

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİNDE TİM-3
İFADELENMESİNİN HASTALIĞIN PROGNOZU, EVRESİ VE
TEDAVİYE YANITI İLE İLİŞKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

Dr. OĞULCAN BOZ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. NAZAN GÜNEL

ANKARA – 2020

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİNDE TİM-3
İFADELENMESİNİN HASTALIĞIN PROGNOZU, EVRESİ VE
TEDAVİYE YANITI İLE İLİŞKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

Dr. OĞULCAN BOZ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. NAZAN GÜNEL

Bu tez 01-2019/02 numaralı proje kapsamında, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi desteğiyle satın alınan kit ile yapılmıştır.

ANKARA – 2020

KABUL VE ONAY



Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Oğulcan BOZ
Baba Adı	Niyazi
Doğum Yeri/Tarihi	Karşehir / 16.09.1991
Diploma Tarihi / Diploma No	15.07.2015 / 2015-09-0174
Mezun Olduğu Fakülte	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	İç Hastalıkları Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	Yıl: 4 Ay: 48
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: Üçlü Negatif Meme Kanseri TIM-3 İfadelemesinin Hastalığın Prognozu, Evresi ve Tedaviye Yanıtı İle İlişkisinin Değerlendirilmesi

JÜRİ KARARI: İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak eğitimine devam etmekte olan Oğulcan Boz'un "Üçlü Negatif Meme Kanseri TIM-3 İfadelemesinin Hastalığın Prognozu, Evresi ve Tedaviye Yanıtı İle İlişkisinin Değerlendirilmesi" isimli tezi, komisyonumuzca yapılan tez sınavında başarılı bulunmuş ve uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir. Uzmanlık sınavına girmeye hak kazanmıştır.

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN

Prof. Dr. Nazan GÜNEL

Prof. Dr. Nazan GÜNEL
T.C. Gazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.B.D.
Doç. Dr. Nazan GÜNEL
15.07.2015

ÜYE

Prof. Dr. Zafer AKÇALI

Başkent Üniversitesi Hastanesi
Prof. Dr. Zafer AKÇALI
Op. Tel: 0312 275 0505
E-posta: zafer.akcali@baskent.edu.tr

ÜYE

Dr. Öğr. Üyesi Görde TAHTACI

Dr. Öğr. Üyesi Görde TAHTACI
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları A.B.D.
Medikal Onkoloji B.D.
Tez No: 126677

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimin her aşamasında bana yol gösteren, tezin oluşturulduğu süreçte, çalışmanın planlanması, yürütülmesi ve sonuçlandırılmasında sonsuz sabrıyla her aşamada bana destek olan, birlikte çalışmaktan büyük onur duyduğum değerli tez danışman hocam sayın Prof. Dr. Nazan GÜNEL'e,

Eğitimime olan katkılarından dolayı başta eğitimim süresince anabilim dalı başkanlığı yapmış değerli hocalarım Prof. Dr. Selim Turgay ARINSOY ve Prof. Dr. İlhan YETKİN olmak üzere tüm değerli hocalarıma,

Uzmanlık eğitimimin zorlu sürecinde birlikte çalıştığım değerli asistan arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olup bana destek olan sevgili eşim Cansu TETİK BOZ, annem Esen Ayça BOZ ve babam Niyazi BOZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Oğulcan BOZ

ANKARA-2020

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	viii
KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri	4
2.1.1. Epidemiyoloji.....	4
2.1.2. Risk Faktörleri	5
2.1.2.1. Yaş.....	5
2.1.2.2. Cinsiyet	6
2.1.2.3. Erken Menarş ve Geç Menapoz	6
2.1.2.4. Irk	6
2.1.2.5. Beden Kitle İndeksi	7
2.1.2.6. İlk Doğum Yaşı ve Nulliparite.....	7
2.1.2.7. Oral Kontraseptif ve Hormon Replasman Tedavisi Kullanımı	8
2.1.2.8. Genetik Faktörler	8
2.1.2.9. Benign Meme Hastalıkları ve Artmış Meme Dansitesi.....	9
2.1.2.10. Yaşam Tarzı ve Diyet	9
2.1.2.11. Radyasyon Maruziyeti	10
2.2. Meme Kanseri Patolojik ve Moleküler Sınıflaması.....	11

2.2.1. Patolojik Sınıflama.....	11
2.2.2. Moleküler Sınıflama	13
2.3. Meme Kanseri Tanı ve Evreleme	15
2.3.1. Meme Kanseri Tanı ve Tarama.....	15
2.3.2. Meme Kanseri Evreleme ve Prognostik Faktörler	18
2.4. Meme Kanseri Tedavi Yaklaşımları	24
2.4.1. Cerrahi Tedavi	24
2.4.2. Sentinel Lenf Nodu Diseksiyonu ve Aksiller Evreleme	25
2.4.3. Radyoterapi	25
2.4.4. Sistemik Tedavi	26
2.4.4.1. Kemoterapi.....	26
2.4.4.2. Hormonal Tedavi.....	30
2.4.4.3. Hedefe Yönelik Tedaviler	31
2.5. Üçlü Negatif Meme Kanseri (ÜNMK)	33
2.6. İmmüno-Onkoloji ve TIM-3	35
2.6.1. Kanseri İmmünitesi.....	35
2.6.2. İmmün Kontrol Noktaları	37
2.6.3. TIM-3	39
2.6.4. Meme Kanseri İmmünite	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM	42
3.1. Çalışmanın Tasarımı	42
3.2. Olguların Seçilmesi.....	43
3.3. Hasta Verilerinin Toplanması	44
3.4. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi	45
3.5. İstatistiksel Analiz.....	46

4. BULGULAR	47
4.1. Sosyodemografik ve Klinikopatolojik Bulgular.....	47
4.2. İmmünohistokimyasal Olarak TIM-3 İfadeleme Sonuçları.....	53
4.3. TIM-3 İfadelemeyle Hastaların Klinikopatolojik Verilerinin Karşılaştırılması.....	57
4.4. TIM-3 İfadelemeyle Tedavi ve Sağkalım Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	65
5. TARTIŞMA	79
6. SONUÇLAR.....	91
7. ÖZET	94
8. ABSTRACT	96
9. KAYNAKLAR.....	98

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Meme Kanserinin Patolojik Sınıflaması.....	12
Tablo 2. Meme Kanseri Moleküler Sınıflaması	14
Tablo 3. AJCC 2017 Meme Kanseri TNM Evreleme Sistemi	19
Tablo 4. Anatomik Evre/Prognostik Grupları.....	20
Tablo 5. Meme Kanserinde Evreye Göre 5 Yıllık Sağkalım Oranları	20
Tablo 6. Tümör Çapı ile Aksiller Lenf Nodu Tutulumu Arasındaki İlişki....	21
Tablo 7. Meme Kanserinde Önerilen Kemoterapi Rejimleri.....	28
Tablo 8. Hastaların Sosyodemografik Özellikleri	47
Tablo 9. Hastaların Klinikopatolojik Özellikleri.....	50
Tablo 10. Hastaların Sağkalım ve Tedavi Bilgileri	52
Tablo 11. TIM-3 İfadelemesinin Tüm Vakalarda Dağılımı	53
Tablo 12. TIM-3 İfadelemesinin Derecelendirmesi ve Skorlaması	55
Tablo 13. Toplam TIM-3 Ekspresyonu ile Klinikopatolojik Verilerin Karşılaştırılması	59
Tablo 14. Tümör ve Stromadaki TIM-3 Ekspresyonu ile Klinikopatolojik Verilerin Karşılaştırılması.....	63
Tablo 15. Tümör ve Stromadaki TIM-3 Ekspresyonunun %5'in Altı ve Üstü Olduğu Durumla Klinikopatolojik Verilerin Karşılaştırılması	64
Tablo 16. Toplam TIM-3 Ekspresyonu ile Tedavi ve Sağkalım Sonuçlarının Karşılaştırılması	67
Tablo 17. Tümör ve Stromadaki TIM-3 Ekspresyonu ile Tedavi ve Sağkalım Sonuçlarının Karşılaştırılması	68
Tablo 18. Tümör ve Stromadaki TIM-3 Ekspresyonunun %5'in Altı ve Üstü Olduğu Durumla Tedavi ve Sağkalım Sonuçlarının Karşılaştırılması	70
Tablo 19. TIM-3 Ekspresyonu ile Sağkalım ve Tümör Evresi Arasında Korelasyon Değerlendirmesi	71

Tablo 20. Tümör İçindeki Lenfositlerde TIM-3 Ekspresyon Yüzdesi ve Skoruyla Sağkalım ve Tümör Evresi Arasında Korelasyon Değerlendirmesi	72
Tablo 21. Tümör Stromasındaki Lenfositlerde TIM-3 Ekspresyon Yüzdesi ve Skoruyla Sağkalım ve Tümör Evresi Arasında Korelasyon Değerlendirmesi	73
Tablo 22. Toplam Sağkalım İçin Univariante Regresyon Analizi.....	78
Tablo 23. Progresyonsuz Sağkalım İçin Univariante Regresyon Analizi.....	78

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Evrelere Göre Hastaların Dağılımı	48
Şekil 2. Aksiller Lenf Nodu Tutulumu ve Histolojik Grade Dağılımı	49
Şekil 3. Hastaların Histolojik Tiplere Göre Dağılımı.....	49
Şekil 4. TIM-3 Ekspresyon Dağılımı.....	54
Şekil 5. TIM-3 Ekspresyon Skoru Dağılımı	55
Şekil 6. TIM-3 Ekspresyonunun Histopatolojik Değerlendirilmesi	56
Şekil 7. Stromal TIM-3 Ekspresyonu ve Hastalık Evresinin Toplam Sağkalımla Korelasyon Grafikleri	74
Şekil 8. Kaplan - Meier Yöntemiyle TIM-3 Ekspresyonu ile Sağkalım İlişkisi Grafiği - 1	76
Şekil 9. Kaplan - Meier Yöntemiyle TIM-3 Ekspresyonu ile Sağkalım İlişkisi Grafiği - 2	77

KISALTMALAR

AJCC	: Amerikan Kanser Ortak Komitesi
ALI	: Anjiyolenfatik invazyon
ASK	: Adenoskuamöz karsinom
CI	: Güven aralığı
CK5/6	: Sitokeratin 5/6
CR	: Tam yanıt
CTLA-4	: Sitotoksik T lenfosit antijeni-4
DKİS	: Duktal karsinoma in situ
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
ER	: Östrojen reseptörü
HER-2	: İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
IFN-gama	: İnterferon gama
İDK	: İnvaziv duktal karsinom
İHK	: İmmünohistokimya
İLK	: İnvaziv lobüler karsinom
KHDAK	: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri
KT	: Kemoterapi
KY	: Kısmi yanıt
LKİS	: Lobüler karsinoma in situ
LN	: Lenf nodu
MHC	: Major histokompatibilite sınıfı
MKC	: Meme koruyucu cerrahi
MRG	: Manyetik rezonans görüntölme
OR	: Odds oranı
OS	: Toplam sağkalım
PD	: Progresif hastalık
PD-1	: Programlanmış ölüm-1

PD-L1	: Programlanmış ölüm ligandı-1
PFS	: Progresyonsuz sağkalım
PR	: Progesteron reseptörü
RT	: Radyoterapi
SD	: Stabil hastalık
SLND	: Sentinel lenf nodu diseksiyonu
TCR	: T hücre reseptörü
TDM-1	: Trastuzumab emtansin
TIM-3	: T hücre immünglobulin ve müsin içeren protein-3
TİL	: Tümörü infiltre eden lenfosit
USG	: Ultrasonografik görüntölme
ÜNMK	: Üçlü negatif meme kanseri

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri, kadın sağlığını tehdit eden en önemli unsurlardan biridir. İnsidansı birçok ülkede çok hızlı bir şekilde artmaktadır (1). Kadın ölüm nedenleri içinde önemli bir oranı meme kanseri oluşturmaktadır (2). Tedavisinde son yıllarda, HER2 reseptörünü hedefleyen ve endokrin yolları düzenleyen hedefe yönelik tedavilerle birlikte büyük gelişme kaydedilmiştir. Buna karşılık üçlü negatif meme kanserinde (östrojen, progesteron ve HER2 reseptörü negatif) hedefe yönelik tedavi için yeterli tedavi alternatifi bulunmamaktadır ve bu kanser türü görece genç kadınları daha çok etkilemekte ve daha kötü prognozlu seyretmektedir (3).

İmmün sistem; tümör hücrelerini tanıyarak ve ortadan kaldırarak kansere karşı hayati bir koruyucu rol oynar (4). Son zamanlarda immün sistem; kanserin gelişim basamaklarında, tümör büyümesinin engellenmesi ve metastaz oluşumunda oynadığı rol nedeniyle dikkatleri üzerine çekmiştir. İmmün sistemin ve immün kontrol noktalarının kanser oluşumunu engelleyici rolleri konusunda ve bunların kanser progresyonunda, prognostik ve prediktif belirteçler olarak kullanılması konusunda tıp camiasında yüksek umutlar bulunmaktadır (3). Onkolojide, immünoterapi araştırmalarının en umut verici ve dikkat çekici kolunu immün kontrol noktalarının blokajı oluşturmaktadır (5). İmmün kontrol noktaları, kontrolsüz bağışıklık reaksiyonlarını ve konak doku hasarını önlemek için; periferik dokularda self toleransı sağlayan ve fizyolojik bağışıklık tepkilerinin

süresini ve genliğini modüle eden T lenfosit modulatorleridir. Ancak kanser hücreleri, immün kontrol noktalarının kontrolünü ele geçirerek T lenfosit inhibisyonuna yol açarlar ve immün sistemden kaçabilirler (6, 7). Sitotoksik T-lenfosit antijeni 4 (CTLA-4), programlanmış ölüm 1 (PD-1), PD ligand 1 (PD-L1), lenfosit aktivasyon geni-3 (LAG-3) ve T hücre immünglobulin ve müsin içeren protein-3 (TIM-3) gibi bu immün kontrol noktalarının monoklonal antikorlarla bloke edilmesi veya immüностimülatör olarak kullanılan bazı ajanlar, bu immün baskılayıcı ortamı değiştirebilir, anti-tümör immünitesini artırabilir ve tümör regresyonunu indükleyebilir (8, 9). İmmün kontrol noktası inhibitörlerinin kullanımı; hedef olarak endojen immün kontrol noktalarını kullanan; meme kanseri de dahil olmak üzere birçok kanserde kalıcı ve etkili tedavi yanıtı elde etmek amacıyla endojen tümör immünitesini artırılmasını amaçlayan, umut verici bir kanser tedavi stratejisidir (10, 11).

T hücre immünglobulin ve müsin içeren protein-3 (TIM-3) interferon gama (IFN- γ) üreten CD4⁺ yardımcı T hücre-1 (Th1) ve CD8⁺ sitotoksik T hücre-1 (Tc1) hücrelerinde ifadelenen bir immün kontrol mekanizması molekülüdür. Ligandı olan, regülatuvar T hücrelerince (Treg) eksprese edilen Galectin-9 ile etkileşerek Th1 hücrelerinin baskılanmasına neden olmaktadır (11).

Üçlü negatif meme kanserinde immün kontrol noktası molekülleri olan PD-1 ve LAG-3 ile ilgili çalışmalar yapılmış ve bu molekülleri hedefleyen tedavilerle kombine olarak başka immün kontrol noktası inhibitörlerinin kullanılmasının tedavi başarısını arttırabileceği belirtilmiştir (12). Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, TIM-3 blokajıyla, PD-1 blokajına benzer bir anti

tümöral aktivite izlenmiştir ve TIM-3 ve PD-1'in birlikte bloke edilmesiyle ise sinerjistik etkiyle çok daha iyi bir anti tümöral aktivite gözlenmiştir (13).

Çalışmada üçlü negatif meme kanserinde, tümörü infiltre eden lenfosit hücrelerinde TIM-3 ifadenmesinin değerlendirilmesi ve bununla hastalığın prognozu, tanı anındaki evresi, diğer patolojik ve immünolojik prognostik özellikleri, tedaviye verilen yanıt ve sağkalım gibi faktörler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amaçlanmaktadır. TIM-3 ifadenmesinin varlığının, üçlü meme kanserli hastalarının tümör dokularında gösterilmesi durumunda, TIM-3 blokajını hedefleyen ajanların ve bu ajanların diğer immün kontrol noktası inhibitörleriyle kombinasyonlarının kullanılmasının; tümör immünitesini arttırıcı, tümör büyümesi ve gelişmesini engelleyici bir etki yaratmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir.

TIM-3 ifadenmesiyle, hastalığın prognozu ve tedaviye yanıt oranları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi; TIM-3'ün prognostik bir faktör olarak kullanılması konusunda ışık tutabilir. Bu çalışmadan elde edilecek sonuçlarla; üçlü negatif meme kanserinde TIM-3 ifadenmesinin, diğer patolojik ve immünolojik özelliklerle karşılaştırılması, bu ifadenmenin hastalığın evresi, prognozu ve tedaviye cevaba etkisinin değerlendirilmesi yapılabilir. Bütün bunların ışında bir immün kontrol noktası olan TIM-3'ü hedef alan tedavilerin geliştirilmesi ve TIM-3 molekülünün üçlü negatif meme kanserinde prognostik bir belirteç olarak kullanılması gündeme gelebilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri

2.1.1. Epidemiyoloji

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Aynı zamanda kadınlarda kansere bağlı ölümlerden de akciğer kanserinin ardından, 2. sırada sorumludur (14). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre 2012’de dünyada 1,6 milyon kişiye meme kanseri tanısı konmuştur ve bu sayı tüm yeni tanı kanserlerin %25’ini oluşturmaktadır(15).

2012 yılında 40 Avrupa ülkesini içerecek şekilde yapılan bir çalışmada meme kanseri tahmini yıllık insidansının yüz binde 94,2 ve mortalite oranının yüz binde 23,1 olduğu görülmüştür (16). Tüm dünyada mortalite oranlarına bakıldığında DSÖ 2012 verilerine göre dünya genelinde 522.000 ölüm görülmüştür (15). Meme kanserlerinin %25’i 50 yaşından önce, yaklaşık %5’i de 35 yaşından önce tanı almaktadır (16).

Ülkemizde de Türkiye Halk Sağlığı Kurumu 2014 yılına ait kanser istatistiklerinde meme kanseri %24,9 oran ile kadınlarda en sık kanserdir. 2014 yılında 17.000 kadın meme kanseri tanısı almıştır. 2014 yılında ülkemizde 3.853 kişide meme kanseri nedeni ile ölüm görülmüş olup kanser nedeni ölümlerde

kadınlarda ilk sırada meme kanseri yer almıştır. Ülkemizde meme kanseri yaş dağılımı incelendiğinde en yüksek insidansın 25-49 yaş aralığında (yaklaşık %35) görüldüğü saptanmıştır. 50-69 yaş aralığında bu oran yaklaşık %25'tir (17).

Meme kanserinin insidansının artmasına rağmen, mortalitesinin gün geçtikçe azalmakta olduğu gözlenmektedir. Bunun en önemli sebebi olarak ise erken tanı yöntemlerinin gelişmesi ve tedavi alternatiflerinin çoğalması gösterilmektedir (18).

2.1.2. Risk Faktörleri

2.1.2.1. Yaş

Meme kanseri insidansı yaşla birlikte artar. Bununla birlikte östrojen reseptörü (ER) pozitif meme kanseri insidansı da yaşla birlikte artmaktadır, ER pozitif meme kanseri menapoz sonrası kadınlarda daha sıklıkla ortaya çıkmaktadır. Bu korelasyonun tam tersi de geçerlidir, genç hastalarda hormon negatif meme kanseri daha sıklıkla görülmektedir (19).

2.1.2.2. Cinsiyet

Kadın cinsiyet meme kanseri için başlıca risk faktörüdür. Kadınlarda erkeklere oranla 100 kat daha fazla görülmektedir (20).

2.1.2.3. Erken Menarş ve Geç Menapoz

Erken menarş hem premenapozal hem postmenapozal kadınlar için risk faktörüdür. Menarştaki 2 yıllık gecikmeyle meme kanseri riskinde %10 düşüş olmaktadır (21).

Menapozun ileri yaşta olması meme kanseri riskini arttırmaktadır. Menapozdaki her 1 yıllık gecikmeyle meme kanseri riski %3 artmaktadır (22).

2.1.2.4. Irk

Meme kanseri beyaz ırkta daha sık görülmektedir (23). Buna karşılık olarak siyah ırkta daha ileri evrelerde saptanmakta ve mortalite oranları daha yüksek olmaktadır, bu durumun sebebi olarak genetik ve biyolojik sebeplerin yanında yaşam tarzı ve sosyokültürel farklılıklar sayılabilir (24, 25).

2.1.2.5. Beden Kitle İndeksi

Menapoz sonrası kadınlarda beden kitle indeksinin yüksekliğinin meme kanseri riskini arttırdığı gösterilmiştir (26, 27). Bu risk artışı, adrenal bezde salgılanan androjenlerin periferik yağ dokusunda östrojene dönüşümü ile açıklanmaktadır (28). Menapoz öncesi kadınlarda ise artmış beden kitle indeksi meme kanseri riskinde bilinmeyen bir sebeple azalmaya neden olmaktadır (29, 30).

2.1.2.6. İlk Doğum Yaşı ve Nulliparite

Erken yaşta termde doğum yapan kadınların ileriki hayatlarında meme kanserine yakalanma riski daha düşüktür (31). 35 yaşından sonra ilk doğumunu yapan kadınların rölatif riski, 20'li yaşların ilk yarısında doğum yapan kadınlara oranla 2,25 ile 3,7 kat arasında yüksek bulunmuştur (32, 33).

En az 1 doğum yapmış kadınların, hayat boyu meme kanserine yakalanma riskleri hiç doğum yapmamış kadınlara oranla daha düşüktür. Ancak bu ilişki zaman bağımlıdır, gebelikten hemen sonraki dönemde meme kanseri riski yüksekken, gebelikten 10 yıl sonra meme kanserine karşı koruyucu etki başlamaktadır (34).

2.1.2.7. Oral Kontraseptif ve Hormon Replasman Tedavisi Kullanımı

Postmenapozal kombine hormon replasman tedavisi ile artmış meme kanseri riski ilişkili bulunmuştur (35, 36). Premenapozal dönemde kullanılan tüm oral kontraseptiflerin de meme kanseri riskini arttırdığı gösterilmiştir (37).

2.1.2.8. Genetik Faktörler

Ailede meme kanseri öyküsü olması gösterilmiş bir risk faktörüdür. Annesinde veya kız kardeşinde meme kanseri öyküsü olan bir kadın, normal popülasyona göre 2 kat risk taşımaktadır (38). Aynı zamanda daha önceden duktal karsinoma in situ veya invaziv meme kanseri tanısı alan kadınlarda karşı memede kanser gelişme riski artmıştır (39).

BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları meme kanseriyle ilişkisi en iyi bilinen genetik faktörlerdir. Bu mutasyonlar otozomal dominant kalıtılır ve tüm meme kanseri vakalarının %5-10'unda kanser oluşumuyla ilişkilidir (40). BRCA1 mutasyonu üçlü negatif yani ER/PR/HER2 negatif meme kanseri vakalarıyla ilişkilendirilmiştir (41).

Nadir vakalarda TP53 ve PTEN mutasyonları da meme kanseri oluşumuyla ilişkilendirilmektedir (42).

2.1.2.9. Benign Meme Hastalıkları ve Artmış Meme Dansitesi

Basit kist veya fibroadenom gibi non-proliferatif meme hastalıkları, meme kanseri açısından hafif risk artışı ile ilişkilendirilmiştir (rölatif risk 1,3) (43). İlginç olarak farklı bir popülasyonda, fibroadenomlu kadınlarda meme kanseri ihtimalinin yaklaşık %35 daha düşük olduğu görülmüştür (44). Atipisiz proliferatif meme hastalıkları (adenozis, intraduktal papillom ve radyal skar gibi) 1,3 ile 1,9 kat arasında artmış relatif risk ile ilişkili bulunmuştur (43, 45). Atipik duktal veya lobüler hiperplazi meme kanseri açısından yüksek riskli lezyonlardır ve meme kanseri riskini 4.3 kat arttırdığı görülmüştür (43, 45). Bu risk artışı atipik lobüler hiperplazide daha fazladır (46).

Mamografi incelemelerinde yoğun meme dokusu tespit edilen kadınların meme kanseri riski, yaşlılarına oranla 4 ile 5 kat arası yüksektir (47, 48).

2.1.2.10. Yaşam Tarzı ve Diyet

Yüksek miktarda alkol alımı, meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir. Günde 3-4 porsiyon alkol içen kadınların, alkol kullanmayanlara kıyasla %32 oranında artmış riskleri vardır (49). Düşük miktarlarda alkol tüketimi (haftada 3-6 porsiyon) çok az bir risk artışı ile ilişkilidir (rölatif risk 1,15) (50).

Tütün kullanımı ile meme kanseri arasındaki ilişki hala belirsizliğini korumaktadır. Bazı araştırmalar erken yaşta sigaraya başlamanın veya uzun süreli kullanımın kadınlarda meme kanseri riskini arttırdığını göstermektedir (51).

Çok sayıda çalışmada, fiziksel aktivitenin meme kanseri riskini azalttığını göstermektedir. Orta seviyeli ve şiddetli fiziksel aktivite ile %10-50 oranında risk azalması görülmüştür (52, 53).

Diyetsel faktörlerden sadece yüksek soya kullanımı ile meme kanseri arasında bir ilişki saptanmıştır. Asya toplumunda soya kullanımı riski azaltırken, batı toplumunda risk artışı görülmüştür (54, 55). Yağ, meyve ve sebze alımı, antioksidan vitaminler (A, C, E ve b-karoten), karbonhidrat alımı, glisemik indeks, süt ürünlerinin alımı ve diğerleri dahil olmak üzere diğer diyet faktörleri incelenmiştir. Gözlemsel çalışmalarda, bu faktörlerin hiçbirisi kesin olarak daha yüksek veya daha düşük meme kanseri riski ile ilişkilendirilmemiştir (56).

2.1.2.11. Radyasyon Maruziyeti

Radyasyona maruz kalma, tıbbi prosedürler dahil olmak üzere bilinen bir meme kanseri risk faktörüdür. 40 yaşından sonra maruz kalan kadınlara kıyasla genç yaşta (20 ya da daha az) maruz kalan kadınlar için daha yüksek risk gözlenmektedir (57, 58).

2.2. Meme Kanseri Patolojik ve Moleküler Sınıflaması

2.2.1. Patolojik Sınıflama

Meme kanserinin birbirlerinden ayrı özellikler gösteren farklı patolojik alt tipleri tanımlanmıştır. Meme kanseri tanısı almış vakaların en az %95’inde histopatolojik alt tip olarak adenokanser saptanmaktadır (59). Karsinomlar arasında en çok görülen alt grup invaziv duktal karsinomdur. İnvaziv epitelyal karsinomlar bunun dışında, invaziv lobüler karsinom, medüller karsinom, müsinöz karsinom, tübüler karsinom ve diğer tipler olarak sınıflandırılmıştır (59). DSÖ 2012 sınıflamasında “invaziv duktal karsinom” olarak bilinen alt grup “özel tipi olmayan invaziv kanser” olarak yeniden isimlendirilmiştir (60). Memede saptanan tümörlerin %1’den azını sarkomlar, diğer bağ doku tümörleri ve metastatik tümörler oluşturmaktadır (61). Non-invaziv tipler ise duktal karsinoma in situ ve lobüler karsinoma in situ olarak adlandırılmıştır (59).

İnvaziv duktal karsinom, yeni adıyla “özel tipi olmayan invaziv kanser” meme malign tümörlerinin %70-85’ini oluşturmaktadır. İnvaziv lobüler karsinom ise %5-20 arasında görülmektedir. Yaklaşık %10’luk kısmı da diğer invaziv epitelyal tipler oluşturmaktadır. Medüller karsinom, müsinöz karsinom, tübüler karsinom gibi özelleşmiş invaziv kanser türlerinin invaziv duktal ve lobüler karsinoma göre daha iyi seyirli olduğu kabul edilmektedir (62). Ailesel meme kanserli vakalarda ve BRCA-1 ve BRCA-2 mutasyonunun olduğu durumlarda

sıklıkla görülen kanser invaziv duktal karsinomdur (63). İnvaziv lobüler karsinom ise en sık görülen ikinci invaziv kanserdir ve sıklıkla hormon reseptörü pozitifliği ile ilişkilidir (59).

Non-invaziv tipler morfolojik yapılarına göre duktal veya lobüler olarak isimlendirilir. Bu isimlendirme köken aldığı yapıları göstermemektedir, ikisi de terminal kanallardan köken alırlar. Duktal karsinoma in situ (DKİS) yeni tanı meme tümörlerinin %20-30'unda izlenir (59, 64). DKİS'in solid, komedo, kribriform, papiller, mikropapiller gibi morfolojik alt tipleri vardır. Tedavisiz bırakıldığında 1/3 oranında invaziv kansere dönüşüm riski vardır, prognozu iyidir. Lobüler karsinoma in situ (LKİS) saptanan vakalarda da 1/3 oranında invaziv kanser gelişim riski vardır ancak DKİS'ten farklı olarak karşı meme için de risk artışı söz konusudur (59). Meme tümörlerinin patolojik sınıflaması Tablo-1'de gösterilmiştir (59-61, 65).

Tablo 1. Meme Kanserinin Patolojik Sınıflaması

Primer Epitelyal Tümörler	
Non-İnvaziv Tümörler	İnvaziv Tümörler
1. Duktal Karsinoma İn Situ (DKİS)	1. İnvaziv Duktal Karsinom (İDK)(özel tipi olmayan invaziv kanser)
2. Lobüler Karsinoma İn Situ (LKİS)	2. İnvaziv Lobüler Karsinom (İLK)
	3. Müsinöz Karsinom
	4. Medüller Karsinom
	5. Papiller Karsinom
	6. Tübüler Karsinom
	7. Adenoid Kistik Karsinom
	8. Apokrin Karsinom
	9. Metaplastik Karsinom
	10. İnflamatuvar Karsinom
Non-Epitelyal ve Metastatik Tümörler	
1. Meme Sarkomu	
2. Malign Filloides Tümörü	
3. Tedavi İlişkili Sarkomlar	
4. Metastatik Tümörler	

2.2.2. Moleküler Sınıflama

Meme kanserinde genetik çalışmalarla belirlenen ve prognoz belirlemede günümüzde önemli yeri olan 4 moleküler alt tip vardır. Bu moleküler alt tipler luminal A, luminal B, HER-2 pozitif ve üçlü negatif meme kanseridir (ÜNMK). Üçlü negatifler de bazal benzeri, klaudin düşük ve normal benzeri gibi alt tiplere ayrılır. Bu moleküler sınıflama da Tablo 2’de daha ayrıntılı olarak gösterilmiştir (66).

Luminal hücreler gibi olgun hücrelerin dediferansiyasyonu ile ortaya çıkan kanserler iyi diferansiyedir ve daha iyi prognoz gösterir (66). Luminal meme kanserleri ER-ilişkili gen ifadenmesi ile karakterizedir. Luminal A tipinde ER ve/veya progesteron reseptörü (PR) pozitif, HER-2 negatif olup proliferasyon indeksi düşüktür. St. Gallen konsensusunda meme kanserinin Luminal A kabul edilmesi için Ki67 proliferasyon indeksinin %14 veya altında olması gerektiği kabul edilmektedir. Luminal B tipi tümörler Ki67 proliferasyon indeksi yüksek (>%14), HER-2 pozitif veya negatif olabilen tümörlerdir. Luminal A’da ER ile ilişkili genler daha fazla eksprese edilirken, Luminal B’de proliferatif genlerin ekspresyonu daha fazladır (67). Prognoz yönünden incelendiğinde; Luminal B tümörlerin lokal kontrol açısından Luminal A ile benzer olduğu görülmüştür ancak sağkalım açısından Luminal A tümörlerden daha kötüdür (68). HER2-pozitif alt tipte HER-2 gen ifadenmesi yüksek oranda bulunur ancak ER ve PR negatif tümörlerdir. Genellikle yüksek dereceli ve Ki67 indeksi yüksek tümörlerdir. Tanı sırasında lenf nodu tutulumu görülme olasılığı yüksektir.

Kemoterapiye ve HER-2 hedefli tedavilere yanıt verirler (69). Bazal benzeri tipte, ER ve PR reseptörü yanı sıra HER-2 ifadenmesi de negatiftir ve prognozları kötüdür. Sitokeratin (CK) 5/6 ve çoğunlukla Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR) pozitif bulunur (68). Klaudin düşük alt tip ise meme kök hücrelerine benzeyen en primitif tümörlerdir. Tipik olarak üçlü negatiftir ve hiçbir diferansiyasyon özelliği olmadan oluşurlar ve kök hücre özellikleri gösterirler. Tedavi yanıtı kötüdür ve tedavi sonrası organizmada tümör kalıntısı olma riski yüksektir (70).

Tablo 2. Meme Kanseri Moleküler Sınıflaması

	Luminal A	Luminal B	HER2 Pozitif	Üçlü Negatif Meme Kanseri		
				Bazal Benzeri	Klaudin Düşük	Normal Benzeri
ER ve/veya PR	(+) Yüksek ER ekspresyonu	(+) Orta ER ekspresyonu	(-)	(-)	(-)	(-)
HER2	(-)	(-/+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Özellik	Düşük Ki 67 ≤ %14, GATA-3 ve CK8/18 yüksek, p53 Mut.%13	Yüksek Ki 67 >%14, p53 mut.%40	HER-2 ve HER- 3 (+), p53 mut. %71	CK5/6 (+), EGFR (+), p53 mut. %80, BRCA mut. sık	Klaudin 3,4,7 ve E-Cadherin düşük, CD44+/CD24- /düşük ve Kök Hücre benzeri	Yağ dokusu belirteçleri Lipoprotein Lipaz, Integrin Alfa 7, p53 Mut. %33
Sıklık	%30	%20	%15-20	%10-25	%5-7	%7

Moleküler alt tiplerin lokal kontrole olan etkisi hakkında çok araştırma yayınlanmamıştır. Nguyen ve ark. meme koruyucu cerrahi (MKC) uygulanmış 793 meme kanserli hastanın moleküler alt tiplerini ER, PR ve HER2 durumuna göre belirlemişler ve ortalama 70 aylık izlem süresinde 5 yıllık kümülatif lokal rekürrens insidansını Luminal A’da %1,8, Luminal B’de %1,5, HER-2 pozitif’te %8,4 ve bazal alt tipte %7,1 olarak saptamışlardır (71). Başka bir çalışmada Luminal A’ya göre değerlendirildiğinde, HER-2 pozitif ve bazal alt tipler artmış lokal rekürrens ile ilişkiliyken, Luminal B ve bazal alt tiplerin uzak metastaz ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Danimarka Meme Kanseri Ortak Grubu lokal nüks ile meme kanseri alt tipi arasındaki ilişkiyi değerlendirmiştir, HER-2 pozitif ve bazal alt tiplerinin lokal nüks oranlarını Luminal A ve B’ye oranla anlamlı ölçüde yüksek bulmuştur (72). Ancak bu çalışmadaki HER-2 pozitif hastaların hiçbiri HER-2 hedefli tedavi almamaktadır. Randomize klinik çalışmalar, HER-2 pozitif olgularda rutin kullanılan trastuzumab’ın lokal nüksü yaklaşık %50 oranında azalttığını göstermiştir (73).

2.3. Meme Kanseri Tanı ve Evreleme

2.3.1. Meme Kanseri Tanı ve Tarama

Meme kanseri genellikle mamografik tarama veya semptom (örneğin ağrı veya memede ele gelen kitle) oluşumu sonrası yapılan tanısal muayene ile teşhis

edilir. Sağlıklı kadınların taranmasıyla, daha küçük ve erken evre, daha düşük metastaz oranlarına sahip, meme koruyucu ve sınırlı aksiller cerrahi için daha elverişli olan ve kemoterapi gerektirme olasılığı daha az olan tümörlerin tespiti sağlanmıştır (74).

Memede ele gelen kitle ile başvuran hastanın muayene sonucu kitle varlığı tespit edildikten sonra görüntüleme yöntemleri ile kitlenin büyüklüğü ve diğer karakteristik özellikleri belirlenir. Görüntüleme yöntemi olarak en sık mamografi olmakla beraber, daha az sıklıkla meme ultrasonografisi (USG), manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kullanılır (75-77).

Mamografi X ışınları kullanılarak yapılan bir görüntüleme yöntemidir. Kitlenin özelliklerine göre malignite olasılığı hakkında yorum yapılabilmektedir. Sınırları spiküler, düzensiz şekilli ve lineer mikrokalsifikasyonları olan lezyonlarda malignite ihtimali yüksektir (77).

Premenapozal ve genç hastalarda meme dansitesi yüksek olduğundan mamografi ile kitlenin tespit edilmesi postmenapozal ve yaşlı hastalara göre daha zordur. Bu nedenle 30 yaş altı hastalarda ve gebelerde görüntüleme yöntemi olarak mamografi yerine öncelikle USG tercih edilmektedir (76, 78). Malign lezyonlarda doppler USG ile artmış kan akımı görülür ve benign kistik lezyonlar malign lezyonlardan USG ile rahatlıkla ayrılır (78). Manyetik rezonans görüntüleme bir başka önemli görüntüleme yöntemidir. Yüksek riskli hastalarda, pre-malign lezyonları göstermede, tedavi yanıtını değerlendirmede, nüks ve metastaz izleminde kullanılabilir (75, 79).

Görüntüleme yöntemleriyle saptanan şüpheli lezyonlarda ve okült lezyonlarda stereotaksik kor iğne biyopsi kesin tanı için kullanılabilir. Kor biyopsinin uygulanamadığı durumlarda cerrahi yöntemler ile eksizyonel veya insizyonel biyopsi yapılabilir (80-82).

Meme kanseri ilişkili mortaliteyi düşürdüğü kanıtlanan tek tarama yöntemi mamografik taramadır (83). Mamografik taramayla, meme kanseri mortalitesinde toplamda %19 azalma tespit edilmiştir. Mortalitedeki azalmanın ileri yaşlarda daha anlamlı olduğu izlenmiştir. Bunun sonucu olarak American Cancer Society (ACS) taramaya başlama yaşının 45 olmasını ve 54 yaşına kadar yıllık sonrasında ise 2 yılda bir önermiştir. Ailede meme kanseri öyküsü ve radyoterapi öyküsü olan hastalarda taramaya 40 yaşından itibaren başlanabileceği belirtilmiştir. Mamografik taramanın da yanlış pozitiflik, radyasyon maruziyeti, ağrı, anksiyete gibi olumsuz etkileri bulunmaktadır. Yanlış pozitiflik oranları yaş ilerledikçe azalmaktadır (84). Bu sebeple başka bir grup olan USPSTF (United States Preventive Services Task Force) önerilerine göre 50-74 yaş aralığında 2 yılda bir mamografi ile tarama önerilmektedir (85). Ülkemizde ise Kanser Daire Başkanlığı tarafından 40-69 yaş aralığında 2 yılda bir mamografi, ayda bir hastanın kendi kendine meme muayenesi yapması, yılda bir klinik meme muayenesi tarama amaçlı önerilmektedir (86).

2.3.2. Meme Kanserinde Evreleme ve Prognostik Faktörler

Diğer kanser türlerinde olduğu gibi meme kanserinde de tanı konulduktan sonra ilk yapılacak olan hastalığın evrelemesidir. Evreleme hem prognostik değerlendirmede hem de tedavi seçiminde en önemli yol göstericidir. En sık kullanılan evreleme sistemi TNM evreleme sistemidir. TNM evreleme sisteminde T tümör büyüklüğünü, N lenf nodu tutulumunu, M metastaz durumunu göstermektedir (87). Tablo 3 ve 4'te Amerikan Kanser Ortak Komitesi (AJCC) tarafından 2017'de güncellenen meme kanseri TNM evreleme sistemi ve anatomik evre prognostik grupları gösterilmiştir (88).

Meme kanserinde klasik prognostik faktörler; evre, aksiller lenf nodu tutulumu, tümör çapı, tümörün histolojik tipi, histolojik grade, lenfovasküler invazyon, deri ve meme başı invazyonudur (89). Yaş da bağımsız prognostik faktördür, genç hastaların prognozu daha kötüdür, en kötü prognoz 30 yaş altı hastalardadır (90). Bilinen en önemli prognostik faktör tümörün evresidir. Evre ile prognoz ilişkisi Tablo-5'te gösterilmiştir (91).

Tablo 3. AJCC 2017 Meme Kanseri TNM Evreleme Sistemi

Primer Tümör (T)	
Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor.
T0	Primer tümörle ilgili kanıt yok.
Tis	Duktal karsinoma in situ
Tis(paget)	İDK ve/veya İLK ile birlikte olmayan meme başı Paget Hastalığı
T1	Tümör en büyük çapı ≤ 20 mm
T1mi	Tümör en büyük çapı ≤ 1 mm
T1a	Tümör en büyük çapı > 1 mm ama ≤ 5 mm (>1 - 1.9 mm'e kadar olan ölçümü 2mm'ye yuvarlayın)
T1b	Tümör en büyük çapı > 5 mm ama ≤ 10 mm
T1c	Tümör en büyük çapı > 10 mm ama ≤ 20 mm
T2	Tümör en büyük çapı > 20 mm ama ≤ 50 mm
T3	Tümör en büyük çapı > 50 mm
T4	Herhangi bir boyutta göğüs duvarı ve/veya cilde invazyon gösteren tümör (ülserasyon veya makroskopik nodüller); sadece dermise invazyon T4 olarak nitelendirilmez.
T4a	Göğüs duvarına invazyon; sadece pektoral kasa invazyon veya yapışma T4 olarak kabul edilmez.
T4b	İnflamatuvar karsinom kriterlerini karşılamayan ülserasyon ve/veya ipsilateral makroskopik uydu nodül ve/veya ödem (peau d'orange dahil)
T4c	T4a ve T4b birlikteliği
T4d	İnflamatuvar karsinom
Klinik Olarak Lenf Nodu Tutulumu (cN)	
cNX	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor.
cN0	Bölgesel lenf nodu tutulumu yok (görüntüleme veya klinik muayene ile).
cN1	İpsilateral aksiller seviye I ve II'de hareketli lenf nodları
cN1mi	Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre, 0.2 mm'den büyük ama 2 mm'den küçük)
cN2	İpsilateral aksiller seviye I ve II'de hareketsiz lenf nodları veya aksiller lenf nodu metastazı olmadan internal mammarian lenf nodlarına metastaz
cN2a	İpsilateral aksiller seviye I ve II lenf nodlarında birbirine veya diğer yapılara yapışık lenf nodları
cN2b	Aksiller lenf nodu metastazı olmadan internal mammarian lenf nodlarına metastaz
cN3	Aksiller seviye I-II lenf nodlarının tutulumu olan veya olmayan ipsilateral infraklavikuler (aksiller seviye III) lenf nodu metastazı; aksiller I ve II lenf nodu tutulumu ile beraber internal mammarian lenf nodu metastazı; aksiller lenf nodu veya internal mammarian lenf nodu tutulumu olan veya olmayan ipsilateral supraklavikuler lenf nodu metastazı
cN3a	İpsilateral infraklavikuler lenf nodu metastazı
cN3b	İntral mammarian ve aksiller lenf nodu metastazı
cN3c	İpsilateral supraklavikuler lenf nodu metastazı
Patolojik Olarak Lenf Nodu Tutulumu (pN)	
pNX	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor.
pN0	Bölgesel lenf nodu tutulumu yok veya sadece izole kanser hücreleri
pN0 (i+)	Bölgesel lenf nodlarında 0,2 mm'i geçmeyen izole kanser hücre kümesi
pN0 (mol+)	Ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyon (RT-PCR) ile pozitif sonuçlar, izole kanser hücresi yok.
pN1	Mikrometastazlar veya 1-3 aksiller lenf nodu metastazı; ve/veya klinik negatif internal mammarian lenf nodunda sentinel lenf nodu örnekleme ile mikro veya makrometastazlar
pN1mi	Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre, 0.2 mm'den büyük ama 2 mm'den küçük)
pN1a	En az 1 metastazın 2 mm'den büyük olduğu 1-3 aksiller lenf nodu metastazı
pN1b	İpsilateral sentinel mammarian lenf nodunda izole kanser hücreleri hariç metastaz
pN1c	pN1a ve pN1b kombinasyonu
pN2	4-9 aksiller lenf nodunda metastaz veya görüntüleme ile aksiller lenf nodu metastazı olmadan görüntüleme ile ipsilateral internal mammarian lenf nodunda metastaz
pN2a	Aksiller 4-9 lenf nodunda metastaz (en azından birinde 2 mm'den büyük tümör varlığı)
pN2b	Patolojik negatif aksiller lenf nodu ile beraber mikroskopik olarak doğrulama ile beraber veya doğrulama olmaksızın klinik internal mammarian lenf nodu tutulumu
pN3	10 ve üzerinde aksiller lenf nodunda metastaz veya infraklavikuler (aksiller seviye III) metastaz veya seviye I ve II'de 1 veya daha fazla aksiller lenf nodu metastaz varlığında pozitif ipsilateral internal mammarian lenf nodları veya 3'den fazla aksiller lenf nodunda ve klinik olarak negatif ipsilateral internal mammarian lenf nodunda sentinel lenf nodu örnekleme ile mikro veya makrometastazlar veya ipsilateral supraklavikuler lenf nodları
pN3a	10 ve üzerinde aksiller lenf nodunda metastaz (en azından birinde 2 mm'den büyük tümör varlığı) veya infraklavikuler (aksiller seviye III) metastaz
pN3b	cN2b varlığında pN1a veya pN2a veya pN1b varlığında pN2a
pN3c	İpsilateral supraklavikuler lenf nodu metastazı
Uzak Metastaz (M)	
M0	Klinik veya radyolojik uzak organ metastazı yok
cM0 (i+)	Metastaz semptom ve işaretleri olmayan hastalarda mikroskopik olarak tespit edilebilen 0,2 mm'den büyük birikim olmadan veya moleküler yöntemlerle kan, kemik iliği veya bölgesel olmayan lenf nodlarında tümör hücreleri varlığında klinik veya radyolojik uzak organ metastazı olmaması
M1	Klinik ve radyolojik uzak organ metastazı (cM) ve/veya 0,2 mm'den büyük histolojik metastaz (pM)

Tablo 4. Anatomik Evre/Prognostik Grupları

Evre	T	N	M
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T0	N1mi	M0
	T1	N1mi	M0
IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
IIIC	Herhangi T	N3	M0
IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

Tablo 5. Meme Kanseri Evreye Göre 5 Yıllık Sağkalım Oranları

Evre	5 Yıllık Sağkalım (%)
0	99
I	92
IIA	82
IIB	65
IIIA	47
IIIB	44
IV	14

Tümör çapı; lenf nodu tutulumu ve hastalığın prognozuyla yakından ilişkilidir. Lenf nodu tutulumu ne olursa olsun, tümör çapı büyüdükçe yaşam süresinin kısaldığı gözlenmiştir. Tümör çapının 2 cm ya da daha küçük olduğu olgularda prognozun belirgin bir şekilde daha iyi olduğu gözlenmiştir. Tümör çapı ile aksiller lenf nodu tutulumu arasındaki ilişkisi Tablo-6'da gösterilmiştir (92).

Tablo 6. Tümör Çapı ile Aksiller Lenf Nodu Tutulumu Arasındaki İlişki

Tümör Çapı (cm)	Lenf Nodu Tutulumu (%)
<0,5 cm	20
0,5-0,9 cm	20
1-1,9 cm	33
2-2,9 cm	45
3-3,9 cm	52
4-4,9 cm	60
>5 cm	70

Meme kanserinde evreyi belirleyen bu sebeple de prognozla yakından ilişkili bir diğer faktör aksiller lenf nodu tutulumudur. Aksiller lenf nodu tutulumu saptanmayan vakalarda, 10 yıllık hastalıksız sağkalım %70-80, aksiller lenf nodu tutulumu varlığında ise %30 olarak gösterilmiştir. Metastatik lenf nodu sayısı arttıkça uzak organ metastazı riski de artar ve prognoz daha kötü olur. Metastatik lenf nodu sayısı kadar, metastatik lenf nodunun çapı, yumuşak dokuya yayılımı da prognozu etkileyen olumsuz faktörlerdir (92, 93).

Tümörün histolojik tipi ve grade de prognozla ilişkilendirilen patolojik faktörlerdir. Modifiye Bloom-Richardson yöntemine göre tümörler grade I ile

grade III arasında olarak derecelendirilir. Grade arttıkça prognoz kötüleşir (92). Histolojik tipler içinde ise tübüler, kribriform, müsinöz, adenoid kistik karsinomlar en iyi prognozluyken; invaziv duktal karsinomlar en kötü prognozla ilişkilidir (89). Lenfovasküler invazyon lenf nodu metastazı varlığı ile ilişkilidir; ayrıca lenf nodu metastazı saptanmayan olgularda kötü prognostik faktör olarak kabul edilmektedir (89, 92).

Hormon reseptörleri; östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) meme kanseri için bağımsız prognostik faktörlerdir (89, 93). Hormonal tedavi için prediktif belirleyici olarak, adjuvan ve metastatik meme tedavisinde önemli yerleri vardır. ER ve PR pozitif tümörler daha iyi prognoza sahiptirler (94).

Moleküler parametreler de prognoz belirlemede kullanılmaktadır. Onkogenler (HER2-neu, EGFR), tümör supresör genler (p53), anjiogenetik faktörler, proteazlar, proliferasyon belirleyicileri (Ki67) gibi pek çok parametre prognostik ve prediktif faktör olarak kullanılmaktadır (95).

EGFR pozitifliği ile rekürrens, aksiller lenf nodu ve uzak metastaz arasında ilişki saptanmıştır (96-98). HER2-neu pozitifliği ise tümör agresifliği ve sistemik kemoterapi yanıtının düşüklüğü ile ilişkilendirilmiştir (99). Bunun yanında hastalıksız sağkalımda kısalma ve metastatik aktivitede artış ile de ilişkisi bulunmuştur (100). Ki67 proliferasyon indeksi tayini, bir tümörün proliferen olan hücre komponentinin belirlenmesinde en önemli yöntemdir ve meme kanserinde histolojik grade ve yaşam süresi ile arasında güçlü ilişki

saptanmıştır (101, 102). Tümör baskılayıcı genlerden p53'ün de prognostik önemi birkaç çalışmada gösterilmiştir. Doku p53 protein seviyesi veya p53 genindeki mutasyon ve delesyonların, lenf nodu tutulumu olan ve olmayan hastalarda, azalmış hastalıksız sağkalım ve toplam sağkalım ile ilişkili olduğu saptanmıştır (103).

Son zamanlarda immüitenin karsinogenezdeki rolü üzerine ilginin artmasıyla da meme kanserinde de immün belirteçlerin prognoz üzerine etkileri çalışılmaya başlanmıştır. Tümörü infiltre eden lenfosit varlığının (TİL) özellikle üçlü negatif meme kanserinde (ÜNMK) genel sağkalımı ve metastazsız sağkalımı arttırdığı, rekürrens oranlarını düşürdüğü gösterilmiştir (104-107). Yine TİL varlığında üçlü negatif meme kanserinin tedaviye yanıt oranlarının arttığı gözlenmiştir (108, 109). İmmün kontrol noktalarının da tedavi hedefi olmanın yanında prognostik belirteç olarak kullanılabileceği çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. PD1-1 ve PD-L1 yolağını prognoz açısından inceleyen bir çalışmada; PD-L1 ekspresyonu ile daha kötü toplam sağkalım izlenmiştir (110). Başka bir çalışmada ise PD-L1 ekspresyonuyla daha iyi hastalıksız ve toplam sağkalım ilişkilendirilmiş, bunun bağımsız bir prognostik faktör olmadığı, yüksek PD-L1 ekspresyonunun daha fazla TIL varlığı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (111).

2.4. Meme Kanserinde Tedavi Yaklaşımları

Meme kanserinde prognozu öngörmeye ve uygun tedavi seçeneklerinin seçiminde temel olarak TNM evrelemesi baz alınır (112). Lenfovasküler yayılım, histolojik grade, hormon reseptör durumu, HER2/neu aşırı ekspresyonu, hasta komorbiditeleri, menopozal durum ve yaş diğer önemli unsurlardır (112-114).

2.4.1. Cerrahi Tedavi

Lokal meme kanserinin tedavisi temel olarak cerrahi müdahale ile başlar. 20. Yüzyılın ilk yarısında meme kanseri tanısı alan kadınlar genellikle radikal mastektomi ile tedavi edilmekteydi. Sonrasında meme koruyucu cerrahi (MKC) yöntemlerinin tanımlanmasıyla mastektomi sıklığı azalmıştır. Lumpektomi ve radyoterapi kombinasyonunun, mastektomiyle eşit sağkalım sonuçları vermesiyle, erken evre meme kanserinde MKC uygulaması yaygınlaşmıştır (115-117).

Meme koruyucu yaklaşım uygulanacak hastada radyoterapi şarttır. Bu yüzden radyoterapi alabilecek hastalara meme koruyucu yöntemler uygulanmalıdır (113). Daha önce ilgili alana radyoterapi almış hastalarda, tümör boyutuna oranla meme boyutu küçük olan hastalarda, multisentrik hastalık ve yaygın kalsifikasyon olanlarda meme koruyucu yaklaşım yerine mastektomi tercih edilir (113, 118). Mastektomi yapılacak hastalarda da güncel yaklaşım

modifiye radikal mastektomi veya basit mastektomidir. Modifiye radikal mastektomide basit mastektomiden farklı olarak aksiller lenf nodu diseksiyonu da yapılmaktadır (119).

2.4.2. Sentinel Lenf Nodu Diseksiyonu ve Aksiller Evreleme

Aksiller lenf nodu metastazının olup olmaması, kür edilebilir meme kanseri için en önemli prognostik faktörlerden biridir. Radikal mastektomi yapılan hastalarda gerçekleştirilen aksiller lenf nodu diseksiyonuyla hastaların patolojik olarak lenf nodu tutulumu belirlenmektedir. Ancak rezeksiyon alanının genişliği ve lenfödem gibi cerrahi sorunların varlığı nedeniyle sentinel lenf nodu diseksiyonu (SLND) alternatif olarak gündeme gelmiştir (120). SLND ile çıkarılan lenf nodunda malignite saptanmazsa %98 oranında lenf nodu tutulumunun olmadığı öngörülebilir ve bu sayede daha geniş bir diseksiyona gerek kalmaz, ancak malign hücre infiltrasyonu görüldüğünde total lenf nodu diseksiyonu yapılmalıdır (121).

2.4.3. Radyoterapi

Tipik olarak tüm meme ışınlanarak yapılan radyoterapi uygulaması, MKC sonrası lokal rekürrensi azaltmak için yapılmaktadır. 10 farklı randomize kontrollü

Çalışma incelendiğinde, MKC sonrası yapılan radyoterapiyle, adjuvan sistematik kemoterapi kullanımından bağımsız olarak, 5 yıllık lokal rekürrens oranlarının kayda değer şekilde düştüğü görölmüştür (122). DKİS olgularında; tümör boyutu küçük, cerrahi sınırı temiz, grade düşükse MKC sonrasında radyoterapi yapılmadan hasta yakın takibe alınabilir (123).

Mastektomi yapılmış kadınlarda eğer lokal rekürrens için tanımlanan yüksek riskler varsa adjuvan radyoterapi tedaviye eklenir (124). 4 veya daha fazla pozitif aksiller nodu olan, T3 tümör çapı olan, pozitif rezeksiyon sınırları olan, lokal ileri ve inflamatuvar karsinomu olan vakalar da mastektomi sonrası radyoterapi ile tedavi edilirler. Radyoterapinin; 1-3 arası pozitif aksiller lenf nodu olan, lenfovasküler invazyonu olan, genç yaştaki, yüksek grade tümörü olan, hormon reseptör negatifliği olan hastalarda da lokal rekürrens riski yüksek olacağı için uygulanması önerilmektedir (125).

2.4.4. Sistemik Tedavi

2.4.4.1. Kemoterapi

Sistemik kemoterapi cerrahi sonrası klinik, cerrahi, patolojik yöntemlerle saptanamayacak kadar küçük metastazların yok edilmesi ve böylece lokal veya sistemik nükslerin engellenmesi amacıyla adjuvan tedavi olarak uygulanabileceği

gibi, cerrahi öncesi lokal ileri tümörlerde veya cerrahi yapılamayan hastalarda da uygulanmaktadır. Yine aynı şekilde meme koruyucu cerrahi uygulanması mümkün olmayan hastalarda neoadjuvan kemoterapiyle meme koruyucu cerrahi olanağı sağlanabilir (126).

DKİS saptanan hastalarda sistemik kemoterapi önerilmemektedir. İnvaziv karsinomu olup lenf nodu negatif gelen hastalarda ise hormon reseptör durumu, HER2 durumu ve tümör boyutuna göre adjuvan kemoterapiye karar verilir. Lenf nodu negatif, hormon pozitif ve HER2 negatif hastada tümör çapı 0.5 cm ve altındaysa hasta sistemik kemoterapi almadan sistemik hormonal tedaviyle izlenebilir (126). Ancak bu hasta grubunda genetik analizlerle hesaplanan rekürrens skoru yüksek hastalarda sistemik kemoterapi verilmesi son yaklaşımlarda gündeme gelmektedir (127). Lenf nodu pozitif, hormon reseptörü pozitif ve HER2 negatif gelen hastalarda da eğer hasta kemoterapiye aday olabilecek bir hastaysa kemoterapi verilmelidir. Yine genetik analizlerle hesaplanan prognozu iyi, 4'ten az metastatik lenf nodu olan N1 hastalarda sadece endokrin tedaviyle takip edilebileceği önerilmektedir (126, 128, 129). Hormon reseptörü negatif ve HER2 pozitif hastalarda ise lenf nodu tutulumu ve tümör çapına bakılmaksızın adjuvan kemoterapi ve HER2'ye yönelik tedavi ajanları verilmelidir.

Lokal ileri ve opere edilemeyen vakalarda neoadjuvan kemoterapi uygulanır, eğer tedavi sonrası hasta opere edilebilir durumdaysa mastektomi veya lumpektomiyle birlikte aksiller evreleme için diseksiyon yapılır, sonrasında yine adjuvan kemoterapi uygulanmaktadır. Yine rekürren hastalıkta ve evre 4

hastalıkta kemoterapi kullanımı hastanın klinik durumu da uygunsa önerilmektedir. Tablo-7’de güncel olarak önerilen adjuvan ve neoadjuvan kemoterapi rejimleri gösterilmiştir (126).

Tablo 7. Meme Kanserinde Önerilen Kemoterapi Rejimleri

HER2 Negatif
Önerilen Rejimler: -Doz yoğun AC (doksorubisin/siklofosfamid), ardından 2 haftada 1 paklitaksel -Doz yoğun AC (doksorubisin/siklofosfamid), ardından haftalık paklitaksel -TC (dosetaksel/siklofosfamid) -ÜNMK’de neoadjuvan olarak verilen taksan, alkilleyici ve antrasiklin içeren rejime rağmen rezidü hastalık: Kapesitabin
Bazı Durumlarda Uygulanabilir Rejimler: -Doz yoğun AC (doksorubisin/siklofosfamid) -CMF (siklofosfamid/methotreksat/fluorourasil) -AC sonrası haftalık paklitaksel
Diğer Önerilen Rejimler: -AC sonrası 3 haftada 1 dosetaksel -EC (epirubisin/siklofosfamid) -TAC (dosetaksel/doksorubisin/siklofosfamid) -ÜNMK’de neoadjuvan olarak haftalık paklitaksel/karboplatin veya dosetaksel/karboplatin
HER2 Pozitif
Önerilen Rejimler: -AC sonrası paklitaksel + trastuzumab -AC sonrası paklitaksel + trastuzumab + pertuzumab -Paklitaksel + trastuzumab -TCH (dosetaksel/karboplatin/trastuzumab) -TCHP (dosetaksel/karboplatin/trastuzumab/pertuzumab)
Bazı Durumlarda Uygulanabilir Rejimler: -Dosetaksel + siklofosfamid + trastuzumab
Diğer Önerilen Rejimler: -AC sonrası dosetaksel + trastuzumab -AC sonrası dosetaksel + trastuzumab + pertuzumab

Sistemik adjuvan kemoterapi seçiminde, birden çok kombinasyon ve tedavi rejimi seçeneği mevcuttur. Tedavinin temelini antrasiklinler ve taksan grubu kemoterapötikler oluşturmaktadır. HER2 negatif hastalıkta doz yoğun AC

(doksorubisin, siklofosfamid) takibinde 2 haftada bir paklitaksel, doz yoğun AC takibinde haftalık paklitaksel veya TC (dosetaksel, siklofosfamid) ilk başta tercih edilen kemoterapi rejimleridir (126). Bunlara ek olarak doz yoğun AC, AC takibinde haftalık paklitaksel, EC (epirubisin, siklofosfamid), TAC (dosetaksel, doksorubisin, siklofosfamid) diğer kullanılabilir rejimlerdir (126).

HER2 pozitif hastalıkta AC takibinde paklitaksel + trastuzumab, AC takibinde paklitaksel + trastuzumab + pertuzumab, TCH (dosetaksel, karboplatin, trastuzumab), TCH + pertuzumab ilk tercih edilecek rejimlerdir. Bunların dışında AC sonrası dosetaksel + trastuzumab, AC sonrası dosetaksel + trastuzumab + pertuzumab, dosetaksel + siklofosfamid + trastuzumab bazı durumlarda tercih edilebilecek diğer rejimlerdir (126).

Doz yoğun AC içeren rejimlerden klasik AC içeren rejimlere oranla daha iyi yanıt elde edilmesi nedeniyle ilk seçenek olarak düşünülmesi önerilmektedir (130). Aynı şekilde antrasiklin içeren rejimlerin, içermeyen rejimlere göre erken evre hastalıkta nüks ve mortalite açısından daha üstün olduğu gösterilmiştir (131).

Bahsi geçen tüm rejimler aynı şekilde cerrahi öncesi neoadjuvan olarak da kullanılabilir. Neoadjuvan tedavi yanıtına göre hastaya meme koruyucu cerrahi yaklaşımların uygunluğu sağlarsa hasta mastektomiden kurtulabilir. Lokal ileri evre olan evre IIIA, IIIB ve IIIC hastalıkta da kemoterapi yanıtı alınırsa hastalara cerrahi tedavi şansı yaratılmış olur (126).

Metastatik hastalıkta veya nüks eden olgularda kemoterapi ajanları, hastanın klinik durumuna göre tek ajanlı rejimler veya kombinasyon rejimleri

olarak uygulanabilir. Tek ajan seçilecekse antrasiklinler, paklitaksel, kapesitabin, gemitabin, vinorelbin, siklofosfamid, sisplatin, karboplatin, epirubisin, olaparib kullanılabilen ilaçlardır. Kombinasyon rejimleri de CAF (siklofosfamid, doksorubisin, fluorourasil), AC, EC, dosetaksel + kapesitabin, gemitabin + karboplatin, paklitaksel + bevacizumab'dır. HER2 pozitif hastalıkta ise öncelikli tercih edilecek rejimler dosetaksel + trastuzumab + pertuzumab, paklitaksel + trastuzumab + pertuzumab'dır (126).

2.4.4.2. Hormonal Tedavi

Hormon reseptörü pozitif yani ER veya PR veya her ikisi pozitif olan erken meme kanserinde adjuvan endokrin tedavi 5-10 yıllık süre boyunca standart olarak uygulanmaktadır. Son yayınlar ER ve PR'deki %1 ve üstündeki boyanmaların pozitif kabul edilmesini önermektedir, hastalığın endokrin sensitivitesi de bu pozitiflik oranıyla doğrudan ilişkilidir. Premenapozal kadınlarda bir selektif östrojen reseptör modülatörü olan tamoksifen endokrin tedavinin temelini oluşturmaktadır (132). Yapılan çalışmalarda 5 yıllık tamoksifen kullanımının, ER pozitif hastalarda tanıdan sonraki 9 yıl içindeki rekürrens oranını ve 15 yıl içindeki mortaliteyi üçte bir oranında azalttığı gösterilmiştir. Bu etkinin, PR durumu, yaş, lenf nodu tutulumu, kemoterapiden bağımsız olduğu belirtilmiştir (133).

Rekürrens riski yüksek olan premenapozal kadınlarda tamoksifenin yanına over süpresyonu sağlamak amacıyla Gonadotropin Salgılatıcı Hormon (GnRH) agonistlerinin eklenmesi, hormonal tedavinin etkinliğini arttırabilmektedir. Ancak bu kombinasyon tedavisine, premenapozal kadınlarda olası yan etkilerinin dikkatli bir şekilde gözden geçirilerek karar verilmesi gerekmektedir (134).

Postmenapozal kadınlarda ise tamoksifenle birlikte aromataz inhibitörleri geçerli tedavi seçenekleri arasındadır. Aromataz inhibitörlerinin rekürrens ve mortalite oranlarını tamoksifene oranla daha çok düşürdüğü ile ilgili yayınlar vardır. Tedavi seçimi hasta bazlı ve yan etkiler göz önünde bulundurularak yapılmalıdır. Tamoksifenle daha yüksek oranda endometrial kanser riski bildirilirken, aromataz inhibitörleri için ise osteoporoz ve kemik fraktürü açısından daha yüksek risk bildirilmiştir (135, 136).

Endokrin tedavinin süresi ise 5 ile 10 yıl arasında değişmektedir. Sürenin 10 yıla uzatılmasıyla özellikle hastalık tanısından sonraki 2. dekatta rekürrens oranları daha düşük olsa da yan etki riski artmaktadır. Endokrin tedavi süresinin 5 yıldan fazla olması planlanan durumlarda fayda ve zarar karşılaştırılması yapılmalı ve hasta yan etkiler açısından yakın takip edilmelidir (137, 138).

2.4.4.3. Hedefe Yönelik Tedaviler

Hedefe yönelik tedavilerden meme kanseri için en yaygını HER-2 reseptörünü hedef alan tedavilerdir. HER-2 hedefli tedavide de en sık kullanılan

ajan trastuzumab'dır. Hedefe yönelik tedaviler diğer kanser türlerinde daha çok metastatik hastalık için gündemde olsa da meme kanserinde trastuzumab metastatik olmayan vakalarda da adjuvan tedavi olarak ilk sıradaki yerini almıştır. Sistemik kemoterapiye trastuzumab'ın eklenmesiyle sağkalımda olumlu gelişmeler kaydedilmiştir (139). Metastatik hastalıkta, yine trastuzumab ilk basamak tedavide yer almaktadır, sistemik kemoterapiye trastuzumab eklenmesiyle mortalitenin azaldığı gösterilmiştir (140).

Trastuzumab'ın en önemli yan etkisi kardiyotoksisitedir. Kardiyak yan etkiler doz bağımsızdır ve geri dönüşlüdür (140). Bu sebeple tedaviye başlamadan önce ve tedavi sırasında rutin ekokardiyografi takibi önerilmektedir (141).

Pertuzumab HER-2 reseptörünü hedefleyen bir başka ajandır, trastuzumab ve sistemik kemoterapi içeren tedavi rejimlerine eklendiğinde hem metastatik hastalıkta hem de opere meme kanserinde sağkalımı arttırmaktadır (142, 143).

Trastuzumab molekülüne mikrotübül inhibitörü olan emtansin eklenmesiyle elde edilen trastuzumab emtansin (TDM-1) kullanılan bir diğer ajandır. Daha önce trastuzumab ve taksan ile tedavi edilmiş ileri evre hastalarda lapatinip ve kapesitabin kombinasyonuna oranla TDM-1'in progresyonsuz sağkalımı arttırdığı görülmüştür (144).

Lapatinip HER-2 resetörü ve EGFR (epidermal büyüme faktör reseptörü) üzerine etkili bir tirozin kinaz inhibitörüdür. Metastatik meme kanserinde progresyonsuz sağkalımı arttırdığı gösterilmiştir (145).

Neratinib hem HER-2 hem de EGFR üzerine etkili bir tirozin kinaz inhibitörüdür. Sistemik kemoterapi ve trastuzumab sonrası verilen neratinib ile 5 yıllık takipte nüks oranının azaldığı izlenmiştir (146).

BRCA1 veya 2 mutasyonu saptanan hastalarda PARP (poli ADP riboz polimeraz) inhibitörü olan olaparib ve talazoparib kullanılabilmektedir. PIK3CA (fosfatidil inositol 3 kinaz katalitik subünte alfa) genindeki mutasyon varlığında fosfatidil inositol 3 kinaz inhibitörü olan alpelisib, fulvestrant ile kombine olarak kullanılabilmektedir (126).

Üçlü negatif meme kanserinde PD-1 ve PD-L1 yolağını bloke eden ajanlar kullanılmaktadır. PD-1 antikoru pembrolizumab ve PD-L1 antikoru atezolizumab üçlü negatif meme kanserinde hedefe yönelik tedavi seçenekleri arasında yer almaktadır (126).

2.5. Üçlü Negatif Meme Kanseri (ÜNMK)

Üçlü negatif meme kanseri ER, PR, ve HER2 ekspresyonu göstermeyen meme karsinomlarını ifade eder ve tüm meme kanseri vakalarının %10-20'sini oluşturmaktadır (147, 148). Histopatolojik özellikleri yüksek dereceli tümörlere benzerlik göstermektedir. Çoğunlukla büyük boyutlu, ekspansil, geniş nekroz alanları içeren, yüksek dereceli, mitotik aktivitesi yüksek tümörler izlenir (149).

ÜNMK'nin büyük çoğunluğu invaziv duktal karsinom alt tipindedir. Bunun dışında invaziv lobüler karsinom, metaplastik karsinom, medüller karsinom, myoepitelyal karsinom, apokrin karsinom, adenoid kistik karsinom, nöroendokrin karsinom da üçlü negatif karsinom özellikleri gösterebilen histolojik alt tiplerdir (148, 150).

ÜNMK diğer meme kanserlerine göre daha genç yaşta kadınlar arasında ortaya çıkmaktadır. Genellikle agresif seyirli tümörlerdir. Medüller, adenoid kistik ve apokrin karsinom alt tipleri görece daha iyi seyir gösterirler (151). Hematojen yolla yayılım yapma eğilimindedirler. Diğer meme tümörlerinden daha sık beyin ve akciğer metastazı yaparlar (152).

ÜNMK tedavisinde hormonal tedavi veya trastuzumab'ın yeri yoktur. Sistemik kemoterapi şu an için tek tedavi seçeneği olarak görülmekle birlikte, henüz karar verilmiş standart bir tedavi rejimi yoktur (153, 154). Sistemik kemoterapiye yanıt alınamayan vakalarda hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. PARP inhibitörleri, EGFR'ye yönelik antikorlar ve immünmodülatör ilaçlar ÜNMK için hedefe yönelik tedavide umut verici ajanlardır (155, 156).

ÜNMK ve bazal benzeri fenotip gösteren meme kanseri olgularında BRCA1 mutasyonunun önemli rol oynadığı düşünülmektedir (157). BRCA1 ve 2 genlerinin DNA bütünlüğü ve genomik stabiliteden sorumlu proteinleri kodladığı bilinmektedir. Bu tümör baskılayıcı proteinler hücre bölünmesi, DNA replikasyon hatalarının kontrolü, DNA tamiri ve apoptozis konusunda kritik öneme sahiptir.

Bu genlerdeki mutasyon; bazal benzeri tümör fenotipi, ER negatifliği, EGFR aşırı ekspresyonu, TP53 mutasyonu, artmış genomik instabilite oluşumuyla ilişkilendirilmektedir (158).

ÜNMK ile bazal benzeri meme kanseri bazı yayınlarda birbirleri yerine kullanılan terimler olsa da bu iki terim aynı anlamlı değildir. ÜNMK sınıflamasına giren kanserlerin büyük bir kısmı bazal benzeri meme kanseri grubunun özelliklerini de taşır. Bu iki grup benzer klinik ve histopatolojik özellikler taşır. Bazal benzeri meme kanseri, hormon reseptörlerinin ve HER2'nin negatif olması, bunun yanında normal meme dokusundaki bazal ve myoepitelyal hücrelerde bulunan genlerin ekspresyonunun izlenmesi ile karakterizedir (154, 159). Üçlü negatif meme tümörlerinin %75'i bazal benzeri fenotipe uymaktadır (148, 160). Bazal benzeri meme tümörlerinin de %90'ı ER,PR ve HER2 negatif tümörlerdir (161). Bazal benzeri fenotipte sitokeratin (CK) 5/6 ve çoğunlukla epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) pozitif bulunur (68).

2.6. İmmüno-Onkoloji ve TIM-3

2.6.1. Kanser İmmünitesi

1900'lü yılların başında, Paul Ehrlich, bağışıklığın koruyucu etkilerinin olmadığı durumlarda, kanserin uzun ömürlü organizmalarda oldukça yaygın

olacağını ortaya atarak immünite ve kanser ilişkisini ilk kez gündeme getirmiştir (162). Kanserın immün kontrolünün anlaşılması için tümör antijenlerinin keşfedilmesi ve immün sistemin yapısının daha iyi aydınlatılması gerekmiştir, bu gelişmeler 50 yıllık bir sürece yayılmıştır (163).

Günümüzde immün sistemin, tümör hücrelerini tanıyıp ortadan kaldırarak, kansere karşı organizmayı korumada hayati bir rol oynadığı kabul edilmektedir (4). Kanser hücreleri, sitotoksik T hücreleri tarafından tanınabilen, çeşitli tümör ilişkili antijenleri eksprese ederler (164). Bununla birlikte, bağışıklık sistemi her zaman bu antijenleri tanıyamaz veya immün yanıt kanseri yok edecek kadar güçlü olmayabilir. Kanser hücreleri ayrıca immün sistemden kaçış mekanizmalarını lehine kullanarak, immün sistemden saklanabilir ve immün sistemin kanseri engelleyici etkileri bu mekanizmalarla etkisiz hale getirilmiş olur (6, 165).

İmmünoterapi, tümörün indüklediği immün disfonksiyonu engelleyip, immün sistemi yeniden düzenleyerek immünitinin kanserle savaşabilecek yeteneklerinin korunmasını sağlayabileceği için kanser tedavisinde umut verici bir yaklaşım olarak görülmektedir (166, 167). Kanser için son zamanlarda immünite temelli terapötik yaklaşımlar şunlardır: terapötik kanser aşılı, sitokinler, bağışıklık adjuvanları, immün kontrol noktası inhibitörleri ve uyarlamalı T hücre terapisi (168, 169). Geçtiğimiz dekatlarda, tümör hücrelerinin immün sistemden kaçış mekanizmalarını anlamak için sarf edilen yoğun çabalarla, bu mekanizmalardan birinin immün sistem hücrelerinin T hücre aktivasyonu için gerekli intrinsik immün kontrol noktalarının mainpülasyonu olduğu anlaşılmıştır (170). Bu bilgilerden yola çıkılarak bu immün kontrol noktalarına etki edecek

ajanlarla anti tümöral etki sağlanmaya çalışılmıştır. İmmün kontrol noktası blokajı ile elde edilen ilk olumlu sağkalıma dair kanıtlar melanoma vakalarında T hücre inaktivasyonundan sorumlu olan immün kontrol noktası molekülü olan CTLA-4 (sitotoksik T lenfosit ilişkili protein- 4) inhibisyonuyla elde edilmiştir. İleri evre melanoma hastalarına verilen anti CTLA-4 antikoru olan ipilimumab tedavisiyle %10-15 oranında uzun süreli yanıt elde edilmiştir (171).

2.6.2. İmmün Kontrol Noktaları

İmmünoterapi araştırmalarında en umut verici ve ilgi çekici yaklaşım immün kontrol noktalarının bloke edilmesidir (172). İmmün kontrol noktaları, T hücre aktivasyon modülatörüdür. Self toleransı sağlayarak ve immün cevabı sınırlandırarak, konak dokularda kontrolsüz immün yanıtla bağlı hasar oluşumunu engeller. Fakat kanser hücreleri immün sistem hücrelerinin intrinsik kontrol noktalarını ele geçirerek T lenfosit aktivasyonunu inhibe ederler ve konak immün sisteminden bu sayede kaçarlar (6). Bu immün kontrol noktalarının bloke edilmesiyle, örneğin CTLA-4, PD-1, PD-L1, LAG-3'ün monoklonal antikorlarla blokajı sonucu immün sistemi uyarmak, immün baskılayıcı ortamı düzenlemek, anti tümör aktiviteyi arttırmak ve tümör gerilemesin indüklemek mümkün olabilir (9, 173).

T hücre aktivasyonu sırasında T hücreleri, üzerlerindeki T hücre reseptörü (TCR) ile majör histokompatibilite kompleksinin (MHC) etkileşimi sonucu antijen sunan hücrelerin üzerindeki antijeni tanır. Antijen tanıma işlemi sırasında, yine T hücrelerinin üstündeki CD28 ile antijen sunan hücrelerin üstünde bulunan B7 molekülleri arasında bir etkileşim olmasına ve bu etkileşim sonucu oluşan aktivasyon sinyallere ihtiyaç duyulur (174, 175). T hücre aktivasyonunun hemen sonrasında yine T hücre üzerinde bulunan CTLA-4, CD28 ile yarışarak B7'ye bağlanır. Bu etkileşimin sonunda CTLA-4 inhibitör sinyaller ileterek T hücrelerinin aktivasyonunu inhibe eder ve immün yanıtı sonlandırır (176, 177).

T hücre fonksiyonunu baskılayan bir başka reseptör PD-1'dir. Antijene maruz kalıp aktive olan T hücre yüzeyinde eksprese edilir. Ligandı olan ve tümör hücrelerinde bulunan PD-L1 ile etkileşerek aktive T hücrelerini baskılayıcı sinyaller üretir (178, 179).

Lenfosit aktivasyon geni-3 (LAG-3) bir diğer tanımlanmış immün kontrol noktasıdır. Aktive olmuş T hücreleri yüzeyinde eksprese edilen immünoglobulin ailesinden bir moleküldür. Bazı epitelyal tümörlerde artmış regülasyonu ile aktive T lenfositlerin fonksiyonlarını ve proliferasyonunu baskılayan sinyaller oluşturur. Bu etkilerini ligandı olan MHC sınıf II moleküllerle bağlanarak oluşturur (180-182).

T hücre immünoglobulin ve musin içeren protein-3 (TIM-3) bir başka immün kontrol noktası molekülü olup immünoglobulin ailesinden bir proteindir. Aktive T lenfosit yüzeyinde eksprese edilen bir reseptördür ve regülatuar T

hücrelerinde bulunan ligandı galectin-9 ile etkileşerek T hücre yanıtının baskılanmasında önemli bir rol oynamaktadır (183, 184).

2.6.3. TIM-3

TIM-3 yaklaşık 10 yıl önce keşfedilen, interferon gama (IFN-gama) üreten CD4⁺ yardımcı T hücreler (Th1) ve CD8⁺ sitotoksik T hücrelerde (Tc1) eksprese olan protein yapıda bir moleküldür (183). Aynı zamanda dendritik hücreler, diğer lenfosit alt tipleri, makrofajlar ve monositlerde de ifadelenmesi görülebilmektedir. Son zamanlarda kanser hücrelerinde bile ekspresyonu gösterilmiştir (185, 186). Başlangıçta bu molekül otoimmünitedeki rolleri açısından araştırılmıştır (183, 187, 188). Ligandı olan ve regülatuvar T hücreleri üzerinde sentezlenen galectin-9'un tanımlanmasıyla fonksiyonu daha iyi anlaşılmış ve T hücre inhibitör reseptörü olduğu açıklığa kavuşmuştur (184). TIM-3 molekülünün Th1 inhibisyonunda çok kritik bir rolü olduğuna inanılmaktadır (188).

Tümörün indüklediği immünsüpresyondaki kritik rolü; solid veya hematolojik maligniteleri olan hayvan modellerinde saptanan baskılanmış ve disfonksiyonel CD8⁺ T hücrelerde artmış TIM-3 ekspresyonunun gösterilmesiyle anlaşılmıştır (189-192). Bu hayvan modellerinde, TIM-3 blokajıyla, PD-1 blokajına benzer bir anti tümör aktivite izlenmiştir (193). TIM-3 ile PD-1 blokajı kombine bir şekilde yapıldığında ise sinerjistik etkiyle çok daha yüksek oranda anti tümör aktivite izlenmiştir (194). İmmün kontrol noktası blokajında

kombinasyon tedavisi řu aşamada ilgi çeken bir seçenek olarak ele alınmaktadır. Bu yolla artmış antijen sunumu, artmış anti tümöral aktivite, birden fazla farklı etki mekanizması yoluyla, tümörün kullandığı immüniteden kaçış mekanizmalarının engellenmesi sağlanmıştır (195-198). Bunun sebebi olarak yapılan çalışmalarda, IFN-gama, interlökin-2 (IL-2), tümör nekrozis faktör (TNF) gibi efektör sitokin üretiminde ve hücre siklusunun ilerlemesi bakımından en defektif hücrelerde TIM-3 ve PD-1 ko-ekspresyonunun varlığı söylenebilir. Bu veriler TIM-3 yolağının ağır disfonksiyonel CD8+ T hücre oluşturma aşamasında PD-1 yolağıyla ortak çalıştığını göstermektedir (192, 194).

TIM-3 molekülü, bazı kanser türlerine sahip hastaların tümör mikro çevresindeki T hücrelerinde bulunmuştur. İleri evre melanomalı hastalarda tümör mikroçevresindeki CD8+ T hücrelerde yaklaşık %30 oranında eksprese edildiği görülmüştür (189). Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) hastalarında tümörü infiltre eden CD8+ T lenfositlerin üçte birinde yine TIM-3 ekspresyonu saptanmıştır (190). Foliküler B hücreli lenfomalı hastalarda da lenf nodundaki CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin üçte birinde TIM-3 ekspresyonu izlenmiştir (191). İnvaziv duktal karsinomlu hastalarda da tümörü infiltre eden sitotoksik T hücrelerinde normal meme dokusuna kıyasla ciddi oranda TIM-3 ekspresyonunda artış saptanmıştır (199). Yeni çeşitli çalışmalarda, servikal kanser (200), gastrik kanser (201), akut myeloid lösemi (192), over kanseri (202) ve glioma (203) gibi çeşitli kanser türlerinde artmış TIM-3 ekspresyonu gösterilmiştir. Yine bu çeşitli kanser türlerinde TIM-3 aşırı ekspresyonu kötü prognozlu hastalıkla ilişkilendirilmiştir (204).

2.6.4. Meme Kanserinde İmmünite

Meme kanseri en az immünojenik kanserlerdendir. Ancak heterojen bir kanser türü olmasından dolayı bazı alt tiplerinde örneğin HER2 pozitif grup ve üçlü negatif meme kanserinde immünitinin etkisi diğer alt tiplerine oranla daha fazladır. Üçlü negatif meme kanseri ve HER2 pozitif grupta tümör stromasında daha fazla tümörü infiltre eden lenfosit (TIL) izlenmektedir. TIL varlığı öncelikle ÜNМК'de olmak üzere diğer meme kanseri tiplerinde güçlü prognostik bir faktördür. Birkaç çalışmada ÜNМК'de artmış TIL ile rölatif olarak azalmış uzak organ nüksü ve ölüm oranları arasında ilişki bulunmuştur (205, 206). Yine yüksek oranda TIL ile daha uzun progresyonsuz sağkalım ve toplam sağkalım ilişkilendirilmiştir (206).

Üçlü negatif meme kanseri ve HER2 pozitif hastalıkta diğer meme kanseri alt tiplerine oranla daha yüksek oranda PD-L1 ekspresyonu izlenmiştir (207, 208). Bağışıklık sisteminin bileşenlerinin karmaşık rollerinin daha ayrıntılı analizleri, üçlü negatif meme kanseri başta olmak üzere tüm refrakter meme kanseri vakaları için tedavi hedeflerini belirlemek ve prognostik, prediktif belirteçleri ortaya çıkarmak için yapılmalıdır (209).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Tasarımı

Tek merkezli, multidisipliner, retrospektif kohort, girişimsel olmayan çalışma olarak tasarlanan bu çalışmada, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda tanı almış, tedavisi ve takibi yapılan patolojik olarak üçlü negatif meme kanseri (ÜNMK) tanısı almış hastaların; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde bulunan cerrahi rezeksiyon veya insizyonel biyopsi yoluyla alınan tanı spesimenlerinin TIM-3 molekülünün immünohistokimyasal (İHK) yolla değerlendirilmesi ve alınan sonuçların hastaların diğer patolojik verileri ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı arşivindeki hasta dosyaların bulunan klinik verileri ile karşılaştırılması planlanmıştır. Hastalara ait patolojik preparatlar parafin bloklu kesitler halinde arşivden temin edilip, İHK yöntemiyle TIM-3 monoklonal antikor ve uygun saptama kitleri kullanılarak hastaların Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda patolojik verileri raporlanacaktır. Bu süreçte hastalara herhangi bir girişimsel işlem, fizik muayene, herhangi bir tetkik yapılmayacaktır.

Çalışma ile ilgili etik kurul onayı Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır. Etik kurul karar tarihi 25.06.2018 ve karar numarası 503'tür.

Çalışmada kullanıla sarf malzemeler, monoklonal antikor TIM-3 (D5D5RTM) XP Rabbit mAb ve deteksiyon kiti Ultraview DAB detection kit için gerekli bütçe 01-2019/02 numaralı proje kapsamında Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından karşılanmıştır.

3.2. Olguların Seçilmesi

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda 2004-2018 yılları arasında patolojik olarak üçlü negatif meme kanseri tanısı almış ve takibine yine aynı bilim dalında devam edilen, patolojik örnekleri Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden temin edilip tanı anındaki preparatları İHK boyamaya uygun olduğu belirlenen 50 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya 18-80 yaş arası hastalar dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil olma kriteri olarak; üçlü negatif meme kanseri tanısı olması, İHK boyamada östrojen ve progesteron resptörünün negatif olması, İHK boyamada HER-2 negatif olması, İHK'de HER-2 2+ saptananlarda ancak floresans in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle amplifikasyon saptanmamış olması, eşlik eden başka bir malignitenin olmaması belirlenmiştir.

Çalışmadan dışlama kriteri olarak; eşlik eden başka malignite varlığı, patoloji preparatlarının uygun olmaması veya preparatlara ulaşılamaması, hastanın ayrıntılı klinik bilgilerini içeren ve takipte kullanılan hasta takip dosyalarına ulaşılamaması veya dosyada eksik verisi olan hastalar, İHK yöntemiyle yapılan boyamada ER veya PR'den herhangi birinin %1 veya daha fazla oranda pozitif olması belirlenmiştir.

3.3. Hasta Verilerinin Toplanması

Hastaların verileri, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı arşivinden, her hastaya ait takip dosyaları ve Gazi Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Gazi Hastanesi'nde kullanılan hastane bilgi yönetim sistemi olan “Nucleus” sisteminden elde edilmiştir. Hastaların tanı anındaki yaşları, tanı tarihi, toplam sağkalımları, progresyonsuz sağkalımları, tanı anındaki menapoz durumları, tanı anındaki evreleri, aldığı tedavileri, tedaviye yanıt durumları, tümörlerin histopatolojik özellikleri gibi veriler toplanarak kaydedilmiştir.

3.4. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

Formalin fikse parafine gömülü dokulardan 4 mikrometre kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lama alındı. Kesitler, ksilen ile deparafinize, etanol serisi ile (%100, 95, 70) rehidrate edildi.

Bu işlemlerden sonra TIM3 ve LAG-3 antikorları için dokuyu antikor bağlamaya hazır hale getirmek amacıyla kesitler Ventana Benchmark Ultraotomatik İmmünohistokimya Boyama cihazında Etilenediamin Tetraasetik Asit" (EDTA) buffer (pH:8,0) içinde 76 dakika bekletildikten sonra TIM3 (1:400, D5D5R TM, tavşan monoklonal, Cell Signaling Technology, Beverly, MA, A.B.D.) antikoruna primer antikor inkübasyonu için 1 saat dokular üzerinde bekletildi. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için "Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-detection kit" kullanıldı.

Ventana marka hematoksilin I ile zıt boyama yapılarak lamalar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutulup entellan kullanılarak kapatıldı.

İmmünohistokimyasal olarak boyanan her biyopsi için 5 büyük büyütme alanı değerlendirildi. Tümörün içindeki ve tümörün dışındaki stromada bulunan inflamatuvar hücrelerin boyanma yüzdeleri tespit edildi. Boyamaların yapılması ve değerlendirilmesi sırasında, patoloji preparatlarını inceleyen patoloğların hastaların klinik durumu hakkında bilgisi olmamıştır.

3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS programının 22. versiyonu kullanılarak yapılacaktır. Tüm parametrelerin sonuçları ortanca (minimum-maksimum) olarak verilecektir. Pearson Ki-kare test kategorik değişkenleri, Mann-Whitney U test niceliksel ölçekli değişkenleri değerlendirmek için kullanılacaktır. Değişkenler arası ilişkilerin nedensellik ilişkisi Lojistik Regresyon analizi ile yapılacaktır. Sağkalım eğrileri Kaplan-Meier metodu ile yapılacaktır ve Log-Rank test ile karşılaştırılacaktır. P değeri 0,05'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilecektir.

4. BULGULAR

4.1. Sosyodemografik ve Klinikopatolojik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 50 hastanın hepsi kadındı. Hastaların tanı anındaki yaşları incelendiğinde ortalanca yaş 52,5 olarak bulundu, en genç hasta 26 yaşında en yaşlı hasta ise 84 yaşındaydı. 13 hasta (%26) tanı anında 40 yaşın altında ve 37 hasta (%74) 40 yaş ve üstündeydi. Tanı anında menapoz durumları incelendiğinde 18 hasta (%36) menapoz öncesi 32 hasta (%64) ise menapozdan sonra tanı almıştı.

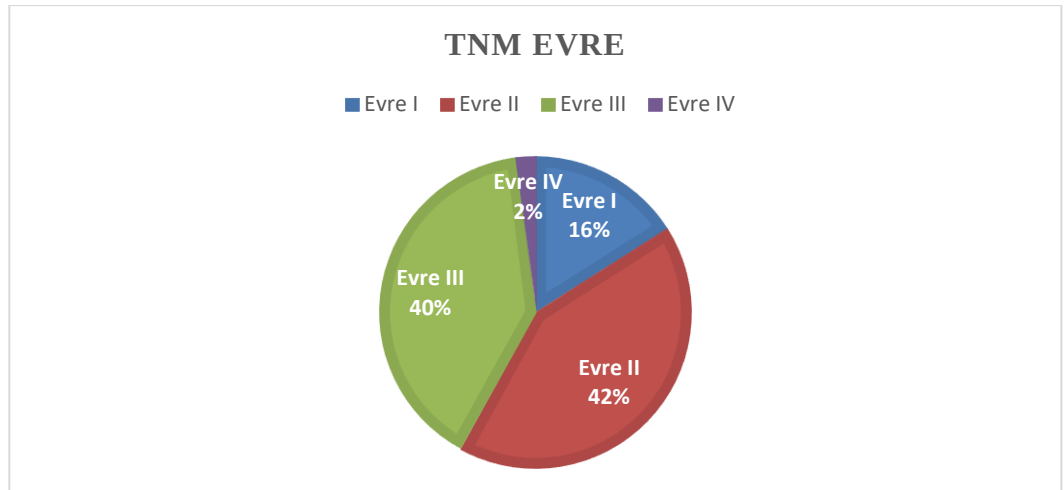
Tablo 8. Hastaların Sosyodemografik Özellikleri

		Ortanca (min-maks)	
Yaş (yıl)		52,5 (26-84)	
		n	%
Yaş Sınıfı (yıl)	<40	13	26
	≥40	37	74
Menapoz Durumu	Premenapozal	18	36
	Postmenopozal	32	64

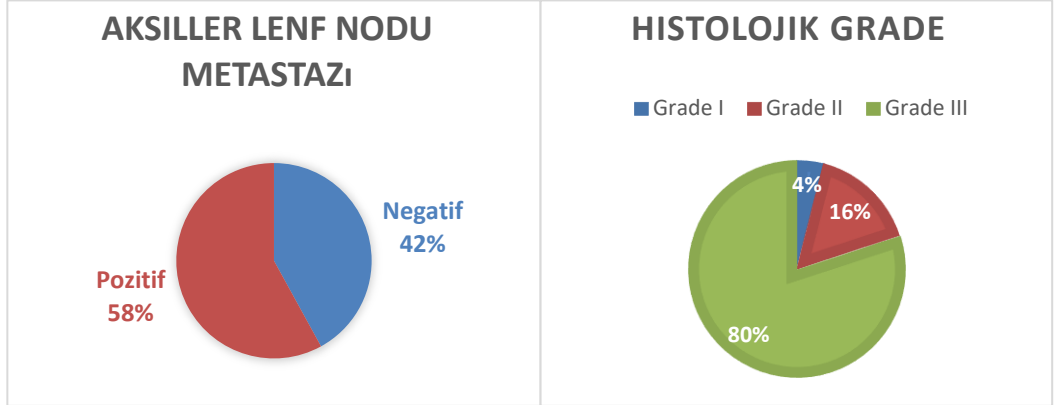
Hastaların histopatolojik özellikleri incelendiğinde 50 hastanın 36'sı (%72) invaziv duktal karsinom histolojik tipindeydi. Medüller karsinom 5 (%10), apokrin karsinom 4 (%8), metaplastik karsinom 3 (%6), adenoskuamöz karsinom 1 (%2), papiller karsinom 1 (%2) hastada tespit edildi.

Modifiye Bloom-Richardson yöntemine göre derecelenen tümörlerin 2'si (%4) grade I, 8'i (%16) grade II, 40'ı (%80) grade III olarak saptandı.

AJCC 2017'ye göre hastalar TNM evrelerine göre sınıflandığında; tanı anında 8 hasta (%16) evre I, 21 hasta (%42) evre II, 20 hasta (%40) evre III, 1 hasta (%2) evre IV olarak bulundu. Evre I ve II erken evre meme kanseri olarak sınıflandığında 29 hasta (%58) erken evre meme kanseriydi. Ortanca primer tümör çapı 2,7 cm olarak hesaplandı, minimum tümör çapı 0,4 cm maksimum tümör çapı ise 9,5 cm'di. T evrelerine göre de hastalar; 9 hasta (%18) pT1, 25 hasta (%50) pT2, 10 hasta (%20) pT3, 6 hasta (%12) pT4 olarak dağılmaktaydı. Hastaların 29'unda (%58) tanı anında aksiller lenf nodu metastazı mevcuttu. 21 hasta (%42) pN0, 13 hasta (%26) pN1, 8 hasta (%16) pN2, 8 hasta (%16) pN3 evresindeydi. Tanı anında 1 hastada (%2) uzak organ metastazı görüldü.

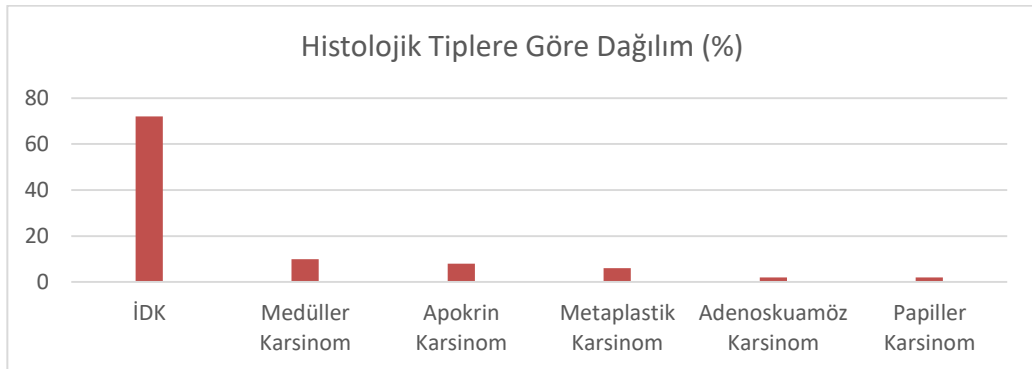


Şekil 1. Evrelere Göre Hastaların Dağılımı



Şekil 2. Aksiller Lenf Nodu Tutulumu ve Histolojik Grade Dağılımı

Ki67 proliferasyon indeksi sonucuna ulaşılan 40 vakanın ortanca Ki67 proliferasyon indeksi %72,5, en düşük %10 ve en yüksek %90 olarak görüldü. 2 hastanın (%5) Ki67 indeksi %20'nin altında iken, 38 hastanın (%95) 20 ve üzerindeydi. Lenfovasküler invazyon açısından değerlendirilen vakaların 31'inde (%62) lenfovasküler invazyon pozitif, 19'unda (%38) negatif bulundu.



Şekil 3. Hastaların Histolojik Tiplere Göre Dağılımı

Tablo 9. Hastaların Klinikopatolojik Özellikleri

		Ortanca (min-maks)	
Tümör çapı (cm)		2,7 (4-95)	
Ki67 indeksi (%)		72,5 (10-90)	
		n	%
T evresi	pT1	9	18
	pT2	25	50
	pT3	10	20
	pT4	6	12
Aksiller LN Tutulumu	Yok	21	42
	Var	29	58
N Evresi	pN0	21	42
	pN1	13	26
	pN2	8	16
	pN3	8	16
N Evre Sınıflaması	N0-1	34	68
	N2-3	16	32
TNM Evresi	I	8	16
	II	21	42
	III	20	40
	IV	1	2
Evre Sınıflama	Erken (I-II)	29	58
	İleri (III-IV)	21	42
Histolojik Grade	I	2	4
	II	8	16
	III	40	80
Ki67 İndeksi	<%20	2	4
	≥%20	38	96
Anjiyolenfatik İnvazyon	Yok	19	38
	Var	31	62
Histolojik Tip	İDK	36	72
	Medüller Karsinom	5	10
	Apokrin Karsinom	4	8
	Metaplastik Karsinom	3	6
	ASK	1	2
	Papiller Karsinom	1	2
CK 5/6 (n=29)	Negatif	9	31
	Pozitif	20	69
EGFR (n=23)	Negatif	12	52,2
	Pozitif	11	47,8

LN: Lenf Nodu İDK: İnvaziv Duktal Karsinom ASK: Adenoskuamöz Karsinom

CK 5/6 pozitifliği açısından değerlendirmeye uygun 29 vakanın 20'si (%69) CK 5/6 pozitif, 9'u (%31) negatif olarak izlendi. EGFR ekspresyonu değerlendirmesine uygun 23 preparattan 11'i (%47,8) pozitif, 12'si (%52,2) negatifti.

Hastaların aldıkları tedaviler karşılaştırıldığında 36 hastaya (%72) adjuvan sistemik kemoterapi uygulandığı görüldü. 12 hastaya (%24) neoadjuvan tedavi verildiği, 2 hastaya (%4) ise hastaların klinik durumlarının kemoterapiye uygun olmaması ve hastalığın erken evre olması nedeniyle tedavi verilmediği izlendi. 36 hastada (%72) radyoterapi uygulanmışken 14 hasta (%28) radyoterapisiz izlenmiştir. En çok kullanılan tedavi rejimi bu hasta grubunda 32 hastayla (%64) AC sonrası haftalık paklitaksel olmuştur. Onu sırasıyla 6 hastayla (%12) AC, 4 hastayla (%8) TAC, 4 hastayla (%8) TC, 2 hastayla (%4) CMF izlemiştir. CMF alan hastalar kardiyak nedenlerle antrasiklinli rejimler alamamıştır.

Nüks veya metastatik hastalık nedeniyle sistemik kemoterapi alan veya neoadjuvan sistemik kemoterapi alan 20 hastanın kemoterapi yanıtları değerlendirilmiştir. Nüks görülen 13 hastanın 11'inin yanıt verisi mevcutken 2'sinin nüksü henüz yakın tarihte olması nedeniyle yanıt değerlendirmesi henüz yapılamamıştır. Nüks saptanan 13 hastanın 3'ü (%23) lokal nüks, 10'u (%77) uzak organ nüksü olarak değerlendirilmiştir. Neoadjuvan tedavi alan 12 hastanın 3'ü ise aynı zamanda nüks veya metastaz nedeniyle de kemoterapi almıştır ve bu hastaların nüks veya metastaz sonrası kemoterapi yanıtları değerlendirilmiştir. Kemoterapi yanıtları bu 20 hastada incelendiğinde 8 hastada (%40) tam yanıt, 3 hastada (%15) kısmi yanıt, 9 hastada (%45) ise ilerleyici hastalık gözlenmiştir. 50

hastanın 9'u (%18) takibi sırasında hayatını kaybetmiştir. Hayatını kaybeden hastaların 7'si nötropeni ve septik şok gelişimi nedeniyle, 1'i akciğer metastazı ve solunum yetmezliği nedeniyle hayatını kaybetmiştir. 1 hastanın ölüm sebebine ulaşamamıştır. Hastaların medyan takip süresi 35,5 aydır. En kısa takip süreli hasta 12 ay, en uzun takip süreli hasta 129 ay takip edilmiştir.

Tablo 10. Hastaların Sağkalım ve Tedavi Bilgileri

		Ortanca (min-maks)	
Toplam Sağkalım (ay)		35,5 (12-129)	
Progresyonsuz Sağkalım (ay)		31 (10-129)	
		n	%
Yaşam Durumu	Yaşıyor	41	82
	Eksitus	9	18
Nüks Durumu	Yok	37	74
	Var	13	26
Nüks Yeri	Lokal	3	6
	Uzak	10	20
Sistemik Tedavi	Yok	2	4
	Adjuvan	36	72
	Neoadjuvan	12	24
KT Rejimi	AC	6	12
	AC-T	32	64
	TAC	4	8
	TC	4	8
	CMF	2	4
	Yok	2	4
Radyoterapi	Uygulanmamış	14	28
	Uygulanmış	36	72
KT Yanıtı (n=20)	CR	8	40
	KY	3	15
	SD	0	0
	PD	9	45

KT: Kemoterapi CR: Tam Yanıt KY: Kısmi Yanıt SD: Stabil Hastalık PD: Progresif Hastalık

4.2. İmmünohistokimyasal Olarak TIM-3 İfadeleme Sonuçları

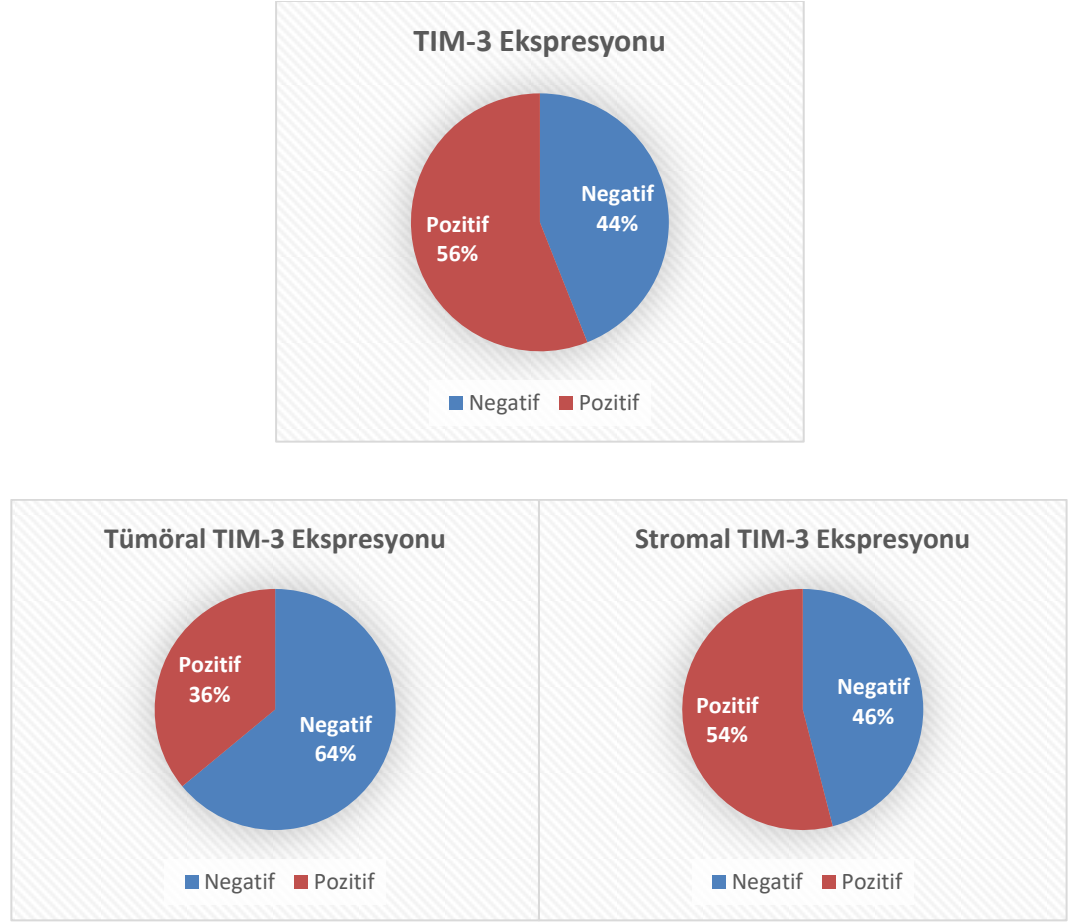
TIM-3 ifadenmesi, tümörü infiltre eden lenfositler (TİL) üzerinde çalışıldı. Tümörü infiltre eden lenfositlerin tümör hücre gruplarının içinde ve tümör stroması içinde olması nedeniyle her iki gruptaki TİL için ayrı ekspresyon değerleri incelendi. TIM-3 pozitifliği için $\geq 1\%$ ekspresyon gösteren vakalar pozitif olarak kabul edildi (210, 211). TIM-3 ekspresyonunu sınıflama ve skorlama için kabul edilen tek bir sistem olmadığı için TIM-3 ekspresyonu için yapılan önceki çalışmalarda kullanılan sınıflama ve skorlama sistemleri kullanıldı. Yüksek TIM-3 ekspresyonu tanımı için sınır 5% olarak kabul edildi. TIM-3 ekspresyon skorlaması için de eşik değerler olarak 5% , 25% ve 50% ekspresyon değerleri kullanıldı (212).

Tablo 11. TIM-3 İfadelemesinin Tüm Vakalarda Dağılımı

	TIM-3 Ekspresyonu (Tümör ve Stromada)		Tümöral TIM-3 Ekspresyonu		Stromal TIM-3 Ekspresyonu	
	n	%	n	%	n	%
Negatif	22	44	32	64	23	46
Pozitif	28	56	18	36	27	54

Tüm vakalar içinde tümör hücre grubu içindeki veya stromadaki TİL üzerinde TIM-3 ekspresyonu pozitif olan 28 vaka (56%) tespit edildi. Tümöral

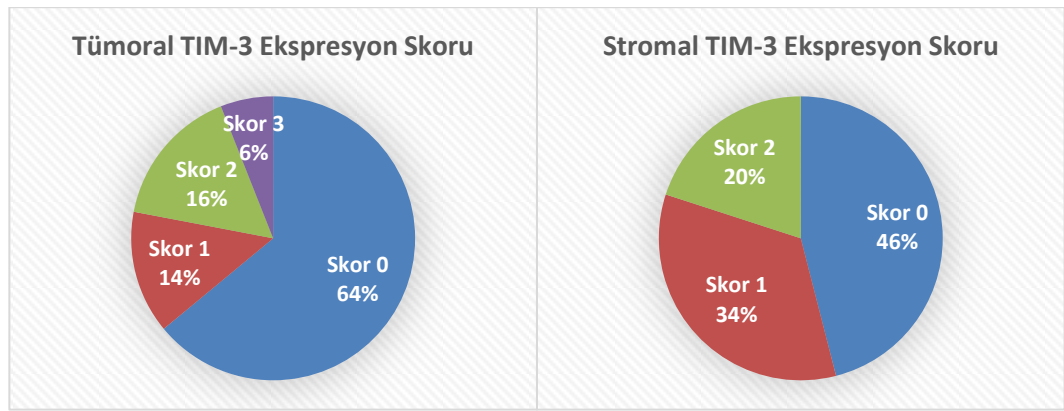
TİL üzerinde TIM-3 ekspresyonu 18 hastada (%36) görüldü. Stromal TİL üzerinde TIM-3 pozitifliği ise 27 vakada (%54) saptandı.



Şekil 4. TIM-3 Ekspresyon Dağılımı

Tümöral TİL üzerindeki TIM-3 ekspresyonu skorlandığında 32 hasta (%64) skor 0, 7 hasta (%14) skor 1, 8 hasta (%16) skor 2, 3 hasta (%6) skor 3 olarak değerlendirildi. Stromal TİL üzerindeki TIM-3 ekspresyonu

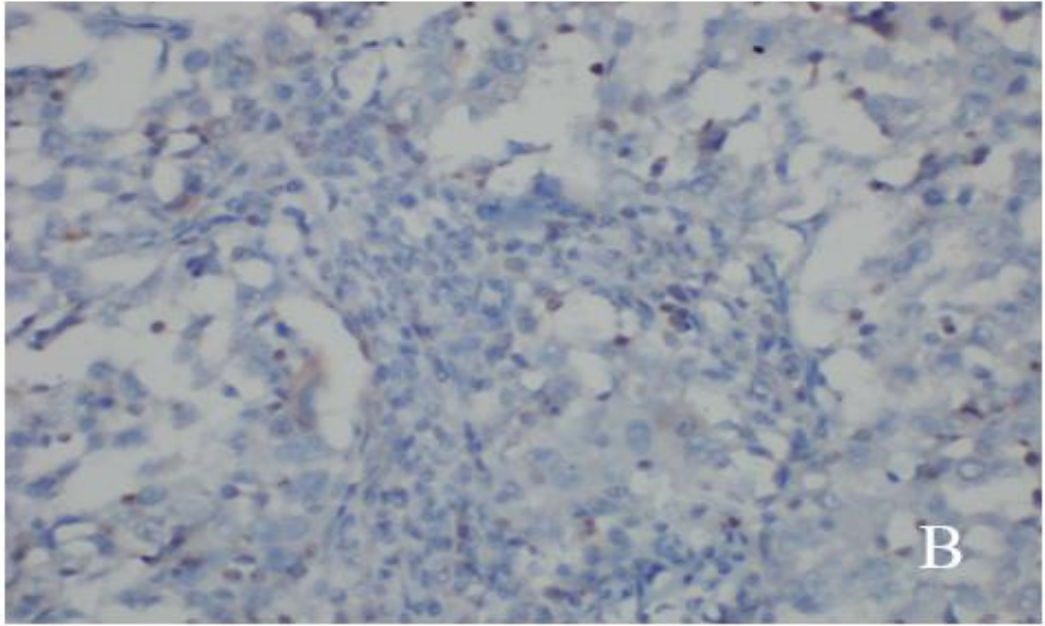
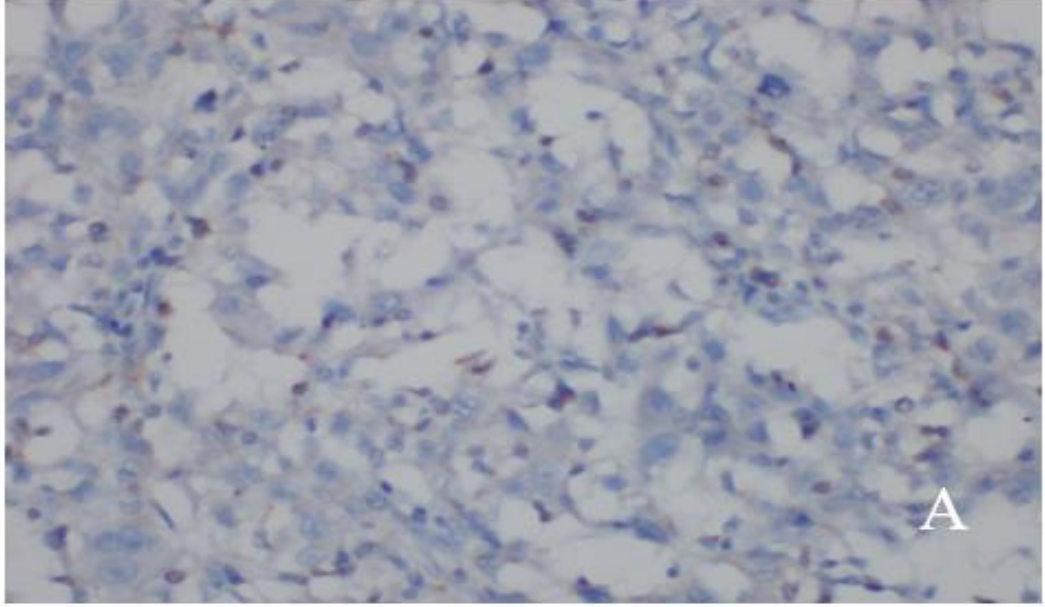
değerlendirildiğinde 23 hasta (%46) skor 0, 17 hasta (%34) skor 1, 10 hasta (%20) skor 2 olarak değerlendirildi. Tümöral TİL üzerindeki TIM-3 ekspresyonu 11 hastada (%22) yüksek ekspresyon olarak kabul edildi. Stromal TİL üzerindeki TIM-3 ekspresyonunda ise yüksek ekspresyon 10 hastada (%20) saptandı.



Şekil 5. TIM-3 Ekspresyon Skoru Dağılımı

Tablo 12. TIM-3 İfadelenmesinin Derecelendirmesi ve Skorlaması

		Tümöral TIM-3		Stromal TIM-3	
Ekspresyon Yüzdesi		%0 (0-40)		%1 (0-20)	
Ortanca (min-maks)					
		n	%	n	%
Ekspresyon Skoru	Skor 0 (<%1)	32	64	23	46
	Skor 1 ($\geq$ %1, <%5)	7	14	17	34
	Skor 2 ($\geq$ %5, <%25)	8	16	10	20
	Skor 3 ($\geq$ %25, <%50)	3	6	0	0
	Skor 4 ($\geq$ %50)	0	0	0	0
Ekspresyon Sınıfı	Düşük (<%5)	39	78	40	80
	Yüksek ($\geq$ %5)	11	22	10	20



Şekil 6. TIM-3 Ekspresyonunun Histopatolojik Değerlendirilmesi

A. Tümöral TIM-3 Ekspresyonu %40 B. Stromal TIM-3 Ekspresyonu %20

4.3. TIM-3 İfadelenmesiyle Hastaların Klinikopatolojik Verilerinin Karşılaştırılması

İmmünohistokimyasal yolla değerlendirilen TIM-3 ifadelenmesiyle her hastanın tanı anı hastalık evresi, tümörün histopatolojik durumu değerlendirildi. Toplam TIM-3 ekspresyon durumu, tümöral TIM-3 ekspresyon durumu, stromal TIM-3 ekspresyon durumu, tümöral TIM-3 ekspresyon sınıfı ($<5\%$ veya $\geq 5\%$), stromal TIM-3 ekspresyon sınıfı ($<5\%$ veya $\geq 5\%$) ayrı olarak hastaların klinikopatolojik verileriyle analiz edildi.

Tümör veya stromada TIM-3 ekspresyonu pozitif olan hastalarla negatif olan hastalar karşılaştırıldığında pozitif hastalarda tanı anında ortalama yaş 51,5 iken negatif hastalarda ise 53 olarak bulundu. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,487$). Hastalar 40 yaş altı ve üstü olarak ayrıldığında da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı dağılım farkı saptanmadı. Aynı şekilde tanı anında menapoz durumu incelendiğinde de premenopozal ve postmenopozal hasta dağılımında anlamlı farklılık görülmedi (sırasıyla $p=0,751$ ve $p=0,957$).

Tümör veya stromadaki TIM-3 ekspresyonu pozitif olan hastalarla negatif olanların tanı anındaki evreleri ve tümör çapı kıyaslandığında, pozitif grupta ortalama tümör çapı 2,5 cm iken, negatif grupta 3 cm olduğu görüldü ($p=0,474$). Tanı anında aksiller lenf nodu metastazı varlığı açısından da TIM-3 ekspresyonu pozitif ve negatif grup arasında anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0,962$). Tanı anı pT

evresi ve pN evresi de TIM-3 pozitifliğinden bağımsız olarak dağılım göstermekteydi (sırasıyla $p=0,586$ ve $p=0,347$). Tanı anında ileri evre ve erken evre olarak ayrılan hastalarda da TIM-3 pozitifliği dağılımında anlamlı bir etki göstermemekteydi, aynı şekilde TNM evresi olarak da dağılımında ilişki bulunamadı (sırasıyla $p=0,775$ ve $p=0,912$).

Toplam TIM-3 ekspresyonunun histopatolojik bulgularla ilişkisi değerlendirildiğinde pozitif grupta ortalama Ki67 indeksi %72,5 iken negatif grupta %70 olarak hesaplandı, aralarında anlamlı ilişki yoktu ($p=0,901$). TIM-3 ekspresyonu ile histolojik grade ve tümörün histolojik tipi arasında anlamlı ilişki bulunamadı (sırasıyla $p=0,692$ ve $p=0,942$). Anjiyolenfatik invazyon durumu, EGFR ve CK 5/6 ekspresyonu açısından TIM-3 ekspresyonuyla anlamlı ilişki bulunamadı (sırasıyla $p=0,774$, $p=0,694$ ve $p=0,414$). Toplam TIM-3 ekspresyonuyla klinikopatolojik verilerin karşılaştırılmasına ait bulgular Tablo-13'te gösterilmiştir.

Tablo 13. Toplam TIM-3 Ekspresyonu ile Klinikopatolojik Verilerin Karşılaştırılması

		TIM-3 Ekspresyonu				
		Negatif		Pozitif		p
		Ortanca (min-maks)				
Yaş (yıl)		53 (26-73)		51,5 (32-84)		0,487
Tümör Çapı (cm)		3,0 (1,0-7,5)		2,5 (0,4-9,5)		0,474
Ki67 İndex (%)		70 (10-90)		72,5 (15-90)		0,901
		n	%	n	%	
Yaş Sınıfı	<40	5	22,7	8	28,6	0,751
	≥40	17	77,3	20	71,4	
Menapoz Durumu	Hayır	8	36,4	10	35,7	0,957
	Evet	14	63,6	18	64,3	
T Evresi	pT1	4	18,2	5	17,9	0,586
	pT2	11	50	14	50	
	pT3	6	27,3	4	14,3	
	pT4	1	4,5	5	17,9	
N Evresi	pN0	9	4,9	12	42,9	0,347
	pN1	4	18,2	9	32,1	
	pN2	4	18,2	4	14,3	
	pN3	5	22,7	3	10,7	
Aksiller LN Tutulumu	Negatif	9	40,9	12	42,9	0,962
	Pozitif	13	59,1	16	57,1	
N Evresi Sınıflaması	N0-1	13	59,1	21	75	0,360
	N2-3	9	40,9	7	25	
TNM Evresi	I	4	18,2	4	14,3	0,912
	II	8	36,4	13	46,4	
	III	10	45,5	10	35,7	
	IV	0	0	1	3,6	
Evre Sınıflaması	Erken	12	54,5	17	60,7	0,775
	İleri	10	45,5	11	39,3	
Histolojik Grade	I	0	0	2	7,1	0,692
	II	6	27,3	2	7,1	
	III	16	72,7	24	85,7	
Ki67 İndexi (n=40)	<%20	1	7,1	1	3,8	0,962
	≥%20	13	92,9	25	96,2	
Histolojik Tip	İDK	16	72,7	20	71,4	0,942
	Medüller	3	13,6	2	7,1	
	Metaplastik	0	0	3	10,7	
	Apokrin	2	9,1	2	7,1	
	Adenoskuamöz	0	0	1	3,6	
	Papiller	1	4,5	0	0	
Anjiyolenfatik İnvazyon	Negatif	9	40,9	10	35,7	0,774
	Pozitif	13	59,1	18	64,3	
CK 5/6 (n=29)	Negatif	4	36,4	5	27,8	0,694
	Pozitif	7	63,6	13	72,2	
EGFR (n=23)	Negatif	7	63,6	5	41,7	0,414
	Pozitif	4	36,4	7	58,3	

LN: Lenf Nodu İDK: İnvaziv Duktal Karsinom

Tümöral lenfositlerde TIM-3 ekspresyonu pozitif olan hastalarla negatif olan hastalar karşılaştırıldığında 40 yaş altı ve üstü hasta dağılımında ve menapoz durumu incelendiğinde premenapozal ve postmenopozal hasta dağılımında anlamlı farklılık görülmedi (sırasıyla $p=0,746$ ve $p=0,540$).

Tümöral lenfositlerde TIM-3 ekspresyonu pozitif olan hastalarla negatif olanların tanı anındaki evreleri ve tümör büyüklüğü kıyaslandığında, pozitif grupta ortalama tümör çapı 2,5 cm iken, negatif grupta 3 cm olarak tespit edildi, iki değişken arasında anlamlı ilişki görülmedi ($p=0,516$). Tanı anında aksiller lenf nodu metastazı varlığı açısından da TIM-3 ekspresyonu pozitif ve negatif grup arasında anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0,551$). Tanı anı pT evresi de tümöral TIM-3 pozitifliğinden bağımsız olarak dağılım göstermekteydi ($p=0,582$). Tümöral TIM-3 ekspresyonu ile pN evresi arasında ilişki bulundu. Negatif hastalarda pN evresi daha ileri bulundu (**$p=0,033$**). Bu farklılık Post-Hoc analizde pN evresi 0 ile 3 ve 1 ile 3 arasındaki ilişkide saptandı (sırasıyla **$p=0,006$ ve $p=0,017$**). pN evresi 0-1 ve 2-3 olanlar iki gruba ayrıldığında tümöral TIM-3 negatif hastaların pN evresi yüksek (N2-3) grupta daha yüksek oranda bulunduğu izlendi (**$p=0,026$**). Tanı anında ileri evre ve erken evre olarak ayrılan hastalarda da tümöral TIM-3 pozitifliği dağılımında anlamlı bir etki göstermemekteydi, aynı şekilde TNM evresi ile tümöral TIM-3 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunamadı (sırasıyla $p=0,388$ ve $p=0,427$).

Tümöral lenfositlerde TIM-3 ekspresyonunun histopatolojik bulgularla ilişkisi değerlendirildiğinde pozitif grupta ortalama Ki67 indeksi %80 iken negatif grupta %60 olarak hesaplandı, aralarında anlamlı ilişki yoktu ($p=0,319$). TIM-3

ekspresyonu ile histolojik grade ve tümörün histolojik tipi arasında anlamlı ilişki bulunamadı (sırasıyla $p=0,187$ ve $p=0,519$). Anjiyolenfatik invazyon durumu, EGFR ve CK 5/6 ekspresyonu açısından tümöral TIM-3 ekspresyonuyla anlamlı ilişki bulunamadı (sırasıyla $p=0,552$, $p=0,905$ ve $p=0,951$).

Tümör stromasındaki lenfositlerde TIM-3 ekspresyonu pozitif olan hastalarla negatif olan hastalar karşılaştırıldığında 40 yaş altı ve üstü hasta dağılımında ve menapoz durumu incelendiğinde premenapozal ve postmenopozal hasta dağılımında anlamlı farklılık görülmedi (sırasıyla $p=0,747$ ve $p=0,930$).

Tümör stromasındaki lenfositlerde TIM-3 ekspresyonu pozitif olan hastalarla negatif olanların tanı anındaki evreleri ve tümör büyüklüğü kıyaslandığında, pozitif grupta ortalama tümör çapı 2,5 cm iken, negatif grupta 3,2 cm olduğu görüldü, iki değişken arasında anlamlı ilişki görülmedi ($p=0,241$). Tanı anında aksiller lenf nodu metastazı varlığı açısından da TIM-3 ekspresyonu pozitif ve negatif grup arasında anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0,770$). Tanı anı pT evresi de stromal TIM-3 pozitifliğinden bağımsız olarak dağılım göstermekteydi ($p=0,955$). Stromal TIM-3 ekspresyonu ile pN evresi arasında ilişki bulunmadı ($p=0,357$). pN evresi 0-1 ve 2-3 olanlar iki gruba ayrıldığında stromal TIM-3 ekspresyonu ile anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,373$). Tanı anında ileri evre ve erken evre olarak ayrılan hastalarla ve TNM evresiyle stromal TIM-3 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla $p=0,567$ ve $p=0,810$).

Stromadaki lenfositlerde TIM-3 ekspresyonunun histopatolojik bulgularla ilişkisi değerlendirildiğinde pozitif grupta ortalama Ki67 indeksi %75 iken negatif grupta %60 olarak hesaplandı, aralarında anlamlı ilişki yoktu ($p=0,599$). TIM-3 ekspresyonu ile histolojik grade ve tümörün histolojik tipi arasında anlamlı ilişki bulunamadı (sırasıyla $p=0,792$ ve $p=0,840$). Anjiyolenfatik invazyon durumu, EGFR ve CK 5/6 ekspresyonu açısından TIM-3 ekspresyonuyla anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,945$, $p=0,694$ ve $p=0,414$). Tümöral ve stromal TIM-3 ekspresyonuyla klinikopatolojik verilerin karşılaştırılmasına ait bulgular Tablo-14'te verilmiştir.

TIM-3 ekspresyon yüzdesi 5'in altında olanlar düşük ve yüzde 5 ve üzerinde olanlar yüksek TIM-3 ekspresyonu olarak sınıflandırılarak klinikopatolojik bulgular kıyaslandı. Yine tümöral ve stromal ekspresyonlar ayrı ayrı değerlendirildi.

Tümör içindeki lenfositlerde TIM-3 ekspresyonu yüksek olan hastalarla düşük olan hastalar karşılaştırıldığında ise tümöral TIM-3 ekspresyon pozitifliği ile N evresi ve N evre sınıfındaki anlamlı farklılık izlenmedi. Vakaların diğer klinikopatolojik verilerinde de tümöral TIM-3 ekspresyonu yüksek ve düşük vakalar arasında anlamlı bir ilişki yoktu.

Tümör stromasındaki lenfositlerde TIM-3 ekspresyonu yüksek olan hastalarla düşük olan hastaların klinikopatolojik özellikleri incelendiğinde iki değişken arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. TIM-3 ekspresyon sınıfı ve klinikopatolojik verilerin karşılaştırılmasına ait bulgular Tablo-15'te verilmiştir.

Tablo 14. Tümör ve Stromadaki TIM-3 Ekspresyonu ile Klinikopatolojik Verilerin Karşılaştırılması

		Tümöral TIM-3 Ekspresyonu			Stromal TIM-3 Ekspresyonu		
		Negatif	Pozitif	p	Negatif	Pozitif	p
		Ortanca (min-maks)			Ortanca (min-maks)		
Yaş (yıl)		52,5 (26-73)	52,5 (34-84)	0,905	53 (26-73)	51 (32-84)	0,349
Tümör Çapı (cm)		3 (0,8-7,5)	2,5 (0,4-9,5)	0,516	3,2 (10-85)	2,5 (0,4-9,5)	0,241
Ki67 İndex (%)		60 (10-90)	80 (20-90)	0,319	60 (10-90)	75 (15-90)	0,599
		n	%	n	%	n	%
Yaş Sınıfı	<40	9	28,1	4	22,2	5	21,7
	≥40	23	71,9	14	77,8	18	78,3
Menapoz Durumu	Hayır	13	40,6	5	27,8	8	34,8
	Evet	19	59,4	13	72,2	10	37
T Evresi	pT1	5	15,6	4	22,2	5	18,5
	pT2	16	50	9	50	14	51,9
	pT3	7	21,9	3	16,7	4	14,8
	pT4	4	12,5	2	11,1	4	14,8
N Evresi	N0	12	37,5	9	50	12	44,4
	N1	6	18,8	7	38,9	8	29,6
	N2	6	18,8	2	11,1	4	14,8
	N3	8	25	0	0	3	11,1
Aksiller LN Tutulumu	Negatif	12	37,5	9	50	12	44,4
	Pozitif	20	62,5	9	50	15	55,6
N Evresi Sınıflama	N0-1	18	56,3	16	88,9	20	74,1
	N2-3	14	43,8	2	11,1	7	25,9
TNM Evresi	I	5	15,6	3	16,7	4	14,8
	II	12	37,5	9	50	8	34,8
	III	14	43,8	6	33,3	9	33,3
	IV	1	3,1	0	0	1	3,7
Evre Sınıflama	Erken	17	53,1	12	66,7	17	63
	İleri	15	46,9	6	33,3	10	37
Histolojik Grade	I	2	6,3	0	0	2	7,4
	II	6	18,8	2	11,1	2	7,4
	III	24	75	16	88,9	23	85,2
Ki67 İndexi (n=40)	<%20	2	9,1	0	0	1	4
	≥%20	20	90,9	18	100	24	96
Histolojik Tip	İDK	23	71,9	13	72,2	19	70,4
	Medüller	3	9,4	2	11,1	2	7,4
	Metaplastik	0	0	3	16,7	3	11,1
	Apokrin	4	12,5	0	0	2	7,4
	ASK	1	3,1	0	0	1	3,7
	Papiller	1	3,1	0	0	0	0
ALİ	Negatif	11	34,4	8	44,4	10	37
	Pozitif	21	65,6	10	55,6	17	63
CK 5/6 (n=29)	Negatif	5	31,3	4	30,8	5	27,8
	Pozitif	11	68,8	9	69,2	13	72,2
EGFR (n=23)	Negatif	8	53,3	4	50	5	41,7
	Pozitif	7	46,7	4	50	7	58,3

LN: Lenf Nodu ALİ: Anjiyolenfatik İnvazyon İDK: İnvaziv Duktal Karsinom ASK: Adenoskuamöz Karsinom

Tablo 15. Tümör ve Stromadaki TIM-3 Ekspresyonunun %5'in Altı ve Üstü Olduğu Durumla Klinikopatolojik Verilerin Karşılaştırılması

		Tümöral TIM-3 Sınıfı			Stromal TIM-3 Sınıfı		
		<%5	≥%5	p	<%5	≥%5	p
		Ortanca (min-maks)			Ortanca (min-maks)		
Yaş (yıl)		52 (26-73)	53 (34-84)	0,760	52 (26-84)	53,5 (35-69)	0,602
Tümör Çapı (cm)		2,5 (4-8,5)	3 (5-9,5)	0,903	2,7 (0,4-8,5)	2,8 (0,5-9,5)	0,971
Ki67 İndex (%)		60 (10-90)	80 (20-90)	0,450	72,5 (10-90)	70 (15-90)	0,962
		n	%	n	%	n	%
Yaş Sınıfı	<40	11	28,2	2	18,2	12	30
	≥40	28	71,8	9	81,8	28	70
Menapoz Durumu	Hayır	15	38,5	3	27,3	16	40
	Evet	24	61,5	8	72,7	24	60
T Evresi	pT1	7	17,9	2	18,2	7	17,5
	pT2	20	51,3	5	45,5	19	47,5
	pT3	7	17,9	3	27,3	9	22,5
	pT4	5	12,8	1	9,1	5	12,5
N Evresi	pN0	16	41	5	45,5	16	40
	pN1	9	23,1	4	36,4	9	22,5
	pN2	6	15,4	2	18,2	7	17,5
	pN3	8	20,5	0	0	8	20
Aksiller LN Tutulumu	Negatif	16	41	5	45,5	16	40
	Pozitif	23	59	6	54,5	24	60
N Evresi Sınıflama	N0-1	25	64,1	9	81,8	25	62,5
	N2-3	14	35,9	2	18,2	15	37,5
TNM Evresi	I	6	15,4	2	18,2	6	15
	II	17	43,6	4	36,4	16	40
	III	15	38,5	5	45,5	17	42,5
	IV	1	2,6	0	0	1	2,5
Evre Sınıflama	Erken	23	59	6	54,4	22	55
	İleri	16	41	5	45,5	18	45
Histolojik Grade	I	2	5,1	0	0	2	5
	II	7	17,9	1	9,1	7	17,5
	III	30	76,9	10	90,9	31	77,5
Ki67 İndexi (n=40)	<%20	2	6,9	0	0	1	3,3
	≥%20	27	93,1	11	100	29	96,7
Histolojik Tip	İDK	28	71,8	8	72,7	29	72,5
	Medüller	4	10,3	1	9,1	5	12,5
	Metaplastik	1	2,6	2	18,2	1	2,5
	Apokrin	4	10,3	0	0	3	7,5
	ASK	1	2,6	0	0	1	2,5
	Papiller	1	2,6	0	0	1	2,5
ALİ	Negatif	13	33,3	6	54,5	14	35
	Pozitif	26	66,7	5	45,5	26	65
CK 5/6 (n=29)	Negatif	6	28,6	3	37,5	6	26,1
	Pozitif	15	71,4	5	62,5	17	73,9
EGFR (n=23)	Negatif	11	61,1	1	20	11	61,1
	Pozitif	7	38,9	4	80	7	38,9

LN: Lenf Nodu ALİ: Anjiyolenfatik İnvazyon İDK: İnvaziv Duktal Karsinom ASK: Adenoskuamöz Karsinom

4.4. TIM-3 İfadelenmesiyle Tedavi ve Sağkalım Sonuçlarının Karşılaştırılması

Çalışmaya dahil edilen hastaların tedavi sonuçları ve sağkalım verileri, toplam TIM-3 ekspresyonu, tümöral TIM-3 ekspresyonu ve stromal TIM-3 ekspresyonu ile ayrı ayrı olarak değerlendirildi.

Toplam TIM-3 ekspresyonu pozitif hastalarda ortalama progresyonsuz sağkalım (PFS) 29 ay iken negatif grupta 43 ay olarak hesaplandı. Pozitif olan vakalarda PFS daha kısa gözükmeyle birlikte bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,190$).

Toplam sağkalım (OS) değerlendirmesinde ise toplam TIM-3 ekspresyonu pozitif vakalarda ortalama OS 30 ay iken negatiflerde ortalama OS 43,5 ay olarak görüldü. Pozitif vakalarda OS daha kısa izlenmekle beraber bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı olmaya eğilimliydi ($p=0,082$). Bu çalışmadaki hasta sayısının kısıtlı olması nedeniyle istatistiksel anlamlılık yakalanamamış olsa da daha büyük hasta gruplarında anlamlı olabileceği düşünüldü.

Toplam TIM-3 ekspresyonu pozitifliği ile kemoterapi yanıtı arasında anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,532$). Yine TIM-3 pozitifliği ile nüks veya metastaz durumu ile anlamlı ilişki yoktu ($p=0,197$). Toplam TIM-3 ekspresyonuyla tedavi ve sağkalım sonuçlarının karşılaştırılmasına ait bulgular Tablo-16'da verilmiştir.

Tümöral TIM-3 pozitif hastalarda ortalama toplam sağkalım 30 ay ve negatif hastalarda 39 ay olarak görüldü, istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,649$).

Tümöral TIM-3 pozitif hastalarda kemoterapi yanıtın daha iyi olduğu izlendi. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı olmaya eğilimliydi (**$p=0,080$**). Tümöral TIM-3 pozitifliği ile nüks veya metastaz durumu ile anlamlı ilişki yoktu ($p=0,328$).

Stromal TIM-3 ekspresyonu pozitif vakalarda ortalama progresyonsuz sağkalım 30 ay iken negatiflerde 41 ay olarak hesaplandı. Pozitif grupta progresyonsuz sağkalım daha kısa görünmesine rağmen bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,316$).

Stromal TIM-3 ekspresyonu pozitif hastalarda ortalama toplam sağkalım 30 ay, negatif hastalarda ortalama toplam sağkalım 42 ay olarak hesaplandı. Pozitif grupta OS daha kısa olsa da bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,106$).

Stromal TIM-3 pozitifliği ile kemoterapi yanıtı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,638$). Yine stromal TIM-3 ekspresyonu ile nüks veya metastaz varlığı arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,215$). Tümöral ve stromal TIM-3 ekspresyonu ile tedavi ve sağkalım sonuçlarının karşılaştırılmasına ait bulgular Tablo-17’de verilmiştir.

Tablo 16. Toplam TIM-3 Ekspresyonu ile Tedavi ve Sağkalım Sonuçlarının Karşılaştırılması

TIM-3 Ekspresyonu						
		Negatif		Pozitif		p
		Ortanca (min-maks)				
Progresyonsuz Sağkalım (ay)		43 (12-129)		29 (10-111)		0,190
Toplam Sağkalım (ay)		43,5 (13-129)		30 (12-118)		0,082
		n	%	n	%	
KT Yanıtı (n=20)	PD	5	50	4	40	0,532
	SD	0	0	0	0	
	KY	2	20	1	10	
	CR	3	30	5	50	
Sistemik Tedavi	Yok	1	4,5	1	3,6	0,618
	Adjuvan	16	72,7	20	71,4	
	Neoadjuvan	5	22,7	7	25	
RT Uygulaması	Yok	8	36,4	6	21,4	0,343
	Var	14	63,6	22	78,6	
Nüks Hastalık	Yok	14	63,6	23	82,1	0,197
	Var	8	36,4	5	17,9	
Nüks Yeri	Lokal	2	25	1	20	0,910
	Uzak	6	75	4	80	
Yaşam Durumu	Yaşıyor	16	72,7	25	89,3	0,157
	Eksitus	6	27,3	3	10,7	

KT: Kemoterapi RT: Radyoterapi PD: Progresif Hastalık SD: Stabil Hastalık KY: Kısmi Yanıt CR: Tam Yanıt

TIM-3 ekspresyonu yüzde 5'in altında olanlar düşük, yüzde 5 ve üstünde olanlar yüksek TIM-3 ekspresyonu olarak sınıflandırılarak sağkalım ve tedavi sonuçları incelendi. Tümöral TIM-3 ekspresyonu yüksek olan hastaların ortanca progresyonsuz sağkalımları 27 ay iken, düşük hastaların 36 olarak hesaplandı. Yüksek TIM-3 ekspresyonu olan hastalar progresyonsuz sağkalım süresi daha kısa izlenmekle beraber bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,223).

Tablo 17. Tümör ve Stromadaki TIM-3 Ekspresyonu ile Tedavi ve Sağkalım Sonuçlarının Karşılaştırılması

		Tümöral TIM-3 Ekspresyonu			Stromal TIM-3 Ekspresyonu		
		Negatif	Pozitif	p	Negatif	Pozitif	p
		Ortanca (min-maks)			Ortanca (min-maks)		
PFS (ay)		35 (11-129)	30 (10-111)	0,879	41 (12-129)	30 (10-111)	0,216
OS (ay)		39 (12-129)	30 (14-118)	0,649	42 (13-129)	30 (12-118)	0,106
KT Yanıtı (n=20)	PD	n 8	% 57,1	0,080	n 5	% 45,5	0,638
	SD	0	0		0	0	
	KY	2	14,3		3	27,3	
	CR	4	28,6		3	27,3	
Sistemik Tedavi	Yok	n 1	% 3,1	0,721	n 1	% 3,7	0,819
	Adjuvan	23	71,9		16	69,6	
	Neoadjuvan	8	25		6	26,1	
RT Uygulaması	Yok	n 11	% 34,4	0,211	n 8	% 34,8	0,361
	Var	21	65,6		15	65,2	
Nüks Hastalık	Yok	n 22	% 68,8	0,328	n 15	% 65,2	0,215
	Var	10	31,3		8	34,8	
Nüks Yeri (n=13)	Lokal	n 2	% 20	0,912	n 2	% 25	0,960
	Uzak	8	80		6	75	
Yaşam Durumu	Yaşıyor	n 25	% 78,1	0,450	n 17	% 73,9	0,270
	Eksitus	7	21,9		6	26,1	

PFS: Progresyonsuz Sağkalım OS: Toplam Sağkalım KT: Kemoterapi RT: Radyoterapi PD: Progresif Hastalık SD: Stabil Hastalık KY: Kısmi Yanıt CR: Tam Yanıt

Tümöral TIM-3 ekspresyonu yüksek hastalarda ortanca toplam sağkalım 27 ay iken, düşük hastalarda 40 ay olarak hesaplandı. Yüksek hasta grubunda toplam sağkalım daha kısa izlendi, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı olmaya eğilimliydi (**p=0,090**).

Tümöral TIM-3 yüksek ve düşük hasta grubu arasında, kemoterapi yanıtı ve nüks hastalık gelişimi arasında anlamlı bir dağılım farkı saptanmadı (sırasıyla p=0,512 ve p=0,704).

Stromal TIM-3 ekspresyonu yüksek hastaların ortalama progresyonsuz sağkalımı (PFS) 25 ay, düşük hastaların 39 ay bulundu. Yüksek hastalarda progresyonsuz sağkalım daha kısa izlenmekle birlikte bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,120$).

Stromal TIM-3 ekspresyonu yüksek hastalarda ortalama toplam sağkalım (OS) 26,5 ay iken düşük hastalarda 41 ay olarak hesaplandı. Yüksek ekspresyon ile daha kısa toplam sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkili bulundu ($p=0,044$).

Stromal TIM-3 ekspresyonu sınıfı ile kemoterapi yanıtı ve nüks durumu açısından dağılımda anlamlı bir farklılık izlenmedi (sırasıyla $p=0,920$ ve $p=0,975$). Tümöral ve stromal TIM-3 ekspresyon sınıflaması ile tedavi ve sağkalım sonuçlarının karşılaştırılmasına ait bulgular Tablo-18’de verilmiştir.

Korelasyon analizinde toplam TIM-3 ekspresyonu, tümöral ve stromal TIM-3 ekspresyonunun her biri ile toplam sağkalım (OS), progresyonsuz sağkalım (PFS) arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Yapılan analizlerde tümör çapı, T evresi ve TNM evresi ile hem toplam sağkalım (OS) hem progresyonsuz sağkalım (PFS) negatif korelasyon gösterirken, N evresi progresyonsuz sağkalım ile negatif korelasyon göstermektedir. TIM-3 ekspresyon durumu ve sağkalım verileri arasındaki korelasyon analizi Tablo-19’da gösterilmiştir.

Tablo 18. Tümör ve Stromadaki TIM-3 Ekspresyonunun %5'in Altı ve Üstü Olduğu Durumla Tedavi ve Sağkalım Sonuçlarının Karşılaştırılması

		Tümöral TIM-3 Sınıfı			Stromal TIM-3 Sınıfı		
		<%5	≥%5	p	<%5	≥%5	p
		Ortanca (min-maks)			Ortanca (min-maks)		
PFS (ay)		36 (11-129)	27 (10-43)	0,223	39 (11-129)	25 (10-43)	0,120
OS (ay)		40 (12-129)	27 (14-43)	0,090	41 (12-129)	26,5 (14-43)	0,044
		n	%	n	%	n	%
KT Yanıtı (n=20)	PD	8	47,1	1	33,3	8	44,4
	SD	0	0	0	0	0	0
	KY	3	17,6	0	0	3	16,7
	CR	6	35,3	2	66,7	7	38,9
Sistemik Tedavi	Yok	1	2,6	1	9,1	2	5
	Adjuvan	28	71,8	8	72,7	27	67,5
	Neoadjuvan	10	25,6	2	18,2	11	27,5
RT Uygulaması	Yok	11	28,2	3	27,3	11	27,5
	Var	28	71,8	8	72,7	29	72,5
Nüks Hastalık	Yok	28	71,8	9	81,8	29	72,5
	Var	11	28,2	2	18,2	11	27,5
Nüks Yeri (n=13)	Lokal	3	27,3	0	0	3	27,3
	Uzak	8	72,7	2	100	8	72,7
Yaşam Durumu	Yaşıyor	32	82,1	9	81,8	32	80
	Eksitus	7	17,9	2	18,2	8	20

PFS: Progresyonsuz Sağkalım OS: Toplam Sağkalım KT: Kemoterapi RT: Radyoterapi PD: Progresif Hastalık SD: Stabil Hastalık KY: Kısmi Yanıt CR: Tam Yanıt

Tümöral TIM-3 ekspresyon yüzdesi, sınıfı (düşük <%5, yüksek ≥%5), skoru ile toplam sağkalım (OS) ve progresyonsuz sağkalım (PFS) arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Tümöral TIM-3 ekspresyon yüzde, sınıf ve skoru ile sağkalım verileri arasındaki korelasyon analizi Tablo-20'de gösterilmiştir.

Stromal TIM-3 ekspresyon yüzdesi, sınıfı (düşük <%5, yüksek ≥%5), skoru ile toplam sağkalım (OS) arasında negatif korelasyon saptandı. Stromal TIM-3 ekspresyon yüzdesi ve skorunun artması; stromal TIM-3 ekspresyonunun yüksek olması (≥%5) daha kısa toplam sağkalım ile korelasyon göstermektedir.

Aynı korelasyon progresyonsuz sağkalımda (PFS) izlenmedi. Stromal TIM-3 ekspresyon yüzde, sınıf ve skoru ile sağkalım verileri arasındaki korelasyon analizi Tablo-21’de gösterilmiştir.

Tablo 19. TIM-3 Ekspresyonu ile Sağkalım ve Tümör Evresi Arasında Korelasyon Değerlendirmesi

	TIM-3 Eksp. (-/+)	Tümör TIM-3 Eksp. (-/+)	Stroma TIM-3 Eksp. (-/+)	Tümör Çapı	T Evresi	N Evresi	TNM Evresi	PFS	OS
Korelasyon Katsayısı (r)									
TIM-3 Eksp. (-/+)	1,000	,665**	,960**	-0,102	0,044	-0,107	-0,012	-0,187	-0,249
Tümör TIM-3 Eksp. (-/+)		1,000	,609**	-0,093	-0,086	-0,265	-0,117	0,022	-0,065
Stroma TIM-3 Eksp. (-/+)			1,000	-0,168	-0,022	-0,114	-0,054	-0,177	-0,231
Tümör Çapı				1,000	,757**	,606**	,728**	<u>-,367**</u>	<u>-,334**</u>
T Evresi					1,000	,678**	,875**	<u>-,448**</u>	<u>-,373**</u>
N Evresi						1,000	,836**	<u>-,310*</u>	-0,193
TNM Evresi							1,000	<u>-,344*</u>	<u>-,284*</u>
PFS								1,000	,932**
OS									1,000

* p<0.05 **p<0.01

Tablo 20. Tümör İçindeki Lenfositlerde TIM-3 Ekspresyon Yüzdesi ve Skoruyla Sağkalım ve Tümör Evresi Arasında Korelasyon Değerlendirmesi

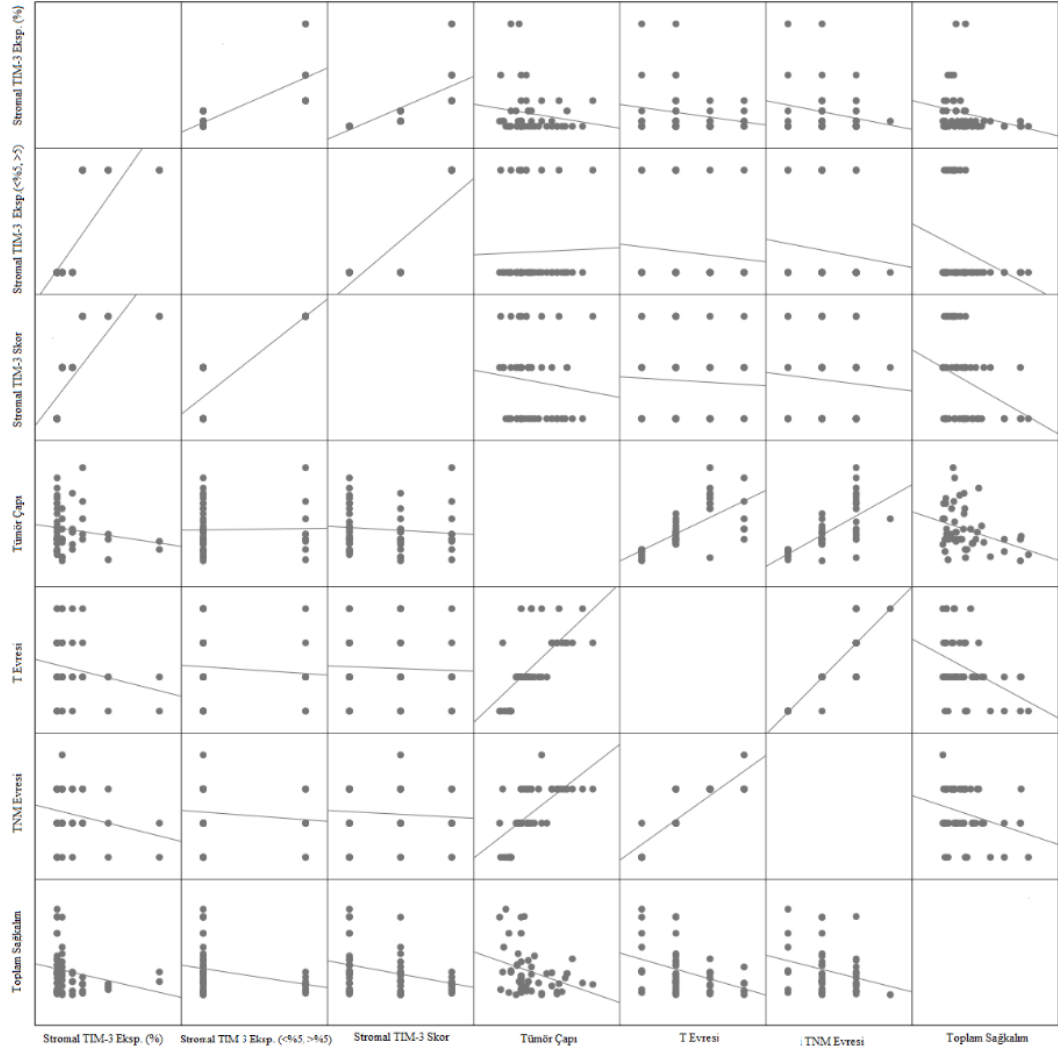
	Tümör TIM-3 Eksp. (%)	Tümör TIM-3 Eksp. Sınıfı	Tümör TIM-3 Eksp. Skoru	Tümör Çapı	T Evresi	N Evresi	TNM Evresi	PFS	OS
Korelasyon Katsayısı (r)									
Tümör TIM-3 Eksp. (%)	1,000	,836**	,996**	-0,095	-0,091	-0,243	-0,113	-0,037	-0,127
Tümör TIM-3 Eksp. Sınıfı		1,000	,839**	0,008	0,020	-0,129	0,007	-0,174	-0,241
Tümör TIM-3 Eksp. Skoru			1,000	-0,088	-0,078	-1,244	-0,096	-0,039	-0,128
Tümör Çapı				1,000	,757**	,606**	,728**	<u>-,367**</u>	<u>-,334**</u>
T Evresi					1,000	,678**	,875**	<u>-,448**</u>	<u>-,373**</u>
N Evresi						1,000	,836**	<u>-,310*</u>	-0,193
TNM Evresi							1,000	<u>-,344*</u>	<u>-,284*</u>
PFS								1,000	,932**
OS									1,000

* p<0.05 **p<0.01

Tablo 21. Tümör Stromasındaki Lenfositlerde TIM-3 Ekspresyon Yüzdesi ve Skoruyla Sağkalım ve Tümör Evresi Arasında Korelasyon Değerlendirmesi

	Stroma TIM-3 Eksp. (%)	Stroma TIM-3 Eksp. Sınıfı	Stroma TIM-3 Eksp. Skoru	Tümör Çapı	T Evresi	N Evresi	TNM Evresi	PFS	OS
Korelasyon Katsayısı (r)									
Stroma TIM-3 Eksp. (%)	1,000	,735**	,981**	-0,123	-0,079	-0,19	-0,121	-0,235	<u>-,303*</u>
Stroma TIM-3 Eksp. Sınıfı		1,000	,749**	-0,005	-0,097	-0,181	-0,122	-0,222	<u>-,288*</u>
Stroma TIM-3 Eksp. Skoru			1,000	-0,127	-0,056	-0,158	-0,090	-0,222	<u>-,289*</u>
Tümör Çapı				1,000	,757**	,606**	,728**	<u>-,367**</u>	<u>-,334**</u>
T Evresi					1,000	,678**	,875**	<u>-,448**</u>	<u>-,373**</u>
N Evresi						1,000	,836**	<u>-,310*</u>	-0,193
TNM Evresi							1,000	<u>-,344*</u>	<u>-,284*</u>
PFS								1,000	,932**
OS									1,000

* p<0.05 **p<0.01



Şekil 7. Stromal TIM-3 Ekspresyonu ve Hastalık Evresinin Toplam Sağkalımla Korelasyon Grafikleri

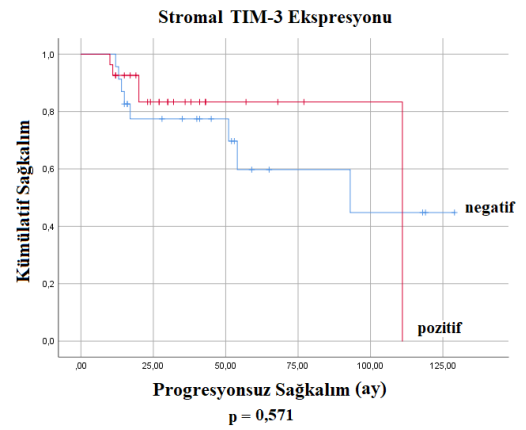
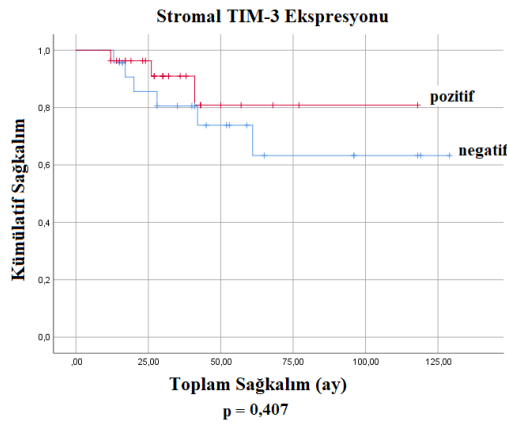
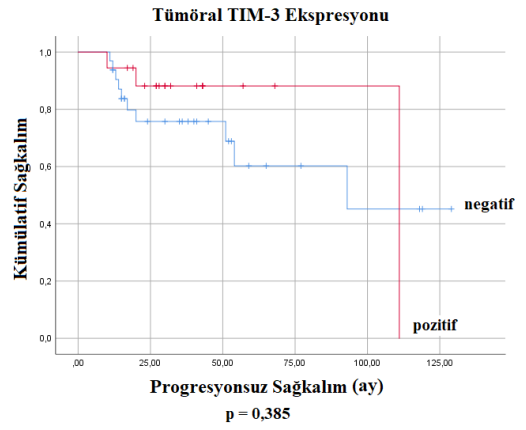
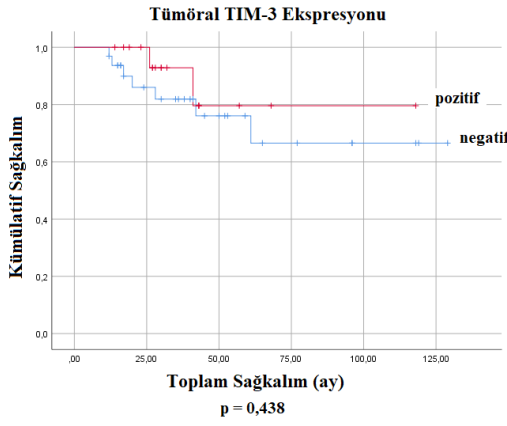
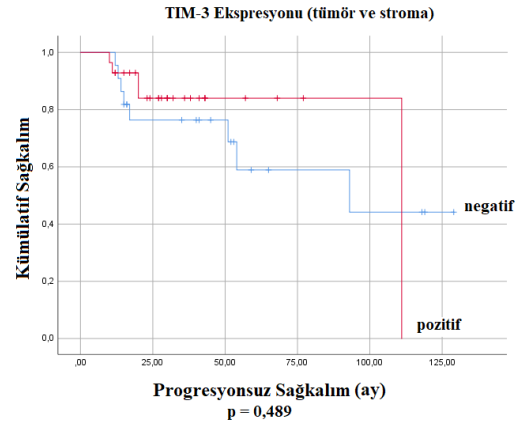
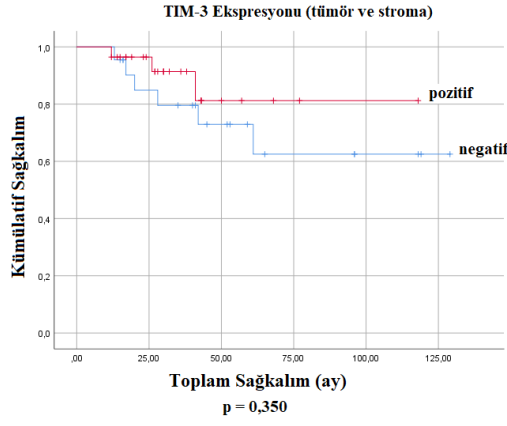
TIM-3 ekspresyon durumu ve sınıf ile sağkalım ilişkisini değerlendirmek için yapılan Kaplan – Meier analizinde toplam TIM-3 ekspresyonu, tümöral TIM-3 ekspresyonu ve stromal TIM-3 ekspresyonu ile toplam sağkalım (OS) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,350$, $p=0,438$ ve $p=0,407$).

Kaplan – Meier analizinde toplam TIM-3 ekspresyonu, tümöral TIM-3 ekspresyonu ve stromal TIM-3 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım (PFS) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,489$, $p=0,385$ ve $p=0,571$). TIM-3 ekspresyonu ile sağkalım verilerini değerlendiren Kaplan – Meier analizine ait grafikler Şekil-7’de gösterilmiştir.

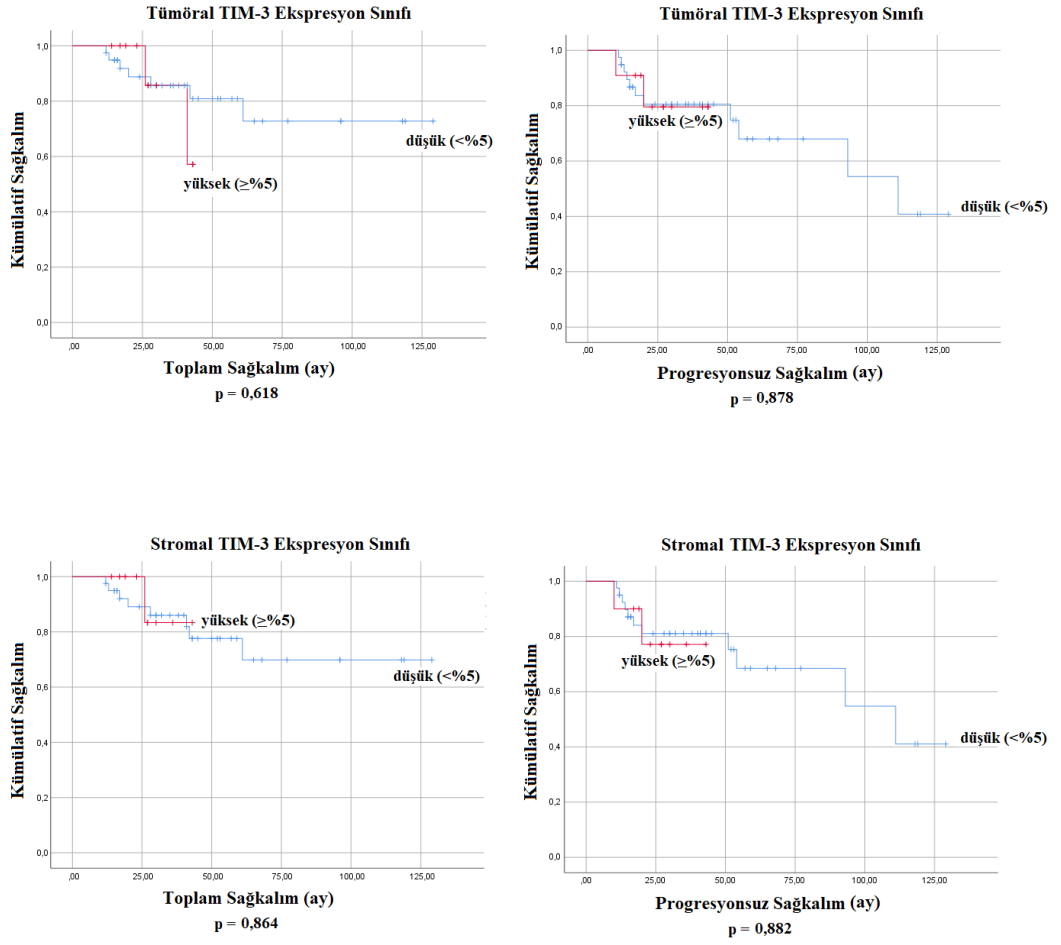
Kaplan – Meier analizinde tümöral ve stromal TIM-3 ekspresyon sınıfı (düşük $<5\%$, yüksek $\geq 5\%$) ve toplam sağkalım (OS) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,618$ ve $p=0,864$).

Kaplan – Meier analizinde tümöral ve stromal TIM-3 ekspresyon sınıfı (düşük $<5\%$, yüksek $\geq 5\%$) ve progresyonsuz sağkalım (PFS) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,878$ ve $p=0,882$). TIM-3 ekspresyon sınıfı (düşük $<5\%$, yüksek $\geq 5\%$) ve sağkalım verilerini değerlendiren Kaplan – Meier analizine ait grafikler Şekil-8’de gösterilmiştir.

TIM-3 ekspresyonu ile toplam sağkalım (OS) ilişkisini değerlendirmek için yapılan bir başka analiz olan tek değişkenli regresyon analizinde; toplam TIM-3 ekspresyonu, tümöral TIM-3 ekspresyonu ve stromal TIM-3 ekspresyonu ile toplam sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Tümör çapı, T evresi, aksiller lenf nodu tutulumu ve TNM evresi ile toplam sağkalım arasında anlamlı ilişki saptandı.



Şekil 8. Kaplan - Meier Yöntemiyle TIM-3 Ekspresyonu ile Sağkalım İlişkisi Grafiği - 1



Şekil 9. Kaplan - Meier Yöntemiyle TIM-3 Ekspresyonu ile Sağkalım İlişkisi Grafiği - 2

Tek değişkenli regresyon analizinde toplam, tümöral ve stromal TIM-3 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım (PFS) arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı. Aksiller lenf nodu tutulumu ile PFS arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmuştur (**p=0,022**). Toplam sağkalım ve progresyonsuz sağkalım için tek değişkenli regresyon analiz sonuçları Tablo-22 ve Tablo-23'te gösterilmiştir.

Tablo 22. Toplam Sağkalım İçin Univariante Regresyon Analizi

Değişken	Univariate Analiz		
	OR	%95 CI	p değeri
TIM-3 Ekspresyonu (negatif / pozitif)	0,320	0,070-1,465	0,142
Tümöral TIM-3 Ekspresyonu (negatif / pozitif)	0,446	0,082-2,425	0,350
Tümöral TIM-3 Ekspresyonu (%)	0,943	0,822-1,081	0,401
Tümöral TIM-3 Ekspresyonu (<%5 / ≥%5)	1,016	0,179-4,769	0,886
Tümöral TIM-3 Ekspresyon Skoru	0,744	0,313-1,765	0,502
Stromal TIM-3 Ekspresyonu (negatif / pozitif)	0,354	0,078-1,617	0,180
Stromal TIM-3 Ekspresyonu (%)	0,829	0,578-1,188	0,308
Stromal TIM-3 Ekspresyonu (<%5 / ≥%5)	0,444	0,049-4,037	0,471
Stromal TIM-3 Ekspresyon Skoru	0,501	0,168-1,495	0,215
Yaş (<40 / ≥40)	0,352	0,078-1,589	0,174
Tümör Çapı	1,054	1,015-1,095	0,006
T Evresi	3,200	1,299-7,884	0,011
Aksiller Lenf Nodu Tutulumu	2,973	1,384-6,386	0,005
TNM Evresi	13,690	1,734-108,062	0,013
Histolojik Grade	2,253	0,310-16,372	0,422
Ki 67 İndeksi (%)	1,008	0,972-1,046	0,658
Anjiyolenfatik İnvazyon	1,875	0,250-14,082	0,541
CK 5/6 (negatif / pozitif)	0,875	0,129-5,943	0,891
EGFR (negatif / pozitif)	1,585	0,350-13,142	0,578

OR: Odds Oranı CI: Güven Aralığı

Tablo 23. Progresyonsuz Sağkalım İçin Univariante Regresyon Analizi

Değişken	Univariate Analiz		
	OR	%95 CI	p değeri
TIM-3 Ekspresyonu (negatif / pozitif)	0,380	0,104-1,396	0,145
Tümöral TIM-3 Ekspresyonu (negatif / pozitif)	0,440	0,103-1,871	0,266
Tümöral TIM-3 Ekspresyonu (%)	0,881	0,717-1,082	0,227
Tümöral TIM-3 Ekspresyonu (<%5 / ≥%5)	0,566	0,105-3,046	0,507
Tümöral TIM-3 Ekspresyon Skoru	0,642	0,291-1,418	0,273
Stromal TIM-3 Ekspresyonu (negatif / pozitif)	0,426	0,117-1,557	0,197
Stromal TIM-3 Ekspresyonu (%)	0,854	0,853-1,117	0,250
Stromal TIM-3 Ekspresyonu (<%5 / ≥%5)	0,659	0,121-3,600	0,630
Stromal TIM-3 Ekspresyon Skoru	0,612	0,252-1,487	0,278
Yaş (<40 / ≥40)	0,994	0,947-1,043	0,803
Tümör Çapı	1,019	0,990-1,049	0,197
T Evresi	1,825	0,885-3,762	0,103
Aksiller LN Tutulumu	2,010	1,105-3,657	0,022
TNM Evresi	1,946	0,774-4,892	0,157
Histolojik Grade	1,049	0,301-3,660	0,912
Ki 67 İndeksi (%)	0,877	0,971-1,026	0,877
Anjiyolenfatik İnvazyon	2,540	0,599-10,772	0,206
CK 5/6 (negatif / pozitif)	0,667	0,120-3,709	0,643
EGFR (negatif / pozitif)	1,714	0,285-10,303	0,556

OR: Odds Oranı CI: Güven Aralığı

5. TARTIŞMA

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Aynı zamanda kadınlarda kansere bağlı ölümlerde en sık ikinci nedendir (14). Meme kanserinin giderek insidansının artmasına rağmen, mortalitesinin gün geçtikçe azalmakta olduğu gözlenmektedir. Bunun en önemli nedenleri olarak tarama yöntemlerinin gelişmesi, tedavide artan yenilikler ve meme kanseri farkındalığında artış olarak gösterilebilir (18). Tedavi seçeneklerini arttırmak için özellikle moleküler düzeyde yapılacak çalışmalar hem hastalığın seyrini öngörmeye hem de prognozu iyileştirmeye bu nedenle önem kazanmaktadır.

Üçlü negatif meme kanseri tüm meme kanseri vakalarının %10-20'sini oluşturmaktadır (147, 148). Diğer meme kanserlerine göre daha genç yaştaki kadınlarda ortaya çıkmaktadır. Genellikle agresif seyirli tümörlerdir (151). Yine diğer meme tümörlerinden daha sık beyin ve akciğer metastazı yaparlar (152). Hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin zayıf olması, sistemik kemoterapiye yanıt alınamayan vakalarda, üçlü negatif meme kanserinin kontrolünü zorlaştırmaktadır. Bu nedenle hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi için immünoterapiye yönelik, özellikle immün kontrol noktası inhibitörleriyle yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

İmmün kontrol noktası olan PD-1/PD-L1 yolağı ile üçlü negatif meme kanserinde yapılan çalışmalar sonucunda, bu yolağı inhibe eden bir PD-L1 inhibitörü olan Atezolizumab, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından

onaylanmıştır. İmmün kontrol noktasında çoklu blokaj yöntemi olarak kombinasyon tedavisi şu aşamada ilgi çeken bir seçenek olarak ele alınmaktadır. Bu yolla artmış antijen sunumu, artmış anti tümöral aktivite, birden fazla farklı etki mekanizması yoluyla; karsinogenezde önemli olan, immüniteden kaçış mekanizmalarının engellenmesi sağlanmıştır (195-198). Hayvan deneylerinde TIM-3 ile PD-1 blokajı kombine bir şekilde yapıldığında sinerjistik etkiyle, çok daha yüksek oranda anti tümör aktivite izlenmiştir (194). Aynı zamanda TIM-3 yolağının ağır disfonksiyonel CD8⁺ T hücre oluşturma aşamasında, PD-1 yolağıyla ortak çalıştığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (192, 194). Bu bilgiler ışığında, PD-1/PD-L1 yolağı dışında diğer immün kontrol noktalarının da üçlü negatif meme kanseriyle ilişkisinin gösterilmesinin, hem tedavi başarısını arttırmada hem de hastalığın prognozunu öngörmede, gelecekte önemli bir rol oynayacağı söylenebilir.

TIM-3, interferon gama (IFN-gama) üreten CD4⁺ yardımcı T hücreler (Th1) ve CD8⁺ sitotoksik T hücrelerde (Tc1) eksprese olan protein yapıda bir moleküldür (183). Ligandı olan ve regülatuvar T hücreleri üzerinde sentezlenen galectin-9'un tanımlanmasıyla fonksiyonu daha iyi anlaşılmış ve T hücre inhibitör reseptörü olduğu açıklığa kavuşmuştur (184). TIM-3 molekülünün Th1 inhibisyonunda çok kritik bir rolü olduğuna inanılmaktadır (188).

TIM-3 molekülünün, bazı kanser türlerinde tümör mikroçevresini infiltre eden T hücrelerinde eksprese olduğu saptanmıştır. İnvaziv duktal karsinomlu hastalarda da tümörü infiltre eden sitotoksik T hücrelerinde normal meme dokusuna kıyasla ciddi oranda TIM-3 ekspresyonunda artış saptanmıştır (199).

Farklı çalışmalarda melanoma (189), küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) (190), foliküler B hücreli lenfoma (191), servikal kanser (200), gastrik kanser (201), akut myeloid lösemi (192), over kanseri (202) ve glioma (203) gibi çeşitli kanser türlerinde tümör mikroçevresindeki lenfositlerde artmış TIM-3 ekspresyonu gösterilmiştir.

Bu çalışmada TIM-3 ifadenmesi, tümörü infiltre eden lenfositler (TİL) üzerinde değerlendirildi. Ekspresyon değerlendirmesi yapılırken, tümör dokusundaki tümör hücre grupları içine yerleşen lenfositler üzerindeki ifadenme “tümöral TIM-3 ifadenmesi” olarak, tümör stromasında yerleşmiş lenfositler üzerindeki ifadenme “stromal TIM-3 ifadenmesi” olarak iki gruba ayrıldı. Toplam TIM-3 ifadenmesi ise tümöral veya stromal ifadenme gösteren örneklerin tümü için kullanıldı. TIM-3 pozitifliği için $\geq 1\%$ ekspresyon gösteren vakalar pozitif olarak kabul edildi (210, 211). TIM-3 ekspresyonunu sınıflama ve skorelama için kabul edilen standart bir sistem olmadığı için TIM-3 ekspresyonu için yapılan önceki çalışmalarda kullanılan sınıflama ve skorelama sistemleri kullanıldı. Yüksek TIM-3 ekspresyonu tanımı için sınır 5% olarak kabul edildi. TIM-3 ekspresyon skorelaması için de eşik değerler olarak 5% , 25% ve 50% ekspresyon değerleri kullanıldı (212).

Meme kanseri insidansı yaşla beraber artmaktadır. Üçlü negatif meme kanseri (ÜNMK) diğer meme kanserlerine göre daha genç yaştaki kadınlarda ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda en genç hasta 26 yaşında, en yaşlı hasta 84 yaşındaydı ve ortalama tanı yaşı 52,5 olarak görüldü. 13 hasta (26%) 40 yaşın altındaydı. Bu veriler literatür verileriyle benzerdir (148, 151).

ÜNMK'lerin büyük bir kısmı yüksek histolojik ve nükleer derece gösteren, patolojik evresi ileri tümörlerdir. Çalışmamızdaki olguların 40'ı (%80) histolojik derece 3 iken, sadece 2 olgu (%4) derece 1 olarak izlendi. (149, 150). Rakha ve arkadaşlarının 282 ÜNMK olgusu içeren çalışmasında ÜNMK vakalarının 256'sı (%90,8) derece 3 olarak bulunmuştur (213).

Çalışmamızda 9 hastanın (%18) patolojik evresi 1 (pT1) bulunmuştur. Bu 9 hastanın hiçbiri neoadjuvan KT almamıştı. 25 hasta (%50) pT2, 10 hasta (%20) pT3, 6 hasta (%12) pT4 evresindeydi. Dent ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu oranlar pT1 %36,5, pT2 %55,6, pT3 %7,9 olarak dağılmaktaydı (214). Bu oranlar literatür verilerinden farklı olmakla beraber, tüm çalışmalardaki ortak sonuç ÜNMK hastalarının tanı anında T evrelerinin diğer meme kanseri türlerine göre daha ileri olduğu yönündedir.

Hataların 29'unda (%58) tanı anında aksiller lenf nodu metastazı mevcuttu. ÜNMK vakalarını araştıran diğer çalışmalarla benzer sonuçlara ulaşılmıştır (149, 213).

ÜNMK vakaların büyük çoğunluğunda histolojik tip İDK (özel tipi olmayan kanser) olarak tespit edilmektedir (150). Bu çalışmada 36 hastada (%72) İDK, 5 hastada (%10) medüller karsinom, 4 hastada (%8) apokrin karsinom, 3 hastada (%6) metaplastik karsinom ve 1'er hastada (%1) adenoskuamöz karsinom ve papiller karsinom tespit edilmiştir. Bulgular literatür verileriyle benzerdir. Rakha ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada tüm meme kanseri olgularının 282'si

(%16,3) ÜNМК olup, bu tümörlerin büyük bölümü (%80,9) İDK olarak görölmüştür (213).

Çalışmamızda vakaların 31'inde (%62) anjiyolenfatik invazyon pozitif bulunmuştur. Bu bulgu literatür verilerinden yüksek olarak bulunmuştur. Bu oran Rakha ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada %37 iken Thike ve arkadaşlarının çalışmasında %29 olarak bulunmuştur(215, 216). Zhang ve arkadaşlarının yaptığı, anjiolenfatik invazyon ve lenf nodu metastazı arasındaki ilişkiyi değerlendiren 13 çalışmanın dahil edildiği meta-analizde, lenf nodu metastazı ile anjiyolenfatik invazyon arasında ilişki saptanmıştır(217). Çalışmamızda neoadjuvan tedavi alan hasta grup dışlandığında %48 hastada lenf nodu metastazı pozitif bulunmuştur. Bu oran Rakha ve arkadaşlarının çalışmasında %36, Thike ve arkadaşlarının çalışmasında %40 olarak bulunmuştur (215, 216). Çalışmamızdaki anjiyolenfatik invazyon pozitifliği, diğer çalışmalara göre daha fazla hastada lenf nodu metastazı pozitifliği olmasıyla açıklanabilir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların 13'ünde (%26) nüks hastalık tespit edilmiştir. Uzak organ metastazı 10 hastada (%20) görölmüştür. Rakha ve arkadaşlarının yaptığı, medyan takip süresi 56 ay olan çalışmada nüks oranı %25, uzak organ metastazı %17 oranında izlenmiştir (213). Dent ve arkadaşlarının yaptığı medyan takip süresi 97 ay olan çalışmada ise uzak organ rekürrensi %33,9 ve lokal rekürrens %13 olarak bulunmuştur (214). Çalışmamızdaki hastaların medyan takip süresi 35,5 ay olarak izlenmiştir. Literatürdeki çalışmalara göre daha az oranda uzak organ metastazı görölmesinin, takip süresinin daha kısa olmasıyla açıklanabileceği düşünülmüştür.

Çalışmaya alınan 50 vakanın 28'inde (%56) %1 ve üzerinde tümöral veya stromal lenfositlerde TIM-3 ekspresyonu saptanmıştır. Tüm meme kanseri vakalarında TIM-3 ekspresyonunu değerlendiren Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, tümör dokusundaki sitotoksik T lenfositlerde TIM-3 ekspresyonu %90 oranında izlenmiştir (199). Literatürde bulabildiğimiz ÜNMK ile TIM-3 ekspresyonu ilişkisini değerlendiren tek çalışma olan Byun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise tüm vakalarda (%100) TIM-3 ekspresyonu pozitif bulunmuştur (212).

İmmünohistokimyasal değerlendirmede, tümöral TIM-3 ekspresyonu 18 vakada (%36), stromal TIM-3 ekspresyonu 27 vakada (%54) pozitif saptanmıştır. Burugu ve arkadaşlarının yaptığı, tüm meme kanseri tiplerini içeren 3148 hastalık çalışmada tümöral TIM-3 ekspresyonu %12 oranında, stromal TIM-3 ekspresyonu %48 oranında saptanmıştır. Yine aynı çalışmada üçlü negatif meme kanseri grubunda tümöral TIM-3 ekspresyon pozitifliği %23,8 oranında bulunmuştur (210). Farklı çalışmalarda farklı oranlarda TIM-3 ekspresyon pozitifliği bulunmasının, çalışmaya dahil hasta sayılarının henüz az olması, farklı immünohistokimyasal tekniklerin kullanılması, preparat kalitesindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Çalışmaya dahil hastaların TIM-3 ekspresyon yüzdeleri sınıflandırıldığında, tümöral TIM-3 ekspresyonu yüksek 11 hasta (%22), stromal TIM-3 ekspresyonu yüksek 10 hasta (%20) saptandı. Byun ve arkadaşlarının yaptığı ÜNMK vakalarında TIM-3 ekspresyonu değerlendiren bulabildiğimiz tek çalışmada ekspresyonlar tümöral ve stromal olarak ayrılmamakla birlikte yüksek

TIM-3 ekspresyon oranı, %84,4 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda Byun ve arkadaşlarının çalışmasına oranla çok daha düşük oranda yüksek TIM-3 ekspresyonu saptanmıştır. Bu farklılığı açıklayabilmek için çok daha fazla vakada TIM-3 ekspresyonu çalışılması ve TIM-3 ekspresyon dağılımlarının daha iyi anlaşılması gerektiği düşünülmüştür.

Çalışmadaki vakaların TIM-3 ekspresyonları skorlandığında tümöral TIM-3 skoru 1 olan 7 hasta (%14), skoru 2 olan 8 hasta (%16), skoru 3 olan 3 hasta (%6) tespit edildi. En yüksek yüzdeli vakada %40 ekspresyon saptanması nedeniyle, skor 4 hiçbir hastada saptanmadı. Stromal TIM-3 skoru 1 olan 17 hasta (%34), skoru 2 olan 10 hasta (%20) saptandı. En yüksek ekspresyon yüzdesi %20 olduğu için skor 3 ve 4 olarak belirlenen hiçbir vaka yoktu. Byun ve arkadaşlarının çalışmasında TIM-3 ekspresyon skor dağılımı skor 1 %15,6, skor 2 %28,4, skor 3 %44, skor 4 %11,9 olarak saptanmıştır. Bu değerler diğer ekspresyon değerlerinde olduğu gibi bizim çalışmamızdan yüksektir.

TIM-3 ifadelenmesiyle hastaların klinikopatolojik bilgileri kıyaslandığında toplam TIM-3 ekspresyonu ve stromal TIM-3 ekspresyonuyla klinikopatolojik veriler arasında ilişki saptanmadı ($p>0,05$). Neoadjuvan tedavi alan ve almayan tüm hastalarda, tümöral TIM-3 ekspresyon pozitifliği ile lenf nodu tutulum evresi arasında ilişki izlendi ve tümöral TIM-3 pozitifliği daha düşük pN evresi ilişkiliydi ($p=0,026$). Zhang ve arkadaşlarının tüm meme kanseri vakalarını içeren çalışmasında yüksek TIM-3 ekspresyonuyla yüksek pN evresi ilişkisi bulunmuştur (199). Byun ve arkadaşlarının sadece ÜNМК vakalarını içeren çalışmasında ise TIM-3 ekspresyonuyla pN evresi arasında ilişki bulunmamıştır (212). Bu iki

çalışmadaki verilerle bizim çalışmamızdaki veriler farklılık göstermektedir. Çalışmamızda tümöral TIM-3 ekspresyonu ile sistemik kemoterapi yanıtı arasında istatistiksel olarak anlamlı olmaya eğilimli bir ilişki vardır ve pozitif ekspresyonla daha iyi KT yanıtı izlenmiştir (**p=0,080**). Neoadjuvan tedavi alan 12 vakanın 8'inde tam yanıt izlenmekle beraber, neoadjuvan tedavi alan tümöral TIM-3 hastaların %66,7'sinde, tümöral TIM-3 negatif hastaların %28,6'sında tam yanıt görülmüştür (p=0,161). Bu veriler doğrultusunda, tümöral TIM-3 pozitif olgularda, negatiflere oranla; neoadjuvan tedavi ile metastatik lenf nodlarında daha fazla iyileşme sağlanacağı sonucuna ulaşılabilir. Bu duruma bağlı olarak da tümöral TIM-3 pozitif olguların neoadjuvan kemoterapi sonrası daha düşük pN evresi saptanması, tümöral TIM-3 pozitifliği ile daha düşük pN evresi arasındaki ilişkiyi açıklayabilir. Neoadjuvan tedavi alan vakalar dışlanarak yapılan istatistiksel analizde, tümöral TIM-3 ekspresyonuyla pN evresi arasında anlamlı ilişkili bulunmaması da bu yorumu desteklemektedir (p=0,268). Meme kanserinde LN pozitifliği en önemli prognostik faktör olup, çalışmamızda literatürle benzer sonuçlar izlenmemesinin, adjuvan tedavi alan hasta sayısının sınırlı olmasıyla açıklanabileceği düşünülmüştür.

Tümöral ve stromal TIM-3 ekspresyonu sınıflamasında yüksek ekspresyon grubunda da klinikopatolojik verilerle anlamlı ilişki bulunmadı. Byun ve arkadaşlarının yaptığı ÜNMK vakalarında TIM-3 ekspresyonunu değerlendiren çalışmada TIM-3 ekspresyon yüksekliği ile genç yaş ve ileri pT evresi arasında ilişki bulunmuş, diğer klinikopatolojik verilerle anlamlı ilişki yakalanmamıştır (212). Burugu ve arkadaşlarının tüm meme kanseri tiplerini içeren çalışmasında

yüksek tümöral TIM-3 ekspresyonu; genç yaşta tanı, yüksek grade ve Kİ67 yüksekliğiyle ilişkili bulunmuştur (210). Zhang ve arkadaşlarının yine tüm meme kanseri tiplerini içeren çalışmasında, TNM evresi ve grade ile ilişki bulunmuştur.

Çalışmamızda toplam TIM-3 ekspresyonu ile daha kısa toplam sağkalım (OS) arasında, anlamlı olmaya eğilimli bir ilişki bulunmuştur (**p=0,082**). Yüksek stromal TIM-3 ekspresyonu ile daha kısa OS ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkili bulunmuştur (**p=0,044**). Yüksek tümöral TIM-3 ekspresyonuyla da daha kısa OS arasında, istatistiksel olarak anlamlı olmaya eğilimli ilişki bulunmuştur (**p=0,090**). Hasta sayısının kısıtlı olması nedeniyle bu ilişkilerin anlamlılık sınırına ulaşmadığı, daha büyük çaplı çalışmalarda istatistiksel anlamlılık yakalanabileceği düşünülmüştür.

Tümöral TIM-3 ekspresyonu ile sistemik kemoterapi yanıtı arasında istatistiksel olarak anlamlı olmaya eğilimli bir ilişki vardır ve pozitif ekspresyonla daha iyi yanıt izlenmiştir (**p=0,080**). Bu ilişkinin sebebi kemoterapi sonrası ölen tümör hücrelerinin immüniteyi tetiklemesi, bu tetiklenme sonrasında anti tümör aktivitenin artması olarak gösterilebilir (218). Çünkü; bizim çalışmamızda TIL yüzdesi değerlendirilmemiş olsa da önceki çalışmalarda artmış TIM-3 ekspresyonu ile artmış TIL yüzdesi ilişkili bulunmuştur (210, 212). Böylece TIM-3 pozitif tümörlerde kemoterapi sonrası daha fazla immün yanıt oluşacağı düşünülebilir.

Korelasyon analizlerinde stromal TIM-3 ekspresyon yüzdesi, stromal TIM-3 ekspresyonunun yüksek olması ve stromal TIM-3 ekspresyon skorunun

yüksek olmasıyla OS arasında negatif korelasyon bulunmuştur ($p<0,05$). T evresi hem OS hem PFS ile negatif korelasyon göstermektedir ($p<0,01$). TNM evresi ile de hem OS hem PFS arasında negatif korelasyon vardır ($p<0,05$). N evresi ile sadece PFS arasında negatif korelasyon bulunmuştur ($p<0,05$).

TIM-3 ekspresyon pozitifliği ve yüksekliği ile OS ve PFS arasındaki ilişkiyi göstermek için yapılan Kaplan-Meier analizlerinde anlamlı ilişki saptanmamıştır. TIM-3 ekspresyonunun OS ve PFS'yi öngörmeye bağımsız bir faktör olup olmadığını göstermek için yapılan regresyon analizlerinde de anlamlı ilişki bulunmamıştır. Tek değişkenli regresyon analizlerinde T evresi, aksiller lenf nodu tutulumu ve TNM evresi daha kısa OS ile ilişkili iken, PFS ile ilişki sadece aksiller lenf nodu tutulumunda saptanmıştır ($p<0,05$).

Burugu ve arkadaşlarının tüm meme kanseri tiplerini içeren çalışmasında hem tüm kohortta hem de bazal benzeri fenotip gösteren meme kanseri grubunda yüksek tümöral TIM-3 ekspresyonuyla daha uzun kanser spesifik sağkalım ilişkili bulunmuştur (210). Byun ve arkadaşlarının ÜNKM vakalarını içeren çalışmasında da yüksek TIM-3 ekspresyonuyla artmış hastalıksız sağkalım (DFS) ve toplam sağkalım (OS) ilişkili bulunmuştur (212). Bizim çalışmamızdaki bulgular bu literatür verileriyle uyumlu değildir, bunun nedenini açıklamak için elimizde yeteri kadar veri olmamakla birlikte bu uyumsuzluğun çalışmalar arasındaki ortanca takip sürelerinin ve hasta popülasyon genişliğinin farklı olmasına bağlı olabileceği düşünülebilir. Yüksek TIM-3 ekspresyonu için literatürdeki hasta sağkalım verileri sınırlı ve çelişkilidir. Örneğin hepatosellüler karsinomda OS açısından negatif prognostik faktör olarak bildirilmiştir (219). Baş ve boyun

kanserlerinde ilişki gösterilememiştir (220). Bu sonuçların değişken ve çelişkili olması, değişen oranlardaki TIL yüzdeleri, kullanılan ekspresyon tespit yöntemlerindeki farklılıklar, immünohistokimya analizleri ve sınıflamalarındaki farklılıklar, kanser tipi ve alt tipi farklılıklarından kaynaklanıyor olabilir. Henüz TIM-3'ün onkolojide nispeten zayıf bir şekilde incelendiği gerçeği düşünülürse daha çok çalışmada, daha büyük hasta gruplarıyla, ÜNMK vakalarında TIM-3 ekspresyonu değerlendirilmesi gerekliliği mevcuttur.

Sonuç olarak, meme kanseri tüm dünyada kadınlarda en önemli sağlık sorunlarından biridir. Tedavi ve tarama seçeneklerindeki gelişmeler ile insidansındaki artışa rağmen mortalitesinde önemli iyileşmeler sağlanmıştır. ÜNMK ise diğer meme kanseri tiplerine göre hem kötü prognozlu, hem prognostik ve prediktif faktörler açısından bilinmezliklerin olduğu hem de tedavi seçeneklerinin zayıf olduğu bir tümör grubudur. Bu sebeple çok daha fazla prognostik faktör belirlemek ve tedavi alternatifi oluşturmak için çalışmalar yapılması gerekmektedir. Hedefe yönelik kanser tedavisinde en yüksek umutlar, immün kontrol noktalarının belirlenmesi ve bloke edilmesi konularında bulunmaktadır. Özellikle birden fazla immün kontrol noktasının inhibisyonu sonucu çok daha iyi bir anti tümöral aktivite izlendiği düşünüldüğünde, her kanser için birden fazla immün tedavi seçeneğinin geliştirilmesi, sağkalımı iyileştirmede önemli rol oynayacaktır. Bizim çalışmamızda ÜNMK vakalarının %56'sında TIM-3 ekspresyonu pozitif bulunmuştur. Prognostik ve prediktif olarak da kullanılabilecek klinikopatolojik bulgulardan sadece aksiller lenf nodu tutulum evresi ile tümöral TIM-3 ekspresyonu arasında ilişki saptanmıştır, pozitif

ekspresyon düşük pN evresi ile ilişkilidir. Toplam TIM-3 ekspresyon pozitifliği ve yüksek tümöral TIM-3 ekspresyonu ile kısa OS arasında anlamlı bir ilişki olabileceği izlenmiştir. Stromal TIM-3 ekspresyon pozitifliği ile OS arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Yapılan korelasyon çalışmalarında stromal TIM-3 yüzdesi ve skoru ile OS arasında negatif korelasyon izlenmiştir. Ancak bunun bağımsız bir öngörücü faktör olduğu kanıtlanamamıştır. Ayrıca tümöral TIM-3 ekspresyonu ile daha iyi kemoterapi yanıtı alınabileceğine dair kanıtlar vardır ancak hasta sayısının kısıtlı olması nedeniyle istatistiksel anlamlılık yakalanamamıştır. Literatürdeki kısıtlı ve tutarsız veriler düşünüldüğünde, ÜNMK ve TIM-3 ekspresyonunu değerlendirecek daha geniş popülasyonda, daha çok çalışma yapılması gerekliliği açıkça gözükmemektedir.

6. SONUÇLAR

1. ÜNМК hastalarının diğer meme kanseri tiplerine göre, daha genç yaşta tanı aldığı görülmüştür.
2. Tanı anında olguların sadece %18'i pT1 evresinde bulunmuştur. Çalışmadaki vakaların diğer meme kanseri türlerine göre daha ileri evrede tanı aldığı görülmüştür.
3. Vakaların %58'inde tanı anında lenf nodu metastazı vardır, yine bu oran diğer meme kanseri tiplerine göre yüksektir.
4. Histolojik derece vakaların %80'inde III olarak bulunmuştur. Sadece %4 vakada derece I'dir. ÜNМК'nin diğer meme kanseri türlerine oranla daha yüksek dereceli tümörler olduğu görülmüştür.
5. %62 vakada lenfovasküler invazyon izlenmiştir.
6. ÜNМК vakalarının büyük kısmını İDK (özel olmayan tip) oluşturmaktadır (%72).
7. %96 vakada Ki67 indeksi %20 ve üzerinde bulunmuştur.
8. Çalışmaya dahil hastaların 9'u hayatını kaybetmiştir. 8'inin ölümü kansere spesifik sebeplerle olmuştur. 1 vakanın ölüm sebebi bulunamamıştır.
9. Vakaların 13'ünde (%26) nüks hastalık tespit edilmiştir. Lokal nüks 3 hastada (%6) ve uzak organda nüks 10 hastada (%20) olarak görülmüştür.
10. Hastaların %72'si adjuvan tedavi, %24'ü de neoadjuvan tedavi almıştır. %4 hasta da hasta kaynaklı sebeplerle sistemik tedavi almamıştır.
11. Vakaların %84'ü antrasiklin ve taksan bazlı kemoterapi rejimleriyle tedavi görmüştür. %16 vaka ise yan etkiler nedeniyle başka tedavi rejimleriyle tedavi edilmiştir.
12. Hastaların %72'sine radyoterapi uygulanmıştır.

13. Kemoterapi yanıtını değerlendirmeye uygun hastaların %40'ında tam remisyon, %15'inde kısmi remisyon ve %45'inde progresif hastalık görülmüştür.

14. Vakaların 28'inde (%56) TIM-3 pozitifliği saptanmıştır. Tümöral TIM-3 pozitifliği 18 hastada (%36), stromal TIM-3 pozitifliği 27 hastada (%54) izlenmiştir. 1 hasta (%2) sadece tümöral TIM-3 pozitifliği gösterirken, 10 hastada (%20) sadece stromal TIM-3 pozitifliği saptanmıştır. 17 hastada ise hem tümöral hem de stromal TIM-3 pozitifliği görülmüştür.

15. 11 vakada (%22) yüksek tümöral TIM-3 ekspresyonu, 10 vakada (%20) yüksek stromal TIM-3 ekspresyonu izlenmiştir.

16. Tümöral TIM-3 ekspresyonu skorlandığında 32 hasta (%64) skor 0, 7 hasta (%14) skor 1, 8 hasta (%16) skor 2, 3 hasta (%6) skor 3 olarak değerlendirilmiştir.

17. Stromal TIM-3 ekspresyonu skorlandığında 23 hasta (%46) skor 0, 17 hasta (%34) skor 1, 10 hasta (%20) skor 2 olarak değerlendirilmiştir.

18. Tümöral TIM-3 ekspresyonu ile N evresi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Pozitif ekspresyon düşük N evresi ile ilişkilidir.

19. Tümöral TIM-3 ekspresyonu ile diğer klinikopatolojik veriler arasında ilişki bulunmamıştır.

20. Toplam ve stromal TIM-3 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasında ilişki bulunmamıştır.

21. Toplam TIM-3 ekspresyonu ile toplam sağkalım (OS) arasında istatistiksel olarak anlamlı olmaya eğilimli ilişki bulunmuştur. TIM-3 pozitifliği daha kısa OS ile ilişkili görünmektedir. Ancak hasta sayısının az olması nedeniyle bu ilişki istatistiksel olarak anlamlılık kazanmamıştır. Daha fazla hastayla yapılan çalışmalarda anlamlı olabileceği düşünülmüştür.

22. Tümöral TIM-3 ekspresyonu ile kemoterapi yanıtı arasında istatistiksel olarak anlamlı olmaya eğilimli ilişki bulunmuştur. Pozitiflik daha iyi yanıt ile ilişkili görünmektedir. Ancak hasta sayısının az olması nedeniyle bu ilişki istatistiksel

olarak anlamlılık kazanmamıştır. Daha fazla hastayla yapılan çalışmalarda anlamlı olabileceği düşünülmüştür.

23. Yüksek tümöral TIM-3 ekspresyonu ile daha kısa OS arasında istatistiksel olarak anlamlı olmaya eğilimli ilişki bulunmuştur. Hasta sayısının az olması nedeniyle bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı, daha fazla hastayla yapılan çalışmalarda anlamlı olabileceği düşünülmüştür.

24. Yüksek stromal TIM-3 ekspresyonu daha kısa OS ile ilişkili bulunmuştur.

25. Korelasyon analizinde stromal TIM-3 yüzdesi ve skoruyla OS arasında negatif korelasyon saptanmıştır.

26. Korelasyon analizinde T evresi ve TNM evresi hem progresyonsuz sağkalım (PFS) hem de OS ile negatif korelasyon göstermektedir. N evresi ile PFS arasında negatif korelasyon bulunmuştur.

27. Stromal TIM-3 ekspresyonuyla OS arasındaki ilişki incelendiğinde, ekspresyon durumunun sağkalımı öngörmede bağımsız bir prognostik faktör olduğu istatistiksel olarak gösterilememiştir. Bu ilişkinin daha iyi gösterilmesi için, daha büyük hasta gruplarıyla daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

7. ÖZET

Boz O. Üçlü Negatif Meme Kanseriinde Tim-3 İfadelenmesinin Hastalığın Prognozu, Evresi ve Tedaviye Yanıtı ile İlişkisinin Değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Ankara, 2020.

Meme kanseri kadın sağlığını tehdit eden en önemli sorunlardan biridir. Tedavi seçeneklerindeki gelişmeler sayesinde insidansı giderek artmakla beraber, mortalitesinde olumlu gelişmeler kaydedilmiştir. Üçlü negatif meme kanseri (ÜNMK) diğer meme kanserlerine oranla daha genç yaşta ortaya çıkmakta, daha agresif seyretmektedir. Bu kanser türüne etkili yeterince tedavi seçeneği bulunmamaktadır.

Meme kanseri tedavisinde, immün kontrol noktalarının hedef alınması konusunda yükselen umutlar bulunmaktadır. T hücre immüngloblin ve müsin içeren protein-3 (TIM-3) immün kontrol noktası molekülüdür, T hücreleri üzerinde bulunur. T hücre enerjisinden sorumludur, bu yolla karsinogenezde rolü olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda ÜNMK vakalarında TIM-3 ifadelenmesi ve bunun klinikopatolojik verilerle ilişkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya ÜNMK tipinde 50 hasta dahil edilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak parafin blokları preparatlarda TIM-3 ekspresyonu değerlendirilmiştir. Ekspresyon yüzdeleri ve skorları, klinikopatolojik veriler ve sağkalım verileri ile karşılaştırılmıştır.

50 hastanın 28'inde (%56) tümöral veya stromal TIM-3 ekspresyonu pozitif bulunmuştur. 18 vakada (%36) tümöral ve 27 vakada (%54) stromal ekspresyon saptanmıştır. Tümöral TIM-3 ekspresyonu ile daha düşük N evresi ilişkili bulunmuştur. Diğer klinikopatolojik verilerle TIM-3 ekspresyonu arasında ilişki saptanmamıştır. Toplam TIM-3 ekspresyonu ve yüksek tümöral TIM-3 ekspresyonu ile daha kısa toplam sağkalım (OS) arasında istatistiksel olarak anlamlı olmaya eğilimli bir ilişki saptanmıştır. Stromal TIM-3 ekspresyon yüksekliği ile daha kısa OS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur. Stromal TIM-3 ekspresyonunun sağkalımı öngörmede bağımsız bir faktör olduğu istatistiksel olarak gösterilememiştir.

Çalışmamızda TIM-3 ekspresyonunun ÜNМК'de, pN evresi dışındaki klinikopatolojik ve prognostik faktörlerle ilişkisi bulunamasa da toplam sağkalım açısından negatif bir prognostik belirteç olabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Daha güçlü istatistiksel kanıtlar için daha büyük vaka gruplarıyla çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Üçlü negatif meme kanseri; prognoz; immün kontrol noktası; T hücre immünglobulin ve müsın içeren protein-3.

8. ABSTRACT

Boz O. Evaluation of the Relationship Between TIM-3 Expression With Prognosis, Stage And Treatment Response In Triple-Negative Breast Cancer. Gazi University Faculty of Medicine, Thesis in Internal Medicine, Ankara, 2020.

Breast cancer is one of the most important problems that threaten women's health. Thanks to the improvements in treatment options, its incidence has been increasing gradually, but positive developments have been recorded in its mortality. Triple-negative breast cancer (TNBC) affects women at a younger age than other breast cancer types. It acts more aggressively. There are not enough treatment options effective for TNBC.

In the last few years, a huge interest has been observed in breast cancer therapy targeting immune checkpoint molecules, especially in the triple-negative breast cancer (TNBC). T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing molecule 3 (TIM-3) is an immune checkpoint molecule, expressed on T cells. It is responsible for T cell anergy, which is thought to play a role in carcinogenesis. Our study aims to investigate TIM-3 expression in TNBC and to show its relationship with clinicopathological data.

50 patients with TNBC diagnosis were evaluated in this study. Immunohistochemically, TIM-3 expression was examined in paraffin blocks. Expression percentages and scores were compared with clinicopathological data and survival data.

TIM-3 expression was positive in 28 (56%) of 50 patients. Tumoral TIM-3 expression was detected in 18 cases (36%) and stromal TIM-3 expression in 27 cases (54%). The tumoral TIM-3 expression was associated with a lower N stage. No relation was found between other clinicopathological data and TIM-3 expression. A relationship that was close to being statistically significant was found between total TIM-3 expression, high tumoral TIM-3 expression and shorter overall survival (OS). A statistically significant relationship was found between high stromal TIM-3 expression and shorter OS. It has not been shown statistically that stromal TIM-3 expression is an independent factor in predicting survival.

In our study, it was concluded that TIM-3 expression may be a negative prognostic marker in terms of overall survival (OS) even though there is no relation with the clinicopathological and prognostic factors other than the N stage in TNBC. Studies with larger case groups are required for stronger statistical evidence.

Keywords: Triple negative breast cancer; prognosis; immuncheckpoint; T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing molecule.

9. KAYNAKLAR

1. Agarwal G, Ramakant P, Forgach ER, Rendon JC, Chaparro JM, Basurto CS, et al. Breast cancer care in developing countries. *World J Surg*. 2009;33(10):2069-76.
2. Rezaeian M, Sharifirad G, Mostafavi F, Moodi M, Abbasi MH. The effects of breast cancer educational intervention on knowledge and health beliefs of women 40 years and older, Isfahan, Iran. *Journal of education and health promotion*. 2014;3.
3. Stovgaard ES, Nielsen D, Hogdall E, Balslev E. Triple negative breast cancer - prognostic role of immune-related factors: a systematic review. *Acta Oncol*. 2018;57(1):74-82.
4. Ascierto PA, Marincola FM. What have we learned from cancer immunotherapy in the last 3 years? *Journal of translational medicine*. 2014;12(1):141.
5. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*. 2012;12(4):252.
6. Criscitiello C, Curigliano G. Immunotherapeutics for breast cancer. *Current opinion in oncology*. 2013;25(6):602-8.
7. Ileana E, Champiat S, Soria J-C. Immune-checkpoints: the new anti-cancer immunotherapies. *Bulletin du cancer*. 2013;100(6):601-10.
8. Stagg J, Allard B. Immunotherapeutic approaches in triple-negative breast cancer: latest research and clinical prospects. *Ther Adv Med Oncol*. 2013; 5: 169–81.
9. Ghochikyan A, Pichugin A, Bagaev A, Davtyan A, Hovakimyan A, Tukhvatulin A, et al. Targeting TLR-4 with a novel pharmaceutical grade plant derived agonist, Immunomax®, as a therapeutic strategy for metastatic breast cancer. *Journal of translational medicine*. 2014;12(1):322.
10. Sharma P, Wagner K, Wolchok JD, Allison JP. Novel cancer immunotherapy agents with survival benefit: recent successes and next steps. *Nature Reviews Cancer*. 2011;11(11):805.
11. Shin DS, Ribas A. The evolution of checkpoint blockade as a cancer therapy: what's here, what's next? *Current opinion in immunology*. 2015;33:23-35.
12. Bottai G, Raschioni C, Losurdo A, Di Tommaso L, Tinterri C, Torrisi R, et al. An immune stratification reveals a subset of PD-1/LAG-3 double-positive triple-negative breast cancers. *Breast Cancer Res*. 2016;18(1):121.
13. Anderson AC. Tim-3: An Emerging Target in the Cancer Immunotherapy Landscape. *Cancer Immunology Research*. 2014;2(5):393-8.
14. Frank GA, Danilova NV, Andreeva I, Nefedova NA. [WHO classification of tumors of the breast, 2012]. *Arkhiv patologii*. 2013;75(2):53-63.
15. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
16. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rutgers E, et al. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Annals of Oncology*. 2015;26(suppl_5):v8-v30.
17. Gültekin M, Boztaş G. Türkiye kanser istatistikleri. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. 2014;43.
18. Fauci AS, Eugene Braunwald, Kasper DL. Breast Cancer. *Harrison's Principles of internal Medicine* 17th Ed New York: The McGraw-Hill Companies 2008.
19. Yasui Y, Potter JD. The shape of age-incidence curves of female breast cancer by hormone-receptor status. *Cancer Causes & Control*. 1999;10(5):431-7.

20. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(1):7-30.
21. Hsieh CC, Trichopoulos D, Katsouyanni K, Yuasa S. Age at menarche, age at menopause, height and obesity as risk factors for breast cancer: associations and interactions in an international case-control study. *Int J Cancer*. 1990;46(5):796-800.
22. Trichopoulos D, MacMahon B, Cole P. Menopause and breast cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*. 1972;48(3):605-13.
23. American Cancer Society Breast Cancer Facts & Figures 2009-2010: American Cancer Society; 2010 [Available from: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/breast-cancer-facts-and-figures/breast-cancer-facts-and-figures-2009-2010.pdf>].
24. Bradley CJ, Given CW, Roberts C. Race, socioeconomic status, and breast cancer treatment and survival. *Journal of the National Cancer Institute*. 2002;94(7):490-6.
25. Palmer JR, Wise LA, Horton NJ, Adams-Campbell LL, Rosenberg L. Dual effect of parity on breast cancer risk in African-American women. *Journal of the National Cancer Institute*. 2003;95(6):478-83.
26. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, Van Gils CH, Khaw KT, Tehard B, et al. Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). *International journal of cancer*. 2004;111(5):762-71.
27. Morimoto LM, White E, Chen Z, Chlebowski RT, Hays J, Kuller L, et al. Obesity, body size, and risk of postmenopausal breast cancer: the Women's Health Initiative (United States). *Cancer Causes & Control*. 2002;13(8):741-51.
28. Group EHBCC. Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women. *Journal of the National Cancer Institute*. 2003;95(16):1218-26.
29. Van den Brandt PA, Spiegelman D, Yaun S-S, Adami H-O, Beeson L, Folsom AR, et al. Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight, and breast cancer risk. *American journal of epidemiology*. 2000;152(6):514-27.
30. Nelson HD, Zakher B, Cantor A, Fu R, Griffin J, O'Meara ES, et al. Risk factors for breast cancer for women aged 40 to 49 years: a systematic review and meta-analysis. *Annals of internal medicine*. 2012;156(9):635-48.
31. MacMahon B, Cole P, Lin T, Lowe C, Mirra A, Ravnihar B, et al. Age at first birth and breast cancer risk. *Bulletin of the World Health Organization*. 1970;43(2):209.
32. Lee SH, Akuete K, Fulton J, Chelmow D, Chung MA, Cady B. An increased risk of breast cancer after delayed first parity. *The American journal of surgery*. 2003;186(4):409-12.
33. Nagata C, Hu YH, Shimizu H. Effects of menstrual and reproductive factors on the risk of breast cancer: meta-analysis of the case-control studies in Japan. *Japanese Journal of Cancer Research*. 1995;86(10):910-5.
34. Lambe M, Hsieh C-c, Trichopoulos D, Ekbom A, Pavia M, Adami H-O. Transient increase in the risk of breast cancer after giving birth. *New England Journal of Medicine*. 1994;331(1):5-9.
35. Chlebowski RT, Manson JE, Anderson GL, Cauley JA, Aragaki AK, Stefanick ML, et al. Estrogen plus progestin and breast cancer incidence and mortality in the Women's Health Initiative Observational Study. *Journal of the National Cancer Institute*. 2013;105(8):526-35.
36. Colditz GA, Hankinson SE, Hunter DJ, Willett WC, Manson JE, Stampfer MJ, et al. The use of estrogens and progestins and the risk of breast cancer in postmenopausal women. *New England Journal of Medicine*. 1995;332(24):1589-93.

37. Rice MS, Eliassen AH, Hankinson SE, Lenart EB, Willett WC, Tamimi RM. Breast cancer research in the Nurses' Health Studies: exposures across the life course. *American journal of public health*. 2016;106(9):1592-8.
38. Stratton MR, Rahman N. The emerging landscape of breast cancer susceptibility. *Nature genetics*. 2008;40(1):17.
39. Nichols HB, de González AB, Lacey Jr JV, Rosenberg PS, Anderson WF. Declining incidence of contralateral breast cancer in the United States from 1975 to 2006. *Journal of Clinical Oncology*. 2011;29(12):1564.
40. Evans JP, Skrzynia C, Susswein L, Harlan M. Genetics and the young woman with breast cancer. *Breast disease*. 2006;23(1):17-29.
41. Palacios J, Frías MR, Castilla M, Lopez-Garcia M, Benitez J. The molecular pathology of hereditary breast cancer. *Pathobiology*. 2008;75(2):85-94.
42. Walsh T, King M-C. Ten genes for inherited breast cancer. *Cancer cell*. 2007;11(2):103-5.
43. Hartmann LC, Sellers TA, Frost MH, Lingle WL, Degnim AC, Ghosh K, et al. Benign breast disease and the risk of breast cancer. *New England Journal of Medicine*. 2005;353(3):229-37.
44. Worsham MJ, Raju U, Lu M, Kapke A, Botttrel A, Cheng J, et al. Risk factors for breast cancer from benign breast disease in a diverse population. *Breast cancer research and treatment*. 2009;118(1):1-7.
45. Dupont WD, Parl FF, Hartmann WH, Brinton LA, Winfield AC, Worrell JA, et al. Breast cancer risk associated with proliferative breast disease and atypical hyperplasia. *Cancer*. 1993;71(4):1258-65.
46. Collins LC, Baer HJ, Tamimi RM, Connolly JL, Colditz GA, Schnitt SJ. Magnitude and laterality of breast cancer risk according to histologic type of atypical hyperplasia: results from the Nurses' Health Study. *Cancer*. 2007;109(2):180-7.
47. McCormack VA, dos Santos Silva I. Breast density and parenchymal patterns as markers of breast cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2006;15(6):1159-69.
48. Wong C, Lim G, Gao F, Jakes R, Offman J, Chia K, et al. Mammographic density and its interaction with other breast cancer risk factors in an Asian population. *British journal of cancer*. 2011;104(5):871.
49. Cancer CGoHFIB. Alcohol, tobacco and breast cancer—collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58 515 women with breast cancer and 95 067 women without the disease. *British journal of cancer*. 2002;87(11):1234.
50. Chen WY, Rosner B, Hankinson SE, Colditz GA, Willett WC. Moderate alcohol consumption during adult life, drinking patterns, and breast cancer risk. *Jama*. 2011;306(17):1884-90.
51. Cui Y, Miller AB, Rohan TE. Cigarette smoking and breast cancer risk: update of a prospective cohort study. *Breast cancer research and treatment*. 2006;100(3):293-9.
52. Kobayashi LC, Janssen I, Richardson H, Lai AS, Spinelli JJ, Aronson KJ. Moderate-to-vigorous intensity physical activity across the life course and risk of pre-and post-menopausal breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2013;139(3):851-61.
53. Friedenreich CM. Physical activity and cancer prevention: from observational to intervention research. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2001;10(4):287-301.
54. Yamamoto S, Sobue T, Kobayashi M, Sasaki S, Tsugane S. Soy, isoflavones, and breast cancer risk in Japan. *Journal of the national cancer institute*. 2003;95(12):906-13.

55. Horn-Ross PL, Hoggatt K, West DW, Krone MR, Stewart SL, Anton-Culver H, et al. Recent diet and breast cancer risk: the California Teachers Study (USA). *Cancer Causes & Control*. 2002;13(5):407-15.
56. Michels KB, Mohllajee AP, Roset-Bahmanyar E, Beehler GP, Moysich KB. Diet and breast cancer: a review of the prospective observational studies. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 2007;109:2712-49.
57. John EM, Kelsey JL. Radiation and other environmental exposures and breast cancer. *Epidemiologic reviews*. 1993;15(1):157-62.
58. Land CE, Tokunaga M, Koyama K, Soda M, Preston DL, Nishimori I, et al. Incidence of female breast cancer among atomic bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki, 1950–1990. *Radiation research*. 2003;160(6):707-17.
59. Ellenson L. H. LSC. Female Genital System and Breast. In: Kumar V. AAK, editor. *Robbins Basic Pathology*. 10 ed: Elsevier; 2017. p. 713-47.
60. Sinn H-P, Kreipe H. A brief overview of the WHO classification of breast tumors. *Breast care*. 2013;8(2):149-54.
61. O'Donnell ME, McCavert M, Carson J, Mullan FJ, Whiteside MW, Garstin WI. Non-epithelial malignancies and metastatic tumours of the breast. *The Ulster medical journal*. 2009;78(2):105.
62. Toikkanen S, Pylkkänen L, Joensuu H. Invasive lobular carcinoma of the breast has better short-and long-term survival than invasive ductal carcinoma. *British journal of cancer*. 1997;76(9):1234.
63. Marcus JN, Watson P, Page DL, Narod SA, Lenoir GM, Tonin P, et al. Hereditary breast cancer: pathobiology, prognosis, and BRCA1 and BRCA2 gene linkage. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 1996;77(4):697-709.
64. Ernster VL, Barclay J, Kerlikowske K, Grady D, Henderson IC. Incidence of and treatment for ductal carcinoma in situ of the breast. *Jama*. 1996;275(12):913-8.
65. Adem C, Reynolds C, Ingle J, Nascimento A. Primary breast sarcoma: clinicopathologic series from the Mayo Clinic and review of the literature. *British journal of cancer*. 2004;91(2):237.
66. Haydaroglu A. MEME KANSERİNDE YEREL KONTROLE ETKİ EDEN PREDİKTİF MOLEKÜLER VE GENETİK FAKTÖRLER. *Meme Sağligi Dergisi/Journal of Breast Health*. 2012;8(4).
67. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn H-J, et al. 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):1736-47.
68. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clinical cancer research*. 2008;14(5):1368-76.
69. Peppercom J, Perou CM, Carey LA. Molecular subtypes in breast cancer evaluation and management: divide and conquer. *Cancer Invest*. 2008;26(1):1-10.
70. Perou CM. Molecular stratification of triple-negative breast cancers. *Oncologist*. 2010;15 Suppl 5:39-48.
71. Nguyen PL, Taghian AG, Katz MS, Niemierko A, Abi Raad RF, Boon WL, et al. Breast cancer subtype approximated by estrogen receptor, progesterone receptor, and HER-2 is associated with local and distant recurrence after breast-conserving therapy. *J Clin Oncol*. 2008;26(14):2373-8.

72. Kyndi M, Sorensen FB, Knudsen H, Overgaard M, Nielsen HM, Overgaard J. Estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and response to postmastectomy radiotherapy in high-risk breast cancer: the Danish Breast Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol*. 2008;26(9):1419-26.
73. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353(16):1659-72.
74. Fuller MS, Lee CI, Elmore JG. Breast cancer screening: an evidence-based update. *Med Clin North Am*. 2015;99(3):451-68.
75. Mann RM, Kuhl CK, Kinkel K, Boetes C. Breast MRI: guidelines from the European Society of Breast Imaging. *Eur Radiol*. 2008;18(7):1307-18.
76. Ozmen N, Dapp R, Zapf M, Gemmeke H, Ruiter NV, van Dongen KW. Comparing different ultrasound imaging methods for breast cancer detection. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*. 2015;62(4):637-46.
77. Wellings E, Vassiliades L, Abdalla R. Breast Cancer Screening for High-Risk Patients of Different Ages and Risk - Which Modality Is Most Effective? *Cureus*. 2016;8(12):e945.
78. Alcantara D, Leal MP, Garcia-Bocanegra I, Garcia-Martin ML. Molecular imaging of breast cancer: present and future directions. *Front Chem*. 2014;2:112.
79. Sardanelli F, Boetes C, Borisch B, Decker T, Federico M, Gilbert FJ, et al. Magnetic resonance imaging of the breast: recommendations from the EUSOMA working group. *Eur J Cancer*. 2010;46(8):1296-316.
80. Liberman L, Kaplan JB. Percutaneous core biopsy of nonpalpable breast lesions: utility and impact on cost of diagnosis. *Breast Dis*. 2001;13:49-57.
81. Margolin FR, Kaufman L, Jacobs RP, Denny SR, Schrumpf JD. Stereotactic core breast biopsy of malignant calcifications: diagnostic yield of cores with and cores without calcifications on specimen radiographs. *Radiology*. 2004;233(1):251-4.
82. Cangiarella J, Waisman J, Symmans WF, Gross J, Cohen JM, Wu H, et al. Mammotome core biopsy for mammary microcalcification: analysis of 160 biopsies from 142 women with surgical and radiologic followup. *Cancer*. 2001;91(1):173-7.
83. Berry DA, Cronin KA, Plevritis SK, Fryback DG, Clarke L, Zelen M, et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353(17):1784-92.
84. Pace LE, Keating NL. A systematic assessment of benefits and risks to guide breast cancer screening decisions. *Jama*. 2014;311(13):1327-35.
85. Siu AL. Screening for Breast Cancer: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Ann Intern Med*. 2016;164(4):279-96.
86. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Kanser Dairesi Başkanlığı. Kanser Taramaları 2017 [Available from: <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kanser-taramalari>].
87. National Cancer Institute. Cancer Staging 2015, March 9 [Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/diagnosis-staging/staging>].
88. Giuliano AE, Connolly JL, Edge SB, Mittendorf EA, Rugo HS, Solin LJ, et al. Breast Cancer-Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(4):290-303.
89. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer: College of American Pathologists consensus statement 1999. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2000;124(7):966-78.
90. Adami H-O, Walker B, Holmberg L, Persson I, Stone B. The relation between survival and age at diagnosis in breast cancer. *New England Journal of Medicine*. 1986;315(9):559-63.

91. Anthony S. Fauci, Eugene Braunwald, Dennis L. Kasper. *Breast Cancer Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17 ed. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.; 2008.
92. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19(5):403-10.
93. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *The oncologist*. 2004;9(6):606-16.
94. Dunnwald LK, Rossing MA, Li CI. Hormone receptor status, tumor characteristics, and prognosis: a prospective cohort of breast cancer patients. *Breast cancer research*. 2007;9(1):R6.
95. Ewertz M, Duffy SW, Adami HO, Kvåle G, Lund E, Meirik O, et al. Age at first birth, parity and risk of breast cancer: A meta-analysis of 8 studies from the nordic countries. *International journal of cancer*. 1990;46(4):597-603.
96. Richard J, Sainsbury C, Needham G, Farndon J, Malcolm A, Harris A. Epidermal-growth-factor receptor status as predictor of early recurrence of and death from breast cancer. *The Lancet*. 1987;329(8547):1398-402.
97. Guérin M, Gabillot M, Mathieu MC, Travagli JP, Spielmann M, Andrieu N, et al. Structure and expression of c-erbB-2 and EGF receptor genes in inflammatory and non-inflammatory breast cancer: prognostic significance. *International journal of cancer*. 1989;43(2):201-8.
98. Battaglia F, Scambia G, Rossi S, Panici PB, Bellantone R, Polizzi G, et al. Epidermal growth factor receptor in human breast cancer: correlation with steroid hormone receptors and axillary lymph node involvement. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*. 1988;24(11):1685-90.
99. Bargmann CI, Hung M-C, Weinberg RA. Multiple independent activations of the neu oncogene by a point mutation altering the transmembrane domain of p185. *Cell*. 1986;45(5):649-57.
100. De Potter CR, Schelfhout A-M. The neu-protein and breast cancer. *Virchows Archiv*. 1995;426(2):107-15.
101. Urruticoechea A, Smith IE, Dowsett M. Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer. *Journal of clinical oncology*. 2005;23(28):7212-20.
102. Trihia H, Murray S, Price K, Gelber RD, Golouh R, Goldhirsch A, et al. Ki-67 expression in breast carcinoma: Its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors—A surrogate marker? *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 2003;97(5):1321-31.
103. Olivier M, Langer A, Carrieri P, Bergh J, Klaar S, Eyfjord J, et al. The clinical value of somatic TP53 gene mutations in 1,794 patients with breast cancer. *Clinical cancer research*. 2006;12(4):1157-67.
104. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, et al. 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. *J Clin Oncol*. 2013;31(7):860-7.
105. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN, et al. 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. *J Clin Oncol*. 2014;32(27):2959-66.
106. Loi S, Michiels S, Salgado R, Sirtaine N, Jose V, Fumagalli D, et al. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for

- trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. *Ann Oncol*. 2014;25(8):1544-50.
107. Dieci MV, Criscitiello C, Goubar A, Viale G, Conte P, Guarneri V, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study. *Ann Oncol*. 2015;26(7):1518.
 108. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Muller BM, Komor M, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28(1):105-13.
 109. 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):44288-98.
 110. Muenst S, Schaerli AR, Gao F, Daster S, Trella E, Drieser RA, et al. Expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;146(1):15-24.
 111. Bae SB, Cho HD, Oh MH, Lee JH, Jang SH, Hong SA, et al. Expression of Programmed Death Receptor Ligand 1 with High Tumor-Infiltrating Lymphocytes Is Associated with Better Prognosis in Breast Cancer. *J Breast Cancer*. 2016;19(3):242-51.
 112. Giuliano AE, Edge SB, Hortobagyi GN. Eighth Edition of the AJCC Cancer Staging Manual: Breast Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2018;25(7):1783-5.
 113. Morrow M, Strom EA, Bassett LW, Dershaw DD, Fowble B, Giuliano A, et al. Standard for breast conservation therapy in the management of invasive breast carcinoma. *CA Cancer J Clin*. 2002;52(5):277-300.
 114. Newman LA. Decision Making in the Surgical Management of Invasive Breast Cancer-Part 1: Lumpectomy, Mastectomy, and Contralateral Prophylactic Mastectomy. *Oncology (Williston Park)*. 2017;31(5):359-68.
 115. Fischer JP, Wes AM, Tuggle CT, Nelson JA, Tchou JC, Serletti JM, et al. Mastectomy with or without immediate implant reconstruction has similar 30-day perioperative outcomes. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2014;67(11):1515-22.
 116. Veronesi U, Saccozzi R, Del Vecchio M, Banfi A, Clemente C, De Lena M, et al. Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy in patients with small cancers of the breast. *N Engl J Med*. 1981;305(1):6-11.
 117. Arriagada R, Le MG, Rochard F, Contesso G. Conservative treatment versus mastectomy in early breast cancer: patterns of failure with 15 years of follow-up data. Institut Gustave-Roussy Breast Cancer Group. *J Clin Oncol*. 1996;14(5):1558-64.
 118. McDonald ES, Clark AS, Tchou J, Zhang P, Freedman GM. Clinical diagnosis and management of breast cancer. *J Nucl Med*. 2016;57(Suppl 1):9S-16S.
 119. Mittendorf EA, K.K H. Diseases of the Breast In: Townsend C., editor. *Sabiston Textbook of Surgery*. 20th ed: Elsevier.
 120. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Annals of surgery*. 1994;220(3):391.
 121. Giuliano AE, Hunt KK, Ballman KV, Beitsch PD, Whitworth PW, Blumencranz PW, et al. Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: a randomized clinical trial. *Jama*. 2011;305(6):569-75.
 122. Group EBCTC. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *The Lancet*. 2005;366(9503):2087-106.

123. Hughes LL, Wang M, Page DL, Gray R, Solin LJ, Davidson NE, et al. Local excision alone without irradiation for ductal carcinoma in situ of the breast: a trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol.* 2009;27(32):5319-24.
124. Gradishar WJ, Anderson BO, Blair SL, Burstein HJ, Cyr A, Elias AD, et al. Breast cancer version 3.2014. *J Natl Compr Canc Netw.* 2014;12(4):542-90.
125. Haviland JS, Owen JR, Dewar JA, Agrawal RK, Barrett J, Barrett-Lee PJ, et al. The UK Standardisation of Breast Radiotherapy (START) trials of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer: 10-year follow-up results of two randomised controlled trials. *Lancet Oncol.* 2013;14(11):1086-94.
126. The National Comprehensive Cancer Network. Breast Cancer 2020 [Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast.pdf].
127. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, Pritchard KI, Albain KS, Hayes DF, et al. Adjuvant chemotherapy guided by a 21-gene expression assay in breast cancer. *New England Journal of Medicine.* 2018;379(2):111-21.
128. Albain KS, Barlow WE, Shak S, Hortobagyi GN, Livingston RB, Yeh I-T, et al. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *The lancet oncology.* 2010;11(1):55-65.
129. Stemmer SM, Steiner M, Rizek S, Geffen DB, Nisenbaum B, Peretz T, et al. Clinical outcomes in ER+ HER2-node-positive breast cancer patients who were treated according to the Recurrence Score results: evidence from a large prospectively designed registry. *NPJ Breast Cancer.* 2017;3(1):1-7.
130. Citron ML, Berry DA, Cirincione C, Hudis C, Winer EP, Gradishar WJ, et al. Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential versus concurrent combination chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer: first report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741. *Journal of clinical oncology.* 2003;21(8):1431-9.
131. Group EBCTC. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *The Lancet.* 2005;365(9472):1687-717.
132. Group EBCTC. Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *The lancet.* 2011;378(9793):771-84.
133. Pagan O, Regan MM, Walley BA, Fleming GF, Colleoni M, Láng I, et al. Adjuvant exemestane with ovarian suppression in premenopausal breast cancer. *New England Journal of Medicine.* 2014;371(2):107-18.
134. Gnant M, Mlineritsch B, Stoeger H, Luschin-Ebengreuth G, Knauer M, Moik M, et al. Zoledronic acid combined with adjuvant endocrine therapy of tamoxifen versus anastrozol plus ovarian function suppression in premenopausal early breast cancer: final analysis of the Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group Trial 12. *Annals of Oncology.* 2015;26(2):313-20.
135. Group EBCTC. Aromatase inhibitors versus tamoxifen in early breast cancer: patient-level meta-analysis of the randomised trials. *The Lancet.* 2015;386(10001):1341-52.
136. Metzger Filho O, Giobbie-Hurder A, Mallon E, Gusterson B, Viale G, Winer EP, et al. Relative effectiveness of letrozole compared with tamoxifen for patients with lobular carcinoma in the BIG 1-98 trial. *Journal of Clinical Oncology.* 2015;33(25):2772.
137. Blok E, Derks M, van der Hoeven J, van de Velde C, Kroep J. Extended adjuvant endocrine therapy in hormone-receptor positive early breast cancer: current and future evidence. *Cancer treatment reviews.* 2015;41(3):271-6.

138. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Redmond CK, Kavanah M, Cronin WM, et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1998;90(18):1371-88.
139. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE, Jr., Davidson NE, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353(16):1673-84.
140. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*. 2001;344(11):783-92.
141. Mackey J, Clemons M, Côté M, Delgado D, Dent S, Paterson A, et al. Cardiac management during adjuvant trastuzumab therapy: recommendations of the Canadian Trastuzumab Working Group. *Current Oncology*. 2008;15(1):24.
142. Von Minckwitz G, Procter M, De Azambuja E, Zardavas D, Benyunes M, Viale G, et al. Adjuvant pertuzumab and trastuzumab in early HER2-positive breast cancer. *New England Journal of Medicine*. 2017;377(2):122-31.
143. Swain SM, Baselga J, Kim S-B, Ro J, Semiglazov V, Campone M, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(8):724-34.
144. Verma S, Miles D, Gianni L, Krop IE, Welslau M, Baselga J, et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(19):1783-91.
145. Medina PJ, Goodin S. Lapatinib: a dual inhibitor of human epidermal growth factor receptor tyrosine kinases. *Clinical therapeutics*. 2008;30(8):1426-47.
146. Martin M, Holmes FA, Ejlertsen B, Delaloge S, Moy B, Iwata H, et al. Neratinib after trastuzumab-based adjuvant therapy in HER2-positive breast cancer (ExteNET): 5-year analysis of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(12):1688-700.
147. Oakman C, Moretti E, Pacini G, Santarpia L, Di Leo A. Triple negative breast cancer: a heterogeneous subgroup denned by what it is not. *European Journal of Cancer*. 2011;47:S370-S2.
148. Badve S, Dabbs DJ, Schnitt SJ, Baehner FL, Decker T, Eusebi V, et al. Basal-like and triple-negative breast cancers: a critical review with an emphasis on the implications for pathologists and oncologists. *Modern Pathology*. 2011;24(2):157-67.
149. Thike AA, Cheok PY, Jara-Lazaro AR, Tan B, Tan P, Tan PH. Triple-negative breast cancer: clinicopathological characteristics and relationship with basal-like breast cancer. *Modern pathology*. 2010;23(1):123-33.
150. Chiorean R, Braicu C, Berindan-Neagoe I. Another review on triple negative breast cancer. Are we on the right way towards the exit from the labyrinth? *The Breast*. 2013;22(6):1026-33.
151. Cadoo KA, McArdle O, O'Shea A-M, Power CP, Hennessy BT. Management of unusual histological types of breast cancer. *The oncologist*. 2012;17(9):1135.
152. Dent R, Hanna WM, Trudeau M, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Pattern of metastatic spread in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;115(2):423-8.
153. Bianchini G, Balko JM, Mayer IA, Sanders ME, Gianni L. Triple-negative breast cancer: challenges and opportunities of a heterogeneous disease. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016;13(11):674-90.
154. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(20):1938-48.

155. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet*. 2014;384(9938):164-72.
156. Tomao F, Papa A, Zaccarelli E, Rossi L, Caruso D, Minozzi M, et al. Triple-negative breast cancer: new perspectives for targeted therapies. *Onco Targets Ther*. 2015;8:177-93.
157. Diaz LK, Cryns VL, Symmans WF, Sneige N. Triple negative breast carcinoma and the basal phenotype: from expression profiling to clinical practice. *Adv Anat Pathol*. 2007;14(6):419-30.
158. Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, Begin LR, Goffin JR, Wong N, et al. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95(19):1482-5.
159. Cakir A, Gonul, II, Uluoglu O. A comprehensive morphological study for basal-like breast carcinomas with comparison to nonbasal-like carcinomas. *Diagn Pathol*. 2012;7:145.
160. Bertucci F, Finetti P, Cervera N, Charafe-Jauffret E, Mamessier E, Adélaïde J, et al. Gene expression profiling shows medullary breast cancer is a subgroup of basal breast cancers. *Cancer research*. 2006;66(9):4636-44.
161. Diaz LK, Cryns VL, Symmans WF, Sneige N. Triple negative breast carcinoma and the basal phenotype: from expression profiling to clinical practice. *Advances in anatomic pathology*. 2007;14(6):419-30.
162. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331(6024):1565-70.
163. Old LJ, Boyse EA. Immunology of experimental tumors. *Annual review of medicine*. 1964;15(1):167-86.
164. Murala S, Alli V, Kreisel D, Gelman AE, Krupnick AS. Current status of immunotherapy for the treatment of lung cancer. *Journal of thoracic disease*. 2010;2(4):237.
165. Wright SE. Immunotherapy of breast cancer. *Expert opinion on biological therapy*. 2012;12(4):479-90.
166. Shore ND. Advances in the understanding of cancer immunotherapy. *BJU international*. 2015;116(3):321-9.
167. Rothschild SI, Thommen DS, Moersig W, Müller P, Zippelius A. Cancer immunology—development of novel anti-cancer therapies. *Swiss medical weekly*. 2015;145(0506).
168. Wang D-h, Guo L, Wu X-h. Checkpoint inhibitors in immunotherapy of ovarian cancer. *Tumor Biology*. 2015;36(1):33-9.
169. Ernst B, Anderson KS. Immunotherapy for the treatment of breast cancer. *Current oncology reports*. 2015;17(2):5.
170. Callahan MK, Wolchok JD. At the bedside: CTLA-4-and PD-1-blocking antibodies in cancer immunotherapy. *Journal of leukocyte biology*. 2013;94(1):41-53.
171. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2010;363(8):711-23.
172. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*. 2012;12(4):252-64.
173. Stagg J, Allard B. Immunotherapeutic approaches in triple-negative breast cancer: latest research and clinical prospects. *Therapeutic advances in medical oncology*. 2013;5(3):169-81.

174. Sharma P, Wagner K, Wolchok JD, Allison JP. Novel cancer immunotherapy agents with survival benefit: recent successes and next steps. *Nature Reviews Cancer*. 2011;11(11):805-12.
175. Rudd CE, Taylor A, Schneider H. CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction. *Immunological reviews*. 2009;229(1):12-26.
176. Chen L, Flies DB. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nature Reviews Immunology*. 2013;13(4):227-42.
177. Carreno BM, Bennett F, Chau TA, Ling V, Luxenberg D, Jussif J, et al. CTLA-4 (CD152) can inhibit T cell activation by two different mechanisms depending on its level of cell surface expression. *The Journal of Immunology*. 2000;165(3):1352-6.
178. Pedoeem A, Azoulay-Alfaguter I, Strazza M, Silverman GJ, Mor A. Programmed death-1 pathway in cancer and autoimmunity. *Clinical Immunology*. 2014;153(1):145-52.
179. Gatalica Z, Snyder C, Maney T, Ghazalpour A, Holtermann DA, Xiao N, et al. 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):2965-70.
180. Kisielow M, Kisielow J, Capoferri-Sollami G, Karjalainen K. Expression of lymphocyte activation gene 3 (LAG-3) on B cells is induced by T cells. *European journal of immunology*. 2005;35(7):2081-8.
181. Triebel F, Jitsukawa S, Baixeras E, Roman-Roman S, Genevee C, Viegas-Pequignot E, et al. LAG-3, a novel lymphocyte activation gene closely related to CD4. *The Journal of Experimental Medicine*. 1990;171(5):1393-405.
182. Huard B, Gaulard P, Faure F, Hercend T, Triebel F. Cellular expression and tissue distribution of the human LAG-3-encoded protein, an MHC class II ligand. *Immunogenetics*. 1994;39(3):213-7.
183. Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, Ryu A, Waldner H, Chernova T, et al. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease. *Nature*. 2002;415(6871):536-41.
184. Zhu C, Anderson AC, Schubart A, Xiong H, Imitola J, Khoury SJ, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nature immunology*. 2005;6(12):1245-52.
185. Wu J, Lin G, Zhu Y, Zhang H, Shi G, Shen Y, et al. Low TIM3 expression indicates poor prognosis of metastatic prostate cancer and acts as an independent predictor of castration resistant status. *Scientific reports*. 2017;7(1):1-9.
186. Yu M, Lu B, Liu Y, Me Y, Wang L, Zhang P. Tim-3 is upregulated in human colorectal carcinoma and associated with tumor progression. *Molecular medicine reports*. 2017;15(2):689-95.
187. Kuchroo VK, Umetsu DT, DeKruyff RH, Freeman GJ. The TIM gene family: emerging roles in immunity and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2003;3(6):454-62.
188. Anderson AC, Anderson DE. TIM-3 in autoimmunity. *Current opinion in immunology*. 2006;18(6):665-9.
189. Fourcade J, Sun Z, Benallaoua M, Guillaume P, Luescher IF, Sander C, et al. Upregulation of Tim-3 and PD-1 expression is associated with tumor antigen-specific CD8+ T cell dysfunction in melanoma patients. *Journal of Experimental Medicine*. 2010;207(10):2175-86.
190. Gao X, Zhu Y, Li G, Huang H, Zhang G, Wang F, et al. TIM-3 expression characterizes regulatory T cells in tumor tissues and is associated with lung cancer progression. *PloS one*. 2012;7(2).

191. Yang Z-Z, Grote DM, Ziesmer SC, Niki T, Hirashima M, Novak AJ, et al. IL-12 upregulates TIM-3 expression and induces T cell exhaustion in patients with follicular B cell non-Hodgkin lymphoma. *The Journal of clinical investigation*. 2012;122(4):1271-82.
192. Zhou Q, Munger ME, Veenstra RG, Weigel BJ, Hirashima M, Munn DH, et al. Coexpression of Tim-3 and PD-1 identifies a CD8⁺ T-cell exhaustion phenotype in mice with disseminated acute myelogenous leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2011;117(17):4501-10.
193. Ngiow SF, Von Scheidt B, Akiba H, Yagita H, Teng MW, Smyth MJ. Anti-TIM3 antibody promotes T cell IFN- γ -mediated antitumor immunity and suppresses established tumors. *Cancer research*. 2011;71(10):3540-51.
194. Sakuishi K, Apetoh L, Sullivan JM, Blazar BR, Kuchroo VK, Anderson AC. Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity. *Journal of Experimental Medicine*. 2010;207(10):2187-94.
195. Frederick DT, Piris A, Cogdill AP, Cooper ZA, Lezcano C, Ferrone CR, et al. BRAF inhibition is associated with enhanced melanoma antigen expression and a more favorable tumor microenvironment in patients with metastatic melanoma. *Clinical cancer research*. 2013;19(5):1225-31.
196. Koya RC, Mok S, Otte N, Blacketer KJ, Comin-Anduix B, Tumei PC, et al. BRAF inhibitor vemurafenib improves the antitumor activity of adoptive cell immunotherapy. *Cancer research*. 2012;72(16):3928-37.
197. Boni A, Cogdill AP, Dang P, Udayakumar D, Njauw C-NJ, Sloss CM, et al. Selective BRAFV600E inhibition enhances T-cell recognition of melanoma without affecting lymphocyte function. *Cancer research*. 2010;70(13):5213-9.
198. McArthur GA, Ribas A. Targeting oncogenic drivers and the immune system in melanoma. *Journal of clinical oncology*. 2013;31(4):499-506.
199. Zhang H, Xiang R, Wu B, Li J, Luo G. T-cell immunoglobulin mucin-3 expression in invasive ductal breast carcinoma: Clinicopathological correlations and association with tumor infiltration by cytotoxic lymphocytes. *Molecular and clinical oncology*. 2017;7(4):557-63.
200. Cao Y, Zhou X, Huang X, Li Q, Gao L, Jiang L, et al. Tim-3 expression in cervical cancer promotes tumor metastasis. *PloS one*. 2013;8(1).
201. Jiang J, Jin M-S, Kong F, Cao D, Ma H-X, Jia Z, et al. Decreased galectin-9 and increased Tim-3 expression are related to poor prognosis in gastric cancer. *PloS one*. 2013;8(12).
202. Wu J, Liu C, Qian S, Hou H. The expression of Tim-3 in peripheral blood of ovarian cancer. *DNA and cell biology*. 2013;32(11):648-53.
203. Han S, Feng S, Xu L, Shi W, Wang X, Wang H, et al. Tim-3 on peripheral CD4⁺ and CD8⁺ T cells is involved in the development of glioma. *DNA and cell biology*. 2014;33(4):245-50.
204. Anderson AC. Tim-3, a negative regulator of anti-tumor immunity. *Current opinion in immunology*. 2012;24(2):213-6.
205. Ibrahim EM, Al-Foheidi ME, Al-Mansour MM, Kazkaz GA. The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer: a meta-analysis. *Breast cancer research and treatment*. 2014;148(3):467-76.
206. Savas P, Salgado R, Denkert C, Sotiriou C, Darcy PK, Smyth MJ, et al. Clinical relevance of host immunity in breast cancer: from TILs to the clinic. *Nature reviews Clinical oncology*. 2016;13(4):228.
207. Cimino-Mathews A, Thompson E, Taube JM, Ye X, Lu Y, Meeker A, et al. PD-L1 (B7-H1) expression and the immune tumor microenvironment in primary and metastatic breast carcinomas. *Human pathology*. 2016;47(1):52-63.

208. Li X, Li M, Lian Z, Zhu H, Kong L, Wang P, et al. Prognostic role of programmed death ligand-1 expression in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Targeted oncology*. 2016;11(6):753-61.
209. Stovgaard ES, Nielsen D, Hogdall E, Balslev E. Triple negative breast cancer—prognostic role of immune-related factors: a systematic review. *Acta Oncologica*. 2018;57(1):74-82.
210. Burugu S, Gao D, Leung S, Chia SK, Nielsen TO. TIM-3 expression in breast cancer. *Oncoimmunology*. 2018;7(11):e1502128.
211. Solinas C, Garaud S, De Silva P, Boisson A, Van den Eynden G, de Wind A, et al. Immune checkpoint molecules on tumor-infiltrating lymphocytes and their association with tertiary lymphoid structures in human breast cancer. *Frontiers in immunology*. 2017;8:1412.
212. Byun KD, Hwang HJ, Park KJ, Kim MC, Cho SH, Ju MH, et al. T-cell immunoglobulin mucin 3 expression on tumor infiltrating lymphocytes as a positive prognosticator in triple-negative breast cancer. *Journal of breast cancer*. 2018;21(4):406-14.
213. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer*. 2007;109(1):25-32.
214. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, et al. Triple-Negative Breast Cancer: Clinical Features and Patterns of Recurrence. *Clinical Cancer Research*. 2007;13(15):4429-34.
215. Thike AA, Cheok PY, Jara-Lazaro AR, Tan B, Tan P, Tan PH. Triple-negative breast cancer: clinicopathological characteristics and relationship with basal-like breast cancer. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2010;23(1):123-33.
216. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer*. 2007;109(1):25-32.
217. Zhang S, Zhang D, Yi S, Gong M, Lu C, Cai Y, et al. The relationship of lymphatic vessel density, lymphovascular invasion, and lymph node metastasis in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(2):2863-73.
218. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, Obeid M, Ortiz C, Criollo A, et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Nature medicine*. 2007;13(9):1050-9.
219. Li H, Wu K, Tao K, Chen L, Zheng Q, Lu X, et al. Tim-3/galectin-9 signaling pathway mediates T-cell dysfunction and predicts poor prognosis in patients with hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2012;56(4):1342-51.
220. Liu JF, Ma SR, Mao L, Bu LL, Yu GT, Li YC, et al. T-cell immunoglobulin mucin 3 blockade drives an antitumor immune response in head and neck cancer. *Molecular oncology*. 2017;11(2):235-47.