, Wong RWC, et al. The mitosis-specific marker phosphohistone-H3 (PHH3) is an independent prognosticator in uterine smooth muscle tumours: an outcome-based study. *Histopathology*. 2017 Apr 1;70(5):746–55.
155. Baak JPA, Gudlaugsson E, Skaland I, Guo LHR, Klos J, Lende TH, et al. Proliferation is the strongest prognosticator in node-negative breast cancer: Significance, error sources, alternatives and comparison with molecular prognostic markers. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;115(2):241–54.
156. Kim J-Y. The value of Phosphohistone H3 as a proliferation marker for evaluating invasive breast cancers (With an emphasis on comparisons to Ki-67).
157. C Bossard¹, A Jarry¹, C Colombeix², K Bach-Ngohou^{1, 3}, A Moreau⁴, D Loussouarn⁴, J-F Mosnier¹ CLL. Phosphohistone H3 labelling for histoprognostic grading of breast adenocarcinomas and computer-assisted determination of mitotic index.
158. Klintman M, Strand C, Ahlin C, Beglerbegovic S, Fjällskog ML, Grabau D, et al. The prognostic value of mitotic activity index (MAI), phosphohistone H3 (PPH3), cyclin B1, cyclin A, and Ki67, alone and in combinations, in node-negative premenopausal breast cancer. *PLoS One*. 2013;8(12).
159. Skaland I, Janssen EAM, Gudlaugsson E, Klos J, Kjellekvold KH, Söiland H, et al. Validating the prognostic value of proliferation measured by Phosphohistone H3 (PPH3) in invasive lymph node-negative breast cancer patients less than 71 years of age. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;114(1):39–45.
160. Tőkés T, Tőkés AM, Szentmártoni G, Kiszner G, Mühl D, Molnár BÁ, et al. Prognostic and Clinicopathological Correlations of Cell Cycle Marker Expressions before and after the Primary Systemic Therapy of Breast Cancer. *Pathol Oncol Res*. 2019;

161. Wiesner FG, Magener A, Fasching PA, Wesse J, Bani MR, Rauh C, et al. Ki-67 as a prognostic molecular marker in routine clinical use in breast cancer patients. *Breast* [Internet]. 2009;18(2):135–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.breast.2009.02.009>
162. Silvio M. Veronese, Ph.D., Marcello Gambacorta MD. Detection of Ki-67 Proliferation Rate in Breast Cancer: Correlation with Clinical and Pathologic Features. *Am J Clin Pathol*. 95(1):Pages 30–34.
163. Molino A, Micciolo R, Turazza M, Bonetti F, Piubello Q, Bonetti A, et al. Ki-67 immunostaining in 322 primary breast cancers: Associations with clinical and pathological variables and prognosis. *Int J Cancer*. 1997;74(4):433–7.
164. Bosch DE, Kilgore MR, Schmidt RA, Swanson PE, Rendi MH, Chang OH. Comparison of Proliferation Markers Ki67 and Phosphohistone-H3 (pHH3) in Breast Ductal Carcinoma In Situ [Internet]. 2017. Available from: <https://journals.lww.com/appliedimmunohist>
165. Gudlaugsson E, Skaland I, Janssen EAM, Smaaland R, Shao Z, Malpica A, et al. Comparison of the effect of different techniques for measurement of Ki67 proliferation on reproducibility and prognosis prediction accuracy in breast cancer. *Histopathology*. 2012;61(6):1134–44.

