

T. C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**İNVAZİV MEME KARSİNOMLARINDA
İMMÜNHİSTOKİMYASAL PD1, PDL1 VE PDL2
EKSPRESYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

Dr. Özlem DURAK

UZMANLIK TEZİ

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Kemal Kürşat BOZKURT

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 4988-TU2-17 proje numarası ile
desteklenmiştir.**

2018 - ISPARTA

ÖNSÖZ

Tez çalışmamda konunun belirlenmesinden, tamamlanmasına kadar olan süreçte her konuda yardım ve desteğini cömert, anlayışlı ve güleryüzlü bir şekilde sunan, ihtisasım boyunca bana mesleğimin inceliklerini öğreten, bilgisini ve tecrübesini benimle paylaşan saygıdeğer hocam Doç. Dr. Kemal Kürşat Bozkurt'a teşekkür ederim.

İhtisasımın ilk gününden beri eğitimimin her aşamasında emeği geçen, bildiklerini sabırla, keyifle ve anlayışla öğretip mesleğimi sevdiren, hayata ve patolojiye dair tecrübelerini benimle paylaşan Prof. Dr. Nermin Karahan, Prof. Dr. Sema Bircan, Doç. Dr. İ. Metin Çiriş, Doç. Dr. Şirin Başpınar ve Dr. Öğr. Üyesi Gamze Erkılınç'a teşekkür ederim.

İhtisasım süresince birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli meslektaşlarım ve dostlarım olan asistan doktor arkadaşlarıma sağladıkları keyifli çalışma ortamı için teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında immünohistokimyasal boyamaların hazırlanmasında ve ihtisasım süresince güler yüzleri ile yardım ve emeğini esirgemeyen tüm laboratuvar personelimize teşekkür ederim.

Tezimi 4988-TU2-17 proje numarası ile destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Hayatımda sahip olduğum en değerli varlıklarım olan, beni bugünlere getiren, en zor günlerimde sabırla ve anlayışla bana destek olan, hep doğru olmayı öğreten ve doğru yolu gösteren annem Hicran Durak, babam Suat Sefer Durak'a, bu güzel ailede bana eşlik eden, desteğini, sabrını ve anlayışını benden esirgemeyen kardeşim Ceren Durak'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Şekiller Dizini	vi
Çizelgeler Dizini	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Memenin anatomisi	3
2.2. Memenin embriyolojisi	5
2.3. Memenin histolojisi	6
2.3.1. Prepubertal dönemde meme histolojisi	7
2.3.2. Adolosan dönemde meme histolojisi	7
2.3.3. Erişkin dönemde meme histolojisi	7
2.3.4. Gebelik ve laktasyon döneminde meme histolojisi	9
2.3.5. Postmenapozal dönemde meme histolojisi	10
2.3.6. Erkek memesi histolojisi	10
2.4. Meme Kanseri	10
2.4.1. Epidemiyoloji	10
2.4.2. Etiyoloji	11
2.4.3. Prognostik faktörler	14
2.5. Meme tümörlerinin histopatolojik sınıflandırması	17
2.6. Meme tümörlerinin moleküler sınıflandırması	21
2.7. Meme kanserlerinde immünoterapi	23
2.7.1. Meme kanserinde immün disregülasyon	24
2.7.2. Meme kanserinde tümörü infiltre eden lenfositler	25
2.7.2.1. Tümörü infiltre eden lenfositlerin içeriği	27
2.7.2.2. Tümörü infiltre eden lenfositlerin intratümöral/stromal dağılımı	28
2.7.3. Meme kanserinde immün kontrol noktalarının blokajı	29

2.7.3.1. PD1 / PDL1 / PDL2 yolağı	30
2.7.3.2. PD1, PDL1, PDL2 mekanizmasının tümör immüsitesindeki rolü	31
3. MATERYAL VE METOD	33
3.1. Olgı Seçimi ve Çalışma	33
3.2. İmmünhistokimyasal inceleme	33
3.3. İstatistiksel değerlendirme	35
4. BULGULAR	37
4.1. Klinikopatolojik özellikler	37
4.2. İmmünhistokimyasal PDL1, PDL2 ve PD1 boyanma özellikleri	38
4.3. PDL1 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi	39
4.4. PDL2 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi	43
4.5. PD1 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi	47
4.6. PDL1, PDL2 ve PD1 ekspresyonlarının birbirleri ile ilişkisi	50
4.7. Klinikopatolojik özellikler ile TIL varlığının ilişkisi	50
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	54
ÖZET	64
SUMMARY	65
KAYNAKLAR	66

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- PD1** : Programlanmış hücre ölümü 1
PDL1 : Programlanmış hücre ölümü ligandı 1
PDL2 : Programlanmış hücre ölümü ligandı 2
TIL : Tümörü infiltre eden lenfositler
APC : Antijen sunan hücre
MHC : Majör doku uygunluk kompleksi
ER : Östrojen reseptörü
PR : Progesteron reseptörü
DKİS : Duktal karsinoma in situ
TDLU : Terminal duktal lobül ünitesi
DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
CAP : Amerikan patologlar birliği
Mm : Milimetre
PDGF : Platelet kökenli büyüme faktörü
FGF : Fibroblast büyüme faktörü
VEGF : Damar endoteli büyüme faktörü
IL : İnterlökin
LAG3 : Lenfosit aktivasyon geni-3
TIM3 : T hücre immünoğlobulin müsin-3
CTLA4: Sitotoksik T-lenfosit ile ilişkili antijen-4
TCR : T hücre reseptörü
IDO : İndolamin 2,3-dioksijenaz
ICOS : İndüklenebilen yardımcı uyarıcı
HTLV-1 : İnsan T lenfotropik virüs-1
Treg : Düzenleyici T hücre
Th : Yardımcı T hücre
TM : Ticari marka

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Normal meme anatomisi.	3
Şekil 2: Memenin lenfatik drenajı.	4
Şekil 3: Erişkin kadın memesinde terminal duktal lobüler ünit.	6
Şekil 4: Tonsil dokusunda immünhistokimyasal PDL1 ekspresyonu (x400).	34
Şekil 5: Tonsil dokusunda immünhistokimyasal PDL2 ekspresyonu (x400).	35
Şekil 6: Tonsil dokusunda immünhistokimyasal PD1 ekspresyonu (x400).	36
Şekil 7: İnvaziv meme karsinomunda immünhistokimyasal PDL1 ekspresyonu (x400).	38
Şekil 8: İnvaziv meme karsinomunda immünhistokimyasal PDL2 ekspresyonu (x400).	39
Şekil 9: İnvaziv meme karsinomunda tümörü infiltre eden lenfositlerde immünhistokimyasal PD1 ekspresyonu (x400).	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 1: Meme gelişiminde rol oynayan önemli steroid ve peptid hormonlar	8
Tablo 2: Bloom-Richardson Sistemi Nottingham Modifikasyonu.	17
Tablo 3: DSÖ 2012 Meme Tümörleri Sınıflandırması.	18
Tablo 4: Meme karsinomlarında moleküler sınıflandırma ve immünohistokimyasal özellikler.	21
Tablo 5: Allred skorlama sistemi.	36
Tablo 6: İmmünohistokimyasal PDL1 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi.	41
Tablo 7: İmmünohistokimyasal PDL2 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi.	44
Tablo 8: İmmünohistokimyasal PD1 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi.	48
Tablo 9: Tümörü infiltre eden lenfositlerin klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi.	51

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, kadınlarda en sık görülen karsinom meme karsinomlarıdır. Dünya çapında kadınlar arasında birincil ölüm nedenidir (1). 2008’de Amerika Birleşik Devletleri’nde 2.600.000 meme kanseri olan kadın mevcut iken, 2012 yılında yaklaşık 226.870 kadına invaziv meme kanseri tanısı konmuş ve aynı yıl 39.510 kadın meme kanseri nedeniyle yaşamını yitirmiştir (2). Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı 2016 yılı verilerine göre meme kanseri insidansı yüz binde 46,8 iken, her yıl yaklaşık 17.000 kadına meme kanseri tanısı konmaktadır. Meme kanseri en sık görülen 20 hastalık arasında %2,1 oranı ile sekizinci sıradadır (3).

Son yıllarda meme kanseri insidansının artması, yeni tanı ve tedavi yöntemleri geliştirmek amacı ile yoğun çalışmalar yapılmasına neden olmuştur (4). Tümörektomi, radyoterapi, kemoterapi ve hormonoterapi tedavisi gibi yöntemlerin kullanılmasına rağmen, invaziv ve metastatik meme karsinomlarında tam etkili bir tedavi yoktur (5). Mevcut standart bakım tedavilerinin yerini alması olası olmamakla birlikte, meme kanseri tedavisinin kritik bir bileşeni olarak immünoterapi ortaya çıkmaktadır. Geçtiğimiz on yıl boyunca, anti-HER2 monoklonal antikör (mAb) tedavisi gibi pasif immünoterapötik stratejiler, HER2’yi aşırı eksprese eden meme kanserlerinde prognozu önemli ölçüde geliştirmiştir. Yeni aktif immünoterapötik stratejiler arasında kontrol noktası blokajı yer almaktadır (6).

Meme kanseri zayıf immünojenik tümör olarak kabul edildi ve interlökin-2 veya interferonlar ile yapılan immünoterapi hayal kırıklığı yaratan sonuçlar verdi. Anacak meme kanserleri çok sayıda moleküler alttıpleri ile heterojen bir hastalıktır. Özellikle bazı moleküler alttıplerde immünitinin rolü son zamanlarda fark edilmiştir. Östrojen reseptör (ER), Progesteron reseptör (PR) ve HER2 negatif (Triple negatif) ve HER2 pozitif tümörlerde tümörü infiltre eden lenfositlerin (7) ve immün cevap işaretlerinin (8) varlığı iyi prognostik özelliklerdir. Son on yılda, özellikle immün kontrol noktaları inhibitörlerinin geliştirilmesiyle birlikte kanser immünoterapisi alanında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir (9).

Son zamanlarda “programlanmış hücre ölümü 1 (PD1)” yolağının ve inhibitörlerinin keşfedilmesi immünoterapi için ümit vaat etmektedir. PD1, T lenfositler de dahil olmak üzere çeşitli immün sistem hücreleri tarafından eksprese edilen yüzey membran antijenidir. PD1’in 2 adet ligandı vardır: “Programlanmış hücre ölümü ligandı 1 ve 2” (PDL1, PDL2). Her iki ligandın da tümöral hücrelerde ve immün sistem hücrelerinde eksprese edildiği bildirilmektedir (10). PDL1 ekspresyonu meme tümörlerinde ve tümörü infiltre eden lenfositlerde vardır, ancak sağlıklı meme dokusunda görülmez (11). PD1 ligandları ile etkileşime girdikten sonra aktive olur ve lenfosit aktivasyonunu zayıflatır, T-düzenleyici (regulator) hücre gelişimini ve işlevini artırır, immün cevabın inhibisyonunu sağlar (12). Bu yol, PDL1 ekspresyonu görülen lokalizasyonlarda, tümör hücrelerinin kullandığı bağışıklık kaçışının yaygın bir mekanizmasını temsil eder (9). Meme kanserlerinde tümör hücreleri, antitümör immün yanıtlarını aşamalı olarak büyüme ve metastaz yapmak için kullanır (13).

PD1 / PDL1 / PDL2 mekanizmasının terapötik blokajı, inhibe edilmiş T hücrelerini yeniden aktive ederek antitümör immün yanıtını artırabilir (12). Bu amaçla invaziv meme karsinomlarında bu mekanizmanın varlığının immünohistokimyasal olarak gösterilmesi, terapötik blokajın tedavide kullanılmasına imkan sağlayabilir.

Çalışmamızda PD1, PDL1 ve PDL2’ye spesifikliğı daha önce onaylanmış antikolar kullanılarak bu proteinlerin invaziv meme karsinomundaki ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle formol fikse, parafin kesitlerde araştırıldı. İnvaziv karsinomlarda PD1, PDL1, PDL2 ekspresyonlarının ve tümörü infiltre eden lenfositlerin, grade, evre, tümör boyutu, aksiller lenf nodu tutulumu, lenfovasküler invazyon, gibi klinikopatolojik parametrelerle ve birbirleri ile ilişkisi yanı sıra ER, PR, HER2 durumu ve Ki67 proliferatif aktivite indeksi ile de ilişkisi araştırıldı.

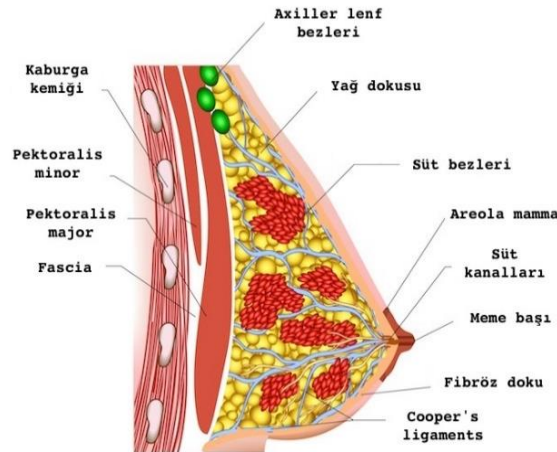
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Memenin anatomisi

Memenin boyutunu belirleyen faktör öncelikle kişisel vücut özellikleridir çünkü meme dokusunun büyük bir bölümünü yağ dokusu oluşturur. Ağırlığı 30 gram ile 1000 gramın üzerinde bir aralıkta olabilir (14).

Meme dokusunun temel görevi yeni doğana süt teminidir (15). Modifiye aksesuar bir ter bezi olan meme dokusu göğsün ön duvarında sağlı sollu bir çift bez halinde, yüzeysel fasyanın iki yaprağı arasında bulunur. Buldukları yer ve şekil bakımından şahıslar ve ırklar arasında farklılık gösterebileceği gibi, aynı şahısta hayatın farklı dönemlerinde de farklılık görülebilir. Normal pozisyonda meme bezi 2. ila 6. kaburgalar arasında bulunur. Dış kenarı linea aksillaris mediana, iç kenarı sternum kenarına kadar gelir. Tabanı m. pectoralis majör, m. obliquus externus abdominis ve m. serratus anterior'un üstüne oturur. Kaslarla arasında fasya profunda bulunur (16). Meme dokusu anatomik ve makroskopik olarak pektoral fasya ile iyi sınırla ayrılıyor olmasına rağmen, histolojik olarak memenin glandüler dokusu pektoral fasya ve hatta daha derinde mikroskopik odaklar halinde görülebilir. Bunun klinik anlamı mastektomilerde geriye glandüler dokunun kalabileceğidir (14). Normal meme anatomisi **Şekil 1**'de gösterilmektedir.

Meme üzerini deri dokusu örter, derinin ortasında 6. interkostal aralık hizasında meme başı ve bunun çevresinde pigmente bir alan olarak izlenen areola



Şekil 1: Normal meme anatomisi.

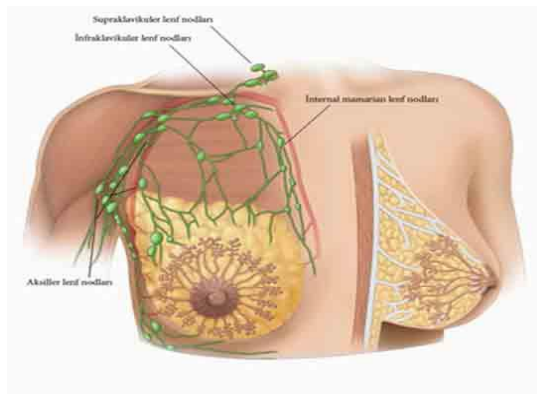
bulunur (15). Meme dokusu, üzerini örten deriye ise ‘‘Cooper’ın asıcı bağları’’ adı verilen ligamanlarla tutunur (17).

Memenin kanlanması arteria mamma interna, arteria mamma eksterna ve arteria interkostalisler ile sağlanır. Venöz drenaj vena mamma interna ve vena interkostalisler ile sağlanır. Venöz drenaj aksillaya doğru olmaktadır. Memenin sinirsel innervasyonu ise 2. ve 6. interkostal sinirler ile sağlanır (16).

Memenin lenfatiklerinin kutanöz, aksiller, internal torasik ve posterior interkostal lenfatikler olmak üzere dört ana drenaj yolu vardır. Kutanöz lenfatik drenaj sistemi hem dermisteki yüzeysel lenfatikler hem de subareolar alanda meme kanalları ile birlikte devam eden derin lenfatiklerden oluşur. Kutanöz lenfatik kanalların drenajının büyük kısmı ipsilateral aksillaya olmaktadır. Kutanöz lenfatik akım memenin alt kenarından epigastrik pleksusa da gelebilir ve buradan karaciğere ve diğer intraabdominal lenf nodlarına ulaşabilir.

Meme parankiminin lenfatik drenajı üç yolla olmaktadır. En önemli drenaj yolu aksilladır ve aksiller lenf nodları memenin lenfatik drenajının büyük kısmını toplamaktadır. İnternal torasik lenfatikler meme drenajının %10’dan azını toplamakta ve internal mammarian lenf nodüllerine boşalmaktadırlar. Drenaj, torasik duktus üzerinden büyük venlere, buradan alt juguler nodüller ya da juguler-subklavyan nodüllere de boşalabilir. Üçüncü ve son önemli drenaj yolu ise posterior interkostal lenfatiklerdir. Bunlar da posterior interkostal lenf nodüllerine boşalırlar (Şekil 2).

Memenin lenfatik drenajının anlaşılması sentinel lenf nodu biyopsilerinin değerlendirilmesinde önem arz etmektedir. Çünkü tüm bu yollar sentinel lenf nodunun neden aksilla dışında da görülebileceğini açıklamaktadır.



Şekil 2: Memenin lenfatik drenajı.

2.2. Memenin embriyolojisi

Memenin gelişimi gestasyonun 5. haftasında başlar. Fetüsün ventral kısmında ektoderm kalınlaşması şeklinde görülür. Bu aksilladan kasıklara kadar devam eden “süt çizgisi” adı da verilen hattır. Fetüsün gelişimi boyunca bu hat, pektoral bölgedeki küçük bir alan dışında, regrese olur. Bu regresyonda aksama olması sonucunda bu hat üzerindeki herhangi bir lokalizasyonda, postnatal hayatta en sık aksilla, inframammarian katlantı ve vulvada olmak üzere, ektopik meme dokusu ya da aksesuar meme başı görülebilir

Erken fetal gelişim döneminde memenin gelişimi seks hormonlarından bağımsızdır. 15. haftadan sonra memenin gelişimi öncelikle parankimi etkileyen testosteronun etkisi altına girer. Testosteronun etkisi ile mezenkim epitelyal saps etrafında yoğunlaşır ve meme tomurcuğunun deri altında izole olmasını sağlar. Daha sonra mezenkim içinde solid epitelyal alanlar gelişmeye başlar ve meme glandlarında loblar ve segmentler oluşur. Fetal papiller dermis gelişmekte olan epitelyal kordonları örterek meme duktus ve lobüllerinin çevresinde vaskülarize fibröz dokuyu meydana getirir. Kollajenden zengin olan retiküler dermis ise meme içine girerek, asıcı bağ olan Cooper ligamanını oluşturur. 20. ve 32. haftalar arasında mezenkimin bir kısmı, kollajenöz stroma içerisinde yağ dokuya diferansiye olur. Gestasyonun son 8 haftası boyunca epitelyal kordonlar kanalize olur, dallanmalar yapar, lobüloalveolar paterni meydana getirir. Epidermis içerisinde oluşan çöküntü meme çukurunu oluşturur, laktiferöz kanal ile buluşur. Meme çukurunun invajine olması ile doğuma yakın bir zamanda meme başı oluşur.

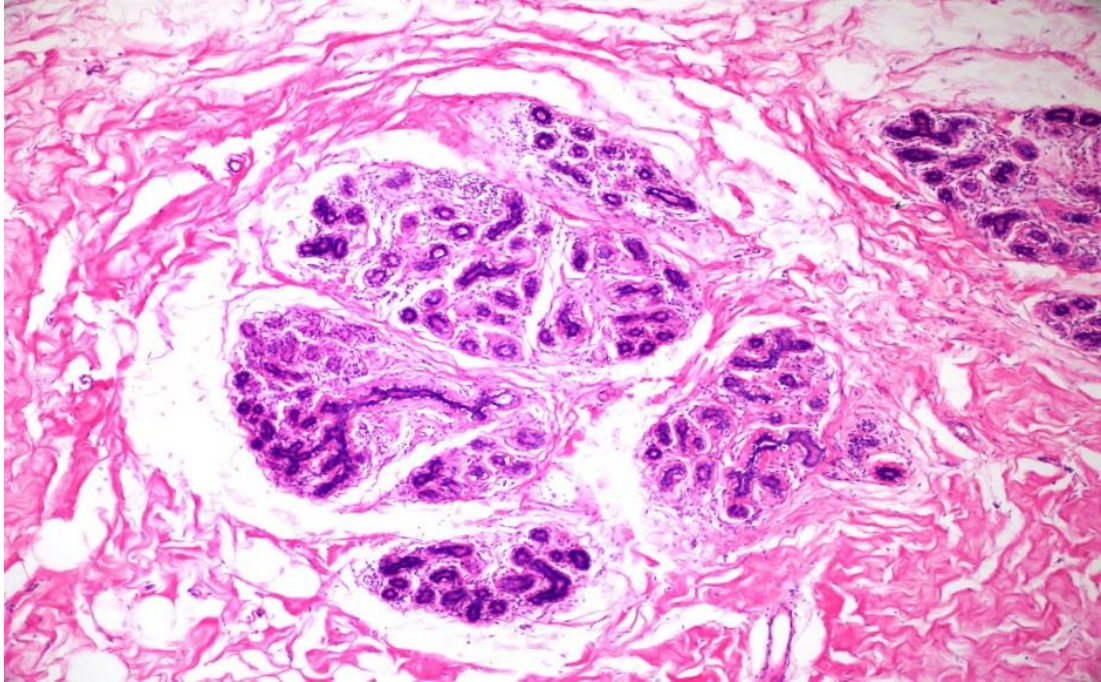
Gestasyonun son birkaç haftası boyunca, meme glandları maternal ve plasental steroid hormonların etkisi altındadır. Bunun sonucu olarak asiner ünitlerdeki epitelyal hücreler sekretuar aktivite kazanırlar. Doğum anında maternal ve plasental hormonların geri çekilmesi sonucu prolaktin sentezi ve kolostrum salgısı stimüle olur. Bu sürede yenidoğan erkek ve kız bebeklerde palpe edilebilen bir meme dokusu mevcuttur. Hayatın ilk ayı boyunca maternal plasental hormonlar ve prolaktin seviyelerinde düşme devam edecek, meme dokusu regrese olacaktır. Puberteye kadar ise alveolar gelişim izlenmeyen ancak kısmen dallanmalar gösteren laktiferöz duktuslar izlenecektir. Yalnızca birkaç rudimenter lobüler yapı görülebilir (14).

Fetal memede görülebilen diğer bir durum da, postnatal 4. aya kadar devam edebilen periduktal ekstramedüller hematopoezdir (18).

2.3. Memenin histolojisi

Meme dokusu tipik olarak 15-25 adet düzensiz lobtan oluşur. Fibröz doku lobları birleştirir, yağ doku ise lobların çevresini sarar. Her lob bağ dokusu ile pek çok lobüle ayrılır. Lobüller, bazal lamina ile çevrili 10-100 kadar, duktül ya da asinüs adı verilen, alveollere dallanır. Lobların her biri laktiferöz duktusların meme başına açılmadan önce oluşturduğu genişleme olan, meme başındaki laktiferöz sinüse açılır. Memenin segmental duktal sistemi de laktiferöz sinüs ile başlar. Laktiferöz duktusların dallanması ile major (segmental) duktuslar, major duktusların dallanması ile ise terminal (subsegmental) duktuslar oluşur. Terminal duktuslar lobüllerde sonlanır.

Memenin temel yapısal birimi olan terminal duktal lobül ünitesini (TDLU) her bir lobül ve bu lobun terminal duktusu oluşturur (**Şekil 3**). Bu tubüler yapılarda, en dışta bazal lamina, bazal laminanın altında tübülün dışında myoepitelyal hücreler, en içte tek sıra halinde olan epitelyal hücreler görülür. Lobülleri yoğun kollajenize fibröz stroma sararken, lobül içinde görülen stroma daha gevşek ve mikzomatöz özelliktedir. Asinüslerin bulunduğu intralobüler alanda stroma hormona duyarlıdır (15).



Şekil 3: Erişkin kadın memesinde terminal duktal lobüler unit.

Meme başı ektodermden gelişir. Mezenkimal dokunun proliferasyonu ile oluşur. Doğumdan hemen sonra meme başı çok sayıda sebace ve apokrin gland içerir (17). Meme başı tabanında 15-25 adet laktiferöz duktus, laktiferöz sinüsü oluşturmak üzere dilate olurlar. Bu sinüsler, meme başının hemen altında bulunan koni şeklindeki ampullada sonlanır. Ampulla laktasyon sırasında sütle dolu iken, laktasyonda olmayan memede lümende epitelyal döküntüler içerir. Meme başının gövdesi sirküler ve longitudinal uzanan düz kaslar, kollajenöz ve elastik liflerden oluşur. Bu kas liflerinin kontraksiyonu, lokal venöz staz ile meme başı ereksiyonunu sağlar ve süt sinüslerini boşaltır. Meme başı-areola bölgesi areolanın periferi dışında pilosebace ünit içermez. Ancak dermiste artmış sayıda sebasöz gland vardır. Bu glandlardan bazıları direkt olarak meme başına ve areolaya açılırken, bazıları laktiferöz duktusla ilişkilidir. Laktiferöz duktusla ilişkili olan sebasöz gland yapılarına Montgomery Tüberkülü adı verilir. Gebelik boyunca bu glandların sayısı artar ve belirgin hale gelirler (14).

2.3.1. Prepubertal dönemde meme histolojisi

Prepubertal dönemde meme dokusu, gevşek bağ dokusu ile çevrelenmiş stromaya sahip laktiferöz sinüsler ve laktiferöz duktuslardan oluşur. Bu dönemde meme dokusunda asinus ve lobül yapıları görülmez. Postnatal 4. aya kadar devam edebilen periduktal ekstramedüller hematopoez görülebilir (18).

2.3.2. Adolosan dönemde meme histolojisi

Adolosan meme gelişimi siklik progesteron ve östrojen sentezi ile birlikte pubertede başlar. Meme gelişiminde çeşitli steroid ve peptid hormonların etkisi vardır (**Tablo 1**). Östrojen etkisi ile duktuslar elonge olur, dallanmaya ve kalınlaşmaya başlarlar. Periduktal bağ dokuda artış görülür. Duktal gelişme ve dallanma büyük oranda progesterondan bağımsızdır. Östrojen ve progesteronun birbirlerini takip eden siklik salgılanmaları sonucu lobüloasiner gelişim ve bağ doku gelişimi birlikte ilerler. Memenin gelişiminin büyük bölümü pubertede olur, üçüncü dekada kadar devam eder. Son diferansiyasyonunu gebelikte geçirerek gelişimini sonlandırır (14).

2.3.3. Erişkin dönemde meme histolojisi

Yetişkin kadın memesi değişken oranlarda yağ ve bağ doku içeren stroma içerisine gömülü olan duktuslar, duktuller ve lobüler asiner ünitlerden oluşur.

Stromadaki yağ ve bağ doku oranı yaşa göre değişkenlik göstermektedir. Gençlerde stroma daha fibrotik iken, yaşlılarda yağ dokusu oranı belirgin şekilde artmaktadır.

Tablo 1: Meme gelişiminde rol oynayan önemli steroid ve peptid hormonlar (14).

Hormon	Etki
Östrojen	Adelolan dönemde duktal gelişimi sağlar. Gebelikte lobüloalveolar gelişimi sağlar. Progesteron reseptörlerinin gelişimini indükler. Sekresyon ve laktasyon için gerekli değildir.
Progesteron	Lobüloalveolar differansiyasyonu sağlar. Östrojen etkisindeki memede mitojen etki gösterir (muhtemel) Duktal gelişim ve dallanma için gerekli değildir.
Testosteron	Fetal dönemde mezenkim gelişimini indükler. Testosteron sensitivitesi boyunca meme epitelinin mezenkim tarafından destrüksiyonuna neden olur.
İnsülin	Duktal-alveolar gelişimi artırır Meme epitelinde protein sentezini artırır Sekretuar aktiviteyi sağlar (glükokortikoid ve prolaktin ile birlikte)
Prolaktin	Doğum sonrası epitelyal gelişmeyi stimüle eder Laktasyonu indükler
İnsan Plasental Laktojen	Epitelyal büyüme ve diferansiyasyonda prolaktinin yerine geçebilir. Gebeliğin ikinci yarısında alveolar büyüme ve laktogenezi sağlar.
Büyüme Hormonu	Adelolan dönemde duktal büyüme ve dallanmayı sağlar Gebelik döneminde lobüloasiner büyümeye katkıda bulunur
Tiroid hormonları	Prolaktinin epitelyal etkisini artırır. Lobüloasiner gelişmeyi artırır.

Memenin duktal-lobüler sistemi segmentler ya da loblar halinde düzenlenir. Her bir segment dallanma gösteren adeta çiçekli bir ağaca benzer görünümde olan yapılanmaya sahiptir. Lobüller çiçekleri temsil eder, sekresyonlarını duktüllere, duktuslara daha sonra toplayıcı kanallara boşaltırlar. En son yüzeye, meme başına açılır (14).

Duktal-lobüler sistemde epitel çift sıralı epiteldir. Luminal kısımda epitelyal hücreler, bazalde ise myoepitelyal hücreler vardır. Bu çift sıralı hücreler benign ve

malign lezyonların ayırıcı tanısında önem arz eder. Luminal epitelyal hücreler küboidal ya da kolumnar olabilen, eozinofilik sitoplazmalı, uniform yuvarlak nükleusludurlar. Myoepitelyal hücreler ise, sıklıkla fark edilmesi zor, flat görünümde şeffaf sitoplazmalı hücrelerdir.

Lobüller ve lobüllerin terminal duktuslarının oluşturduğu birime “Terminal Duktal Lobüler Ünit” adı verilmektedir. Bu memenin fonksiyonel ve yapısal birimini temsil eder. Memede görülen patolojik değişikliklerin büyük bölümü TDLU’dan kaynaklanmaktadır (19).

Normal bir lobül, değişken sayıda kör sonlanan, “asini” adı verilen, çift sıralı epitel ile döşeli olan, terminal duktülleri içerir. Lobüler asiniler, gevşek fibrovasküler bir stroma ile sarılıdır. Bu stromada lenfositler, plazma hücreleri, makrofajlar ve mast hücreleri bulunur.

Meme başı-areola kompleksi meme derisinde sirküler ve hiperpigmente olarak görülen bir alandır. Çok sayıda duyuşal sinir sonlanmaları içerir. Meme başında 15-20 tane duktus açıklığı vardır. Laktasyon döneminde olmayan memede bu açıklıklar keratin tabakası ile tıkalı halde bulunurlar. Meme başı ve areola keratinize skuamoz epitel ile örtülüdür (14).

2.3.4. Gebelik ve laktasyon döneminde meme histolojisi

Gebelik döneminde artmış östrojen, progesteron, prolaktin ve büyüme hormonu etkisi ile meme dokusunda lobül ve asini sayısında artış ile sonuçlanan epitelyal hücre proliferasyonu görülür. Ayrıca adrenal glukokortikoidler ve insülin hormonu da bu dönemde etkilidir

Laktasyondaki memede asiniler dilate olarak izlenirler. Asini epitelleri, büyümüş, sitoplazmik vakuolizasyonlar içeren, lümene doğru protrüzyonlar oluşturan yer yer hobnail görünümünde hücrelerden oluşmaktadır. Laktasyon süresince lobüllerde involusyon gerçekleşir ve lobüller normal dinlenme halindeki görünümüne dönüşürler. Bu süreç aylar sürebilir. İnvolyon gösteren lobüller sıklıkla düzensiz sınırlı olurlar ve plazma hücreleri ve lenfositler tarafından infiltre edilmiş görünümündedir (14).

2.3.5. Postmenopozal dönemde meme histolojisi

Postmenopozal dönemde östrojen ve progesteronun azalmasına bağlı olarak TDLU'larda atrofi ve involusyon gerçekleşir. Bu durum; intralobüler stromada azalma ve duktuslarda ise değişken derecede ektazi ile karakterizedir. Postmenopozal memede glandüler doku ve kollajenöz stromada belirgin azalma ve adipöz dokuda belirgin artış olur. Postmenopozal dönemdeki involusyonun son aşamasında meme dokusunda hyalinize bağ dokusu ile çevrili ya da yağ dokusu içine gömülmüş durumda atrofik asiniler ve duktuslarda oluşan TDLU'lar izlenir (14).

2.3.6. Erkek memesi histolojisi

Erişkin erkek memesi kadın memesinde olduğu gibi değişken miktarda kollajen ve yağ dokusundan oluşan stroma içerisine gömülmüş glandüler epitelyal yapılardan oluşmaktadır. Ancak glandüler epitelyal yapılar lobül formasyonu göstermeyen dallanan duktus yapılarından oluşur (14).

2.4. Meme kanseri

Meme tümörleri, benign ya da malign özellikte olabilirler. Meme patolojilerinin büyük çoğunluğu TDLU kaynaklıdır ve adenokarsinomlardır (19). Ancak stromal elemanlardan ve nadiren lenfoid dokudan da gelişebilirler (20).

Meme kanserleri sınırlayıcı bazal membranı aşmış aşmamalarına göre sınıflandırılırlar. Bazal membran sınırları içinde kalanlar in situ karsinom, bunu aşmış yayılanlar ise invaziv ya da infiltratif karsinom olarak adlandırılırlar (21).

2.4.1. Epidemiyoloji

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, kadınlarda en sık görülen karsinom meme karsinomlarıdır. Dünya çapında kadınlar arasında birincil ölüm nedenidir (1). Birçok epitelyal tümörde olduğu gibi meme kanserlerinin de insidansı yaş ile artmaktadır. Dünya çapında, meme kanseri insidansı 10 kat değişir. Avustralya, Avrupa ve Kuzey Amerika varlıklı popülasyonun daha çok etkilendiği yüksek riskli bölgelerdir ve buralarda kadınların %6'sında 75 yaşından önce meme kanseri gelişmektedir. Sahra altı Afrika ve güneydoğu Asya'nın bazı bölgeleri gibi gelişmekte olan ülkeler daha az riskli bölgelerdir. Zengin ülkelere göre risk üçte bir oranında daha azdır. Zaman içinde düşük riskli bölgelerden yüksek riskli bölgelere göç eden

toplumlarda, bir ya da iki nesil sonra risk yüksek riskli toplumların seviyesine ulaşmaktadır. Bu da kanser gelişiminde çevresel faktörlerin önemini göstermektedir (22).

Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı 2016 yılı verilerine göre meme kanseri insidansı yüz binde 46,8 iken, her yıl yaklaşık 17.000 kadına meme kanseri tanısı konmaktadır. Meme kanseri en sık görülen 20 hastalık arasında %2,1 oranı ile sekizinci sıradadır (3).

Bununla birlikte, gelişmekte olan ülkelerde meme kanseri sıklığı, gelişmiş ülkelere daha hızlı bir şekilde artmaktadır. Tüm dünyada yıllık artış hızı %0,5 kadar iken, Çin'de yıllık artış %3-4'ü bulmaktadır. Son yıllarda özellikle Türkiye'nin batısında meme kanseri sıklığında belirgin artış olduğu gözlenmiştir. Batıdaki bu artış, "Batı tarzı yaşam" ile erken menarş, geç menopoz, geç doğum (>30 yaş), daha kısa laktasyon vs. ile açıklanmaktadır (23).

2.4.2. Etiyoloji

Meme kanserinin nedenleri tam olarak anlaşılmış değildir. Ancak üç etken grubunun önemli olduğu kabul edilmektedir: genetik değişiklikler, hormonal etkiler, çevresel değişkenler (21).

Etiyolojik hikaye in utero başlar ve hayat boyu devam eder. Meme kanserinde tanımlayıcı risk faktörü, hayvansal yağ ve proteinlerden zengin yüksek kalorili diyet ve fiziksel egzersizin yokluğu ile karakterize olan "batı tarzı yaşam" dır. Bu yaşam tarzının uzun zamandır devam ettiği Avustralya, Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa ülkelerinde yıllık meme kanseri insidansı 100.000 kişide 70-90 yeni vaka oranına ulaşmıştır. Meme kanseri gelişiminde maruz kalınan çevresel etkenler de tanımlanmıştır (radyasyon, alkol, eksojen hormonlar gibi) ancak bunlar daha az risk ile ilişkilidir (22).

Tüm kanserlerde olduğu gibi genetik mutasyonlar meme epitelindeki protoonkogenleri ve tümör baskılayıcı genleri etkileyerek onkogeneze yol açarlar. Bunlar arasında en karakteristik olanı, invaziv meme kanserlerinin yaklaşık %30'unda amplifikasyon gösteren HER2 protoonkogeninin amplifikasyonudur ve bu durum HER2 protein aşırı ekspresyonuna (overekspresyon) neden olur. Bu gen epidermal

büyüme faktörü reseptör ailesinden olup, bu genin ürünü olan HER2 protein aşırı ekspresyonu kötü prognoz göstergesidir (21).

Bazı insan meme kanserlerinde RAS ve MYC genlerinde amplifikasyonlar izlenmektedir. İyi bilinen tümör baskılayıcı genler olan RB ve TP53'de mutasyonlar olabilir. Östrojen reseptörü geni de dahil olmak üzere çok sayıda gen promoter hipermetilasyonu ile inaktive olabilir (21).

Gen ekspresyon profilinin belirlenmesi ile meme kanseri 4 moleküler alttıpe ayrılabilir: **Luminal A** (ER pozitif, HER2 negatif), **Luminal B** (ER pozitif, HER2 negatif, Ki-67>%14 ya da ER pozitif, HER2 pozitif), **HER2 pozitif** (HER2 pozitif, ER negatif), **Bazal benzeri** (ER negatif ve HER2 negatif). Bu alttıpler farklı seyirler gösterirler ve klinik olarak da farklı tedavi yaklaşımı gerektirirler (21).

Meme kanseri diğer neoplazilere göre daha yüksek oranda ailesel geçiş ile ilişkilidir. Tanımlanan yüksek riskli iki gen olan BRCA1 ve BRCA2, ailesel meme kanseri ile ilişkisi en yüksek olan genlerdir. Ailesel meme kanserleri tüm meme kanserlerinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (22).

Hereditör meme kanseri olan kadınların kabaca üçte birinde BRCA1 veya BRCA2 gen lokusunda mutasyonlar bulunur. Moleküler temelde bunların meme kanseri riski ile kuvvetli bağlantıları henüz tam olarak açıklanamamakla birlikte, hem BRCA1 hem BRCA2'nin DNA tamir yolağında ortak bir fonksiyona sahip olduklarına inanılmaktadır (21).

Genetik açıdan BRCA1 ve BRCA2 klasik tümör baskılayıcı genlerdir. İlki germline mutasyon, diğeri ise bunu izleyen somatik mutasyon sonucu, ancak her iki allelin de inaktive veya hasarlı olması sonucu kanser gelişir. Penetrasyon derecesi, kanser gelişim yaşı, diğer kanser tiplerine duyarlılık spesifik mutasyonlar arasında farklılık gösterir. Bu mutasyonları taşıyanların çoğunda 70 yaşına kadar meme kanseri gelişmesi beklenirken, mutasyonları taşımayan kadınların sadece %7'sinde meme kanseri gelişir. Meme kanseri ile ilişkili olan ve daha seyrek izlenen genetik hastalıklar Li-Fraumeni Sendromu (TP53'te germline mutasyon sonucu gelişir), Cowden Hastalığı (PTEN'de germline mutasyon sonucu gelişir) ve Ataksi-Telenjektazi geni taşıyıcılığıdır (21).

Kadınların reproduktif hikayesi de meme kanseri gelişimi ile yüksek oranda ilişkilidir. Erken menarş (12 yaştan önce), doğum yapmamış olmak ya da ilk doğumunu ileri yaşta yapmak, geç menopoz (55 yaştan sonra) meme kanseri gelişiminde risk faktörleridir. İnfertilitenin risk faktörü olmasının nedeni ise laktasyonun olmamasıdır (21, 22).

Aşırı endojen östrojen seviyesi, daha doğru deyişle, hormonal dengesizlik önemli role sahiptir. Bahsi geçen birçok risk faktöründe (uzun reproduktif dönem, nulliparite ve ilk doğumun geç yaşta olması) progesteron tarafından dengelenmeyen yüksek oranda östrojene maruz kalma söz konusudur. Postmenopozal kadınlarda östrojen üreten fonksiyonel over tümörleri meme kanseri ile ilişkilidir. Östrojenler parakrin ve otokrin mekanizmalarla tümör oluşumunu uyarabilen transforme edici büyüme faktörü alfa ($TGF-\alpha$), trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve benzerleri gibi büyüme faktörlerinin üretimlerini uyarır (21).

Hormon replasman tedavisi olarak bilinen postmenopozal dönemde uzun süreli östrojene maruz kalmanın osteoporozu önlemede yararlı olduğu kanıtlanmıştır. Ancak son dönemde yapılan araştırmaların sonuçlarına göre, nispeten kısa süreli östrojen ve progestin kullanımı, artmış meme kanseri riskine, meme kanserlerine daha ileri evrede tanı konmasına ve anormal mammogram insidansında artışa neden olmaktadır. Bu nedenle perimenopozal hormon replasman tedavisinin tekrar ciddi bir biçimde değerlendirilmesi ve östrojen progestin kullanımında belirgin azalma söz konusudur (21).

Göğüse uygulanan iyonizan radyasyon meme kanseri riskini artırmaktadır. Riskin boyutu radyasyon dozuna, uygulamadan sonra geçen süreye ve yaşa bağlıdır. Sadece 30 yaşından önce, meme gelişimi sırasında radyasyon uygulanan kadınların etkilendiği düşünülmektedir. Ergenliklerinde ve 20'li yaşlarında Hodgkin Lenfoma nedeniyle radyasyon uygulanan kadınların %20-30'unda meme kanseri gelişmektedir. Ancak daha ileri yaşlardaki uygulamalarda riskin artmadığı gözlenmektedir. Mamografi yönetimi esnasında uygulanan düşük dozlu radyasyonun meme kanseri gelişimi üzerine ciddi etkisi yoktur (21).

Obezite, alkol kullanımı, diyetle yüksek yağ oranı gibi diğer birçok iyi tanımlanmış faktörler, popülasyon çalışmalarında meme kanseri gelişiminden sorumlu

tutulmaktadır. Obezite ile ilgili risk, muhtemelen memenin, adipöz dokuda üretilen östrojene maruz kalmasına bağlıdır (21).

2.4.3. Prognostik faktörler

Meme kanseri hasta veya hekim tarafından belirgin, soliter, ağrısız bir kitle olarak saptanır. Klinik olarak saptandığı sırada tümör tipik olarak 2-3 cm boyutuna ulaşmıştır ve hastaların yaklaşık %50'sinde aksiller lenf nodu tutulumu mevcuttur (21). Meme kanserinin prognozu aşağıdaki değişkenlere bağlıdır:

Tümör çapı: Prognozu belirleyen en önemli faktörlerden birisidir. Günümüzde mamografik taramalar sonucu meme kanserlerine daha erken evrelerde tanı konulabilmektedir. Mamografik taramalar sonucu tümörlere 1 cm çapa ulaşmadan tanı verilebilmektedir. Bu vakalarda görülen rekürrens oranı %10'dur (24). 2 cm'den küçük invaziv karsinomların (5 yıllık sağkalım oranı %87) prognozu, in situ karsinomları gibi (5 yıllık sağkalım oranı %90'dan fazladır) çok iyidir (21). "Collage of American Pathologists (CAP)" Ocak 2018 kanser protokolüne göre tümör boyutuna ve çevre yapılarına invazyon durumuna göre patolojik T evresi (pT) şu şekilde belirlenmiştir:

- pTx: Primer tümör değerlendirilemiyor
- pT0: Primer tümör kanıtı yok
- pTis (DKİS): Duktal karsinoma in situ
- pTis (Paget): Meme başında Paget hastalığı varlığı
- pT1: Tümör en büyük çapı 20 mm veya 20 mm'den daha küçük
- pT1mi: Tümör en büyük çapı 1 mm veya 1 mm'den daha küçük
- pT1a: Tümör en büyük çapı 1 mm'den büyük, 5 mm veya 5 mm'den daha küçük
- pT1b: Tümör en büyük çapı 5 mm'den büyük ama 10 mm veya 10 mm'den küçük
- pT1c: Tümör en büyük çapı 10 mm'den büyük ama 20 mm veya daha küçük

- pT2: Tümör en büyük çapı 20 mm'den büyük ama 50 mm veya 50 mm'den daha küçük
- pT3: Tümör en büyük çapı 50 mm'den büyük
- pT4: göğüs duvarına ve/veya deriye invazyon (ülser ya da satellit nodül) yapan herhangi bir çaptaki tümör
- pT4a: Göğüs duvarına yayılım; Göğüs duvarı yapılarının invazyonu yokluğunda pektoralis kasına invazyon T4 olarak nitelendirilmez.
- pT4b: Deride ülserasyon ve/veya makroskopik satellit nodül ve/veya ödem (peau d'orange dahil) inflamatuvar karsinom kriterlerini karşılamaz
- pT4c: T4a ve T4b'nin kriterlerinin birlikte görülmesi
- pT4d: İnflamatuvar Karsinom

Aksiller lenf nodlarının durumu: Aksiller lenf nodu tutulumu olmayan olgularda 5 yıllık sağ kalım %80'lere yaklaşmaktadır. Sağkalım tutulan her lenf nodu sayısı ile ters orantılıdır ve 16 ve üzeri lenf nodu metastazında bu oran %50'nin altındadır (21). "Cancer of American Pathologists" Ocak 2018 kanser protokolüne göre aksiller lenf nodu durumu şu şekilde belirlenmiştir:

- pNx: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
- pN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok ya da yalnızca izole tümör hücreleri var
- pN0 (i+): Bölgesel lenf nodunda yalnızca izole tümör hücreleri var
- pN0 (mol+): RT-PCR ile saptanabilen pozitif moleküler bulgular var, izole tümör hücreleri yok
- pN1mi: Mikrometastaz (yaklaşık olarak 200 hücre, 0,2 mm'den büyük 2 mm'den küçük çapta tümör hücreleri)
- pN1a: En az biri 2 mm'den büyük çapta olan 1 ya da 3 adet aksiller lenf nodunda metastaz
- pN1b: ipsilateral intramammarian sentinel lenf nodu pozitifliği, izole tümör hücreleri hariç
- pN1c: pN1a ve pN1b kriterlerinin birlikteliği
- pN2a: En az bir tümör depozitinin 2 mm'den büyük olmak şartı ile 4 ya da 9 aksiller lenf nodunda metastaz

- pN2b: Klinik olarak saptanabilen intramammarian lenf nodu metastazı (mikroskopik konfirmasyon olmasa bile) (aksiller lenf nodları patolojik olarak negatif iken)
- pN3a: En az bir tümör depozitinin 2 mm'den büyük olmak şartı ile 10 ya da daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz veya infraklavikuler (level 3) lenf nodu metastazı
- pN3b: Görüntüleme yöntemleri ile saptanan pozitif intramammarian lenf nodu varlığında pN1a ya da pN2a lenf nodları
- pN3c: İpsilateral supraklaviküler lenf nodu metastazı

Bu sınıflandırma izole tümör hücrelerini, 0,2 mm'den büyük olmayan tümör hücre kümeleri ya da tek tek dağılan tümör hücreleri, ya da 200 hücreden daha az sayıda olan tümör hücreleri olarak tanımlamaktadır.

Uzak metastaz: Hematojen yayılım görülen hastalarda 5 yıllık sağkalım %15'tir (21).

Histolojik derece (grade): Histolojik derecenin prognoz üzerinde önemli bir etkisi vardır. Derece 1 hastaların prognozu, derece 2 ve 3 hastalara göre anlamlı olarak daha iyidir (25). Meme kanserlerinde en sık uygulanan derecelendirme sistemi nükleer pleomorfizm, tübül oluşumu ve mitozu değerlendirir. 1957'de Bloom ve Richardson tarafından önerilen ve sonra modifiye edilen bu sistem; parametreleri üç ayrı grupta toplayarak 1'den 3'e kadar puanlama belirlemiştir (25, 26) (**Tablo 2**).

Histolojik tip: Meme karsinomunun özel tipleri olan tübüler, medüller ve müsinöz karsinomlar özel olmayan tipe göre daha iyi prognozluurlar (21). Az diferansiye, taşlı yüzük hücreli ve inflamatuvar karsinomlar ile karsinosarkomlar ise memenin agresif davranışlı tümörleridir (20).

Östrojen veya progesteron reseptör durumu: Hormon reseptörlerinin varlığı biraz daha iyi prognozu göstermektedir. Antiöstrojenik tedaviye en iyi yanıt hem östrojen hem progesteron reseptörünü eksprese eden tümörlerde alınır (21).

HER2 aşırı ekspresyonu: Aşırı ekspresyon kötü prognozu gösterir. HER2 gen durumunun belirlenmesinin klinik önemi HER2 fonksiyonunu baskılayan monoklonal antikolar olan trastuzumab, pertuzumab, vs.'nin tedavi yanıtının belirlenmesidir (21).

Lenfatik ve vasküler invazyon: Menopozal durum ve tümör çapından bağımsız olarak ilerlemiş hastalığı gösteren prognostik belirteçtir (24).

Tablo 2: Bloom-Richardson Sistemi Nottingham Modifikasyonu.

Tübül formasyonu	
1 puan	Tümörün %75'inde fazlasında tübül formasyonu
2 puan	Tümörde %10-75 arasında tübül formasyonu
3 puan	Tümörün %10'dan azında tübül formasyonu
Nükleer pleomorfizm	
1 puan	Minimal
2 puan	Orta
3 puan	Belirgin
Mitoz sayısı	
1 puan	0-3 mitoz / 1 mm ²
2 puan	4-7 mitoz / 1 mm ²
3 puan	≥ 8 mitoz / 1 mm ²
Grade	
I	Skor: 3, 4, 5
II	Skor: 6,7
III	Skor: 8,9

2.5. Meme tümörlerinin histopatolojik sınıflandırması

Meme tümörlerinin histolojik sınıflandırmasında yaygın olarak kullanılan Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2012 yılında yayımladığı sınıflandırma aşağıda verilmiştir (**Tablo 3**).

Bu sınıflandırmaya göre meme tümörleri öncelikle 8 başlık altında incelenmektedir.

Epitelyal tümörler
<i>Mikroinvaziv karsinom</i>
<i>İnvaziv meme karsinomu</i>
Özel tip olmayan invaziv meme karsinomu
Pleomorfik karsinom
Osteoklast benzeri stromal dev hücreli karsinom
Koryokarsinomatöz özellikli karsinom
Melanotik özellikli karsinom
İnvaziv lobüler karsinom
Klasik lobüler karsinom
Solid lobüler karsinom
Alveoler lobüler karsinom
Pleomorfik lobüler karsinom
Tübülobüler karsinom
Mikst lobüler karsinom
Tübüler karsinom
Kribriform karsinom
Müsinöz karsinom
Medüller özellikler gösteren karsinom
Medüller karsinom
Atipik medüller karsinom
Medüller özellik içeren spesifik olmayan tip invaziv karsinom
Apokrin diferansiyasyon gösteren karsinom
Taşlı yüzük hücreli diferansiyasyon gösteren karsinom
İnvaziv mikropapiller karsinom
Metaplastik karsinom, özel tip olmayan
Düşük dereceli adenoskuamöz karsinom
Fibromatozis benzeri metaplastik karsinom
Skvamöz hücreli karsinom
İğsi hücreli karsinom
Mezenkimal diferansiyasyon gösteren
Metaplastik karsinom
Mikst metaplastik karsinom
Myoepitelyal karsinom
Nadir tipler
Nöroendokrin özellik gösteren karsinom
Sekretuar karsinom
İnvaziv papiller karsinom
Asinik hücreli karsinom
Mukoepidermoid karsinom
Polimorföz karsinom
Onkositik karsinom
Lipitten zengin karsinom
Glikojenden zengin berrak hücreli karsinom

<p>Sebase karsinom Tükrük bezi/deri eki tipi karsinomlar</p> <p><i>Epitelyal-myoepitelyal tümörler</i></p> <p>Pleomorfik adenom Adenomyoepitelyoma Adenoid kistik karsinom</p> <p><i>Prekürsör lezyonlar</i></p> <p>Duktal karsinoma in situ Lobüler neoplazi Lobüler karsinoma in situ Klasik lobüler karsinoma in situ Pleomorfik lobüler karsinoma in situ Atipik lobüler hiperplazi</p> <p><i>İntraduktal proliferatif lezyonlar</i></p> <p>Olağan duktal hiperplazi Flat epitelyal atipi içeren kolumnar hücre lezyonları Atipik duktal hiperplazi</p> <p><i>Papiller leyonlar</i></p> <p>İntraduktal papillom Atipik hiperplazili intraduktal papillom Duktal karsinoma in situlu intraduktal papillom Lobüler karsinoma in situlu intraduktal papillom İntraduktal papiller karsinom Enkapsüle papiller karsinom İnvazyon gösteren enkapsüle papiller karsinom Solid papiller karsinom İn situ İnvaziv</p> <p><i>Benign epitelyal proliferasyonlar</i></p> <p>Sklerozan adenozis Apokrin adenozis Mikroglanduler adenozis Radyal skar/kompleks sklerozan lezyon Adenomlar Tübüler adenom Laktasyon adenomu Apokrin adenom Duktal adenom</p>

Tablo 3: DSÖ 2012 Meme Tümörleri Sınıflandırması.

Tablo 3'ün Devamı: DSÖ 2012 Meme Tümörleri Sınıflandırması.

Mezenkimal tümörler
Nodüler fasiit
Myofibroblastom
Dezmoid tip fibromatozis
Inflamatuar myofibroblastik tümör
Benign vasküler lezyonlar
Hemanjiom
Anjiomatozis
Atipik vasküler lezyonlar
Psödoanjiomatöz stromal hiperplazi
Granüler hücreli tümör
Benign periferel sinir kılıfı tümörleri
Nörofibrom
Schwannom
Lipom
Anjiolipom
Liposarkom
Anjiosarkom
Rabdomyosarkom
Osteosarkom
Leiomyom
Leiomyosarkom

Fibroepitelyal tümörler
Fibroadenom
Filloides tümör
Benign
Borderline
Malign
Periduktal stromal tümör, düşük dereceli
Hamartom

Meme başının tümörleri
Meme başı adenomu
Siringomatöz tümör
Meme başının Paget hastalığı

Tablo 3'ün Devamı: DSÖ 2012 Meme Tümörleri Sınıflandırması.

Malign lenfoma
Diffüz büyük B hücreli Lenfoma Burkitt lenfoma T hücreli lenfoma Anaplastik büyük hücreli lenfoma, ALK negatif Ekstranodal marjinal zon B hücreli lenfoma, MALT tip Foliküler lenfoma
Erkek memesinin tümörleri
Jinekomasti Karsinom Invaziv In situ
Klinik paternler
Inflamatuvar karsinom Bilateral meme karsinomu

2.6. Meme tümörlerinin moleküler sınıflandırması

Invaziv meme karsinomu olan hastaların klinik yönetiminde 3 temel moleküler belirteç kullanılır: ER, PR ve HER2 (22). Bazal sitokeratinler de protein ekspresyon profilini belirlemek için kullanılabilir (27). Gen ekspresyon profilinin belirlenmesi ile meme kanseri 4 moleküler alt tipe ayrılabilir: Luminal A, Luminal B, HER2 pozitif, Bazal benzeri. Bu alt tipler farklı seyirler gösterirler ve klinik olarak da farklı tedavi yaklaşımı gerektirirler (23). Gen ekspresyon profili, ER ile ilişkili tümörlerde en az iki alt tip olduğunu ortaya çıkarmıştır: Luminal A ve Luminal B. Hormon reseptörü negatif olan alt tipler ise: HER2 pozitif ve Bazal benzeri tümörlerdir (27) (**Tablo 4**).

Tablo 4: Meme karsinomlarında moleküler sınıflandırma ve immünohistokimyasal özellikler.

	Luminal A	Luminal B	HER2 pozitif	Bazal Hücre Benzeri
ER	+	+	-	-
HER2	-	- / +	+	-
CK5/6	-	-	-	+
EGFR	-	-	-	+

Luminal alttipler hormon reseptörü eksprese eden meme karsinomlarıdır. Tüm meme tümörlerinin içinde %67 oranı ile en fazla görülen gruptur. Bu tümörlerin %20'sinden azında TP53 mutasyonu görülür ve çoğunluğu grade 1'dir. Hem Luminal A tümörler hem Luminal B tümörler hormon reseptörlerini eksprese etmektedirler, ancak Luminal A tümörler daha çok ER ilişkili genleri eksprese ederken (en bilinenler PR, GATA3, Bcl-2, CK8, FOXA1, LIV1 ve CK18), Luminal B tümörlerde HER2 gibi proliferatif genlerin ekspresyonu fazladır (27, 28). Luminal B tümörler Luminal A tümörlere göre daha yüksek grade'li olma eğilimindedirler (27). Luminal A tümörlerde PR pozitifliği Luminal B tümörlere göre daha yüksektir (%20 oranında daha yüksek), proliferasyon indeksi ise Luminal A tümörlerde daha düşüktür (28).

Luminal A tümörlerde PR pozitifliğinin daha yüksek olması prognozun daha iyi olması ile ilişkili gibi görünmektedir. Yapılan çalışmalara göre 10 yıllık relapsız sağkalım oranı Luminal A tümörlerde %80'dir (28).

Luminal B tümörler ER ve ilişkili genler, bazal keratinler ve bunların yanında CCNB1, MYBL2 ve MKI67 gibi proliferasyon genlerinde de ekspresyon görülen tümörlerdir. Ayrıca tümörlerin bir kısmında HER2 geninde de overekspresyon izlenir (28). Ancak Luminal B tümörler daha heterojen tümörleri içeren bir alttıptir: ER pozitif, HER2 negatif, Ki67 \geq %14 veya ER pozitif, HER2 pozitif tümörler olarak da sınıflandırılabilir (29). Luminal A tümörlere göre relaps oranları daha yüksektir. Tedavi edilmeyen vakalarda relaps riski bazal benzeri tümörler ile benzer orandadır (30). Tedavide kemoterapiye ek olarak HER2 ilişkili ilaçlar bu vakalarda endikedir (29).

HER2 pozitif alttip tümörler meme kanserlerinin %15'ini oluşturan yüksek dereceli tümörlerdir. Bu tümörlerde HER2 ve HER2 ile ilişkili olan GRB 7 ve TRAP 100 genlerinin artmış ekspresyonu vardır. P53 mutasyonu ise %40 oranında görülmektedir (28). HER2 pozitif tümörlerde multisentrisik / multifokal hastalık, lenf nodu tutulumu, lokal rekürrens ve uzak metastaz oranları Luminal A tümörlere göre daha yüksektir (31, 32). Neoadjuvan tedaviye yanıt ise daha iyidir, büyük kısmında komplet yanıt görülmektedir (33).

Bazal benzeri alttip ise ER ve ilişkili genlerinin, HER2 ve ilişkili genlerinin negatifliği ile karakterize olup, bazal/myoepitelyal hücre ilişkili sitokeratinlerin ekspresyonunun görüldüğü tümörlerdir. Büyük çoğunluğunda (%75) p53 mutasyonu

izlenir. Ayrıca epidermal büyüme faktörü reseptör ekspresyonu (EGFR) da görülür. İmmünohistokimyasal olarak ER, PR, HER2 negatif iken, bazal sitokeratinler pozitifdir. Bazal sitokeratinlerden en çok CK5/6, CK17 ve CK19 bu tümörleri belirlemek için kullanılır (28).

Bazal benzeri alttip morfolojik olarak yüksek gradeli, yüksek mitotik aktivite gösteren, nekroz içeren, iten tarzda kenarları olan, peritümöral lenfosit infiltrasyon gösteren tümörlerdir (34). Klinik olarak daha genç yaşta izlenirler, lenf nodu metastazını sık yapan büyük çapta tümörlerdir (35). Bu tümörlerin prognozu kötüdür, büyük bir kısmı 3 yıl içinde relaps gösterir (28).

2.7. Meme kanserlerinde immünoterapi

Bağışıklık sisteminin kanser biyolojisi ve terapötiklerindeki merkezi rolü giderek daha fazla tanınmakta ve araştırılmaktadır (36). Meme kanseri geleneksel olarak tüm insan kanserlerinin en yüksek somatik mutasyonel yüküne sahip melanom ve küçük hücreli dışı akciğer kanserinden farklı olarak yüksek immünojenik bir kanser olarak kabul edilmemiştir (37). Artık immün sistemin meme kanserinde tedaviye ve prognoza yanıtı etkilemede önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar artmaktadır. İmmün kontrol noktası inhibitörleri ile immünoterapi, meme kanseri de dahil olmak üzere birçok solid tümörde umut verici ve hızla büyüyen bir alandır. Ancak, meme kanserinde immünitinin kesin genomik belirleyicileri hala yeterince anlaşılmamıştır (36).

Meme kanserlerinde immünoterapinin temel hedefi, immün sistemin neoplastik gelişim gösteren hücreleri tanınması ve malign tümör hücrelerine ilerleme potansiyeli yüksek olan transforme olmuş hücreleri elimine etmesini sağlamaktır (38). İmmün sistem hipotezine göre, immün sistem konakçıyı yalnızca tümör oluşumuna karşı korumakla kalmaz aynı zamanda tümör immünitelerini de şekillendirir (39). Bağışıklık kazandırıcı hipotez, gelişmekte olan tümörler üzerinde immünitinin çift; “konak koruyucu” ve “tümör destekleyici” etkilerini vurgulamaktadır (39).

Neoplastik hücrelerde ve çevresinde tümörü infiltre eden lenfositlerin (TİL) gözlenmesi ve TİL'lerin patolojik tam yanıtla erken meme kanserinde tedavi ve prognozla olan ilişkisi, immün sistemin öneminin anlaşılması ile ortaya çıkmıştır (36).

Meme kanserinin immünsüpresyon, tümörijenik inflamasyon, T ve B hücrelerinin baskılanması yollarıyla, immün disregülasyonunu indüklediğine dair artan bilimsel kanıtlar mevcuttur (40).

Meme kanserinde etkili immünoterapinin en çarpıcı kanıtı, HER2 proteinine karşı yönlendirilmiş monoklonal antikorların geliştirilmesi olmuştur. Meme kanserlerinin %15-20'sinde anti-HER2 monoklonal antikorlarının (trastuzumab ve pertuzumab) klinik kullanımını sağlayan HER2 reseptör tirozin kinazı kodlayan ERBB2 geninin amplifikasyonu vardır (40).

2.7.1. Meme kanserinde immün disregülasyon

Doğal ve kazanılmış bağışıklık: Doğal immün yanıt nonspesifiktir ve dendritik hücreler ve makrofajlar gibi antijen sunan hücrelerin (APC'ler) yanı sıra lokal ve sistemik inflamatuvar değişiklikleri indükleyen sitokinler ve kemokinler içerir (40). Aksine, kazanılmış immün sistem oldukça spesifiktir ve uzun süreli hafıza yanıtlarına sahiptir. Kazanılmış immünite, antikorları salgılayan bellek B hücrelerinin, sitotoksik CD8 + T lenfositlerin ve T yardımcı CD4 + T lenfositlerin gelişmesiyle sonuçlanır. T hücresi immün yanıtının aktivasyonu, tümör antijenleri APC'ler tarafından işlendiğinde, CD8 + T lenfositler tarafından doğrudan tümör sitolizine yol açan fagositik hücrelerin toplandığı ve hem CD8 + hem de CD4 + T lenfositler tarafından sitokin üretimi yoluyla tümör ve stromayı yok eden dolaylı sitoliz meydana geldiğinde ortaya çıkar (40).

Antijen sunumu: Meme kanserinde en önemli antijen sunan hücre olan dentritik hücrelerin sayıları azalmış ve fonksiyonları bozulmuştur (41).

Immünsüpresyon: Tümör hücreleri, hem T hücrelerinin süpresyonunu sağlamak hem de tümörijenik inflamasyonu uyarmak amacıyla, tümör mikroçevresini modifiye eder. ImmünsüpresyonIDO, Prostoglandin E2, TGF β , IL-6 ve VEGF-A gibi mediatörler aracılığı ile immünsüpresyon sağlanır (40). Meme kanserinde ayrıca IL-10 ile hem immünsüpresyon sağlanır hem de tümör hücrelerinin proliferasyonu hızlandırılır (42).

T hücrelerinin inhibisyonu: T hücre yanıtının immün regülasyonu, antijen stimülasyonundan sonra doku yıkımını ve otoimmüniteyi en aza indirmek için gereklidir, ancak bu inhibitör moleküller, lokal T hücre inhibisyonuna neden olmak için kanser dokularında aşırı eksprese edilebilir (40).

T hücreleri APC'ler tarafından aktive edildiğinde, naif T hücresi yüzeyindeki yardımcı uyarıcı CD28, APC'deki B7 proteinlerine bağlanır. Bu ikinci sinyal T hücrelerinin aktivasyonunu, proliferasyonunu, efektör fonksiyonunu ve migrasyonunu indükler (40). İlave yardımcı uyarıcı moleküller arasında OX40L'ye bağlandığında klonal ekspansiyon, sitokin üretimi ve T hücresinin hayatta kalmasını destekleyen OX40 bulunur (43). İndüklenebilen yardımcı uyarıcı (ICOS) ve CD40 yolları TH2 tepkilerini (T hücresine bağlı Ab bağışıklık), OX40 / 4-1BB yolları ise CD4 + ve CD8 + T hücrelerinin aktivasyonunu destekler (40).

T hücresi aktivasyonunu ve fonksiyonunu sınırlamaya yarayan çeşitli inhibitör yollar vardır. CTLA-4, daha yüksek bir afinite ile APC üzerinde B7'ye bağlanan ve TCR sinyallemesi ile indüklenen bir CD28 homologudur. Aslında, CTLA-4 ekspresyonu T hücresi aktivasyonunu ve antitümör etkinliğini inhibe eder (40). PD1, normal olarak aktive edilmiş T hücreleri üzerinde indüklenen bir CD28 ve CTLA-4 homologudur, fakat kanserdeki kronik antijenik maruziyet, yüksek seviyelerde PD1 ve T hücresi tükenmesine yol açabilir (44). PD1'in upregülasyonunun, doğal ve adaptif bağışıklığı engellediği gösterilmiştir (45). PD1 ligandı olan PDL1, tümör hücrelerinde upregüle edilir ve kanser progresyonu ve kötü prognoz ile koreledir (45).

Tümör mikroçevresi: Meme kanserinde tümör mikroçevresi meme kanserinin immünoregülatör gen aktivasyonunun paternlerini göstermiştir (48). Triple negatif meme kanserlerinin ve medüller kanserlerin mikroçevresinde belirgin lenfositik görünüm vardır (49). Yüksek sayıda tümör infiltre eden lenfositli meme kanserleri neoadjuvan kemoterapiye karşı gelişmiş yanıtlara sahiptir (50). Bu gözlemler, meme kanserlerinin alttiplerinin, hedefe yönelik immünoterapiye daha iyi cevap verebilen özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (51).

2.7.2 Meme kanserinde tümörü infiltre eden lenfositler

Tümörü infiltre eden lenfositler (TİL) tümör dokusunun içinde ve çevresinde bulunan mononükleer immün hücrelerdir. Tümör mikroçevresi hem proinflamatuvar hem de immünsüpresif etkiye sahip hücreleri içerir (36). Tip 1 T yardımcı hücreler, sitotoksik CD8 + T hücreler, doğal öldürücü hücreler, dendritik hücreler ve M1 makrofajlar proinflamatuvar özellikte olup etkili bir immün yanıtı karakterize ederken, M2 makrofajlar, miyeloid türevli baskılayıcı hücreler ve düzenleyici T hücreleri baskılayıcı fonksiyona sahiptir (46). TIL, basit tanısal hematoksilen ve eozin

kesitlerinde, çoğu solid tümör tipinde (meme kanseri dahil) gözlenmiştir ve anti-tümör T hücresi aracılı bağışıklık için bir vekil temsil ederler (36). Meme kanserinde triple negatif ve HER2 pozitif tümörlerde, ER pozitif HER2 negatif tümörlere göre daha yüksek oranlarda TİL görülür (47). Bu da triple negatif ve HER2 pozitif tümörlerin immünojenitesinin diğerlerine göre daha yüksek olduğunu gösterir (48). Meme kanserlerinde görülen TİL popülasyonunun çoğunluğunu T lenfositler teşkil eder (49).

Günümüzde meme kanserinde TIL'leri iyi prognozu olan hastaları ve immün kontrol noktası blokajı yapan tedavilerin kullanımını belirlemek amacıyla, biyobelirteç olarak kullanmak üzerine oldukça ilgi vardır. Bu amaçla TIL'lerin hematoksilin eozin boyalı lamlar üzerinde yarı kantitatif puanlama kullanarak bir biyobelirteç olarak kullanımı sağlanmaktadır (50, 51).

Son zamanlarda, melanomlar ve akciğer kanseri gibi kanserlere karşı antikanser immün yanıtlarını yeniden başlatan yeni tedaviler klinik uygulamaya girmiş ve sonuçları iyileştirmiştir (52, 53). Bazı yeni klinik çalışmalar meme kanserinde TIL'lerin prognostik ve prediktif önemini değerlendirmektedir (50).

Primer meme kanserinde TIL'lerin prognostik değeri, adjuvan kemoterapinin prospektif çalışmalarından elde edilen binlerce hastada tümör örnekleri kullanılarak değerlendirildi (36). Triple negatif ve HER2 pozitif meme kanserlerinde artmış TIL seviyeleri ve artmış nüksüz sağkalım arasında güçlü bir doğrusal ilişki gösterilmiştir (7, 47, 54). TIL'ler ayrıca neoadjuvan tedaviye daha yüksek oranda patolojik tam yanıt ile ilişkilidir (55).

Aralık 2013'te, dünyanın dört bir yanından meme kanseri araştırmalarını ve klinik ekiplerini temsil eden bir grup araştırmacı, TIL'lerin değerlendirilmesinde göz önünde bulundurulması gereken önemli parametreleri ve metodolojik engelleri tartışmak üzere bir araya geldi (50). Bu role dair kanıt, triple negatif ve HER2 pozitif alttiplerinde en yüksektir (7, 55, 56). Neoadjuvan tedavi sonrası rezidüel hastalığı olan hastalarda ise rezidüel hastalık örneğindeki TIL'lerin daha iyi prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (57). Ancak, artmış TIL'lerin lüminal tümörlerde sağkalım üzerinde ya hiçbir etkisi yoktur ya da genel sağkalımı azaltmıştır (47, 55). ER pozitif meme kanserindeki ilişki, TIL'lerin daha yüksek proliferasyon oranlarıyla birlikteliğinden dolayı daha karmaşıktır ve ikincisi, luminal meme kanserlerinde daha kötü sonuçlarla ilişkilidir (36).

Son zamanlarda, TIL'lerin metastatik hastalıktaki prognostik rolü de değerlendirilmiştir. Docetaxel, trastuzumab ve pertuzumab veya plasebo ile tedavi edilen ilerlemiş HER2 pozitif meme kanserli hastalarda, daha yüksek TIL düzeylerinin genel sağkalımın iyileşmesi ile anlamlı olarak ilişkili olduğu bulunmuştur (58). Bu veriler, anti-tümör immünitesinin prognostik etkisinin ilerlemiş hastalıkta da etkili olduğunu göstermektedir (36). Daha yüksek TIL düzeyleri olan hastalarda daha yüksek yanıt oranları ve daha uzun sağkalım gözlenmiştir, bu da TIL'lerin immünoterapiye cevap verebilen hastaların tanımlanması için bir biyobelirteç olarak rol oynayabileceğini göstermektedir.

2.7.2.1. Tümörü infiltre eden lenfositlerin içeriği

Tümörleri infiltre eden immün hücreler sıklıkla gözlemlenir, ancak doğal ve kazanılmış immüniteye dahil olan hücrelerin kompozisyonu, tümör tipleri veya organ siteleri arasında değişkenlik gösterir (59). Kemirgen ve insan çalışmalarından elde edilen kümülatif veriler, çoğu lökosit alt kümelerini pro ya da antitümör aktivitelerine baskın bir katkı ile ilişkilendirmiştir. Fare çalışmalarında tümör ilişkili makrofajlar, dendritik hücreler ve myeloid kökenli baskılayıcı hücreleri içeren myeloid kökenli lökositlerin, ürettikleri faktörler aracılığıyla, tümör mikroçevresinin oluşmasında en önemli rolü oynadıklarını göstermiştir (50). Antitümör T hücreleri bu hücrelerin zıt etkileri altında aktive olabilir ya da baskılanabilirler (60). Sırasıyla, protümörjenik M2 veya antitümör M1 fonksiyonel fenotiplere doğru makrofaj polarizasyonu T lenfositleri tarafından düzenlenir (61).

İnsanlarda yapılan çalışmalar, çeşitli solid tümörlü hastalarda immün hücrelerin spesifik alt kümelerinin varlığı ve klinik yanıt arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir (59). Ayrıca, kanıtlar T ve B lenfositlerinin aracılık ettiği kazanılmış immünitenin, etkili ve sürekli antitümör yanıtları için kritik bir temel oluşturduğunu göstermektedir (50). Meme kanserinde, tümörü infiltre eden yaygın sitotoksik CD8 + T hücrelerinin varlığı, hastanın sağkalımı (62) ve tedaviye yanıt (63) ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. CD4 + düzenleyici T hücrelerinin (Treg) varlığı hem iyi hem de kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (64-66). Diğer CD4 + T hücresi alt popülasyonları arasında Th1 hücrelerinin bulunması (interferon- γ 'nın başlıca hücresel kaynağı) olumlu klinik sonuçlar ile ilişkilendirilmiş iken (67), Th2 hücrelerinin antitümör cevabın baskılanması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (68). Proinflamatuvar

interlökin 17 sitokin ailesinin üreticileri olan Th17 hücreleri, kısmen sitokin çevresine bağlı olarak, organ bölgesi ve tümör tipi ile bağlantılı olabilen değişken etkilere sahiptir (69). En yeni CD4 + T hücre üyesi olan foliküler yardımcı T hücrelerinin (Tfh) varlığı, hem adjuvan hem de neoadjuvan tedavide son zamanlarda hasta sonuçlarıyla pozitif olarak ilişkili olarak saptandı (67). Tümörü infiltre eden B hücrelerinin kesin rolü ise, henüz iyi tanımlanmamıştır ve tartışmalıdır (70, 71).

İntratümöral lenfositlerin fonksiyonel heterojenitesi göz önüne alındığında, hematoksilen ve eozin ile boyanmış tümör kesitlerinin basit değerlendirmesiyle değerlendirilen lenfositik infiltrasyon derecesinin, triple negatif ve HER2 pozitif meme kanserlerinde prediktif ve prognostik değere sahip olduğu gösterilmiştir (55, 72).

Kemoterapi ve radyoterapi gibi sitotoksik tedaviler immün yanıtı başlatabilir (73, 74). Bu bağlamda, meme tümörü antijenlerine yönelik daha güçlü bir antitümör immün yanıtı, büyük primer tümörlerde ve ortaya çıkan metastazlarda bulunan heterojen malign hücre popülasyonunu kontrol etme olasılığını artırabilecektir (75). Bu hipotez, lenfosit infiltrasyonunun derecesinin neoadjuvan tedaviye daha iyi bir lokal yanıt için prediktif, uzun süreli hastalık kontrolü için prognostik olduğunu öngören çalışmalar ile desteklenmektedir (47, 55, 72).

2.7.2.2. Tümörü infiltre eden lenfositlerin intratümöral/stromal dağılımı

Meme kanserlerinde tümörü infiltre eden lenfositler üzerine yapılan ilk çalışmalarda, TIL'ler intratümöral ve stromal olarak ayrı ayrı incelenmiştir (50). Stromal TIL, tümör hücreleri ile stroma arasında dağılmış ve tümör hücreleri ile direkt teması olmayan lenfositler olarak, intratümöral TIL ise, tümör yuvalarının içinde, arada stroma olmaksızın, tümör hücreleri ile direkt temas halinde olan lenfositler olarak tanımlanmıştır. Her ikisi de tümör dokusu olarak tanımlanan bölgede lokalize olduğundan, her iki kategorinin de gerçek TIL'leri temsil ettiği vurgulanmıştır (50).

Orijinal hipotez ise tümör hücreleri ile doğrudan etkileşime giren lenfositlerin daha anlamlı olabileceği ve bu nedenle tanısal değerlendirme için daha yararlı olabileceği yönündeydi. Ancak çoğu güncel çalışmada stromal TIL'lerin daha üstün ve daha tekrarlanabilir bir parametre olduğu bulunmuştur. Çünkü intratümöral TIL'lerin immünohistokimya ya da immüno Floresan gibi yöntemler olmadan hematoksilen eozin kesitlerinde saptanması zordur ve sayıca daha az olarak bulunurlar. Az sayıda vakada

görülebirlirler. Bununla birlikte, stromal bölüme odaklanmak net bir avantaj sağlamaktadır, stromal TIL'lerin sadece tümör yuvaları arasındaki boşluklardan sayılması nedeniyle tümör yuvalarının yoğunluğu ve büyüme paterni TIL sayısını etkilemez (50).

Ancak tüm bunlara rağmen, yapılan son çalışmalar triple negatif tümörlerde neoadjuvan tedaviye yanıtta hem intratümöral hem stromal TIL'lerin prognostik ve prediktif değerinin olduğunu göstermektedir (76). Bununla birlikte, TIL çalışma grubunun şu anki tavsiyesi; stromal TIL'leri gelecekteki çalışmalarda ana parametre olarak değerlendirmek ve tek bir parametrenin kolayca değerlendirilmesini sağlamaktır (50).

2.7.3. Meme kanserinde immün kontrol noktalarının blokajı

T hücrelerinin uyarılması zaman içinde çözülen bir kavramdır. T hücre aktivasyonu için iki sinyalli model, naif T hücrelerinin aktivasyonu için bir model olarak Kevin Lafferty tarafından önerilmiştir (77). Bu modele göre T hücrelerinin tam olarak aktive olabilmeleri için 2 sinyal gerekmektedir. Bağışıklık cevabına özgüllüğü veren ilk sinyal, antijenik peptid – MHC kompleksinin T hücre reseptörü (TCR) ile etkileşimi ile sağlanır. İkincisi, antijenden bağımsız uyarıcı sinyal, T hücresi klonal genişlemesi, sitokin sekresyonu ve efektör fonksiyonunu desteklemek için APC'ler tarafından T hücrelerine gönderilir.

İkinci sinyalin yokluğunda, antijene spesifik lenfositler etkili bir şekilde yanıt vermezler ve fonksiyonel olarak etkisiz hale gelirler veya anerjiktirler ve antijen tarafından devam ettirilen aktivasyona karşı dirençlidirler (78).

T-hücreleri, MHC ile T-hücresi reseptörünün (TCR) birlikte sentezlenmesi ve diğer yandan immün kontrol noktası olarak bilinen CD28 / B7 ailesinin üyelerini de içeren (79, 80) stimülatör ve/veya inhibitör sinyallerin eş zamanlı aktivasyonu ile sunulan yabancı antijenler tarafından aktive edilir (81).

İmmün kontrol noktaları, aktivasyonun yanı sıra T hücre toleransı ile ilgilidir. Fiziyojik koşullar altında self toleransı ve immün homeostazını muhafaza etmede çok önemli bir rol oynarlar, böylece immün sistem patojeni etkin bir şekilde yok ettiğinde dokuları gereksiz hasarlardan korurlar (82). Fetusa karşı maternal immün tolerans bile kontrol noktası inhibitörleri tarafından kısmen düzenlenir (83).

Tümörler, patolojik antijenlere karşı zayıflatılmış bir immün reaksiyon ile sonuçlanan immün inhibitör sinyalleri eksprese edebilir (84). Sitotoksik T-lenfositlerle ilişkili antijen-4 (CTLA-4), PD1 / PDL1 / PDL2 yolağı, lenfosit aktivasyon geni-3 (LAG-3), T hücre immünoglobulin mürin-3 (TIM-3), T hücre immün yanıtını inhibe eden negatif sinyallerdir (81).

Tümör immünolojisinde, CTLA-4 sinyallemesi, lenf nodlarında bir T-hücresi tepkisinin başlatılmasının sınırlandırılmasında daha fazla yer alırken, PD1 daha sonra bu süreçte daha belirgin bir şekilde ortaya çıkmakta ve tümör mikroçevresinde T hücre aktivitesini sınırlandırmaktadır (85).

2.7.3.1. PD1 / PDL1 / PDL2 yolağı

En önemli immün yollarından biri, programlanmış hücre ölümü 1 (PD1) proteindir. PD1, T-hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilir ve immün reaksiyonları kontrol eder (86). PD1'in 2 adet ligandı vardır: "Programlanmış hücre ölümü ligandı-1 (B7-H1) ve Programlanmış hücre ölümü ligandı-2 (B7-DC)" (Programmed cell Death Ligand 1-2) (10).

Adına rağmen, PD1 doğrudan hücre ölümüne neden olmaz, ancak hücre büyüme faktörlerini ve hayatta kalma sinyallerini azaltır (81).

PD1 ve ligandları olan PDL1, PDL2 arasında gelişen aktivasyon T hücre aktivitesini, sitokin üretimini azaltırken, T hücre lizisini ve antijenlere olan toleransı artırır (87). PD1/PDL1 yolunun solid tümörlerde olduğu kadar diyabet (88), kardiyomyopati (89), HIV enfeksiyonu (90), lupus (91) ve diğer otoimmün hastalıklarda (92) da önemli olduğu gösterilmiştir.

PD1 288 aminoasitten oluşan tip 1 transmembran proteindir. Bir immünglobulin, bir transmembran protein, bir tirozin bazlı inhibitör (ITIM) yanı sıra bir tirozin bazlı değıştirici (ITSM) protein içerir. İnsanlarda 2. kromozom üzerinde lokalize Pcd-1 geni ile kodlanır (78) .

PD1, T hücreleri, B hücreleri, doğal öldürücü hücreler, aktive edilmiş monositler ve dendritik hücreler üzerinde eksprese edilebilir (78). Aktif hale geçmemiş olan T hücrelerinde eksprese edilmez (93). PD1 insan reaktif lenfoid dokusunda

germinal merkeze bağı T hücreleri üzerinde eksprese edilir (94). Hücre içi depolarda PD1 düzenleyici T hücresi (Treg) popülasyonunda tarif edilmiştir (95) .

PDL1 290 aminoasit içeren bir transmembran proteindir. İnsanlarda 9. Kromozom üzerinde bulunan Cd274 geninden kodlanır. PDL1, T ve B hücreleri, dentritik hücreler, makrofajlar, mezenkimal kök hücreler ve kemik iliğinden türetilmiş mast hücreleri üzerinde (78) ve meme, akciğer, böbrek ve malign melanomları içeren tümörlerde (10, 96) eksprese edilir. PDL1 ekspresyonu meme tümörlerinde ve tümör infiltre eden lenfositlerde bulunurken, sağlıklı meme dokusunda yoktur (11).

PDL2, Cd274'e bitişik Pcd1lg2 geni tarafından kodlanan bir tip I transmembran proteindir. PDL2 ekspresyonu, PDL1 ekspresyonundan çok daha kısıtlıdır. PDL2, dentritik hücreler, makrofajlar ve kemik iliği türevli mast hücreleri üzerinde indüklenebilir şekilde eksprese edilir (78). Ayrıca meme, akciğer, böbrek ve malign melanomları içeren tümörlerde (10, 96) eksprese edildiği de bildirilmiştir.

2.7.3.2. PD1, PDL1, PDL2 mekanizmasının tümör immünitesindeki rolü

Tümörler konakçı T hücreleri tarafından tanınabilen antijenleri eksprese eder ancak tümörlerin immünolojik olarak tamamen temizlenmesi nadirdir. Bu başarısızlığın bir kısmı, tümör mikroçevresinin immünsüpresif etkisinden kaynaklanmaktadır. Birçok tümörde PDL1 ekspresyonu, bu immünsüpresif ortamın bir bileşenidir ve diğer immünsüpresif sinyallerle birlikte hareket edebilir (78). PDL1 ekspresyonu, meme, akciğer, kolon, over, melanom, mesane, karaciğer, tükürük bezi, mide, gliom, tiroid, timik epitel, baş ve boyun dahil olmak üzere çok çeşitli solid tümörlerde gösterilmiştir (97-105).

PDL1 ekspresyonu normal meme dokusunda görülmezken, meme tümöründe görülür (11). Tümörü infiltre eden lenfositlerde upregüle edilir ve bu da tümör immünosupresyonuna katkıda bulunabilir (106). Over kanserlerinde, PDL1 ekspresyonu intraepitelyal değil stroma infiltre eden CD8 T hücreleriyle ters orantılıdır, bu da PDL1'in CD8 T hücrelerinin intratümöral migrasyonunu inhibe ettiğini gösterir (99).

Tümörler üzerinde PDL1 ekspresyonu ve hastalığın seyri ile ilgili yapılan çalışmaların en önemli sonucu, PDL1 ekspresyonunun, böbrek, over, mesane, meme,

mide ve pankreatik kanserde kötü prognozla güçlü bir şekilde korele iken, küçük hücreli akciğer kanserinde korele olmadığını göstermektedir (99, 101, 103-105). Ek olarak, bu çalışmalar tümörlerde daha yüksek PDL1 ekspresyonunun tümör evresinin ilerlemesini ve dokuların daha derinine invazyonunu kolaylaştırabileceğini düşündürmektedir (78).

PD1 yolu, hematolojik malignitelerde de rol oynayabilir (78). PD1 veya PDL1 nadiren B hücreli malignitelerde eksprese edilirken (97), PDL2'nin mikroarray analizi ile mantle hücreli lenfomalarda yüksek oranda eksprese edildiği gösterilmiştir (107). PDL1, multipl myelom hücreleri üzerinde eksprese edilir, ancak normal plazma hücrelerinde görülmez (78). Myelom hücrelerine T hücre yanıtı, PDL1 blokajı ile in vitro olarak geliştirilmiştir (108). PDL1, bazı T hücre lenfomalarında, özellikle anaplastik büyük hücreli T lenfomada eksprese edilir (97). PD1 anjiyoimmünoblastik lenfomaların T hücreleri üzerinde yüksek oranda eksprese edilir ve ilişkili foliküler dendritik hücre ağı üzerinde PDL1 eksprese edilir (94). Nodüler lenfosit baskın Hodgkin lenfomada, lenfositik ve / veya histiyositik (L & H) hücrelerle ilişkili T hücreleri PD1 eksprese eder (78). PD1 ve PDL1, HTLV-1 aracılı yetişkin T hücreli lösemi ve lenfomada, CD4 + T hücreleri üzerinde eksprese edilir (109).

Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, tümörler üzerindeki PDL1'in, T hücresi aktivasyonunu ve tümör hücrelerinin parçalanmasını inhibe ettiğini ve bazı durumlarda tümöre özgü T hücresi ölümünün artmasına neden olduğunu göstermektedir (94, 98-105, 107, 109, 110). Anti-PDL1 ile tedavi veya Pcd1 - / - farelerine tümör hücrelerinin enjeksiyonu, sitotoksikite ve sitokin üretimi ile antitümör yanıtı artırır (100, 111, 112).

Tümör ilişkili APC'ler, antitümör T hücre yanıtlarını kontrol etmek için PD1: PD-L yolunu kullanabilir (78). Tümör ilişkili myeloid dendritik hücrelerin bir popülasyonunda PDL1 ekspresyonu, tümör çevresel faktörleri tarafından düzenlenir ve PDL1 monoklonal antikor blokajı, dendritik hücre aracılı T hücresi aktivasyonunu artırır (113).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Olgu seçimi ve çalışma

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2014-2018 yılları arasında tanı verilen 171 invaziv meme karsinomu olgusu çalışma grubunu oluşturmuştur. Kontrol doku olarak 8 ayrı olguya ait tonsillektomi materyali kullanılmıştır. Cerrahi öncesi neoadjuvan tedavi alan olgular ve materyallerinde tespit / takip artefaktı olan olgular çalışma dışında bırakılmıştır.

Olgulara ait kadrantektomi, lumpektomi ve mastektomi materyallerine ait Hematoksilen Eozin boyalı kesitler tekrar incelenerek, invaziv tümöre ait alanlar lam üzerinde işaretlendi. Yeniden değerlendirilen kesitlerde invaziv tümör sınırları içerisinde tümör stromasında görülen TIL yüzde olarak kaydedildi (56). İstatistiksel analiz için %10 ve üzeri TIL varlığı pozitif kabul edildi.

İşaretli alanlar 3 mm çapında doku mikroarray cihazı ile parafin bloktan çıkarılarak, doku mikroarray bloklarının hücrelerine yerleştirildi. Her blokta hücrelerden birine kontrol doku olarak tonsil dokusu yerleştirildi. 30 adet hücre bulunan doku mikroarray bloklarından toplam 8 adet hazırlandı. Hazırlanan bloklara PD1, PDL1, PDL2 immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. Daha sonra iki gözlemci tarafından bu belirteçlerin immünreaktiviteleri değerlendirildi. Teknik işlemler sırasında lamlardan dökülen vakalar değerlendirme dışı bırakıldı.

Olguların menopozal durumları hasta dosyaları incelenerek tespit edildi. Dosyalarında menopozal durumları ile ilgili bilgi olmayan olgulardan 48 yaş ve üzerinde olanlar postmenopozal, 48 yaş altında olanlar premenopozal olarak kabul edildi. Diğer klinik ve patolojik özellikler hasta dosyalarından ve patoloji formlarından elde edildi. Çalışma için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

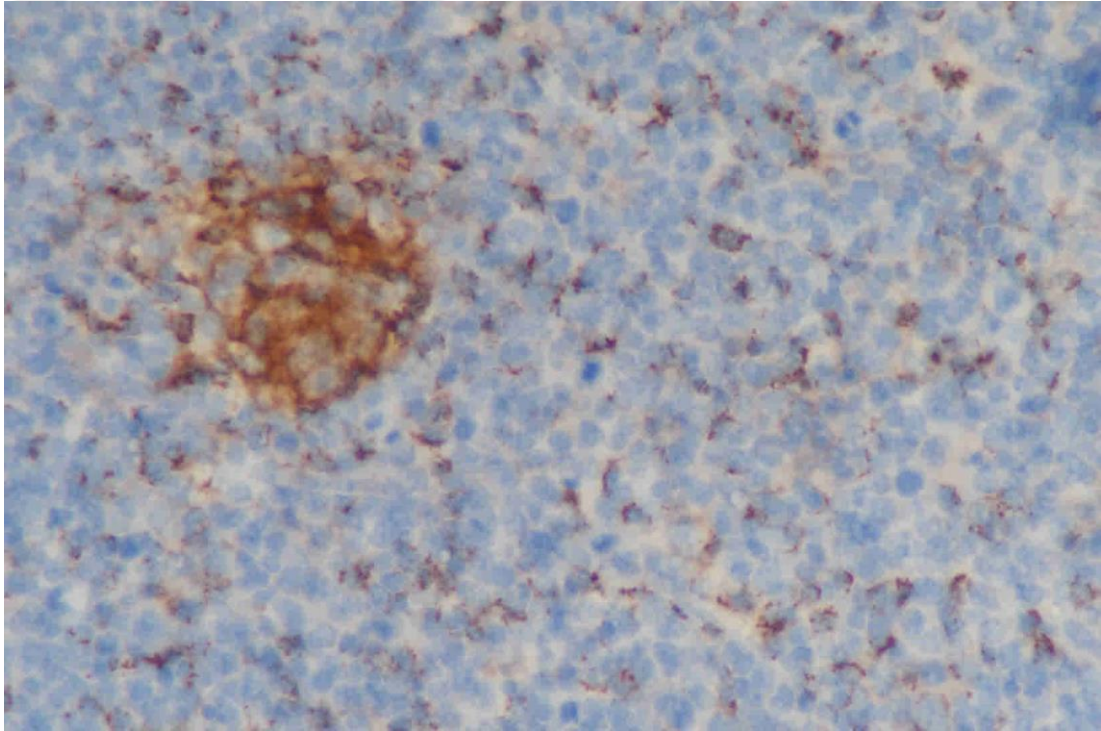
3.2. İmmünohistokimyasal İnceleme

Çalışmamızda immünohistokimyasal boyamalar için; PD1 (1/100; Mouse monoklonal, klon: NAT105, Concord, CA, USA), PDL1 (1/100; Rabbit monoklonal,

klon: CAL-10, Concord, CA, USA), PDL2 (1/100; Rabbit poliklonal, klon: GTX31249, Irvine, CA, USA) antikoru kullanıldı.

Çalışmamızda PD1 için kullanılan NAT105 klonu daha önce Kitano ve arkadaşları, Bottai ve arkadaşları, Brockhoff ve arkadaşları, Barrett ve arkadaşları, Acs ve arkadaşlarının çalışmalarında da kullanılmıştır (114-117).

Seçilen parafin bloklardan lizinli lam üzerine alınan 4-5 mikron kalınlığında kesitlere Ventana Benchmark XT™ tam otomatik boyama cihazında immünohistokimyasal boyama işlemi uygulandı. İmmünohistokimyasal boyamada negatif kontrol için primer antikor aşaması atlandı. Pozitif kontrol için ise her blokta bulunan tonsil dokuları değerlendirildi (**Şekil 4, 5, 6**).

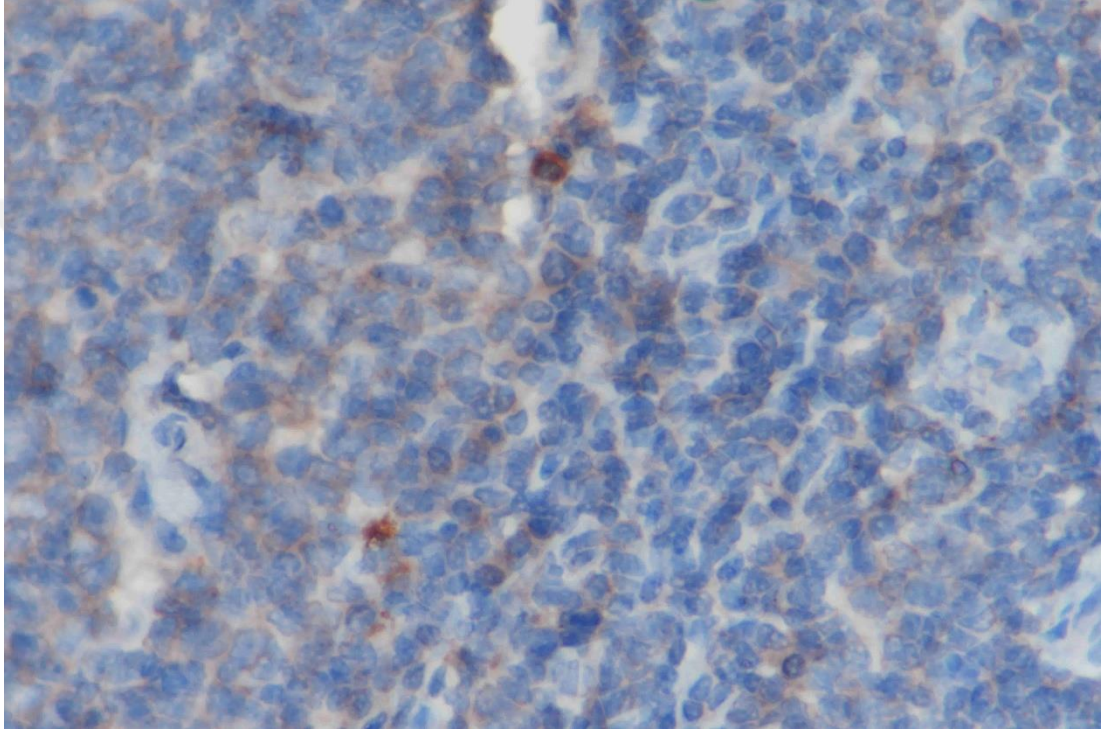


Şekil 4: Tonsil dokusunda immünohistokimyasal PDL1 ekspresyonu (x400).

İmmünohistokimyasal PD1 değerlendirmesi için Buisseret ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi, tümörü infiltrate eden lenfositlerde %1 ve üzeri immünoreaktivite pozitif kabul edildi (118). İnvaziv meme kansinomlarında PDL1 ve PDL2 değerlendirmesi için kabul edilmiş standart bir yöntem yoktur. Bu nedenle değerlendirmede immünoreaktivite gösteren neoplastik hücreler Allred Skorum sistemi kullanılarak skorlandı (119) (**Tablo 5**). İstatistiksel analiz için Baptista ve

arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi Allred skor 4 ve üzeri olan olgular pozitif kabul edildi (120).

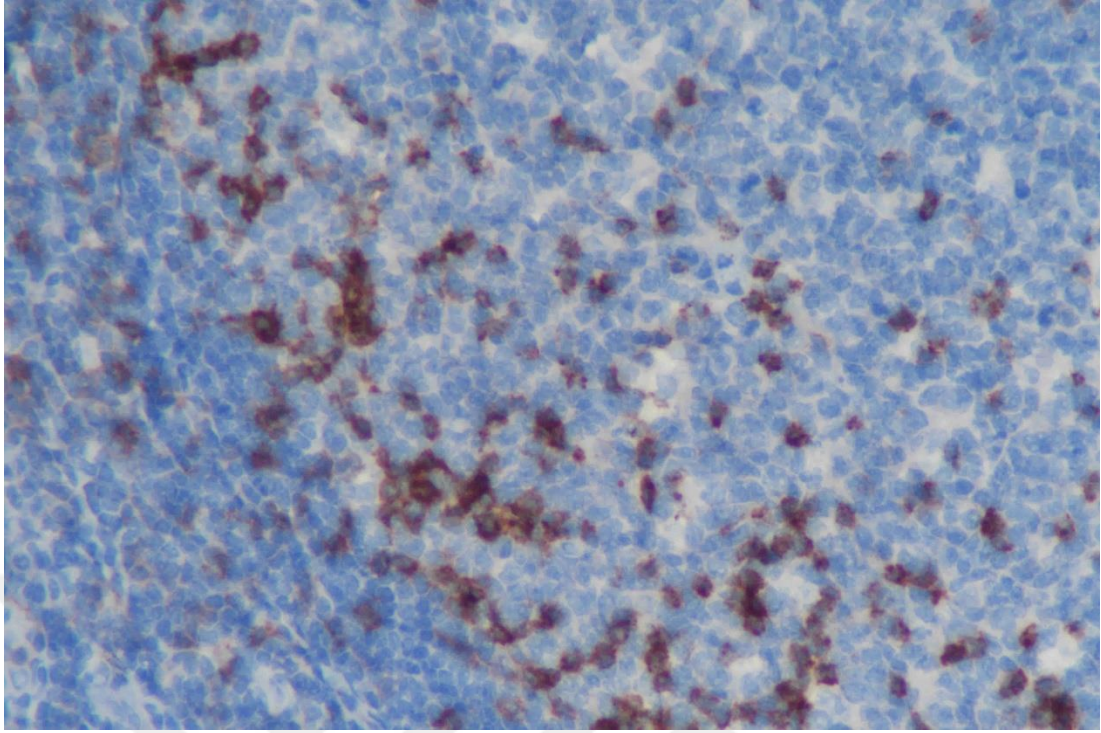
Olgularda PD1, PDL1, PDL2 pozitifliklerinin yaş, histolojik tip, histolojik derece, moleküler alttip, tümör boyutu, aksiller lenf nodlarının durumu, lenfovasküler invazyon, deri invazyonu, TIL, hormon reseptör durumu, HER2 durumu, Ki-67 indeksi gibi klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi araştırıldı.



Şekil 5: Tonsil dokusunda immünohistokimyasal PDL2 ekspresyonu (x400).

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel değerlendirmesi Windows için geliştirilmiş SPSS (statistical package for the social sciences) 18.0 paket programında yapılmıştır. Değerlendirmede immünohistokimyasal boyamaların klinikopatolojik özellikler ve birbirleri ile ilişkisini ve korelasyonunu araştırmak için Ki-Kare ve Fisher's-Exact testleri ile Spearman Korelasyon testleri kullanılmıştır. Tanımlayıcı değerler olarak frekans ve yüzdeler kullanılmıştır. Anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.



Şekil 6: Tonsil dokusunda immünohistokimyasal PD1 ekspresyonu (x400).

Tablo 5: Allred skora sistemi.

Pozitif hücre oranı	Skor
0	0
0-%1	1
%1-%10	2
%11-%33	3
%34-%66	4
%67-%100	5
Boyanma şiddeti	Skor
Negatif	0
Zayıf	1
Orta	2
Kuvvetli	3

4. BULGULAR

4.1. Klinikopatolojik özellikler

Çalışmaya dahil edilen 171 invaziv meme karsinomlu olgunun 168'i kadın (%98,2), 3'ü erkek (%1,8) idi. Yaş ortalaması 55 olarak bulundu (Yaş aralığı: 20-89). 64 olgu premenopozal (%37,4), 107 olgu postmenopozal (%62,6) idi.

Olgulardan 141 tanesi (%82,5) özel tip olmayan invaziv meme karsinomu, 6 tanesi (%3,5) invaziv lobüler karsinom, 5 tanesi (%2,9) medüller özellikler gösteren karsinom, 1 tanesi (%0,6) müsinöz karsinom, 2 tanesi (%1,2) metaplastik karsinom, 13 tanesi (%7,6) mikst karsinom, 2 tanesi (%1,2) apokrin diferansiyasyon gösteren karsinom, 1 tanesi (%0,6) invaziv papiller karsinom idi. Moleküler alttip 53 olguda (%31) Luminal A, 88 olguda (%51,5) Luminal B, 12 olguda (%7) HER2 pozitif, 18 olguda (%10,5) bazal benzeri idi.

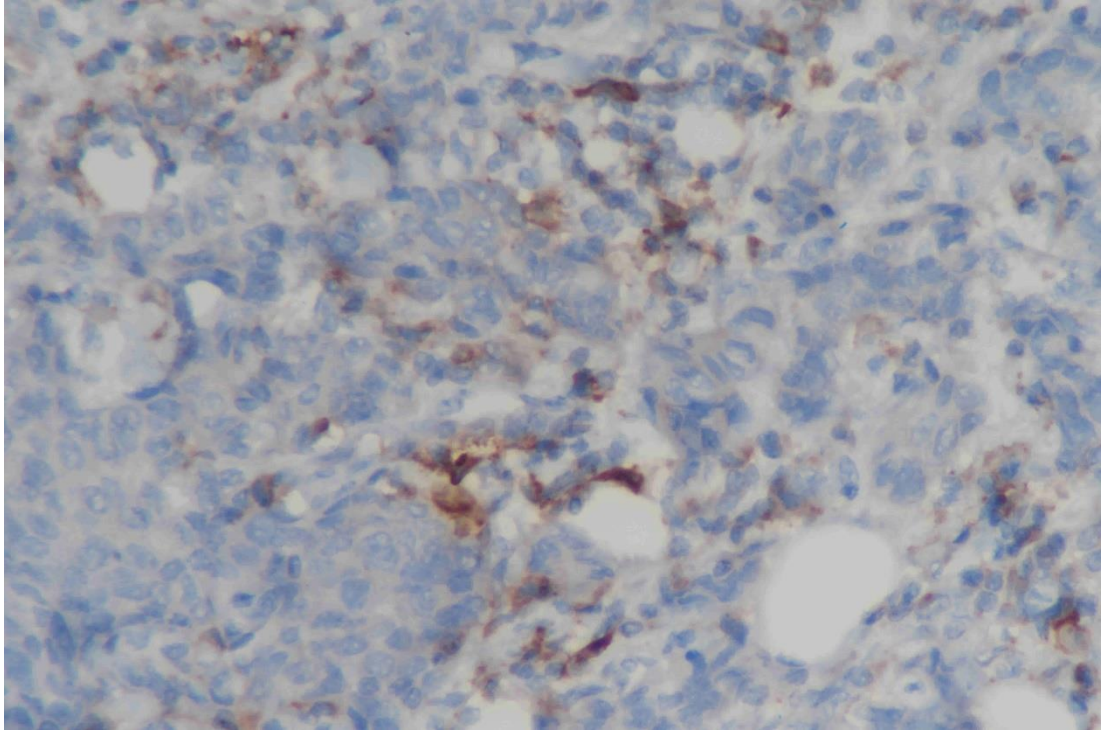
Olguların 24 tanesinde (%14) histolojik derece 1, 78 tanesinde (%45,6) histolojik derece 2, 69 tanesinde (%40,4) histolojik derece 3 idi. İnvaziv tümör çapı 45 olguda (%26,3) 20 mm'den küçük, 97 olguda (%56,7) 20-50 mm arasında, 29 olguda (%17) 50 mm'den büyüktü. Olgulardan 8'inde (%4,7) deride tümöral invazyon mevcut iken, 163 tanesinde (%95,3) yoktu. Olguların 95'inde (%55,6) lenfovasküler invazyon görülmezken, 76'sında (%44,4) lenfovasküler invazyon vardı.

Olguların 85'inde (%49,7) aksiller lenf nodlarında metastaz yoktu ve bu olgular pN0 idi. Olguların 86'sında ise (%50,3) aksiller lenf nodlarında makrometastaz vardı. Bu olguların 42'si (%24,6) pN1, 20'si (%11,7) pN2, 24'ü ise (%14,0) pN3 idi. Tümör periferinde 70 olguda (%40,9) duktal karsinoma in situ saptandı. 101 olguda (%59,1) Duktal karsinoma in situ yoktu.

Tümörlerde immünohistokimyasal olarak çalışılan hormon reseptörlerinden ER 32 olguda (%18,7) negatif, 139 olguda (%81,3) pozitif. PR 50 olguda (%29,2) negatifken, 121 olguda (%70,8) pozitif saptandı. Olguların 132'sinde (%77,2) HER2 aşırı ekspresyonu saptanmazken, 39'unda (%22,8) HER2 aşırı ekspresyonu vardı. Ki-67 proliferasyon indeksi %1-%90 aranda değişmekteydi. Olgulardan 85'inde (%49,7) %20'nin altında, 86'sında (%50,3) %20'nin üzerinde tespit edildi. Ortalama Ki-67 değeri %25,71 saptandı. Vakaların 42'sinde (%24,6) %10'un üzerinde TİL vardı. 129 vakada (%75,4) TIL oranı %10'un altında idi.

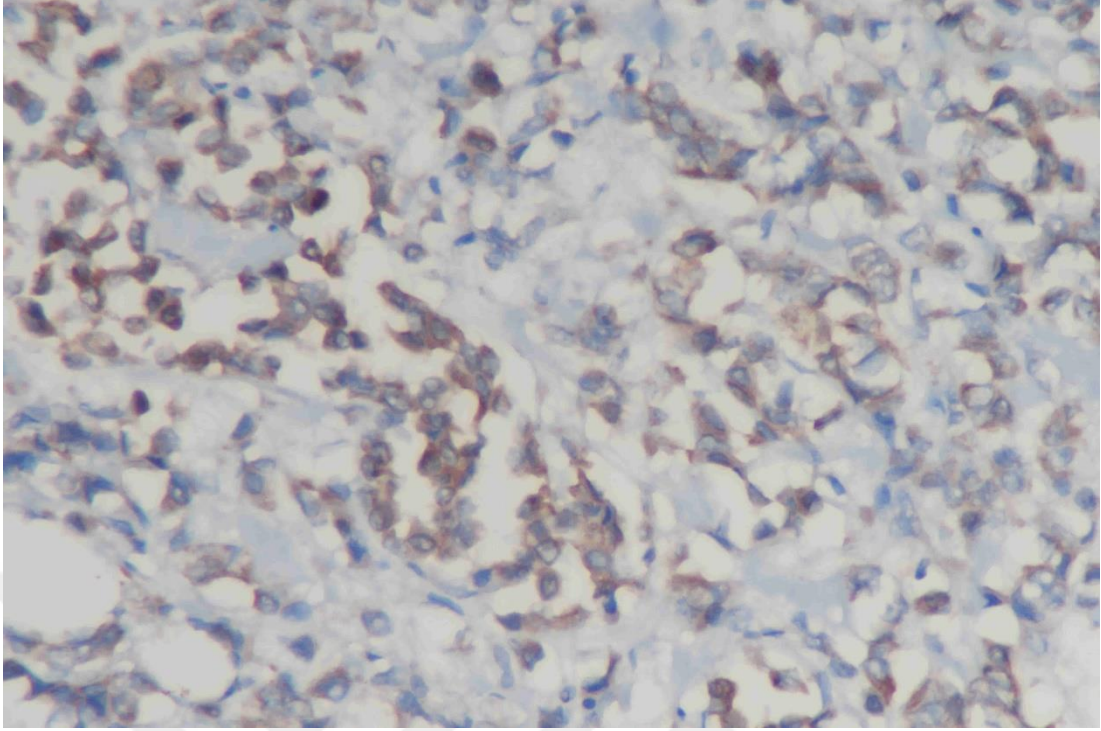
4.2. İmmünohistokimyasal PDL1, PDL2 ve PD1 boyanma özellikleri

Olgularda PDL1 immünreaktivitesi neoplastik hücrelerde sitoplazmik ve membranöz boyanma olarak izlendi (**Şekil 7**). Bazı tümörlerde fokal olarak izlenen stromal boyanma ve immün sistem hücrelerinde izlenen zayıf pozitiflik değerlendirilmedi. Değerlendirmede Allred skorlama sistemi kullanıldı. Allred skor 4 ve üzeri pozitif kabul edildi. Buna göre olguların 126'sında (%73,7) PDL1 negatif, 36'sında (%21) pozitif idi. Olguların 9'u (%5,3) teknik işlemler sırasında doku döküldüğü için değerlendirme dışı bırakıldı.



Şekil 7: İnvaziv meme karsinomunda immünohistokimyasal PDL1 ekspresyonu (x400).

Olgularda PDL2 immünreaktivitesi neoplastik hücrelerde sitoplazmik ve membranöz boyanma olarak izlendi (**Şekil 8**). Bazı tümörlerde fokal olarak izlenen stromal boyanma ve immün sistem hücrelerinde izlenen zayıf pozitiflik değerlendirilmedi. Değerlendirmede Allred skorlama sistemi kullanıldı. Allred skor 4 ve üzeri pozitif kabul edildi. Buna göre olguların 65'inde (%38) PDL2 negatifken, 99'unda (%57,9) pozitif idi. Olguların 7'si (%4,1) teknik işlemler sırasında doku döküldüğü için değerlendirme dışı bırakıldı.



Şekil 8: İnvaziv meme karsinomunda immünohistokimyasal PDL2 ekspresyonu (x400).

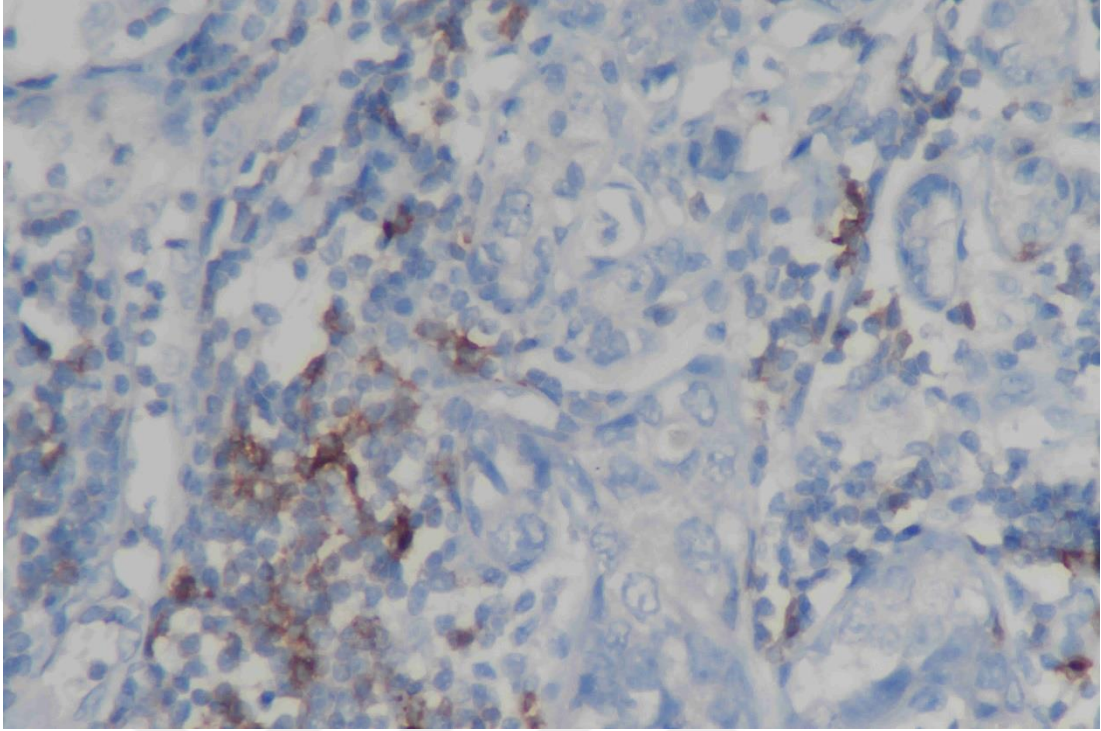
Olgularda PD1 immünreaktivitesi tümörü infiltrate eden lenfositlerde sitoplazmik ve membranöz boyanma olarak izlendi (Şekil 9). Değerlendirmede %1 üzeri hücrede boyanma pozitif kabul edildi. Buna göre 96 olguda (%56,1) PD1 negatif iken, 65 olguda (%38) PD1 pozitif. Olguların 10 tanesi (%5,9) teknik işlemler sırasında doku döküldüğü için değerlendirme dışı bırakıldı.

4.3. PDL1 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi

İmmünohistokimyasal PDL1 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi **Tablo 6**'da gösterilmiştir.

Hastanın yaşı arttıkça PDL1 pozitifliğinin azaldığı görülmekle birlikte İmmünohistokimyasal olarak PDL1 pozitifliği ile hastanın yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p=0,807$).

Çalışma grubumuzda yer alan ve premenopozal olan 47 (%77,1) hastada PDL1 negatif iken, 14 (%22,9) hastada pozitif; postmenopozal olan 79 (%78,2) hastada PDL1 negatif iken, 22 (%21,8) hastada pozitif saptandı. İmmünohistokimyasal PDL1 pozitifliği ile hastaların menopozal durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,862$).



Şekil 9: İnvaziv meme karsinomunda tümörü infiltrate eden lenfositlerde immünohistokimyasal PD1 ekspresyonu (x400).

PDL1 özel tip olmayan invaziv meme karsinomlarının 105'inde (%79) negatif, 28'inde (%21) pozitif. İnvaziv lobüler karsinomlu 6 vakanın tamamında (%100) negatif. Medüller özellikler gösteren invaziv meme karsinomlu 4 vakanın tamamında (%100) pozitif. İmmünohistokimyasal PDL1 ekspresyonu ile histolojik tip arasında izlenen ilişki istatistiksel olarak anlamlı olarak tespit edildi ($p=0,003$).

Moleküler alttip luminal A olan 50 olgudan 45'i (%90) PDL1 negatifken, 5 (%10) olguda pozitif. Luminal B olan 86 olgudan 62'si (%72,1) PDL1 negatif iken, 24'ü (%27,9) pozitif saptandı. HER2 overeksprese olan 11 olgudan 10'unda (%98,9) PDL1 negatif, 1'inde (%1,1) pozitif. Bazal benzeri meme karsinomlu 15 olgudan 9'unda (%60) PDL1 negatif, 6'sında (%40) pozitif saptandı. PDL1 immünohistokimyasal ekspresyonunun bazal benzeri alttipde diğer alttiplere göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı ($p=0,021$).

Tablo 6: İmmünohistokimyasal PDL1 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi.

	PDL1 ekspresyonu		p değeri
	Pozitif	Negatif	
Moleküler alttip			
Luminal A	%10	%90	
Luminal B	%27,9	%72,1	
HER2 pozitif	%1,1	%98,9	
Bazal benzeri	%40	%60	0,021
Histolojik derece			
Grade 1	%12,5	%87,5	
Grade 2	%15,1	%84,9	
Grade 3	%33,8	%66,2	0,014
Lenfovasküler invazyon			
Yok	%21,7	%78,3	
Var	%22,9	%77,1	0,865
Aksiller metastaz			
Yok	%18,5	%81,5	
Var	%25,9	%74,1	0,257
Östrojen reseptör			
Negatif	%28,6	%71,4	
Pozitif	%20,9	%79,1	0,374
Progesteron reseptör			
Negatif	%34,1	%65,9	
Pozitif	%17,8	%82,2	0,026
HER2 overekspresyonu			
Negatif	%21,8	%78,2	
Pozitif	%23,7	%76,3	0,804
Ki-67 indeksi			
< %20	%12,4	%87,6	
≥ %20	%32,1	%67,9	0,002
TIL			
< %10	%14,4	%85,6	
≥ %10	%48,6	%51,4	0,000

Histolojik derece 1 olan 24 vakadan 21'inde (%87,5) PDL1 negatif, 3'ünde (%12,5) pozitif saptandı. Histolojik derece 2 olan 73 vakadan 62'si (%84,9) PDL1 negatif, 11'i (%15,1) pozitif. Derece 3 olan 65 vakadan ise 43'ü (%66,2) negatifken, 22 (%33,8) vakada PDL1 pozitifliği görüldü. PDL1 immünohistokimyasal pozitifliği ile histolojik derece arasında anlamlı pozitif korelasyon izlendi ($r=0,220$, $p=0,005$). Yüksek histolojik derece ile PDL1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0,014$).

Tümör çapı 20 mm ve altında olan 44 olgudan 35'inde (%79,5) PDL1 negatif, 9'unda (%20,5) pozitif. Çapı 20 mm'den büyük ancak 50 mm veya daha küçük olan 90 vakanın 70'inde (%77,7) PDL1 negatif, 20'sinde (%22,2) pozitif saptandı. Çapı 50 mm'den daha büyük olan 28 vakanın 21'inde (%75) negatifken, 7'sinde (%25) pozitif immünreaktivite vardı. Tümör çapı ile PDL1 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,903$).

Deride tümöral invazyon olmayan 155 olgunun 122'sinde (%78,7) PDL1 negatif, 33'ünde (%21,3) pozitif saptandı. Deride tümöral invazyon mevcut olan 7 olgunun 4'ünde (%57,1) PDL1 negatifken, 3'ünde (%42,9) pozitif. Deride tümöral invazyon ile PDL1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,179$).

Lenfovasküler invazyon görülmeyen 92 olgunun 72'sinde (%78,3) PDL1 negatif, 20'sinde (%21,7) pozitif. Lenfovasküler invazyon olan 70 vakanın ise 54'ünde (%77,1) PDL1 negatifken, 16'sında (%22,9) pozitif. PDL1 immünohistokimyasal pozitifliği ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,865$).

Aksillada makrometastaz izlenmeyen 81 olgunun 66'sında (%81,5) PDL1 negatif, 15'inde (%18,5) pozitif. Makrometastaz olan 81 olgunun 60'unda (%74,1) PDL1 negatif, 21'inde (%25,9) pozitif saptandı. Aksiller makrometastaz olan olgularda PDL1 pozitifliği daha fazla görülmekle birlikte aksiller lenf nodu metastazı ($p=0,257$) ve pN evresi ($p=0,208$) ile PDL1 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Çalışmaya dahil edilen olguların 97'sinde tümör periferinde DKİS yoktu. Bu olguların 71'inde (%73,2) PDL1 de negatifken, 26'sında (%26,8) pozitif saptandı. Tümör periferinde 65 olguda DKİS vardı. DKİS izlenen tümörlerin 55'inde (%84,6)

PDL1 negatifken, 10'unda (%15,4) PDL1 ile pozitif immünreaktivite saptandı. Tümöre eşlik eden DKİS ile PDL1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,087$).

ER pozitifliği gösteren 134 olgunun 106'sında (%79,1) PDL1 negatif, 28'inde (%20,9) pozitif saptandı. ER negatif olan 28 olgunun ise 20'sinde (%71,4) PDL1 de negatifken, 8'inde (%28,6) pozitif immünreaktivite gösterdi. ER pozitifliği ile PDL1 pozitifliği arasında negatif korelasyon izlenmekle birlikte ($r=-0,070$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,374$).

PR pozitifliği gösteren 118 olgunun 97'sinde (%82,2) PDL1 negatifken, 21'inde (%17,8) pozitif. PR negatif olan 44 olgunun 29'unda (%65,9) PDL1 negatif, 15'inde (%34,1) pozitif saptandı. PR pozitifliği ile PDL1 pozitifliği arasında anlamlı negatif korelasyon ($r=-0,174$, $p=0,027$) ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardır ($p=0,026$).

Olguların 124'ünde HER2 overekspresyonu yoktu. Bu olguların 97'sinde (%78,2) PDL1 negatif, 27'sinde (%21,8) pozitif. 38 olgu ise HER2 overeksprese etmekteydi. Bu olgulardan 29'unda (%76,3) PDL1 negatif iken, 9'unda (%23,7) pozitif. HER2 overekspresyonu ile PDL1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,804$).

Ki-67 indeksi %20'nin altında olan 81 olgunun 71'inde (%87,6) PDL1 negatif, 10'unda (%12,4) pozitif. 81 olguda ise Ki-67 indeksi %20'nin üzerinde idi. Bu olguların 55'inde (%67,9) PDL1 negatif, 26'sında (%32,1) pozitif saptandı. Yüksek Ki-67 indeksi ile PDL1 pozitifliği arasında anlamlı pozitif korelasyon ($r=0,238$, $p=0,002$) ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardı ($p=0,002$).

TIL oranı %10'un altında olan 125 olgunun 107'sinde (%85,6) PDL1 negatif, 18'inde (%14,4) pozitif. TIL oranı %10'un üzerinde olan 37 olgunun ise 19'unda (%51,4) PDL1 negatif, 18'inde (%48,6) ise pozitif saptandı. TIL pozitifliği ile PDL1 pozitifliği arasında anlamlı pozitif korelasyon ($r=0,346$, $p=0,000$) ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki ($p=0,000$) bulundu.

4.4. PDL2 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi

İmmünohistokimyasal PDL2 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi **Tablo 7**'de gösterilmiştir. PDL2 pozitifliği ile hastanın yaşı ($p=0,629$) ve menopozal durum ($p=0,472$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Tablo 7: İmmünohistokimyasal PDL2 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi.

	PDL2 ekspresyonu		p değeri
	Pozitif	Negatif	
Moleküler alttip			
Luminal A	% 64	% 36	
Luminal B	% 66,3	% 33,7	
HER2 pozitif	% 36,4	% 63,6	
Bazal benzeri	% 35,3	% 64,7	0,034
Histolojik derece			
Grade 1	% 69,6	% 30,4	
Grade 2	% 58,1	% 41,9	
Grade 3	% 59,7	% 40,3	0,612
Lenfovasküler invazyon			
Yok	% 58,7	% 41,3	
Var	% 62,5	% 37,5	0,621
Aksiller metastaz			
Yok	% 61,7	% 38,3	
Var	% 59	% 41	0,725
Östrojen reseptör			
Negatif	% 37,9	% 62,1	
Pozitif	% 65,2	% 34,8	0,006
Progesteron reseptör			
Negatif	% 42,6	% 57,4	
Pozitif	% 67,5	% 32,5	0,003
HER2 overekspresyonu			
Negatif	% 58,7	% 41,3	
Pozitif	% 65,8	% 34,2	0,436
Ki-67 indeksi			
< %20	% 67,5	% 32,5	
≥ %20	% 53,6	% 46,4	0,068
TIL			
< %10	% 62,7	% 37,3	
≥ %10	% 52,6	% 47,4	0,266

Özel tip olmayan invaziv meme karsinomu olan 135 olgudan 55'inde (%40,7) PDL2 negatif, 80'inde (%59,3) pozitif. Invaziv lobüler karsinomlu 6 olgudan 1'inde (%16,7) PDL2 negatif, 5'inde (%83,3) pozitif. Medüller özellikler gösteren invaziv meme karsinomlu 4 olgunun 2'sinde (%50) PDL2 negatif, 2'sinde (%50) pozitif. Histolojik tip ile PDL2 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,718$).

Moleküler alttip Luminal A olan 50 olgudan 18'i (%36) PDL2 negatifken, 32'si (%64) pozitif. Luminal B olan 86 olgudan 29'u (%33,7) PDL2 negatif iken, 57'si (%66,3) pozitif saptandı. Moleküler alttip HER2 overekspresye olan 11 olgudan 7'sinde (%63,6) PDL2 negatif, 4'ünde (%36,4) pozitif. Bazal benzeri meme karsinomlu 17 olgudan 11'inde (%64,7) negatif, 6'sında (%35,3) pozitif saptandı. İmmünohistokimyasal PDL2 ekspresyonu Luminal A ve Luminal B moleküler alttiplerde diğer moleküler alttiplere göre anlamlı olarak yüksekti ($p=0,034$).

Histolojik derece 1 olan 23 vakadan 7'sinde (%30,4) PDL2 negatif, 16'sında (%69,6) pozitif saptandı. Histolojik derece 2 olan 74 vakadan 31'i (%41,9) PDL2 negatif, 43'ü (%58,1) pozitif. Derece 3 olan 67 vakadan ise 27'si (%40,3) negatifken, 40'ı (%59,7) vakada PDL2 pozitifliği görüldü. Histolojik derece ile PDL2 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,612$).

Tümör çapı 20 mm ve altında olan 43 olgudan 17'sinde (%39,5) PDL2 negatif, 26'sında (%60,5) pozitif. Çapı 20 mm'den büyük ancak 50 mm veya daha küçük olan 93 vakanın 37'sinde (%39,8) PDL2 negatif, 56'sında (%60,2) pozitif saptandı. Çapı 50 mm'den daha büyük olan 28 vakanın 11'inde (%39,3) negatifken, 17'sinde (%60,7) pozitif immünreaktivite vardı. Tümör çapı ile PDL2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,999$).

Deride tümöral invazyon olmayan 157 olgunun 63'ünde (%40,1) PDL2 negatif, 94'ünde (%59,9) pozitif saptandı. Deride tümöral invazyon mevcut olan 7 olgunun 2'sinde (%28,6) PDL2 negatifken, 5'inde (%71,4) pozitif. Deride tümöral invazyon ile PDL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,541$).

Lenfovasküler invazyon görülmeyen 92 olgunun 38'inde (%41,3) PDL2 negatif, 54'ünde (%58,7) pozitif. Lenfovasküler invazyon yapan 72 vakanın ise 27'sinde (%37,5) PDL2 negatifken, 45'inde (%62,5) pozitif. PDL2

immünohistokimyasal pozitifliği ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,621$).

Aksillada makrometastaz izlenmeyen 81 olgunun 31'inde (%38,3) PDL2 negatif, 50'sinde (%61,7) pozitif. 83 olguda aksiller lenf nodlarında makrometastaz vardı. Bu olguların 34'ünde (%41) PDL2 negatif, 49'unda (%59) pozitif saptandı. Aksiller makrometastaz varlığı ($p=0,725$) ve pN evresi ($p=0,955$) ile PDL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Çalışmaya dahil edilen tümör periferinde DKİS olmayan 98 olgunun 41'inde (%41,8) PDL2 negatifken, 57'sinde (%58,2) pozitif saptandı. Tümör periferinde DKİS olan 66 olgunun 24'ünde (%36,9) PDL2 negatifken, 42'sinde (%63,1) PDL2 ile pozitif immünreaktivite saptandı. Tümöre eşlik eden DKİS ile PDL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,482$).

ER pozitifliği gösteren 135 olgunun 47'sinde (%34,8) PDL2 negatif, 88'inde (%65,2) pozitif saptandı. ER negatif olan 29 olgunun ise 18'inde (%62,1) PDL2 de negatifken, 11'inde (%37,9) pozitif immünreaktivite gösterdi. ER pozitifliği ile PDL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir pozitif korelasyon ($r=0,213$, $p=0,006$) ve anlamlı bir ilişki bulundu ($p=0,006$).

PR pozitifliği gösteren 117 olgunun 38'inde (%32,5) PDL2 negatifken, 79'unda (%67,5) pozitif. PR negatif olan 47 olgunun 27'sinde (%57,4) PDL2 negatif, 20'sinde (%42,6) pozitif saptandı. PR pozitifliği ile PDL2 pozitifliği arasında pozitif korelasyon ($r=0,231$, $p=0,003$) ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardır ($p=0,003$).

HER2 overekspresyonu olmayan 126 olgunun 52'sinde (%41,3) PDL2 negatif, 74'ünde (%58,7) pozitif. HER2 overeksprese eden 38 olgunun 13'ünde (%34,2) PDL2 negatif iken, 25'inde (%65,8) pozitif. HER2 overekspresyonu ile PDL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,436$).

Ki-67 indeksi %20'nin altında olan 80 olgunun 26'sında (%32,5) PDL2 negatif, 54'ünde (%67,5) pozitif. Ki-67 indeksi %20'nin üzerinde olan 84 olgunun 39'unda (%46,3) PDL2 negatif, 45'inde (%53,7) pozitif saptandı. Ki-67 indeksi ile PDL2 pozitifliği arasında negatif korelasyon ($r=-0,142$) olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,068$).

TIL oranı %10'un altında olan 126 olgunun 47'sinde (%37,3) PDL2 negatif, 79'unda (%62,7) pozitif. TIL oranı %10'un üzerinde olan 38 olgunun ise 18'inde (%47,4) PDL2 negatif, 20'sinde (%52,6) ise pozitif saptandı. TIL pozitifliği ile PDL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,266$).

4.5. PD1 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi

İmmünohistokimyasal PD1 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi **Tablo 8**'de gösterilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak PD1 pozitifliği ile hastanın yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p=0,072$). PD1 pozitifliği ile hastaların menopozal durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,163$).

Özel tip olmayan invaziv meme karsinomu olan 132 olgudan 79'unda (%59,8) PD1 negatif, 53'ünde (%40,2) pozitif. Invaziv lobüler karsinomlu 6 olgudan 4'ünde (%66,7) PD1 negatif, 2'sinde (%33,3) pozitif. Medüller özellikler gösteren invaziv meme karsinomlu 4 olgunun tamamında (%100) PD1 pozitif. Medüller özellikler gösteren karsinomlarda PD1 pozitifliği belirgin yüksek bulundu ancak histolojik tip ile PD1 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,094$).

Moleküler alttip luminal A olan 52 olgudan 37'si (%71,2) PD1 negatifken, 15'i (%28,8) olguda pozitif. Luminal B olan 84 olgudan 47'si (%56) PD1 negatif iken, 37'si (%44) pozitif saptandı. Moleküler alttip HER2 overeksprese olan 10 olgudan 7'sinde (%70) PD1 negatif, 3'ünde (%30) pozitif. Bazal benzeri meme karsinomlu 15 olgudan 5'inde (%33,3) negatif, 10'unda (%66,7) pozitif saptandı. PD1 immünohistokimyasal ekspresyonunun bazal benzeri moleküler alttipde anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı ($p=0,044$).

Histolojik derece 1 olan 24 vakadan 17'sinde (%70,8) PD1 negatif, 7'sinde (%29,2) pozitif saptandı. Histolojik derece 2 olan 73 vakadan 50'si (%68,5) PD1 negatif, 23'ü (%31,5) pozitif. Derece 3 olan 64 vakadan ise 29'u (%45,3) negatifken, 35 (%54,7) vakada PD1 pozitifliği görüldü. PD1 pozitifliği ile histolojik derece arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon izlendi ($r=0,225$, $p=0,004$). Yüksek histolojik derece ile PD1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0,011$).

Tablo 8: İmmünohistokimyasal PD1 ekspresyonunun klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi.

	PD1 ekspresyonu		p değeri
	Pozitif	Negatif	
Moleküler alttip			
Luminal A	%28,8	%71,2	
Luminal B	%44	%56	
HER2 pozitif	%30	%70	
Bazal benzeri	%66,7	%33,3	0,044
Histolojik derece			
Grade 1	%29,2	%70,8	
Grade 2	%31,5	%68,5	
Grade 3	%54,7	%45,3	0,011
Lenfovasküler invazyon			
Yok	%31,9	%68,1	
Var	%51,4	%48,6	0,012
Aksiller metastaz			
Yok	%31,6	%68,4	
Var	%48,8	%51,2	0,027
Östrojen reseptör			
Negatif	%51,9	%48,1	
Pozitif	%38,1	%61,9	0,183
Progesteron reseptör			
Negatif	%46,7	%53,3	
Pozitif	%37,9	%62,1	0,311
HER2 overekspresyonu			
Negatif	%38,4	%61,6	
Pozitif	%47,2	%52,8	0,342
Ki-67 indeksi			
< %20	%32,1	%67,9	
≥ %20	%48,7	%51,3	0,031
TIL			
< %10	%36	%64	
≥ %10	%55,6	%44,4	0,035

Tümör çapı 20 mm ve altında olan 43 olgudan 28'inde (%65,1) PD1 negatif, 15'inde (%34,9) pozitif. Çapı 20 mm'den büyük ancak 50 mm veya daha küçük olan 91 vakanın 54'ünde (%59,3) PD1 negatif, 37'sinde (%40,7) pozitif saptandı. Çapı 50 mm'den daha büyük olan 27 vakanın 14'ünde (%51,9) negatifken, 13'ünde (%48,1) pozitif immünreaktivite vardı. Tümör çapı ile PD1 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,544$).

Deride tümöral invazyon olmayan 154 olgunun 94'ünde (%61) PD1 negatif, 60'ında (%39) pozitif saptandı. Deride tümöral invazyon mevcut olan 7 olgunun 2'sinde (%28,6) PD1 negatifken, 5'inde (%71,4) pozitif. Deride tümöral invazyon ile PD1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,087$).

Lenfovasküler invazyon görülmeyen 91 olgunun 62'sinde (%68,1) PD1 negatif, 29'unda (%31,9) pozitif. Lenfovasküler invazyon yapan 70 vakanın ise 34'ünde (%48,6) PD1 negatifken, 36'sında (%51,4) pozitif. PD1 immünohistokimyasal pozitifliği ile lenfovasküler invazyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0,012$).

Aksillada makrometastaz izlenmeyen 79 olgunun 54'ünde (%68,4) PD1 negatif, 25'inde (%31,6) pozitif. Aksiller lenf nodlarında makrometastaz olan 82 olgunun 42'sinde (%51,2) PD1 negatif, 40'ında (%48,8) pozitif saptandı. Aksiller makrometastaz varlığı ile PD1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanırken ($p=0,027$), pN evresi ile arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,175$).

Çalışmaya dahil edilen tümör periferinde DKİS olmayan 95 olgunun 54'ünde (%56,8) PD1 negatifken, 41'inde (%43,2) pozitif saptandı. Tümör periferinde DKİS olan 66 olgunun 42'sinde (%63,6) PD1 negatifken, 24'ünde (%36,4) PD1 ile pozitif immünreaktivite saptandı. Tümöre eşlik eden DKİS ile PD1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,387$).

ER pozitifliği gösteren 134 olgunun 83'ünde (%61,9) PD1 negatif, 51'inde (%38,1) pozitif saptandı. ER negatif olan 27 olgunun ise 13'ünde (%48,1) PD1 negatifken, 14'ünde (%51,9) pozitif immünreaktivite gösterdi. ER pozitifliği ile PD1 pozitifliği arasında negatif korelasyon görülmekle birlikte ($r=-0,105$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,183$).

PR pozitifliği gösteren 116 olgunun 72'sinde (%62,1) PD1 negatifken, 44'ünde (%37,9) pozitif. PR negatif olan 45 olgunun 24'ünde (%53,3) PD1 negatif, 21'inde

(%46,7) pozitif saptandı. PR pozitifliği ile PD1 pozitifliği arasında negatif korelasyon görülmekle birlikte ($r=-0,080$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,311$).

HER2 overekspresyonu olmayan 125 olgunun 77'sinde (%61,6) PD1 negatif, 48'inde (%38,4) pozitif. HER2 overeksprese eden 36 olgunun 19'unda (%52,8) PD1 negatif iken, 17'sinde (%47,2) pozitif. HER2 overekspresyonu ile PD1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,342$).

Ki-67 indeksi %20'nin altında olan 81 olgunun 55'inde (%67,9) PD1 negatif, 26'sında (%32,1) pozitif. Ki-67 indeksi %20'nin üzerinde olan 80 olgunun 41'inde (%51,3) PD1 negatif, 39'unda (%48,7) pozitif saptandı. Yüksek Ki-67 indeksi ile PD1 pozitifliği arasında pozitif korelasyon ($r=0,170$, $p=0,031$) ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0,031$).

TIL oranı %10'un altında olan 125 olgunun 80'inde (%64) PD1 negatif, 45'inde (%36) pozitif. TIL oranı %10'un üzerinde olan 36 olgunun ise 16'sında (%44,4) PD1 negatif, 20'sinde (%55,6) ise pozitif saptandı. TIL pozitifliği ile PD1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0,035$).

4.6. PDL1, PDL2 ve PD1 ekspresyonlarının birbirleri ile ilişkisi

İmmünohistokimyasal PDL1 ve PDL2 ekspresyonları arasında anlamlı bir korelasyon ya da ilişki saptanmadı ($p=0,915$). Ancak PDL1 ve PD1 ekspresyonları arasında anlamlı bir pozitif korelasyon ve ilişki bulundu ($p=0,001$). Benzer şekilde PDL2 ve PD1 ekspresyonları da pozitif korele olarak saptandı ($p=0,002$).

4.7. Klinikopatolojik özellikler ile TIL varlığının ilişkisi

Tümörü infiltre eden lenfositlerin klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi **Tablo 9**'da gösterilmiştir. TIL ve menopozal durum arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,402$).

Moleküler alttip Luminal A olan 53 olgunun 42'sinde (%79,2) TIL negatifken, 11'inde (%20,8) pozitif. Luminal B olan 88 olgunun 69'unda (%78,4) negatifken, 19'unda (%21,6) pozitif. HER2 overeksprese 12 olgunun 7'sinde (%58,3) negatifken, 5'inde (%41,7) pozitif, bazal benzeri karsinomlu 18 olgunun 11'inde (%61,1) negatifken, 7'sinde (%38,9) pozitif saptandı. HER2 overeksprese ve bazal benzeri alttiplerde TIL pozitifliği daha yüksek oranda izlendi ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,193$).

Tablo 9: Tümörü infiltre eden lenfositlerin klinikopatolojik özellikler ile ilişkisi.

	Tümörü infiltre eden lenfositler		p değeri
	≥ %10	<%10	
Moleküler alttip			
Luminal A	%20,8	%79,2	
Luminal B	%21,6	%78,4	
HER2 pozitif	%41,7	%58,3	
Bazal benzeri	%38,9	%61,1	0,193
Histolojik derece			
Grade 1	%16,7	%83,3	
Grade 2	%16,7	%83,3	
Grade 3	%36,2	%63,8	0,014
Lenfovasküler invazyon			
Yok	%24,2	%75,8	
Var	%25	%75	0,905
Aksiller metastaz			
Yok	%24,7	%75,3	
Var	%24,4	%75,6	0,965
Östrojen reseptör			
Negatif	%37,5	%62,5	
Pozitif	%21,6	%78,4	0,059
Progesteron reseptör			
Negatif	%40	%60	
Pozitif	%18,2	%81,8	0,003
HER2 overekspresyonu			
Negatif	%24,2	%75,8	
Pozitif	%25,6	%74,4	0,859
Ki-67 indeksi			
< %20	%18,8	%81,2	
≥ %20	%30,2	%69,8	0,083

Histolojik derece 1 olan 24 olgunun 20'sinde (%83,3) TIL negatif, 4'ünde (%16,7) pozitif. Histolojik derece 2 olan 78 olgunun 65'inde (%83,3) negatif, 13'ünde (%16,7) pozitif. Histolojik derece 3 olan 69 olgunun 44'ünde (%63,8)

negatif, 25'inde (%36,2) pozitif. TIL varlığı ile histolojik derece arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon ($r=0,207$, $p=0,007$) ve yüksek histolojik derece ile anlamlı ilişki saptandı ($p=0,014$).

Özel tip olmayan invaziv meme karsinomu olan 141 olgudan 109'unda (%77,3) TIL negatif, 32'sinde (%22,7) pozitif. Invaziv lobüler karsinomlu 6 olgudan 4'ünde (%66,7) TIL negatif, 2'sinde (%33,3) pozitif. Medüller özellikler gösteren invaziv meme karsinomlu 5 olgunun 2'sinde (%40) TIL negatif, 3'ünde (%60) pozitif. Medüller özellikler gösteren karsinomlarda daha yüksek oranda TIL varlığı tespit edilmesine rağmen histolojik tip ile TIL arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,262$).

Tümör çapı 20 mm ve altında olan 45 olgudan 33'ünde (%73,3) TIL negatif, 12'sinde (%26,7) pozitif. Çapı 20 mm'den büyük ancak 50 mm veya daha küçük olan 97 vakanın 77'sinde (%79,4) TIL negatif, 20'sinde (%20,6) pozitif saptandı. Çapı 50 mm'den daha büyük olan 29 vakanın 19'unda (%65,5) negatifken, 10'unda (%34,5) pozitif immünreaktivite vardı. Tümör çapı ile TIL arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,292$).

Deride tümöral invazyon olmayan 163 olgunun 125'inde (%76,7) TIL negatif, 38'inde (%23,3) pozitif saptandı. Deride tümöral invazyon mevcut olan 8 olgunun 4'ünde (%50) TIL negatifken, 4'ünde (%50) pozitif. Deride tümöral invazyon ile TIL arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,087$).

Lenfovasküler invazyon görülmeyen 95 olgunun 72'sinde (%75,8) TIL negatif, 23'ünde (%24,2) pozitif. Lenfovasküler invazyon yapan 76 vakanın ise 57'sinde (%75) TIL negatifken, 19'unda (%25) pozitif. TIL ile lenfovasküler invazyon arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,905$).

Aksillada makrometastaz izlenmeyen 85 olgunun 64'ünde (%75,3) TIL negatif, 21'inde (%24,7) pozitif. Aksiller lenf nodlarında makrometastaz olan 86 olgunun 65'inde (%75,6) TIL negatif, 21'inde (%24,4) pozitif saptandı. Aksiller makrometastaz ($p=0,965$) ve pN evresi ($p=0,573$) ile TIL arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Çalışmaya dahil edilen tümör periferinde DKİS olmayan 101 olgunun 76'sında (%75,2) TIL negatifken, 25'inde (%24,8) pozitif saptandı. Tümör periferinde DKİS olan 70 olgunun 53'ünde (%75,7) TIL negatifken, 17'sinde (%24,3) TIL pozitif

saptandı. Tümöre eşlik eden DKİS ile TIL arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,944$).

ER pozitifliği gösteren 139 olgunun 109'unda (%78,4) TIL negatif, 30'unda (%21,6) pozitif saptandı. ER negatif olan 32 olgunun ise 20'sinde (%62,5) TIL de negatifken, 12'sinde (%37,5) pozitif. ER pozitifliği ile TIL arasında negatif korelasyon olmakla birlikte ($r=-0,144$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,059$).

PR pozitifliği gösteren 121 olgunun 99'unda (%81,8) TIL negatifken, 22'sinde (%18,2) pozitif. PR negatif olan 50 olgunun 30'unda (%60) TIL negatif, 20'sinde (%40) pozitif saptandı. PR pozitifliği ile TIL arasında anlamlı negatif korelasyon ($r=-0,231$, $p=0,002$) ve anlamlı ilişki saptandı ($p=0,003$).

HER2 overekspresyonu olmayan 132 olgunun 100'ünde (%75,8) TIL negatif, 32'sinde (%24,2) pozitif. HER2 overeksprese eden 39 olgunun 29'unda (%74,4) TIL negatif iken, 10'unda (%25,6) pozitif. HER2 overekspresyonu ile TIL arasında pozitif korelasyon olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,859$).

Ki-67 indeksi %20'nin altında olan 85 olgunun 69'unda (%81,2) TIL negatif, 16'sında (%18,8) pozitif. Ki-67 indeksi %20'nin üzerinde olan 86 olgunun 60'ında (%69,8) TIL negatif, 26'sında (%30,2) pozitif saptandı. Yüksek Ki-67 indeksi ile TIL arasında pozitif korelasyon görüldü ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,083$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, kadınlarda en sık görülen karsinom meme karsinomlarıdır. Dünya çapında kadınlar arasında birincil ölüm nedenidir (1). Ülkemizde de Sağlık Bakanlığı 2016 yılı verilerine göre meme kanseri insidansı yüz binde 46,8 iken, her yıl yaklaşık 17.000 kadına meme kanseri tanısı konmaktadır. Meme kanseri en sık görülen 20 hastalık arasında %2,1 oranı ile sekizinci sıradadır (3). Son yıllarda meme kanseri insidansının artması, yeni tanı ve tedavi yöntemleri geliştirmek amacı ile yoğun çalışmalar yapılmasına neden olmuştur (4). Mevcut standart bakım tedavilerinin yerini alması olası olmamakla birlikte, meme kanseri tedavisinin kritik bir bileşeni olarak immünoterapi ortaya çıkmaktadır. Son zamanlarda “programlanmış hücre ölümü 1 (PD1)” yolağının ve inhibitörlerinin keşfedilmesi immünoterapi için ümit vaat etmektedir. PD1, T lenfositler de dahil olmak üzere çeşitli immün sistem hücreleri tarafından eksprese edilen yüzey membran antijenidir. PD1 ve ligandları olan PDL1, PDL2 arasında gelişen aktivasyon T hücre aktivitesini, sitokin üretimini azaltırken, T hücre lizisini ve antijenlere olan toleransı artırır (87).

PDL1 ekspresyonu normal meme dokusunda görülmezken, meme tümöründe görülür (11). PDL2, dentritik hücreler, makrofajlar ve kemik iliği türevli mast hücreleri üzerinde indüklenebilir şekilde eksprese edilir (78). Ayrıca meme, akciğer, böbrek ve malign melanomları içeren tümörlerde eksprese edildiği de bildirilmiştir (10, 96).

Tümörler üzerinde PDL1 ekspresyonu ve hastalığın seyri ile ilgili yapılan çalışmaların en önemli sonucu, PDL1 ekspresyonunun, böbrek, over, mesane, meme, mide ve pankreatik kanserde kötü prognozla güçlü bir şekilde korele iken, küçük hücreli akciğer kanserinde korele olmadığını göstermektedir (99, 101, 103-105). Ek olarak, bu çalışmalar tümörlerde daha yüksek PDL1 ekspresyonunun tümör evresinin ilerlemesini ve dokuların daha derinine invazyonunu kolaylaştırabileceğini düşündürmektedir (78). PDL1’in meme tümörlerinde sıklıkla kötü prognostik özellikler ile ilişkili olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (12, 121, 122).

Bizim çalışmamızda PDL1 olguların 126’sında (%23,7) negatif, 36’sında (%21,1) pozitif idi. Sabatier ve arkadaşları, Lou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda, bizim çalışmamızda olduğu gibi, PDL1 ile hastaların yaşı ve aksiller lenf nodlarının

durumu arasında ilişki bulunmamıştır (121, 123). Çalışmamızda hastanın yaşı arttıkça PDL1 pozitifliğinin azaldığı görülmekle birlikte, PDL1 pozitifliği ile hastanın yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Aksiller makrometastaz olan olgularda ise PDL1 pozitifliği daha fazla görülmekle birlikte aksiller lenf nodu metastazı ve pN evresi ile PDL1 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Tümör çapı 20 mm ve altında olan tümörlerde PDL1 pozitifliği %20,5, çapı 20 mm'den büyük ancak 50 mm veya daha küçük olan tümörlerde %22,2, çapı 50 mm'den daha büyük olan tümörlerde %25 oranında saptandı. Büyük çaptaki tümörlerde PDL1 pozitiflik oranında artış görülmekle birlikte Lou ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu (123). Bertucci ve arkadaşlarının, Sabatier ve arkadaşlarının, Muenst ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda ise büyük tümör çapı ile PDL1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (120-122).

Çalışmamızda lenfovasküler invazyon görülmeyen tümörlerde PDL1 %21,7 oranında pozitifliği. Lenfovasküler invazyon olan olgularda ise bu oran daha yüksek olup %22,9 idi. Ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi. PDL1 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon varlığı Karnik ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada korele bulundu (124). Kim ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise bizim çalışmamızda olduğu gibi PDL1 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında anlamlı ilişki yoktu (125).

Deride tümöral invazyon olmayan olgularda PDL1 pozitifliği %21,3 oranında idi. Deride invazyon yapan olgularda bu oran daha yüksek (%42,9) oranda olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

ER pozitifliği gösteren vakalarda PDL1 pozitifliği %20,9 saptandı. ER negatif tümörlerde ise PDL1 pozitifliği daha yüksek oranda (%28,5) idi. ER pozitifliği ile PDL1 pozitifliği arasında negatif korelasyon izlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Literatürde yapılan birçok çalışmada PDL1 ekspresyonu ER negatif tümörlerde anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (12, 120-122, 126).

HER2 overekspresyonu olmayan olgularda PDL1 %21,8 pozitifken, HER2 overekspresyonu görülen olgularda az bir fark olmakla birlikte daha yüksek oranda (%23,7) pozitifliği. Ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sabatier ve

arkadaşlarının, Muenst ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda HER2 overekspresyonu gösteren tümörlerde PDL1 pozitifliği anlamlı olarak daha fazla görülmüştür (121, 122).

Çalışmamızda ER durumu ve HER2 aşırı ekspresyonu ile PDL1 anlamlı ilişki göstermezken, literatür ile uyumlu olarak PR durumu ile PDL1 pozitifliği arasında anlamlı negatif korelasyon ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı (12, 121, 122).

Ki-67 indeksi %20'nin altında olgularda PDL1 %12,3 oranında pozitifliği. Ki-67 indeksi yükselip %20'nin üzerine çıkan tümörlerde ise PDL1 pozitifliği %32,1 saptandı. Yüksek Ki-67 indeksi ile PDL1 pozitifliği arasında literatür ile uyumlu olarak anlamlı pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardı (12, 121, 122).

Literatüre göre PDL1 pozitifliği özel tip olmayan invaziv meme karsinomu ve medüller özellikler gösteren invaziv meme karsinomunda daha yüksek oranlarda saptanmaktadır (121). Bizim çalışmamızda da özel tip olmayan invaziv meme karsinomlarında PDL1 pozitifliği %21 iken medüller özellikler gösteren 4 vakanın tamamında (%100) pozitif saptandı. İnvaziv lobüler karsinomlu 6 olguda ise pozitiflik yoktu. Bu bulgular literatür ile uyumlu olup histolojik tip ile PDL1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı.

Histolojik derece ve moleküler alttip ile literatür ile uyumlu olarak PDL1 arasında anlamlı ilişki saptandı (121, 122). Yüksek histolojik dereceli tümörlerde ve bazal benzeri alttipde PDL1 pozitifliği daha yüksek oranda bulundu. Bu bulgu özellikle tedavi seçeneklerinin sınırlı olduğu bazal benzeri alttipin immünoterapi için önemli bir hedef olabileceğini düşündürmektedir (122). PDL1 inhibitörleri tarafından tümör infiltre eden lenfositlerin yeniden aktivasyonu, PDL1 pozitif bazal benzeri meme kanserlerinde umut verici bir tedavi seçeneği olabilir (121).

Çalışmamızda TIL oranı %10'un altında olguların %14,4'ünde PDL1 pozitif, TIL oranı %10'un üzerinde olan olguların %48,6'sında pozitif saptandı. TIL pozitifliği ile PDL1 pozitifliği arasında anlamlı pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu. Literatürdeki çalışmaların bir kısmında TIL ile PDL1 arasında negatif korelasyon bulunmuş olup, TIL oranı yüksek ve PDL1 negatif tümörlerde prognozun daha iyi olduğu bildirilmiştir (86, 104). Aksine Schalper ve arkadaşlarının çalışmasında PDL1 pozitifliği artmış TIL ile ilişkili bulunmuştur (127).

Benzer bir çalışmada yazarlar, PDL1'in tümör hücreleri tarafından ekspresyonunun, antijen ile uyarılan antitümör immün cevabını temsil edebileceğini ve bunun, TIL'in tümör bölgesine sokulmasına ve kısmi bir antitümör etki yarattığına işaret ettiğini öne sürmektedir (128). PDL1 ekspresyonu ile TIL arasında görülen ilişkinin bazı tümörlerde farklılık göstermesi, PDL1 ekspresyonunun farklı modalitelerine veya PDL1 ekspresyonunun farklı TIL alt popülasyonları üzerindeki farklı etkilerine dayanıyor olabilir (122).

Çalışmamızda klinikopatolojik özelliklerden kötü prognoz gösterir niteliklere sahip olan tümörlerde (büyük çap, deri invazyonu, lenfovasküler invazyon varlığı, ER negatifliği, HER2 overekspresyonu) PDL1 pozitifliği daha yüksek oranlarda saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaması, çalışmamızda kullanılan vaka sayısının daha az olmasına bağlı olabilir.

Literatürde PDL2 pozitifliği de PDL1'e benzer şekilde kötü prognostik özellikler ile ilişkili olarak bildirilmektedir (120). Çalışmamızda olguların 65'inde (%38) PDL2 negatifken, 99'unda (%57,9) pozitif idi. Literatürde genç yaş, ER negatifliği ve HER2 overekspresyonu PDL2 ile ilişkili olduğu gösterilen parametrelerdir (120).

Baptista ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PDL2 pozitifliği genç yaş ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur (120). Çalışmamızda hastanın yaşı arttıkça PDL2 pozitifliğinin azaldığı görülmekle birlikte PDL2 pozitifliği ile hastanın yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Sonuçlarımıza göre ER pozitifliği gösteren olgularda PDL2 %65,2 pozitif saptandı. ER negatif olan olgularda ise PDL2 %37,9 pozitif immünreaktivite gösterdi. Çalışmamızda ER pozitifliği ile PDL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ve pozitif korelasyon bulundu. Benzer şekilde PR pozitifliği gösteren olgularda PDL2 pozitifliği %67,5 iken, PR negatif olan olgularda PDL2 %42,6 oranında pozitif saptandı. PR pozitifliği ile PDL2 ekspresyonu arasında da pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı. Baptista ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PDL2 pozitiflik oranları ER ve PR negatif tümörlerde daha yüksek bulunmuştur (120).

Bu parametrelere ek olarak çalışmamızda moleküler alttip ile PDL2 pozitifliği arasında da anlamlı bir ilişki saptandı. PDL2 pozitifliği moleküler alttip Luminal A

olan olgularda %64, Luminal B olan olgularda %66,3 gibi yüksek oranlarla HER2 overeksprese ve bazal benzeri alttiplerden daha yüksek bulundu. Bu bulgu bazal benzeri tipte en yüksek oranda pozitiflik saptanan PDL1 ile farklılık göstermekte idi. Literatürde Tseng ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PDL2 de PDL1 gibi bazal benzeri tümörlere daha yüksek oranlarda pozitif saptanmıştır (129).

Deride tümöral invazyon olmayan olgularda PDL2 pozitifliği %59,9 iken, deride tümöral invazyon mevcut olan olgularda %71,4 idi. Deride tümöral invazyon ile PDL2 pozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ancak deriyi invaze eden tümörlerde PDL2 pozitifliği daha yüksek oranda bulundu.

Lenfovasküler invazyon görülmeyen olgularda PDL2 %58,7 oranında pozitif. Lenfovasküler invazyon yapan vakalarda ise bu oran %62,5 saptandı. PDL2 immünohistokimyasal pozitifliği ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamakla birlikte, PDL2 pozitifliği lenfovasküler invazyon yapan tümörlerde daha yüksek oranda görüldü.

İnvaziv lobüler karsinomlu olgularda PDL2 pozitifliği en yüksek oranda (%83,3) izlendi. Özel tip olmayan invaziv meme karsinomlu olgular %59,3 oranı ile ikinci yüksek oranda PDL2 pozitifliği göstermekte idi. Ancak histolojik tip ile PDL2 pozitifliği arasındaki ilişki anlamlı değildi.

ER ve PR ile anlamlı ilişki bulunmasına rağmen HER2 overekspresyonu ile PDL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Ancak HER2 overeksprese eden tümörlerde PDL2 pozitifliği daha yüksek (%65,8) iken, overekspresyon görülmeyen tümörlerde PDL2 ekspresyonu da daha düşük (%58,7) bulundu. Literatürde Baptista ve arkadaşlarının (120) yaptığı çalışmada HER2 pozitif tümörler ile, Tseng ve arkadaşlarının (129) yaptığı çalışmada ise Bazal benzeri tümörler ile PDL2 ekspresyonu arasında anlamlı olarak ilişki bulunmuştur.

Ki-67 indeksi ile PDL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamakla birlikte, negatif korelasyon bulundu. Ki-67 indeksi %20'nin altında olan olgularda PDL2 %67,5 oranında pozitif. Ki-67 indeksi %20'nin üzerinde olan olgularda ise %53,6 oranı ile PDL2 pozitifliği daha düşük saptandı.

Histolojik derece 1 olan tümörlerde PDL2 pozitifliği %69,6, derece 2 tümörlerde %58,1, derece 3 tümörlerde ise %59,7 oranında bulundu. Histolojik derece ile PDL2 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Tümör çapı 20 mm ve altında olan tümörlerde PDL2 %60,5, çapı 20 mm'den büyük ancak 50 mm veya daha küçük olan tümörlerde %60,2 pozitif, çapı 50 mm'den daha büyük olan tümörlerde %60,7 pozitif. Artan tümör çaplarında PDL2 pozitifliği benzer oranlarda saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Aksillada makrometastaz izlenmeyen olguların %61,7'sinde PDL2 pozitif. Aksiller makrometastaz yapan olguların ise %59'unda PDL2 pozitif saptandı. Aksiller makrometastaz varlığı ve pN evresi ile PDL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

TIL oranı ile PDL2 pozitifliği arasında, PDL1'in aksine negatif korelasyon vardı ve PDL1'den farklı olarak TIL pozitifliği ile PDL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

PDL2 ile ilgili literatür verileri oldukça kısıtlı olmakla birlikte, PDL1'e benzer şekilde kötü prognostik özellikler ile ilişkili olduğunu gösteren veriler mevcuttur (120, 129). Ancak bizim çalışmamızda literatürün aksine PDL2 pozitifliği ER, PR pozitifliği, düşük Ki-67 indeksi gibi iyi prognostik özelliklerle anlamlı ya da anlamlıya yakın ilişki göstermekteydi. Bu uyumsuzluğun sebebi çalışmamızda kullanılan klon ve değerlendirme yönteminin literatürde oldukça az sayıda olan çalışmalardan farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

PD1 yolunun meme kanserinde aktif bir bağışıklık kontrol noktası olabileceği düşünülmektedir (130). Literatürde tümörü infiltre eden lenfositlerde görülen PD1 pozitifliğinin kötü prognoz, artmış tümör boyutu, yüksek histolojik derece, pozitif lenf nodu durumu ve bazal benzeri moleküler alttıpler ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (11, 131). Çalışmamızda PD1 pozitifliği tümörü infiltre eden lenfositlerde araştırıldı. Olgularımızın 96'sında (%56,1) PD1 negatif iken, 65'inde (%38,0) PD1 pozitif.

Çalışmamızda Muenst ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olarak (131) moleküler alttıplerden bazal benzeri fenotipte PD1 pozitifliği anlamlı olarak en yüksek oranda (%66,7) bulundu. Luminal A tipte ise en düşük oranda (%28,8) pozitif.

Yüksek histolojik derece ile PD1 pozitifliği arasında literatür ile uyumlu olarak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı (11, 131). Histolojik derece 1 tümörlerde PD1 pozitifliği %29,2, derece 2 tümörlerde %31,5, derece 3 tümörlerde %54,7 oranında idi.

PD1 immünohistokimyasal pozitifliği ile lenfovasküler invazyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı. Lenfovasküler invazyon yapan olgularda PD1 pozitifliği %51,4 iken, lenfovasküler invazyon görülmeyen olgularda %31,9 idi.

Aksiller makrometastaz varlığı ile PD1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı. Aksillada makrometastaz izlenmeyen olgularda PD1 %31,6 oranında pozitif iken, aksiller lenf nodlarında makrometastaz olan olgularda %48,8 pozitif idi. Bu bulgu literatür ile uyumlu idi (131).

Yüksek Ki-67 indeksi ile PD1 pozitifliği arasında literatür ile uyumlu olarak pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı (11, 131). Ki-67 indeksi %20'nin altında olan olgularda PD1 pozitifliği %32,1 iken, Ki-67 indeksi %20'nin üzerinde olan olgularda %48,7 idi.

TIL pozitifliği ile PD1 pozitifliği arasında literatür ile uyumlu olarak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı (11). Ghebeh ve arkadaşlarının çalışmasında PD1 pozitifliğinin şiddetli lenfositik infiltrasyon ile korele olduğu bildirilmiştir (11). Bizim çalışmamızda da TIL oranı %10'un altında olan olgularda PD1 pozitifliği %36 iken, TIL oranı %10'un üzerinde olan olgularda PD1 pozitifliği %55,6 saptanmıştır.

Çalışmamızda HER2 overekspresyonu ile PD1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. HER2 overekspresyonu olmayan olguların %38,4'ünde, HER2 overeksprese eden olguların %47,2'sinde PD1 pozitif idi. Muenst ve arkadaşlarının çalışmasında da bizim çalışmamızla uyumlu olarak HER2 overekspresyonu ile PD1 pozitifliği arasında ilişki yoktur (131).

ER pozitif tümörlerde PD1 %38,1 pozitif iken, ER negatif tümörlerde PD1 %51,9 pozitif idi. PR pozitif tümörlerin %37,9'unda, PR negatif tümörlerin %46,7'sinde PD1 pozitif idi. PD1 ile ER ve PR durumu arasında anlamlı ilişki saptanmamakla birlikte literatür ile uyumlu olarak ER ve PR negatifliğinde PD1 pozitifliği daha yüksek oranlarda saptandı (11, 131).

Tümör çapı ile PD1 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ancak çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak büyük çaplı tümörlerde PD1 daha yüksek oranda pozitif idi (11, 131). Tümör çapı 20 mm ve altında olan tümörlerin %34,9'unda, çapı 20 mm'den büyük ancak 50 mm veya daha küçük olan tümörlerin

%40,7'sinde, çapı 50 mm'den daha büyük olan tümörlerin %48,1'inde pozitif PD1 saptandı.

Deride tümöral invazyon ile PD1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamakla birlikte, deride tümöral invazyon olmayan olgularda PD1 pozitifliği %39 iken deride tümöral invazyon mevcut olan olgularda PD1 pozitifliği daha yüksek oranda (%71,4) görüldü.

Çalışmamızda PDL1 ve PD1 pozitifliği ile birçok kötü prognostik özellik arasında literatür ile uyumlu olarak anlamlı ilişki bulunmuştur. Tüm bu bulgular meme kanserlerinde PD1 / PDL1 sinyal yolunu bloke etmeyi hedefleyen immünoterapi ajanlarının potansiyel tedavi uygulamaları için iyi bir aday olabileceğini düşündürmektedir. Bazı kötü prognostik özelliklere sahip tümörlerde oransal olarak daha yüksek oranda PD1 / PDL1 pozitifliği görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmaması vaka sayımızın az olması ile açıklanabilir.

PDL1, PDL2 ve PD1 ekspresyonlarının birbirleri ile ilişkisi araştırıldığında, PD1 pozitif iken, ligandları olan PDL1 ve PDL2'nin buna paralel olarak daha yüksek oranda pozitif oldukları görüldü.

Tümörü infiltre eden lenfositler (TİL) tümör dokusunun içinde ve çevresinde bulunan mononükleer immün hücrelerdir. TIL varlığının meme kanserlerinde iyi prognozla ilişkili olduğu bildirilmektedir (38). Özellikle hızlı proliferasyon gösteren tümörlerde negatif aksiller nodal durum, daha küçük tümör boyutu ve daha düşük derece ile koreledir (132). Literatürde Wang ve arkadaşlarının çalışmasında TIL varlığının bizim çalışmamızda olduğu gibi kötü prognostik özellikler ile birlikte olduğu bildirilmiştir (133). Literatürdeki farklı sonuçlar, TIL içeriğine, değerlendirmedeki farklılıklara ya da vaka serilerinin farklı genişlikte olmasına bağlı olabilir.

Wang ve arkadaşlarının, Lee ve arkadaşlarının çalışmalarında bizim çalışmamızda olduğu gibi TIL varlığı ile histolojik derece arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon ve yüksek histolojik derece ile anlamlı ilişki saptandı (133, 134).

Literatürde meme kanserinde triple negatif ve HER2 pozitif tümörlerde, ER pozitif HER2 negatif tümörlere göre daha yüksek oranlarda TİL görüldüğü bildirilmiştir (47, 135, 136). Bu da triple negatif ve HER2 pozitif tümörlerin

immünojenitesinin diğerlerine göre daha yüksek olduğunu göstermektedir (48). Çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak en yüksek oranda TIL, HER2 overeksprese eden tümörlerde (%41,7) bulundu. Bunu bazal benzeri tümörler (%38,9) takip etmekteydi. En düşük TIL oranı %20,8 ile Luminal A tümörlerde görüldü. Ancak moleküler alttip ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Triple negatif ve HER2 pozitif meme kanserlerinde artmış TIL seviyeleri ve artmış nüksüz sağkalım arasında güçlü bir doğrusal ilişki gösterilmiştir (7, 47, 54, 135). Ancak artmış TIL'lerin lüminal tümörlerde sağkalım üzerinde ya hiçbir etkisinin olmadığı ya da genel sağkalımı azalttığı bildirilmiştir (47, 55).

Çalışmamızda HER2 overekspresyonu olmayan olgularda TIL %24,2 pozitifken, HER2 overeksprese eden olgularda ise %25,6 pozitif. Diğer yandan ER pozitifliği gösteren olgularda TIL %21,6 pozitifken, ER negatif olan olgularda %37,5 pozitif. Sonuçlarımıza göre Stanton, Melichar, Solinas ve arkadaşlarının çalışmalarında (135-137) olduğu gibi HER2 pozitif tümörlerde ve ER negatif tümörlerde TIL oranı yüksek olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. PR pozitif olan olgularda ise TIL %18,2 pozitif, PR negatif tümörlerde TIL %40 pozitif. Çalışmamızda Wang ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi PR negatifliği gösteren tümörlerde TIL daha yüksek oranda pozitif olup anlamlı ilişki saptandı (133).

Histolojik tip ile TIL arasında ise anlamlı ilişki yoktu ancak Medüller özellikler gösteren invaziv meme karsinomunda TIL oranı en yüksek oranda (%60) tespit edildi. Heppner ve arkadaşlarına göre medüller karsinomlarda görülen TIL varlığı iyi prognozla ilişkilidir (138). Desmedt ve arkadaşlarının çalışmasına göre TIL invaziv lobüler karsinomlarda, özel tip olmayan karsinoma göre anlamlı olarak daha düşük oranda izlendi. Bu invaziv lobüler karsinomlarda görülen kötü prognozla ilişkili bulundu (139). Çalışmamızda diğer parametreler ile TIL arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Sonuç olarak moleküler alttiplerden özellikle bazal benzeri tümörlerde PD1, PDL1 ve TIL oranlarının yüksek pozitiflik göstermesi PDL1 blokajının, luminal alttipde olan tümörlerde ise PDL2'nin yüksek pozitiflik göstermesi PDL2 blokajının bu gruptaki tümörlerde alternatif birer tedavi seçeneği olabileceğini düşündürmektedir. Tümör immünojenitesinin diğer birçok tümöre göre az olduğu

bilinen meme karsinomları arasında en yüksek immünojenite gösteren grup olduğu ortaya konulan ve tedavi seçeneklerinin kısıtlı olduğu bazal benzeri invaziv meme karsinomları için immünoterapi, bu bulgular eşliğinde umut verici bir seçenek olabilir (40, 81, 131). PD1/PDL1/PDL2 yolunun seçili vakalarda terapötik blokajı inhibe edilmiş olan T hücrelerinin aktivasyonunu sağlayabilir ve antitümör immün yanıtını artırabilir (12, 121, 122, 131, 140).

Ek olarak bu belirteçlerin meme kanserlerinde incelenmesi klinik olarak faydalı bilgiler sağlayabilir. Meme kanserlerinde prognostik ve prediktif değere sahip olabilmeleri yanı sıra, tek başına ya da kemoterapiye ek olarak yeni bir tedavi hedefi seçeneği de olabilirler. Ancak PD1/PDL1/PDL2'nin meme kanserlerinde iyi tanımlanmış birer prognostik ve prediktif belirteç olabilmesi için kullanılan antikor ve immünohistokimyasal değerlendirme yöntemi konularına standardizasyon getirilmelidir. Bu belirteçlerin rutin kullanıma girebilmesi için daha geniş serilerde araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

ÖZET

İnvaziv meme karsinomlarında immünhistokimyasal PD1, PDL1 ve PDL2 ekspresyonlarının araştırılması

Son yıllarda meme kanseri insidansının artması, yeni tanı ve tedavi yöntemleri geliştirmek amacı ile yoğun çalışmalar yapılmasına neden olmuştur. Son on yılda kanser immünoterapisi alanında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Programlanmış hücre ölümü 1 (PD1) yolağının ve inhibitörlerinin keşfedilmesi immünoterapi için ümit vaat etmektedir. PD1'in 2 adet ligandı vardır: "Programlanmış hücre ölümü ligandı 1 ve 2" (PDL1, PDL2). Çalışmamızda invaziv meme karsinomlarında immünhistokimyasal PD1, PDL1 ve PDL2 ekspresyonlarını ve bu belirteçlerin klinikopatolojik özellikler ile ilişkisini araştırmayı amaçladık. Çalışma grubumuz 171 invaziv meme karsinomundan oluşturulmuştur. Olgulara ait uygun parafin bloklardan doku mikroarray blokları oluşturularak, alınan kesitlerde immünhistokimyasal PD1, PDL1 ve PDL2 ekspresyonları değerlendirilmiştir. Ek olarak invaziv alanlarda tümörü infiltre eden lenfositlerin (TIL) varlığı ve TIL ile klinikopatolojik özelliklerin ilişkisi de araştırılmıştır. İmmünhistokimyasal PD1 ve PDL1 ekspresyonları bazal benzeri fenotipe sahip tümörlerde, immünhistokimyasal PDL2 ekspresyonu ise luminal alttiplerde anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. İmmünhistokimyasal PD1 ve PDL1 ekspresyonları yüksek histolojik derece ve yüksek Ki-67 indeksi ile ilişkiliyken, immünhistokimyasal PDL2 ekspresyonu östrojen ve progesteron reseptör (PR) pozitifliği ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca lenfovasküler invazyon varlığı ve aksiller metastaz varlığı ile immünhistokimyasal PD1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Ek olarak yüksek histolojik derece ve PR negatifliği ile TIL varlığı arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Sonuç olarak TIL varlığı, immünhistokimyasal PD1 ve PDL1 ekspresyonları kötü prognostik özellikler ve bazal benzeri fenotip ile ilişkiliyken, immünhistokimyasal PDL2 ekspresyonu luminal fenotip ve iyi prognostik özellikler ile ilişkili bulunmuştur. Özellikle bazal benzeri fenotipe sahip triple negatif invaziv meme karsinomlarında PD1 / PDL1 yolağının inhibisyonunun hedefe yönelik bir immünoterapi seçeneği olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: İmmünhistokimya, PD1, PDL1, PDL2, invaziv meme karsinomu

SUMMARY

The investigation of the immunohistochemical PD1, PDL1 and PDL2 expression in invasive breast carcinoma

Increased incidence of breast cancer has led to intensive studies with the aim of developing new diagnostic and therapeutic methods. Significant progress has been made in the area of cancer immunotherapy over the last decade. The discovery of the programmed cell death 1 (PD1) pathway and its inhibitors is promising for immunotherapy. PD1 has 2 ligands; “Programmed cell death ligand 1 and 2” (PDL1, PDL2). We aimed to investigate the immunohistochemical expression of PD1, PDL1 and PDL2 in invasive breast carcinomas and the relationship between these markers and clinicopathologic features. Our study group consisted of 171 invasive breast carcinomas. Tissue microarray blocks were generated from appropriate paraffin blocks of the cases and immunohistochemical PD1, PDL1 and PDL2 expressions were evaluated in the sections obtained. The presence of tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) and the relationship between TIL and clinicopathological features were also investigated. PD1 and PDL1 expressions were associated with basal-like phenotype, while the PDL2 expression was significantly higher in luminal subtypes. PD1 and PDL1 expressions were associated with high histological grade and high Ki-67 index, while PDL2 expression was associated with estrogen and progesterone receptor (PR) positivity. There was a significant association between lymphovascular invasion, axillary metastasis and PD1 expression. In conclusion, while PD1 and PDL1 expressions are associated with poor prognostic features and basal-like phenotype, PDL2 expression is associated with luminal phenotype and good prognostic features. We contemplate that inhibition of the PD1 / PDL1 pathway in triple negative breast carcinomas with basal-like phenotype, may be a targeted immunotherapy option.

Keywords: Immunohistochemistry, PD1, PDL1, PDL2, invasive breast carcinoma

6. KAYNAKLAR

1. Benson JR, Jatoi I. The global breast cancer burden. *Future Oncol*, 2012. 8(6): 697–702.
2. Hatipoğlu K. Kanserde Erken Tanı ve Tarama Problemleri, in *Türkiye’de Kanser Kontrolü*. 2009: Ankara.
3. Keskinçilic B, Gultekin M, Akarca A, Ozturk C, Boztas G, Karaca M, Utku E, Hacikamiloglu E, Turan H, Dede I, DüNDAR S. in *Turkey Cancer Control Programme*. 2016, Republic of Turkey Ministry of Health: Ankara.
4. Tuncer M in *Cancer control in Turkey*. Series Cancer control in Turkey. 2008, Ankara: Ministry of Health Department of Cancer Control: 17-45.
5. Zhou J, Zhong Y. Breast cancer immunotherapy, *Cell Mol Immunol*. 2004. 247-255.
6. Schneble E, Jinga D, Peoples G. Breast Cancer Immunotherapy. *Maedica*, 2015. 10(2): 185.
7. Loi S, Michiels S, Salgado R, Sirtaine N, Jose V, Fumagalli D, Kellokumpu-Lehtinen P-L, Bono P, Kataja V, Desmedt C. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. *Annals of oncology*, 2014. 25(8): 1544-1550.
8. Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, Raynaud S, Cervera N, Lambaudie E, Jacquemier J, Viens P, Birnbaum D, Bertucci F. Kinome expression profiling and prognosis of basal breast cancers. *Molecular cancer*, 2011. 10(1): 86.
9. Buqué A, Bloy N, Aranda F, Castoldi F, Eggermont A, Cremer I, Fridman W, Fucikova J, Galon J, Marabelle A. Trial Watch: Immunomodulatory monoclonal antibodies for oncological indications. *Oncoimmunology*, 2015. 4(4): e1008814.
10. Reiss K, Forde P, Brahmer J. Harnessing the power of the immune system via blockade of PD-1 and PD-L1: a promising new anticancer strategy. *Immunotherapy*, 2014. 6(4): 459-475.
11. Ghebeh H, Mohammed S, Al-Omair A, Qattant A, Lehe C, Al-Qudaihi G, Elkum N, Alshabanah M, Amer S, Tulbah A. The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: correlation with important high-risk prognostic factors. *Neoplasia*, 2006. 8(3): 190-198.
12. Bertucci F, Finetti P, Birnbaum D, Mamessier E. The PD1/PDL1 axis, a promising therapeutic target in aggressive breast cancers. *Oncoimmunology*, 2016. 5(3): e1085148.
13. Mohammed Z, Going J, Edwards J, Elsberger B, Doughty JC, McMillan DC. The relationship between components of tumour inflammatory cell infiltrate and clinicopathological factors and survival in patients with primary operable invasive ductal breast cancer. *British journal of cancer*, 2012. 107(5): 864.
14. LC Collins, SJ Schnitt in *Histology for pathologists*. 4 ed. Series Histology for pathologists, ed. Mills. 2012, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
15. Tavassoli FA. Normal development and anomalies, in *Pathology of the Breast*. 1992, Appleton&Lange 1-24.
16. Arıncı K, Elhan A. Meme Anatomisi, in *Anatomi*. 2006, Güneş Kitabevi: Ankara 401-402.
17. Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins R, Dyson M. Gray's Anatomy. 1995, Great Britain 4217-4240.
18. Anhabzagan R, Bartek J, Monaghan P. Growth and development of the human Infant breast. *Am J Anat*, 1991. 192(4): 407-417.
19. Jensen HM. Breast pathology, emphasizing precancerous and cancer associated lesions. . 1981: New York 41-86.

20. Tavassoli FA in *Pathology Of The Breast*. 2 ed. Series Pathology Of The Breast. 1999, Connecticut.
21. Kumar V, Abbas A, Aster J. Kadın Genital Sistemi ve Meme, in *Robbins Temel Patoloji*. 2014, Nobel Tıp Kitabevi: İstanbul 704-714.
22. Bosman F, Jaffe E, Lakhani S, Ohgaki H. in *WHO Classification of Tumours of The Breast*. 2012, International Agency for Research on Cancer: Lyon.
23. Tuncer M. Türkiye’de Kanser Kontrolü. 2009, T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı.
24. Mansour E, Ravdin P, Dressier L. Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer*, 1994. 74(S1): 381-400.
25. CW Elston, JO Ellis. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*, 1991. 19(5): 403-410.
26. Öztekin İ. Meme Kanseri Histolojik ve Nükleer Grade’in Önemi. *Türk Patoloji Dergisi*, 1995. 11-2: 36-39.
27. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *Journal of clinical oncology*, 2005. 23(29): 7350-7360.
28. Bandyopadhyay S, Bluth MH, Ali-Fehmi R. Breast Carcinoma: Updates in Molecular Profiling 2018. *Clinics in laboratory medicine*, 2018. 38(2): 401-420.
29. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ. Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Annals of oncology*, 2011. 22(8): 1736-1747.
30. Hu Z, Fan C, Oh D, Marron JS, He X, Qaqish BF, Livasy C, Carey LA, Reynolds E, Dressler L. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC genomics*, 2006. 7(1): 96.
31. Wiechmann L, Sampson M, Stempel M, Jacks LM, Patil SM, King T, Morrow M. Presenting features of breast cancer differ by molecular subtype. *Annals of surgical oncology*, 2009. 16(10): 2705-2710.
32. Smid M, Wang Y, Zhang Y, Sieuwerts AM, Yu J, Klijn J, Foekens JA, Martens J. Subtypes of breast cancer show preferential site of relapse. *Cancer research*, 2008. 68(9): 3108-3114.
33. Goldstein NS, Decker D, Severson D, Schell S, Vicini F, Margolis J, Dekhne NS. Molecular classification system identifies invasive breast carcinoma patients who are most likely and those who are least likely to achieve a complete pathologic response after neoadjuvant chemotherapy. *Cancer*, 2007. 110(8): 1687-1696.
34. CLivasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade O, Moore DT, Perou CM. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Modern pathology*, 2006. 19(2): 264.
35. Bosch A, Eroles P, Zaragoza R, Viña JR, Lluch A. Triple-negative breast cancer: molecular features, pathogenesis, treatment and current lines of research. *Cancer treatment reviews*, 2010. 36(3): 206-215.
36. Wein L, Luen SJ, Savas P, Salgado R, Loi S. Checkpoint blockade in the treatment of breast cancer: current status and future directions. *British journal of cancer*, 2018: 1.
37. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio S, Behjati S, Biankin AV, Bignell GR, Bolli N, Borg A, Borresen-Dale AL. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*, 2013. 500(7463): 415.
38. Criscitiello C, Curigliano G. Immunotherapy of breast cancer. *Immuno-Oncology*, 2015. 42: 30-43.
39. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity’s roles in cancer suppression and promotion. *Science*, 2011. 331(6024): 1565-1570.

40. Ernst B, Anderson KS. Immunotherapy for the treatment of breast cancer. *Current oncology reports*, 2015. 17(2): 5.
41. Pockaj BA, Basu GD, Pathangey LB, Gray RJ, Hernandez JL, Gendler SJ, Mukherjee P. Reduced T-cell and dendritic cell function is related to cyclooxygenase-2 overexpression and prostaglandin E2 secretion in patients with breast cancer. *Annals of Surgical Oncology*, 2004. 11(3): 328-339.
42. Changkija B, Konwar R. Role of interleukin-10 in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 2012. 133(1): 11-21.
43. Melero I, Hirschhorn-Cymerman D, Morales-Kastresana A, Sanmamed MF, Wolchok JD. Agonist antibodies to TNFR molecules that costimulate T and NK cells. 2013, AACR.
44. Melero I, Gaudernack G, Gerritsen W, Huber C, Parmiani G, Scholl S, Thatcher N, Wagstaff J, Zielinski C, Faulkner I. Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials. *Nature reviews Clinical oncology*, 2014. 11(9): 509.
45. Vinayak S, Carlson RW. mTOR inhibitors in the treatment of breast cancer. *Oncology*, 2013. 27(1): 38.
46. Spellman A, Tang SC. Immunotherapy for breast cancer: past, present, and future. *Cancer and Metastasis Reviews*, 2016. 35(4): 525-546.
47. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Eeneo F Van, Rouas G, Francis P, Crown J, Hitre E. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *Journal of clinical oncology*, 2013. 31(7): 860-867.
48. Luen S, Virassamy B, Savas P, Salgado R, Loi S. The genomic landscape of breast cancer and its interaction with host immunity. *The Breast*, 2016. 29: 241-250.
49. Savas P, Salgado R, Denkert C, Sotiriou C, Darcy PK, Smyth MJ, Loi S. Clinical relevance of host immunity in breast cancer: from TILs to the clinic. *Nature reviews Clinical oncology*, 2016. 13(4): 228.
50. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, Wienert S, Eynden G Van den, Baehner FL, Pénault-Llorca F. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Annals of oncology*, 2014. 26(2): 259-271.
51. Denkert C, Wienert S, Poterie A, Loibl S, Budczies J, Badve S, Bago-Horvath Z, Bane A, Bedri S, Brock J. Standardized evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: results of the ring studies of the international immuno-oncology biomarker working group. *Modern Pathology*, 2016. 29(10): 1155.
52. Taube JM, Klein AP, Brahmer JR, Xu H, Pan X, Kim JH, Chen L, Pardoll DM, Topalian SL, Anders RA. Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy. *Clinical cancer research*, 2014: clincanres. 3271.2013.
53. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 2012. 12(4): 252.
54. Pruneri G, Gray KP, Vingiani A, Viale G, Curigliano G, Criscitiello C, Láng I, Ruhstaller T, Gianni L, Goldhirsch A. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) are a powerful prognostic marker in patients with triple-negative breast cancer enrolled in the IBCSG phase III randomized clinical trial 22-00. *Breast cancer research and treatment*, 2016. 158(2): 323-331.
55. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Müller BM, Komor M, Budczies J, Darb-Esfahani S, Kronenwett R, Hanusch C. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Journal of clinical oncology*, 2009. 28(1): 105-113.
56. Salgado R, Denkert C, Campbell C, Savas P, Nuciforo P, Aura C, Azambuja E de, Eidtmann H, Ellis CE, Baselga J. Tumor-infiltrating lymphocytes and associations

- with pathological complete response and event-free survival in HER2-positive early-stage breast cancer treated with lapatinib and trastuzumab: a secondary analysis of the NeoALTTO trial. *JAMA oncology*, 2015. 1(4): 448-455.
57. Dieci MV, Criscitiello C, Goubar A, Viale G, Conte P, Guarneri V, Ficarra G, Mathieu MC, Delaloge S, Curigliano G. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study. *Annals of oncology*, 2014. 25(3): 611-618.
 58. Luen SJ, Salgado R, Fox S, Savas P, Eng-Wong J, Clark E, Kiermaier A, Swain SM, Baselga J, Michiels S. Tumour-infiltrating lymphocytes in advanced HER2-positive breast cancer treated with pertuzumab or placebo in addition to trastuzumab and docetaxel: a retrospective analysis of the CLEOPATRA study. *The Lancet Oncology*, 2017. 18(1): 52-62.
 59. Galon J, Angell HK, Bedognetti D, Marincola FM. The continuum of cancer immunosurveillance: prognostic, predictive, and mechanistic signatures. *Immunity*, 2013. 39(1): 11-26.
 60. Coussens LM, Pollard JW. Leukocytes in mammary development and cancer. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2011. 3(3): a003285.
 61. DeNardo DG, Barreto JB, Andreu P, Vasquez L, Tawfik D, Kolhatkar N, Coussens LM. CD4+ T cells regulate pulmonary metastasis of mammary carcinomas by enhancing protumor properties of macrophages. *Cancer cell*, 2009. 16(2): 91-102.
 62. Mahmoud SMA, Paish EC, Powe DG, Macmillan RG, Grainge MJ, Lee AHS, Ellis IO, Green AR. Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer. *Journal of clinical oncology*, 2011. 29(15): 1949-1955.
 63. Seo AN, Lee HJ, Kim EJ, Kim HJ, Jang MH, Lee HE, Kim YJ, Kim JH, Park SY. Tumour-infiltrating CD8+ lymphocytes as an independent predictive factor for pathological complete response to primary systemic therapy in breast cancer. *British journal of cancer*, 2013. 109(10): 2705.
 64. Bates GJ, Fox SB, Han C, Leek RD, Garcia JF, Harris AL, Banham AH. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse. *Journal of Clinical Oncology*, 2006. 24(34): 5373-5380.
 65. Gobert M, Treilleux I, Bendriss-Vermare N, Bachelot T, Goddard-Leon S, Arfi V, Biota C, Doffin AC, Durand I, Olive D. Regulatory T cells recruited through CCL22/CCR4 are selectively activated in lymphoid infiltrates surrounding primary breast tumors and lead to an adverse clinical outcome. *Cancer research*, 2009. 69(5): 2000-2009.
 66. West NR, Kost SE, Martin SD, Milne K, Nelson BH, Watson PH. Tumour-infiltrating FOXP3+ lymphocytes are associated with cytotoxic immune responses and good clinical outcome in oestrogen receptor-negative breast cancer. *British journal of cancer*, 2013. 108(1): 155.
 67. Gu-Trantien C, Loi S, Garaud S, CEqueter, Libin M, Wind A De, Ravoet M, Buanec H Le, Sibille C, Manfouo-Foutsop G. CD4+ follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. *The Journal of clinical investigation*, 2013. 123(7): 2873-2892.
 68. Teschendorff AE, Gomez S, Arenas A, El-Ashry D, Schmidt M, Gehrman M, Caldas C. Improved prognostic classification of breast cancer defined by antagonistic activation patterns of immune response pathway modules. *BMC cancer*, 2010. 10(1): 604.
 69. Qi W, Huang X, Wang J. Correlation between Th17 cells and tumor microenvironment. *Cellular Immunology*, 2013. 285(1-2): 18-22.
 70. An T, Sood U, Pietruk T, Cummings G, Hashimoto K, Crissman JD. In situ quantitation of inflammatory mononuclear cells in ductal infiltrating breast carcinoma. Relation to prognostic parameters. *The American journal of pathology*, 1987. 128(1): 52.
 71. Mahmoud SMA, Lee AHS, Paish EC, Macmillan RD, Ellis IO, Green AR. The prognostic significance of B lymphocytes in invasive carcinoma of the breast. *Breast cancer research and treatment*, 2012. 132(2): 545-553.

72. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN, Martino S, Wang M, Jones VE, Saphner TJ. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *Journal of clinical oncology*, 2014. 32(27): 2959.
73. Demaria S, Volm MD, Shapiro RL, Yee HT, Oratz RO, Formenti SC, Muggia F, Symmans WF. Development of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer after neoadjuvant paclitaxel chemotherapy. *Clinical Cancer Research*, 2001. 7(10): 3025-3030.
74. Ma Y, Kepp O, Ghiringhelli F, Apetoh L, Aymeric L, Locher C, Tesniere A, Martins I, Ly A, Haynes NM. Chemotherapy and radiotherapy: cryptic anticancer vaccines, *Seminars in immunology*. 2010, Elsevier. 113-124.
75. Almendro V, Kim HJ, Cheng YK, Gönen M, Itzkovitz S, Argani P, Oudenaarden A Van, Sukumar S, Michor F, Polyak K. Genetic and phenotypic diversity in breast tumor metastases. *Cancer research*, 2014. 74(5): 1338-1348.
76. Vinayak S, Gray RJ, Adams S, Jensen KC, Manola J, Afghahi A, Goldstein LJ, Ford JM, Badve SS, Telli ML. Association of increased tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) with immunomodulatory (IM) triple-negative breast cancer (TNBC) subtype and response to neoadjuvant platinum-based therapy in PrECOG0105. 2014.
77. Lafferty KJ, Cunningham AJ. A new analysis of allogeneic interactions. *Immunology and Cell Biology*, 1975. 53(1): 27.
78. Keir ME, Butter MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu. Rev. Immunol.*, 2008. 26: 677-704.
79. Ceeraz S, Nowak EC, Noelle RJ. B7 family checkpoint regulators in immune regulation and disease. *Trends in immunology*, 2013. 34(11): 556-563.
80. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy. *Cancer cell*, 2015. 27(4): 450-461.
81. Schütz F, Stefanovic S, Mayer L, Au A von, Domschke C, Sohn C. PD-1/PD-L1 pathway in breast cancer. *Oncology research and treatment*, 2017. 40(5): 294-297.
82. Jung K, Choi I. Emerging co-signaling networks in T cell immune regulation. *Immune network*, 2013. 13(5): 184-193.
83. Tripathi S, Guleria I. Role of PD1/PDL1 pathway, and TH17 and treg cells in maternal tolerance to the fetus. *Biomed J*, 2015. 38(1): 25-31.
84. Pentcheva- Hoang T, Corse E, Allison JP. Negative regulators of T- cell activation: potential targets for therapeutic intervention in cancer, autoimmune disease, and persistent infections. *Immunological reviews*, 2009. 229(1): 67-87.
85. Fife BT, Bluestone JA. Control of peripheral T- cell tolerance and autoimmunity via the CTLA- 4 and PD- 1 pathways. *Immunological reviews*, 2008. 224(1): 166-182.
86. Thompson R Houston, Dong Haidong, Lohse Christine M, Leibovich Bradley C, Blute Michael L, Cheville John C, Kwon Eugene D. PD-1 is expressed by tumor-infiltrating immune cells and is associated with poor outcome for patients with renal cell carcinoma. *Clinical cancer research*, 2007. 13(6): 1757-1761.
87. Rodig N, Ryan T, Allen JA, Pang H, Grabie N, Chernova T, Greenfield EA, Liang SC, Sharpe AH, Lichtman AH. Endothelial expression of PD- L1 and PD- L2 down-regulates CD8+ T cell activation and cytolysis. *European journal of immunology*, 2003. 33(11): 3117-3126.
88. Wang J, Yoshida T, Nakaki F, Hiai H, Okazaki T, Honjo T. Establishment of NOD-Pdcd1^{-/-} mice as an efficient animal model of type I diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005. 102(33): 11823-11828.
89. Okazaki T, Tanaka Y, Nishio R, Mitsuiye T, Mizoguchi A, Wang J, Ishida M, Hiai H, Matsumori A, Minato N. Autoantibodies against cardiac troponin I are responsible for dilated cardiomyopathy in PD-1-deficient mice. *Nature medicine*, 2003. 9(12): 1477.

90. Day CL, Kaufmann DE, Kiepiela P, Brown JA, Moodley ES, Reddy S, Mackey EW, Miller JD, Leslie AJ, DePierres C. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature*, 2006. 443(7109): 350.
91. Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N, Honjo T. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity*, 1999. 11(2): 141-151.
92. Chang TT, Jabs C, Sobel RA, Kuchroo VK, Sharpe AH. Studies in B7-deficient mice reveal a critical role for B7 costimulation in both induction and effector phases of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Experimental Medicine*, 1999. 190(5): 733-740.
93. Nishimura H, Agata Y, Kawasaki A, Sato M, Imamura S, Minato N, Yagita H, Nakano T, Honjo T. Developmentally regulated expression of the PD-1 protein on the surface of double-negative (CD4⁻CD8⁻) thymocytes. *International immunology*, 1996. 8(5): 773-780.
94. Dorfman DM, Brown JA, Shahsafaei A, Freeman GJ. Programmed death-1 (PD-1) is a marker of germinal center-associated T cells and angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *The American journal of surgical pathology*, 2006. 30(7): 802.
95. Raimondi G, Shufesky WJ, Tokita D, Morelli AE, Thomson AW. Regulated compartmentalization of programmed cell death-1 discriminates CD4⁺ CD25⁺ resting regulatory T cells from activated T cells. *The Journal of Immunology*, 2006. 176(5): 2808-2816.
96. Gatalica Z, Snyder C, Maney T, Ghazalpour A, Holterman DA, Xiao N, Overberg P, Rose I, Basu GD, Vranic S. Programmed cell death 1 (PD-1) and its ligand (PD-L1) in common cancers and their correlation with molecular cancer type. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 2014. 23(12): 2965-2970.
97. Brown JA, Dorfman DM, Ma FR, Sullivan EL, Munoz O, Wood CR, Greenfield EA, Freeman GJ. Blockade of programmed death-1 ligands on dendritic cells enhances T cell activation and cytokine production. *The Journal of Immunology*, 2003. 170(3): 1257-1266.
98. Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, Roche PC, Lu J, Zhu G, Tamada K. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nature medicine*, 2002. 8(8): 793.
99. Hamanishi J, Mandai M, Iwasaki M, Okazaki T, Tanaka Y, Yamaguchi K, Higuchi T, Yagi H, Takakura K, Minato N. Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8⁺ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007. 104(9): 3360-3365.
100. Strome SE, Dong H, Tamura H, Voss SG, Flies DB, Tamada K, Salomao D, Chevillat J, Hirano F, Lin W. B7-H1 blockade augments adoptive T-cell immunotherapy for squamous cell carcinoma. *Cancer research*, 2003. 63(19): 6501-6505.
101. Inman BA, Sebo TJ, Frigola X, Dong H, Bergstralh EJ, Frank I, Fradet Y, Lacombe L, Kwon ED. PD- L1 (B7- H1) expression by urothelial carcinoma of the bladder and BCG- induced granulomata. *Cancer*, 2007. 109(8): 1499-1505.
102. Konishi J, Yamazaki K, Azuma M, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Nishimura M. B7-H1 expression on non-small cell lung cancer cells and its relationship with tumor-infiltrating lymphocytes and their PD-1 expression. *Clinical cancer research*, 2004. 10(15): 5094-5100.
103. Nakanishi J, Wada Y, Matsumoto K, Azuma M, Kikuchi K, Ueda S. Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2007. 56(8): 1173-1182.
104. Nomi Takeo, Sho Masayuki, Akahori Takahiro, Hamada Kaoru, Kubo Atsushi, Kanehiro Hiromichi, Nakamura Shinji, Enomoto Koji, Yagita Hideo, Azuma

- Miyuki. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clinical cancer research*, 2007. 13(7): 2151-2157.
105. Wu C,Zhu Y,Jiang J,Zha J,Zhang XG,Xu N. Immunohistochemical localization of programmed death-1 ligand-1 (PD-L1) in gastric carcinoma and its clinical significance. *Acta histochemica*, 2006. 108(1): 19-24.
 106. Blank C,Brown I,Marks R,Nishimura H,Honjo T,Gajewski TF. Absence of programmed death receptor 1 alters thymic development and enhances generation of CD4/CD8 double-negative TCR-transgenic T cells. *The Journal of Immunology*, 2003. 171(9): 4574-4581.
 107. Rosenwald A,Wright G,Leroy K,Yu X,Gaulard P,Gascoyne RD,Chan WC,Zhao T,Haioun C,Greiner TC. Molecular diagnosis of primary mediastinal B cell lymphoma identifies a clinically favorable subgroup of diffuse large B cell lymphoma related to Hodgkin lymphoma. *Journal of Experimental Medicine*, 2003. 198(6): 851-862.
 108. Liu J,Hamrouni A,Wolowiec D,Coiteux V,Kuliczkowski K,Hetuin D,Saudemont A,Quesnel B. Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN- γ and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway. *Blood*, 2007. 110(1): 296-304.
 109. Shimauchi T,Kabashima K,Nakashima D,Sugita K,Yamada Y,Hino R,Tokura Y. Augmented expression of programmed death- 1 in both neoplastic and non-neoplastic CD4+ T- cells in adult T- cell leukemia/lymphoma. *International journal of cancer*, 2007. 121(12): 2585-2590.
 110. Chemnitz JM,Eggle D,Driesen J,Classey S,Riley JL,Debey-Pascher S,Beyer M,Popov A,Zander T,Schultze JL. RNA fingerprints provide direct evidence for the inhibitory role of TGF β and PD-1 on CD4+ T cells in Hodgkin lymphoma. *Blood*, 2007. 110(9): 3226-3233.
 111. Iwai Y,Ishida M,Tanaka Y,Okazaki T,Honjo T,Minato N. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002. 99(19): 12293-12297.
 112. Iwai Y,Terawaki S,Honjo T. PD-1 blockade inhibits hematogenous spread of poorly immunogenic tumor cells by enhanced recruitment of effector T cells. *International immunology*, 2004. 17(2): 133-144.
 113. Curiel TJ,Wei S,Dong H,Alvarez X,Cheng P,Mottra P,Krzysiek R,Knutson KL,Daniel B,Zimmermann MC. Blockade of B7-H1 improves myeloid dendritic cell-mediated antitumor immunity. *Nature medicine*, 2003. 9(5): 562.
 114. Brockhoff G,Seitz S,Weber F,Zeman F,Klinkhammer-Schalke M,Ortmann O,Wege AK. The presence of PD-1 positive tumor infiltrating lymphocytes in triple negative breast cancers is associated with a favorable outcome of disease. *Oncotarget*, 2018. 9(5): 6201.
 115. Kitano A,Ono M,Yoshida M,Noguchi E,Shimomura A,Shimoi T,Kodaira M,Yunokawa M,Yonemori K,Shimizu C. Tumour-infiltrating lymphocytes are correlated with higher expression levels of PD-1 and PD-L1 in early breast cancer. *ESMO open*, 2017. 2(2): e000150.
 116. Ács B,Madaras L,AM Tőkés,Kovács AK,Kovács E,Ozsvári-Vidákovich M,Karászi A,Birtalan E,Dnk M,Szász AM. PD-1, PD-L1 and CTLA-4 in pregnancy-related-and in early-onset breast cancer: a comparative study. *The Breast*, 2017. 35: 69-77.
 117. Bottai G,Raschioni C,Losurdo A,Tommaso L Di,Tinterri C,Torrisi R,Reis-Filho JS,Roncalli M,Sotiriou C,Santoro A. An immune stratification reveals a subset of PD-1/LAG-3 double-positive triple-negative breast cancers. *Breast Cancer Research*, 2016. 18(1): 121.
 118. Buisseret L,Garaud S,Wind A de,Eynden G Van den,Boisson A,Solinas C,Gu-Trantien C,Naveaux C,Lodewyckx JN,Duvillier H. Tumor-infiltrating lymphocyte

- composition, organization and PD-1/PD-L1 expression are linked in breast cancer. *Oncoimmunology*, 2017. 6(1): e1257452.
119. Allred DC,Harvey JM,Berardo M,Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 1998. 11(2): 155-168.
 120. Baptista MZ,Sarian LO,Derchain SFM,Pinto GA,Vassallo J. Prognostic significance of PD-L1 and PD-L2 in breast cancer. *Human pathology*, 2016. 47(1): 78-84.
 121. Sabatier R,Finetti P,Mamessier E,Adelaide J,Chaffanet M,Ali HR,Viens P,Caldas C,Birnbaum D,Bertucci F. Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget*, 2015. 6(7): 5449.
 122. Muenst S,Schaerli AR,Gao F,Däster S,Trella E,Droeser RA,Muraro MG,Zajac P,Zanetti R,Gillanders WE. Expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 2014. 146(1): 15-24.
 123. Lou J,Zhou Y,Huang J,Qian X. Relationship between PD-L1 expression and clinical characteristics in patients with breast invasive ductal carcinoma. *Open Medicine*, 2017. 12(1): 288-292.
 124. Karnik T,Kimler BF,Fan F,Tawfik O. PD-L1 in breast cancer: comparative analysis of 3 different antibodies. *Human pathology*, 2018. 72: 28-34.
 125. Kim H,Lee SJ,Kim YK,Park WY,Kim JY,Lee CH,Gong G,Huh GY,Choi KU. Programmed death-ligand 1 (PD-L1) expression in tumour cell and tumour infiltrating lymphocytes of HER2-positive breast cancer and its prognostic value. *Scientific reports*, 2017. 7(1): 11671.
 126. Qin T,Zeng YD,Qin G,Xu F,Lu JB,Fang WF,Xue C,Zhan JH,Zhang XK,Zheng QF. High PD-L1 expression was associated with poor prognosis in 870 Chinese patients with breast cancer. *Oncotarget*, 2015. 6(32): 33972.
 127. Schalper KA,Velcheti V,Carvajal D,Wimberly H,J Brown,Pusztai L,Rimm DL. In situ Tumor PD-L1 mRNA expression is associated with increased TILs and better outcome in breast carcinomas. *Clinical Cancer Research*, 2014: clincanres. 2702.2013.
 128. Velcheti V,Schalper KA,Carvajal DE,Anagnostou VK,Syrigos KN,Sznol M,Herbst RS,Gettinger SN,Chen L,Rimm DL. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. *Laboratory investigation*, 2014. 94(1): 107.
 129. Tseng LM,Chiu JH,Liu CY,Tsai YF,Wang YL,Yang CW,Shyr YM. A comparison of the molecular subtypes of triple-negative breast cancer among non-Asian and Taiwanese women. *Breast cancer research and treatment*, 2017. 163(2): 241-254.
 130. Cimino-Mathews A,Foote JB,Emens LA. Immune Targeting in Breast Cancer: Page 3 of 3. *Oncology*, 2015. 29(5).
 131. Muenst S,Soysal SD,Gao F,Obermann EC,Oertli D,Gillanders WE. The presence of programmed death 1 (PD-1)-positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 2013. 139(3): 667-676.
 132. Aaltomaa S,Lipponen P,Eskelinen M,Kosma V-M,Marin S,Alhava E,Syrjänen K. Lymphocyte infiltrates as a prognostic variable in female breast cancer. *European journal of cancer*, 1992. 28(4): 859-864.
 133. Wang K,Xu J,Zhang T,Xue D. Tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer predict the response to chemotherapy and survival outcome: a meta-analysis. *Oncotarget*, 2016. 7(28): 44288.
 134. Lee JH,Kim JY,Park IA,Song IH,Yu JH,Ahn JH,Gong G. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes and the tertiary lymphoid structures in HER2-positive breast cancer treated with adjuvant trastuzumab. *American journal of clinical pathology*, 2015. 144(2): 278-288.

135. Stanton SE,Disis ML. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. *Journal for immunotherapy of cancer*, 2016. 4(1): 59.
136. Melichar B,Študentová H,Kalabova H,Vitaskova D,Čermáková P,Hornychova H,Ryška A. Predictive and prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with breast cancer treated with neoadjuvant systemic therapy. *Anticancer research*, 2014. 34(3): 1115-1125.
137. Solinas C,Carbognin L,Silva P De,Criscitiello C,Lambertini M. Tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer according to tumor subtype: current state of the art. *The Breast*, 2017. 35: 142-150.
138. Heppner BI,Loibl S,Denkert C. Tumor-infiltrating lymphocytes: a promising biomarker in breast cancer. *Breast Care*, 2016. 11(2): 96-100.
139. Desmedt C,Salgado R,Fornili M,Pruneri G,Eynden G Van den,Zoppoli G,Rothé F,Buisseret L,Garaud S,Willard-Gallo K. Immune infiltration in invasive lobular breast cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 2018.
140. Miller RA,Miller TN,Cagle PT. PD-1/PD-L1, only a piece of the puzzle. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 2016. 140(11): 1187-1188.

