

**T.C.**  
**MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**



**UZMANLIK TEZİ**

**NEOADJUVAN KEMOTERAPİ ALAN MEME KANSERİ**  
**HASTALARINDA TEDAVİ YANITI İLE FLOW SİTOMETRİ**  
**BULGULARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. Gizem KÖSEM**

**Danışman**

**Doç. Dr. Atike Pınar ERDOĞAN**

**MANİSA, 2025**

## TEŐEKKÖR

Bu tez çalıőmasının yűrűtűlmesi ve tamamlanması sűrecinde akademik bilgi, deneyim ve rehberlięiyle bana yol gűsteren, çalıőmama bűyűk katkı saęlayan deęerli hocam Doç. Dr. Atike Pınar ERDOęAN'a teőekkűrű bir borç bilirim.

Ayrıca araőtırma sűresindeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Yeőim GűVEN DEMİRAğCI'ya, çalıőmamız sırasında űrnekleri toplamamda yardımcı olan onkoloji hemőirelerimize, akım sitometri laboratuvar ekibine, hastaların toplanması aőamasında yardımcı olan tűm onkoloji yandal asistanlarına, birlikte çalıőmaktan keyif aldığım asistan arkadaşlarıma en içten teőekkűrlerimi sunarım.

Hayatım boyunca sevgi ve desteęini esirgemeyen, her koőulda bana destek olan annem Afife KűSEM'e, hekimlik mesleęine duyduęu űzveri ile bana ilham kaynaęı olan, her yűnden űrnek aldıęım babam Dr. Ertan KűSEM'e, desteęini her zaman hissettięim kardeőim Dr. Bikem KűSEM'e, tez çalıőmam sűresince sabrı, anlayıőı ve desteęiyle her zaman yanımda olan, sabrı ve motivasyonuyla bana gű veren deęerli niőanlım Erdem AYDIN'a sonsuz teőekkűr ederim.

**Dr. Gizem KűSEM**

## İÇİNDEKİLER

|                                                      |      |
|------------------------------------------------------|------|
| KISALTMALAR DİZİNİ .....                             | IV   |
| TABLO LİSTESİ .....                                  | VII  |
| GRAFİK LİSTESİ .....                                 | VIII |
| ŞEKİL LİSTESİ .....                                  | X    |
| I. GİRİŞ VE AMAÇ .....                               | 1    |
| II. GENEL BİLGİLER.....                              | 3    |
| 2.1. MEME KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ VE İNSİDANS: ..... | 3    |
| 2.2. MEME KANSERİ RİSK FAKTÖRLERİ: .....             | 3    |
| 2.2.1. Cinsiyet: .....                               | 3    |
| 2.2.2. Yaş: .....                                    | 3    |
| 2.2.3. Sosyoekonomik düzey: .....                    | 3    |
| 2.2.4. Hormonal Düzey: .....                         | 4    |
| 2.2.5. Reprodüktif Faktörler: .....                  | 4    |
| 2.2.6. Genetik Faktörler: .....                      | 5    |
| 2.2.7. Meme ile ilgili Faktörler: .....              | 5    |
| 2.2.8. Yaşam tarzı .....                             | 6    |
| 2.2.9. Diğer: .....                                  | 6    |
| 2.3. MEME KANSERİ SINIFLAMASI:.....                  | 7    |
| 2.3.1. Histopatolojik alt tipleri .....              | 7    |
| 2.3.2. Moleküler alt tipler: .....                   | 8    |
| 2.6. MEME KANSERİNDE EVRELEME: .....                 | 9    |
| 2.6.1. Patolojik ve Klinik Evreleme (T): .....       | 9    |
| 2.6.2. Klinik Lenf Nodu (cN) Sınıflaması .....       | 10   |

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 2.6.3. Uzak Metastaz (M):.....                                   | 12 |
| 2.6.4. Anatomik Evreleme: .....                                  | 13 |
| 2.7. MEME KANSERİNDE PROGNOSTİK VE PREDİKTİF FAKTÖRLER:<br>..... | 14 |
| 2.7.1. Tümör Boyutu: .....                                       | 14 |
| 2.7.2. Histolojik sınıflama: .....                               | 14 |
| 2.7.3. Hormon reseptör durumu: .....                             | 15 |
| 2.7.4. HER-2 ekspresyonu:.....                                   | 15 |
| 2.7.5. Ki-67 proliferasyon indeksi:.....                         | 15 |
| 2.7.6. Moleküler Sınıflandırma: .....                            | 15 |
| 2.7.7. Lenfovasküler invazyon (LVI):.....                        | 15 |
| 2.7.8. Aksiller Lenf Nodu Metastazı: .....                       | 16 |
| 2.7.9. Yaş:.....                                                 | 16 |
| 2.7.10. Histolojik Derece: .....                                 | 16 |
| 2.7.11. Gen ekspresyon profilleri .....                          | 16 |
| 2.7.13. Yeni Biyobelirteçler:.....                               | 16 |
| 2.7.15. İMMUNOLOJİK BİYOBELİRTEÇLER: .....                       | 18 |
| 2.8. MEME KANSERİNDE TEDAVİ:.....                                | 21 |
| 2.8.1 Lokal Tedaviler .....                                      | 21 |
| 2.8.2. Radyoterapi (RT) .....                                    | 22 |
| 2.8.3. SİSTEMİK TEDAVİLER:.....                                  | 22 |
| 2.9. HÜCRELERİN İZOLASYONU .....                                 | 23 |
| 2.9.1. Akım Sitometrisi .....                                    | 23 |
| 2.9.2. Akım Sitometrisi Çalışma Prensibi .....                   | 24 |
| 2.9.3. Akım Sitometri ile İmmun Fenotipleme:.....                | 25 |
| III. GEREÇ VE YÖNTEM .....                                       | 27 |
| 3.2. ÖRNEKLERİN ÇALIŞILMASI .....                                | 28 |

|                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.3. ETİK KURUL ONAYI:.....                                                                             | 28 |
| 3.4. İSTATİSTİK ANALİZ: .....                                                                           | 28 |
| IV. BULGULAR .....                                                                                      | 29 |
| 4.1 Demografik ve klinik bulgular.....                                                                  | 29 |
| 4.2 Hücrelerin zaman içindeki değişimleri: .....                                                        | 31 |
| 4.3 NK hücre alt gruplarının tedavi kollarına göre dağılımı.....                                        | 38 |
| 4.4 Neoadjuvan kemoterapi tedavi sonrası tam yanıt ile ilişkili faktörler ...                           | 39 |
| 4.5 Neoadjuvan kemoterapiden 6 ay sonra tam yanıt ile ilişkili faktörlerin tek değişkenli analizi ..... | 42 |
| 4.5.1 T hücre alt grupları: .....                                                                       | 44 |
| 4.5.2 NK hücre alt grupları:.....                                                                       | 44 |
| 4.6 Klinik ve demografik değişkenler: .....                                                             | 44 |
| V. TARTIŞMA.....                                                                                        | 46 |
| VI. SONUÇ.....                                                                                          | 55 |
| ÖZET .....                                                                                              | 56 |
| ABSTRACT.....                                                                                           | 57 |
| KAYNAKÇA.....                                                                                           | 59 |

## KISALTMALAR DİZİNİ

**ADCC** : Antikora bağımlı hücre aracılı sitotoksiste

**AJCC** : Amerikan Kanser Ortak Komitesi

**ALND** : Aksiller lenf nodu diseksiyonu

**AR** : Androjen reseptörü

**ASCO** : Amerikan Klinik Onkoloji Derneği

**BCI** : Meme Kanseri İndeksi

**CI**: Confidence interval, güven aralığı

**CK** : Sitokeratin

**CSC** : Kanser kök hücreleri

**ctDNA** : Dolaşımdaki tümör DNA'sı

**CTC** : Dolaşımdaki tümör hücreleri

**DC** : Dendritik hücreler

**EGFR** : Epidermal büyüme faktörü reseptörü

**EPIC** : Avrupa Prospektif Kanser ve Beslenme Araştırması

**ER** : Östrojen reseptörü

**FSC** : İleri Saçılma

**HER2** : İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2

**HR**: Hormon reseptörü

**HRT** : Hormon replasman tedavisi

**IDC** : İnvaziv duktal karsinom

**IHC** : İmmün histokimyasal

**IL** : İnterlökin

**ILC** : İnvaziv lobüler karsinom

**iTreg** : İndüklenmiş T-düzenleyici hücreler

**LVI**: Lenfovasküler İnvazyon

**MHC** : Majör Histouyumluluk Kompleksi

**MKC** : Meme koruyucu cerrahi

**NAKT** : Neoadjuvan kemoterapi

**NK** : Doğal öldürücü hücre

**OK** : Oral kontraseptif

**OR**:Odss ratio, olasılık oranı

**PBMC** : Periferik kan mononükleer hücreleri

**pCR**: Patolojik tam yanıt

**PFS**: Hastalıksız sağkalım

**PR** : Progesteron reseptörü

**RT** : Radyasyon tedavisi

**SLN** : Sentinel lenf nodları

**SLND** : Sentinel lenf nodu diseksiyonu

**SSC** : Yan Saçılma

**TC** : Sitotoksik T hücreleri

**TH** : T hücreleri

**TME** : Tümör mikroçevresi

**TNBC** : Üçlü negatif meme kanseri

**Tfh** : Foliküler yardımcı T hücresi

**Th1** : T-helper 1

**Th17** : T-helper 17

**Th2** : T-helper 2

**Th9** : T-helper 9

**Tr1** : Düzenleyici tip 1 hücreleri

**VKi** : Vücut kitle indeksi





## TABLO LİSTESİ

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1: Moleküler Sınıfların İmmünohistokimyasal Belirteçler .....                                                                          | 8  |
| Tablo 2: TNM AJCC 8.Baskı Patolojik ve Klinik Evreleme.....                                                                                  | 9  |
| Tablo 3: TNM AJCC 8.Baskı Klinik Lenf Nodu (cN) Sınıflaması .....                                                                            | 10 |
| Tablo 4: TNM AJCC 8.Baskı Uzak Metastaz (M):.....                                                                                            | 12 |
| Tablo 5: TNM AJCC 8.baskı Anatomik Evreleme .....                                                                                            | 13 |
| Tablo 6: NK Alt Tipleri.....                                                                                                                 | 19 |
| Tablo 7: Hastaların demografik ve klinik özellikleri .....                                                                                   | 29 |
| Tablo 8: Hastaların Laboratuvar sonuçları .....                                                                                              | 30 |
| Tablo 9: İmmünofenotipik ve klinik parametrelerin tek değişkenli ikili lojistik regresyon analizi sonuçları .....                            | 39 |
| Tablo 10: Neoadjuvan kemoterapiden 6 ay sonra immünofenotipik ve klinik parametrelerin tek değişkenli ikili lojistik regresyon analizi ..... | 42 |

## GRAFİK LİSTESİ

|                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Grafik 1: Neoadjuvan kemoterapi süresince lenfosit toplam oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).....                                                                           | 31 |
| Grafik 2: Neoadjuvan kemoterapi süresince CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (yardımcı T lenfosit) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği). ....                            | 31 |
| Grafik 3: Neoadjuvan kemoterapi süresince CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (sitotoksik T lenfosit) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği). ....                          | 32 |
| Grafik 4: Neoadjuvan kemoterapi süresince CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> (aktive sitotoksik T lenfosit) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği). .... | 33 |
| Grafik 5: Neoadjuvan kemoterapi süresince CD4 <sup>+</sup> (yardımcı T lenfosit) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği). ....                                             | 33 |
| Grafik 6: Neoadjuvan kemoterapi süresince CD8 <sup>+</sup> (sitotoksik T lenfosit) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği). ....                                           | 34 |
| Grafik 7: Neoadjuvan kemoterapi süresince CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> (NKT benzeri hücreler) oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği). ....                                | 34 |
| Grafik 8: Neoadjuvan kemoterapi süresince CD56dim CD16bright (total) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği). ....                                                         | 35 |
| Grafik 9: Neoadjuvan kemoterapi süresince CD56dim CD16bright CD28 <sup>+</sup> CD133 <sup>+</sup> (gated) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği). ....                    | 35 |

|                                                                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Grafik 10: Neoadjuvan kemoterapi süresince CD56dim CD16bright CD133 <sup>+</sup> (gated) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği). .....     | 35 |
| Grafik 11: Neoadjuvan kemoterapi süresince CD56dim CD16dim (gated) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği). .....                           | 36 |
| Grafik 12: Neoadjuvan kemoterapi süresince Lenfosit CD133 <sup>+</sup> (gated) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği). .....               | 37 |
| Grafik 13: Neoadjuvan kemoterapi süresince Lenfosit CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup> (gated) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği)..... | 37 |
| Grafik 14: Neoadjuvan kemoterapi süresince Lenfosit CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> (total) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği)..... | 38 |

## ŞEKİL LİSTESİ

|                                                                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1: Örnek bir hastanın periferik kanında CD45 ve yan saçılım (side scatter, SS) parametrelerine göre yapılan flow sitometri analizinde lökosit alt gruplarının dağılımı ..... | 25 |
| Şekil 2: Örnek bir hastanın periferik kanında CD16 ve CD56 belirteçlerine göre yapılan flow sitometri analizinde doğal öldürücü (NK) hücre alt popülasyonlarının dağılımı .....    | 26 |
| Şekil 3: CD3 <sup>-</sup> CD56 <sup>+</sup> NK hücrelerinin tedavi kollarına ve zaman noktalarına göre dağılımı .....                                                              | 38 |
| Şekil 4: CD56 <sup>bright</sup> CD16 <sup>-</sup> total NK hücrelerinin tedavi kollarına ve zaman noktalarına göre dağılımı .....                                                  | 39 |

## I. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri, dünya genelinde kadınlar arasında en sık teşhis edilen malignitelerden biri olup, önemli bir halk sağlığı sorunudur. Küresel çapta her yıl yaklaşık 2,25 milyon yeni vaka teşhis edilmektedir (1).

Kansere bağlı ölümlerin ana nedeni metastazdır. Metastatik yayılımın başlangıç adımı, kanser hücrelerinin kan dolaşımı yoluyla vücudun uzak bölgelerine yayılmasıdır (2). Bu nedenle, kanser taraması ve prognozu için güvenilir biyobelirteçlerin erken tespiti, tedavinin zamanında başlatılması ve daha olumlu klinik sonuçlar elde edilmesi açısından hayati önem taşımaktadır (3).

Biyobelirteçler genellikle tümör dokularından biyopsiler ile incelenmektedir. Doku biyopsileri belirli biyobelirteçleri belirlemek için faydalı olsa da istenmeyen olaylar riski taşıyan invaziv prosedürlerdir ve her zaman örneklemeye uygun değildir. Erken ve metastatik bölgelerden seri tümör biyopsileri almak ve tekrarlamak hasta bakımında zorlu bir süreçtir. Dahası, tek bir tümör biyopsisi, özellikle metastaz durumunda, tümör heterojenliğini tam olarak yakalayamaz. Metastatik tümörlerdeki genetik mutasyonlar ve değişiklikler, özellikle meme kanserinde, primer tümörlerdekilere göre önemli ölçüde farklı olabilir. Bu zorluklara yanıt olarak, hastanın tedaviye yanıtını tahmin edebilen ve tedavi sonrası moleküler değişiklikleri anlamlandırmaya yarayan, tümör ilerlemesi ve nüksünü izleyebilen periferik kan biyobelirteçlerinin minimal invaziv olarak tanımlanmasına olanak tanıdıkları için umut verici bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır (4).

Neoadjuvan kemoterapi (NAKT), meme kanserinin tedavisinde giderek daha önemli bir yaklaşım haline gelmiştir. NAKT etkinliğinin değerlendirilmesi esas olarak tedavi sonrası görüntülemeye veya patolojik değerlendirmelere dayandığından, dirençli hastaların tanımlanmasını geciktirebilir ve sonuçları kötüleştirebilir, bu durum kemoterapi etkinliğini hızla tahmin edebilen, tedavi

kararlarını yönlendirebilen ve genel sağkalımı uzatmaya yardımcı olabilecek basit ve hızlı biyobelirteçlere olan ihtiyacı pekiştirmektedir.

Çalışmalar, NAKT'nin kanser hastalarında periferik kan lenfosit alt kümelerinin yüzdelerini ve mutlak sayımlarını etkilediğini göstermiştir. Neoadjuvan kemoterapi sonrası meme kanserli hastalarda CD3<sup>+</sup> T hücre yüzdesinde, CD4<sup>+</sup> T hücreleri, CD8<sup>+</sup> T hücreleri ve doğal öldürücü hücreler (NK) anlamlı artış göstermiştir. Ek olarak, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> oranı yükselirken, B hücrelerinin yüzdesi düşmüştür (5).

Kanser kök hücrelerinin (CSC'ler) izolasyonu için yaygın olarak kullanılan iyi karakterize edilmiş biyobelirteçlerden biri de bir pentaspan membran glikoproteini olan CD133 (Prominin-1)'tür. CSC'lerin varlığı, tümör nüksü ve kemorezistansın temel nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Biriken kanıtlar, CD133 ekspresyonunun CSC'lerin tümöröenez, metastaz ve kemorezistanstan sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, CD133 ve diğer immün belirteçlerin takibi, tedavi yanıtını öngörmede kritik öneme sahip olabilir (6).

Bu tez çalışmasının amacı, NAKT alan meme kanseri hastalarında tedavinin periferik kan lenfosit alt grupları üzerindeki dinamik etkilerini incelemek ve akış sitometrisi ile belirlenen bu immün belirteçlerin, patolojik tam yanıt (pCR) ile olan olası korelasyonlarını değerlendirmektir. Çalışmamızda hastaların klinikopatolojik profili, uygulanan tedavi protokolleri ve elde edilen pCR oranı, hem immünolojik hem de onkolojik açıdan ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu karşılaştırma, NAKT yanıtını erken tahmin etmede kullanılabilecek, minimal invaziv ve öngörücü bir biyobelirteç paneli oluşturulmasına katkı sağlamayı hedeflemektedir.

## II. GENEL BİLGİLER

### 2.1. MEME KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ VE İNSİDANS:

Kadınlarda en sık görülen kanser ve kansere bağlı ölümlerin başlıca nedeni meme kanseridir. 2022'de dünya genelinde 2,3 milyon yeni meme kanseri vakası görülmüş olup, tüm kanser vakalarının %11,6'sını meme kanseri oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalara göre yapılan tahminler 2050 yılına kadar yeni kanser vakalarının yılda %77 artarak 35 milyona ulaşabileceğini öngörmektedir (7).

Türkiye'de bildirilen meme kanseri insidansı 1993'te 24/100.000'den 2017'de 50/100.000'e 2 kattan fazla artmıştır (8).

### 2.2. MEME KANSERİ RİSK FAKTÖRLERİ:

Meme kanserinin kesin nedeni henüz belirlenememiş olsa da gelişimi için birçok risk faktörü tanımlanmıştır.

**2.2.1. Cinsiyet:** Meme kanseri kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülür. Erkeklerde tüm kanserlerin %1'inden daha azını oluşturur. Erkeklerde en yaygın risk faktörü BRCA2 gen mutasyonudur (9).

**2.2.2. Yaş:** Yaş, meme kanseri risk faktörleri arasında en önemli etkenlerden biridir. Yaş arttıkça meme kanseri insidansının arttığı izlenmiştir (10).

### 2.2.3. Sosyoekonomik düzey:

Meme kanseri görülme sıklığı ve ölüm oranları, bir ülkenin ekonomik gelişmişliğiyle doğrudan ilişkilidir.

Gelişmiş ülkelerde meme kanseri insidansının yüksek olması batılı yaşam tarzı, erken teşhis ve tarama programlarının yaygınlaşması, nüfusun artışı ve yaşlanması ile ilişkili olabilir. Düşük ve orta gelirli ülkelerde meme kanseri daha az görülmesine rağmen ölüm oranları daha yüksektir (11)- Mortalitenin bölgesel farklılık göstermesi gelişmiş ülkelerdeki tedavi olanaklarının ve sağlık hizmetinin daha etkili olduğunu göstermektedir (12).

Meme kanseri insidansı yüksek gelirli ülkelerde daha fazla olsa da düşük gelirli ülkelerde ölüm oranları belirgin şekilde daha yüksektir. Bu durum, sağlık sistemlerindeki eşitsizliklerin ve erken teşhis olanaklarının önemini vurgulamaktadır (7).

#### **2.2.4. Hormonal Düzey:**

Oral kontraseptif (OK) kullanımı ve hormon replasman tedavisinin östrojen düzeylerini arttırması nedeniyle meme kanseri riskini arttırdığı görülmüştür.

##### **2.2.4.1. Kontraseptif yöntemler:**

Yapılan bir çalışma, OK kullanımının 20-49 yaş arası kadınlar arasında meme kanseri riskinin artmasıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Östrojen reseptörü (ER) + meme kanseri riskini ise ER- meme kanserine göre daha fazla arttırdığı görülmüştür. Oral kontraseptiflerdeki hormon formüllerine göre riskin değişebileceği söylenebilir. Yüksek doz östrojen, etinodiol diasetat, daha yüksek doz noretindron ve spesifik trifazik OK'ler muhtemelen artmış meme kanseri riskleri ile ilişkili olabilirken, düşük doz östrojen içeren preparatlar yüksek riskle ilişkili olmayabilir (13).

##### **2.2.4.2. Hormon replasman tedavisi**

51 epidemiyolojik çalışmanın yeniden analizi ile yayınlanan bir çalışmada, hormon replasman tedavisi (HRT) kullanımı ile meme kanseri gelişme riskinin arttığı ve bu riskin HRT kullanımının kesilmesini takiben azaldığı görülmüştür (13).

#### **2.2.5. Reprodüktif Faktörler:**

Yapılan birçok çalışmada meme kanseri gelişme riskinin östrojene maruziyet süresi ile ilgili olduğu izlenmiştir. Östrojen maruziyet süresi erken menarş, geç menopoz, ilk doğum yaşı ve doğum sayısı ile ilişkilidir (11).

##### **2.2.5.1. Menarş başlangıcı:**

Erken yaşta menarşın meme kanseri riskini arttırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir.

Meme kanseri olan 118.964 kadın (vaka) ve hastalığı olmayan 306.091 kadın (kontrol) ile yapılan bir çalışmada erken menarş başlangıcının her yılı için meme kanseri göreceli riskinin %5 arttığı belirlenmiştir (14).



### **2.2.5.2. Menopoz yaşı:**

Geniş çaplı vaka kontrol çalışmaları ve meta analizler, daha genç yaşta menopoza girmenin ER+ meme kanseri riskini azalttığını (15), menopoz yaşındaki her bir yıllık artışın, meme kanseri riskini %2,9 ile %4 oranında artırdığı belirlenmiştir (15),(16).

### **2.2.5.3. Gebelik:**

Meme hücrelerinin dolaşımdaki östrojene maruziyeti gebelik sırasında durur. 30 yaşından önce en az bir tam süreli gebelik geçirmiş bir kadına kıyasla, hiç doğum yapmamış bir kadının meme kanseri riski daha yüksektir. Erken yaşta gebelik geçirilmesi, meme kanseri riskinde azalma ile ilişkilidir. Kadının sahip olduğu çocuk sayısı arttıkça, meme kanserine karşı koruma da artar. Hiç gebe kalmamış kadınlarda ise meme kanseri riski artmaktadır (17).

### **2.2.6. Genetik Faktörler:**

Meme kanserlerinin yaklaşık %20'si ailesinde meme kanseri öyküsü olan kadınlarda görülür ve özellikle 50 yaşından önce birinci derece akrabalarda meme kanseri tanısının olması riski artırır. Meme kanseri etiyolojisinde çeşitli genetik faktörler olmasına rağmen, BRAC1 VE BRCA2 genlerinden herhangi birindeki germ hattı mutasyonu, meme kanseri geliştirme açısından yaşam boyu %50 ile %85 oranında bir risk ile ilişkilidir (1).

BRCA1 mutasyonuna sahip kadınların %55-65'inde 70 yaşına gelmeden meme kanseri görülür. BRCA2 mutasyonuna sahip kadınların ise %45'inde 70 yaşına kadar meme kanseri görüldüğü saptanmıştır. BRCA1 mutasyonlarıyla ilişkili kanserlerin triple-negatif meme kanseri olma olasılığı daha yüksektir (18).

BRCA1 veya BRCA2 genlerindeki kalıtsal mutasyonlarla birlikte; ATM, CDH1, CHEK2, PALB2, PTEN, STK11 ve TP53'teki mutasyonlar da meme kanserine neden olabilir (19).

### **2.2.7. Meme ile ilgili Faktörler:**

Meme dansitesi: Meme dansitesi yüksek memelerde daha fazla süt kanalı, bez ve bağ dokusu bulunur. Meme yoğunluğu genetik bir özelliktir. Çok az veya

hiç yoğun meme dokusu olmayan kadınlara kıyasla yoğun meme dokusu olan kadınlarda meme kanseri geliştirme riski daha yüksektir (17).

Laktasyon: Emzirmenin meme kanseri riskini azalttığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (20).

### **2.2.8. Yaşam tarzı**

#### **2.2.8.1. Obezite:**

Menopozdan sonra, östrojen üretiminin birincil kaynağı yağ dokusudur; bu nedenle, obezite (vücut kitle indeksi (VKİ)  $> 30 \text{ kg/m}^2$ ) meme kanseri için önemli bir risk faktörü oluşturur (21).

Premenopozal, aşırı kilolu veya obez kadınlar (VKİ  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ), zayıf kadınlara göre (VKİ  $< 25 \text{ kg/m}^2$ ) daha düşük meme kanseri riskine sahipken, postmenopozal kadınlarda bunun tersi gözlenmiştir (16).

#### **2.2.8.2. Alkol kullanımı:**

Alkol kullanımının meme kanseri risk faktörlerinden olduğu bilinmektedir. Avrupa Prospektif Kanseri ve Beslenme Araştırması'nın (EPIC) sonuçları, alkol tüketimi ile hormon reseptörü pozitif ve hormon reseptörü negatif meme tümörleri arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları, alkol tüketim süresinin meme kanserine yakalanma riskini etkileyebileceğini ve ilk gebelikten önce alkol tüketenlerde meme kanserine yakalanma riskinin daha yüksek olduğunu göstermiştir (9).

#### **2.2.8.3 Tütün kullanımı:**

Özellikle menopoz sonrası kadınlarda aktif sigara içme ve doğum öncesi sigara içmenin kanser gelişme riskinin artmasıyla ilişkili olduğu belirten çalışmalar bulunmaktadır (9).

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, tütün kullanımının menopoz öncesi kadınlarda meme kanserini teşvik ettiğini, menopoz sonrası kadınlarda ise herhangi bir etkisinin olmadığını göstermektedir (22).

#### **2.2.9. Diğer:**

Gece vardiyası: Son zamanlarda yapılan çalışmalarda iş vardiyaları da meme kanseri riskinde etkili olması nedeniyle önem kazanmıştır. Gece

vardiyaları sirkadiyen ritmi bozar. Bulgular, melatoninin östrojen seviyeleri üzerinde inhibe edici bir etki gösterdiğini göstermektedir; bu nedenle, gece boyunca ışığa maruz kalmak, gece vardiyasında çalışan kadınların, çalışmayan kadınlara göre daha fazla östrojen üretmesine neden olarak meme kanseri riskini artırır (21).

Radyasyon: İyonlaştırıcı radyasyon yerleşik bir meme kanseri risk faktörüdür. Risk dozla doğrusal olarak artar. Maruz kalma yaşı, radyasyonla ilişkili meme kanseri riskinin tutarlı bir göstergesidir. Yirmi yaşından önce maruz kalan kadınlarda en yüksek risk düzeyi saptanırken, menopoz döneminden sonra maruz kalan kadınlarda riskin sıfır ile minimum düzey arasında olduğu tespit edilmiştir (23).

### **2.3. MEME KANSERİ SINIFLAMASI:**

Meme kanseri, çeşitli morfolojik özellikleri, değişken klinik sonuçları ve farklı tedavi seçeneklerine verdiği yanıt nedeniyle oldukça heterojen bir hastalıktır (24).

#### **2.3.1. Histopatolojik alt tipleri**

Tanı anında tümörler, kötü huylu hücrelerin meme lobüllerinden veya kanallarından, stromaya yayılmasına bağlı olarak histolojiye göre in situ karsinom ve invaziv karsinom olarak sınıflandırılır (25).

Meme tümörlerinin invaziv olmayan (in-situ) tipleri, çevredeki meme dokusuna, lobüllere veya kanallara yayılmadan, memenin belirli bir bölgesinde kalır. İn-situ kanserler ikiye ayrılır. %80'ini duktal karsinoma in-situ oluştururken, %20'si lobüler karsinoma in situdur (26).

İnvaziv karsinomlar, hücre morfolojisine göre daha da alt gruplara ayrılan heterojen bir hastalık grubudur. Vakaların %60-75'ini invaziv duktal karsinom; (IDC), %10-15'ini invaziv lobüler karsinom (ILC) oluşturur (25).

İnvaziv meme kanserlerinin küçük bir kısmı (yaklaşık%5) duktal veya lobüler olarak kolayca sınıflandırılmaz (27).

Meme sarkomları nadirdir (primer vakaların %1'inden azı) ve stromal veya bağ dokusundan kaynaklanır (28).

### 2.3.2. Moleküler alt tipler:

Perou ve arkadaşları, 2000 yılında ilk kez “Meme Kanserinin Moleküler Sınıflaması”nı önererek histopatolojik sınıflamalara moleküler bir bakış açısı getirdi (29).

Moleküler tekniklerdeki ilerlemelerle birlikte meme kanseri luminal A, luminal B, İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) pozitif ve üçlü negatif meme kanseri (TNBC) olarak sınıflandırılmıştır (21).

Veriler hormon reseptörü (HR) + tümörlü hastaların en iyi prognoza sahip olduğunu, HR + / HER2- ve HR + / HER2 + için HR / HER2 + 'ya kıyasla benzer 5 yıllık OS ile birlikte not edildiğini ve en kötü sonuca sahip olanın ise HR- / HER2- olduğunu göstermektedir (30).

**Tablo 1:** Moleküler Sınıfların İmmünohistokimyasal Belirteçleri(31)

| Moleküler sınıf        | İmmünohistokimyasal belirteçleri                      |
|------------------------|-------------------------------------------------------|
| Luminal A              | ER+, PR+, HER2–, düşük Ki-67                          |
| Lüminal B              | ER+, PR–veya PR düşük, HER2+ veya HER2–, yüksek Ki-67 |
| HER2 zenginleştirilmiş | ER–, PR–, HER2+                                       |
| Bazal benzeri          | ER–, PR–, HER2–, bazal belirteç (CK5, CK5/6, EGFR)+   |
| Claudin-low            | ER–, PR–, HER2–, E-Kadherin düşük (ama lobüler değil) |
| Moleküler apokrin      | ER–, PR–, HER2– veya HER2+, AR+                       |

(AR, Androjen reseptörü; CK, sitokeratin; EGFR, epidermal büyüme faktörü reseptörü; ER, östrojen reseptörü; HER2, insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2; PR, progesteron reseptörü)

## 2.6. MEME KANSERİNDE EVRELEME:

Kanser için TNM evreleme sistemi, 1940'larda ve 1950'lerde Fransa'da Pierre Denoix tarafından geliştirilmiştir. En son düzenlemelerle Amerikan Kanser Ortak Komitesi (AJCC) Kanser Evreleme El Kitabı'nın en son baskısı olan sekizinci baskı, 1 Ocak 2018'de küresel olarak kabul edildi. Kılavuzun önceki baskıları yalnızca anatomik evreleme yöntemlerine dayanıyordu. 2018 de sekizinci baskıda evrelemeye prognostik faktörler de eklenerek yalnızca hastalığın anatomik boyutuna dayanmadan, klinik sonuçları ve tedavi yanıtını bireysel olarak daha doğru bir şekilde tahmin etmeye yarayacak bir evreleme sistemi düzenlendi (32).

TNM evrelemesi; T tümörün boyutu, N bölgesel lenf nodlarının durumu ve M uzak metastazların olup olmasını temsil eden bir sınıflamadır (33).

### TNM AJCC 8.baskı

#### 2.6.1. Patolojik ve Klinik Evreleme (T):

**Tablo 2:** TNM AJCC 8.Baskı Patolojik ve Klinik Evreleme (T) (34)

| Kategori      | Tanım                                                                        |
|---------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Tx            | Primer tümör değerlendirilememektedir.                                       |
| T0            | Primer tümör kanıtı yok                                                      |
| Tis           | Karsinoma in situ                                                            |
| – Tis (DCIS)  | Duktal karsinoma in situ                                                     |
| – Tis (Paget) | İnvaziv karsinom ve/veya DCIS ile ilişkili olmayan meme başı Paget hastalığı |

|        |                                                                                                                                                                      |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| T1     | En büyük çapı 20 mm veya daha az olan tümör                                                                                                                          |
| – T1mi | En büyük çapı 1 mm veya daha az olan mikroinvazyon                                                                                                                   |
| – T1a  | Tümör < 1 mm                                                                                                                                                         |
| – T1b  | Tümör > 5 mm, ≤ 10 mm                                                                                                                                                |
| – T1c  | Tümör > 10 mm, ≤ 20 mm                                                                                                                                               |
| T2     | Tümör > 20 mm, ≤ 50 mm                                                                                                                                               |
| T3     | Tümör > 50 mm                                                                                                                                                        |
| T4     | Tümörün herhangi bir boyutta göğüs duvarı ve/veya cilde doğrudan invazyonu (ülserasyon/cilt nodülleri)<br>Not: Sadece dermisin invazyonu T4 olarak değerlendirilmez. |
| – T4a  | Pektoral kas tutulumu olmadan göğüs duvarı tutulumu                                                                                                                  |
| – T4b  | Meme cildinde ülserasyon, ipsilateral satellit nodüller ve/veya cilt ödemi (peau d’orange dahil)                                                                     |
| – T4c  | Hem T4a hem de T4b kriterleri birlikte bulunur.                                                                                                                      |
| – T4d  | İnflamatuvar karsinom                                                                                                                                                |

### 2.6.2. Klinik Lenf Nodu (cN) Sınıflaması

**Tablo 3:** TNM AJCC 8.Baskı Klinik Lenf Nodu (cN) Sınıflaması (34)

| Kod  | Tanım                                                                      |
|------|----------------------------------------------------------------------------|
| cNX* | Bölgesel lenf nodları değerlendirilemez (örneğin, daha önce çıkarılmışsa). |

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| cN0   | Görüntüleme veya klinik muayene ile bölgesel lenf nodu metastazı saptanmamıştır.                                                                                                                                                                                 |
| cN1   | Aynı taraftaki (ipsilateral) Seviye I veya II aksiller lenf nodlarında hareketli metastazlar mevcuttur.                                                                                                                                                          |
| cN1mi | Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre, 0.2 mm'den büyük ama hiçbirisi 2 mm'den büyük değil)                                                                                                                                                                       |
| cN2   | Aynı tarafta, Seviye I veya II aksiller lenf nodlarında klinik olarak sabit ya da birbirine yapışık (matted) metastazlar veya aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın, aynı taraftaki internal mammarian lenf nodlarında metastaz mevcuttur.                     |
| cN2a  | Aynı taraftaki Seviye I veya II aksiller lenf nodlarında, birbirine yapışık (matted) ya da çevre dokulara fikse metastazlar                                                                                                                                      |
| cN2b  | Aksiller lenf nodu metastazı olmadan, yalnızca aynı taraftaki internal mammarian lenf nodlarında metastaz                                                                                                                                                        |
| cN3   | Aynı taraftaki infraklavikular (Seviye III aksiller) lenf nodlarında, Seviye I ve II aksiller lenf nodu tutulumu olsa da olmasa da metastaz;<br>veya Seviye I ve II aksiller lenf nodu metastazı ile aynı taraftaki internal mammarian lenf nodlarında metastaz; |

|      |                                                                                                                                          |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      | veya<br>Aynı taraftaki supraklavikular lenf nodlarında, aksiller ya da internal mammarian lenf nodu tutulumu olsa da olmasa da, metastaz |
| cN3a | Aynı taraftaki infraklavikular lenf nodlarında metastaz                                                                                  |
| cN3b | Aynı taraftaki internal mammarian ve aksiller lenf nodlarında birlikte metastaz                                                          |
| cN3c | Aynı taraftaki supraklavikular lenf nodlarında metastaz                                                                                  |

### 2.6.3. Uzak Metastaz (M):

**Tablo 4:** TNM AJCC 8.Baskı Uzak Metastaz (M) (34)

| Kategori | Tanım                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| M0       | Klinik veya radyolojik olarak uzak metastaz kanıtı yoktur.                                                                                                                                                                                                                                                   |
| cM0(i+)  | Klinik veya radyolojik olarak uzak metastaz saptanmamış, ancak 0.2 mm'yi geçmeyen tümör hücreleri veya odakları, mikroskopik ya da moleküler tekniklerle dolaşımdaki kanda, kemik iliğinde veya bölgesel olmayan lenf dokusunda tespit edilmiştir. Hastada metastaza ait belirti veya bulgu bulunmamaktadır. |



|     |                                                                                                                                                       |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| cM1 | Klinik ve radyolojik olarak uzak metastazlar vardır.                                                                                                  |
| pM1 | Uzak organlarda histolojik olarak kanıtlanmış herhangi bir metastaz veya bölgesel olmayan lenf nodlarında 0.2 mm'den büyük metastazlar bulunmaktadır. |

#### 2.6.4. Anatomik Evreleme:

**Tablo 5:** TNM AJCC 8.baskı Anatomik Evreleme (34)

| T   | N    | M  | EVRE |
|-----|------|----|------|
| Tis | N0   | M0 | 0    |
| T1  | N0   | M0 | IA   |
| T0  | N1mi | M0 | IB   |
| T1  | N1mi | M0 | IB   |
| T0  | N1   | M0 | IIA  |
| T1  | N1   | M0 | IIA  |
| T2  | N0   | M0 | IIA  |
| T2  | N1   | M0 | IIB  |
| T3  | N0   | M0 | IIB  |
| T0  | N2   | M0 | IIIA |
| T1  | N2   | M0 | IIIA |
| T2  | N2   | M0 | IIIA |
| T3  | N1   | M0 | IIIA |
| T3  | N2   | M0 | IIIA |
| T4  | N0   | M0 | IIIB |
| T4  | N1   | M0 | IIIB |
| T4  | N2   | M0 | IIIB |

|                   |            |    |      |
|-------------------|------------|----|------|
| <b>Herhangi T</b> | N3         | M0 | IIIC |
| <b>Herhangi T</b> | Herhangi N | M1 | IV   |

## **2.7. MEME KANSERİNDE PROGNOSTİK VE PREDİKTİF FAKTÖRLER:**

Prognoz, herhangi bir tedavi etkisi olmaksızın, tanı sonrası hastalığın tekrarlama riski ve hastalığa bağlı ölüm olasılığını tanımlarken; prediktif değer, belirli bir tedavi yönteminin etkinliği ya da yanıtı dair olasılığı gösterir (35), (36).

Prognostik faktörler, tedaviden bağımsız olarak hastanın klinik sonucunu objektif ve bağımsız olarak tahmin etmeyi amaçlarken, prediktif faktörler, bir hastanın spesifik bir terapötik girişime yanıtını önceden tahmin etmeyi amaçlar ve tümör duyarlılığı veya bu tedaviye direnç ile ilişkilidir (37).

Hastanın yaşı, menopoz durumu, histopatolojik tümör boyutu, lenf nodu durumu, tümör derecesi, immün histokimyasal (IHC), ER, PR, HER2 ve Ki-67 ekspresyon parametreleri tedavi planının yapılması ve prognozun belirlenmesi için gereklidir (36).

### **2.7.1. Tümör Boyutu:**

Tümör boyutu, en erken tanımlanan bağımsız prognostik faktörlerden biridir. T evrelemesinin belirlenmesinde, komşuluğunda in-situ komponent bulunmayan invaziv komponentin en büyük ölçümü esas alınır (38).

### **2.7.2. Histolojik sınıflama:**

İnvaziv duktal karsinomlar ile invaziv lobüler karsinomlar arasında kısa vadeli prognostik farklılıklar konusunda çelişkili raporlar bulunsa da invaziv lobüler karsinomların uzun vadede daha yüksek nüks ve kemik metastazı oranlarına sahip olduğu görülmektedir.

İnvaziv duktal karsinomun farklı alt tipleri de prognostik açıdan önem taşır. Genellikle iyi diferansiye meme kanserleri olan tübüler ve müsinöz karsinomlar daha iyi bir prognoza sahipken; metaplastik ve mikropapiller karsinomlar gibi daha az diferansiye tümörler genellikle daha kötü klinik sonuçlarla ilişkilidir (38).

### **2.7.3. Hormon reseptör durumu:**

Meme tümör dokusundaki ER seviyelerinin ölçümü, prognostik bir indeks olarak ve hormonal dirençli meme kanseri olasılığını karakterize etmede faydalıdır (39).

PR ölçümleri genellikle ER ile aynı anda yapılır. ER'nin yanı sıra PR'nin değerlendirilmesinin temel nedeni, PR'nin östrojen tarafından indüklendiğinin izlenmesine dayanmaktadır (39).

Metastatik meme kanserinde ER ve PR pozitif hastalarda, anti-östrojen tedavisine yanıtın ER pozitif ve PR negatif gruplara kıyasla daha iyi olduğuna dair kanıtlar vardır (37).

### **2.7.4. HER-2 ekspresyonu:**

HER2 aşırı ekspresyonu, erken invaziv meme kanserlerinin yaklaşık %15'inde bulunur. Önemli bir prediktif ve prognostik belirteçtir (39,40). HER2 proteininin, esas olarak HER2 gen amplifikasyonuna bağlı olarak aşırı ekspresyonu, agresif histolojik özellikler ve kötü prognoz ile ilişkilidir (40).

### **2.7.5. Ki-67 proliferasyon indeksi:**

Hücrel proliferasyon, meme kanserinin nüks riskinin ve kemoterapiye yanıtın bir belirleyicisidir. Ki-67 antikoru; 1983 yılında Dr. Johannes Gerdes tarafından tanımlanmıştır (41). Ki-67 immünohistokimyasal ekspresyonunun sadece çoğalan hücrelerde mevcut olduğu görülmüştür. Ki-67 antijeninin, hücrelerin dinlenme durumundan sonra ilk kez hücre döngüsüne girdiği sessizlik (G<sub>0</sub>) ve erken G<sub>1</sub> fazı hariç tüm hücre döngüsü fazlarında eksprese edildiğini bildirmiştir (42).

### **2.7.6. Moleküler Sınıflandırma:**

En iyi prognozlu olan Luminal A; en kötü prognozlu tip ise triple negatiftir (43), (30).

### **2.7.7. Lenfovasküler invazyon (LVI):**

Lenfovasküler boşluklarda tümör embolisi varlığı çok sayıda çalışmada önemli ve bağımsız bir prognostik faktör olarak gösterilmiştir. LVI'nin tanımlanması, T1, nod negatif meme kanserli hastalarda özellikle önemlidir,

Çünkü bu bulgu, aksi takdirde olumlu olan bu grupta aksiller lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz riski yüksek olan bir hasta alt kümesinin tanımlanmasına izin verebilir (27).

#### **2.7.8. Aksiller Lenf Nodu Metastazı:**

Aksiller lenf nodu metastazı meme kanserli hastalarda sağkalım için en önemli prognostik faktörlerden biridir (44).

Pozitif lenf nodlarının sayısı arttıkça hastalıksız ve genel sağkalım azalır. Aksiller lenf nodu metastazları makrometastazlar (>2 mm), mikrometastazlar ( $\leq 2$  mm ancak >0.2 mm) ve izole tümör hücreleri (tek hücreler veya >0.2 mm boyutunda olmayan küçük hücre kümeleri) olarak sınıflandırılır (27).

#### **2.7.9. Yaş:**

35 yaşı altı ve 65 yaşı üstü hastalarda prognoz daha kötü iken, 45-47 yaşı arası en iyi prognozlu yaşı aralığıdır (38).

#### **2.7.10. Histolojik Derece:**

Histolojik derece, tümör boyutu ve lenf nodu evresi; multifaktöriyel Nottingham prognostik indeksinin bileşenlerini oluşturur ve bireysel hastaların uygun tedavi seçeneklerine göre sınıflandırılmasında kullanılmaktadır (45).

#### **2.7.11. Gen ekspresyon profilleri**

Son yıllarda, meme kanserli hastalar için prognozu ve tedavi seçeneklerini öngörmek için çeşitli genomik prognostik testler ortaya çıkmıştır. 2016 yılında Amerikan Klinik Onkoloji Derneği (ASCO) bunlar arasında Oncotype DX, MammaPrint, PAM50, Endopredict, Meme Kanseri İndeksi (BCI) kullanımını onaylamıştır (24).

#### **2.7.13. Yeni Biyobelirteçler:**

Prognostik ve merkezi prediktif biyobelirteçleri tanımlamayı amaçlayan dolaşımdaki tümör hücreleri (CTC), dolaşımdaki tümör DNA'sı (ctDNA), miRNA dahil olmak üzere meme kanserindeki yeni biyobelirteçler üzerinde řu anda önemli araştırmalar devam etmektedir (39).

#### **2.7.13.1. Dolaşımdaki Tümör Hücreleri:**

CTC'ler, metastatik meme kanseri hastalarıyla yapılan çalışmalarda periferik kanda tespit edilmiştir ve bu hücrelerin varlığı, kötü progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (36).

Meme tümörlerinin ilerlemesi ve metastaz yapması için çevresindeki dokuyu yeniden şekillendirerek kendi mikroçevresini oluşturduğu bilinmektedir. Bir tümör mikroçevresinde (TME), bağışıklık hücreleri tümör büyümesini uyarabilir veya inhibe edebilir (46).

Lökositler, doğuştan gelen (miyeloid) ve adaptif (lenfoid) hücreler olarak ikiye ayrılır. Makrofajlar, granülositler, mast hücreleri, dendritik hücreler (DC'ler) ve doğal öldürücü (NK) hücreler dahil olmak üzere miyeloid hücreler, patojenlere ve yabancı ajanlara karşı ilk savunma hattını temsil eder. Doku homeostazı bozulduğunda, dokuda yerleşik makrofajlar ve mast hücreleri lokal olarak sitokinler, kemokinler, biyoaktif mediatörler salgılar. Dendritik hücreler (DC), yabancı antijenleri (tümör antijenleri dahil) tanır, bu antijenleri işleyip lenfoid organlara taşır ve adaptif bağışıklık hücrelerine sunar. Bu antijen sunumu sonucunda T ve B lenfositler aktive olur, klonal çoğalma gösterir ve hedefe yönelik adaptif immün yanıt gelişir. Bununla birlikte, bir bağışıklık tepkisi için gerekli olan enflamatuar yanıtlar, neoplastik hastalığı teşvik etmek için de zemin hazırlayabilir. Hücre proliferasyonu ve ölüm döngüleri neoplastik riski artırabilir ve tümör ilerlemesini teşvik edebilir (47).

SUCCESS adlı prospektif çalışmada, metastatik olmayan meme kanseri hastalarında (pT1-T4, pN0-N3, M0), adjuvan kemoterapiden önce ve sonra periferik kanda CTC ölçümleri yapılmış; bu değerlerin sağkalım oranlarında azalma ile ilişkili olduğu ve prognostik değer taşıdığı gösterilmiştir (48). Bu prognostik değer potansiyeli, CTC düzeyi arttıkça yükselmiştir. Diğer çalışmalar da benzer sonuçlar saptanmıştır (36).

#### **2.7.14.1. CD133 Ekspresyonu:**

Kanser taraması ve prognozu için güvenilir biyobelirteçlerin mevcudiyeti, tedavinin erken başlaması ve daha olumlu sonuçların elde edilmesi için çok önemlidir (3).

Prominin-1 olarak da bilinen CD133, meme karsinomları, beyin tümörleri, pankreas kanseri, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, hepatosellüler karsinom ve yumurtalık kanseri gibi çeşitli malignitelere eksprese edilen bir trans-membran glikoproteinidir (49).

CD133 (prominin-1), kanser kök hücrelerinin (CSC'ler) izolasyonu için kullanılan en iyi karakterize edilmiş biyobelirteçlerden biridir. CSC'lerin varlığı, tümörün tersine dönmesinin ve direncinin ana nedenlerinden biridir (6).

CD133'ün immünohistokimya ile ölçüldüğü 102 meme kanseri hastasında yapılan bir çalışmada, CD133 neoadjuvan kemoterapiye (NAKT) daha az yanıt ile ilişkilendirilmiştir. Ek olarak, CD133 mRNA aşırı ekspresyonu invaziv meme kanserinde kötü prognoz ile bağlantılı olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, CD133'ün klinik önemini araştıran önceki çalışmaların büyük çoğunluğu üçlü negatif meme kanserine (TNBC) odaklanmıştır (50).

İnvaziv duktal karsinom tedavisi için modifiye radikal mastektomi uygulanan, elli yedi hastada doku kesitleri alınarak yapılan bir çalışmada CD 133 ekspresyonunun, lenf nodu metastazı, evre ve NPI skoru ile korele olduğu; yaşlı kadınlarda artmış CD 133 pozitifliği, büyük tümör boyutu ve yüksek tümör derecesi ile ilişkili olduğu görülmüştür (49).

#### **2.7.15. İMMUNOLOJİK BİYOBELİRTEÇLER:**

Periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC), T ve B hücreleri, monositler, miyeloid hücreler ve doğal öldürücü hücreler bağışıklık ortamını oluşturur. Bu, sistemik bağışıklık ve tümörlerin biyolojik aktivitesi hakkında değerli bilgiler sağlar (4).

##### **2.7.15.1 Doğal Öldürücü Hücreler (NK Hücreler):**

NK hücreleri, tümör hücrelerinin öldürülmesi için çok önemli efektör hücrelerdir (51). Periferik kanda (pB), NK hücreleri tüm lenfositlerin %10-15'ini oluşturur (52).

NK hücreleri CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> hücreleri olarak tanımlanmıştır (53). CD56 ekspresyonuna dayalı olarak iki ana alt gruba ayrılabilir: CD56<sup>bright</sup> ve CD56<sup>dim</sup> NK hücreleri. CD56<sup>bright</sup> NK hücreleri, periferik kan NK hücrelerinin

yaklaşık %5-10'unu oluşturan ve genellikle sitokin üreterek immünomodülatör roller oynadığı düşünülen nispeten olgunlaşmamış NK hücreleridir. CD56<sup>dim</sup> NK hücreleri, periferik kan NK hücrelerinin yaklaşık %90-95'ini oluşturan tamamen olgun NK hücreleridir. Ayrıca bu hücreler perforin ve granzim B içeren sitolitik partikülleri serbest bırakarak kanserli, enfekte veya stresli olarak tanımlanan hücreleri doğrudan öldürür.

Farklı bir alt tip olarak tanımlanmasına rağmen, CD56<sup>bright</sup> NK hücreleri CD56<sup>dim</sup> NK hücrelerinin bir öncüsü olarak kabul edilir. İnterlökin (IL)-2 ve/veya IL-15'e maruz kaldıktan sonra, CD56<sup>bright</sup> NK hücreleri sonunda CD56<sup>dim</sup> NK hücrelerine farklılaşır.

İnsan periferik kanında, beş NK hücre alt popülasyonu, CD16 (veya FcγRIIIA, immüoglobulin G'nin Fc kısmı için düşük afiniteli reseptör) ve CD56 (homotipik adezyona aracılık eden adezyon molekülü) belirteçlerinin ekspresyonu ile tanımlanabilir (54).

**Tablo 6:** NK Alt Tipleri (54)

|   |                                            |
|---|--------------------------------------------|
| 1 | CD56 <sup>bright</sup> CD16 <sup>-</sup>   |
| 2 | CD56 <sup>bright</sup> CD16 <sup>dim</sup> |
| 3 | CD56 <sup>dim</sup> CD16 <sup>-</sup>      |
| 4 | CD56 <sup>dim</sup> CD16 <sup>bright</sup> |
| 5 | CD56 <sup>-</sup> CD16 <sup>bright</sup>   |

Tümörde NK hücrelerinin varlığı iyi prognoz ile ilişkilidir (51). CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>-</sup>, CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup>, CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>+</sup> ve CD56<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup> olmak üzere beş NK hücre alt serisinin incelendiği Mamessier ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada NK hücre alt grubu oranlarının hastalık ilerlemesine göre değiştiği görülmüştür. Tanı sırasında, lokal ileri meme kanseri ve metastatik meme kanseri tanılı hastalarda; iyi huylu meme tümörü ve lokalize meme kanseri tanısı olanlara göre daha fazla CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup>, CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>-</sup> ve CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>+</sup> hücreler izlenmiştir. CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> hücrelerin ise daha az olduğu izlenmiştir. CD56<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup> NK hücreleri alt kümesinin ise, iyi huylu

tümörleri olan hastalarla karşılaştırıldığında hiçbir grupta değişmediği görülmüştür (55).

#### **2.7.14.2 T Lenfositler:**

Lenfosit popülasyonu timus kaynaklı lenfositlerden (T lenfositler), kemik iliği kaynaklı (B lenfositler) ve NK hücrelerinden oluşur. Hücrel bağışıklığa aracılık eden T lenfositler, humoral bağışıklığa aracılık eden B lenfositler ile adaptif bağışıklık sağlar (56).

Konvansiyonel T hücreleri CD4 ve CD8 olmak üzere iki alt gruba ayrılır. CD4+ T hücreleri yardımcı hücreler olarak bilinir. CD4+ T yardımcı hücreler, B hücrelerin antikör sentezini uyarır, CD8 T lenfositler, makrofajlar, nötrofiller, eosinofil, basofil ve diğer immün sistem hücrelerinin fonksiyonlarını yerine getirmesine yardım eder. CD8+ T hücreleri, Majör Histouyumluluk Kompleksi (MHC) sınıf I ile kendisine sunulan antijenleri tanıyarak aktive olur sitotoksik T hücrelerine farklılaşırlar (57).

Klasik T-helper 1 (Th1) ve T-helper 2 (Th2) hücrelerinin yanında CD4+ hücrelerinin yeni alt kümeleri de tanımlanmıştır. Bunlar arasında T-helper 17 (Th17), foliküler yardımcı T hücresi (Tfh), indüklenmiş T-düzenleyici hücreler (iTreg) ve düzenleyici tip 1 hücreleri (Tr1) ve ayrıca potansiyel olarak farklı T-helper 9 (Th9) bulunur (56).

Çalışmalar, meme kanserinde, periferik kan CD8 + T hücrelerinin yüzdesinin azaldığını, CD4+ T hücrelerinin yüzdesinin arttığını ve bunun da yüksek bir CD4+ / CD8+ oranına yol açtığını göstermiştir (Liu et al., 2025), (58).

T hücreleri CD4+ / CD8+ oranının artmasına neden olur. Tümör gelişimi tipik olarak azalmış CD4+ / CD8+ oranı ile kanıtlanan immün supresyon ile bağlantılı olsa da, yüksek bir CD4+ / CD8+ oranının tümörün erken bir klinik aşamasını gösterebileceğini, CD8 + T hücrelerindeki bir artışın, azalmış bir CD4 + / CD8 + oranı ile birleştiğinde, ileri bir aşamaya ilerlemeyi gösterebileceğini belirtmek önemlidir (5).



Periferik kan sitotoksik T hücreleri neoadjuvan kemoterapiyi takiben meme kanseri hastalarında hastalığın ilerlemesi ve tekrarlaması ile ilişkilendirilmiştir (4).

## **2.8. MEME KANSERİNDE TEDAVİ:**

Meme kanserleri birden dörde kadar evrelendirilir. Evre 1 ve 2 erken evre hastalığı, evre 3 daha lokal olarak ilerlemiş hastalığı ve evre 4 metastatik hastalığı gösterir. Sonuçlar hastalığın evresi ile yüksek oranda ilişkilidir (1).

Meme kanserinde tedavi, memenin ve lokal lenf düğümlerinin; radyasyon tedavisi olsun veya olmasın ameliyatla tedavisi (lokal tedavi) ve meme dışına yayılmış olabilecek kanser hücreleri için ilaç tedavileri (adjuvan sistemik tedavi) olarak genellikle iki temel bileşeni içerir (59).

### **2.8.1 Lokal Tedaviler**

#### **2.8.1.1. Cerrahi**

Meme kanserinde cerrahi tedavinin birincil amacı lokorejyonel nüks riskini azaltmaktır. Mastektomi ve meme koruyucu, meme kanseri için birincil cerrahi modaliteler olmaya devam etmektedir. Kenar kontrolü, kozmetik ve radyasyon tedavisi (RT) hususları, meme koruma veya mastektomi seçimini yönlendiren başlıca faktörlerdir (60).

Radikal mastektomi ile karşılaştırıldığında, meme koruyucu cerrahi (MKC) daha az postoperatif komplikasyona, daha iyi kozmetik etkiye sahiptir ve yaşam kalitesini önemli ölçüde iyileştirmiştir. Preoperatif kemoterapi (neoadjuvan kemoterapi), tümörlerin küçültülmesine izin vererek, daha önce uygun olmayan hastaları meme koruyucu tedavi (MKC) için uygun hale getirir (61).

Sentinel lenf nodu diseksiyonu (SLND), erken evre meme kanserli hastalarda nodal evreleme için standart uygulama haline gelmiştir. Birçok çalışma, SLND'nin axiller lenf nodu metastazı durumunu doğru bir şekilde değerlendirdiğini ve klinik olarak nod negatif hastalarda aksiller lenf nodu diseksiyonuna (ALND) göre azalmış morbidite ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (44).

Sentinel lenf nodları (SLN) histolojik olarak tümörsüz olan hastalar için SLND tek başına kabul edilen tedavi iken, SLN'leri metastaz içeren hastalar için ALND standart bakım olmaya devam etmektedir (62).

### **2.8.2. Radyoterapi (RT)**

Radyasyon tedavisi bir asırdan fazla süredir meme kanserinin tedavisinde önemli bir rol oynamıştır (63).

Radyoterapi, adjuvan meme kanseri tedavisinde mastektomi sonrası göğüs duvarı ışınlaması, lumpektomi sonrası meme ışınlaması, aksiller, internal meme ve supraklaviküler lenf düğümlerinin ışınlaması gibi durumlarda önemli bir rol oynar (64).

### **2.8.3. SİSTEMİK TEDAVİLER:**

Meme kanserinde sistemik tedavi olarak kemoterapi, endokrin tedavi ve hedefe yönelik tedaviler uygulanmaktadır. Sistemik tedavide amaç, tümörün lokal, bölgesel ve sistemik nüksünü önlemektir (65).

#### **2.8.3.1. Kemoterapi:**

##### **Neoadjuvan tedavi:**

Neoadjuvan terimi, ameliyattan önce sistemik tedavinin kullanımını ifade eder. Neoadjuvan kemoterapi (NAKT), inflamatuvar meme kanserli hastalar veya neoadjuvan tedavi ile hastalığı rezektabl hale getirilebilen rezektabl veya lokal olarak ilerlemiş hastalığı olan hastalar için tercih edilen tedavidir. Neoadjuvan tedavi aynı zamanda lokal tedavinin kapsamını azaltmak veya tedaviye başlamadaki gecikmeleri azaltmak için de kullanılabilir (66).

Meme görüntüleme alanındaki gelişmeler ve tümör karakterizasyonu ve evrelemesindeki iyileştirmeler sayesinde, ameliyat edilebilir erken evre meme kanseri için adjuvan kemoterapi veya endokrin tedavi almaya uygun hastalara artık NAKT önerilmektedir. Klinik çalışmalar, adjuvan tedavi alan hastalar ile NAKT alan hastalar arasında bölgesel kontrol ve metastazsız sağkalım açısından bir fark göstermemiştir (67).

### **2.8.3.2. Her-2 yönelik tedavi:**

HER2 pozitif meme kanseri için, HER2'ye özgü bir monoklonal antikor olan trastuzumab, erken evre meme kanserli hastaların sağkalımını artırır ve kemoterapiye ek olarak verilmelidir (68).

### **2.8.3.3. Endokrin Tedavi**

ER veya PR pozitif meme kanseri olan hastalar, aromataz inhibitörü gibi endokrin tedavisi almalıdır (68).

### **2.8.3.4. Metastatik Hastalık Tedavisi**

Metastatik hastalıkta tedavinin amacı, semptomları veya yan etkileri en aza indirirken yaşamı uzatmaktır. ER veya PR pozitif ve HER2 negatif meme kanseri olan hastalar genellikle tek ajanlı kemoterapiye önce başlanmadan önce birkaç kez endokrin tedavisi alırlar. Son veriler ayrıca, ER pozitif metastatik hastalığı olan hastalarda birinci basamak letrozol ve ikinci basamak fulvestranta, siklin bağımlı kinazlar 4 ve 6'nın oral bir inhibitörü olan palbociclib'in eklenmesini desteklemektedir. HER2 pozitif metastatik meme kanseri olan hastalara birinci basamak tedavi olarak trastuzumab ve pertuzumab ile bir taksan verilmelidir. Daha sonraki tedaviler trastuzumab-emtansin, lapatinib veya diğer tek ajanlı kemoterapötiklerle birlikte trastuzumab'ı içerebilir (68).

## **2.9. HÜCRELERİN İZOLASYONU**

### **2.9.1. Akım Sitometrisi**

Sitometri, hücrelerin veya biyolojik partiküllerin fiziksel ya da kimyasal karakterlerinin ölçülmesidir. Akım sitometrisi ise, akan bir sıvının içerisindeki hücrelerin özelliklerinin incelenmesi olarak tanımlanabilir (69).

Akış sitometrisi, biyoloji veya fonksiyonel çalışmalar için çeşitli çok renkli uygulamaların yanı sıra immünfenotipleme, çoklu parametrik DNA analizi, proliferasyon, floresan protein, hücre sayımı dahil olmak üzere çok çeşitli araştırma uygulamalarında kullanılır (70).

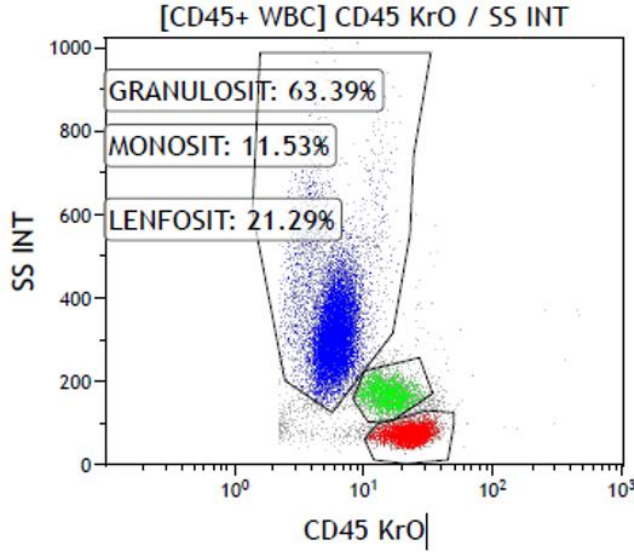
Kan ve kemik iliğinden alınan karışık hücre popülasyonlarının yanı sıra lenf düğümleri, dalak, mukozal dokular, katı tümörler vb. gibi tek hücrelere ayrılabilen katı dokuların eş zamanlı karakterizasyonuna olanak tanır (71).

### **2.9.2. Akım Sitometrisi Çalışma Prensibi**

Geleneksel akım sitometreleri akışkan sistem, optik ve elektronik sistem olmak üzere 3 sistemden oluşur. Akışkan sistem, numuneyi numunenin analiz edildiği lazer kesişme noktasına iletmek ve odaklamak için basınçlandırılan kılıf sıvısından (genellikle tamponlu bir tuzlu su çözeltisi) oluşur. Optik sistem, numuneyi analiz etmek için kullanılan görünür ve floresan ışık sinyallerini üreten uyarma optiklerinden (lazerler) ve toplama optiklerinden (fotoçoğaltıcı tüpler veya PMT'ler ve fotodiyotlar) oluşur. Elektronik sistem, dedektörlerden gelen sinyalleri bir bilgisayar tarafından okunabilen dijital sinyallere dönüştürür (71).

Akış sitometrisi prensibi, ışığın saçılmasına ve floresan emisyonuna dayanır. Her parçacık, görünür ışık saçılımı ve bir veya birden fazla floresan parametresi için analiz edilir. Görünür ışık saçılımı; hücrenin göreceli boyutunu gösterebilen ileri yön (İleri Saçılma veya FSC) ve hücrenin iç karmaşıklığını veya ayrıntı düzeyini gösteren Yan Saçılma (SSC) olmak üzere iki farklı açıda ölçülür (71), (72).

Bu, periferik kan örneklerinde trombositler, kırmızı kan hücreleri, lenfositler, monositler ve granülositler gibi ana hücre tiplerinin ayrılmasına izin verir (72).



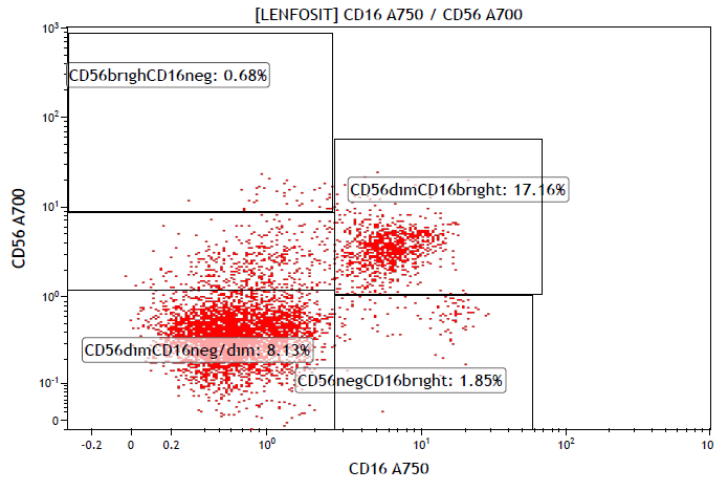
**Şekil 1:** Örnek bir hastanın periferik kanında CD45 ve yan saçılım (side scatter, SS) parametrelerine göre yapılan flow sitometri analizinde lökosit alt gruplarının dağılımı

Bazıları ayrıca elektriksel empedans değişimi ile hücre hacmini analiz etme yeteneğine de sahiptir (70).

Floresan boyalarla işaretlenmiş spesifik problemler (en yaygın olarak monoklonal antikorlar), daha iyi çözünürlük elde etmek ve alt kümeleri tanımlamak için kullanılır. Floresan molekülleri lazer ışığını emer ve daha uzun bir dalga boyunda ışık (floresan) yayar. Yayılan bu ışık daha sonra bir dizi optik ve elektronik sensörden geçirilir. Sinyal daha sonra, floresan etiketli bileşenlerin kantitatif olarak belirlenmesine izin vermek için akımın floresan ile orantılı olduğu analogdan dijital sinyal dönüşümüne uğrar (72).

### 2.9.3. Akım Sitometri ile İmmün Fenotipleme:

Hücre yüzey antijenlerinin tanımlanmasında "Cluster of Differentiation-CD" terminolojisi kullanılır. Lökositlerin bu hücre yüzey molekülleri, anti-lökosit monoklonal antikorları ile rutin olarak tespit edilir. Lökositlerin yüzeyindeki antijen kümeleri, monoklonal antikorlarla reaksiyonları ile belirlenebilir. Antijenler bu şekilde CD olarak adlandırılır. Farklı mAbs kombinasyonları kullanılarak, B hücrelerinin işlevsel olarak farklı olgun hücre alt popülasyonları, yardımcı T hücreleri (TH), sitotoksik T hücreleri (TC) ve NK hücreler dahil olmak üzere farklı lökosit alt popülasyonlarının hücre yüzeyi immünofenotiplerinin grafiğini çıkarmak mümkündür (73).



Şekil 2: Örnek bir hastanın periferik kanında CD16 ve CD56 belirteçlerine göre yapılan flow sitometri analizinde doğal öldürücü (NK) hücre alt popülasyonlarının dağılımı

### III. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. HASTA SEÇİMİ VE MATERYALLERİ:

Bu çalışma Manisa Celal Bayar Üniversitesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda Ekim 2024 -2025 yılları arasında histopatolojik olarak meme kanseri tanısı almış ve neoadjuvan tedavi başlanan, tanı anında metastatik olmayan, 18 yaş üstü gönüllüler ile yapılmıştır. Çalışmamız prospektif bir çalışma olup 23 hasta dahil edilmiştir. Hastalardan neoadjuvan kemoterapi almadan önce 1 tüp kan, kemoterapi başlangıcından 3 ay ve 6 ay sonra tekrar 1 tüp kan olmak üzere, toplamda 3 tüp kan alınmıştır. Örnekler akım sitometride analiz edilmiştir.

Hastaların sosyodemografik verileri (cinsiyet, yaş), menopoz durumu, meme kanseri patoloji verileri ve tedavi sürecinde aldıkları tedaviler, tümörün grade'i, histolojik tipi, östrojen ve progesteron reseptör durumu, lenfovasküler invazyon, perinöral tutulum varlığı, cerb-b2 ekspresyonu olup olmaması, ki-67 indeksi, p53 mutasyonu varlığı not alındı. Hastaların hemogram, biyokimya (böbrek fonksiyon testleri, elektrolit değerleri, karaciğer fonksiyon testleri, transaminazlar), koagülasyon (pt, aptt) ve hastalığın takiplerinde kullanılan tümör belirteç verileri tedavilerinin 0, 3 ve 6. aylarında kaydedildi. Daha önce herhangi bir kanser tanısı almış olan hastalar, gebeler, 18 yaş altı hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışma, katılmayı kabul eden gönüllüler ile yapılmıştır. Hastalardan gönüllü onam formu ile onam alınmıştır. Çalışma boyunca, çalışma dışında tutulmak istediğini belirten hastalar çalışmadan çıkarılmıştır.

### **3.2. ÖRNEKLERİN ÇALIŞILMASI:**

Çalışmaya katılan tüm gönüllülerden periferik venöz kan, pıhtılaşmayı önleyen ajan (EDTA) içeren tüpe alındı. Oda ısısında ve karanlıkta saklandı. Alınan kanlar bekletilmeden Manisa Celal Bayar Üniversitesi Merkezi Laboratuvar Tıbbi Biyokimya Birimi Akış Sitometri Laboratuvarı'na gönderildi. Taze alınan kandan 100 µl, akış sitometriye özel bir tüpe aktarıldı. Akış sitometrisi çalışması için üretici talimatına göre, 10 µl monoklonal antikorlarla 8-renk (CD3 PB, CD4 ECD, CD8 PC7, CD16 APC A750, CD45-Krome Orange, CD56 APC A700, CD28 PE, CD133 APC içeren) ile işaretlendi. Karışım oda sıcaklığında, karanlıkta 15 dakika inkübe edildi ve ardından 1 ml versalyse lising solüsyonu ile lizis yapıldı. Karanlıkta 20 dakika muamele edildi. Örnekler Navios EX akış sitometri sistemi kullanılarak, Kaluza yazılımı ile analiz edildi. Her örnekten en az 30.000 hücre analiz edildi.

### **3.3. ETİK KURUL ONAYI:**

Bu çalışma Manisa Celal Bayar Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 24/07/2024 tarihli ve 20.478.486/2537 sayılı izni ile yapılmıştır.

### **3.4. İSTATİSTİK ANALİZ:**

Sürekli değişkenlerin dağılımı Kolmogorov–Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenler için tanımlayıcı istatistikler medyan (interquartile range, IQR), kategorik değişkenler için ise frekans (yüzde) olarak ifade edildi. Zamana bağlı değişimleri incelemek amacıyla tedavi öncesi, 3. ay ve 6. ay ölçümleri arasındaki farklar Friedman testi ile değerlendirildi. Friedman testi ile anlamlı fark saptandığında, ikili karşılaştırmalar Wilcoxon eşleştirilmiş testleri (post-hoc analiz) ile yapıldı. Bağımsız değişkenlerin patolojik tam yanıt (pCR) üzerine etkisini belirlemek amacıyla önce tek değişkenli (univariate) binary lojistik regresyon analizi yapıldı. Tek değişkenli analizde değişkenlerde ( $p < 0.10$ ) bulunmadığı için çok değişkenli (multivariate) lojistik regresyon modeli uygulanmadı. Lojistik regresyon sonuçları olasılık oranı (Odds Ratio, OR) ve %95 güven aralığı (confidence interval, CI) ile raporlandı. Tüm analizlerde  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics (version 31) programı kullanılarak gerçekleştirildi.



## IV. BULGULAR

### 4.1 Demografik ve klinik bulgular

Çalışmaya toplam 23 hasta dahil edildi. Katılımcıların medyan yaşı 52 (ÇAA: 17.5) olarak bulundu. ECOG performans durumu çoğunlukla 0 idi (%91.3). Diyabet hastalığı yalnızca bir hastada (%4.3) mevcuttu ve hiçbir hastada kronik akciğer hastalığı saptanmadı. Hastaların %69.6'sı sigara kullanmıyordu, %13'ü aktif içiciydi, %13'ü sigarayı bırakmıştı, %4.3'ü pasif içiciydi. Tümör yerleşimi en sık sağ üst kadranda (%43.5) ve sol üst kadranda (%39.1) izlendi. Bu dağılım, literatürde bildirilen meme kanserinde üst kadranda predominansını destekler niteliktedir. Tanı evresine göre hastaların %52.2'si evre II, %47.8'i evre III idi. Tümörlerin %60.9'u sol memede lokalizeydi. Bu oran, meme kanserinde sol meme tutulumu baskınlığına ilişkin literatürle uyumludur. Histolojik olarak olguların %78.3'ü invaziv duktal, %13'ü invaziv lobüler karsinomdu. Grade 2 (%50) en sık histolojik dereceydi. Lenfovasküler ve perinöral invazyon her biri yalnızca bir hastada (%4.3) görüldü. Multifokalite %39.1 oranında saptandı. Ki-67 değeri %14'ün üzerinde olan olgular %69.6 oranındaydı. ER medyanı %40, PR medyanı %7.5 idi. Neoadjuvan tedavi sonrası tam yanıt %17.4 hastada görülürken, %30.4 hastada tam yanıt elde edilemedi. Her2 pozitif olgularda en sık uygulanan tedavi protokolü AC + PerTrastDos (%78.3) idi.

**Tablo 7:** Hastaların demografik ve klinik özellikleri

| Parametre / Değişken | Kategori / Değer                         | n / Median     | % / IQR                  |
|----------------------|------------------------------------------|----------------|--------------------------|
| Yaş (yıl)            |                                          | 52.0           | 17.5                     |
| ECOG                 | 0/1/3                                    | 21 / 1 / 1     | 91.3 / 4.3 / 4.3         |
| DM                   | Yok/Var                                  | 22 / 1         | 95.7 / 4.3               |
| KAH                  | Yok                                      | 23             | 100.0                    |
| Sigara               | İçmiyor/ İçiyor / Bırakmış / Pasif içici | 19 / 4         | 82.6 / 17.4              |
| Tümör yerleşimi      | Sağ üst / Sağ alt / Sol üst / Sol alt    | 10 / 3 / 9 / 1 | 43.5 / 13.0 / 39.1 / 4.3 |
| Tanı evresi          | Evre II / Evre III                       | 12 / 11        | 52.2 / 47.8              |
| Tümör lokalizasyonu  | Sağ / Sol                                | 9 / 14         | 39.1 / 60.9              |

|                            |                                   |            |                   |
|----------------------------|-----------------------------------|------------|-------------------|
| Ki-67                      | %14'ün altı / %14'ün üstü / Diğer | 6 / 16 / 1 | 26.1 / 69.6 / 4.3 |
| Histolojik grade           | 1 / 2 / 3                         | 1 / 9 / 8  | 5.6 / 50.0 / 44.4 |
| Patolojik tanı             | İnvaziv duktal / lobüler / diğer  | 18 / 3 / 2 | 78.3 / 13.0 / 8.7 |
| Lenfovasküler invazyon     | Yok / Var                         | 22 / 1     | 95.7 / 4.3        |
| Perinodal invazyon         | Yok / Var                         | 22 / 1     | 95.7 / 4.3        |
| Multifokalite              | Yok / Var                         | 14 / 9     | 60.9 / 39.1       |
| Neoadjuvan yanıt           | Tam yanıt yok / var               | 7 / 4      | 30.4 / 17.4       |
| Her2 pozitif tedavi şeması | AC+PerTrastDos / TCHP             | 18 / 5     | 78.3 / 21.7       |
| ER (%)                     |                                   | 40.0       | 90.0              |
| PR (%)                     |                                   | 7.5        | 42.5              |
| Çıkarılan lenf nodu sayısı |                                   | 10.5       | 13.75             |
| Patolojik lenf nodu sayısı |                                   | 0.5        | 1.25              |

Laboratuvar parametreleri arasında medyan hemoglobin 13.45 g/dL, albumin 4.6 g/dL, LDH 195 U/L, GFR 96 mL/dk/1.73 m<sup>2</sup>, CEA 1.23 ng/mL olarak saptandı. Tümör belirteçlerinden CEA medyanı 1,23 ng/mL, CA 15-3 medyanı 15,0 U/mL olarak saptanmıştır; bu değerler referans aralıkta olup, metastatik hastalık aktivitesine işaret etmemektedir. Hormon reseptör düzeylerine bakıldığında, ER medyanı %40, PR medyanı %7,5 olup, olguların büyük kısmının ER pozitif fakat düşük düzeyde PR ekspresyonuna sahip olduğu anlaşılmaktadır.

**Tablo 8:** Hastaların Laboratuvar sonuçları

| Parametre / Değişken            | n / Median | % / IQR  |
|---------------------------------|------------|----------|
| Nötrofil (10 <sup>3</sup> /μL)  | 4815.0     | 4077.5   |
| Lenfosit (10 <sup>3</sup> /μL)  | 1695.0     | 1167.5   |
| Trombosit (10 <sup>3</sup> /μL) | 265000.0   | 127000.0 |
| Eozinofil (10 <sup>3</sup> /μL) | 85.0       | 145.0    |
| Monosit (10 <sup>3</sup> /μL)   | 365.0      | 172.5    |
| MPV (fL)                        | 10.45      | 1.15     |
| Hemoglobin (g/dL)               | 13.45      | 2.22     |
| Albumin (g/dL)                  | 4.60       | 0.22     |
| Globulin (g/dL)                 | 2.85       | 0.38     |
| CRP (mg/L)                      | 0.14       | 0.16     |
| ALP (U/L)                       | 65.0       | 28.25    |
| LDH (U/L)                       | 195.0      | 46.75    |

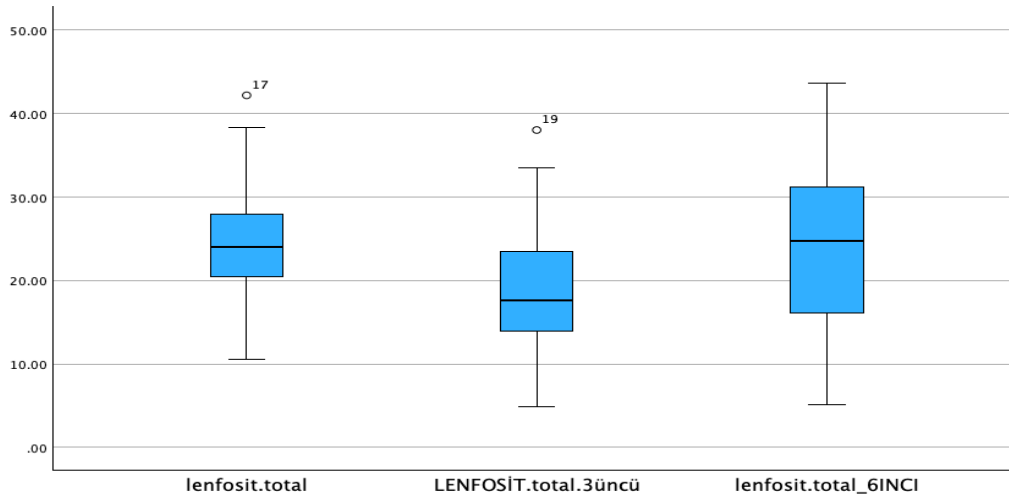
|                                 |       |       |
|---------------------------------|-------|-------|
| ALT (U/L)                       | 17.0  | 7.25  |
| Total bilirubin (mg/dL)         | 0.525 | 0.29  |
| Kreatinin (mg/dL)               | 0.69  | 0.16  |
| GFR (mL/dk/1.73m <sup>2</sup> ) | 96.0  | 22.25 |
| CEA (ng/mL)                     | 1.23  | 0.83  |
| CA 15-3 (U/mL)                  | 15.0  | 6.78  |

Çalışmadaki hasta popülasyonu genel olarak iyi performans durumuna sahip, komorbiditesi düşük, erken-orta evre (Evre II–III) meme kanseri olgularından oluşmaktadır. Patolojik olarak yüksek proliferatif aktivite (yüksek Ki-67) ve orta-yüksek histolojik grade dikkat çekmektedir. Laboratuvar parametreleri normal sınırlarda olup, sistemik inflamasyon veya organ fonksiyon bozukluğu bulgusu izlenmemektedir.

Bu veriler, kohortun tedaviye uygun ve genel prognozu olumlu bir hasta grubunu temsil ettiğini göstermektedir.

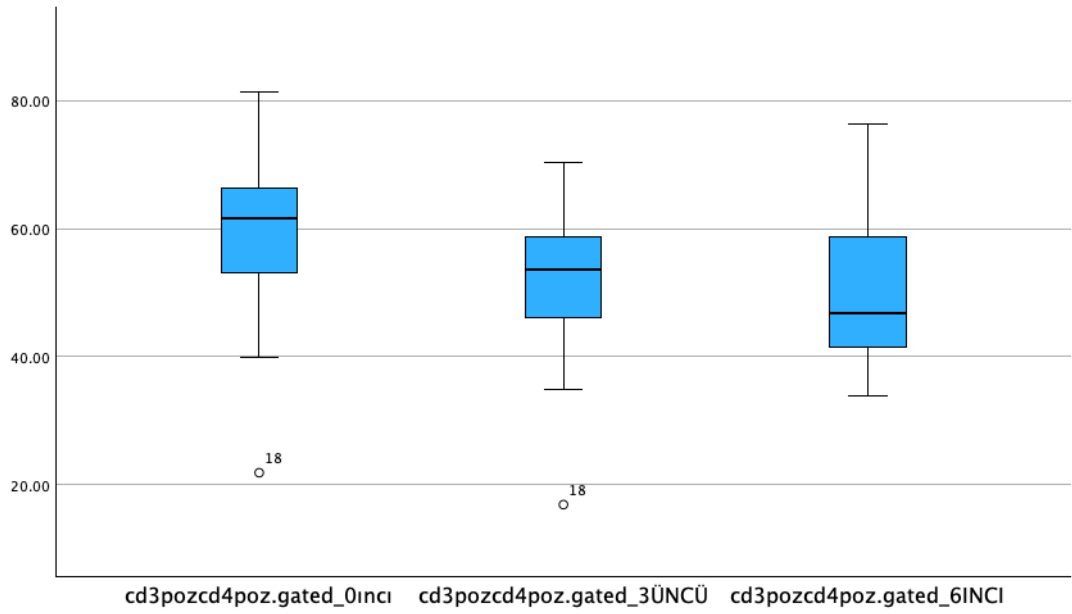
#### 4.2 Hücrelerin zaman içindeki değişimleri:

**Grafik 1:** Neoadjuvan kemoterapi süresince lenfosit toplam oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği)



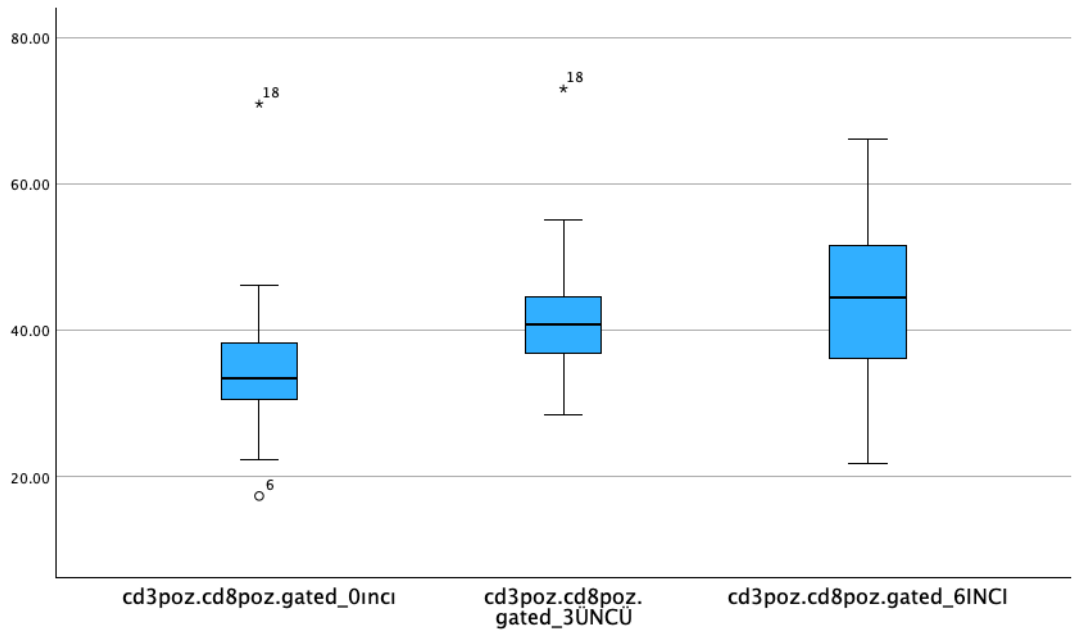
Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, zaman içinde eğrisel (kuadratik) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p = 0.017$ ).

**Grafik 2:** Neoadjuvan kemoterapi süresince CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> (yardımcı T lenfosit) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



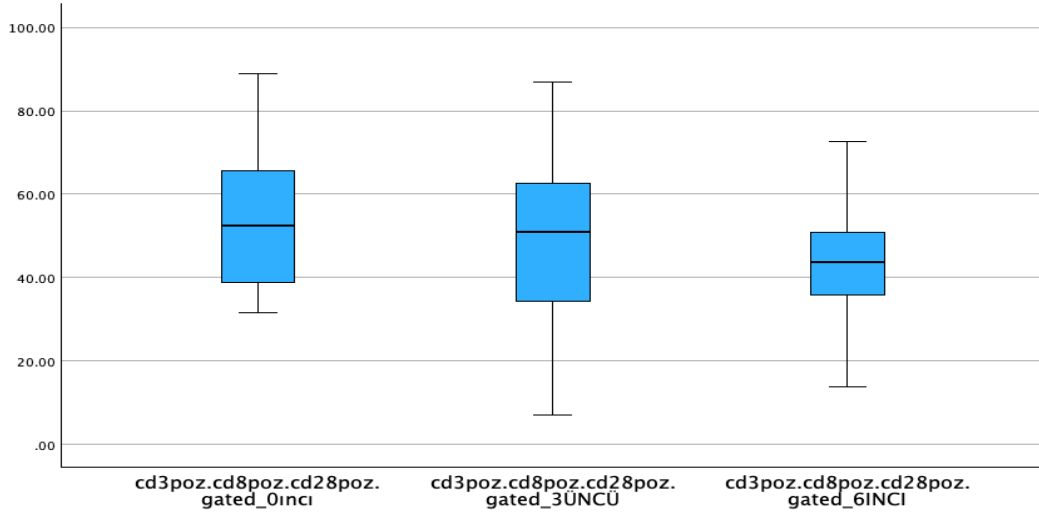
Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, doğrusal (linear) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p < 0.001$ ).

**Grafik 3:** Neoadjuvan kemoterapi süresince CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (sitotoksik T lenfosit) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



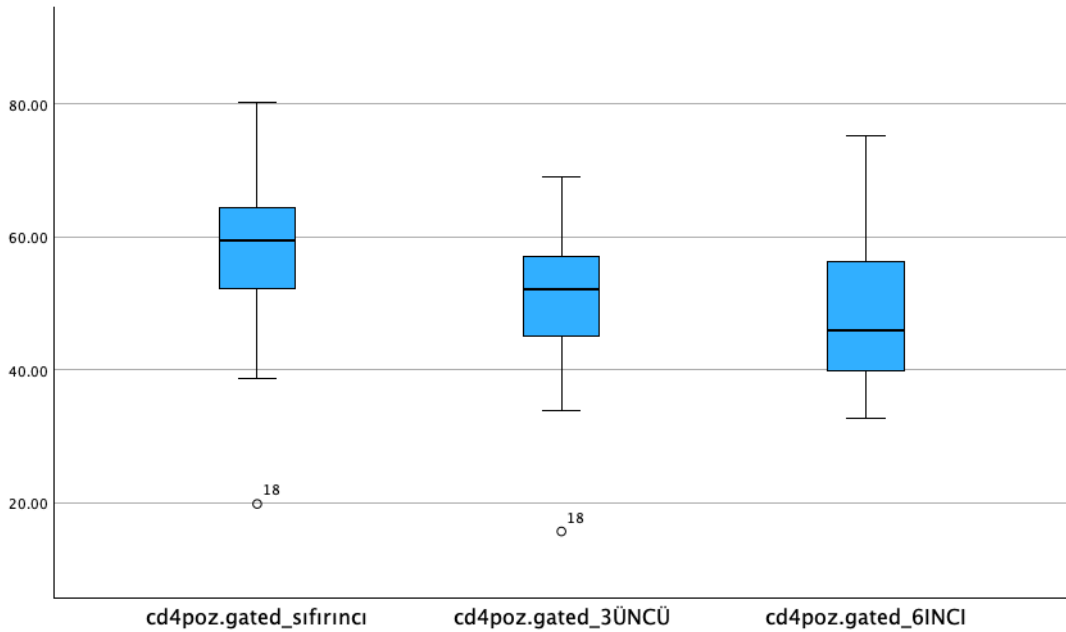
Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, doğrusal (linear) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p = 0.002$ ).

**Grafik 4:** Neoadjuvan kemoterapi süresince CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> (aktif sitotoksik T lenfosit) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



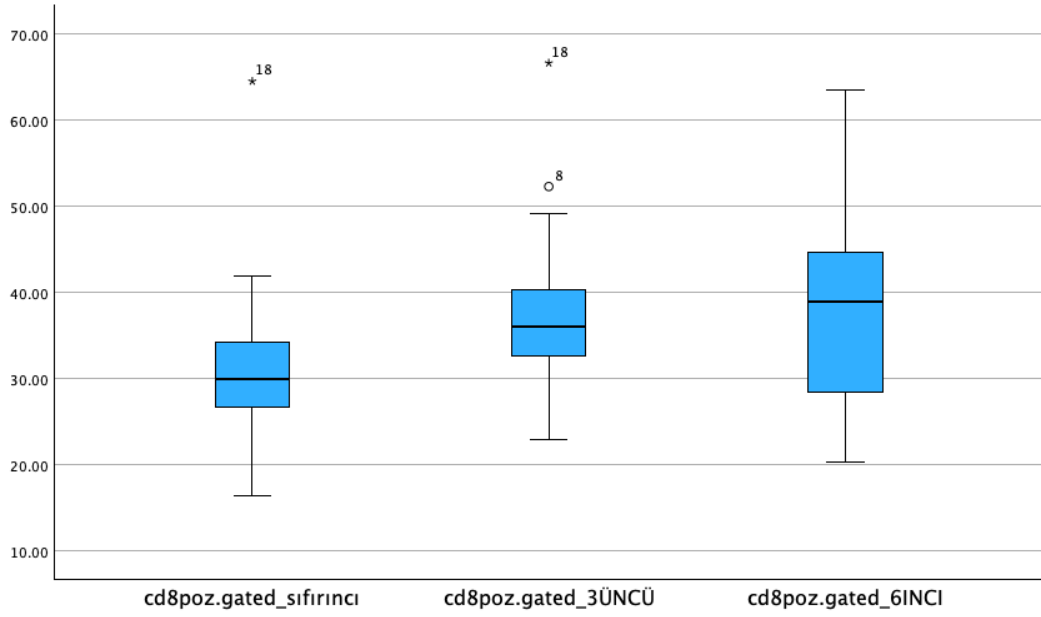
Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, doğrusal (linear) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p = 0.002$ ).

**Grafik 5:** Neoadjuvan kemoterapi süresince CD4<sup>+</sup> (yardımcı T lenfosit) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



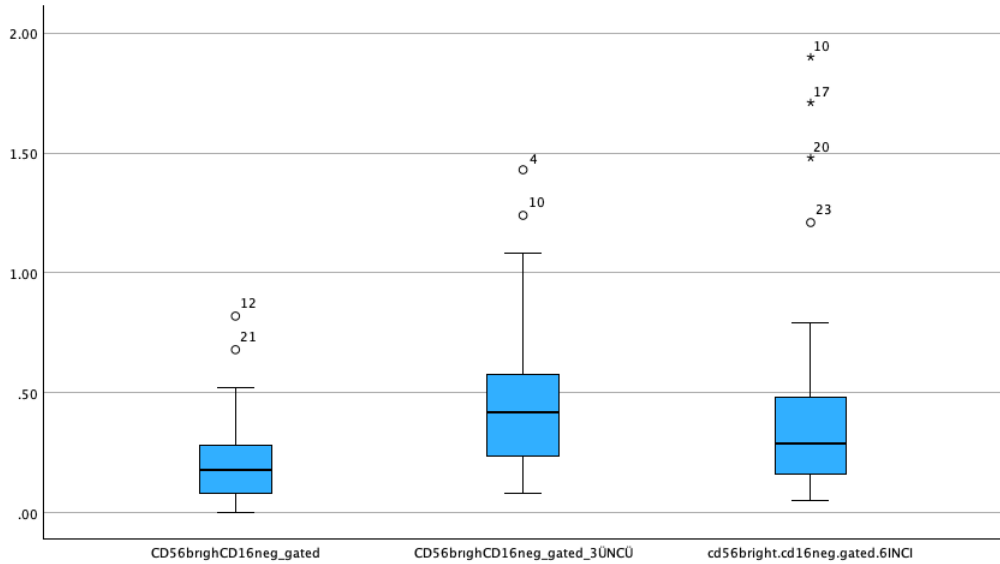
Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, doğrusal (linear) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p < 0.001$ ).

**Grafik 6:** Neoadjuvan kemoterapi süresince CD8<sup>+</sup> (sitotoksik T lenfosit) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



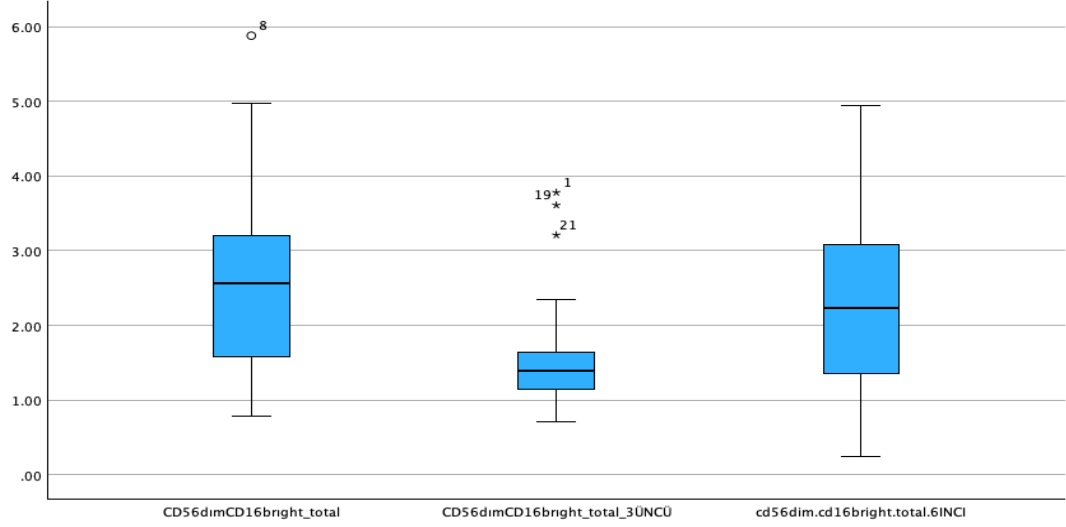
Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, doğrusal (linear) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p = 0.002$ ). Kuadratik eğilim ise sınırda anlamlılık göstermiştir ( $p = 0.057$ ).

**Grafik 7:** Neoadjuvan kemoterapi süresince CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> (NKT benzeri hücreler) oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



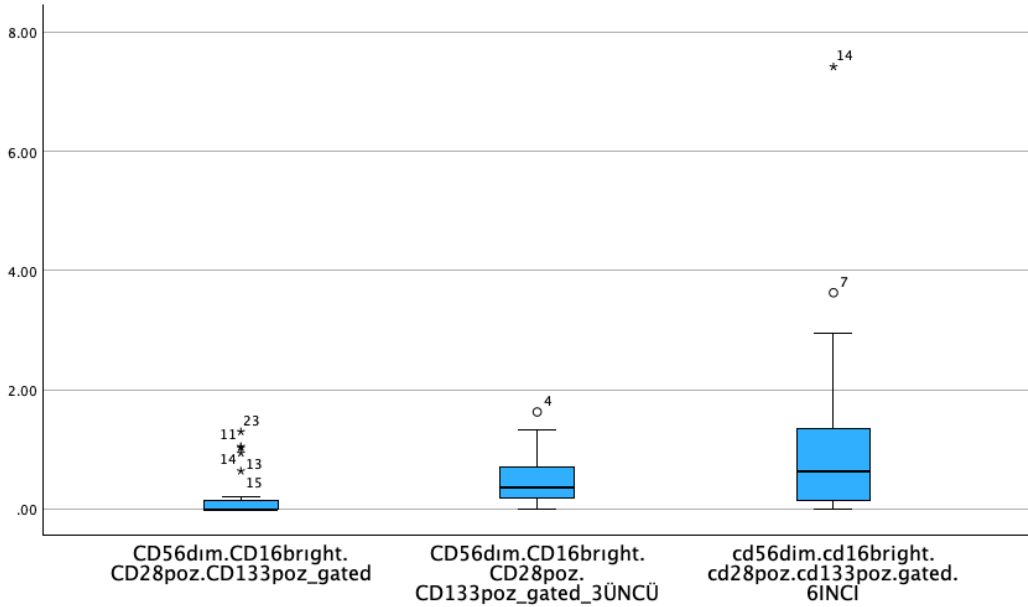
Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, eğrisel (kuadratik) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p = 0.003$ ).

**Grafik 8:** Neoadjuvan kemoterapi süresince CD56<sup>dim</sup> CD16<sup>bright</sup> (total) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



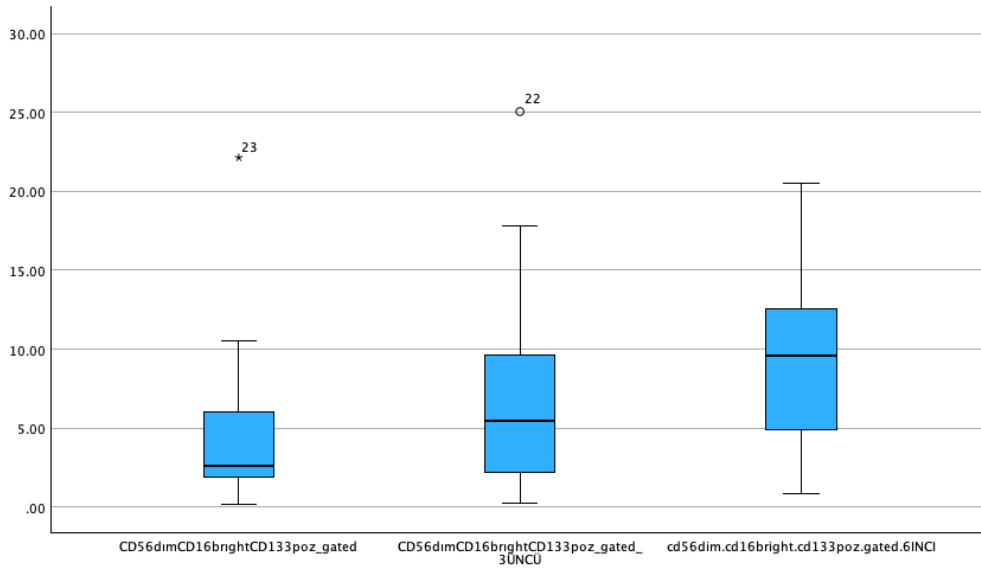
Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, eğrisel (kuadratik) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p < 0.001$ ).

**Grafik 9:** Neoadjuvan kemoterapi süresince CD56<sup>dim</sup> CD16<sup>bright</sup> CD28<sup>+</sup> CD133<sup>+</sup> (gated) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



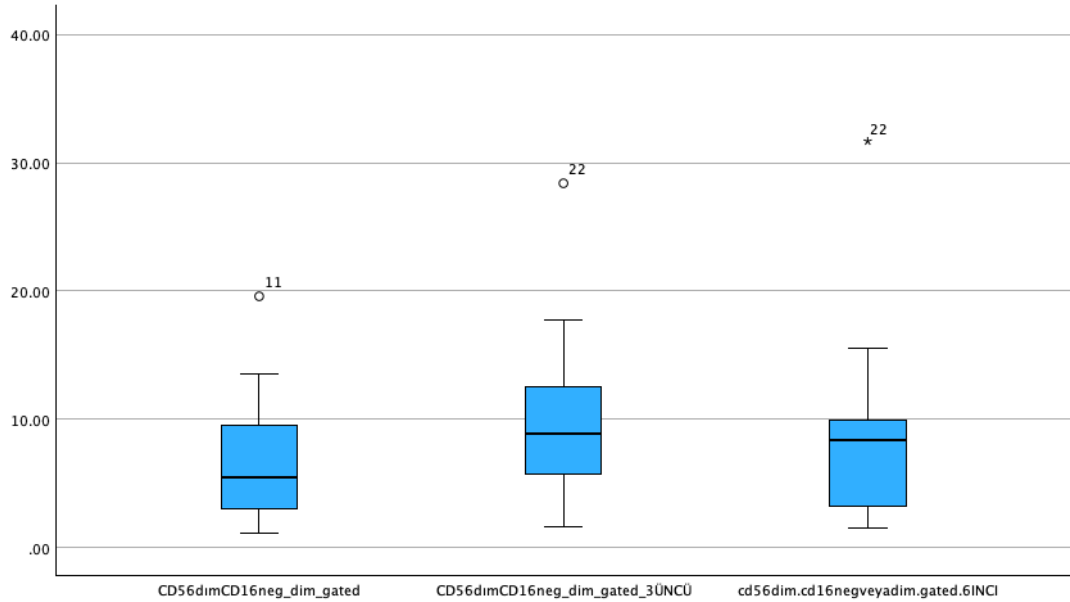
Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, doğrusal (linear) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p = 0.019$ ).

**Grafik 10:** Neoadjuvan kemoterapi süresince CD56<sup>dim</sup> CD16<sup>bright</sup> CD133<sup>+</sup> (gated) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, doğrusal (linear) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p = 0.007$ ).

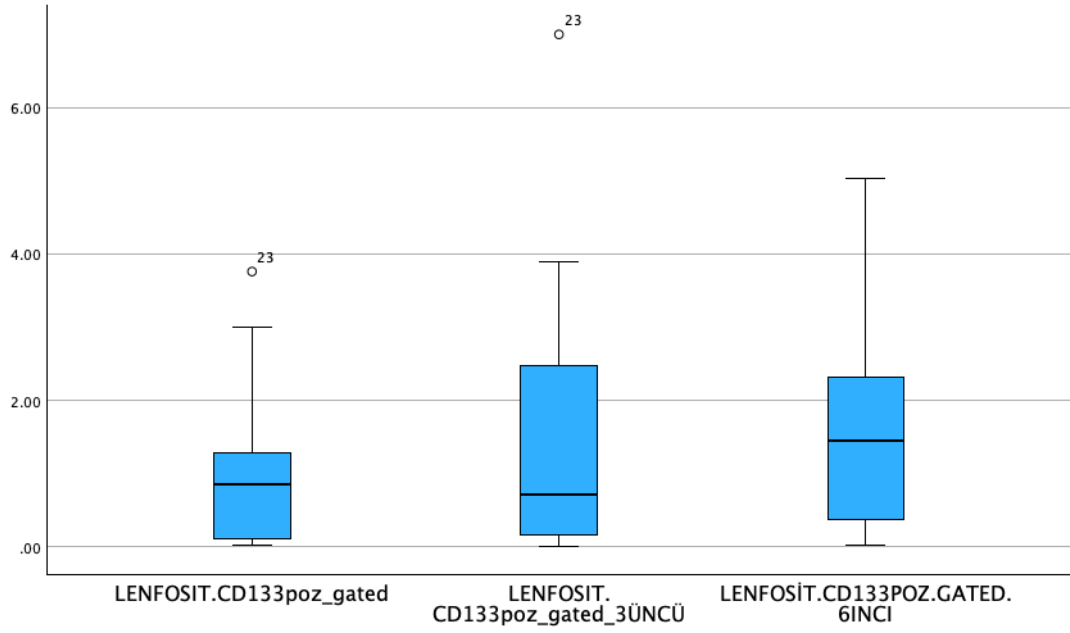
**Grafik 11:** Neoadjuvan kemoterapi süresince CD56<sup>dim</sup> CD16<sup>dim</sup> (gated) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, eğrisel (kuadratik) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p = 0.003$ ).

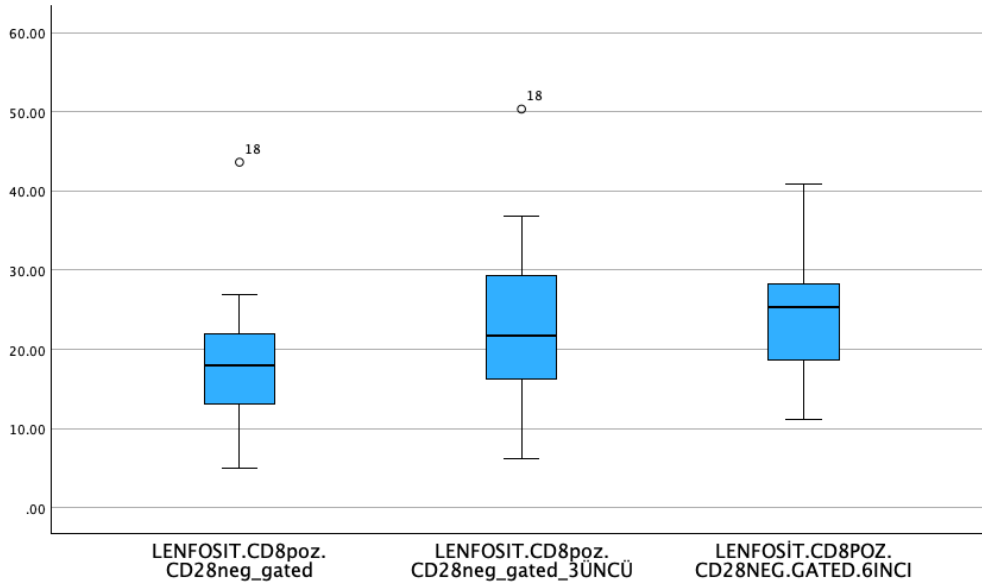


**Grafik 12:** Neoadjuvan kemoterapi süresince Lenfosit CD133<sup>+</sup> (gated) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



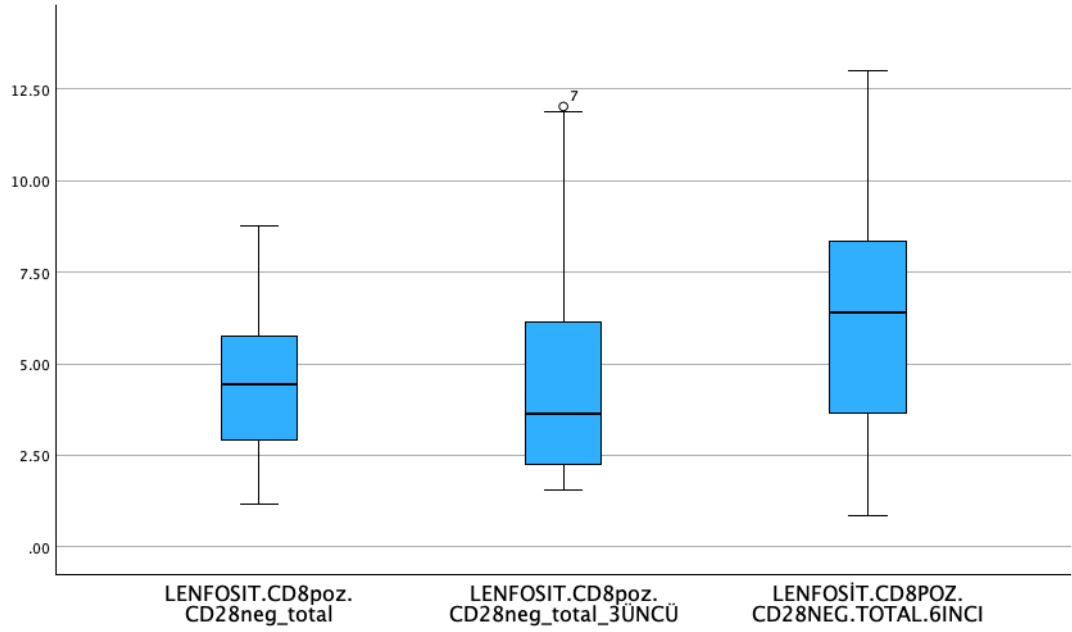
Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, doğrusal (linear) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p = 0.044$ ).

**Grafik 13:** Neoadjuvan kemoterapi süresince Lenfosit CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> (gated) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, doğrusal (linear) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p = 0.003$ ).

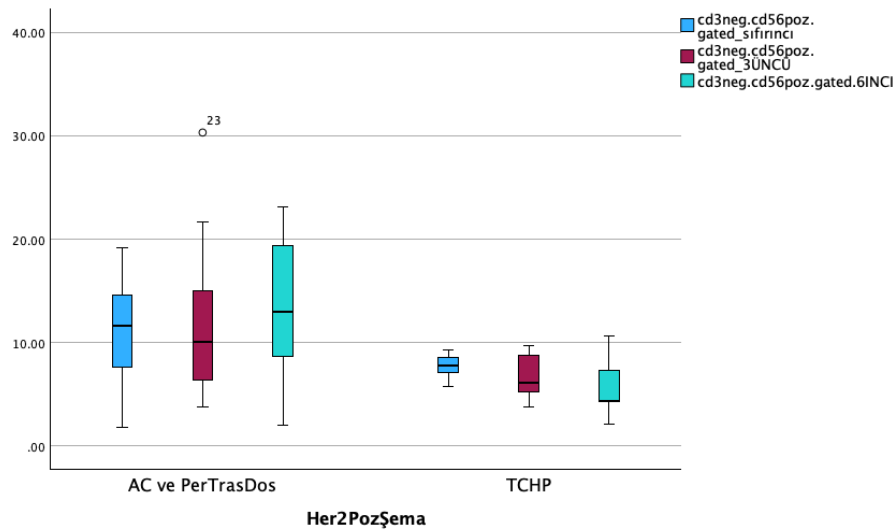
**Grafik 14:** Neoadjuvan kemoterapi süresince Lenfosit CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> (total) hücre oranlarının 0., 3. ve 6. ay ölçümlerine göre dağılımı (Box-plot grafiği).



Zaman noktaları arasındaki fark Friedman testi ile değerlendirilmiş olup, doğrusal (linear) yönde anlamlı değişim saptanmıştır ( $p = 0.019$ ).

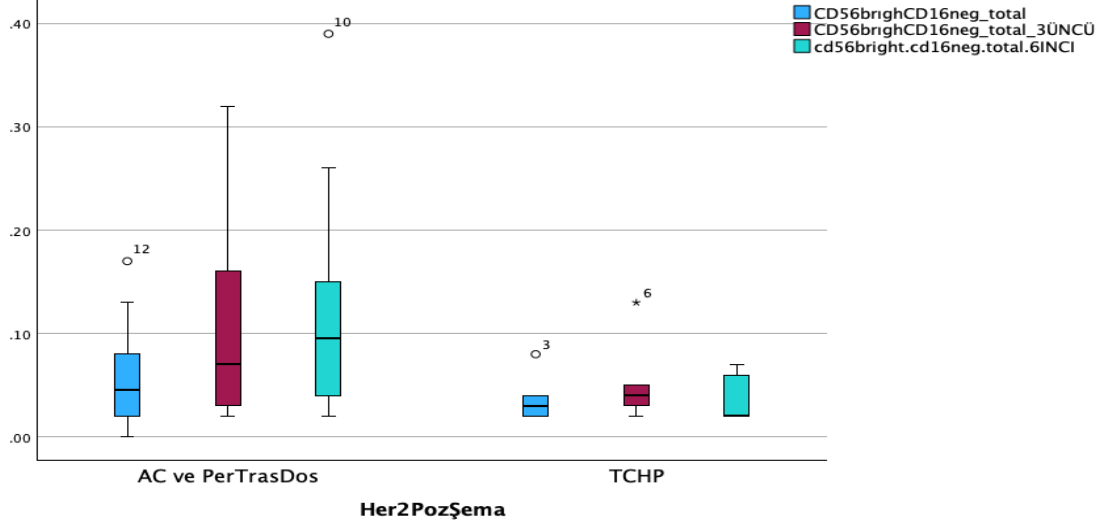
#### 4.3 NK hücre alt gruplarının tedavi kollarına göre dağılımı

CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> hücre oranı için yapılan Friedman testi sonucunda, zaman içinde (0., 3. ve 6. ay) yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Buna karşın, tedavi kollarına göre gruplar arasında anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 3:** CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> NK hücrelerinin tedavi kollarına ve zaman noktalarına göre dağılımı

CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup> hücreleri için yapılan Friedman testi sonucunda, 0., 3. ve 6. ay ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Buna karşın, tedavi kollarına göre gruplar arasında bu değişken açısından anlamlı fark bulundu ( $p=0.042$ ).



**Şekil 4:** CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup> total NK hücrelerinin tedavi kollarına ve zaman noktalarına göre dağılımı

#### 4.4 Neoadjuvan kemoterapi tedavi sonrası tam yanıt ile ilişkili faktörler

Neoadjuvan kemoterapi sonrası tam yanıt ile immünofenotipik ve klinik parametreler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için yapılan tek değişkenli ikili lojistik regresyon analizinde, incelenen değişkenlerin hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ( $p>0.05$ ). NK hücreleri, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T hücreleri, tedavi protokolü, yaş, klinik evre, tümör yerleşimi ve diğer patolojik parametreler tam yanıtla anlamlı ilişki göstermedi (Tablo 9).

**Tablo 9:** İmmünofenotipik ve klinik parametrelerin tek değişkenli ikili lojistik regresyon analizi sonuçları

| Değişken                                                         | B       | S.E.      | Wald  | OR (Exp(B)) | %95 CI (Alt - Üst) | p    |
|------------------------------------------------------------------|---------|-----------|-------|-------------|--------------------|------|
| NK hücreleri (yüksek vs düşük)                                   | -21,491 | 20096.485 | .000  | .000        | .000 – ∞           | .999 |
| CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup> T hücreleri (yüksek vs düşük) | -1.386  | 1.384     | 1.003 | .250        | .017-3.770         | .317 |
| Tedavi protokolü (AC vs TCHP)                                    | 2.015   | 1.426     | 1.997 | 7.500       | .458-122.696       | .158 |

|                          |         |           |       |                       |                 |       |
|--------------------------|---------|-----------|-------|-----------------------|-----------------|-------|
| Yaş (<40 vs ≥40)         | -22.050 | 40192.962 | .000  | .000                  | .000 – ∞        | 1.000 |
| Klinik evre (II vs III)  | .916    | 1.304     | .494  | 2.500                 | .194-32.194     | .482  |
| Perinöral invazyon       | -20.797 | 40192.70  | .000  | .000                  | .000 – ∞        | 1.000 |
| Lenfovasküler invazyon   | 22.050  | 40192.969 | 0.000 | 3.769×10 <sup>9</sup> | 0.000 – ∞       | 1.000 |
| Çıkarılan lenf nodu      | -0.069  | 0.116     | 0.348 | 0.934                 | 0.744 – 1.173   | 0.555 |
| Patolojik lenf nodu olan | -1.623  | 1.184     | 1.880 | 0.197                 | 0.019 – 2.008   | 0.170 |
| Histolojik grade         | .916    | 1.304     | .494  | 2.500                 | .194-32.194     | 0.482 |
| Multifokalite            | 2.015   | 1.426     | 1.997 | 7.500                 | 0.458 – 122.696 | 0.158 |
| P53                      | 21.203  | 23205.423 | .000  | 1615474800            | 0.000 – ∞       | 0.999 |
| Ki-67 (cut-off 14)       | 20.692  | 28420.721 | .000  | 969284842             | 0.000 – ∞       | .999  |
| ER yüzdesi               | -.113   | .079      | 2.022 | .894                  | .765 – 1.044    | .155  |
| PR yüzdesi               | -.259   | .247      | 1.102 | .772                  | .475 – 1.252    | .294  |
| Tm yerleşimi             | -1.504  | 1.472     | 1.044 | .222                  | .012 – 3.979    | .307  |
| Tm lokalizasyonu         | -2.890  | 1.581     | 3.342 | .056                  | .003 – 1.232    | .068  |

Lojistik regresyon analizi sonuçlarına göre, değerlendirilen değişkenlerden hiçbirinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ( $p < 0.05$ ) bağımlı değişken üzerinde etkisi bulunmamıştır. Değişkenlerin tamamında p değerleri 0.05'in üzerinde, bazı değişkenlerde ise ekstrem değerler (örneğin  $p = 0.999$  veya  $p = 1.000$ ) gözlenmiştir. Bu durum, çalışmanın muhtemelen örneklem yetersizliği, yüksek varyans (SE'nin çok yüksek olması) veya veri dengesizliği (örneğin bazı kategorilerde gözlem sayısının çok az olması) nedeniyle kararlı tahminler üretilmediğini düşündürmektedir.

Değişken bazında elde edilen sonuçlar incelendiğinde:

NK hücreleri (yüksek vs düşük) için  $B = -21.491$  olup,  $p = 0.999$ 'dur. Bu değişkenin odds oranı ( $OR = .000$ ) bağımlı değişken üzerinde etkisinin olmadığını göstermektedir.

$CD8^+CD28^-$  T hücreleri değişkeni için  $B = -1.386$ ,  $OR = 0.25$  (95% CI: 0.017–3.770) olup,  $p = 0.317$ 'dir. Yüksek düzeyde bu hücrelere sahip olmanın olasılığı dört kat azaltsa da, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Tedavi protokolü (AC vs TCHP) değişkeni için  $B = 2.015$ ,  $OR = 7.5$  olarak hesaplanmıştır ( $p = 0.158$ ). Bu sonuç, TCHP tedavi protokolü uygulanan olgularda olayın (örneğin tam yanıt) yaklaşık 7.5 kat artabileceğini göstermektedir, ancak bu fark anlamlı değildir.

Yaş (<40 vs  $\geq 40$ ), perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon gibi değişkenlerde B değerleri çok büyük ( $\pm 20$  civarında) ve standart hatalar ( $SE > 40000$ ) aşırı yüksek olup, modelin bu değişkenlerde güvenilir tahmin üretmediğini göstermektedir.

Patolojik lenf nodu varlığı ( $B = -1.623$ ,  $OR = 0.197$ ,  $p = .170$ ), tümör yerleşimi ( $B = -1.504$ ,  $OR = 0.222$ ,  $p = .307$ ) ve tümör lokalizasyonu ( $B = -2.890$ ,  $OR = 0.056$ ,  $p = .068$ ) değişkenleri olay olasılığını azaltan yönde etkiler göstermiştir. Özellikle tümör lokalizasyonu değişkeni ( $p = 0.068$ ) anlamlılığa en yakın değeri taşımaktadır ve klinik olarak dikkate değer bir eğilim göstermektedir.

ER ve PR yüzdeleri için elde edilen B katsayıları negatif olup (ER:  $B = -0.113$ ,  $p = .155$ ; PR:  $B = -0.259$ ,  $p = .294$ ), reseptör yüzdesi arttıkça olay olasılığının azaldığını (koruyucu etki) düşündürmektedir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Histolojik grade ve multifokalite değişkenleri için  $OR = 2.50$  ve  $OR = 7.50$  değerleri elde edilmiş, p değerleri sırasıyla 0.482 ve 0.158 bulunmuştur. Bu da yüksek histolojik grade veya multifokalitenin olay riskini artırabileceğini ancak anlamlılık düzeyine ulaşmadığını göstermektedir.

P53 ve Ki-67 gibi proliferasyon ve tümör supresyon belirteçlerinde B değerleri aşırı yüksek (örneğin P53:  $B = 21.203$ ), SE değerleri çok büyük ve p

> .999'dur. Bu durum, veri dengesizliğine veya modelde konverjans (uyum) sorununa işaret etmektedir.

Bulgular, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermemekle birlikte bazı biyolojik eğilimleri ortaya koymaktadır. İmmünolojik değişkenler açısından: NK hücrelerinin yüksek olduğu olgularda olay olasılığının azalması (B negatif), immün sistemin antitümöral etkisini destekler niteliktedir. Benzer şekilde, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T hücrelerinin yüksek olduğu durumlarda da olasılığın azaldığı görülmüştür. Bu hücre alt grupları, tümör mikroçevresindeki sitotoksik yanıtın düzenlenmesinde rol oynadığından, biyolojik açıdan bu bulgu anlamlıdır. Ancak, istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamış olması örneklem yetersizliği veya hücre sayılarındaki varyasyonla açıklanabilir. Tedavi protokolü (AC vs TCHP) değişkeni açısından, TCHP protokolü uygulanan hastalarda yaklaşık 7.5 kat daha yüksek bir olay olasılığı (örneğin patolojik tam yanıt olasılığı) gözlenmiştir. Bu bulgu, HER2 pozitif meme kanserinde TCHP protokolünün yüksek etkinliği ile uyumludur. Ancak geniş güven aralığı (0.458–122.696) bu sonucun istatistiksel güvenilirliğini azaltmaktadır. Tümör biyolojisi açısından: ER ve PR yüzdesindeki artışın koruyucu yönde etkisi (B negatif) beklenen bir bulgudur. Çünkü yüksek hormon reseptör ekspresyonu genellikle daha iyi prognozla ilişkilidir. Buna karşılık, yüksek histolojik grade ve multifokalite değerlerinin pozitif B katsayıları, kötü prognozla ilişkili klasik bulgularla uyumludur.

#### 4.5 Neoadjuvan kemoterapiden 6 ay sonra tam yanıt ile ilişkili faktörlerin tek değişkenli analizi

**Tablo 10:** Neoadjuvan kemoterapiden 6 ay sonra immünofenotipik ve klinik parametrelerin tek değişkenli ikili lojistik regresyon analizi

| Değişken                                              | B      | S.E.  | Wald  | HR (Exp(B)) | %95 CI (Alt - Üst) | P    |
|-------------------------------------------------------|--------|-------|-------|-------------|--------------------|------|
| CD3 <sup>+</sup> T hücreleri                          | .102   | .111  | .845  | 1.107       | .891 – 1.375       | .358 |
| CD8 <sup>+</sup> T hücreleri                          | -.062  | .059  | 1.098 | .940        | .838 – 1.055       | .295 |
| CD56 <sup>bright</sup> CD16 <sup>-</sup> NK hücreleri | -4.942 | 4.981 | .985  | .007        | .000 – 123.881     | .321 |

|                                                                         |          |           |       |            |               |       |
|-------------------------------------------------------------------------|----------|-----------|-------|------------|---------------|-------|
| CD56 <sup>dim</sup> CD16 <sup>bri</sup><br>ght NK hücreleri             | -.153    | .151      | 1.026 | .858       | .637 – 1.154  | .311  |
| CD56 <sup>dim</sup> CD16 <sup>-</sup> /<br>d <sup>im</sup> NK hücreleri | .026     | .147      | .030  | 1.026      | .769 – 1.370  | .862  |
| CD56 <sup>-</sup> CD16 <sup>+</sup><br>NK hücreleri                     | -.186    | .332      | .314  | .830       | .433 – 1.592  | .576  |
| CD133 <sup>+</sup><br>lenfositler                                       | -.217    | .551      | .156  | .805       | .273 – 2.368  | .693  |
| Yaş                                                                     |          |           |       |            |               |       |
| <40 yaş                                                                 | Referans |           |       |            |               |       |
| ≥40 yaş                                                                 | -22.050  | 40192.991 | .000  | .000       | .000 - ∞      | 1.000 |
| Sigara                                                                  |          |           |       |            |               |       |
| Kullanmıyor                                                             | Referans |           |       |            |               |       |
| Kullanıyor                                                              | .693     | 1.581     | .192  | 2.000      | .090 – 44.350 | .661  |
| Klinik tanı evresi                                                      |          |           |       |            |               |       |
| Evre 2                                                                  | Referans |           |       |            |               |       |
| Evre 3                                                                  | .916     | 1.304     | .494  | 2.500      | .194 – 32.194 | .482  |
| T evresi                                                                |          |           |       |            |               |       |
| T1                                                                      | Referans |           |       |            |               |       |
| T2-4                                                                    | 20.797   | 40192.962 | .000  | 1076983283 | .000 - ∞      | 1.000 |
| N evresi                                                                |          |           |       |            |               |       |
| N1                                                                      | Referans |           |       |            |               |       |
| N2-3                                                                    | .916     | 1.304     | .494  | 2.500      | .194 – 32.194 | .482  |
| Tanıda menapoz                                                          |          |           |       |            |               |       |
| Premenapozal                                                            | Referans |           |       |            |               |       |

Neoadjuvan kemoterapiden 6 ay sonra yapılan tek değişkenli lojistik regresyon analizinde, tam yanıt ile immünofenotipik ve klinik değişkenler arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0.05$ ) (Tablo 4).

#### 4.5.1 T hücre alt grupları:

CD3<sup>+</sup> T hücreleri için HR = 1.107 (95% CI: 0.891–1.375, p = 0.358) bulunmuştur. Bu değer, CD3<sup>+</sup> hücre oranındaki artışın sağkalım üzerinde hafif artmış risk ile ilişkili olabileceğini ancak anlamlı olmadığını göstermektedir.

CD8<sup>+</sup> T hücreleri için HR = 0.940 (95% CI: 0.838–1.055, p = 0.295) olup, CD8<sup>+</sup> hücre oranındaki artışın sağkalım riskini azaltıcı yönde (koruyucu) etkisi olduğu, fakat bu etkinin istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığı görülmektedir.

#### 4.5.2 NK hücre alt grupları:

CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup> NK hücreleri için HR = 0.007 (95% CI: 0.000–123.881, p = 0.321) bulunmuştur. Bu hücre popülasyonunun artışının sağkalım açısından koruyucu yönde etkisi olabileceği, ancak geniş güven aralığı ve yüksek standart hata (SE = 4.981) nedeniyle bu sonucun güvenilir olmadığı düşünülmektedir.

CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>bright</sup> NK hücreleri (HR = 0.858, p = 0.311) ve CD56<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup> NK hücreleri (HR = 0.830, p = 0.576) de benzer şekilde koruyucu eğilim göstermektedir.

Buna karşın CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>-/dim</sup> NK hücreleri için HR = 1.026 (p = 0.862) olup etkisizdir.

#### 4.5.3 CD133<sup>+</sup> lenfositler:

HR = 0.805 (95% CI: 0.273–2.368, p = 0.693). Bu hücrelerin tümör mikroçevresinde kök hücre benzeri özellik taşıdığı bilinmekle birlikte, sağkalım üzerindeki etkisi bu modelde anlamlı değildir.

#### 4.6 Klinik ve demografik değişkenler:

Yaş değişkeninde (≥40 yaş vs <40 yaş) B = -22.050, p = 1.000 olup, model konverjans problemi göstermektedir. Bu sonuç, yaş kategorilerinde örneklem dengesizliği olduğunu düşündürmektedir.

Sigara kullanımı HR = 2.000 (p = 0.661) olup, sigara kullanan hastalarda ölüm riskinin yaklaşık iki kat arttığı görülmektedir; ancak anlamlı değildir.

Klinik evre (III vs II) ve N evresi (N2–3 vs N1) değişkenlerinde HR = 2.500 (p = 0.482) bulunmuştur. Bu, ileri evre hastalığın mortalite riskini yaklaşık 2.5



kat artırdığını, fakat örneklem büyüklüğünün bu farkı anlamlı göstermek için yetersiz kaldığını göstermektedir.

T evresi (T2–4 vs T1) için HR değeri  $1.07 \times 10^9$  ( $p = 1.000$ ) olup modelde aşırı sapma vardır; bu değişkende muhtemelen tüm gözlemler aynı kategoride toplanmıştır.

Tanıda menopoza durumu (postmenopozal vs premenopozal) HR = 1.333 (95% CI: 0.113–15.704,  $p = 0.819$ ) ile nötr etkiye sahiptir.

Genel olarak çalışmanın tam yanıt açısından istatistiksel anlamlı değişken içermediği, ancak bağışıklık hücresi alt tiplerinin biyolojik etkileri açısından dikkate değer eğilimler gösterdiği söylenebilir. Cox regresyon analizi sonuçları, istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamış olsa da bazı immünolojik ve klinik parametrelerin sağkalım üzerinde potansiyel etkilerini ortaya koymuştur. CD8<sup>+</sup> T hücreleri, antitümöral immün yanıtın en önemli efektör hücrelerinden biridir. Analizde CD8<sup>+</sup> hücre oranındaki artışın sağkalım riskini azaltıcı yönde (HR < 1) bir eğilim göstermesi, biyolojik olarak beklenen bir sonuçtur. Bu bulgu, literatürde CD8<sup>+</sup> infiltrasyonunun iyi prognozla ilişkilendirildiğini bildiren çalışmaları desteklemektedir (74). (Ancak bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmaması, örneklem boyutunun sınırlı olmasıyla açıklanabilir. NK hücre alt popülasyonları incelendiğinde, özellikle CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup> fenotipindeki hücrelerin koruyucu eğilim göstermesi (HR = 0.007) dikkate değerdir. Bu hücreler yüksek sitokin salınımı potansiyeline sahiptir ve tümör mikroçevresinde immün modülasyonu düzenler. Buna karşın CD56<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup> alt tipinin sitotoksik etkisi daha zayıf olup, çalışmada da bu hücre tipi için belirgin bir koruyuculuk gözlenmemiştir. Bu farklılık, NK hücre alt tiplerinin fonksiyonel çeşitliliğini yansıtır olabilir. Klinik parametreler açısından, evre artışıyla birlikte mortalite riskinin yükselmesi (HR  $\approx$  2.5) klinik olarak beklenen bir sonuçtur. Sigara kullanımı ve postmenopozal durum gibi değişkenlerde de sağkalım üzerinde belirgin bir etki görülmemiştir.

## V. TARTIŞMA

Bu prospektif çalışmada, meme kanseri hastalarında NAKT rejimleri ile periferik kan immün hücre alt gruplarında oluşan dinamik ve zamana bağlı değişimler ve bu değişimlerin patolojik tam yanıt üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Çalışmamızda immün hücrelerin tedavi öncesi (0. ay), 3. ay ve 6. ay ölçümleri arasında anlamlı değişiklikler saptanmıştır. Malignitelere immün disfonksiyon yaygın olup kanserin ilerlemesine ve kemoterapi direncine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (75). NAKT sırasında bağışıklık durumunu inceleyen bir çalışma kemoterapilere verilen immün yanıtların, tedavi edilmemiş tümörlerde önceden var olan immün özelliklerden güçlü bir şekilde etkilendiği göstermiştir. Bu nedenle, kemoterapi ve diğer antikanser tedaviler sırasında tümör immün dinamiklerinin zaman içinde izlenmesi, terapötik yanıtın tek başına başlangıç karakterizasyonundan daha iyi doğrulukla erken tahmin edilmesini sağlayabilir (76).

Çalışmamızda, Total Lenfosit Sayısı (TLS) düzeyinde zaman boyunca (0. ay – 3. ay – 6. ay) incelendiğinde, istatistiksel açıdan anlamlı kuadratik (eğrisel) bir değişim ( $p = 0.017$ ) tespit edilmiştir. Lenfosit sayısının başlangıçta (0. Ay) belirli düzeyde olması, 3. Ay civarında anlamlı bir düşüş göstermesi (muhtemelen kemoterapinin neden olduğu lenfopeni) ve ardından 6. Ayda yeniden artma eğilimi göstermesi öne çıkmaktadır. Bu bulgu, kemoterapötik ajanların yüksek proliferasyon oranına sahip hücreleri hedef almasının bir sonucu olarak immün sistem üzerinde oluşturduğu akut sitotoksik etkiyi ve geçici baskılanmayı yansıtmaktadır. Literatürde benzer şekilde, neoadjuvan kemoterapinin tümör içi ve periferik immün hücre popülasyonlarını dinamik olarak değiştirdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Park ve ark. 281 tümör biyopsisiyle yapılan analizde, NAKT'ın immün mikroçevrede “önce artış, ardından azalış” paterni yarattığını göstermiştir (76).

Çalışmamızın ortaya koyduğu bu değişimler dolaşımdaki immün hücre dinamiklerinin klinik sonuçlarla ilişkilendirilme potansiyelini güçlendirmektedir. Bu bağlamda Zhang ve ark. yaptığı çalışmada, NAKT sonrası CD4<sup>+</sup> ve NK

hücre düzeylerinde pCR elde eden grupla etmeyen gruplar arasında anlamlı farklar olduğu bildirilmiştir (77).

NK hücre alt grupları açısından da anlamlı kuadratik değişimler bulunmuştur:  $CD3^+CD56^+$  (NKT benzeri) hücrelerde  $p = 0.003$ , ayrıca  $CD56^{dim}CD16^{dim}$  alt grubunda da  $p = 0.003$  düzeyinde eğrisel değişim vardır. Bu bulgu, NK hücre alt tiplerinin kemoterapiye yanıt verirken sadece sayısal olarak değil, alt popülasyon düzeyinde bir yeniden dengelenme sürecine girdiğini düşündürmektedir. Bu durum, NK hücrelerinin farklı fenotiplerinin tedavi sürecine farklı yanıtlar verdiğini ortaya koymaktadır. Literatürde de kemoterapi sonrasında NK hücre fonksiyonunda değişim ve alt tip oranlarında kaymalar rapor edilmiştir (78). Özellikle  $CD3^+CD56^+$  NK hücreleri, hem doğal hem de adapte edici immün yanıt mekanizmalarında rol alır; bu hücrelerin dinamik değişimi, kemoterapiye yanıt sırasında antitümöral immün aktivitenin sürekliliğine işaret eder.  $CD56^{dim}CD16^{dim}$  NK hücreleri sitotoksik kapasite ve sitokin üretimi açısından kendine özgü özelliklere sahiptir. Bu alt gruptaki kuadratik değişim, tedaviye bağlı olarak sitotoksik etkinliğin geçici olarak baskılanmasının ardından yeniden aktive olma potansiyelini düşündürmektedir. Bu süreç, tümör hücrelerinin eliminasyonu ve immün denge arasındaki etkileşimin dinamik olarak şekillendiğini göstermektedir. Bu sonuçlar, immün hücre dinamiklerinin yalnızca kantitatif açıdan değil, aynı zamanda zamana bağlı eğrisel değişimlerinin de önemini ortaya koymaktadır. Gelecekteki araştırmalar, NK hücre alt gruplarının fonksiyonel kapasitesinin (sitokin salınımı ve sitotoksik aktivite gibi) değerlendirilmesiyle, kemoterapiye yanıtın immün belirteçler aracılığıyla daha doğru bir şekilde öngörülmesine önemli katkılar sağlayabilecektir.

Çalışmamızda  $CD4^+$  ve  $CD8^+$  T lenfosit oranlarında tedavi süreci boyunca anlamlı doğrusal değişimler gözlenmiştir. Bu doğrusal artış veya azalma, kemoterapiye yanıtın immünolojik göstergesi olarak değerlendirilebilir ve adaptif T hücre yanıtlarının zamana bağlı olarak modülasyon geçirdiğini düşündürmektedir.

CD4<sup>+</sup> yardımcı T hücreleri, immün yanıtın koordinasyonunda merkezi bir rol oynamaktadır (79). CD4<sup>+</sup> hücre oranlarındaki azalma, kemoterapinin doğrudan sitotoksik etkisini ve geçici immün supresyonu yansıtabilirken, tedavi ilerledikçe gözlemlenen artış, immün sistemin homeostatik mekanizmalarla toparlanmasını ve tümör antijenlerine karşı yeniden aktivasyonun potansiyelini işaret etmektedir. Park ve arkadaşlarının çalışması da CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> (yardımcı T lenfosit) hücrelerde tedavi süresince fonksiyonel bozulma ve sayısal düşüş saptamış; bu değişimin tedavi bitiminden sonra kısmen toparlandığını göstermiştir (76).

CD8<sup>+</sup> T lenfositler, tümör hücrelerini doğrudan elimine edebilen antitümör immünitenin temel efektör hücre grubudur. Bu popülasyondaki artış eğilimi, kemoterapi ile ortaya çıkan tümör antijenlerinin T hücreleri tarafından tanınmasının kolaylaştığını ve sitotoksik yanıtın güçlenmesini gösterebilirken; azalma ise geçici immün baskılanmanın bir göstergesi olabilir. Kemoterapi, özellikle hızlı çoğalan hücreleri hedeflediği için lenfosit alt popülasyonlarında erken dönemde geçici azalma, ilerleyen aylarda ise immün toparlanma şeklinde dinamik bir seyir izlemektedir.

CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücre oranlarındaki bu doğrusal değişimler, tümör yükü, immün baskılanma derecesi ve tedaviye yanıt gibi prognostik faktörlerle korelasyon gösterebilir. Dolayısıyla, periferik kanda uygulanan bu adaptif T hücresi immün profillemesi, neoadjuvan tedaviye ilişkin yanıtın ve sağkalımın öngörülmesinde potansiyel bir biyobelirteç aracı olarak değerlendirilmelidir.

Özel bir alt grup olan CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> lenfositler ise PFS için önemli bir belirleyicidir (75). Çalışmamızda CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> lenfositlerde neoadjuvan kemoterapi süresince anlamlı doğrusal bir artış izlenmiştir. (p = 0.003) Periferik kanda CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> lenfositlerin sağlıklı ve meme kanseri tanılı hastalarda karşılaştırıldığı bir çalışmada meme kanseri hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> alt kümesinde anlamlı bir artış olduğu gözlemlenmiştir(75). Elde edilen bu sonuç, genel olarak literatürdeki verilerle uyumluluk göstermektedir.

Pentaspın transmembran glikoproteini olan CD133 (AC133 ve prominin-1 olarak da bilinir) kök hücreler için potansiyel bir belirteçtir (80) CD133 beyin,

kolon, pankreas, prostat, akciğer ve karaciğer dahil olmak üzere çeşitli solid tümörlerde kanser kök hücrelerini (CSC) saptamak ve izole etmek için en sık kullanılan hücre yüzeyi antijenidir. Özellikle beyin, prostat ve kolon kanserleri CD133'ün en çok çalışıldığı solid tümörlerdir. Meme kanserinde yeterli sayıda çalışma olmamakla birlikte yapılan çalışmalar, CD133 + hücrelerinin yüksek tümörijenite, in vivo kendini yenileme yeteneği, artmış metastatik potansiyel ve fonksiyonel/moleküler heterojen hücre popülasyonlarına yol açma kapasitesi sergilediğini göstermiştir (80). CD133'ün kanser evrimindeki rolü daha fazla aydınlatılmaya muhtaç olsa da, bazı çalışmalar meme kanserinde agresifliğin ve tedavi optimizasyonu potansiyelinin öngörücü belirteci olarak rolünü araştırmıştır. Bu nedenle, CSC belirteci olan CD133'ü hedefleyen yeni antikanser tedavi stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır (81).

Literatürde CD133+ hücre çalışmaları genellikle tümör dokusu ve metastatik hastalar üzerinde yoğunlaşmıştır, çalışmamız bu hücreleri periferik kandan izole etmiştir. Metastatik akciğer kanserli hastalarda periferik kandan yapılan bir çalışmada; hastaların kanında CD133+ hücrelerinin oranının ve sayısının yüksek olduğunu bulunmuştur (82). Çalışmamızda da Friedman testi sonuçları, lenfosit içindeki CD133+ (gated) hücre oranlarının zamanla doğrusal yönde anlamlı bir artış gösterdiğini ortaya koymuştur ( $p = 0.044$ ).

Elde edilen bulgular ve daha önce tartışılan immün hücre değişimleri, NAKT'nin yalnızca tümör hacmi ve biyolojik agresiflik üzerinde değil, aynı zamanda sistemik bağışıklık yanıtı ve kök hücre popülasyonları üzerinde de önemli ve çok yönlü etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Periferik lenfosit alt gruplarındaki değişimler, tedavi sürecinde immün sistemin durumu ve yeniden yapılanma kapasitesi hakkında değerli ipuçları sunmaktadır. Örneğin, tedavi sırasında ciddi lenfopeni, hastanın immün direncini ve potansiyel olarak antitümör yanıt kapasitesini azaltabilir. Bu bağlamda yüksek proliferatif tümörlerde ve HER2 pozitif alt gruplarda immün yanıtın desteklenmesi, pCR oranlarının artırılması için önemli bir stratejik hedef olabilir. CD4+, CD8+ ve NK hücre alt tiplerindeki değişimlerin pCR ve uzun dönem sağkalım için biyobelirteç potansiyeli taşıdığı literatürde giderek artan şekilde vurgulanmaktadır (83).

Çalışmamızda NAKT sonrası pCR ile, incelenen immünofenotipik ve klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (tüm p değerleri >0.05). Bu durumun, temelde örneklem büyüklüğünün sınırlılığı ve veri dengesizliği gibi metodolojik kısıtlılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmaya dahil edilen hasta sayısının kısıtlı olması, analizlerin istatistiksel gücünü düşürmüştür. Klinik ve immünolojik parametrelerin heterojen dağılımı, özellikle bazı immün hücre alt gruplarının düşük veya yüksek prevalansı, analizlerin duyarlılığını azaltmıştır.

İstatistiksel olarak anlamlılık eşiğine ulaşamamış olsa dahi, bazı biyolojik eğilimler dikkat çekmektedir: TCHP (Trastuzumab, Pertuzumab, Siklofosfamid, Doksorubisin) protokolü uygulanan hastalarda pCR olasılığında sayısal bir artış eğilimi ve yüksek bazal NK/CD8<sup>+</sup> T hücre seviyelerinin koruyucu yönde bir eğilim göstermesi gözlemlenmiştir. Bu bulgular, immün yanıtın klinik etkinlik üzerinde potansiyel bir rol oynadığını ve bu biyolojik sinyalin daha geniş kohortlarla yapılacak çalışmalarda doğrulanabilir nitelikte olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda uygulanan NAKT protokolünün pCR üzerindeki potansiyel etkisi incelenmiştir. TCHP (Doksetaksel, Karboplatin, Trastuzumab, Pertuzumab) protokolü uygulanan hasta grubunda, AC (Adriamisin + Siklofosfamid) tabanlı rejimleri alan hastalara kıyasla pCR elde etme olasılığının daha yüksek olduğu yönünde güçlü bir biyolojik eğilim gözlemlenmiştir (OR ≈ 7.5; p=0.158).

TCHP rejimi, HER2 pozitif meme kanserinde hem sitotoksik kemoterapi ajanlarını hem de HER2 hedefli monoklonal antikorları (Trastuzumab ve Pertuzumab) içermektedir. Bu kombinasyonun, tümör hücrelerinin doğrudan eliminasyonu yoluyla sitotoksik etki göstermesinin yanı sıra, immün sistem aracılığıyla antitümöral yanıtın güçlendirilmesi (örneğin, antikor bağımlı hücresel sitotoksikite- ADCC) açısından da biyolojik bir üstünlük sağlaması beklenmektedir. Artan pCR olasılığı, bu rejimin klinik etkinliğini desteklemektedir. OR ≈ 7.5 değeri, TCHP uygulanan hastalarda AC tabanlı rejimlere kıyasla pCR elde etme olasılığının yaklaşık 7.5 kat daha yüksek olduğunu göstermektedir. Her ne kadar p değeri 0.05'in üzerinde (p = 0.158)

kalarak istatistiksel anlamlılığa ulaşmamış olsa da, bu yüksek OR değeri geniş bir güven aralığı ile biyolojik açıdan dikkate değer bir eğilimi yansıtmaktadır. Bu durum, örneklem büyüklüğünün sınırlılığı ve veri heterojenitesinden kaynaklanabilir. TCHP protokolünün yüksek pCR eğilimi, özellikle cerrahi öncesi tümör küçültme ve uzun dönem sağkalım üzerinde potansiyel faydalar sunmaktadır. Yüksek pCR elde edilen hastalarda, immün hücre profillerinin (özellikle NK ve CD8<sup>+</sup> T hücreleri) klinik yanıt ile ilişkisi araştırıldığında, immün sistemin tedaviye katkısı hakkında önemli bilgiler edinilebilir. Bu bulgular, TCHP protokolünün AC tabanlı rejimlere kıyasla immün yanıtı destekleyen ve pCR'ı artıran bir strateji olduğunu düşündürmektedir. Gelecekteki çalışmalar, daha geniş kohortlar ve çok değişkenli modeller kullanarak, TCHP'nin farklı HER2 pozitif alt gruplarda (ER/PR durumu, tümör hacmi) immün hücre dinamikleri ve klinik yanıt ile ilişkisini detaylı olarak inceleyebilir.

Sitotoksik T lenfositleri olan CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin PFS üzerindeki etkisi incelendiğinde, CD8<sup>+</sup> T hücre oranındaki artışın sağkalım riskini azaltıcı yönde (koruyucu) bir eğilim gösterdiği gözlemlenmiştir (HR = 0.940, p = 0.295). Bu bulgu, antitümöral immünitenin temel taşı olan CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin yüksek düzeyde bulunmasının tümör progresyonunu yavaşlatabileceğini göstermektedir. Her ne kadar p değeri istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamış olsa da, bu koruyucu eğilim biyolojik olarak beklenen ve literatürde desteklenen bir sonuçtur. CD8<sup>+</sup> T hücreleri, tümör hücrelerini direkt olarak lizis edebilme ve interferon-gamma gibi sitokinler aracılığıyla tümör mikroçevresini modüle edebilme kapasitesine sahiptir.

NK hücre alt gruplarından özellikle CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup> alt tipinde belirgin bir koruyucu eğilim gözlenmiştir (HR = 0.007, p = 0.321). Bu alt tip, yüksek sitokin salınım kapasitesi ve immün modülasyon potansiyeli ile bilinmektedir. CD56<sup>bright</sup> NK hücreleri, antitümöral immün yanıtın hem doğrudan sitotoksik hem de immün sistem aracılı bileşenlerinde rol oynar. Bu hücrelerin yüksek düzeyde bulunması, tümör mikroçevresinde antitümöral yanıtın etkinliğini artırabilir ve PFS'yi uzatıcı yönde etkileyebilir.

Klinik evreye göre yapılan değerlendirmede, Evre 3 tanısının Evre 2'ye kıyasla sağkalım riskini artırıcı yönde bir eğilim gösterdiği saptanmıştır (HR ≈

2.5,  $p = 0.482$ ). Bu bulgu, ileri evre hastalığın tümör yükü ve biyolojik agresifliği nedeniyle prognozu olumsuz etkilediğini ve klinik evrenin PFS üzerindeki belirleyici rolünü desteklemektedir.

Bulgularımız dolaşımdaki sitotoksik immün hücrelerin ( $CD8^+$  T ve  $CD56^{bright}CD16^{-}NK$ ) prognostik belirteç olarak kullanılması hipotezini desteklemekte, ancak bu biyolojik eğilimlerin klinik pratiğe aktarılabilmesi için daha büyük kohortlar ve çok değişkenli analizlerin gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Yüksek bazal NK hücre düzeyleri ile  $CD8^+$  T hücrelerinin sağkalım üzerinde koruyucu eğilim gösterdiği tespit edilmiştir. Bu gözlem, tümör kontrolünde NK ve adaptif ( $CD8^+$  T) immün yanıtların klinik önemini destekleyen ve anti-tümöral immünitenin prognostik rolü ile uyumlu bir bulgudur. NK hücreleri, tümör hücrelerini MHC bağımsız mekanizmalarla tanıyıp doğrudan lizis edebilme kapasitesine sahiptir. Yüksek bazal NK hücre düzeyleri, kemoterapi öncesi güçlü bir doğal immün yanıtın varlığını gösterir ve tümör progresyonunu kontrol etmede kritik bir rol oynayabilir.

$CD8^+$  T lenfositleri, tümör antijenlerini tanıyarak hedef hücreleri öldüren sitotoksik T hücrelerdir. Bazal düzeyde yüksek  $CD8^+$  T hücresi oranları, tedavi sırasında immün yanıtın etkinliğini artırabilir ve uzun dönem sağkalımı destekleyebilir. Bu bulgular, dolaşımdaki bazal immün hücre profillerinin, hastaların prognozunu öngörmeye potansiyel biyobelirteç olarak klinik prognostik değer taşıyabileceğini düşündürmektedir. Yüksek NK ve  $CD8^+$  T hücre düzeyleri, NAKT'ye ek olarak tümör kontrolünde immün sistemin katkısını yansıtır ve biyobelirteç olarak klinik prognostik değer taşıyabilir. İmmün profillemenin, pCR ve uzun dönem sağkalımı öngörmeye klinik karar süreçlerine entegre edilmesi potansiyel bir strateji olarak değerlendirilebilir.

Çalışma kohortunda elde edilen pCR oranı %17,4 olup bu oran literatürde neoadjuvan çift anti-HER2 blokajı ve taksan içeren rejimlerle bildirilen değerlerin görece altında kalmaktadır. Örneğin NeoSphere çalışmasında pertuzumab + trastuzumab + dosetaksel (THP) kombinasyonu ile elde edilen pCR oranı yaklaşık %45.8 olarak bildirilmiş (84); TRYPHAENA çalışmasında ise farklı kombine rejim kollarda %57–66 bandında pCR oranları



raporlanmıştır (85). Bu karşılaştırmalar, çalışmamızdaki %17,4'lük pCR oranının görece düşük olduğunu göstermektedir. Bu düşüşün çok yönlü ve biyolojik olarak tutarlı nedenleri bulunmaktadır. Birinci olası neden, kohortumuzdaki tedavi dağılımıdır: olguların %78,3'ünün AC (doksorubisin-siklofosfamid) bazlı rejim sonrası Pertuzumab/Trastuzumab/Dosetaksel dozlaması (AC + PerTrastDos) alması, yalnız başına TCHP (taksan + carboplatin + trastuzumab + pertuzumab) gibi tam doz, çift anti-HER2 içeren ve çalışmalarda yüksek pCR ile ilişkilendirilen rejimlerin daha az (%21,7) kullanılmış olmasıdır. Gerçek yaşam verileri, TCHP benzeri rejimlerle %60'a varan pCR oranları bildirmektedir; dolayısıyla daha az yoğun veya farklı sekanslı rejim uygulaması pCR'in azalmasına katkıda bulunabilir (86). İkinci ve klinik açıdan kritik neden, kohortun biyolojik alt tip dağılımıdır. Çalışmamızdaki medyan ER ekspresyonu %40 gibi anlamlı düzeyde pozitifliği işaret etmekte; literatürde HER2 pozitif/HR pozitif tümörlerin (HER2+/HR+) neoadjuvan anti-HER2 tedavilere verilen pCR oranlarının, HER2+/HR- tümörlere kıyasla daha düşük olduğu sürekli olarak rapor edilmiştir. Bu etki, HR sinyal yolları ile HER2 yolu arasındaki çapraz konuşma ve hormon duyarlı tümörlerin kemoterapi/anti-HER2 tedaviye daha düşük duyarlılık göstermesiyle açıklanmaktadır. Dolayısıyla kohortun görece yüksek ER pozitifliğinin pCR'i aşağı çekmiş olması biyolojik açıdan tutarlı bir sebeptir (87).

Üçüncü olarak Ki-67 düzeyinin rolü karmaşıktır. Yüksek Ki-67 genelde kemoterapiye daha duyarlı, dolayısıyla yüksek pCR beklenen bir gösterge olarak kabul edilir; bazı çalışmalar HER2+ alt grupta yüksek Ki-67 ile pCR arasında pozitif ilişki bildirmiştir. Ancak Ki-67'in prognostik/prediktif gücü çalışmadan çalışmaya değişkenlik göstermekte ve bazı güncel analizler Ki-67'in HER2+ olgularda ek prediktif değer sağlamadığını da öne sürmektedir. Çalışmamızdaki Ki-67 yüksekliğinin (%14 cut-off'a göre çoğunlukta olması) beklenen yönde pCR'i artırmaya yeterli olmaması, ER pozitiflik gibi diğer biyolojik faktörlerin etkisi veya küçük örneklem kaynaklı istatistiksel güç eksikliğinin sonucu olabilir. Bu nedenle Ki-67'ün bağımsız prediktif rolü üzerine kesin sonuç çıkarmak için daha geniş seriler ve çok değişkenli analizler gereklidir (88).

Çalışmamızdaki düşük pCR oranı, tek başına bir tedavi rejiminin yetersizliğini göstermekten ziyade hasta-türünün (ER pozitif HER2+), uygulanan rejimlerin seçimi ve olası farmakogenomik/önceden var olan tümör moleküler belirteçlerinin (örn. PIK3CA mutasyonları) kombinasyonunun bir sonucudur. Buna paralel olarak literatürde PIK3CA mutasyonlu HER2+ tümörlerde pCR oranlarının daha düşük seyrettiğine dair kanıtlar mevcuttur; bu da moleküler alt tipin göz ardı edilmemesi gerektiğini göstermektedir (85)

Çalışmamızın temel sınırlılıkları, görece küçük örneklem büyüklüğü (n=23), tedavi rejimi heterojenliği ve potansiyel moleküler belirteçlerin (örn. PIK3CA mutasyonları) değerlendirilememiş olmasıdır. Bu kısıtlar göz önünde bulundurularak, çalışmamız yine de klinik pratiğe dönük önemli hipotezler üretmektedir: özellikle HER2+/HR+ alt grubunda pCR kazanımının optimize edilmesi için rejim seçiminin, endokrin yaklaşımın ve moleküler profillemenin birlikte değerlendirilmesi gerektiği öne çıkmaktadır (87).

Sonuç olarak, çalışmamızın %17,4 pCR oranı literatürdeki THP/TCHP rejimleriyle bildirilen daha yüksek pCR oranlarının altında kalmakla birlikte, bu farkın muhtemel nedenleri olarak kohortun ER pozitifliğinin yüksek olması, tedavi rejimi dağılımındaki yoğunluk farkı ve örneklem büyüklüğünden kaynaklanan istatistiksel güç sınırlılığı öne çıkmaktadır. Bu veriler ışığında ileriye dönük çalışmalar için önerilen yaklaşımlar; daha büyük, çok merkezli kohortlarda TCHP gibi tam-doz çift anti-HER2 rejimlerinin etkisinin incelenmesi, HR durumuna göre stratifike analizler yapılması, ve potansiyel prediktif moleküler belirteçlerin (PIK3CA mutasyonları, HER2 ekspresyon düzeyi, immün infiltrat profili vb.) dahil edilmesidir. Bu stratejiler, hem pCR oranlarını daha net değerlendirmeye hem de kişiselleştirilmiş neoadjuvan tedavi algoritmalarının geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

## VI. SONUÇ

Çalışmamızda izlenen “tedavi öncesi–3. ay–6. ay” zaman çizgisi boyunca lenfosit alt gruplarında gözlenen değişim eğilimleri, neoadjuvan tedavinin immün sistem üzerindeki zamana bağlı etkileşimi gösteren önemli veriler sağlamaktadır. Böylece NAKT'nin sistemik immün sistem üzerindeki etkileşiminin kantitatif verilerle ortaya konmasına katkı sağlamıştır. Bu immünolojik parametreler, gelecekte pCR ve sağkalım öngörüsünde biyobelirteç olarak değerlendirilme potansiyeli taşımaktadır.

Çalışmamızın bulguları, tedavi öncesi (bazal) dönemde saptanan yüksek NK hücre düzeyleri ve yüksek CD8<sup>+</sup>T lenfosit oranlarının PFS üzerinde koruyucu bir eğilim gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu sonuç, doğal ve adaptif anti-tümöral immün yanıt bileşenlerinin meme kanserinde tümör progresyonunu sınırlamadaki potansiyel rolünü desteklemekte ve bu hücre profillerinin prognostik biyobelirteç adayı olarak klinik öneme sahip olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamız dolaşımdaki immün profillerin meme kanseri prognozu üzerindeki potansiyel koruyucu eğilimlerini belirlemiş ve neoadjuvan tedavinin immün sistem üzerindeki etkisini bir zaman çizelgesi boyunca haritalamıştır. Elde edilen veriler, immün sistemin tümör kontrolündeki rolünü desteklemekte ve bazal immün profillemenin klinik karar verme süreçlerine entegre edilmesi için bir pilot hipotez oluşturmaktadır. Bu yaklaşım, kişiselleştirilmiş neoadjuvan tedavi algoritmalarının geliştirilmesine ve sağkalım öngörüsünün iyileştirilmesine bilimsel katkı sağlayacaktır.

## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Meme kanseri, dünya genelinde kadınlar arasında en sık teşhis edilen malignitelerden biri olup, önemli bir halk sağlığı sorunudur. Küresel çapta her yıl yaklaşık 2,25 milyon yeni vaka teşhis edilmektedir. Meme kanseri taraması ve prognozu için güvenilir biyobelirteçlere ihtiyaç vardır. Çalışmalar, NAKT'nin kanser hastalarında periferik kan lenfosit alt kümelerinin yüzdelerini ve mutlak sayımlarını etkilediğini göstermiştir. Bu çalışmada amaç NAKT alan meme kanseri hastalarında tedavinin periferik kan lenfosit alt grupları üzerindeki dinamik etkilerini incelemek ve bu immün belirteçlerin, patolojik tam yanıt (pCR) ile olan olası korelasyonlarını değerlendirmektir.

**Gereç ve Yöntem:** Ekim 2024 -2025 yılları hastanemiz Tıbbi Onkoloji Kliniği'nde histopatolojik olarak meme kanseri tanısı almış ve neoadjuvan tedavi başlanan 23 hasta prospektif olarak incelenmiştir. Hastalardan neoadjuvan kemoterapi öncesi (0.ay), tedavinin 3 ay ve 6 ay sonrasında periferik venöz kanları alınmıştır. Elde edilen örneklerde, periferik kan lenfosit alt grupları akım sitometri (flow sitometri) yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Neoadjuvan kemoterapi süresince T ve NK hücre alt popülasyonlarında zamana bağlı anlamlı değişimler gözlemlendi. Friedman testi sonuçlarına göre total lenfosit, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T lenfosit ve CD133<sup>+</sup> lenfositlerin hücre oranlarında doğrusal yönde anlamlı artışlar saptandı ( $p \leq 0.002$ ), CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> NK benzeri ve CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>bright</sup> NK hücre alt gruplarında ise eğrisel yönde değişim izlendi ( $p \leq 0.003$ ). CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>bright</sup>CD133<sup>+</sup> ve CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>bright</sup>CD28<sup>+</sup>CD133<sup>+</sup> hücre oranlarında doğrusal artış anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Tedavi kolları arasında CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> ve CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup> hücre oranlarında anlamlı fark saptandı ( $p < 0.05$ ). Lojistik regresyon analizinde değerlendirilen immünofenotipik ve klinik parametrelerden hiçbirisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p > 0.05$ ), ancak NK ve CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T hücrelerinde olay olasılığını azaltıcı eğilim gözlemlendi. Cox regresyon analizinde de anlamlı faktör belirlenmemekle birlikte, CD8<sup>+</sup> T hücre oranındaki artışın sağkalım açısından

koruyucu eğilim göstermesi ve CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup> NK hücrelerinin benzer yönde etki göstermesi biyolojik olarak dikkate değer bulundu.

**Sonuç:** Çalışmamızda neoadjuvan kemoterapi süresince “tedavi öncesi, 3. ay, 6. ay” zaman çizelgesinde lenfosit alt gruplarında gözlenen değişimler, tedavinin immün sistem üzerindeki dinamik etkisini ortaya koymuştur. Tedavi öncesi yüksek NK hücre düzeyleri ve yüksek CD8<sup>+</sup> T lenfosit oranları, progresyonsuz sağkalım üzerinde koruyucu bir eğilim göstermiştir. Bu durum, doğal ve adaptif antitümöral immün yanıt bileşenlerinin tümör progresyonunu sınırlamadaki rolünü desteklemekte ve bu hücre alt tiplerinin prognostik biyobelirteç potansiyeline sahip olduğunu düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Meme kanseri, Neoadjuvan tedavi, Lenfosit alt grupları, Doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri), CD8 T lenfositler, Akım Sitometri

## ABSTRACT

**Introduction and Aim:** Breast cancer is one of the most frequently diagnosed malignancies among women worldwide and represents a major public health concern. Approximately 2.25 million new cases are diagnosed globally each year. Reliable biomarkers are needed to improve breast cancer screening and prognosis. Previous studies have shown that neoadjuvant chemotherapy (NACT) can affect the percentages and absolute counts of peripheral blood lymphocyte subsets in cancer patients. The aim of this study was to investigate the dynamic effects of NACT on peripheral blood lymphocyte subpopulations in patients with breast cancer and to evaluate the possible correlations between these immune markers and pathological complete response (pCR).

**Materials and Methods:** Between October 2024 and October 2025, a total of 23 patients who were histopathologically diagnosed with breast cancer and initiated on neoadjuvant chemotherapy at the Department of Medical Oncology of our hospital were prospectively evaluated. Peripheral venous

blood samples were collected from each patient before NACT (baseline, month 0), and at the 3rd and 6th months of treatment. Peripheral blood lymphocyte subsets were analyzed using the flow cytometry method.

**Results:** During neoadjuvant chemotherapy, significant time-dependent changes were observed in T and NK cell subpopulations. According to the Friedman test results, significant linear increases were detected in total lymphocyte, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T lymphocyte, CD133<sup>+</sup> lymphocyte cell ratios ( $p \leq 0.002$ ), whereas CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> NK-like and CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>bright</sup> NK cell subsets exhibited significant quadratic trends ( $p \leq 0.003$ ). Linear increases were also observed in CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>bright</sup>CD133<sup>+</sup> and CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>bright</sup>CD28<sup>+</sup>CD133<sup>+</sup> populations ( $p < 0.05$ ). Significant differences were found between treatment groups in CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> and CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup> NK cell ratios ( $p < 0.05$ ). Univariate logistic regression analysis revealed no statistically significant immunophenotypic or clinical predictors ( $p > 0.05$ ), although NK and CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T cells showed a tendency to reduce event probability. Similarly, Cox regression analysis identified no statistically significant factors; however, higher CD8<sup>+</sup> T cell levels and increased CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup> NK cells demonstrated protective trends for survival, which were considered biologically meaningful.

**Conclusion:** In this study, dynamic changes observed in lymphocyte subsets throughout the “pre-treatment, 3rd month, and 6th month” timeline demonstrated the immunomodulatory effects of neoadjuvant chemotherapy on the immune system. Higher baseline levels of NK cells and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes showed a protective trend for progression-free survival. These findings support the role of innate and adaptive antitumoral immune components in limiting tumor progression and suggest that these immune cell subsets may serve as potential prognostic biomarkers in breast cancer.

**Keywords:** Breast cancer, Neoadjuvant chemotherapy, Lymphocyte subsets, natural killer (NK) cells, CD8<sup>+</sup> T lymphocytes, Flow cytometry.

## KAYNAKÇA

1. Davidson Nancy E. Breast Cancer and Benign Breast Disorders. In: Goldman-Cecil Medicine, 2-Volume Set. ELSEİVER; 2023. p. 1368–74.
2. Lawrence R, Watters M, Davies CR, Pantel K, Lu YJ. Circulating tumour cells for early detection of clinically relevant cancer. Vol. 20, Nature Reviews Clinical Oncology. Springer Nature; 2023. p. 487–500.
3. Gisina A, Kim Y, Yarygin K, Lupatov A. Can CD133 Be Regarded as a Prognostic Biomarker in Oncology: Pros and Cons. Int J Mol Sci [Internet]. 2023 Dec 1 [cited 2025 Aug 21];24(24):17398.
4. Ocampo AA, Sun X, Balko JM. Peripheral blood biomarkers in monitoring treatment response in breast cancer patients. Vol. 25, Expert Review of Molecular Diagnostics. Taylor and Francis Ltd.; 2025. p. 87–90.
5. Liu H, Zheng R, Zhuang Z, Xue L, Chen M, Wu Y, et al. Diagnostic Efficacy and Clinical Significance of Lymphocyte Subsets, Granzyme B and Perforin in the Peripheral Blood of Patients with Invasive Breast Cancer Following Neoadjuvant Chemotherapy. Cancer Management and Research . 2025;17:589–602.
6. Barzegar Behrooz A, Syahir A, Ahmad S. CD133: beyond a cancer stem cell biomarker. J Drug Target [Internet]. 2019 Mar 16 [cited 2025 Aug 24];27(3):257–69.
7. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2024 May;74(3):229–63.
8. Özmen V, Özmen T, Doğru V. Breast Cancer in Turkey; An Analysis of 20.000 Patients with Breast Cancer. Eur J Breast Health. 2019 Jul 1;15(3):141–6.
9. Momenimovahed Z, Salehiniya H. Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. Vol. 11, Breast Cancer: Targets and Therapy. Dove Medical Press Ltd.; 2019. p. 151–64.
10. International BMR. Retracted: Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures. Vol. 2023, BioMed research international. 2023. p. 9872034.

11. Smolarz B, Zadrozna Nowak A, Romanowicz H. Breast Cancer—Epidemiology, Classification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature). Vol. 14, *Cancers*. MDPI; 2022.
12. Lima SM, Kehm RD, Terry MB. Global breast cancer incidence and mortality trends by region, age-groups, and fertility patterns. *EClinicalMedicine*. 2021 Aug 1;38.
13. Beaber EF, Buist DSM, Barlow WE, Malone KE, Reed SD, Li CI. Recent oral contraceptive use by formulation and breast cancer risk among women 20 to 49 years of age. *Cancer Res*. 2014 Aug 1;74(15):4078–89.
14. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, Rohan T, Friedenreich CM, Calle EE, et al. Menarche, menopause, and breast cancer risk: Individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. *Lancet Oncol*. 2012 Nov 1;13(11):1141–51.
15. Dall GV, Britt KL. Estrogen effects on the mammary gland in early and late life and breast cancer risk. Vol. 7, *Frontiers in Oncology*. Frontiers Media S.A.; 2017.
16. Fortner RT, Sisti J, Chai B, Collins LC, Rosner B, Hankinson SE, et al. Parity, breastfeeding, and breast cancer risk by hormone receptor status and molecular phenotype: Results from the Nurses' Health Studies. *Breast Cancer Research*. 2019 Mar 12;21(1).
17. Obeagu EI, Obeagu GU. Breast cancer: A review of risk factors and diagnosis. *Medicine (United States)*. 2024 Jan 19;103(3):E36905.
18. Ramya Sree PR, Thoppil JE. An overview on breast cancer genetics and recent innovations: Literature survey. Vol. 40, *Breast Disease*. IOS Press BV; 2021. p. 143–54.
19. Godet I, Gilkes DM. BRCA1 and BRCA2 mutations and treatment strategies for breast cancer HHS Public Access. Vol. 4, *Integr Cancer Sci Ther*. 2017.
20. Methods in Medicine C and M. Retracted: Breastfeeding and Reduced Risk of Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Comput Math Methods Med*. 2023 Jan;2023(1).
21. Carvalho E, Canberk S, Schmitt F, Vale N. Molecular Subtypes and Mechanisms of Breast Cancer: Precision Medicine Approaches for Targeted Therapies. Vol. 17, *Cancers*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2025.



22. He Y, Si Y, Li X, Hong J, Yu C, He N. The relationship between tobacco and breast cancer incidence: A systematic review and meta-analysis of observational studies. Vol. 12, *Frontiers in Oncology*. Frontiers Media S.A.; 2022.
23. Ronckers CM, Erdmann CA, Land CE. Radiation and breast cancer: A review of current evidence. *Breast Cancer Research* [Internet]. 2005 Jan [cited 2025 Jul 17];7(1):21–32.
24. Sinberger LA, Zahavi T, Keren-Khadmy N, Dugach Y, Sonnenblick A, Salmon-Divon M. Refining prognostic tools for luminal breast cancer: genetic insights and comprehensive analysis. *ESMO Open*. 2025 May 1;10(5).
25. Nolan E, Lindeman GJ, Visvader JE. Deciphering breast cancer: from biology to the clinic. *Cell* [Internet]. 2023 Apr 13 [cited 2025 Jul 13];186(8):1708–28.
26. Beňačka R, Szabóová D, Guľašová Z, Hertelyová Z, Radoňák J. Classic and New Markers in Diagnostics and Classification of Breast Cancer. Vol. 14, *Cancers*. MDPI; 2022.
27. Corben AD. Pathology of Invasive Breast Disease. *Surgical Clinics of North America* [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2025 Jul 18];93(2):363–92.
28. Lahat, G., Lev, D., Gerstenhaber, F., Madewell, J., Le-Petross, H., & Pollock, R. E. (2012). Sarcomas of the breast. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 12(8), 1045–1051. <https://doi.org/10.1586/era.12.82>
29. Perou CM. Molecular portraits of human breast tumours [Internet]. 2000 Aug. Available from: [www.stanford.edu/molecularportraits/](http://www.stanford.edu/molecularportraits/)
30. Bilani N, Zabor EC, Elson L, Elimimian EB, Nahleh Z. Breast Cancer in the United States: A Cross-Sectional Overview. *J Cancer Epidemiol* [Internet]. 2020 [cited 2025 Aug 26];2020:6387378.
31. T. Rinda Soong RB. Molecular Classification of Breast Carcinoma. In: *Breast Pathology*. Elsevier; 2024.
32. Kalli S, Semine A, Cohen S, Naber SP, Makim SS, Bahl M. American Joint Committee on Cancer's Staging System for Breast Cancer, Eighth Edition: What the Radiologist Needs to Know. *Radiographics*. 2018 Nov-Dec;38(7):1921-1933.
33. Cserni G, Chmielik E, Cserni B, Tot T. The new TNM-based staging of breast cancer. *Virchows Archiv*. 2018 May 1 [cited 2025 Jul 18];472(5):697–703.

34. 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 Jul 8 [cited 2025 Nov 5];67(4):290–303.
35. Stickeler E. Prognostic and Predictive Markers for Treatment Decisions in Early Breast Cancer. *Breast Care (Basel)*. 2011;6(3):193-198. doi: 10.1159/000329471. Epub 2011 Jun 14. PMID: 21779224; PMCID: PMC3132966.
36. Esbah O, Oksuzoglu B. Prognostic & predictive factors for planning adjuvant chemotherapy of early-stage breast cancer. *Indian Journal of Medical Research*. 2017 Nov 1;146(Novmeber):563–71.
37. Weigel MT, Dowsett M. Current and emerging biomarkers in breast cancer: prognosis and prediction. *Endocr Relat Cancer*. 2010 Dec 1 [cited 2025 Jul 18];17(4):R245–62
38. Tirada N, Aujero M, Khorjekar G, Richards S, Chopra J, Dromi S, et al. Breast cancer tissue markers, genomic profiling, and other prognostic factors: A primer for radiologists. *Radiographics [Internet]*. 2018 Nov 1 [cited 2025 Jul 7];38(7):1902–20.
39. Tarighati E, Keivan H, Mahani H. A review of prognostic and predictive biomarkers in breast cancer. *Clinical and Experimental Medicine* 2021 23:1 [Internet]. 2022 Jan 15 [cited 2025 Jul 10];23(1):1–16.
40. Rakha EA, Pinder SE, Bartlett JMS, Ibrahim M, Starczynski J, Carder PJ, et al. Updated UK Recommendations for HER2 assessment in breast cancer. *J Clin Pathol*. 2014 Feb 1 [cited 2025 Jul 10];68(2):93.
41. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer [Internet]*. 1983 Jan 15 [cited 2025 Jul 18];31(1):13–20.
42. Finkelman BS, Zhang H, Hicks DG, Turner BM. The Evolution of Ki-67 and Breast Carcinoma: Past Observations, Present Directions, and Future Considerations. 2023 [cited 2025 Jul 15]
43. Schnitt SJ. Classification and prognosis of invasive breast cancer: From morphology to molecular taxonomy. *Modern Pathology*. 2010;23:60–4.
44. Kim TH, Kang DK, Kim JY, Han S, Jung Y. Histologic Grade and Decrease in Tumor Dimensions Affect Axillary Lymph Node Status after Neoadjuvant

- Chemotherapy in Breast Cancer Patients. *J Breast Cancer* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2025 Jul 16];18(4):394.
45. 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* [Internet]. 1991 Nov 1 [cited 2025 Jul 15];19(5):403–10.
  46. Darvishvand R, Rezaeifard S, Kiani R, Tahmasebi S, Faghieh Z, Erfani N. Natural killer cell subsets and their functional molecules in peripheral blood of the patients with breast cancer. *Immun Inflamm Dis*. 2024 Apr 1;12(4).
  47. DeNardo DG, Coussens LM. Inflammation and breast cancer. Balancing immune response: Crosstalk between adaptive and innate immune cells during breast cancer progression. Vol. 9, *Breast Cancer Research*. 2007.
  48. Rack B, Schindlbeck C, Jückstock J, Andergassen U, Hepp P, Zwingers T, et al. Circulating tumor cells predict survival in early average-to-high risk breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst*. 2014 May 14;106(5).
  49. Utal PA, Hemalatha A, Sreeramulu P, Manjunath G. Expression of CD 133 in Invasive Ductal Carcinoma of Breast. *Asian Pac J Cancer Prev* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2025 Aug 21];21(10):3055.
  50. Sato T, Oshi M, Huang JL, Chida K, Roy AM, Endo I, et al. CD133 expression is associated with less DNA repair, better response to chemotherapy and survival in ER-positive/HER2-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2024 Nov 1 [cited 2025 Aug 24];208(2):415–27.
  51. Heger L, Heidkamp GF, Amon L, Nimmerjahn F, Bäuerle T, Maier A, et al. Unbiased high-dimensional flow cytometry identified NK and DC immune cell signature in Luminal A-type and triple negative breast cancer. *Oncoimmunology*. 2024;13(1).
  52. Mamessier E, Pradel LC, Thibault ML, Drevet C, Zouine A, Jacquemier J, et al. Peripheral Blood NK Cells from Breast Cancer Patients Are Tumor-Induced Composite Subsets. *The Journal of Immunology*. 2013 Mar 1;190(5):2424–36.
  53. Stabile H, Fionda C, Gismondi A, Santoni A. Role of distinct natural killer cell subsets in anticancer response. *Front Immunol* [Internet]. 2017 Mar 16 [cited 2025 Nov 3];8(MAR):248159.

54. Poli A, Michel T, Thérésine M, Andrès E, Hentges F, Zimmer J. CD56bright natural killer (NK) cells: An important NK cell subset. Vol. 126, Immunology. Blackwell Publishing Ltd; 2009. p. 458–65.
55. Mamessier E, Pradel LC, Thibult ML, Drevet C, Zouine A, Jacquemier J, et al. Peripheral Blood NK Cells from Breast Cancer Patients Are Tumor-Induced Composite Subsets. The Journal of Immunology. 2013 Mar 1;190(5):2424–36.
56. Luckheeram RV, Zhou R, Verma AD, Xia B. CD4+T Cells: Differentiation and Functions. Clin Dev Immunol. 2012 [cited 2025 Aug 26];2012:925135.
57. AVCILAR H. T Hücre Alt Tipleri ve Fonksiyonları. Türkiye Klinikleri Çocuk Romatolojisi - Özel Konular. 2022 [cited 2025 Aug 26];3(3):68–77.
58. Xiao-Dong Mao<sup>1 2</sup>, Su-Zhu Chen<sup>3</sup>, Su-Qing Shen<sup>4</sup>, Kang-Sheng Liu<sup>4</sup>. Clinical significance of regulatory T cells and T lymphocyte subsets in peripheral blood in neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. Am J Cancer Res. 2023
59. Runowicz CD, Leach CR, Henry NL, Henry KS, Mackey HT, Cowens-Alvarado RL, et al. American Cancer Society/American Society of Clinical Oncology Breast Cancer Survivorship Care Guideline. CA Cancer J Clin. 2016 Jan;66(1):43–73.
60. Vazquez B, Rousseau D, Hurd TC. Surgical Management of Breast Cancer. Semin Oncol. 2007 Jun 1 [cited 2025 Jul 16];34(3):234–40.
61. Xing L, He Q, Wang YY, Li HY, Ren GS. Advances in the surgical treatment of breast cancer. Chin Clin Oncol. 2016 [cited 2025 Jul 16];5(3):34–34.
62. Giuliano AE, Hunt KK, Ballman K V., Beitsch PD, Whitworth PW, Blumencranz PW, et al. Sentinel Lymph Node Dissection With and Without Axillary Dissection in Women With Invasive Breast Cancer and Sentinel Node Metastasis: A Randomized Clinical Trial. JAMA. 2011 Feb 9 [cited 2025 Jul 17];305(6):569.
63. Currey AD, Bergom C, Kelly TR, Wilson JF. Reducing the human burden of breast cancer: Advanced radiation therapy yields improved treatment outcomes. Breast Journal. 2015 Nov 1 [cited 2025 Aug 27];21(6):610–20.
64. Balduzzi A, Leonardi MC, Cardillo A, Orecchia R, Dellapasqua S, Iorfida M, et al. Timing of adjuvant systemic therapy and radiotherapy after breast-conserving surgery and mastectomy. Cancer Treat Rev. 2010 Oct 1 [cited 2025 Aug 27];36(6):443–50.

65. T.C.Sağlık Bakanlığı, Araştırma, Geliştirme ve Sağlık Teknolojisi Değerlendirme Daire Başkanlığı. MEME KANSERİ KORUNMA, TARAMA, TANI, TEDAVİ VE İZLEM KLİNİK REHBERİ. T.C. Sağlık Bakanlığı; 2024. Erişim adresi: <https://shgmargestddb.saglik.gov.tr>
66. Larissa A Korde. Neoadjuvant Chemotherapy, Endocrine Therapy, and Targeted Therapy for Breast Cancer: ASCO Guideline. JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY. 2021 Jan 28
67. Sahoo Sunati BRDDJ. Pathology of Neoadjuvant Therapeutic Response of Breast Carcinoma. In: Breast Pathology. Elsevier; 2024. p. 665–83.
68. McDonald ES, Clark AS, Tchou J, Zhang P, Freedman GM. Clinical Diagnosis and Management of Breast Cancer. Journal of Nuclear Medicine [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2025 Jul 16];57(Supplement 1):9S-16S.
69. Taneli Fatma. Methodology of Flow Cytometry and Its Role in Clinical Laboratory. Türk Klinik Biyokimya Dergisi. 2007
70. Picot J, Guerin CL, Le Van Kim C, Boulanger CM. Flow cytometry: retrospective, fundamentals and recent instrumentation. Cytotechnology. 2012 Mar [cited 2025 Aug 28];64(2):109.
71. McKinnon KM. Flow cytometry: An overview. Curr Protoc Immunol. 2018 Feb 1;2018:5.1.1-5.1.11.
72. Kumánovics A, Sadighi Akha AA. Flow cytometry for B-cell subset analysis in immunodeficiencies. J Immunol Methods. 2022 Oct 1 [cited 2025 Aug 27];509:113327.
73. Cruse JM, Lewis RE, Wang H, Schreuder GMT, Marsh SGE, Kennedy LJ. CLUSTER OF DIFFERENTIATION (CD) ANTIGENS. Immunology Guidebook. 2007 Jan 1 [cited 2025 Aug 27];47.
74. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. Lancet Oncol. 2018 Jan 1 [cited 2025 Nov 1];19(1):40–50.
75. Song G, Wang X, Jia J, Yuan Y, Wan F, Zhou X, et al. Elevated level of peripheral CD8+CD28- T lymphocytes are an independent predictor of progression-free survival in patients with metastatic breast cancer during the course of chemotherapy. Cancer Immunology, Immunotherapy. 2013 Jun;62(6):1123–30.

76. Park YH, Lal S, Lee JE, Choi Y La, Wen J, Ram S, et al. Chemotherapy induces dynamic immune responses in breast cancers that impact treatment outcome. *Nature Communications* 2020 11:1. 2020 Dec 2 [cited 2025 Oct 31];11(1):1–14.
77. Zhang H, Li Y, Liu YW, Liu YG, Chen X. Predictive value of lymphocyte subsets and lymphocyte-to-monocyte ratio in assessing the efficacy of neoadjuvant therapy in breast cancer. *Scientific Reports* 2024 14:1 [Internet]. 2024 Jun 4 [cited 2025 Oct 31];14(1):1–12.
78. Beitsch P, Lotzová E, Hortobagyi G, Pollock R. Natural immunity in breast cancer patients during neoadjuvant chemotherapy and after surgery. *Surg Oncol.* 1994;3(4):211–9.
79. Yang J, Xu J, Ying E, Sun T. Predictive and prognostic value of circulating blood lymphocyte subsets in metastatic breast cancer. *Cancer Med* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2025 Oct 27];8(2):492.
80. Glumac PM, LeBeau AM. The role of CD133 in cancer: a concise review. *Clinical and Translational Medicine* 2018 7:1 [Internet]. 2018 Jul 9 [cited 2025 Oct 31];7(1):1–14.
81. Bock C, Rack B, Huober J, Andergassen U, Jeschke U, Doisneau-Sixou S. Distinct expression of cytokeratin, N-cadherin and CD133 in circulating tumor cells of metastatic breast cancer patients. *Future Oncol.* 2014 Aug 1 [cited 2025 Nov 1];10(10):1751–65.
82. Skirecki T, Hoser G, Kawiak J, Dziedzic D, Domagała-Kulawik J. Flow Cytometric Analysis of CD133- and EpCAM-Positive Cells in the Peripheral Blood of Patients with Lung Cancer. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2013 Feb [cited 2025 Aug 24];62(1):67.
83. Yetişyiğit T, Karaboyun K, İriağaç Y, Çavdar E, Öznur M, Şeber ES, et al. The role of peripheral T lymphocyte subsets and PD-1 expression as a biomarker for neoadjuvant treatment response in breast cancer. *Medicine* [Internet]. 2025 Sep 26 [cited 2025 Oct 31];104(39):e44743.
84. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, Roman L, Tseng LM, Liu MC, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): A randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2012 Jan [cited 2025 Oct 31];13(1):25–32.
85. Schneeweiss A, Chia S, Hegg R, Tausch C, Deb R, Ratnayake J, et al. Evaluating the predictive value of biomarkers for efficacy outcomes in response to pertuzumab- and trastuzumab-based therapy: an exploratory

analysis of the TRYPHAENA study. *Breast Cancer Res.* 2014 Jul 8 [cited 2025 Oct 31];16(4).

86. Kim JY, Nam SJ, Lee JE, Yu J, Chae BJ, Lee SK, et al. Real World Evidence of Neoadjuvant Docetaxel/Carboplatin/Trastuzumab/Pertuzumab (TCHP) in Patients with HER2-Positive Early or Locally Advanced Breast Cancer: A Single-Institutional Clinical Experience. *Cancer Res Treat.* 2022 Oct 1 [cited 2025 Oct 31];54(4):1091–8.
87. Tanioka M, Sasaki M, Shimomura A, Fujishima M, Doi M, Matsuura K, et al. Pathologic complete response after neoadjuvant chemotherapy in HER2-overexpressing breast cancer according to hormonal receptor status. *Breast.* 2014 [cited 2025 Oct 31];23(4):466–72.
88. Kim K Il, Lee KH, Kim TR, Chun YS, Lee TH, Park HK. Ki-67 as a predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *J Breast Cancer.* 2014 [cited 2025 Oct 31];17(1):40–6.