T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

İNVAZİV DUKTAL MEME KANSERİ HASTALARINDA LENF NODU POZİTİFLİĞİNİN İMMUN CHECKPOİNT WASHOUT İLE BELİRLENMESİ

DR. MERT ALİ DÖLEK

GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ
TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL / 2026

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

İNVAZİV DUKTAL MEME KANSERİ HASTALARINDA LENF NODU POZİTİFLİĞİNİN İMMUN CHECKPOİNT WASHOUT İLE BELİRLENMESİ

DR. MERT ALİ DÖLEK

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. UFUK OĞUZ İDİZ

GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ
TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL / 2026

İTHAF

“Canım eşim, değerli annem ve babama ithaf ediyorum”

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi, deneyim ve rehberliği ile bana yol gösteren, akademik ve mesleki gelişimime büyük katkı sağlayan tez danışmanım Doç. Dr. Ufuk Oğuz İdiz'e,

Cerrahlık mesleğini öğrenme sürecinde zaman zaman zorluklar ve yorgunluklar yaşasam da, hastalara faydalı olabilmenin ve onların hayatlarına dokunabilmenin verdiği anlamla şekillenen bu uzun ve meşakkatli yolculukta; bilgi, deneyim ve duruşlarıyla bana katkı sağlayan Doç. Dr. Ekrem Çakar ve Prof. Dr. Mert Mahsuni Sevinç hocalarıma,

Klinik bilgi ve becerilerini büyük bir özveri ile paylaşan Doç. Dr. Bünyamin Gürbulak, Doç. Dr. Kenan Büyükaşık, Dr. Erol Aydın ve emeği geçen tüm abilerime ve ablalarıma,

Meslek hayatımda yalnızca çalışma arkadaşlığını değil, aynı zamanda bir ekip ve aile olmanın değerini bana gösteren; iyi ve zor zamanlarımda yanımda olan, desteklerini her zaman hissettiren kıdemlilerime,

Bu yolculuğu birlikte paylaştığım, her koşulda yanımda olan ve desteğini her zaman hissettiğim eş kıdemli arkadaşım Dr. Münevver Dilara Yurtbaşı'na; yoğun nöbetlerde, zorlu ameliyat süreçlerinde ve günlük klinik pratikte birlikte uyum içinde çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma,

Tezime 28.05.2025 tarihli EPK kararı ile maddi destek sağlayan İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne ve 2024/113 numaralı proje kapsamında destek veren Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi'ne,

Hayatımın her döneminde yanımda olan, özellikle zor zamanlarımda desteğini en güçlü şekilde hissettiren; varlığıyla bana huzur ve güç veren, aynı zamanda tez çalışmam kapsamında yer alan şekillerin hazırlanmasında da emeği bulunan canım eşim Gamze Şahin Dölek'e,

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan, beni yetiştiren, maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiren, üzerimde sonsuz emeği bulunan babam Mehmet Ali Dölek ve annem Emel Kurter Dölek'e

en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

İTHAF i
TEŞEKKÜR ii
İÇİNDEKİLER iii
TABLOLAR LİSTESİ v
ŞEKİLLER LİSTESİ vii
SİMGELER VE KISALTMALAR viii
ÖZET x
ABSTRACT xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 6
2.1. EMBRİYOLOJİ 6
2.2. MEMENİN ANATOMİSİ 7
2.2.1. Memenin Arterleri ve Venleri 10
2.2.2. Memenin Sinirleri 11
2.2.3 Memenin Lenfatikleri ve Aksilla 12
2.3. MEME KANSERİ 15
2.3.1 Meme Kanseri Epidemiyolojisi 15
2.3.2 Meme Kanseri Etiyolojisi 16
2.3.3. Meme Kanseri Klinik Bulgular 19
2.3.4. Meme Kanseri Tanı ve Görüntüleme Yöntemleri 20
2.3.5. Meme Kanseri Histopatolojisi 24
2.3.6. Meme Kanseri Evreleme 26
2.3.7. Meme Kanserinin Moleküler Alt Tipleri 33
2.3.7.1. Luminal A 33
2.3.7.2 Luminal B 33
2.3.7.3. HER2(+) 34
2.3.7.4. Triple Negatif (Basal-Like) 35
2.3.8. Meme Kanseri Prognostik Faktörler 36
2.3.9. Meme Kanseri Tedavisi 38
2.3.9.1. Cerrahi Tedavi: 39
2.3.10. Meme Cerrahisi Sonrası Komplikasyonlar 44
2.4. İMMÜN SİSTEM 45
2.4.1. Doğal Bağışıklık 46

2.4.2. Edinsel Bağışıklık 49
2.4.3. Kanser ve İmmun Sistem 51
2.4.4. İmmunoterapi 53
2.4.4.1. Kanser Aşıları 53
2.4.4.2. Adaptif İmmunoterapi 54
2.4.4.3. İmmun Kontrol Noktaları 54
2.4.4.4. İmmun Kontrol Noktası İnhibitörleri 55
2.4.4.5. Çözünür İmmun Kontrol Noktaları. 57
3.GEREÇ VE YÖNTEM 65
3.1. ÇALIŞMA TASARIMI VE HASTA POPULASYONU 65
3.2. NEOADJUVAN TEDAVİ REJİMLERİ 67
3.3. ÇÖZÜNÜR İMMUN KONTROL NOKTASI PROTEİNLERİNİN ÖLÇÜMÜ 68
3.4. ETİK KURUL ONAYI 68
3.5. ÖRNEKLEM BÜYÜKLÜĞÜ 69
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 69
4. BULGULAR 71
5. TARTIŞMA 94
6. SONUÇ 114
KAYNAKLAR 116

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: İn situ meme karsinomları: duktal karsinoma in situ (DCIS) ve lobüler karsinoma in situ (LCIS)'nin klinik, radyolojik ve patolojik özelliklerinin karşılaştırılması (83,84)..... 26

Tablo 2.2: HER2 skorlaması..... 32

Tablo 2.3: Meme kanseri evrelendirmesi..... 32

Tablo 2.4: Meme kanseri intrinsik alt tipleri..... 36

Tablo 4.1: Hastaların demografik ve kliniko-patolojik özellikleri..... 71

Tablo 4.2: Neoadjuvan tedavi öncesi benign ve malign lenf nodu washout örneklerinde immün kontrol noktası düzeylerinin karşılaştırılması 72

Tablo 4.3: Neoadjuvan tedavi öncesi benign ve malign lenf nodlarının ayırımında immün kontrol noktası belirteçlerinin ROC analizi sonuçları 73

Tablo 4.4: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçlerinin karşılaştırılması 74

Tablo 4.5: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki çözünür immün kontrol noktası düzeylerinin karşılaştırılması..... 75

Tablo 4.6: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodundaki immün kontrol noktası düzeylerinin karşılaştırılması..... 76

Tablo 4.7: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçlerinin mutlak ve yüzdesel değişimlerinin patolojik tam yanıta göre karşılaştırılması 77

Tablo 4.8: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki immün kontrol noktalarının mutlak ve yüzdesel değişimlerinin patolojik tam yanıta göre karşılaştırılması 79

Tablo 4.9: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodundaki immün kontrol noktalarının mutlak ve yüzdesel değişimlerinin patolojik tam yanıta göre karşılaştırılması 81

Tablo 4.10: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçlerinin mutlak ve yüzdesel değişimlerinin lenf nodu yanıt durumuna göre karşılaştırılması..... 83

Tablo 4.11: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki immün kontrol noktalarının mutlak ve yüzdesel değişimlerinin lenf nodu yanıt durumuna göre karşılaştırılması 85

Tablo 4.12: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodundaki immün kontrol noktalarının mutlak ve yüzdesel değişimlerinin lenf nodu yanıt durumuna göre karşılaştırılması 87

Tablo 4.13: Lenf nodu tam yanıtı elde edilen hastalarda neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçlerinin karşılaştırılması..... 88

Tablo 4.14: Lenf nodu tam yanıtı elde edilen hastalarda neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki çözünür immün kontrol noktası düzeylerinin karşılaştırılması 89

Tablo 4.15: Lenf nodu tam yanıtı elde edilen hastalarda neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodu washout örneklerinde çözünür immün kontrol noktası düzeylerinin karşılaştırılması 90

Tablo 4.16: Klinik parametreler ile immün belirteçler ve hematolojik parametreler arasındaki anlamlı korelasyonlar..... 91

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Memenin sagittal kesiti 9

Şekil 2.2: Memenin anterior ve sagittal kesiti 9

Şekil 2.3: Memenin arterleri ve venleri 11

Şekil 2.4: Memenin lenfleri 14

Şekil 2.5: Memenin lenf istasyonları 14

SİMGELER VE KISALTMALAR

AJCC : American Joint Committee on Cancer

ALND : Aksiller Lenf Nodu Diseksiyonu

APC : Antijen Sunan Hücre

BCR : B Hücre Reseptörleri

BCS : Meme Koruyucu Cerrahi

BI-RADS : Breast Imaging Reporting and Data System

BT : Bilgisayarlı Tomografi

CAP : College of American Pathologists

DBT : Dijital Meme Tomosentezi

DC : Dendritik Hücreler

DCIS : Duktal Karsinoma İn Situ

ER : Östrojen Reseptörü

FNA-Tg : İnce İğne Aspirasyon Tiroglobulin

HER2 : İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü-2

IBC-NST : İnvaziv Meme Karsinomu, Özel Bir Tipi Olmayan

IGF-1 : İnsülin-benzeri Büyüme Faktörü-1

IL : İnterlökin

ILC : İnnate Lenfoid Hücreler

ISH : İn Situ Hibridizasyon

İHK : İmmünohistokimyasal

İİAB : İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi

İKNİ : İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri

KGF : Keratinosit Büyüme Faktörü

LCIS : Lobuler Karsinoma İn Situ

LPS : Lipopolisakkarit

MHC : Majör Histokompatibilite Kompleksi

MIR : Mortalite-İnsidans Oranı

MMP : Matriks Metalloproteinazlar

MRI : Manyetik Rezonans Görüntüleme

NK : Doğal Öldürücü

NST : Neoadjuvan Sistemik Tedavi

PAMP : Patojen İlişkili Moleküler Kalıpları

pCR : Patolojik Tam Yanıt

PD-L1 : Programlanmış Ölüm Ligandı 1

PET : Pozitron Emisyon Tomografisi

PR : Progesteron Reseptörü

PRR : Patojen İlişkili Moleküler Kalıpları Tanıyan Reseptörler

SBR : Scarff-Bloom-Richardson

SLNB : Sentinel Lenf Nodu Biyopsisi

TCR : T Hücre Reseptörü

TDLU : Terminal Duktal Lobuler Ünite

TLR : Toll-benzeri Reseptörler

TME : Tümör Mikroçevresi

TNF : Tümör Nekroz Faktörü

TNBC : Triple-Negatif Meme Kanseri

VKİ : Vücut Kitle İndeksi

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

İNVAZİV DUKTAL MEME KANSERİ HASTALARINDA LENF NODU POZİTİFLİĞİNİN İMMUN CHECKPOİNT WASHOUT İLE BELİRLENMESİ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, aksiller lenf nodu pozitif invaziv duktal meme karsinomlu hastalarda ultrasonografi eşliğinde ince iğne aspirasyonu ile elde edilen lenf nodu washout örneklerinde çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin düzeylerini araştırmak, bu belirteçlerin metastatik lenf nodu varlığını öngörmedeki tanısal performansını belirlemek ve neoadjuvan sistemik tedavinin söz konusu belirteçler üzerindeki etkisini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Prospektif olarak tasarlanan çalışmaya, histopatolojik olarak invaziv duktal karsinom tanısı almış ve aksiller lenf nodu metastazı saptanmış 30 hasta dahil edildi. Her hastadan aynı aksillada ultrasonografik olarak metastatik ve benign olarak değerlendirilen birer lenf nodundan washout örnekleri ile eş zamanlı kan örnekleri neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası olmak üzere iki zaman noktasında toplandı. Washout ve kan örneklerinde 12 çözünür immün kontrol noktası belirteci (sCD25, s4-1BB, sCD27, sB7.2, serbest aktif TGF-β1, sCTLA-4, sPD-L1, sPD-L2, sPD-1, sTim-3, sLAG-3, sGalectin-9) multipleks immünolojik yöntemle ölçüldü. Tanısal performans ROC eğri analizi ile değerlendirildi.

Bulgular: İncelenen 12 belirteçten 9'u malign lenf nodu washout örneklerinde benign örneklere kıyasla anlamlı düzeyde yüksek saptandı. En yüksek ayırt edici değerler sGalectin-9 (AUC=0,798), sPD-L1 (AUC=0,753), sTim-3 (AUC=0,736) ve sLAG-3 (AUC=0,733) belirteçlerinde elde edildi. Neoadjuvan tedavi sonrası malign lenf nodu washout düzeyinde 12 belirteçten 11'inde belirgin azalma gözlenirken, kanda sTim-3 ve sGalectin-9 düzeylerinde artış saptandı.

Sonuç: Aksiller lenf nodu washout örneklerinde çözünür immün kontrol noktası belirteçleri, metastatik lenf nodunun saptanmasında umut vaat eden tanısal potansiyel taşımaktadır. Sistemik ve lokal immün yanıtların birbirinden bağımsız dinamikler sergilemesi, washout materyalinin kan bazlı ölçümlerin ötesinde ek bilgi sağladığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Aksiller Lenf Nodu, Biyobelirteç, Çözünür İmmün Kontrol Noktaları, Meme Kanseri, Neoadjuvan Kemoterapi, Washout

DETERMINATION OF LYMPH NODE POSITIVITY BY IMMUNE CHECKPOINT WASHOUT IN PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL BREAST CANCER

ABSTRACT

Aim: This study's aim is to investigate the levels of soluble immune checkpoint markers in ultrasound-guided fine-needle aspiration lymph node washout samples from patients with axillary lymph node–positive invasive ductal breast carcinoma, to determine the diagnostic performance of these markers in predicting metastatic lymph node involvement, and to evaluate the effects of neoadjuvant systemic therapy on these markers.

Materials and Methods: This prospective study enrolled 30 patients with histopathologically confirmed invasive ductal carcinoma and documented axillary lymph node metastasis. Washout samples were obtained from ultrasonographically identified metastatic and benign lymph nodes within the same axilla, along with paired blood samples, at two time points: before and after neoadjuvant therapy. Twelve soluble immune checkpoint markers (sCD25, s4-1BB, sCD27, sB7.2, free active TGF-β1, sCTLA-4, sPD-L1, sPD-L2, sPD-1, sTIM-3, sLAG-3, and sGalectin-9) were measured using a multiplex immunoassay platform. Diagnostic accuracy was assessed by receiver operating characteristic curve analysis.

Results: Nine of the 12 markers were significantly elevated in malignant compared with benign lymph node washout samples. The highest discriminatory values were observed for sGalectin-9 (AUC=0.798), sPD-L1 (AUC=0.753), sTIM-3 (AUC=0.736), and sLAG-3 (AUC=0.733). Following neoadjuvant therapy, 11 of 12 markers markedly decreased in malignant lymph node washout samples, whereas serum sTIM-3 and sGalectin-9 levels increased.

Conclusion: Soluble immune checkpoint markers in axillary lymph node washout samples demonstrate promising diagnostic potential for detecting metastatic lymph nodes. The divergent dynamics between systemic and local immune responses indicate that washout analysis provides complementary information beyond conventional serum-based measurements.

Key Words: Axillary Lymph Node, Biomarker, Breast Cancer, Neoadjuvant Chemotherapy, Soluble Immune Checkpoints, Washout

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri, tüm maligniteler arasında küresel ölçekte en sık tanı konulan kanser türü olup, her yıl yaklaşık iki milyon yeni olgudan sorumlu olduğu bildirilmektedir. Kadınlarda kansere bağlı mortalitenin en önemli nedenlerinden biri olan bu hastalık, özellikle Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre, kansere bağlı ölümler arasında ikinci en yaygın ölüm nedeni olarak rapor edilmiştir (1).

İnvaziv meme kanserleri histopatolojik olarak başlıca invaziv duktal ve invaziv lobüler karsinom olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Bununla birlikte, toplam olguların yaklaşık %10'unu oluşturan ve morfolojik özelliklerine göre tanımlanan özel tip invaziv meme karsinomları da güncel Dünya Sağlık Örgütü (WHO) meme tümörleri sınıflamasında ayrı bir kategori altında yer almaktadır (2).

İnvaziv duktal karsinom, invaziv meme kanserleri arasında en sık görülen histolojik alt tip olup tüm olguların yaklaşık %70–80'ini oluşturmaktadır. Güncel terminolojide bu tümörler "özel tip olmayan invaziv karsinom" olarak tanımlanmakta ve *invasive carcinoma of no special type (NST)* terimi kullanılmaktadır. Bu terminoloji, daha önce kullanılan "invasive ductal carcinoma, not otherwise specified (NOS)" ifadesinin yerini almıştır (2).

İnvaziv duktal karsinom olgularında aksiller lenf nodu metastazı sıklığı, hastalığın tanı anındaki evresine göre değişkenlik göstermektedir. Tarama programları kapsamında erken evrede saptanan olgularda aksiller lenf nodu metastaz oranlarının yaklaşık %20–30 düzeylerinde olduğu bildirilirken, semptomatik olarak başvuran ve genellikle daha ileri evrede tanı alan hastalarda bu oranın %40–60'a kadar yükselebildiği rapor edilmiştir (3).

Meme kanserinin klinik evrelemesi öncelikle meme dokusu, meme cildi ve bölgesel lenf nodlarının (aksiller, supraklaviküler ve internal mammarian zincir) fizik muayenesi ile başlar. Bununla birlikte, aksiller lenf nodu metastazlarının yalnızca fizik muayene ile saptanmasında doğruluk oranının düşük olduğu ve klinik değerlendirmenin sensitivitesinin yaklaşık %30–35 düzeylerinde kaldığı gösterilmiştir (4). Bu durum, aksiller evrelemede görüntüleme ve biyopsi yöntemlerinin önemini ortaya koymaktadır.

Aksiller ultrasonografi, fizik muayeneye kıyasla lenf nodu metastazını saptamada daha yüksek duyarlılığa sahiptir ve şüpheli lenf nodlarının belirlenmesinde ilk basamak görüntüleme yöntemidir (5). Ultrasonografik olarak şüpheli bulunan lenf nodlarında ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) veya kor biyopsi uygulanması tanısal doğruluğu belirgin şekilde artırmaktadır. Sallout ve arkadaşlarının çalışmasında aksiller metastazların saptanmasında ultrason eşliğinde yapılan İİAB'nin sensitivitesi %89,4, spesifitesi ise %99,2 olarak bildirilmiştir (6). Bu veriler, aksiller evrelemede minimal invaziv girişimlerin yüksek tanısal performansa sahip olduğunu göstermektedir.

Meme kanserinde en yaygın kullanılan evreleme sistemi American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından geliştirilen TNM evreleme sistemidir. Aksiller lenf nodu tutulumu meme kanserinde en önemli prognostik belirteçlerden biridir ve hastalığın evresini doğrudan etkilemektedir. American Joint Committee on Cancer (AJCC) 8. baskı TNM sınıflamasına göre, aksiller lenf nodlarında makrometastaz varlığı (N1) ve uzak metastaz olmaması (M0) durumunda hastalık en az evre IIA olarak sınıflandırılmaktadır. Buna karşılık yalnızca mikrometastatik tutulumun (N1mi) bulunduğu T0–T1 tümörlerde hastalık evre IB olarak değerlendirilebilmektedir (7). Bu durum, nodal metastazın boyutunun dahi evreleme ve dolayısıyla tedavi planlaması açısından belirleyici olduğunu göstermektedir.

Güncel klinik uygulamada, aksiller lenf nodu pozitifliği saptanan ve özellikle klinik olarak N1–N2 evresinde değerlendirilen invaziv duktal karsinomlu hastalar sıklıkla neoadjuvan sistemik tedavi adayı olarak kabul edilmektedir (8,9). Neoadjuvan tedavinin temel amaçları; tümör yükünü azaltmak, aksiller nodal hastalığı downstage etmek, cerrahi uygulanabilirliği artırmak ve belirli alt gruplarda patolojik tam yanıt (pCR) elde etmektir (8). Ayrıca neoadjuvan tedaviye verilen nodal yanıt, tümörün biyolojik davranışı ve uzun dönem prognoz açısından önemli bilgiler sağlamaktadır (9).

Bu nedenle aksiller lenf nodu durumunun doğru ve güvenilir şekilde belirlenmesi yalnızca evreleme açısından değil, aynı zamanda tedavi stratejisinin planlanması ve tedaviye yanıtın öngörülmesi açısından da kritik öneme sahiptir (8).

Bu klinik gereksinim, aksiller metastazın biyolojik özelliklerini ortaya koyabilecek yeni tanısal yaklaşımların geliştirilmesini gerekli kılmaktadır.

Son yıllarda meme kanserinin yalnızca tümör hücrelerinden ibaret olmadığı; tümör mikroçevresinin, özellikle de immün hücre infiltrasyonunun hastalığın progresyonu ve tedaviye yanıtında belirleyici rol oynadığı gösterilmiştir (10,11). Tümör ve bölgesel lenf nodu mikroçevresinde immün kontrol noktası moleküllerinin ekspresyonu, tümörün immün kaçış mekanizmalarının temel bileşenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (11).

Neoadjuvan sistemik tedavi yalnızca tümör hacmini küçültmekle kalmayıp aynı zamanda tümör ve nodal mikroçevrede immün yanıtı modüle etmektedir. Özellikle PD-1/PD-L1, CTLA-4 ve diğer immün kontrol noktası moleküllerinin düzeylerindeki değişimlerin tedavi yanıtı ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (10,12). Bu bağlamda, metastatik aksiller lenf nodunun immünolojik özelliklerinin ortaya konulması hem tanısal hem de prognostik açıdan önemli bilgiler sağlayabilir.

Tümör mikroçevresi yalnızca primer tümör dokusundan ibaret olmayıp, bölgesel lenf nodlarını da içeren dinamik bir immünolojik ekosistem olarak kabul edilmektedir (10). Bölgesel lenf nodları, antijen sunumu, T hücre aktivasyonu ve immün regülasyon süreçlerinin merkezi olması nedeniyle, tümör-immün sistem etkileşiminin kritik bileşenlerinden biridir. Metastatik lenf nodlarında immün baskılayıcı hücre infiltrasyonu ve immün kontrol noktası moleküllerinin artmış ekspresyonu, tümörün immün kaçış mekanizmalarının önemli göstergeleri olarak tanımlanmıştır (11,13).

İmmün kontrol noktaları arasında özellikle PD-1, PD-L1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3 ve 4-1BB gibi moleküller hem hücre yüzeyinde hem de dolaşımsal çözünür formlarda saptanabilmektedir. Çözünür immün kontrol noktası moleküllerinin serum düzeylerinin birçok solid tümörde hastalık yükü, metastatik yayılım ve prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (11,14). Bununla birlikte, serum düzeyleri sistemik inflamatuvar yanıtı yansıtmakta olup, spesifik bir metastatik odağa ait lokal immün mikroçevreyi tam olarak temsil etmeyebilir. Bu nedenle, metastatik lenf noduna özgü lokal biyobelirteçlerin doğrudan o noddan elde edilmesi, sistemik dolaşımdan

bağımsız olarak metastatik odağın biyolojik özelliklerini yansıtabilmesi açısından yüksek tanısal değer taşımaktadır. Bu yaklaşımın en başarılı örneklerinden biri papiller tiroid kanserinde servikal lenf nodu metastazlarının değerlendirilmesinde kullanılan ince iğne aspirasyon tiroglobulin (FNA-Tg, washout Tg) ölçümüdür.

Çeşitli çalışmalarda FNA-Tg'nin yüksek tanısal performans gösterdiği bildirilmiştir. Chen ve ark.'nın çalışmasında 3.2 ng/mL cutoff değeri ile sensitivite %92,4, spesifite %100 ve AUC 0.918 olarak rapor edilmiştir (15). Kargun ve ark.'nın 176 hastalık serisinde 3.14 ng/mL cutoff değeri ile sensitivite %91,8 ve spesifite %96,6 olarak bulunmuş, İİAB ile kombine kullanımda sensitivitenin %100'e ulaştığı gösterilmiştir (16). Bu bireysel çalışma sonuçlarını destekleyen güncel bir sistematik derleme ve meta-analizde Yu ve ark., FNA-Tg'nin papiller tiroid karsinomunda lenf nodu metastazını saptamadaki tanısal etkinliğini kapsamlı biçimde değerlendirmişlerdir. Havuzlanmış sensitivite %94, spesifite %92 ve AUC 0,98 olarak hesaplanmış olup bu değerler FNA-Tg washout yönteminin mükemmel tanısal doğruluğa sahip olduğunu teyit etmektedir (17). Tiroid kanserinde bu üstün performans, tiroglobulinin yalnızca tiroid folliküler hücreleri tarafından üretilen, organa özgü bir protein olmasından kaynaklanmaktadır. Meme kanserinde ise böyle tek bir organa özgü washout belirteci bulunmamakta olup, bu durum farklı biyolojik yaklaşımların araştırılmasını gerekli kılmaktadır.

Bu veriler, metastatik lenf nodundan elde edilen lokal washout materyalinin, serum biyobelirteçlerine kıyasla metastatik odağı daha özgül ve konsantre biçimde yansıtabildiğini ortaya koymaktadır. Tiroid kanserinde %90'ın üzerinde bildirilen sensitivite ve spesifite oranları, lenf noduna özgü lokal biyokimyasal analiz yaklaşımının klinik olarak uygulanabilir ve güvenilir olduğunu göstermektedir.

Bu bağlamda, metastatik aksiller lenf nodunun immünolojik mikroçevresinin washout örneklemesi yoluyla değerlendirilmesi ve özellikle çözünür immün kontrol noktası moleküllerinin nodal düzeyde analiz edilmesi, meme kanserinde aksiller metastazın saptanmasında yeni ve biyolojik temelli bir tanısal yaklaşım sunabilir.

Bu yaklaşımdan yola çıkarak bu çalışmanın primer amacı, papiller tiroid kanserinde metastatik lenf nodu saptanmasında kullanılan tiroglobulin washout yöntemine benzer şekilde, invaziv duktal karsinomlu meme kanseri hastalarında

aksiller lenf nodu metastazını değerlendirmek amacıyla aksiller washout örneklerinde çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin düzeylerini araştırmaktır. Bu kapsamda, metastatik aksiller lenf nodlarından elde edilen washout örnekleri ile aynı aksillada ultrasonografik olarak benign görünümlü ve ince iğne aspirasyon biyopsisi ile histopatolojik olarak benign olduğu doğrulanmış lenf nodlarından elde edilen washout örnekleri karşılaştırılacaktır. Ayrıca, bu örneklerde saptanan çözünür immün kontrol noktası düzeylerinin serum değerleriyle oranı analiz edilerek, söz konusu belirteçlerin metastatik lenf nodu varlığını öngörmedeki tanısal değerinin belirlenmesi hedeflenmektedir.

Çalışmanın sekonder amacı ise, aksiller lenf nodu pozitif invaziv duktal karsinomlu meme kanseri hastalarında neoadjuvan sistemik tedavi öncesi ve sonrası serum örneklerinde ölçülen çözünür immün kontrol noktası düzeyleri ile malign lenf nodundan elde edilen aksiller washout örneklerindeki çözünür immün kontrol noktası düzeylerinin karşılaştırılması ve tedaviye bağlı biyolojik değişimin ortaya konulmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. EMBRİYOLOJİ

Meme dokusu embriyolojik olarak ektodermden köken almaktadır ve yapısal açıdan modifiye olmuş bir apokrin ter bezi niteliği taşımaktadır. Doğum öncesi gelişim süreci, iki ana aşamada incelenebilir; birincil meme tomurcuğunun oluşumu ve ardından ilkel meme bezinin gelişimi şeklindedir. Embriyogenezin başlangıç safhaları sistemik hormonal etkilerden ziyade lokal doku etkileşimleri ile ilerlerken; özellikle ikinci trimesterden itibaren maternal ve fetal kaynaklı hormonlar ile diğer regülatör faktörlerin morfogenez üzerindeki etkinliği belirgin bir artış göstermektedir (18).

Embriyogenezin erken dönemlerinde, spesifik olarak gestasyonun dördüncü ve altıncı haftalarını kapsayan süreçte, meme dokusuna özgü progenitor hücre hatlarının farklılaşması ve migrasyonu gerçekleşmektedir (19).

Gebeliğin yaklaşık 35. gününde, torasik bölgedeki epidermal epitel hücrelerinde bilateral epitelyal proliferasyon odakları oluşur. Bu proliferatif alanlar, "ana süt çizgileri" (mammary ridge) olarak adlandırılır ve fetal aksilladan kasık bölgesine kadar lineer bir hat şeklinde uzanır. Normal embriyonik gelişim sürecinde, bu hattın büyük bir kısmı apoptoz ve atrofi mekanizmalarıyla regresyona uğrarken; yalnızca pektoral segmentteki yapılar varlığını sürdürür. Kalıcı hale gelen bu epitelyal tomurcuklar, alttaki mezenkimal dokuya doğru invaze olarak (penetrasyon göstererek) meme bezinin morfogenezini başlatmaktadır (20). Bu atrofik gerileme süreci, populasyonun yaklaşık %2–5'inde tam olarak gerçekleşmeyebilir ve bunun sonucunda "aksesuar meme" veya "aksesuar meme başı" olarak adlandırılan, çoğu zaman yalnızca kozmetik öneme sahip, nadiren de fonksiyonel özelliklere sahip yapılar ortaya çıkabilir. Bu anomaliler, genellikle normal meme dokusuna en yakın bölge olan aksilla çevresinde görülmekle birlikte, süt hattı boyunca aksilladan kasık bölgesine kadar uzanan herhangi bir noktada da görülebilirler (21-23).

Birinci trimesterin sonunda, alttaki mezenkimal dokuda salınan düzenleyici sinyallerin etkisiyle birincil meme tomurcukları, yüzeyel ektodermden derine doğru büyümeye başlarlar. Bu süreçte epitel-mezenkim etkileşimi belirginleşir ve primer meme tomurcuğu progresif olarak genişleyerek üst dermis tabakasına doğru

invajinasyon gösterir. Birinci trimesterin tamamlanmasıyla birlikte, çevre dokulardan net sınırla ayrılabilen, iyi tanımlanmış bir meme tomurcuğu morfolojik olarak ayırt edilebilir. İlerleyen fetal dönemde duktal sistemin temelini oluşturacak yapısal organizasyon bu aşamada şekillenir (24).

Ana meme tomurcuğunun yüzeyinde gelişen epitelyal girintilerden, zamanla ikincil epitel tomurcukları ortaya çıkar. Bu ikincil tomurcuklar, birincil meme tomurcuğunu çevreleyen mezenkimal doku içine doğru radyal şekilde büyüme gösterir ve erken duktal organizasyonun temelini oluşturur. İlerleyen aşamalarda, ikincil epitelyal filizler lümen kazanarak kanalizasyon sürecine girer; bu yapılar birbirleriyle bağlantı kurarak süt kanallarının öncülü olan sekonder duktal yapıları meydana getirir. Böylece meme bezinin gelecekteki duktal mimarisi, epitel–mezenkim etkileşiminin yönlendirdiği bu ardışık tomurcuklanma ve kanalizasyon basamaklarıyla şekillenir (24).

Doğumda meme bezinde yalnızca ana laktiferöz kanalların rudimenter yapıları bulunur ve lobüloalveoler gelişim henüz gerçekleşmemiştir. Bu nedenle meme bezleri, ergenlik dönemine kadar yapısal ve fonksiyonel olarak immatür durumda kalır. Puberte ile birlikte özellikle östrojenin etkisi altında duktal sistemde uzama ve dallanma meydana gelir; buna paralel olarak stromal ve yağ dokusunda belirgin artış gözlenir. Bu hormonal ve yapısal değişiklikler sonucunda meme hacmi artar ve erişkin meme morfolojisinin temel özellikleri oluşmaya başlar (24).

2.2. MEMENİN ANATOMİSİ

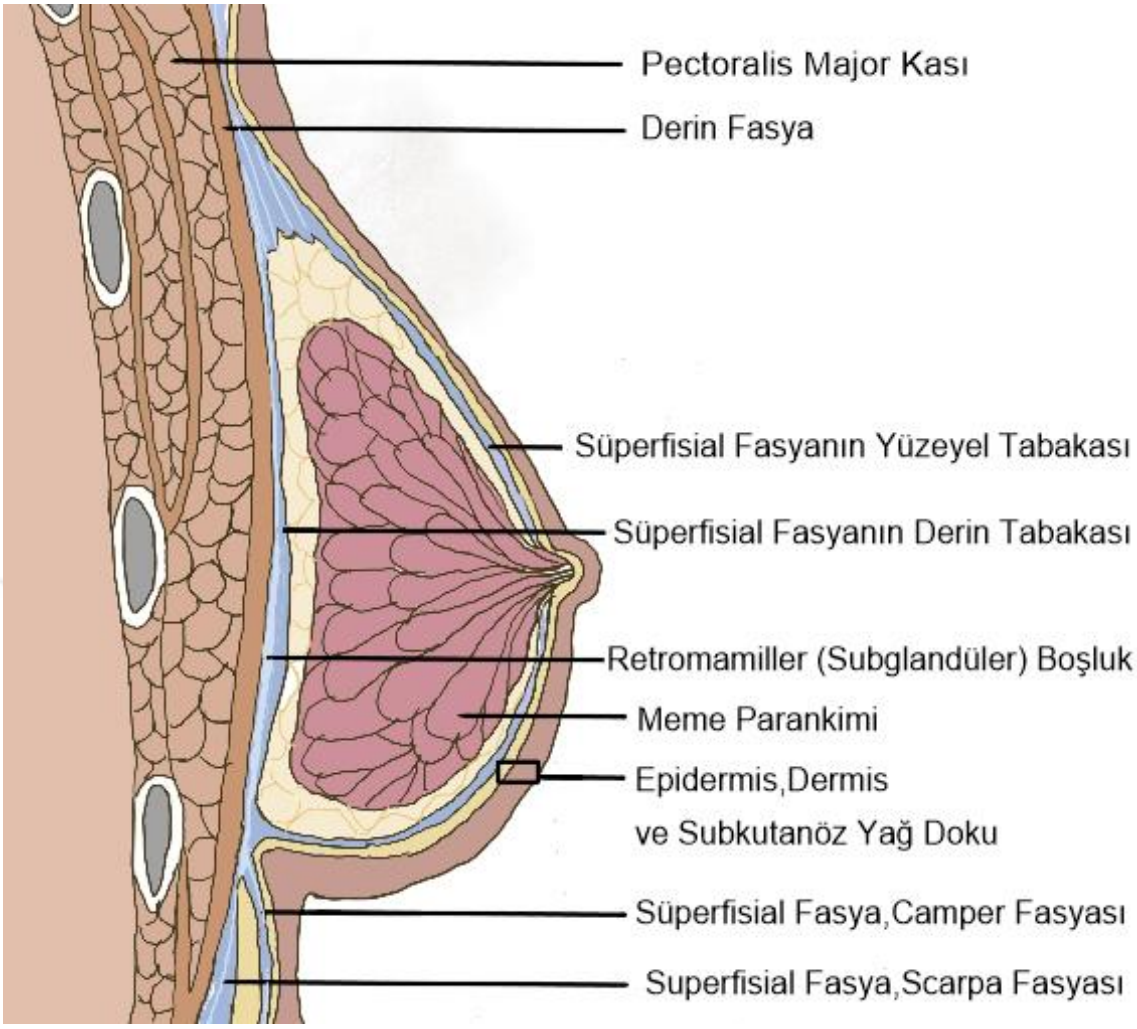
Meme, ön toraks duvarında yer alan ve subkutan konumda bulunan glandüler bir organdır. Anatomik olarak medialde sternum kenarı, lateralde midaksiller çizgi, kranialde ikinci kaburga ve kaudalde altıncı kaburga düzeyleri arasında uzanır. Meme dokusunun yaklaşık üçte ikisi pektoralis majör kasın ön yüzü üzerinde konumlanırken, lateral bölümleri serratus anterior kas ile komşuluk gösterir. Meme parankimi sıklıkla süperolateral yönde aksillaya doğru uzanım sergiler ve bu anatomik yapı “Spence’nin aksiller kuyruğu” olarak adlandırılır; bu uzantı klinik muayene ve cerrahi girişimler açısından önem taşır (25).

Meme, deri, deri altı (subkutan) doku ve glandüler meme parankiminden oluşan kompleks bir anatomik yapıdır. Meme dokusu, dermisin hemen altında yer

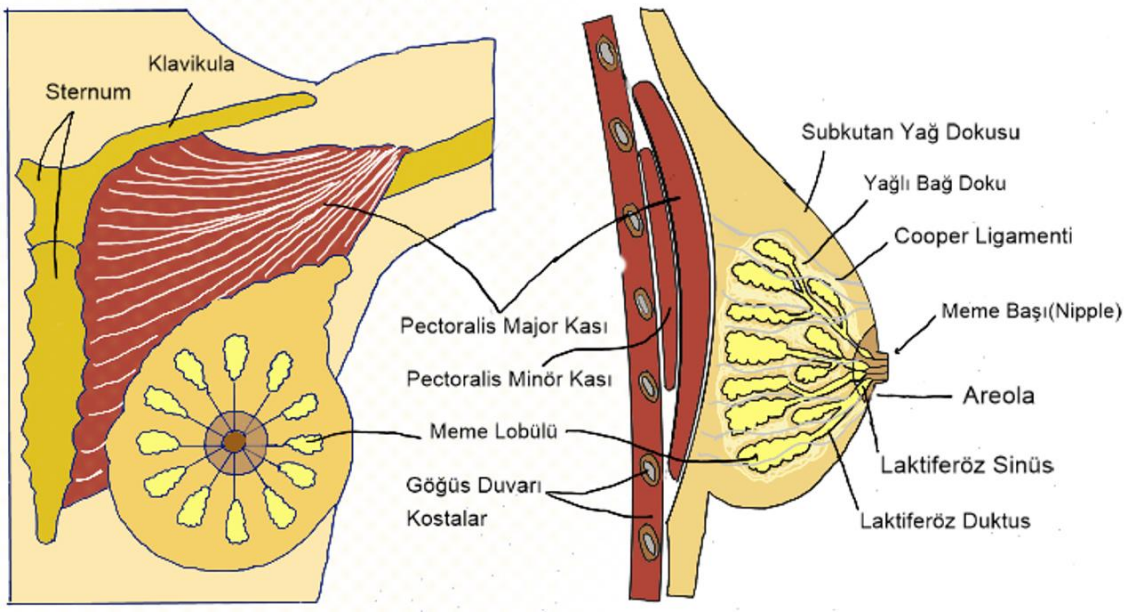
alan yüzeyel fasya sistemi içerisinde bulunur ve posteriorunda pektoralis majör kasının fasyası ile ilişkili derin fasya yer alır. Meme parankimi ile cilt arasındaki mekanik bağlantı, parankim içinden geçerek dermise uzanan fibröz bağ dokusu bantları aracılığıyla sağlanır; bu yapılar Cooper'ın asıcı bağları (ligamenta suspensoria) olarak adlandırılır ve meme şeklinin stabilitesinde önemli rol oynar. Meme kanserinde bu fibröz yapıların tümöral infiltrasyon veya fibrotik reaksiyon sonucu kısalması, klinikte cilt çekintisi (dimpling) gibi bulgulara yol açabilir (26).

Derin fasya ile meme parankimi arasında, yağ dokusu içeren gevşek bağ dokusundan oluşan bir potansiyel boşluk bulunur. Bu anatomik yapı retromamiller (retromammary) boşluk / bursa olarak adlandırılır ve memenin pektoralis majör kası üzerinde serbest hareket edebilmesini sağlar. Retromamiller boşluk, meme dokusunu göğüs duvarından ayıran fonksiyonel bir kayma düzlemi oluşturarak, memenin mobilitesine katkıda bulunur ve cerrahi girişimler sırasında anatomik bir referans alanı olarak önem taşır (27).

Meme parankimi klasik anatomik olarak çok sayıda lobdan oluşur ve her bir lob, çok sayıda (yaklaşık 20–40) lobüle ayrılır. Her lobdan çıkan duktal sistem, bir majör laktiferöz kanal aracılığıyla meme başına doğru ilerler. Bu kanallar meme ucuna yaklaşırken kısa bir subareolar segment oluşturur ve dar bir açıklıkla meme ucuna açılırlar. Loblar arasında yer alan boşluklar ise esas olarak yağ dokusu ve bağ dokusu ile doludur ve memenin hacimsel özelliklerine katkı sağlar. Güncel görüntüleme ve anatomik çalışmalar, klasik anatomi kitaplarında tanımlanan belirgin laktiferöz sinüslerin erişkin memede sabit ve geniş yapılar olarak her zaman bulunmadığını, bu bölgede yalnızca sınırlı duktal genişlemeler olabileceğini göstermektedir (28).



Şekil 2.1: Memenin sagittal kesiti

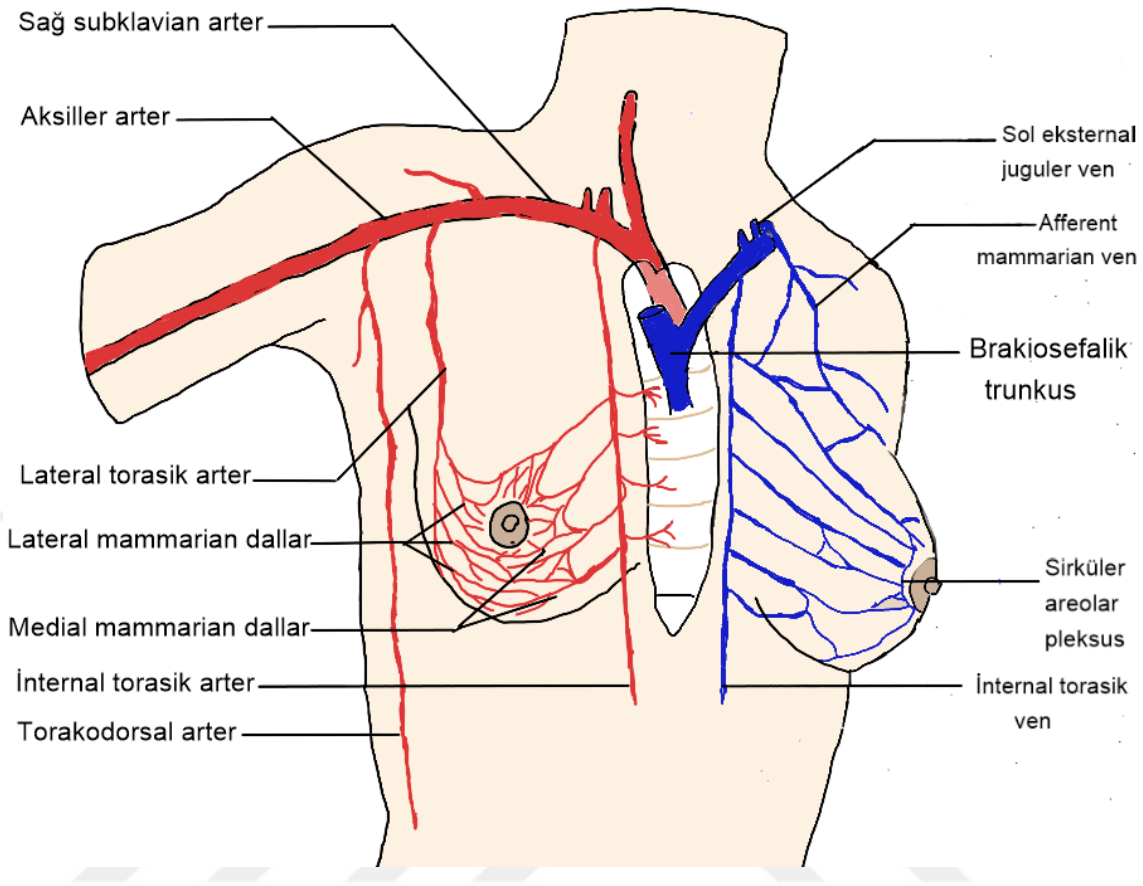


Şekil 2.2: Memenin anterior ve sagittal kesiti

2.2.1. Memenin Arterleri ve Venleri

Memenin arteriyel kanlanması esas olarak üç majör arter üzerinden sağlanır. Meme parankiminin medial ve santral bölümleri, başlıca olarak internal mammarian (internal torasik) arterin perforan dalları tarafından beslenir ve bu damarlar meme kan akımının yaklaşık %60'ını oluşturur. Memenin üst-dış kadranı ve lateral bölümleri ise ağırlıklı olarak aksiller arter kökenli dallar tarafından beslenir; bu dallar arasında lateral torasik arter, torakoakromiyal arterin pektoral dalları ve aksiller arterin perforan dalları yer alır. Bu çok kaynaklı arteriyel yapı, memenin cerrahi girişimler ve rekonstrüktif prosedürler sırasında korunması gereken zengin bir vasküler ağ oluşturmasını sağlar. Memenin arteriyel kanlanmasına, ana damar kaynaklarına ek olarak posterior interkostal arterlerin dalları da katkıda bulunur. Bu dallar özellikle memenin posterior ve derin kısımlarında, göğüs duvarına komşu alanların vaskülarizasyonunda rol oynar ve memenin çok kaynaklı arteriyel beslenme yapısına destek sağlar (29).

Memenin venöz drenajı, büyük ölçüde arteriyel yapılarla beraber seyreden venler aracılığıyla sağlanır ve fonksiyonel olarak üç ana venöz sistem üzerinden gerçekleşir. Meme parankiminin en geniş venöz drenajını, internal torasik (mammarian) venin perforan dallarından oluşan venöz pleksus sağlar. Buna ek olarak, posterior interkostal venlerin perforan dalları ve aksiller venin dalları, memenin venöz dönüşüne katkıda bulunur. Venöz kan akımı ağırlıklı olarak aksilla yönüne doğrudur. Meme başı çevresinde ise, yüzeyel venlerin birbirleriyle bağlantı kurması sonucu "circulus venosus" olarak adlandırılan bir anastomoz çemberi oluşur. Bu yüzeyel venöz ağdan ve meme dokusundan gelen kan, başlıca internal torasik ven ve aksiller ven aracılığıyla sistemik dolaşıma drene olur (29).



Şekil 2.3: Memenin arterleri ve venleri

2.2.2. Memenin Sinirleri

Meme ve anterolateral göğüs duvarının duyusal innervasyonu esas olarak 2–6. interkostal sinirlerin anterior ve lateral kutanöz dalları tarafından sağlanır. Memenin üst bölümüne ait deri alanlarının duyusal innervasyonu ise servikal pleksustan köken alan supraklavikular sinirlerin dalları aracılığıyla gerçekleşir (25).

İnterkostobrakiyal sinir, 2. interkostal sinirin lateral kutanöz dalıdır ve kolun üst-medial yüzüne duyu taşır. Bu nedenle aksiller diseksiyon sırasında sinirin kesilmesi/zedelenmesi, klinikte tipik olarak kolun medialinde ve/veya aksillada hipoestezi, uyuşma ya da parestezi ile sonuçlanabilir (30).

2.2.3 Memenin Lenfatikleri ve Aksilla

Meme kanseri cerrahisinde bölgesel evreleme ve tedavi planlaması için kritik bir alan olan aksilla, toraksın üst lateral duvarı ile kolun mediali arasında yer alan piramidal şekilli karmaşık bir anatomik boşluktur. Aksillanın apeksi, klavikula, skapulanın üst sınırı ve birinci kaburganın dış sınırı tarafından çevrelenerek boyun ile aksilla arasındaki geçişi sağlar. Tabanı ise aksiller fasya ve deri tarafından oluşturulur ve koltuk altı çukuru olarak bilinir. Ön duvarı pektoralis majör ve minör kasları oluştururken, arka duvar subskapularis, teres majör ve latissimus dorsi kaslarından meydana gelir; medial duvarı ise serratus anterior kası ve göğüs duvarı sınırlar. Aksilla içerisinden aksiller arter ve ven, brakiyal pleksus kordonları ve dalları ile birlikte memenin lenfatik drenajının büyük kısmını toplayan lenf nodları geçer (31). Cerrahi diseksiyon sırasında dikkat edilmesi gereken önemli varyasyonlardan biri, latissimus dorsi kasından pektoralis majör kasına uzanan ve "Langer aksiller arkı" olarak bilinen muskulotendinöz yapıdır; bu yapı cerrahi görüşü kısıtlayabilir ve lenf nodlarının tam temizlenmesini zorlaştırabilir (32). Ayrıca, aksiller diseksiyon sırasında interkostobrakiyal sinirin korunması, postoperatif duyu kaybı ve ağrının önlenmesi açısından önem taşır (31).

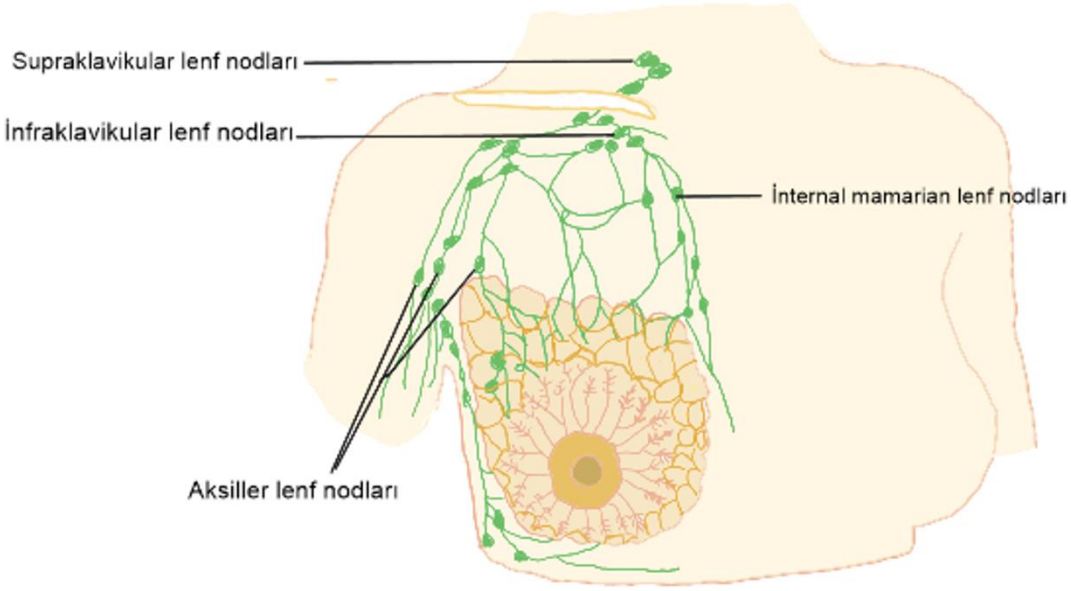
Meme dokusunun lenfatik drenajı, anatomik ve onkolojik açıdan yüzeyel ve derin olmak üzere iki ana kategoride incelenmektedir. Yüzeyel lenfatik sistem, meme derisinin drenajını sağlayan ve birbirleriyle ilişkili olan subepitelyal ve subdermal pleksuslardan oluşur (25,33). Areola altında yerleşen ve klasik olarak Sappey pleksusu (subareolar pleksus) olarak adlandırılan yapı, meme başı ve areolanın lenfatik akımını yönlendirir. Ancak güncel çalışmalar, meme parankiminden kaynaklanan lenfatiklerin her zaman bu subareolar pleksusa uğramadan doğrudan nodal havzalara yönelebileceğini, dolayısıyla drenajın tarihsel görüşün aksine daha kompleks bir patern izlediğini göstermektedir (34). Memenin yüzeyel lenfatikleri birincil olarak aksiller lenf nodlarına dökülürken, daha sınırlı bir kısmı ise internal torasik (internal mammar) lenf zincirine yönelmektedir (25).

Derin lenfatik drenaj sistemi aksiller, internal mammarian ve transpektoral olmak üzere üç ana yol üzerinden çalışmaktadır. Memenin lenfatik yükünün %75 ila %85'ini karşılayan aksiller yol, memenin üst ve alt kadranlarından gelen akımı

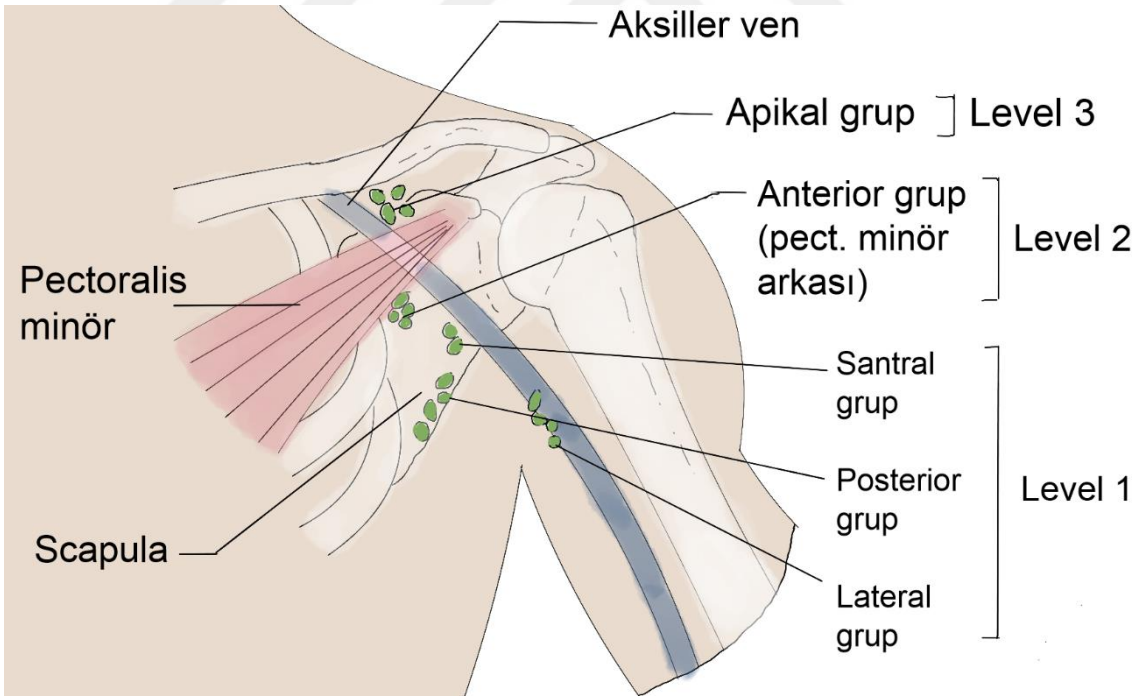
toplarken; internal mammarian yol, memenin medial kısmının ve derin dokuların drenajında rol oynar (25,35). Transpektoral yol ise supraklavikular bölgeye uzanan daha spesifik bir drenaj hattı oluşturur (25). Aksiller bölge, cerrahi anatomi açısından lateral (aksiller ven/humeral), anterior (pektoral/eksternal mammarian), posterior (subskapular), santral, apikal (subklavikular) ve interpektoral (Rotter) olmak üzere altı ana lenf nodu grubunu barındırır ve bu bölgede genellikle 20 ila 30 adet lenf nodu bulunur (25,35).

Bu lenf nodu gruplarının anatomik yerleşimleri, bölgesel metastazın yayılım paternini anlamak açısından kritiktir. Aksiller venin medial ve posteriorunda konumlanan lateral grup, üst ekstremitenin lenfatik drenajını sağlarken; pektoralis minör kasının alt sınırı boyunca uzanan anterior grup, meme parankiminin dış kadranlarının lenfatik drenajını sağlar. Subskapular grup, aksillanın arka duvarında yerleşerek gövdenin posterioru ve omuz bölgesinden gelen lenfatik drenajı toplar. Pektoralis minör kasının arkasında yer alan santral grup ise diğer gruplardan gelen akımın toplandığı bir istasyon görevi görür ve palpasyonda fark edilebilen nodlar genellikle bu gruptadır. Pektoralis minör kasının üst sınırının posteriorunda ve medialinde yer alan apikal grup, tüm aksiller lenfatik drenajın döküldüğü son duraktır. Bu bölgedeki metastazlar (N3 hastalık), hastalığın ileri evrede olduğunu ve prognozun kötüleştiğini gösterir (25). Ayrıca pektoral kaslar arasında yer alan Rotter nodları, cerrahi sırasında gözden kaçırılması durumunda nüks potansiyeli taşıyan önemli bir odaktır (31).

Günümüzde aksiller evreleme ve cerrahi diseksiyon sınırlarının belirlenmesinde, lenf nodlarını pektoralis minör kası ile olan komşuluklarına göre sınıflandıran Berg'in sınıflaması standart olarak kabul edilmektedir (31). Seviye I, pektoralis minör kasının lateralinde ve inferio-lateralinde kalan; anterior, posterior ve lateral lenf nodu gruplarını içeren bölgedir. Seviye II, kasın posteriorunda (derininde) yer alır ve santral ile interpektoral (Rotter) nodları kapsar. Seviye III ise kasın medialinde ve süperiorunda yer alan apikal nodları içerir (31,36). Lenfatik drenajın fizyolojisi gereği metastazlar genellikle Seviye I'den başlayarak sırasıyla II ve III'e ilerler, ancak "skip metastaz" olarak adlandırılan atlamalı yayılımlar da görülebilir (31).



Şekil 2.4: Memenin lenfleri



Şekil 2.5: Memenin lenf istasyonları

2.3. MEME KANSERİ

2.3.1 Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Meme kanseri, kadınlarda en sık teşhis edilen malignite olup küresel kanser yükünün önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. 2022 yılı verilerine göre dünya genelinde 2,3 milyon yeni vaka görülmüş ve 666.000'den fazla ölüm gerçekleşmiştir (37). Hastalığın epidemiyolojik dağılımı, ülkelerin gelişmişlik düzeylerine göre keskin farklılıklar göstermektedir. İnsidans (görülme sıklığı) Kuzey Amerika ve Avrupa gibi gelişmiş bölgelerde yüksek seyrederken, mortalite-insidans oranı (MIR) yani hastalığa yakalananların ölüm oranı, Afrika ve Asya'da daha yüksektir. Mevcut demografik eğilimler değişmezse, 2050 yılına kadar küresel vaka sayısının 3,55 milyona ulaşacağı ve en büyük artışın Asya ve Afrika ülkelerinde görüleceği öngörülmektedir (38,39).

ABD 2025 Verileri Amerika Birleşik Devletleri'nde 2025 yılı projeksiyonlarına göre 316.950 kadına yeni invaziv meme kanseri tanısı konulması ve 42.170 kadının bu hastalıktan ölmesi beklenmektedir (40). ABD'de meme kanseri ölüm oranları 1989'dan bu yana %44 azalmıştır; bu başarı büyük ölçüde tarama mamografileri ve adjuvan tedavilerdeki ilerlemelere bağlanmaktadır. Ancak bu genel iyileşmeye rağmen, ırksal eşitsizlikler devam etmektedir. 2025 yılına ait spesifik analizler, Siyah kadınların Beyaz kadınlara göre %40 daha yüksek ölüm oranına sahip olduğunu göstermektedir (41). Ayrıca, histolojik alt tipler incelendiğinde, invaziv lobüler karsinomun (ILC) tüm vakaların yaklaşık %10,6'sını oluşturduğu ve bu alt tipin tanısının daha zor olması nedeniyle kendine has klinik zorluklar yarattığı 2025 raporlarında vurgulanmıştır (42).

Türkiye Cumhuriyeti verilerine bakıldığında, batı toplumlarından belirgin şekilde ayrışan bir "genç hasta" profili gözlenmektedir. Batılı ülkelerde meme kanseri tanısı için medyan yaş 62-63 iken, Türkiye'de yapılan karşılaştırmalı çalışmalar bu yaşın 49-51 aralığında olduğunu kanıtlamıştır (43,44). Türkiye'deki hastaların yaklaşık %17'si 40 yaş altındadır ve %37-45'i premenopozal (menopoz öncesi) dönemdedir (44,45). Bu durum, Türkiye'de ulusal tarama programlarının (KETEM) 40 yaşında başlatılmasının epidemiyolojik temelini oluşturur.

Türkiye'de mortalite sayıları incelendiğinde ise bölgesel eşitsizlikler göze çarpmaktadır. 2009-2019 yılları arasındaki ulusal ölüm verileri, Türkiye genelinde

meme kanseri kaynaklı ölümlerin yıllık %1,78 oranında arttığını göstermektedir. Ancak bu artış homojen değildir; İstanbul gibi batı illerinde ölüm oranları stabil kalırken veya düşerken, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yıllık %5,6'ya varan ciddi mortalite artışları saptanmıştır (46). Ayrıca, Türkiye'de meme kanseri ölümlerine katkıda bulunan risk faktörleri değişim göstermektedir. 1990-2019 yılları arasında yapılan bir analiz, yüksek vücut kitle indeksinin (obezite) ölümlerdeki payının %3,19'dan %5,87'ye çıktığını; yüksek kan şekerinin etkisinin ise %5,01'den %7,72'ye yükseldiğini ortaya koymuştur (47).

2.3.2 Meme Kanseri Etiyolojisi

Artan Yaş: Meme kanseri insidansı ile kronolojik yaşlanma süreci arasında güçlü bir pozitif korelasyon bulunmaktadır. *Surveillance, Epidemiology, and End Results* (SEER) veritabanına dayalı kohort analizleri, riskin yaşla birlikte doğrusal bir ivme kazandığını doğrulamaktadır. İnsidans oranları yaş dekatlarına göre incelendiğinde; 50-59 yaş aralığındaki kadınlarda risk %2,4 iken, bu oran 60-69 yaş aralığında %3,5'e, 70 yaş ve üzerinde ise %7,0'a yükselmektedir. Kümülatif olarak değerlendirildiğinde, bir kadının yaşam boyu meme kanseri tanısı alma olasılığı yaklaşık %12,3 (yaklaşık her 8 kadından 1'i) seviyelerindedir (48).

Kadın Cinsiyet: Hastalığın etiyolojisinde cinsiyet dimorfizmi en belirgin risk faktörünü oluşturmaktadır. Kadın cinsiyeti, erkeklere kıyasla hastalığa yakalanma olasılığını yaklaşık 100 kat artırmaktadır. ABD verilerine göre yıllık 280.000'den fazla kadın invaziv meme kanseri tanısı alırken, bu sayı erkeklerde 3.000'in altında kalmaktadır. Bu durum, kadınların yaşam boyu maruz kaldıkları östrojen ve progesteron seviyelerinin erkeklere oranla çok daha yüksek olmasıyla açıklanmaktadır (48).

Irk ve Etnik Köken: Epidemiyolojik veriler, ırksal kökenin insidans ve mortalite üzerinde heterojen etkileri olduğunu göstermektedir. Beyaz ırka mensup kadınlar, diğer etnik gruplara kıyasla en yüksek insidans oranına (100.000'de 131,8) sahipken, siyahi kadınlarda bu oran biraz daha düşüktür (100.000'de 124,7). Ancak, siyahi kadınlarda mortalite oranları daha yüksektir ve bu grupta hastalığın ileri evrede ve metastatik olarak teşhis edilme olasılığı artmaktadır. Ayrıca, tedaviye dirençli ve

agresif bir alt tip olan "triple negatif" meme kanseri, Siyah kadınlarda Beyaz kadınlara göre yaklaşık iki kat daha sık görülmektedir (48,49).

Vücut Kitle İndeksi (VKİ) ve Boy: Obezite ve meme kanseri arasındaki ilişki, menopozal statüye bağlı olarak bifazik bir karakter sergiler. Postmenopozal dönemde yüksek VKİ (≥30 kg/m²), meme kanseri riskini artırırken (her 5 birimlik VKİ artışı için bağıl risk 1,1); premenopozal dönemde yüksek VKİ'nin riskle ters orantılı olduğu gözlemlenmiştir. Postmenopozal risk artışı, over fonksiyonlarının durmasının ardından yağ dokusunun östrojen sentezinin ana kaynağı haline gelmesi (aromatizasyon) ile ilişkilendirilmektedir (48,50).

Ayrıca, boy uzunluğu bağımsız bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Yapılan kohort çalışmalarında, 1,75 metreden uzun kadınların, 1,60 metreden kısa olanlara kıyasla meme kanseri riskinin yaklaşık %20 daha fazla olduğu (RR=1.22) bildirilmiştir (48,51).

Meme Dokusu Yoğunluğu ve Memenin Benign Patolojileri: Mamografik meme yoğunluğu, karsinogenez riskini öngörmede kritik bir biyolojik belirteçtir. Yüksek meme yoğunluğuna (BI-RADS D kategorisi) sahip kadınlarda, düşük yoğunluklu olanlara kıyasla meme kanseri riskinin yaklaşık iki kat arttığı saptanmıştır (52,53). Benzer şekilde, biyopsi ile doğrulanmış benign meme hastalıkları (BBD), özellikle proliferatif lezyonlar ve atipik hiperplazi varlığında malignite riskini yükseltmektedir (54).

Kemik Mineral Yoğunluğu ve Endojen Hormonlar: Yüksek kemik mineral yoğunluğu, kümülatif östrojen maruziyetinin bir göstergesi (surrogate marker) olarak kabul edilmekte ve artmış meme kanseri riski ile ilişkilendirilmektedir; yüksek kemik mineral yoğunluğu değeri 75. persentilin üzerinde olan kadınlarda riskin yaklaşık 3 kat arttığı belirtilmektedir (55). Dolaşımdaki yüksek endojen östrojen ve androjen (özellikle testosteron) seviyeleri hem premenopozal hem de postmenopozal dönemde artmış risk ile pozitif korelasyon göstermektedir (52,56).

Menarş ve Menopoz: Meme dokusunun ovaryan hormonlara maruz kaldığı süreyi artıran faktörler riski yükseltmektedir. 13 yaşından önce gerçekleşen erken menarş, meme kanseri riskinde artış (OR=1.15) ile ilişkilendirilmiş olup, bu risk 12 yaş altı menarşta daha belirgindir (OR=1.27) (48,57). Buna karşılık, menarşın 13 yaş

ve sonrasında gerçekleşmesi riski azaltmaktadır. Benzer şekilde, geç menopoz yaşı da uzamış östrojen maruziyeti nedeniyle risk artışına katkıda bulunmaktadır (57,58).

Reprodüktif Öykü ve Parite Dinamikleri: Meme kanseri etiyolojisinde parite (doğum sayısı) durumu, risk profilini belirleyen temel unsurlardan biridir. Nulliparite (hiç doğum yapmamış olma), parous (doğum yapmış) kadınlara kıyasla meme karsinojenez riskinde artış ile ilişkilendirilmektedir. Gebelik ve laktasyon süreçleri, meme dokusunun terminal diferansiyasyonunu (hücresel olgunlaşma) teşvik ederek ve kadının yaşam boyu maruz kaldığı toplam menstrüel döngü sayısını azaltarak uzun vadeli koruyucu bir etki sağlar (59,60). Ancak, doğum sonrası erken dönemde (ilk 5-10 yıl), gebelik sırasındaki hormonal dalgalanmaların olası etkisiyle meme kanseri riskinde geçici bir artış gözlemlenebilmektedir; bu durum "çift yönlü etki" (dual effect) olarak tanımlanır (60,61).

İlk Doğum Yaşı: Gebeliğin koruyucu etkisi, ilk tam süreli gebeliğin gerçekleştiği yaş ile güçlü bir modülasyon gösterir. İleri anne yaşı (özellikle 30 yaş üstü ilk doğum), meme epitel hücrelerinin karsinojenik etkilere daha uzun süre maruz kalması nedeniyle riski artırmaktadır. Epidemiyolojik veriler, 30 yaşından sonra ilk doğumunu yapan kadınların risk profilinin (Rölatif Risk=3), nullipar kadınlara (Rölatif Risk=3) kıyasla benzer seviyelerde yüksek olduğunu göstermektedir. Buna karşın, 20 yaşından önce gerçekleşen ilk tam süreli gebelik, meme kanseri riskini önemli ölçüde azaltan bir faktör olarak kabul edilir (48,55).

Aile Öyküsü: Genetik duyarlılığın klinik bir yansıması olarak değerlendirilir ve risk artışı, etkilenen birinci derece akraba sayısı ile doğru orantılıdır. Birinci derece yakınlarından birinde meme kanseri öyküsü bulunan bireylerde risk yaklaşık 2 katına çıkmaktadır. Etkilenen birinci derece akraba sayısının ikiye yükselmesi durumunda ise riskin 3 kat arttığı bildirilmiştir. Bu artış, genetik penetransın ve paylaşılan çevresel faktörlerin kümülatif etkisini yansıtmaktadır (48).

Yüksek Riskli Gen Mutasyonları: BRCA1, BRCA2, CHEK2, PALB2 ve TP53 gibi genlerdeki kalıtsal mutasyonlar meme kanseri riskini önemli ölçüde artırır. Örneğin, BRCA1/2 mutasyonuna sahip hastalar veya birinci derece akrabalarında meme kanseri öyküsü olan kişiler bu hastalığa daha yatkındır (62).

Alkol: Yaşam tarzı faktörleri arasında alkol tüketimi, meme kanseri insidansı ile tutarlı ve doza bağlı pozitif korelasyon gösteren modifiye edilebilir bir risk faktörüdür. Geniş çaplı sistematik incelemeler, günlük ortalama 10 gram (yaklaşık bir standart içki) alkol tüketiminin, meme kanseri riskinde %10,5 oranında bir artışa neden olduğunu ortaya koymuştur (50). Alkolün karsinojenik mekanizması, östrojen metabolizmasını etkileyerek dolaşımdaki hormon seviyelerini yükseltmesi ve asetaldehit toksisitesi ile ilişkilendirilmektedir (52).

İyonize Radyasyon: Terapötik veya çevresel kaynaklı iyonize radyasyona maruziyet, özellikle meme dokusunun proliferatif aktivitesinin yüksek olduğu genç yaşlarda kritik bir risk faktörüdür. Hodgkin lenfoma gibi nedenlerle 30 yaşından önce göğüs bölgesine radyoterapi (mantle field radiation) uygulanan kadınlarda meme kanseri riski belirgin şekilde artmaktadır (52). Risk artışı, maruziyet yaşı ile ters orantılıdır; meme dokusunun gelişimi ve diferansiyasyonu tamamlandıktan sonra (ileri yaşlarda) maruz kalınan radyasyonun karsinojenik etkisi, genç yaşlara kıyasla daha düşüktür.

Biyolojik Saat: Sirkadiyen ritim bozukluğu, saat genlerinin ifadesini değiştirebilir, normal hücre döngüsünü bozabilir ve doğrudan malignite (kötü huylu tümör) başlangıcını teşvik edebilir. Ayrıca melatonin salgılanmasını engelleyerek ve enflamatuar yanıtı hızlandırarak dolaylı yoldan kanser oluşumunu kolaylaştırabilir (62).

2.3.3. Meme Kanseri Klinik Bulgular

Meme kanseri genellikle sessiz bir seyir izlemekte ve batı toplumlarında çoğunlukla rutin tarama mamografileri sırasında tanı almaktadır ancak tarama dışı durumlarda en sık karşılaşılan başvuru nedeni memede ele gelen bir kitledir. Hastaların klinik öyküsü derinlemesine incelendiğinde kitlenin yanı sıra meme ağrısı (mastalji) veya meme başı akıntısı gibi semptomların da eşlik edebildiği görülmektedir ancak ağrı malign vakaların sadece yaklaşık %5'inde birincil semptom olarak karşımıza çıkmaktadır (63). Travma öyküsü bazen hastanın kendi kendine muayene yapmasını tetikleyerek tesadüfi bir kitle keşfine yol açabilmekle birlikte akut ağrılı kitlelerin travmaya ikincil hematom veya apse olma olasılığı maligniteye kıyasla daha yüksektir (64).

Fizik muayene esnasında saptanan şüpheli lezyonların karakterizasyonu hayati önem taşır; malign potansiyeli yüksek kitleler genellikle sert dokulu, sınırları belirsiz veya düzensiz ve çevre dokulara yapışık (fikse) olarak tanımlanır fakat malign kitlelerin nadiren de olsa ağrılı, yumuşak veya hareketli olabileceği unutulmamalıdır (63,64). Bu nedenle yalnızca fizik muayene bulgularına dayanarak benign veya malign ayrımı yapmak güvenilir değildir ve görüntüleme ile doku biyopsisini içeren üçlü değerlendirme (triple assessment) yaklaşımı standarttır (64).

Hastalığın lokal olarak ilerlediği durumlarda veya inflamatuar meme kanseri gibi agresif alt tiplerde, tümörün Cooper bağlarını tutması ya da dermal lenfatik kanalları tıkaması sonucu ciltte çekilmeler, ülserasyon, eritem ve portakal kabuğu görünümü (peau d'orange) gibi spesifik dermatolojik bulgular ortaya çıkabilmektedir (63,65). Paget hastalığı gibi nadir görülen formlarda ise meme başında egzama benzeri, kaşıntılı ve iyileşmeyen lezyonlar, altta yatan bir duktal karsinomun habercisi olabilmektedir (66).

Meme kanserinin meme içindeki dağılımını inceleyen epidemiyolojik çalışmalar, tümörlerin en sık üst-dış kadranda yerleştiğini göstermektedir. Üst-dış kadranı izleyen yerleşimlerin sırası çalışmanın popülasyonu ve sınıflandırma yaklaşımına göre değişebilmekle birlikte, genel eğilim olarak santral (retroareolar) bölge ile üst-iç ve alt-dış kadranlar ara sıklıkta raporlanmakta; alt-iç kadran ise çoğu seride en düşük oranlardan biri olarak bildirilmektedir (67,68).

2.3.4. Meme Kanseri Tanı ve Görüntüleme Yöntemleri

Meme kanseri, dünya genelinde kadınlarda en sık görülen malignite olup erken tanı sağkalımı belirgin şekilde artırmaktadır. Bu nedenle modern tanısal yaklaşım, klinik değerlendirme ile birlikte duyarlılığı yüksek görüntüleme tekniklerinin entegrasyonuna dayanmaktadır. Görüntüleme yöntemleri, yalnızca erken saptama açısından değil; evreleme, tedavi planlaması ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde de temel rol oynamaktadır. Güncel yaklaşım, mammografi başta olmak üzere ultrasonografi, manyetik rezonans görüntüleme (MRI), bilgisayarlı tomografi (BT) ve pozitron emisyon tomografisi (PET) gibi yöntemlerin uygun klinik senaryoya göre entegre kullanımına dayanmaktadır (69).

Mammografi: Mammografi, asemptomatik kadınlarda erken evre meme kanserinin saptanmasında temel ve en yaygın kullanılan görüntüleme yöntemidir. Düşük doz X-ışını kullanılarak meme dokusunun değerlendirilmesini sağlar ve mortaliteyi azaltan tek radyografik tarama yöntemi olarak kabul edilmektedir (69).

Dijital mammografi sistemleri, görüntülerin elektronik ortamda elde edilmesini ve anında değerlendirilmesini mümkün kılar; bu durum görüntü kalitesini artırmakta ve veri analizini hızlandırmaktadır (69). Ancak mammografinin duyarlılığı özellikle yoğun meme dokusunda azalmaktadır. Jaglan ve ark. tarafından, yoğun memede mammografinin güvenilirliğinin sınırlı olduğu ve bu hasta grubunda duyarlılığın düşebildiği belirtilmiştir (70).

Buna ek olarak, mammografinin sınırlılıkları arasında düşük kontrast çözünürlüğü, sınırlı dinamik aralık ve iyonizan radyasyon maruziyeti yer almaktadır (70). Buna rağmen, günümüzde halen erken tanıda “altın standart” olarak kabul edilmektedir (69).

Dijital Meme Tomosentezi (DBT): Dijital meme tomosentezi (DBT), mammografinin üç boyutlu versiyonu olarak değerlendirilmektedir. Farklı açılardan elde edilen düşük doz projeksiyon görüntülerinin rekonstrüksiyonu ile kesitsel değerlendirme sağlar (71).

Gao ve ark., iki boyutlu dijital mammografi ile karşılaştırıldığında DBT’nin invaziv kanser saptama oranını artırdığını ve geri çağırma oranlarını azalttığını bildirmiştir. Ayrıca DBT’nin invaziv kanserleri tercihli olarak artırdığı, in situ lezyonlarda belirgin artış göstermediği belirtilmiştir (71). Bu teknik özellikle yoğun meme dokusunda doku süperpozisyonunu azaltarak lezyon görünürlüğünü artırmaktadır (71).

Ultrasonografi: Ultrasonografi, özellikle yoğun fibroglandüler meme dokusuna sahip kadınlarda mammografiye tamamlayıcı bir yöntemdir. Yoğun memede mammografik duyarlılığın %30–48’e kadar düşebileceği bildirilmiştir (69).

Jaglan ve ark., ultrasonografinin radyasyon içermemesi ve noninvaziv olması nedeniyle yaygın kullanıldığını, ancak operatöre bağımlı olduğunu belirtmektedir. Ayrıca ultrasonografinin mikrokalsifikasyon saptamada sınırlı olduğu ifade edilmiştir (70).

Yüksek riskli kadınlarda mammografiye ek olarak ultrasonografinin ek kanser saptama oranını artırabildiği gösterilmiştir (69).

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI): MRI, meme kanseri tanısında en yüksek duyarlılığa sahip yöntemlerden biridir (69,70). Jaglan ve ark. MRI'nin meme anormalliklerinin tanısında "en duyarlı yöntem" olduğunu ifade etmektedir (70).

MRI'nin başlıca avantajı yüksek mekânsal çözünürlük ve iyonizan radyasyon içermemesidir. Bununla birlikte düşük özgüllük, yüksek maliyet ve standardizasyon eksikliği önemli sınırlılıklarıdır (70). Yüksek riskli kadınlarda mammografi ile birlikte yıllık MRI taraması önerilmektedir (69).

Bilgisayarlı Tomografi (BT): BT, özellikle tümör yayılımının değerlendirilmesinde ve metastatik hastalıkta rol oynamaktadır. Kontrastlı BT'nin tümörün meme içindeki yayılımını değerlendirmede yüksek mekânsal çözünürlük sunduğu belirtilmiştir (69).

Helikal BT teknolojisi ile daha hızlı ve düşük dozlu görüntüleme sağlanabilmektedir (69). Ancak iyonizan radyasyon kullanımı nedeniyle tarama yöntemi olarak önerilmemektedir (69,70).

PET Görüntüleme: PET görüntüleme, özellikle metabolik aktivitenin değerlendirilmesinde ve evrelemede kullanılmaktadır. FDG-PET'in tümör evrelemesi ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde önemli olduğu belirtilmiştir (69).

Jaglan ve ark., PET'in metabolik olarak aktif tümör hacmini değerlendirmede yüksek doğruluk sağladığını bildirmiştir. Bununla birlikte küçük lezyonlarda duyarlılığın sınırlı olabileceği ifade edilmiştir (70).

BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data System) Sınıflaması: Meme görüntülemesinde standardizasyon gereksinimi, raporlamada ortak bir terminolojinin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Amerikan Radyoloji Koleji tarafından geliştirilen BI-RADS sistemi, mammografi, ultrasonografi ve manyetik rezonans görüntüleme bulgularının sistematik biçimde raporlanmasını sağlar (72).

BI-RADS sistemi yalnızca betimleyici terminoloji sunmakla kalmaz; aynı zamanda malignite riskini kategorize ederek klinik yönetimi kolaylaştırır ve yön verir. Kategoriler 0'dan 6'ya kadar sınıflandırılır:

- BI-RADS 0: Ek görüntüleme gerekli
- BI-RADS 1: Negatif
- BI-RADS 2: Benign bulgu
- BI-RADS 3: Muhtemelen benign (<%2 malignite riski), kısa aralıklı takip önerilir
- BI-RADS 4: Şüpheli lezyon, biyopsi önerilir
    - 4A: Düşük şüphe
    - 4B: Orta şüphe
    - 4C: Yüksek şüphe
- BI-RADS 5: Yüksek olasılıkla malign (> %95)
- BI-RADS 6: Patolojik olarak doğrulanmış malignite

Bu sınıflama, gereksiz biyopsilerin azaltılmasına katkı sağlarken, yüksek riskli lezyonların gecikmeden histopatolojik doğrulamaya yönlendirilmesini sağlar. Özellikle BI-RADS 4 ve 5 kategorileri klinik pratikte biyopsi endikasyonunun temelini oluşturur (72).

Meme Biyopsi Yöntemleri: Görüntüleme ile saptanan şüpheli lezyonların kesin tanısı histopatolojik inceleme ile konur. Günümüzde cerrahi eksizyon biyopsileri büyük ölçüde yerini minimal invaziv, görüntüleme eşliğinde uygulanan biyopsi tekniklerine bırakmıştır (5).

Ultrasonografi Eşliğinde Core (Tru-Cut) Biyopsi: Ultrasonografi eşliğinde core needle biyopsi, solid lezyonlarda en sık tercih edilen yöntemdir. Gerçek zamanlı görüntüleme sayesinde lezyonun doğrudan hedeflenmesi mümkündür (5).

Preoperatif ultrasonografi eşliğinde iğne biyopsisinin tanısal doğruluğu yüksek olup, cerrahi öncesi tedavi planlamasında önemli katkı sağlamaktadır. Bu yöntem, aksiller lenf nodlarının değerlendirilmesinde de kullanılmaktadır. Kortikal kalınlaşma ve hilus kaybı metastaz lehine bulgular olarak kabul edilmektedir (5).

Stereotaktik Biyopsi: Mammografide saptanan ancak ultrasonografide görülemeyen lezyonlarda, özellikle mikrokalsifikasyon içeren odaklarda stereotaktik

biyopsi uygulanır. Bu yöntem dijital koordinat sistemleri ile hedefleme yaparak yeterli doku örneklemesi sağlar (69).

MRI Eşliğinde Biyopsi: Sadece MRI'de görülen ve diğer yöntemlerle saptanamayan lezyonlarda MRI eşliğinde biyopsi uygulanır. Özellikle yüksek riskli hastalarda, kontrast tutulumu gösteren ancak mammografi ve ultrasonografide karşılığı bulunamayan odakların değerlendirilmesinde önemlidir (70).

2.3.5. Meme Kanseri Histopatolojisi

Meme kanserlerinin büyük çoğunluğu epitelyal kökenli olup, histopatolojik olarak karsinom başlığı altında incelenmektedir. Neoplastik hücrelerin bazal membranı aşıp aşmadığına göre "in-situ" ve "invaziv" olarak iki ana kategoriye ayrılırlar. Memenin in-situ karsinomları geleneksel olarak duktal ve lobüler olarak sınıflandırılsa da güncel Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 5. Edisyon sınıflandırmasında bu ayrım, anatomik yerleşimden ziyade E-cadherin (CDH1) gibi adhezyon moleküllerinin ekspresyonuna, büyüme paternlerine ve genetik özelliklere dayanmaktadır (73).

Duktal Karsinoma İn Situ (DCIS): DCIS, klinik prezentasyon, histolojik morfoloji ve biyolojik potansiyel açısından heterojen bir lezyon grubunu temsil etmektedir. Rutin ışık mikroskobisi altında, bazal membran invazyonu olmaksızın terminal duktal lobüler ünite (TDLU) içerisindeki neoplastik hücre proliferasyonu olarak tanımlanır (74). Tarihsel olarak komedo, kribriform, mikropapiller, papiller ve solid olmak üzere beş mimari alt grupta incelense de güncel prognostik sistemlerde nükleer derece (düşük, orta, yüksek) ve nekroz varlığı (özellikle komedo nekroz) invaziv hastalığa dönüşüm riskini belirleyen en kritik parametrelerdir (75). Yüksek dereceli lezyonlar tipik olarak anöploidi sergiler, östrojen (ER) ve progesteron (PR) reseptörlerinden yoksundur ve sıklıkla HER2 pozitifliği ile yüksek proliferasyon hızına sahiptir.

Lobüler Karsinoma İn Situ (LCIS) ve Lobüler Neoplazi: LCIS, invaziv karsinom gelişimi için hem bir risk faktörü hem de öncü (prekürsör) lezyon olarak kabul edilir. NCCN 2026 Kılavuzları'nda LCIS, maligniteden ziyade yüksek riskli bir lezyon olarak yönetilmektedir (76). Genellikle premenopozal dönemde görülmekle birlikte, postmenopozal kadınlarda da saptanabilir. LCIS'in belirleyici özelliği, E-

cadherin (CDH1) genindeki inaktivasyon sonucu hücreler arası yapışmanın kaybıdır (77). Klasik LCIS'in yanı sıra, Florid ve Pleomorfik LCIS varyantları tanımlanmış olup, bunlar klasik tipe göre daha agresif özellikler gösterebilir ve komedo nekroz barındırabilir (78). LCIS tanısı alan hastalarda bilateral (iki taraflı) meme kanseri riski genel popülasyona göre 8-10 kat artmıştır (76).

İngiltere'de 830.000 kadını kapsayan 2025 tarihli geniş kohort verilerine ve WHO 5. Edisyon sınıflandırmasına göre, invaziv karsinomların histolojik dağılımı şu şekildedir (79);

• **İnvaziv Meme Karsinomu, Özel Bir Tipi Olmayan (IBC-NST):** %73 (Eski adıyla İnvaziv Duktal Karsinom)

• **İnvaziv Lobüler Karsinom:** %11

• **Müsinöz Karsinom:** %2

• **Tübüler Karsinom:** %2

• **Diğer Nadir Tipler (Metaplastik, Mikropapiller vb.):** <%5

İnvaziv Meme Karsinomu, Özel Bir Tipi Olmayan (IBC-NST): Tüm invaziv meme kanserlerinin yaklaşık %75'ini oluşturan bu grup, eskiden "invaziv duktal karsinom" olarak bilinirken, günümüzde spesifik morfolojik özellik göstermeyen tümörleri tanımlamak için IBC-NST terimi kullanılmaktadır. Önemli bir güncelleme olarak; eskiden ayrı bir tip sayılan "Medüller Karsinom", artık IBC-NST çatısı altında **"medüller patern gösteren karsinom"** olarak sınıflandırılmaktadır (80). IBC-NST'de malign hücreler parankimi infiltre ederken güçlü bir desmoplastik (fibröz) yanıt indükler; bu durum lezyonun klinik ve radyolojik olarak spiküle, sert bir kitle şeklinde algılanmasına neden olur (81).

İnvaziv Lobüler Karsinom (ILC): Meme kanserlerinin ikinci en sık görülen alt tipi olan invaziv lobüler karsinom, tüm vakaların yaklaşık %10-15'ini oluşturmaktadır (42). ILC, E-cadherin kaybı nedeniyle hücrelerin birbirine tutunamadığı (diskoheziv) ve doku içinde "tek sıra" halinde ilerlediği bir büyüme paterni sergiler (77). IBC-NST'ye göre daha sık bilateral ve multisentrik görülme eğilimindedir. Genellikle iyi diferansiye ve hormon reseptör pozitif (ER+/PR+) olsalar da Pleomorfik ILC gibi varyantları daha kötü prognoza sahiptir. ILC'nin metastaz

paterni oldukça karakteristiktir; IBC-NST sıklıkla akciğere yayılırken, ILC gastrointestinal sistem, periton (karın zarı), retroperiton ve jinekolojik organlara metastaz yapma (organotropizm) eğilimindedir (82).

Tablo 2.1: İn situ meme karsinomları: duktal karsinoma in situ (DCIS) ve lobüler karsinoma in situ (LCIS)'nin klinik, radyolojik ve patolojik özelliklerinin karşılaştırılması (83,84).

	DCIS	**LCIS(Klasik)**
Klinik Bulgular	Çoğunlukla asemptomatik, taramada saptanır.	Çoğu kez insidental; klinik ve mamografik olarak sıklıkla okült olabilir.
Tutulum Yeri/Biyolojik Tanım	Duktal sistem içinde, bazal membranı aşmayan preinvaziv epitel proliferasyonu	TDLU merkezli diskohesif hücre proliferasyonu
Kalsifikasyon	Sık (tarama olgularında belirgin)	Klasik LCIS'te genellikle yok; kalsifikasyon daha çok varyant LCIS'lerde görülebilir.
Çok odaklılık/Bilaterallik	Genellikle tek odaklı/ Bilaterallik tipik değil	Sıklıkla multifokal/ multisentrik ve bilateral eğilim.
İnvaziv kansere ilerleme/ risk anlamı	Doğrudan preinvaziv lezyon; tedavi edilmezse ipsilateral invaziv kansere ilerleme riski klinik olarak önemlidir.	Risk belirteci ve non-obligat prekürsör; invaziv kanser riski her iki memede artar (ipsi + kontra)
Gelişebilecek inaviz kanserin yeri	Daha çok ipsilateral nüks/ilerleme paternleri üzerinden tartışılır.	Risk artışı ipsilateral + kontralateral; bilateral yatkınlık vurgulanır.
E/cadherin(CDH1)/hücre adezyonu	Genellikle E-cadherin pozitif (duktal fenotip; kohesif hücreler).	Klasik olarak E-cadherin kaybı/negatifliği ve belirgin diskohesyon (lobüler fenotip için ayırt edici)

2.3.6. Meme Kanseri Evreleme

Meme kanserinin klinik ve patolojik yönetiminde evrelendirme, Amerikan Kanser Ortak Komitesi (AJCC) tarafından belirlenen standartlara göre yapılmaktadır. Bu sistem, tümörün anatomik boyutunu (T), bölgesel lenf nodu tutulumunu (N) ve uzak metastaz varlığını (M) temel alarak hastalığın yaygınlığını tanımlar. Ancak güncel NCCN kılavuzlarında belirtildiği üzere, evrelendirme artık sadece anatomik bulgularla sınırlı kalmayıp; tümör derecesi (grade), östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve HER2 statüsü gibi biyolojik belirteçlerin de entegre edildiği "Prognostik Evreleme" sistemine dayanmaktadır. Bu yaklaşım, hastaların prognozunu daha doğru belirlemek ve tedavi planlamasını kişiselleştirmek amacıyla

geliştirilmiştir. Lobüler Karsinoma İn Situ (LCIS), benign bir lezyon olarak kabul edildiğinden artık TNM evrelendirme sistemine dahil edilmemektedir

Primer Tümör (T) Sınıflandırması: Primer tümörün değerlendirilmesi, tümörün en büyük boyutu ve çevre dokulara (göğüs duvarı veya deri) olan ilişkisine göre yapılmaktadır. Tümör boyutu, belirli bir T sınıflaması için belirlenmiş eşik değerin (cutoff) biraz altında veya biraz üstünde ise, boyut eşik değere en yakın milimetreye yuvarlanmalıdır. Bu yuvarlama kuralının istisnası, 1.0 ile 1.4 mm arasındaki meme tümörleridir. Bu boyutlar 2 mm'ye yuvarlanır; çünkü aşağı yuvarlama yapılması, kanserin mikroinvaziv karsinom olarak sınıflandırılmasına yol açacaktır.

Tx ve T0: Primer tümörün değerlendirilemediği durumlar (Tx) veya primer tümöre dair kanıtın bulunmadığı (T0) durumları ifade eder.

Tis (Karsinoma in situ): Duktal karsinoma in situ (DCIS) ve invaziv karsinom eşlik etmeyen meme başı Paget hastalığını kapsar.

T1 Kategorisi: Boyutu 20 mm veya daha küçük olan lezyonları kapsar.

T1mi (Mikroinvazyon): Boyutu 1 mm veya daha küçük olan invaziv odaklar.

T1a: Boyutu 1 mm'den büyük ancak 5 mm'den küçük tümörler.

T1b: Boyutu 5 mm'den büyük ancak 10 mm'den küçük tümörler (Genellikle 0.6-1.0 cm aralığı olarak klinik pratikte kullanılır).

T1c: Boyutu 10 mm'den büyük ancak 20 mm'den küçük tümörler.

T2 ve T3 Kategorileri:

T2: 20 mm'den büyük ve 50 mm'ye kadar olan tümörler.

T3: 50 mm'den büyük tümörler.

T4 Kategorisi: Boyuttan bağımsız olarak göğüs duvarına veya cilde doğrudan yayılım gösteren tümörlerdir.

T4a: Göğüs duvarına yayılım(Pektoralis Major hariç)

T4b: İnflamatuar karsinom kriterlerini karşılamayan ciltte ülserasyon ve/veya ipsilateral makroskobik satelit nodüller ve/veya ödem (peau d'orange/portakal kabuğu görünümü).

T4c: T4a ve T4b özelliklerinin bir arada bulunması.

T4d: İnflamatuar karsinom

Bölgesel Lenf Nodu (N) Değerlendirmesi Bölgesel lenf nodu (N) değerlendirmesi, klinik (cN) ve patolojik (pN) bulgulara göre iki farklı şekilde ele alınır. Klinik evrelendirmede fizik muayene ve görüntüleme yöntemleri kullanılırken, patolojik evrelendirme cerrahi rezeksiyon sonrası yapılan histopatolojik incelemeye dayanır.

Bölgesel Lenf düğümleri arasında aksiller, ipsilateral intra mammaryan, internal mammaryan ve supraklavilular düğümler bulunur.

Supraklaviküler lenf düğümleri, evreleme amacıyla bölgesel lenf düğümleri olarak sınıflandırılır. Servikal veya kontralateral aksiller lenf düğümleri dahil olmak üzere diğer herhangi bir lenf düğümüne metastaz uzak (M1) olarak sınıflandırılır.

Klinik N (cN) Sınıflandırması:

cNX: Değerlendirilemeyen bölgesel lenf düğümleri (daha önceden çıkarılmış

cN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok (görüntüleme veya klinik muayene ile)

cN1: Hareketli, ipsilateral seviye I, II aksiller lenf nodlarına metastaz.

cN1mi: Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre; 0,2 mm'den büyük ancak 2 mmden küçük).

cN2: Klinik olarak fikse, ipsilateral seviye I, II aksiller lenf düğümü metastazı ya da klinik olarak belirlenen aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı

cN2a: Başka bir lenf düğümüne veya diğer yapılara fikse, ipsilateral seviye I, II aksiller lenf nodu metastazı

cN2b: Klinik olarak belirlenen aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın, ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı varlığı

cN3: Seviye I, II aksiller lenf nodu tutulumu olan veya olmayan ipsilateral infraklaviküler lenf nodu (seviye III aksiller) metastazı ya da klinik olarak belirlenmiş seviye I, II aksiller lenf nodu metastazı ile birlikte ipsilateral internal mammarian lenf nodu metastazı ya da aksiller ya da internal mammarian lenf nodu metastazı olan veya olmayan ipsilateral supraklaviküler lenf nodu metastazı

cN3a: İpsilateral infraklaviküler lenf düğümü metastazı

cN3b: İpsilateral aksiller ve internal mammarian lenf nodu metastazı

cN3c: İpsilateral supraklaviküler lenf düğümü metastazı

Patolojik N (pN) Sınıflandırması

pNx: Değerlendirilemeyen bölgesel lenf düğümleri (daha önceden çıkarılmış)

pN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok veya sadece izole tümör hücreleri var

pN0(i+): Bölgesel lenf nodlarında sadece sadece izole tümör hücreleri var (0.2 mm'den büyük olmayan malign hücre kümeleri)

pN0(mol+): Reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile pozitif moleküler bulgular, izole tümör hücreleri yok

pN1: Mikrometastazlar; veya 1–3 aksiller lenf nodunda metastaz ve/veya sentinel lenf nodu biyopsisi ile klinik olarak negatif internal mammaria lenf nodlarında mikrometastaz ya da makrometastaz varlığı.

pN1mi: Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre 0.2mm'den büyük ancak 2 mm'den büyük değil)

pN1a: En az 1 tanesi 2 mm'den büyük olan 1-3 aksiller lenf düğümünde metastaz

pN1b: İpsilateral internal mammaryan sentinel lenf nodlarında metastazlar (izole tümör hücreleri hariç)

pN1c: pN1a ve pN1b kombine olması

pN2: 4–9 aksiller lenf nodunda metastaz veya aksiller lenf nodu metastazı yokluğunda görüntüleme ile pozitif saptanan ipsilateral internal mammaryan lenf nodları

pN2a: 4-9 aksiller lenf düğümünde metastaz (En az bir metastazın 2,0 mm'den büyük olması)

pN2b: Patolojik olarak negatif olduğu kanıtlanmış aksiller lenf nodları ile klinik olarak tespit edilmiş internal mammaryan lenf nodlarında metastaz (mikroskobik doğrulama olsun ya da olmasın)

pN3: 10 veya daha fazla aksiller lenf nodlarında metastaz; veya level 3(infraklavikular) lenf nodlarında tutulum; veya bir veya daha fazla pozitif seviye I, II aksiller lenf nodu varlığında, görüntüleme ile pozitif saptanan ipsilateral internal mammaryan lenf nodları; veya üçten fazla aksiller lenf nodunda metastaz ile birlikte klinik olarak negatif ipsilateral internal mammaryan lenf nodlarında sentinel lenf nodu biyopsisi ile mikrometastaz ya da makrometastaz saptanması; veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodu tutulumu

pN3a: 10 veya daha fazla aksiller lenf nodlarında metastaz veya infraklavikular(level III) lenf nodlarına metastaz

pN3b: cN2b (görüntüleme ile pozitif internal mammaria lenf nodları) varlığında pN1a veya pN2a

pN3c: İpsilateral supraklavikular lenf nodlarının metastazı

Uzak Metastaz – M: Hastalığın sistemik yayılımını tanımlar.

M0: Klinik ve radyolojik olarak uzak metastaz yok

cM0(i+): Klinik ve radyolojik olarak uzak metastaz yok fakat metastatik semptomları olmayan hastalarda kanda, kemik iliğinde veya bölgesel olmayan lenf nodlarında moleküler veya mikroskobik olarak tespit edilmiş 0.2mm'den büyük olmayan tümör depozitlerinin bulunması

M1: Klinik ve radyolojik olarak veya histolojik yöntemlerle kanıtlanmış 0.2 mm'den büyük uzak metastazlar

Grade(G):

Tüm invaziv meme karsinomlarına bir histolojik derece verilmelidir. Histolojik olarak derecelendirme için College of American Pathologists (CAP) tarafından Scarff-

Bloom-Richardson (SBR) gradeleme sisteminin Nottingham modifikasyonun kullanımı şart koşulmuştur. Tümör derecesi, morfolojik özelliklerin değerlendirilmesiyle belirlenir; bunlar tübül formasyonu, nükleer pleomorfizm ve kalibre edilmiş mitotik sayımdır. Bu özelliklerin her biri için 1 (olumlu) ile 3 (olumsuz) arasında bir puan verilir ve üç kategorinin puanları toplanır. Toplam 3–5 puan alan tümörler derece 1, 6–7 puan alanlar derece 2, 8–9 puan alanlar ise derece 3 olarak sınıflandırılır (76).

GX: Derece değerlendirilemez

G1: Düşük kombine histolojik derece(olumlu); SBR skoru 3-5 puan

G2: Orta derecede kombine histolojik derece (orta derecede olumlu); SBR skoru 6-7 puan

G3: Yüksek kombine histolojik derece (olumsuz); SBR skoru 8-9 puan

Duktal karsinoma in situ için ise nükleer gradeleme kullanılır.

GX: Derece değerlendirilemez

G1: Düşük nükleer derece

G2: Orta nükleer derece

G3: Yüksek nükleer derece

Hormon Reseptörleri:

Östrojen reseptörü (ER), meme epitel hücrelerinde östrojen sinyalinin nükleusta transkripsiyonel yanıtını yöneten, hücresel büyüme, proliferasyon ve diferansiyasyon süreçlerinde merkezi rol oynayan bir nükleer transkripsiyon faktörüdür. Progesteron reseptörü (PR) ise büyük ölçüde östrojen östrojen/ER sinyal yolunun hedef genlerinden biri olarak düzenlenir ve bu nedenle PR ekspresyonu, fonksiyonel ER aktivitesinin dolaylı bir göstergesi kabul edilir. Klinik pratikte ER ve PR durumu immünohistokimyasal (İHK) yöntemle değerlendirilir; tümör hücrelerinin ≥%1'inde nükleer boyanma saptanması, her iki reseptör için de pozitiflik kriteri olarak kabul edilmektedir. Bu eşik değer, hormon reseptörü pozitif meme kanserlerinde prognozun belirlenmesi ve endokrin tedaviye adaylığın saptanması açısından klinik olarak anlamlıdır (85).

İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü-2 (HER2):

İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2 (HER2 / ERBB2), hücre proliferasyonu ve sağkalım sinyal yolaklarında rol alan bir transmembran tirozin kinaz reseptörüdür. Meme kanserinde HER2 durumunun belirlenmesi, prognozun öngörülmesi ve HER2-hedefli tedavilere uygunluğun saptanması açısından kritik öneme sahiptir. HER2 değerlendirmesi klinik pratikte iki tamamlayıcı yöntemle yapılır: protein ekspresyonunu ölçen immünohistokimyasal (İHK) yöntem ve gen amplifikasyonunu gösteren in situ hibridizasyon (ISH) yöntemi. İHK sonuçları sınırda veya şüpheli bulunduğunda, kesin HER2 durumunun belirlenmesi için ISH analizi önerilmektedir (86).

Tablo 2.2: HER2 skorlaması

HER2 Skoru	**İmmünohistokimyasal**	**Iin Situ Hibridizasyon**
Negatif	**0** veya **1+** membran boyanması	HER2 gen kopya sayısı **< 4**
Şüpheli	**2+** membran boyanması	HER2 gen kopya sayısı **≥ 4 ve < 6**
Pozitif	**3+** güçlü ve tam membran boyanması	HER2 gen kopya sayısı **≥ 6**

Tablo 2.3: Meme kanseri evrelendirmesi

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

2.3.7. Meme Kanserinin Moleküler Alt Tipleri

Meme kanseri, tedaviye yanıt, nüks/metastaz eğilimi ve klinik sonuçlar açısından belirgin farklılıklar gösterebilen; bu farklılıkların önemli bir kısmı tümör biyolojisindeki çeşitlilikten kaynaklanan heterojen bir hastalık grubudur.

Gen ekspresyon profilleme çalışmaları, klasik histopatolojik sınıflamayı tamamlayacak biçimde meme kanserini "intrinsik alt tipler" altında toplamış; klinik literatürde en tutarlı biçimde tekrarlanan ana gruplar Luminal A, Luminal B, HER2-zengin (HER2-enriched) ve bazal-benzeri (basal-like) alt tipler olarak kabul edilmiştir. Buna ek olarak bazı serilerde "normal-benzeri (normal breast-like)" bir grup da tanımlanmış olsa da bu grubun çoğu durumda örneklemenin tümör dışı normal epitel/stromal doku içeriği yüksek olması (yani kontaminasyon) nedeniyle ortaya çıkan yanlış bir sınıflama olabileceği ve bu nedenle güncel tartışmalarda daha temkinli ele alındığı bildirilmektedir (87).

2.3.7.1. Luminal A: Luminal A alt tipi, invaziv meme kanserlerinin en sık görülen alt grubunu oluşturur ve çoğu epidemiyolojik seride meme kanseri olgularının yaklaşık %60'ının luminal A alt tipi olduğu gösterilmiştir. Bu alt tip, genellikle düşük hücresel pleomorfizm, düşük proliferatif aktivite ve yavaş büyüme paterni ile karakterizedir (88).

İmmünohistokimyasal olarak östrojen reseptörü (ER) pozitif, çoğunlukla progesteron reseptörü (PR) pozitif, HER2 negatif ve düşük Ki-67 proliferasyon indeksi ile tanımlanır. Klinik açıdan Luminal A tümörler, diğer intrinsik alt tiplere kıyasla en iyi prognoza ve en düşük nüks riskine sahiptir. Bu biyolojik özellikler doğrultusunda tedavi yaklaşımının temelini endokrin tedavi oluşturur; kemoterapinin katkısı ise çoğu olguda sınırlıdır ve hasta bazında seçici olarak değerlendirilir (88).

2.3.7.2 Luminal B: Luminal B alt tipi, invaziv meme kanserlerinin yaklaşık %15–20'sini oluşturan ve Luminal A alt tipine kıyasla daha agresif özellikler gösteren bir gruptur. Bu tümörler genellikle daha yüksek histolojik derece, artmış proliferatif aktivite ve buna paralel olarak daha kötü prognoz ile ilişkilendirilmiş olup, nüks riski Luminal A alt tipine göre daha yüksektir (88,89).

Klinik pratikte immünohistokimyasal yaklaşımla Luminal B tümörler çoğunlukla ER(+) / HER2(–) ancak Ki-67 proliferasyon indeksi yüksek olan olgular

ya da ER(+) / HER2(+) tümörler şeklinde tanımlanmaktadır. Bununla birlikte, gen ekspresyon profiline dayalı intrinsik sınıflamada Luminal B grubunun küçük bir bölümünün (yaklaşık %5–6) hem ER hem de HER2 negatif olabildiği bildirilmiş olduğundan bu tanım tüm Luminal B alt tipini içermez. Ayrıca Luminal A ve Luminal B alt tiplerinin ayrımında yaygın biçimde kullanılan Ki-67 eşik değeri için laboratuvarlar arası metodolojik farklılıklar ve uzlaşı eksikliği nedeniyle henüz evrensel olarak standardize edilmiş bir cut-off değeri bulunmamaktadır (88,89).

Tedavi yanıtı açısından değerlendirildiğinde, Luminal B tümörler genel olarak endokrin tedaviye Luminal A'ya kıyasla daha az duyarlı kabul edilirken, proliferatif özellikleri nedeniyle neoadjuvan kemoterapiye yanıt oranlarının Luminal A alt tipine göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (88,89).

2.3.7.3. HER2(+): HER2-pozitif meme karsinomları, invaziv meme kanserlerinin yaklaşık %15–20'sini oluşturan ve biyolojik davranış açısından daha agresif özellikler gösterebilen bir alt tiptir. Bu tümörlerde HER2 (ERBB2) gen amplifikasyonu ve/veya protein aşırı ekspresyonu, hücresel proliferasyon ve tümör büyümesini hızlandıran sinyal yolaklarının aktivasyonu ile ilişkilidir; bu durum, HER2-pozitif olguların Luminal A ve Luminal B alt tiplerine kıyasla daha hızlı progresyon ve daha kötü doğal seyir göstermesinin temel biyolojik nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Moleküler düzeyde yapılan geniş serilerde, HER2-pozitif tümörlerin anlamlı bir bölümünde TP53 mutasyonu veya p53 protein aşırı ekspresyonu saptandığı ve bu oranın yaklaşık %40 düzeyinde olduğu bildirilmiştir (90).

İmmünohistokimyasal değerlendirmede HER2-pozitif meme kanserleri, HER2 protein aşırı ekspresyonu (İHK 3+) veya in situ hibridizasyon ile HER2 gen amplifikasyonu saptanması ile tanımlanır. Bu grup sıklıkla östrojen (ER) ve progesteron reseptörü (PR) negatif tümörlerden oluşmakla birlikte, HER2-pozitif olguların tamamı bu fenotiple sınırlı değildir; klinik ve biyolojik açıdan ER ve/veya PR pozitif–HER2 pozitif (luminal-HER2) alt grubun da varlığı kabul edilmektedir (90).

2.3.7.4. Triple Negatif (Basal-Like): Triple-negatif meme kanseri (TNBC), ER, PR ve HER2 ekspresyonunun negatif olduğu (IHK ve/veya ISH/FISH ile) immünfenotip üzerinden tanımlanan; klinik davranışı görece daha agresif, nüks paternleri daha erken dönemde yoğunlaşan bir alt tiptir. TNBC'nin tüm meme kanserleri içindeki payı çoğu seride yaklaşık %10–20 (bazı kaynaklarda %15–25 aralığı) olarak verilir; güncel küresel meme kanseri insidansı düşünüldüğünde bu oran, yıllık yeni TNBC olgularının yüz binler düzeyinde olmasına karşılık gelir. TNBC, hormon reseptör pozitif tümörlere kıyasla daha genç yaşlarda daha sık görülebilmekte ve özellikle Afrika kökenli/siyah kadınlarda daha yüksek oranda rapor edilmektedir (91).

Genetik açıdan TNBC, kalıtsal BRCA mutasyonları ile belirgin biçimde ilişkilidir; prospektif ve seçilmemiş TNBC kohortlarında BRCA1/2 mutasyonu prevalansı yaklaşık %15 düzeyinde bildirilmiş, bu oran ≤50 yaş grubunda daha yüksek bulunmuştur. Bu nedenle TNBC tanılı hastalarda, özellikle tanı yaşı genç olanlarda, genetik danışmanlık ve BRCA değerlendirmesi klinik karar süreçlerinde önemli bir basamak olarak önerilmektedir (92).

Klinik pratikte TNBC'ler sıklıkla hızlı büyüme eğilimi gösterir; bu yüzden bazı olgularda mamografik taramadan ziyade klinik bulgu (palpabl kitle) ile yakalanma olasılığı yüksektir. Histolojik olarak en sık invaziv meme karsinom (NST) spektrumunda yer alır; "medüller özellikli"/medüller paternli tümörlerin genellikle TNBC fenotipiyle ortaya çıktığı bildirilmiştir. Prognoz açısından en ayırt edici özelliklerden biri, TNBC'de uzak nüks riskinin tanıdan sonra erken dönemde yükselmesi ve riskin yaklaşık ilk 3 yıl civarında tepe yapıp daha sonra belirgin şekilde azalmasıdır; bu, hormon reseptör pozitif tümörlerin daha geç ve uzun süreli nüks eğiliminden ayrılır (93).

Ki-67 proliferasyon indeksi, özellikle hormon reseptör pozitif ve HER2 negatif meme kanserlerinde luminal A ve luminal B alt tiplerinin immünohistokimyasal ayrımında önemli bir belirteçtir. St. Gallen 2011 Konsensus Raporu'nda Ki-67 için %14 eşik değeri "düşük proliferasyon" sınırı olarak önerilmiş ve bu cut-off değeri, Cheang ve ark.'nın PAM50 intrinsik alt tipleri ile korelasyon çalışmasına dayandırılmıştır. Ancak sonraki yıllarda Ki-67 değerlendirmesindeki gözlemci ve

laboratuvarlar arası değişkenlik ile birlikte, %14 eşik değerinin klinik karar verme sürecinde yeterli ayrımı sağlamadığı bildirilmiştir. Nitekim St. Gallen 2013 Konsensusu'nda panel üyelerinin çoğunluğu %20 ve üzeri Ki-67 değerini "yüksek proliferasyon" olarak kabul etmiş ve luminal B fenotip tanımlamasında bu sınırın daha uygun olabileceğini belirtmiştir (94). Bunu destekler şekilde, geniş hasta serili ve uzun dönem takip içeren çalışmalarda Ki-67 ≥%20 olan olguların hastalıksız sağkalım ve hastalığa özgü sağkalım açısından belirgin derecede daha kötü prognoza sahip olduğu; %14–19 aralığındaki değerlerin ise düşük proliferatif gruptan anlamlı farklılık göstermediği ortaya konmuştur (95). Güncel konsensus raporlarında da Ki-67'nin tek başına mutlak bir eşik değeri olmadığı vurgulanmakla birlikte, klinik pratikte yüksek riskli hastaların belirlenmesinde ≥%20 sınırının daha güvenilir ve uygulanabilir bir eşik olarak benimsendiği görülmektedir (95,96).

Tablo 2.4: Meme kanseri intrinsik alt tipleri

	ER/PR	**HER2/Neu**	**Grad/Ki-67**
Luminal A	+ +	-	Grade 1-2 Ki-67 < %20
Luminal B	+	-	Ki-67 ≥%20
		+	Grade 2-3 Herhangi Ki-67
Triple Negatif (Basal-Like)	-	-	Grade 3 Herhangi Ki-67
Her2(+)	-	+	Grade 2-3 Herhangi Ki-67

2.3.8. Meme Kanseri Prognostik Faktörler

Meme kanserinde prognoz, hastaya ve tümöre ait çok sayıda klinik, patolojik ve biyolojik faktörün birlikte değerlendirilmesiyle belirlenir.

Yaş: Önemli prognostik belirleyicilerden biridir; 35 yaşından önce meme kanseri nadir görülmekle birlikte, bu yaş grubundaki olgular sıklıkla kalıtsal meme kanseri sendromları ile ilişkili olup daha agresif seyir gösterebilir. Öte yandan ileri yaşta, özellikle 75 yaş üzerindeki hastalarda, genç hastalarla karşılaştırıldığında

yaklaşık %15–20 oranında artmış mortalite bildirilmiştir; bu durum hem tümör biyolojisi hem de eşlik eden komorbiditelerle ilişkilendirilmektedir (97).

Tümör boyutu: Özellikle erken evre meme kanserinde prognozu öngörmede temel parametrelerden biri olarak kabul edilir. Tümör çapı arttıkça lenf nodu tutulum olasılığı yükselmekle birlikte, tümör boyutu ve lenf nodu durumu prognoz açısından birbirinden bağımsız değişkenlerdir (98).

Nodal Tutulum: Lenf nodu tutulumu meme kanserinde en güçlü ve bağımsız negatif prognostik faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. 2 cm'den küçük tümörlerde bile lenf nodu metastazının varlığı sağkalımı anlamlı biçimde olumsuz etkiler (99).

Metastaz: Prognozu belirleyen en kritik faktörlerden biri olup metastatik hastalık, belirgin şekilde kötü prognoz ile ilişkilidir. Metastazın varlığı, hastalığı doğrudan evre IV kategorisine taşır ve tedavi hedeflerini küratif yaklaşımdan palyatif ve yaşam süresini uzatmaya yönelik stratejilere yönlendirir (100).

Histolojik Tip ve Histolojik Derece: Tümörün biyolojik davranışını yansıtan önemli patolojik göstergelerdir. Meme kanserlerinin %70'inden fazlası invaziv duktal karsinom, yaklaşık %10'u ise invaziv lobüler karsinom histolojisine sahiptir (101). Histolojik derece, tübül oluşumu, nükleer pleomorfizm ve mitotik aktivite kriterlerini içeren Elston–Ellis (Nottingham) derecelendirme sistemi ile belirlenir ve tümörün diferansiyasyon düzeyini yansıtarak sağkalım ile doğrudan ilişkilidir (102).

Peritümöral lenfovasküler invazyon: Özellikle ileri evre hastalıkta kötü prognozla ilişkili kabul edilen bir diğer önemli faktördür. Lenfovasküler invazyon varlığı hem bölgesel lenf nodu metastazı hem de uzak metastaz gelişme riskini artırmaktadır (103).

Ki-67: Proliferasyon göstergesi olan Ki-67, prognostik değere sahip biyolojik belirteçlerden biridir; yüksek Ki-67 indeksleri, düşük sağkalım oranları ve artmış hastalık tekrarlama riski ile ilişkilendirilmiştir (104).

Hormon reseptör durumu: Meme kanserinde prognozun yanı sıra tedavi stratejisinin belirlenmesinde de merkezi rol oynarlar. Östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR), androjen ve retinoid reseptörlerini de içeren nükleer

hormon reseptörü süper ailesinin üyeleri olup, özellikle endokrin tedaviye yanıtın öngörülmesinde kullanılır (85).

ER durumu aynı zamanda metastatik yayılım paternleriyle ilişkilidir; ER-pozitif tümörler daha çok kemik, yumuşak doku ve genitoüriner sistem metastazlarıyla ilişkilendirilirken, ER-negatif tümörler daha kısa sağkalım ile sonuçlanan beyin ve karaciğer metastazı geliştirme eğilimindedir (105).

Histolojik açıdan ER-pozitif tümörler genellikle daha iyi diferansiye yapı gösterir. Bununla birlikte, yalnızca tek hormon reseptörünün pozitif olduğu tümörlerin, her iki reseptörün de pozitif olduğu olgulara kıyasla daha kötü prognozlu olabileceği bildirilmiştir (85,106).

HER2 Reseptör Durumu: Prognostik ve prediktif açıdan büyük önem taşır. HER2-pozitif meme kanserleri, hedefe yönelik tedaviler öncesinde daha agresif seyirle ilişkilendirilmişken, günümüzde HER2-hedefli ajanlara verilen tedavi yanıtı, bu hasta grubunda prognozu belirleyen temel unsurlardan biri haline gelmiştir (86).

2.3.9. Meme Kanseri Tedavisi

Meme kanseri tedavisi, hastalığın biyolojik heterojenitesi ve klinik evresine bağlı olarak bireyselleştirilmiş, multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Güncel onkolojik uygulamalarda tedavi planlaması; tümör yükü, nodal durum, metastaz varlığı ve tümörün moleküler belirteç profili (östrojen reseptörü [ER], progesteron reseptörü [PR] ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 [HER2/ERBB2]) dikkate alınarak yapılmaktadır. Bu parametreler yalnızca prognozu belirlemekle kalmayıp, aynı zamanda sistemik tedavi seçeneklerinin seçiminde de temel belirleyicilerdir (107-109).

Meme kanseri tedavisinin temel bileşenleri cerrahi tedavi, sistemik tedaviler (kemoterapi, endokrin tedavi, hedefe yönelik tedaviler ve immünoterapi) ve radyoterapidir. Erken evre hastalıkta cerrahi temelli yaklaşım standart olmakla birlikte, adjuvan veya neoadjuvan sistemik tedaviler lokal kontrolü artırmak ve uzak metastaz riskini azaltmak amacıyla uygulanmaktadır (108,109). Meme koruyucu cerrahi ve mastektomi seçenekleri benzer sağkalım sonuçları sunabilmekte olup, uygun hasta seçimi ve radyoterapi entegrasyonu tedavi başarısında belirleyicidir (108).

Neoadjuvan sistemik tedavi, özellikle büyük tümörlerde ve biyolojik olarak agresif alt tiplerde tümör boyutunu küçülterek cerrahiye uygunluk sağlamayı ve aksiller cerrahi morbiditesini azaltmayı hedefler (108). Adjuvan sistemik tedavi ise mikrometastatik hastalığın eradikasyonu ve nüks riskinin azaltılması amacıyla uygulanır. Hormon reseptör pozitif hastalarda uzun süreli endokrin tedavi, HER2 pozitif hastalarda anti-HER2 ajanlar ve üçlü negatif alt tipte kemoterapi temelli rejimler tedavi planlamasının ana eksenini oluşturur (108,109).

Radyoterapi, özellikle meme koruyucu cerrahi sonrasında lokal nüks oranlarını anlamlı düzeyde azaltmakta ve uzun dönem lokal kontrol sağlamaktadır (108,109). Mastektomi sonrası radyoterapi ise nodal tutulum ve tümör yüküne göre seçilmiş hasta gruplarında önerilmektedir (108).

Metastatik hastalıkta tedavi yaklaşımı küratif olmaktan ziyade yaşam süresini uzatma ve yaşam kalitesini koruma odaklıdır. Bu evrede sistemik tedaviler temel tedavi modalitesini oluştururken, cerrahi ve radyoterapi seçilmiş olgularda palyatif amaçla uygulanmaktadır (108,109). Son yıllarda hedefe yönelik ajanlar ve immün kontrol noktası inhibitörlerinin kullanıma girmesiyle özellikle HER2 pozitif ve üçlü negatif alt tiplerde sağkalım sonuçlarında anlamlı iyileşmeler bildirilmiştir (108).

Sonuç olarak meme kanseri tedavisi, tümör biyolojisi ve hastaya özgü faktörlerin birlikte değerlendirildiği, multidisipliner karar süreçlerine dayanan dinamik bir yaklaşımdır. Erken evrede küratif amaçlı kombine tedaviler ön planda iken, ileri evrede sistemik ve hedefe yönelik stratejiler öncelik kazanmaktadır. Güncel literatür, moleküler alt tip temelli tedavi seçiminin prognozu belirgin şekilde etkilediğini ortaya koymaktadır (107-109).

2.3.9.1. Cerrahi Tedavi: Meme kanserinde cerrahi tedavinin temel amacı, hastalığın lokal kontrolünü sağlarken onkolojik güvenlikten ödün vermeden kozmetik ve fonksiyonel sonuçları optimize etmektir (76,110). Güncel yaklaşım, cerrahi stratejinin tümör biyolojisi, tümör-meme oranı, multifokalite durumu, klinik evre ve planlanan adjuvan tedavilerle birlikte değerlendirilmesini önermektedir (76,109). Bu bağlamda meme cerrahisi iki ana eksende ele alınmaktadır: meme koruyucu cerrahi (breast-conserving surgery, BCS) ve mastektomi.

Meme Koruyucu Cerrahi (Breast-Conserving Surgery): Meme koruyucu cerrahi, tümörün yeterli cerrahi sınırla çıkarılması ve sonrasında adjuvan radyoterapi uygulanması esasına dayanır (109). Randomize çalışmalar ve uzun dönem takip verileri, uygun hasta grubunda BCS + radyoterapinin mastektomi ile benzer sağkalım sonuçları sunduğunu göstermiştir (109,111). Bu nedenle erken evre meme kanserinde, teknik olarak mümkün olduğu ve negatif cerrahi sınır elde edilebildiği sürece BCS öncelikli seçenek olarak değerlendirilmektedir (76,109).

Cerrahi sınırın negatif olması lokal nüks riskinin azaltılmasında belirleyicidir (109). İnvaziv kanserde "no tumor on ink" prensibi kabul edilirken, DCIS olgularında ≥2 mm negatif sınır önerilmektedir (109). Tümör-meme oranının yüksek olması, yaygın mikrokalsifikasyon, multisentrik hastalık veya negatif sınırın sağlanamaması BCS için relatif kontrendikasyon oluşturabilir (76,111).

Onkoplastik cerrahi tekniklerin gelişmesiyle birlikte daha geniş rezeksiyonların kozmetik olarak tolere edilebilir hale gelmesi, BCS endikasyonlarını genişletmiştir. Bu teknikler, onkolojik rezeksiyon ile plastik cerrahi prensiplerinin kombinasyonunu içermektedir (111).

Mastektomi: Mastektomi, meme dokusunun tamamının çıkarılmasıdır ve total mastektomi, cilt koruyucu mastektomi ve meme başı koruyucu mastektomi gibi varyasyonları bulunmaktadır (111). Günümüzde klasik radikal mastektomi terk edilmiş olup, daha az morbiditeye sahip teknikler tercih edilmektedir (76).

Mastektomi; büyük tümör-meme oranı, multifokal veya multisentrik hastalık, inflamatuar meme kanseri, yaygın DCIS varlığı, radyoterapi kontrendikasyonu veya hastanın tercihi gibi durumlarda uygulanmaktadır (76,109). NCCN algoritmalarında, tümörün cerrahi olarak tamamen çıkarılamadığı veya kozmetik olarak kabul edilebilir bir sonuç elde edilemeyeceği durumlarda mastektominin uygun seçenek olduğu belirtilmektedir (76).

Modifiye radikal mastektomi (MRM), mastektomiye ek olarak seviye I–II aksiller lenf nodu diseksiyonunu içeren prosedürdür (76). Günümüzde aksiller cerrahide kapsamın minimalize edilmesi nedeniyle MRM, özellikle klinik olarak nod pozitif ve yüksek aksiller yükü olan hastalarda uygulanmaktadır (109,110).

Erken evre (evre I–II) meme kanserinde, negatif cerrahi sınır elde edilebilen ve radyoterapi alabilecek hastalarda BCS tercih edilir (109). Buna karşın multisentrik hastalık, inflamatuar meme kanseri veya geniş rezeksiyon gerektiren olgularda mastektomi önerilmektedir (76,109).

Neoadjuvan sistemik tedavi sonrası tümör boyutunda küçülme sağlanan hastalarda, başlangıçta mastektomi adayı olan bazı olgular BCS için uygun hale gelebilmektedir (76,112). Bu yaklaşım, cerrahi minimalizasyonun önemli bir parçası olarak değerlendirilmektedir (110).

Sonuç olarak meme cerrahisi seçimi; yalnızca tümör boyutuna değil, tümör biyolojisine, planlanan adjuvan tedavilere ve hasta tercihlerine dayanan bireyselleştirilmiş bir karar sürecidir (76,109,110). Güncel eğilim, onkolojik güvenliği koruyarak mümkün olan en konservatif cerrahi yaklaşımı uygulamaktır (110,111).

Aksiller Cerrahi: Meme kanserinde aksiller cerrahi hem evreleme hem de lokal-bölgesel kontrol açısından kritik öneme sahiptir. Bununla birlikte, aksiller cerrahinin morbiditesi (özellikle lenfödem, omuz hareket kısıtlılığı ve nörosensoriyel defisitler) nedeniyle modern yaklaşım, onkolojik güvenliği korurken cerrahi kapsamı mümkün olduğunca azaltmaya yönelmiştir (76,113). Güncel kılavuzlar, aksiller cerrahinin tümör yüküne, klinik nodal duruma ve sistemik tedavi planına göre bireyselleştirilmesini önermektedir (76,110).

Sentinel Lenf Nodu Biyopsisi (SLNB): Sentinel lenf nodu biyopsisi (SLNB), klinik olarak nod negatif (cN0) hastalarda aksiller evreleme için standart yöntemdir (76,109). Bu teknik, primer tümörden ilk drenaj alan lenf nodlarının çıkarılması prensibine dayanır ve aksiller diseksiyona kıyasla belirgin şekilde daha düşük morbidite ile ilişkilidir (115).

ACOSOG Z0011 çalışması, cT1–2N0 invaziv meme kanseri olup 1–2 pozitif sentinel lenf nodu bulunan ve meme koruyucu cerrahi + tüm meme radyoterapisi planlanan hastalarda tamamlayıcı aksiller diseksiyon yapılmadan benzer genel sağkalım ve lokal kontrol sonuçları elde edilebildiğini göstermiştir (76,109). Bu çalışma, aksiller cerrahinin sınırlandırılmasında dönüm noktası olmuştur.

Benzer şekilde AMAROS çalışması, sentinel nod pozitif hastalarda aksiller radyoterapinin aksiller lenf nodu diseksiyonuna (ALND) alternatif olabileceğini ve

benzer bölgesel kontrol sağladığını ortaya koymuştur. Bu veriler doğrultusunda güncel NCCN algoritmaları, belirli kriterleri sağlayan hastalarda ek aksiller diseksiyonun zorunlu olmadığını belirtmektedir (76). Daha da ileri bir kapsamın daraltılması yaklaşımı, seçilmiş düşük riskli hastalarda SLNB'nin dahi atlanabileceğini göstermiştir. AGO 2025 güncellemesi, belirli düşük risk özelliklerini taşıyan ve meme koruyucu cerrahi + radyoterapi planlanan hastalarda SLNB uygulanmayabileceğini ifade etmektedir (110).

Aksiller Lenf Nodu Diseksiyonu (ALND): Aksiller lenf nodu diseksiyonu (ALND), genellikle seviye I–II aksiller nodların çıkarılmasını içerir (113). Günümüzde ALND; klinik olarak nod pozitif (cN1) hastalarda, sentinel nodda yüksek tümör yükü bulunan olgularda veya Z0011 kriterlerini karşılamayan durumlarda uygulanmaktadır (76,109).

ALND'nin en önemli dezavantajı lenfödem riskidir ve bu risk SLNB'ye göre anlamlı derecede daha yüksektir (113). Bu nedenle aksiller cerrahi, mümkün olan en düşük morbiditeyle en yüksek onkolojik güvenliği sağlayacak şekilde planlanmaktadır (110,113).

Neoadjuvan sistemik tedavi (NST), özellikle başlangıçta nod pozitif olan hastalarda aksiller cerrahi stratejisini değiştirmektedir (76,112). NST sonrası klinik olarak nod negatif hale gelen hastalarda yalnız SLNB yapılması durumunda yalancı negatiflik oranının artabileceği gösterilmiştir. Bu nedenle NCCN, yalancı negatifliği azaltmak amacıyla işaretlenmiş pozitif nodun çıkarılmasını içeren "Targeted Axillary Dissection (TAD)" yaklaşımını önermektedir (76).

AGO 2025 önerileri doğrultusunda, NST sonrası sentinel veya hedef nodda makrometastaz saptanması durumunda ALND önerilmektedir; izole tümör hücresi varlığında ise ALND yapılmayabileceği belirtilmektedir (110). Bu yaklaşım, neoadjuvan tedaviye yanıt veren hastalarda cerrahi kapsamın azaltılmasına olanak tanımaktadır.

Uzak metastatik (evre IV) hastalıkta aksiller cerrahi genellikle küratif amaçlı değildir ve çoğu durumda sistemik tedavi önceliklidir. Ayrıca ciddi komorbiditesi bulunan ve cerrahi riski yüksek hastalarda aksiller cerrahi sınırlı tutulabilir veya ertelenebilir (109).

Sonuç olarak, aksiller cerrahi günümüzde evreleme ve lokal kontrol açısından önemini korumakla birlikte, kanıta dayalı minimalizasyon stratejileri doğrultusunda daha seçici bir şekilde uygulanmaktadır (76,110,113).

2.3.9.2. Sistemik Tedavi: Meme kanserinde sistemik tedavi, klinik olarak saptanamayan mikrometastatik hastalığın eradikasyonunu hedefleyen ve tüm vücut düzeyinde etki gösteren tedavi yaklaşımıdır (107,108). Lokal tedaviler primer tümör ve bölgesel kontrolü sağlarken, sistemik tedaviler hem erken evre hastalıkta rekürrens riskini azaltmak hem de metastatik hastalıkta yaşam süresini uzatmak amacıyla uygulanmaktadır (108). Güncel sistemik tedavi modaliteleri; kemoterapi, endokrin tedavi, HER2 hedefli tedavi ve immünoterapiyi kapsamaktadır (107,112).

Sistemik tedavi kararı; tümör evresi (TNM), lenf nodu durumu, tümörün biyolojik alt tipi (HR, HER2 durumu), histolojik derecesi ve hastanın genel performans durumu dikkate alınarak verilmektedir (112).

Neoadjuvan Sistemik Tedavi: Neoadjuvan sistemik tedavi (NST), cerrahi öncesi uygulanan sistemik tedavi yaklaşımıdır. Temel amaçları; tümör boyutunun küçültülmesi, meme koruyucu cerrahi olasılığının artırılması ve aksiller yükün azaltılmasıdır (107). Ayrıca patolojik tam yanıt (pCR) elde edilmesi, özellikle triple-negatif (TNBC) ve HER2-pozitif alt tiplerde daha iyi uzun dönem sağkalım ile ilişkilidir (114,115).

NSABP B-18 ve B-27 çalışmalarında, neoadjuvan kemoterapinin genel sağkalım açısından adjuvan kemoterapi ile benzer sonuçlar verdiği ancak meme koruyucu cerrahi oranlarını artırdığı gösterilmiştir (114). HER2-pozitif hastalıkta trastuzumab ve pertuzumab kombinasyonu ile pCR(patolojik tam yanıt) oranlarının anlamlı düzeyde arttığı NeoSphere çalışmasında bildirilmiştir (115).

NST özellikle şu hasta gruplarında önerilmektedir:

- Klinik T2–T4 tümörler
- Klinik nod pozitif hastalar
- Triple Negatif Meme Kanseri (TNBC)
- HER2-pozitif hastalar (107,112)

Adjuvan Sistemik Tedavi: Adjuvan sistemik tedavi, cerrahi sonrası mikrometastatik hastalığın ortadan kaldırılmasını ve nüks riskinin azaltılmasını amaçlamaktadır (107). Erken evre meme kanserinde adjuvan polikemoterapinin 10 yıllık rekürrens riskini yaklaşık %30 oranında azalttığı gösterilmiştir (116).

Endokrin Tedavi: Hormon reseptör pozitif hastalarda adjuvan endokrin tedavi temel bileşendir (107). EBCTCG meta-analizi, 5 yıllık tamoksifen tedavisinin 15 yıllık mortaliteyi anlamlı ölçüde azalttığını göstermiştir (117). ATLAS çalışmasında ise tamoksifen süresinin 10 yıla uzatılmasının rekürrens ve mortaliteyi daha da azalttığı bildirilmiştir (118). Postmenopozal hastalarda aromataz inhibitörleri, tamoksifene göre daha düşük nüks oranları ile ilişkilidir (117).

HER2 Hedefli Tedavi: HER2-pozitif erken evre hastalıkta adjuvan trastuzumabın kemoterapi ile birlikte kullanımı sağkalımı anlamlı derecede artırmaktadır. Standart tedavi süresi genellikle 1 yıldır (119).

İmmünoterapi: Triple-negatif meme kanserinde immünoterapi özellikle neoadjuvan dönemde önem kazanmıştır. KEYNOTE-522 çalışması, pembrolizumab eklenmesinin pCR oranlarını ve olaydan bağımsız sağkalımı artırdığını göstermiştir (120).

Evre IV meme kanserinde sistemik tedavi temel yaklaşımdır (108). Hormon reseptör pozitif hastalıkta endokrin tedavi ± CDK4/6 inhibitörleri, HER2-pozitif hastalıkta anti-HER2 kombinasyonları, triple-negatif hastalıkta kemoterapi ± immünoterapi önerilmektedir (108,120).

2.3.10. Meme Cerrahisi Sonrası Komplikasyonlar

Meme cerrahisi sonrası komplikasyonlar erken dönem ve uzun dönem komplikasyonlar olarak sınıflandırılmaktadır. Erken dönem komplikasyonlar genellikle ilk 30–90 gün içerisinde ortaya çıkar ve en sık seroma, hematom ve cerrahi alan enfeksiyonu şeklinde görülür. Mastektomi ve aksiller lenf nodu diseksiyonu sonrası seroma/lenfosel gelişimi en sık bildirilen komplikasyon olup, bu hasta grubunda insidans yaklaşık %24 civarındadır (121). Cerrahi alan enfeksiyonu oranları literatürde değişkenlik göstermekle birlikte, geniş popülasyon temelli bir kohort çalışmasında ilk 90 gün içinde %15,7 oranında yara yeri enfeksiyonu geliştiği

bildirilmiştir (122). Bu erken komplikasyonlar adjuvan tedavinin gecikmesine, hastanede kalış süresinin uzamasına ve morbiditenin artmasına yol açabilmektedir.

Uzun dönem komplikasyonlar ise aylar–yıllar içerisinde ortaya çıkmakta olup özellikle aksiller cerrahiye bağlı lenfödem, omuz hareket kısıtlılığı ve kronik nöropatik ağrı sendromu şeklinde görülmektedir. Lenfödem, özellikle aksiller lenf nodu diseksiyonu uygulanan hastalarda önemli bir geç dönem morbidite nedeni olup yaşam kalitesini belirgin düzeyde etkileyebilmektedir. Güncel veriler cerrahi alan enfeksiyonunun sistemik nüks riskini anlamlı düzeyde artırmadığını göstermekle birlikte, komplikasyon oranlarının azaltılması hem hastanın fonksiyonel iyilik hali hem de adjuvan tedavi sürekliliği açısından klinik önem taşımaktadır (122).

2.4. İMMÜN SİSTEM

Geleneksel immünoloji, bağışıklık sistemini uzun yıllar boyunca yalnızca organizmayı dış kaynaklı patojenlere (bakteri, virüs, mantar, parazit) karşı koruyan ve temel işlevi "ben" (self) ile "ben olmayan" (non-self) ayrımını yapmak olan bir savunma mekanizması olarak tanımlamıştır (123). Ancak son yıllarda literatüre giren kapsamlı çalışmalar, bu tanımın sistemin biyolojik karmaşıklığını ve evrimsel derinliğini tam olarak yansıtmadığını ortaya koymaktadır. Güncel yaklaşımlar, immün sistemin sinir sistemi ile paralel çalışan, organizmanın iç ve dış çevreyle etkileşimini yöneten ve homeostazı sağlayan bir "ilişkiler sistemi" (system of relations) olarak yeniden kavramsallaştırılması gerektiğini savunmaktadır (124). Bu bağlamda immünite, sadece enfeksiyonla mücadele eden bir savaş makinesi değil; aynı zamanda duyusal girdileri işleyen, doku bütünlüğünü koruyan ve fizyolojik süreçleri düzenleyen bilişsel bir ağdır (125).

İmmün sistemin homeostatik rolü, özellikle doku hasarı ve onarımı süreçlerinde belirginleşir. Doku bütünlüğünün bozulması durumunda, doğal bağışıklık hücreleri (özellikle makrofajlar ve gama-delta T hücreleri) hızla aktive olarak sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri salgılarlar. Bu moleküler sinyaller, sadece inflamatuar hücreleri bölgeye çekmekle kalmaz, aynı zamanda epitel hücrelerinin (keratinositler) çoğalmasını ve migrasyonunu uyararak yara iyileşmesi (re-epitelizasyon) sürecini doğrudan yönetir. Örneğin, hasarlı deride indüklenen

Keratinosit Büyüme Faktörü (KGF) ve İnsülin-benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1), doku rejenerasyonunun immünolojik kontrolünde kilit rol oynar (126).

Buna ek olarak, bağışıklık sistemi organizma içindeki "steril temizlikten" de sorumludur. Programlı hücre ölümü (apoptoz) ile yaşam döngüsünü tamamlayan veya hasar gören hücreler, çevre dokuya zarar verecek toksik içeriklerini (hasar ilişkili moleküler kalıplar) dışarı sızdırmadan önce fagositler tarafından tanınmalı ve temizlenmelidir. "Efferocytosis" olarak adlandırılan bu süreçte, apoptotik hücre yüzeyinde beliren fosfatidilserin (PS) gibi "beni ye" sinyalleri, fagositik reseptörler (örneğin MerTK, CD36) tarafından algılanır (127). Bu sessiz temizlik, inflamasyonu baskılayan anti-enflamatuar sitokinlerin (TGF-beta, IL-10) salınımını tetikler ve doku homeostazını sürdürür. Ayrıca bu gözetim mekanizması, kanser gelişimini önlemek adına neoplastik transformasyon geçiren hücrelerin tespit edilip yok edilmesini (immün sürveyans) sağlar (128).

İmmün sistemi, yanıt kinetikleri ve özgüllükleri bakımından "doğal" (innate) ve "edinsel" (adaptif) bağışıklık olarak iki ana kategoriye ayrılır (129).

2.4.1. Doğal Bağışıklık

Organizmanın ilk savunma hattını oluşturan doğal bağışıklık; anatomik bariyerler, çözünür proteinler (kompleman sistemi) ve fagositik hücrelerden oluşur. Bu sistem, tehditlere karşı dakikalar veya saatler içinde yanıt verebilme kapasitesine sahiptir ancak antijene özgü bellek oluşturmaz (130).

Doğal bağışıklık hücreleri, patojenleri tanımak için germ-hattı tarafından kodlanan ve Patern Tanıma Reseptörleri (PRR'ler) adı verilen sensörleri kullanır. PRR'ler, bakteriyel hücre duvarı bileşenleri (lipopolisakkarit, peptidoglikan) veya viral nükleik asitler gibi Patojen İlişkili Moleküler Kalıpları (PAMP'ler) tanır. Bu reseptör ailesinin en iyi karakterize edilen üyeleri Toll-benzeri reseptörlerdir (TLR'ler). Örneğin, hücre yüzeyindeki TLR4 bakteriyel lipopolisakkaritleri (LPS) tanırken; endozomal yerleşimli TLR3, TLR7 ve TLR9 viral RNA ve DNA'yı tespit ederek antiviral Tip I interferon yanıtını başlatır. Ayrıca sitozolik sensörler (örneğin NLRP3 ve AIM2), hücre içi tehlike sinyallerini algılayarak "inflamazom" kompleksini oluşturur ve pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-1beta, IL-18) olgunlaşmasını sağlar (131).

Kanda en yaygın bulunan lökositler olan nötrofiller, enfeksiyon veya doku hasarı bölgesine ilk göç eden hücrelerdir. Kemotaktik faktörleri (IL-8, C5a) takip ederek bölgeye ulaşan nötrofiller, fagositoz yoluyla patojenleri yutarlar (132). Patojen eliminasyonu, NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oksidaz enzimi aracılığıyla üretilen reaktif oksijen türleri ("oksidatif burst") ve granüllerde depolanan proteolitik enzimlerin (elastaz, miyeloperoksidaz) serbest bırakılması (degranülasyon) ile gerçekleşir (132). Nötrofiller sadece efektör hücreler değil, aynı zamanda immün düzenleyicilerdir. Son çalışmalar, nötrofillerin interferon (IFN)-gamma etkisiyle yüzeylerinde PD-L1 (Programlanmış Ölüm Ligandı 1) eksprese edebildiğini ve bu yolla T hücre yanıtlarını baskılayarak (immünosupresyon) doku hasarını sınırlayabildiğini veya tümör immünitesini etkileyebildiğini göstermiştir (133).

Dolaşımdaki monositler, dokulara geçerek makrofajlara veya dendritik hücrelere dönüşebilen multipotent hücrelerdir. Dokularda yerleşik hale gelen makrofajlar, bulundukları mikroçevrenin sinyallerine göre fenotipik plastisite (değişkenlik) gösterirler. Bu durum "makrofaj polarizasyonu" olarak adlandırılır (134):

• **M1 Makrofajları (Klasik Aktivasyon):** IFN-gamma ve LPS gibi uyaranlarla aktive olurlar. Yüksek düzeyde pro-inflamatuar sitokin (IL-6, TNF-alpha) üretir, MHC Sınıf II ve CD86 moleküllerini yoğun şekilde eksprese eder ve patojen öldürme ile tümör yıkımında görev alırlar.

• **M2 Makrofajları (Alternatif Aktivasyon):** IL-4 ve IL-13 etkisiyle gelişirler. CD206 (mannoz reseptörü) ve CD163 eksprese ederler. Enflamasyonu sonlandırma, doku onarımı ve anjiyogenez süreçlerinde rol oynarlar. Osteoartrit gibi kronik hastalıklarda bu dengenin bozulması patolojiyi derinleştirebilir (134).

Ayrıca makrofajlar, karşılaşılan uyaranlara bağlı olarak makrofaj değişimi adı verilen bir süreçle iki fenotip arasında geçiş yapabilir (135).

Dendritik hücreler (DC), doğal bağışıklık sisteminin profesyonel antijen sunucu hücreleri olup doğuştan ve edinsel bağışıklık arasında fonksiyonel bir köprü oluştururlar. Periferik dokularda antijen yakalama kapasitesine sahip olan bu hücreler, yüzeylerinde CD11c ve MHC sınıf II moleküllerini eksprese etmeleri ile tanımlanır. Patojenlerin internalizasyonunu takiben antijenleri işleyerek peptid–MHC

kompleksleri aracılığıyla T lenfositlere sunarlar; bu süreç adaptif immün yanıtın başlatılması için zorunludur. Bu özellikleri sayesinde dendritik hücreler, bağışıklık yanıtının yönünü ve şiddetini belirleyen merkezi düzenleyici hücreler olarak kabul edilmektedir (136).

Dendritik hücreler fenotipik ve fonksiyonel açıdan heterojen bir popülasyon oluşturur. Monosit türevi dendritik hücreler (moDC veya mDC) inflamatuar koşullarda farklılaşırken, geleneksel dendritik hücreler (cDC) ve plazmasitoid dendritik hücreler (pDC) gelişimsel olarak ayrı alt gruplar şeklinde tanımlanmıştır (136). Özellikle pDC'ler viral nükleik asitleri tanıma kapasitesi ve yüksek düzeyde tip I interferon (özellikle IFN-α) üretimi ile karakterizedir; bu özellikleri antiviral immünitenin düzenlenmesinde kritik rol oynar. Bununla birlikte dendritik hücrelerin sitokin üretim profili, karşılaşılan antijenin yapısına, patojenle ilişkili moleküler örüntülere ve mikroçevresel sinyallere bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bu farklılaşmış sitokin yanıtı, T hücre polarizasyonunun (örneğin Th1, Th2 veya Th17 yönelimi) belirlenmesinde temel belirleyicidir (137).

Son yıllarda tanımlanan İnnate Lenfoid Hücreler (ILC'ler), T hücrelerine benzer sitokin profilleri üretmelerine rağmen antijen spesifik reseptörlerden yoksundur. Özellikle Grup 2 ILC'ler (ILC2), IL-5 ve IL-13 gibi Tip 2 sitokinleri hızla üreterek astım patogenezinde, hava yolu eozinofilisinde ve doku onarımında (amphiregulin salgısı ile) kritik rol oynar. ILC2 fonksiyonları, metabolik ürünlerle de düzenlenir; örneğin bağırsak mikrobiyotası kaynaklı bütirat, histon deasetilaz (HDAC) inhibisyonu yoluyla ILC2 proliferasyonunu baskılayabilir (137).

Doğal bağışıklığın sitotoksik kolunu oluşturan Doğal Öldürücü (NK) hücreler, enfekte veya kanserleşmiş hücreleri, o hücrelerin MHC Sınıf I moleküllerini kaybetmeleri ("eksik benlik/missing self" hipotezi) üzerinden tanır (138). NK hücreleri, CD56 yoğunluğuna göre iki ana alt gruba ayrılır: Sitotoksik aktivitesi yüksek olan CD56-dim NK hücreler ve immünoregülatör sitokin (IFN-gamma) üreten CD56-bright NK hücreler (138). NK hücreleri, kanser immünoterapisinde, özellikle immün kontrol noktası inhibitörlerinin (checkpoint inhibitors) etkinliğinde ve monoklonal antikor tedavilerinde (ADCC mekanizması ile) merkezi bir öneme sahiptir (139).

2.4.2. Edinsel Bağışıklık

Doğal bağışıklığın enfeksiyonu sınırlandırmada yetersiz kaldığı durumlarda edinsel (adaptif) bağışıklık devreye girer. Bu sistemin yanıt oluşturması günler (genellikle 4-7 gün) sürer ancak yüksek özgüllüğe ve immünolojik hafıza oluşturma yeteneğine sahiptir (130). Doğal bağışıklığın germ-hattı tarafından kodlanan sabit reseptörlerinin aksine, edinsel bağışıklık sistemi, somatik gen rekombinasyonu yoluyla oluşturulan milyarlarca farklı antijen reseptörüne sahiptir. Antijenik uyarıyı takiben lenfositlerin klonal ekspansiyonu gerçekleşir ve bu, aynı patojenle sonraki karşılaşmalarda çok daha hızlı ve güçlü bir yanıt verilmesini sağlar. Edinsel bağışıklığın çeşitliliği, B ve T lenfositlerin gelişim süreçlerinde meydana gelen V(D)J rekombinasyonu ile sağlanır; gen segmentlerinin rastgele bir araya gelmesi her bir lenfosit klonuna benzersiz bir reseptör özgüllüğü kazandırır (140).

B lenfositler, kemik iliğinde *Pax5* ve *EBF* gibi transkripsiyon faktörlerinin sıkı kontrolü altında gelişir. Yüzeylerinde bulunan B Hücre Reseptörleri (BCR) aracılığıyla antijenleri doğal formlarında tanırlar. Aktive olduklarında plazma hücrelerine dönüşerek antikor üretirler. B hücreleri sadece antikor fabrikası değildir; aynı zamanda T hücrelerine antijen sunumu yaparak ve sitokin (IL-6, IL-10) salgılayarak immün yanıtı modüle ederler (140).

T lenfositler, hücresel bağışıklığın merkezinde yer alır ve kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerden köken alıp timusta olgunlaşırlar. T hücrelerinin antijen tanıması, B hücrelerinden farklı olarak, antijenin doğal yapısına değil, bir Antijen Sunan Hücre (APC) tarafından işlenip Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHC) molekülleri üzerinde sunulan peptit parçalarına yöneliktir (141).

Timik Seçilim ve Tolerans: Timus içinde T hücreleri zorlu bir eğitim sürecinden geçer. "Pozitif seçilim" aşamasında, kişinin kendi MHC moleküllerini tanıyabilen T hücreleri hayatta kalırken, tanıyamayanlar apoptoza uğrar (MHC kısıtlaması). Ardından gelen "negatif seçilim" aşamasında ise, kişinin kendi öz antijenlerine (self-antijen) karşı yüksek afinite gösteren otoreaktif T hücreleri elenir. Bu süreç, "merkezi tolerans"ın temelini oluşturur ve otoimmün hastalıkların önlenmesinde kritik bir bariyerdir (130,141).

T Hücre Aktivasyonu (Üç Sinyal Modeli): Periferik dokularda naif bir T hücresinin tam olarak aktive olabilmesi ve efektör fonksiyona sahip olabilmesi için APC ile etkileşimi sırasında üç farklı sinyali eş zamanlı alması gerekir (133):

Sinyal 1 (Antijen Tanıma): T Hücre Reseptörünün (TCR), APC yüzeyindeki MHC-peptit kompleksine spesifik olarak bağlanmasıdır.

Sinyal 2 (Kostimülasyon): T hücresi yüzeyindeki CD28 molekülünün, APC üzerindeki CD80 (B7-1) veya CD86 (B7-2) ligandlarına bağlanmasıdır. Bu sinyal, hücrenin hayatta kalmasını ve çoğalmasını sağlar. Eğer T hücresi Sinyal 1'i alır ancak Sinyal 2'yi alamazsa, "anerji" adı verilen tepkisizlik durumuna girer.

Sinyal 3 (Farklılaşma): APC tarafından salgılanan sitokinler (örn. IL-12, IL-4, TGF-β), T hücresinin hangi efektör alt tipine (Th1, Th2, Th17) dönüşeceğini belirler (142).

T hücreleri, yüzeylerinde taşıdıkları CD4 veya CD8 koreseptörlerine ve salgıladıkları sitokin profillerine göre fonksiyonel alt gruplara ayrılırlar.

CD4+ Yardımcı T Hücreleri (T helper - Th): MHC Sınıf II molekülleriyle etkileşime giren bu hücreler, immün yanıtın orkestrasyonunu sağlar ve ortamdaki sitokinlere göre farklılaşır (142):

• **Th1 Hücreleri:** IL-12 ve IFN-γ etkisiyle farklılaşırlar. Başlıca IFN-γ salgılayarak makrofajların mikrobisidal aktivitelerini artırır ve hücre içi patojenlere (virüsler, bazı bakteriler) karşı savunmayı yönetirler.

• **Th2 Hücreleri:** IL-4 etkisiyle gelişirler. IL-4, IL-5 ve IL-13 üreterek B hücrelerinin antikor üretmesini teşvik eder, eozinofilleri aktive eder ve parazitlere karşı (helmintler) savunmada rol oynarlar.

• **Th17 Hücreleri:** IL-6 ve TGF-β varlığında gelişirler. IL-17 salgılayarak nötrofillerin enfeksiyon bölgesine göçünü (kemotaksis) sağlarlar ve özellikle ekstraselüler bakteriyel enfeksiyonlarda ve mantar enfeksiyonlarında doku inflamasyonunu başlatırlar.

• **Düzenleyici T Hücreleri (Treg):** Genellikle FoxP3 transkripsiyon faktörünü eksprese ederler. IL-10 ve TGF-β gibi anti-inflamatuar sitokinler salgılayarak aşırı immün yanıtı baskılar, otoimmüniteyi önler ve doku toleransını sağlarlar. Ancak

kanser durumunda, tümör mikroçevresindeki Treg artışı, anti-tümör immüniteyi baskılayarak hastalığın ilerlemesine neden olabilir (133,139).

CD8+ Sitotoksik T Hücreleri (CTL): MHC Sınıf I molekülleri tarafından sunulan antijenleri (viral proteinler veya tümör neo-antijenleri) tanırlar. Hedef hücreyle temas kurduklarında, **perforin** ve **granzim** içeren granüllerini boşaltarak hedef hücre zarında delikler açar ve apoptozu tetiklerler. Ayrıca Fas-Fas Ligand (FasL) etkileşimi yoluyla da hedef hücreyi ölüme sürükleyebilirler (123,142).

T hücre aktivasyonu, doku hasarını önlemek amacıyla sıkı bir "kontrol noktası" (checkpoint) mekanizması ile dengelenir. Aktivasyonun ardından T hücre yüzeyinde CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4) ve PD-1 (Programmed Cell Death 1) gibi inhibitör reseptörler upregüle edilir.

• **CTLA-4:** Kostimülatör CD28 molekülü ile yarışarak B7 ligandlarına (CD80/86) daha yüksek afiniteyle bağlanır ve T hücresini aktivasyonun erken aşamasında durdurur (133,139).

• **PD-1:** Özellikle uzun süreli antijen maruziyetinde eksprese edilir. Dokulardaki veya tümör hücrelerindeki ligandlarına (PD-L1/L2) bağlandığında, T hücresini "yorgun" (exhausted) duruma sokar, sitokin üretimini ve sitotoksik aktiviteyi baskılar (139,143). Kanser hücreleri bu mekanizmayı kullanarak immün saldırıdan kaçarlar; bu nedenle PD-1/PD-L1 eksenini hedefleyen tedaviler güncel immünoterapinin temelini oluşturmaktadır. Örneğin güncel bir çalışmada, CRISPR-Cas9 teknolojisi kullanılarak hastaların T hücrelerinde PD-1 geninin (*PDCD1*) silinmesi ve kansere özgü reseptörlerin eklenmesiyle, refrakter kanser hastalarında tümör regresyonu sağlandığı ve hücrelerin kalıcılığının arttığı gösterilmiştir (143).

2.4.3. Kanser ve İmmun Sistem

Kanser immünolojisinin kavramsal temelleri, bağışıklık sisteminin neoplastik hücreleri tanıma ve ortadan kaldırma kapasitesine sahip olduğu fikrinin ortaya konulmasıyla şekillenmiştir. On dokuzuncu yüzyılın sonlarında William B. Coley'in bakteriyel preparatlar kullanarak sarkom hastalarında sistemik inflamatuar yanıt oluşturması ve bazı olgularda tümör regresyonu gözlemlemesi, modern kanser

immünoterapisinin öncü klinik girişimlerinden biri olarak kabul edilmektedir (144,145).

Bu tarihsel gözlemler, daha sonra Paul Ehrlich'in transformasyon sürecinde ortaya çıkan hücrelerin immün sistem tarafından elimine edildiği yönündeki hipotezi ve Burnet ile Thomas'ın geliştirdiği "immün gözetim" kuramı ile teorik bir çerçeveye oturtulmuştur (144,146). İmmün gözetim hipotezi, özellikle T lenfositlerin ve doğal bağışıklık elemanlarının sürekli olarak dokuları tarayarak transforme olmuş hücreleri klinik olarak belirgin tümör oluşumundan önce ortadan kaldırdığını ileri sürmektedir (144).

Ancak, immün sistemi baskılanmamış bireylerde de kanserin gelişebilmesi, bu teorinin tümör-immün etkileşimini tek başına açıklamada yetersiz kaldığını göstermiş ve Robert Schreiber ve arkadaşları tarafından "Kanser İmmünoeditasyonu" (Cancer Immunoediting) kavramının geliştirilmesine yol açmıştır (146). Kanser immünoeditasyonu, immün gözetimden immün kaçışa giden süreci kapsayan üç temel evreden oluşur: Eliminasyon (Elimination), Denge (Equilibrium) ve Kaçış (Escape). Bağışıklık sistemi, kanser gelişimini hem baskılayabilen hem de yönlendirebilen bir role sahiptir ve bu etkileşim en karmaşık haliyle üç aşamalı bir süreç üzerinden gerçekleşmektedir (147). Eliminasyon evresinde, doğuştan ve edinilmiş bağışıklık sistemi unsurları, transforme olmuş hücreleri klinik olarak belirgin hale gelmeden önce tespit ederek yok etmektedir (148). Eğer bu süreçte tümör hücrelerinin tamamı eradike edilemezse, "Denge" evresi başlar. Bu fazda, tümör hücreleri ile immün sistem arasında fonksiyonel bir sessizlik durumu hakimdir; tümör büyümesi immünolojik baskı altında tutulurken, immün sistemin seçici baskısı altında genetik instabilite ve immün seleksiyon sonucunda daha az immünojenik varyantlar seçilir. Bu durum, tümör hücrelerinin immünojenisitesinin azalmasına ve immünosupresif bir tümör mikroçevresi oluşturma kapasitelerinin artmasına yol açmaktadır (147). Yapılan çalışmalarda, immün denge halindeki tümörlerin, artmış hücre ölümü oranına sahip, yavaş çoğalan ve konak immün efektörlerinin varlığını barındıran kitleler olduğu gözlemlenmiştir (149).

Kaçış fazı, immün sistem tarafından şekillendirilmiş dirençli klonların proliferasyonu ile karakterizedir. Bu aşamada tümör mikroçevresi (TME),

immünosupresif bir fenotipe evrilir. Antijen sunumunun bozulması (MHC sınıf I kaybı), immün kontrol noktası ligandlarının (PD-L1 gibi) artmış ekspresyonu ve düzenleyici T hücreleri (Treg), miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler (MDSC) ve M2 fenotip makrofajların birikimi, kaçış sürecinin temel mekanizmalarını oluşturur (150,151). Ayrıca metabolik yeniden programlama, laktat birikimi ve hipoksik ortamın T hücre fonksiyonlarını baskılayarak immün kaçışı kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Son yıllarda B hücrelerinin de bağlama bağlı olarak hem antitümör yanıtı destekleyebildiği hem de düzenleyici B hücreleri aracılığıyla immün baskı oluşturabildiği bildirilmiştir (150).

2.4.4. İmmunoterapi

Kanser hücrelerinin immün sistemden kaçış mekanizmalarının anlaşılması, immünoterapi stratejilerinin geliştirilmesine olanak tanımıştır. Geleneksel sitotoksik tedaviler doğrudan tümör hücrelerini hedeflerken, immünoterapi bağışıklık sistemini yeniden aktive ederek kalıcı antitümör yanıt oluşturmayı amaçlamaktadır. Klinik uygulamada en yaygın kullanılan yaklaşımlar arasında immün kontrol noktası inhibitörleri (ICI), kanser aşıları ve adaptif hücre transferi (ACT) yer almaktadır (152).

PD-1/PD-L1 ve CTLA-4 yolaklarını hedefleyen inhibitörler, T hücreleri üzerindeki baskılayıcı sinyalleri ortadan kaldırarak birçok solid tümörde anlamlı klinik yanıtlar sağlamıştır. Bununla birlikte primer ve sekonder direnç mekanizmaları, immünosupresif TME varlığı ve tümör heterojenitesi, tedavi başarısını sınırlamaktadır (152).

2.4.4.1. Kanser Aşıları: Kanser aşıları, tümör ilişkili antijenlerin veya neoantijenlerin antijen sunan hücreler aracılığıyla T hücrelerine sunulmasını hedefleyen aktif immünoterapi stratejileridir. Dendritik hücre temelli sipuleucel-T, prostat kanserinde klinik kullanım onayı almış ilk terapötik kanser aşısıdır (153). Son yıllarda mRNA teknolojisindeki gelişmeler, aşı alanında yeni bir dönem başlatmıştır. Kişiye özgü neoantijenleri kodlayan mRNA aşıları (örneğin mRNA-4157), pembrolizumab ile kombine edildiğinde melanom hastalarında nüks riskini önemli ölçüde azaltarak %44 oranında bir iyileşme sağlamıştır (154). Bununla birlikte primer ve sekonder direnç mekanizmaları, immünosupresif TME varlığı ve tümör heterojenitesi, tedavi başarısını sınırlamaktadır (152).

2.4.4.2. Adaptif İmmunoterapi: Adaptif hücre transferi (ACT), immün hücrelerin ex vivo ortamda izole edilmesi, modifiye edilmesi ve çoğaltılarak hastaya geri verilmesi işlemidir; günümüzde CAR-T, TCR-T ve TIL tedavisi olmak üzere üç ana ACT türü klinik onay almıştır (155). Özellikle tümörü infiltre eden lenfositlerin (CD8+ TIL) yoğunluğunun, meme kanseri gibi solid tümörlerde daha iyi bir genel sağkalım (OS) ile ilişkili olduğu ve prognostik bir değer taşıdığı gösterilmiştir (156).

Genetik mühendisliği ürünü olan Kimerik Antijen Reseptörü (CAR) T hücreleri, hematolojik malignitelerde büyük başarı elde etmiştir. Örneğin, CD19'u hedefleyen Kymriah, hastanın T hücrelerini CD19 eksprese eden malign B hücrelerini tanıması ve apoptoza uğratması için yeniden yönlendirerek terapötik etki sağlar (157). Solid tümörlerde ise, FDA tarafından 2024 yılında metastatik melanom tedavisi için ilk TIL terapisi olan lifileucel (Amtagvi) onaylanmıştır (158). Ancak CAR-T hücrelerinin solid tümörlerdeki başarısı, ideal ve tümöre özgü hedeflerin eksikliği ve hedef antijenin normal dokularda da bulunması riski (on-target/off-tumor toksisite) nedeniyle hematolojik kanserlere kıyasla daha sınırlıdır (159). Pankreas kanseri gibi zorlu türlerde, tümör mikroçevresi MDSC'ler, TAM'lar ve Treg'ler gibi immünosüpresif hücreler tarafından domine edilmekte ve bu durum immün kaçışı tetiklemektedir (151,160). Benzer şekilde gastrointestinal tümörlerde, mikrosatellite stabil (MSS) fenotipe sahip hastaların çoğunluğu, tek ajanlı immünoterapilere zayıf yanıt vermektedir (160). Son olarak, doğal öldürücü (NK) hücrelerin de solid tümör tedavisinde potansiyeli araştırılmakta olup, örneğin CISH geninin silinmesinin NK hücrelerinin öldürücü özelliklerini artırdığı ve metastazları baskıladığı gösterilmiştir (161).

2.4.4.3. İmmun Kontrol Noktaları: Bağışıklık sistemi, immün yanıtın başlatılması, yönlendirilmesi ve sınırlandırılmasını sağlamak amacıyla immün kontrol noktası regülatörlerini kullanmaktadır. İmmün kontrol noktaları, esas olarak T hücre aktivasyonunu düzenleyen ve hücre yüzeyinde bulunan membrana bağlı proteinlerdir. Bu moleküller, bir antijene karşı gelişecek immün yanıtın niteliğini belirleyen ikinci sinyali ileterek immün yanıtın etkinliğini kontrol eder (162,163).

T hücre aktivasyonu iki temel sinyal gerektirir. Birinci sinyal, antijenin antijen sunan hücreler (APC) üzerindeki majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf I

veya sınıf II molekülleri aracılığıyla T hücre reseptörüne (TCR) sunulmasıyla oluşur. Ancak yalnızca bu sinyalin varlığı tam T hücre aktivasyonu için yeterli değildir. Antijene özgül etkin bir yanıtın gelişebilmesi için kostimülatör veya inhibitör özellikteki kontrol noktası moleküllerinden kaynaklanan ikinci bir sinyal gereklidir. Bu ikinci sinyalin yokluğunda T hücreleri yeterli proliferasyon ve farklılaşma gösteremez; immün yanıt zayıflar ya da tamamen ortadan kalkabilir (162,164).

İmmün kontrol noktası molekülleri yalnızca aktivasyon sürecini başlatmakla kalmaz, aynı zamanda immün yanıtın süresini ve şiddetini zaman içerisinde modifiye eder. Böylece farklı immün hücre alt grupları, bulundukları mikroçevresel koşullara ve antijenik uyarana özgü yanıtlar geliştirebilir. Bu düzenleyici sistem, immün homeostazın korunmasında ve aşırı inflamatuar yanıtların önlenmesinde kritik rol oynar (163).

Kontrol noktası regülatörlerinden gelen uyarıcı sinyaller T hücre proliferasyonu ve efektör fonksiyonların artışı ile sonuçlanarak hücresel ve hümoral bağışıklık yanıtını güçlendirir. Buna karşılık inhibitör sinyaller, T hücrelerinde anergi gelişimine yol açabilir. Anerjik T hücreleri antijene karşı fonksiyonel olarak yanıtsız hale gelir ve bu durum periferik toleransın sürdürülmesine katkıda bulunur (162,163). Dolayısıyla immün kontrol noktaları, bağışıklık sisteminde aktivasyon ve baskılanma arasında dinamik bir denge sağlayan temel düzenleyici mekanizmalar olarak görev yapmaktadır.

2.4.4.4. İmmun Kontrol Noktası İnhibitörleri: İmmün kontrol noktalarının T hücre aktivasyonu üzerindeki baskılayıcı etkilerinin ortaya konulması, bu yolların terapötik olarak hedeflenmesini mümkün kılmıştır. 2018 yılında Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü, CTLA-4 ve PD-1 yolaklarının keşfi sayesinde kanser tedavisinde immün kontrol noktası blokajının klinik olarak uygulanabilir hale gelmesi nedeniyle James P. Allison ve Tasuku Honjo'ya verilmiştir (165).

İmmün kontrol noktası inhibitörleri (İKNİ), T hücreleri üzerindeki negatif düzenleyici reseptörleri bloke ederek tümör hücrelerinin immün kaçış mekanizmalarını ortadan kaldırmayı amaçlayan monoklonal antikorlardır. T hücre aktivasyonu sırasında yukarı regüle edilen CTLA-4 ve PD-1 gibi inhibitör reseptörler, ligandları (CD80/CD86 ve PD-L1/PD-L2) ile etkileşime girerek sitotoksik T hücre

yanıtını baskılar. Bu etkileşim tümör mikroçevresinde immün baskılanmaya ve tümör progresyonuna katkı sağlar (152). İmmün kontrol noktası inhibitörleri bu negatif sinyali ortadan kaldırarak aktive edilmiş sitotoksik T lenfositlerin tümör hücrelerini tanıyıp yok etmesini sağlar (11).

CTLA-4'ü hedefleyen ipilimumab, 2011 yılında metastatik melanom tedavisinde FDA onayı alan ilk immün kontrol noktası inhibitörüdür (152). PD-1'i hedefleyen nivolumab ve pembrolizumab ise 2014 yılında ileri evre melanomda onay almış ve sonrasında akciğer kanseri, renal hücreli karsinom, baş-boyun kanserleri ve diğer birçok solid tümörde kullanım alanı bulmuştur (152,166). PD-L1'i hedefleyen atezolizumab, durvalumab ve avelumab da çeşitli solid tümörlerde onay almıştır (152).

PD-L1 ekspresyon düzeyi bazı tümör tiplerinde tedavi yanıtını öngörmede biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. Özellikle non-small cell akciğer kanseri ve bazı diğer solid tümörlerde yüksek PD-L1 ekspresyonu, anti-PD-1/PD-L1 tedavilerine daha iyi yanıt ile ilişkilendirilmiştir (152,166). Ayrıca mikrosatellit instabilitesi yüksek (MSI-H) veya mismatch repair defekti bulunan tümörlerde immün kontrol noktası inhibitörlerinin belirgin klinik etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (152).

CTLA-4 ve PD-1 blokajının kombine kullanımı metastatik melanomda daha yüksek objektif yanıt oranları sağlamakla birlikte artmış immün ilişkili advers olay riski ile ilişkilidir. Bu durum, immün sistemin fizyolojik kontrol mekanizmalarının baskılanmasının otoimmünite benzeri yan etkilere yol açabileceğini göstermektedir. Günümüzde TIGIT, LAG-3, TIM-3 ve VISTA gibi yeni kontrol noktası moleküllerini hedefleyen ajanlar da klinik araştırma aşamasındadır (152).

Bununla birlikte, immün kontrol noktası inhibitörleri ile elde edilen dramatik ve kalıcı yanıtlar yalnızca hastaların yaklaşık %20–30'unda görülmektedir. Primer veya sekonder direnç mekanizmalarının anlaşılması ve tümör mikroçevresinin immün baskılayıcı özelliklerinin hedeflenmesi, tedavi etkinliğinin artırılmasında temel araştırma alanlarını oluşturmaktadır (152).

2.4.4.5. Çözünür İmmun Kontrol Noktaları: İmmün kontrol noktası molekülleri klasik olarak hücre yüzeyinde membrana bağlı reseptörler veya ligandlar şeklinde tanımlanmış olmakla birlikte, bu moleküllerin dolaşımda saptanabilen çözünür (soluble) formları da bulunmaktadır. Soluble immün kontrol noktası molekülleri (sICMs), membran bağlı formdan türeyen veya alternatif transkript ürünleri olarak sentezlenen ve serum, plazma ya da diğer biyolojik sıvılarda ölçülebilen proteinlerdir (162,164,167).

Çözünür formlar temel olarak iki ana mekanizma ile oluşmaktadır.

Alternatif mRNA splicing: Bazı immün kontrol noktası genleri, transmembran domeni içermeyen alternatif splice varyantları üretir. Bu varyantlar hücre dışı domeni koruyarak doğrudan dolaşıma salınabilen çözünür proteinler oluşturur. sCTLA-4 ve sPD-1'in belirli formlarının bu mekanizma ile oluştuğu gösterilmiştir (162,164).

Proteolitik kesilme(shedding): Membrana bağlı reseptör veya ligandların ekstrasellüler domenleri, matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) veya ADAM ailesi metalloproteazlar tarafından kesilerek dolaşıma salınabilir. Bu mekanizma özellikle sPD-L1, sB7.2 ve bazı TNF reseptör süper ailesi üyeleri için tanımlanmıştır (168).

Buna ek olarak, bazı çözünür moleküller ekzomlar aracılığıyla da taşınabilmekte ve tümör mikroçevresinden sistemik dolaşıma geçebilmektedir (167).

Fonksiyonel açıdan çözünür immün kontrol noktası molekülleri yalnızca pasif biyobelirteçler değildir. Bu moleküller:

- Ligand-reseptör etkileşimlerini kompetitif olarak inhibe edebilirler,
- İmmün aktivasyonu baskılayabilir veya modüle edebilir,
- T hücre aktivasyonu ve proliferasyonunu etkileyebilir,
- Tümör mikroçevresinde immün kaçışa katkıda bulunabilir (162,164,167).

Klinik çalışmalarda birçok soluble immün kontrol noktası molekülünün serum düzeylerinin hastalık evresi, prognoz ve immün kontrol noktası inhibitör tedavilerine yanıt ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle soluble kontrol

noktası molekülleri, non-invaziv biyobelirteçler olarak dikkat çekmektedir (162-164,167).

sPD-L1: Soluble programmed death-ligand 1 (sPD-L1), membrana bağlı PD-L1'in proteolitik kesilmesi veya alternatif mRNA splicing mekanizmaları sonucunda dolaşıma salınan formudur. PD-L1, PD-1 reseptörüne bağlanarak T hücre proliferasyonunu ve sitokin üretimini baskılayan temel bir immün kontrol noktası ligandıdır ve tümör hücreleri tarafından immün kaçış amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır (169). Meme kanseri hücre dizilerinde yapılan deneysel çalışmalarda, membran PD-L1 pozitif hücrelerin kültür süpernatantında sPD-L1'in saptanabildiği gösterilmiş; ayrıca sPD-L1'in aktive T lenfositlerin proliferasyonunu inhibe ettiği ve apoptoz oranını artırdığı bildirilmiştir (170). Bu bulgular, sPD-L1'in yalnızca pasif bir dolaşım ürünü olmadığını, fonksiyonel immün baskılayıcı etkiler gösterebildiğini düşündürmektedir.

Klinik düzeyde, serum sPD-L1 ELISA yöntemiyle ölçülebilmekte ve çeşitli solid tümörlerde prognostik biyobelirteç olarak araştırılmaktadır (171,172). Hepatoselüler karsinomlu hastalarda 96 pg/mL üzerindeki sPD-L1 düzeylerinin daha kısa hastalıksız ve genel sağkalım ile bağımsız olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir (171). Meme kanserinde ise belirli bir eşik değerin üzerindeki sPD-L1 düzeylerinin progresyonsuz sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (170). Öte yandan, immün kontrol noktası inhibitörü (ICI) tedavisi alan hastaları içeren meta-analiz verileri, tedavi öncesi yüksek sPD-L1 düzeylerinin daha kötü genel sağkalım ile ilişkili olduğunu ve bazı tümör tiplerinde bu ilişkinin daha belirgin olduğunu göstermektedir. Ayrıca anti-PD-L1 tedavisi sırasında serum sPD-L1 düzeylerinde belirgin artış gözlenmesi, bu molekülün tedaviye yanıtın dinamik bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir (172). Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, sPD-L1'in hem biyolojik olarak aktif bir immün modülatör hem de tümör tipine özgü prognostik potansiyele sahip bir dolaşımsal biyobelirteç olabileceği anlaşılmaktadır.

sPD-1: Soluble PD-1 (sPD-1), PD-1 reseptörünün transmembran bölgeyi içermeyen alternatif splice varyantıdır ve dolaşımda serbest formda bulunur. Membran PD-1, PD-L1 ile etkileşerek T hücre proliferasyonu ve efektör fonksiyonlarını baskılayan inhibitör bir immün kontrol noktası reseptörüdür. Soluble kontrol noktası

moleküllerinin splice varyantları veya proteolitik mekanizmalarla oluşabildiği ve biyolojik olarak aktif olduğu bildirilmiştir (173). Bu doğrultuda sPD-1'in, PD-L1 ile bağlanarak membran PD-1/PD-L1 eksenini kompetitif biçimde modüle edebileceği düşünülmektedir.

Klinik çalışmalarda sPD-1 düzeylerinin solid tümörlerde prognostik anlam taşıyabileceği gösterilmiştir. İleri evre EGFR-mutant küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarında yüksek serum sPD-1 düzeylerinin daha uzun progresyonsuz sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (174). Benzer şekilde ileri evre pankreas kanseri kohortunda sPD-1 düzeylerinin sağkalım parametreleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (175). Ayrıca melanom hastalarında kombine immünoterapi sırasında sPD-1 artışının tedavi yanıtı ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (173). Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde sPD-1'in, tümör yükünden ziyade sistemik immün aktivasyon ve kontrol noktası ekseninin dinamik durumunu yansıtan bir biyobelirteç olabileceği anlaşılmaktadır.

sCD25: Soluble CD25 (sCD25), interlökin-2 reseptörünün alfa zincirinin (IL-2Rα) dolaşımdaki formudur. CD25, IL-2 reseptör kompleksinin yüksek afinite kazanmasını sağlayan alfa zinciridir ve T hücre proliferasyonu ile aktivasyonunda kritik rol oynar. CD25'in hücre yüzeyinden salınarak soluble forma geçtiği ve bu formun biyolojik olarak aktif olabileceği gösterilmiştir. Özellikle Treg hücrelerinin aktivasyon sonrası sCD25 salabildiği ve bunun IL-2'yi bağlayarak efektör T hücrelerinden uzaklaştırabileceği belirtilmiştir (176).

Fonksiyonel olarak sCD25'in IL-2'yi bağlayarak T hücre proliferasyonunu baskılayabildiği deneysel olarak gösterilmiştir; rekombinant sCD25'in T hücre proliferasyonunu doz bağımlı biçimde inhibe ettiği bildirilmiştir (176). Klinik düzeyde ise yüksek serum sCD25 düzeyleri malignitelerde artmış bulunmuş ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (176,177). Ailesel meme kanseri hastalarında yapılan çalışmada serum sIL-2R düzeylerinin hastalık seyri ve prognostik parametrelerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (177). Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde sCD25'in yalnızca immün aktivasyon göstergesi değil, aynı zamanda tümör ilişkili immün baskılanmanın bir belirteci olabileceği anlaşılmaktadır.

S4-1BB(sCD137): 4-1BB (CD137), TNF reseptör süper ailesine ait, TCR aracılı birinci sinyal sonrasında indüklenen kostimülatör bir immün kontrol noktası reseptörüdür (162). İnsan 4-1BB proteini yaklaşık 255 amino asitten oluşur; ekstrasellüler domain, 27 amino asitlik bir transmembrane domain ve sitoplazmik sinyal iletim bölgesi içerir. 4-1BB–4-1BBL etkileşimi özellikle $CD8^+$ T hücre proliferasyonunu, IFN-γ üretimini ve antiapoptotik moleküller üzerinden hücresel sağkalımı artırarak antitümör immün yanıtı güçlendirir (178).

Soluble 4-1BB (s4-1BB), alternatif splicing veya proteolitik kesilme sonucu oluşan dolaşımdaki formdur (162,163). Literatürde 4-1BB'nin çözünür formunun serumda saptanabildiği ve bazı hastalık durumlarında arttığı bildirilmiştir (178). Fonksiyonel olarak s4-1BB'in 4-1BBL ile etkileşerek membran 4-1BB sinyalizasyonunu modüle edebileceği ve immün yanıtın şiddetini düzenleyebileceği düşünülmektedir (162,163). Bu nedenle s4-1BB düzeyleri, tümör mikroçevresindeki immün aktivasyonun dolaylı bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

sB7.2(sCD86): B7.2(CD86), başlıca antijen sunan hücrelerde ve bazı tümör hücrelerinde eksprese edilen bir kostimülatuvar moleküldür. CD28 ile etkileşimi T hücre aktivasyonu ve sitokin üretimini desteklerken, CTLA-4 ile bağlanması inhibitör sinyal oluşturarak immün yanıtın baskılanmasına katkı sağlar. CD86'nın CTLA-4'e bağlanma afinitesinin CD28'e göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (179). Bu nedenle CD86, T hücre yanıtının yönünü belirleyen kritik bir immün kontrol noktası ligandıdır. Multipl miyelomda CD86 ekspresyonunun tümör hücre proliferasyonu ve immün modülasyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (180).

Soluble CD86 (sCD86), dolaşımda saptanabilen formudur ve özellikle multipl miyelom hastalarında serumda ölçülebilir düzeylerde bulunmuştur. Oluşum mekanizması açısından, sCD86'nın proteolitik kesilmeden ziyade, transmembran bölgeyi kodlayan ekson 6'nın çıkarılması ile oluşan CD86 variant 3 adlı alternatif splicing ürünü aracılığıyla üretildiği gösterilmiştir. Variant 3 mRNA düzeyleri ile serum sCD86 konsantrasyonu arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. Klinik olarak sCD86 düzeylerinin semptomatik ve ileri evre hastalıkta arttığı ve yüksek düzeylerin daha kısa overall survival ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (179,180). Bu bulgular,

sCD86'nın hem tümör kaynaklı üretilebileceğini hem de hastalık progresyonunu yansıtan dolaşımdaki bir immün belirteç olabileceğini düşündürmektedir.

sCTLA-4: Çözünür CTLA-4 (sCTLA-4), T hücre aktivasyonunun negatif düzenleyicisi olan CTLA-4 molekülünün dolaşımdaki çözünür izoformudur. CTLA-4 normalde CD80/CD86 ligandlarına bağlanarak CD28 aracılı kostimülasyonu baskılar ve T hücre yanıtını inhibe eder. Çözünür formu da B7 bağlanma bölgesini koruduğu için immün yanıtı modüle edebilir (181,182).

sCTLA-4, alternatif splicing sonucu oluşur. Transmembran bölgeyi kodlayan ekzonun çıkarılmasıyla membrana bağlanamayan ve sekrete edilen bir izoform meydana gelir. Bu soluble form serumda ölçülebilir düzeydedir (181). Fonksiyonel olarak CD80/CD86'ya bağlanarak CD28-B7 etkileşimini engelleyebilir ve T hücre proliferasyonunu baskılayabilir (182).

Kanser bağlamında, meme kanserli hastalarda serum sCTLA-4 düzeylerinin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (23.53 ± 14.96 ng/ml vs 7.69 ± 4.04 ng/ml, $p < .001$). Bu artışın CTLA4 gen polimorfizmleri ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (183). Bu bulgular, sCTLA-4'ün tümör mikroçevrede immün baskılanmaya katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

sTim-3: Tim-3 (T cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3), IgV domain, mucin domain, transmembrane domain ve kısa sitoplazmik kuyruktan oluşan tip I membran proteinidir (184). Çözünür formu iki temel mekanizma ile ortaya çıkmaktadır: birincisi, transmembran ve mucin domainlerini içermeyen alternatif splice varyantının oluşumu; ikincisi ise membrana bağlı Tim-3'ün ekstrasellüler kısmının ADAM10 ve ADAM17 metalloproteinazları tarafından proteolitik olarak kesilmesidir (184-186). Fonksiyonel olarak Tim-3, başlıca ligandı olan galectin-9 ile etkileşerek T hücre proliferasyonunu ve efektör sitokin üretimini baskılayan negatif bir immün kontrol noktası olarak görev yapar (184,187). Bu nedenle dolaşımdaki sTim-3 düzeyleri, Tim-3 eksenindeki aktivasyonun ve immün regülasyon durumunun dolaylı bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

Kanser bağlamında Tim-3 ekspresyon artışı birçok solid tümörde kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Geniş kapsamlı bir meta-analizde yüksek Tim-3 protein ekspresyonunun daha düşük overall survival ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu

gösterilmiştir (HR=1.73, %95 GA 1.39–2.15). Aynı analizde Tim-3 ekspresyonunun lenf nodu metastazı ve PD-1 ekspresyonu ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (187). Bu veriler Tim-3 ekseninin tümör progresyonu ve immün baskılanmış mikroçevre ile bağlantılı olduğunu desteklemektedir. Bu bağlamda sTim-3 düzeyleri, özellikle solid tümörlerde prognostik biyobelirteç potansiyeli taşıyan dolaşımsal bir immün parametre olarak değerlendirilebilir.

sLAG-3: LAG-3 (CD223), CD4 ile yapısal benzerlik gösteren ve MHC sınıf II moleküllerine yüksek afinite ile bağlanan aktivasyon-indüklenmiş bir ko-inhibitör reseptördür. Aktive $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücrelerinde eksprese edilir ve efektör T hücre ekspansiyonunu sınırlandırarak immün homeostazın korunmasına katkı sağlar. LAG-3 eksik T hücrelerinde proliferasyon oranı korunmasına rağmen artmış hücre ölümü ve bozulmuş ekspansiyon gözlenmiştir; bu durum LAG-3'ün aktive T hücre genişlemesini negatif yönde düzenlediğini göstermektedir (188).

Çözünür LAG-3 (sLAG-3), T hücre aktivasyonu sırasında yüzey LAG-3'ün metalloproteazlar (özellikle ADAM-17) tarafından proteolitik olarak kesilmesi sonucu dolaşıma salınan formudur. sLAG-3 düzeylerinin erken T hücre aktivasyonu döneminde yükseldiği, immün yanıt geriledikçe azaldığı ve yerleşik hastalık evresinde belirgin olmadığı gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle sLAG-3, kronik hastalık yükünden ziyade erken immün aktivasyon penceresini yansıtan dinamik bir biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir (189).

sGalectin-9: Galectin-9 (Gal-9), iki karbonhidrat tanıma domaini (CRD) içeren tandem-tekrar yapısında bir β-galaktozid bağlayıcı lektindir (190,191). Hücre sitoplazmasında sentezlenen Gal-9, klasik sinyal peptidi taşımamasına rağmen çözünür formda hücre dışına salınabilmektedir. Gal-9'un sekresyonunun non-klasik yolaklar aracılığıyla gerçekleştiği bildirilmiştir. Mevcut veriler, Gal-9'un çözünür formunun proteolitik kesilme veya alternatif splicing mekanizmaları ile oluştuğunu göstermemekte; bunun yerine aktif sekresyon ile ekstrasellüler ortama geçtiğini düşündürmektedir (192). Fonksiyonel olarak Gal-9'un en iyi tanımlanmış etkisi, Tim-3 reseptörüne bağlanarak özellikle terminal tükenmiş $TIM\text{-}3^+$ T hücrelerinde apoptozu indüklemesi ve anti-tümör immün yanıtı baskılamasıdır (190). Bunun yanında hücre

adezyonu, sitokin sekresyonu ve immün hücre migrasyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir (190,191).

Gastrik ve gastroözofageal bileşke kanserinde serum sGal-9 düzeylerinin sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir. Tanısal analizde 6.5 ng/mL eşik değerinin ayırt edici kapasite sağladığı bildirilmiş; ayrıca sGal-9 düzeylerinin>7.2 ng/mL olduğu hastalarda genel sağkalımın anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir. Multivaryat Cox regresyon analizinde sGal-9 yüksekliği bağımsız bir prognostik faktör olarak saptanmıştır (HR 1.841; p=0.013) (192). Bu bulgular, sGal-9'un immün düzenleyici özelliklerinin yanı sıra potansiyel bir prognostik biyobelirteç olarak klinik değer taşıyabileceğini düşündürmektedir.

sTGF-β1: Transforming growth factor-β1 (TGF-β1), immün sistem homeostazının sürdürülmesinde temel rol oynayan pleiotropik bir sitokindir. TGF-β1, hücre içinde latent kompleks halinde sentezlenir ve biyolojik olarak aktif hale gelmeden önce proteolitik veya integrin aracılı mekanizmalarla aktive edilmesi gerekir. Aktif TGF-β1, hücre yüzeyindeki TGF-β tip I ve tip II reseptör kompleksine bağlanarak SMAD2/3 aracılı sinyal yolunu başlatır ve T hücre proliferasyonu ile efektör farklılaşmasını baskılar (193,194). Özellikle IL-2 üretiminin inhibisyonu, Th1/Th2 farklılaşmasının baskılanması ve sitotoksik T lenfosit fonksiyonlarının azaltılması TGF-β1'in temel immün baskılayıcı etkileri arasında yer alır (193).

TGF-β1'in aktif "çözünür" formu, latent kompleksin hücre dışı ortamda proteolitik olarak işlenmesi veya integrinler aracılığıyla aktive edilmesi sonucunda oluşur. Özellikle αvβ8 integrininin MT1-MMP bağımlı mekanizma ile latent TGF-β1'i aktive ettiği gösterilmiştir (195). Kanser biyolojisinde artmış TGF-β1 üretimi, dendritik hücre maturasyonunun engellenmesi, antijen sunumunun azalması ve tümör spesifik sitotoksik T hücre yanıtının baskılanması ile ilişkilidir (193,196). Tümör mikroçevresinde artmış TGF-β sinyalizasyonu, immün kaçış mekanizmasının önemli bileşenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (194,196).

Membrana bağlı immün kontrol noktalarının yanı sıra bu moleküllerin dolaşımda saptanabilen çözünür formlarının da immün regülasyonda aktif rol oynadığı giderek daha fazla gösterilmektedir. Çözünür PD-1, PD-L1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, CD25, 4-1BB, B7.2, Galektin-9 ve aktif TGF-β1 gibi moleküller; tümör

mikroçevresindeki immün aktivasyon ile immün baskılanma arasındaki dinamik dengenin sistemik yansımaları olarak değerlendirilmektedir. Bu çözünür formlar, membran reseptörleriyle ligand rekabetine girebilmekte, immün hücre fonksiyonlarını modüle edebilmekte ve bazı durumlarda doğrudan immün baskılayıcı etki gösterebilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, bu biyobelirteçlerin serum veya plazma düzeylerinin hastalık evresi, tedavi yanıtı ve prognoz ile ilişkili olabileceğini ortaya koymuş; bu nedenle çözünür immün kontrol noktaları hem prognostik hem de prediktif biyobelirteçler olarak dikkat çekmeye başlamıştır. Bu bağlamda, tümör ilişkili lenf nodu mikroçevresine ait immün düzenleyici moleküllerin değerlendirilmesi, kanser progresyonunun ve immün kaçış mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayabilecek potansiyel bir yaklaşım olarak önem kazanmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA TASARIMI VE HASTA POPULASYONU

Bu çalışma, prospektif ve gözlemsel nitelikte tek merkezli bir klinik araştırma olarak planlandı. 1 Ocak 2024 – 1 Ocak 2025 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi, Radyoloji ve Patoloji kliniklerinde, histopatolojik olarak invaziv duktal karsinom tanısı doğrulanmış ve meme ultrasonografisi, meme manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve/veya pozitron emisyon tomografisi–bilgisayarlı tomografi (PET-BT) ile aksillada metastatik lenf nodu şüphesi saptanmış hastalar ardışık olarak değerlendirildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri şu şekilde belirlendi: 18 yaş ve üzerinde olmak, kor biyopsi ile histopatolojik olarak kanıtlanmış invaziv duktal meme karsinomu tanısı almış olmak ve görüntüleme yöntemleri (ultrasonografi, MRG ve/veya PET-BT) ile aksillada metastatik görünümlü lenf nodu saptanmış olmak. Dışlama kriterleri ise şu şekilde tanımlandı: aksiller lenf nodu metastazı saptanmamış invaziv duktal karsinom olguları; metastatik olduğu düşünülen lenf nodundan yapılan ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) sonucunun negatif (benign) gelmesi; ultrasonografik olarak benign değerlendirilen lenf nodundan alınan İİAB patolojisinin malign saptanması; ameliyat sonrası aksiller patolojide klipslenmiş indeks lenf nodu dışında birden fazla malign lenf nodu pozitifliği bulunması; gebelik; 18 yaş altında olmak; eşlik eden başka bir malignite varlığı; bilinen immün yetmezlik öyküsü bulunması ve hastanın bilgilendirilmiş onam formunu imzalayarak çalışmaya katılmayı kabul etmemesi. Tüm hastalara çalışma hakkında ayrıntılı bilgi verilerek yazılı bilgilendirilmiş onam formu alındı.

Çalışmaya başlangıçta toplam 73 hasta aday olarak değerlendirildi. Bu hastaların 51'inde aksiller lenf nodundan yapılan İİAB sonucu malign olarak raporlandı ve bu hastalar çalışma için aday kabul edildi. On üç hastada aksiller lenf nodundan yapılan İİAB sonucu benign olarak değerlendirildiğinden çalışma kapsamı dışında bırakıldı. Üç hastada İİAB örneği yetersiz/belirsiz olarak raporlandı. Altı hastada ise kontrol amacıyla örneklenen benign görünümlü lenf nodundan alınan İİAB

örneklerinde malignite saptanması nedeniyle sitolojik uyumsuzluk bulunduğundan bu hastalar da çalışma dışı bırakıldı.

Malign aksiller İİAB sonucu bulunan 51 hastanın ikisi takip sürecinde hayatını kaybettiğinden çalışma dışı kaldı. Kalan 49 hastanın 19'u çeşitli nedenlerle dışlandı: beş hasta neoadjuvan tedavi sonrasında farklı bir merkezde opere edildiğinden tedavi sonrası lenf nodu washout örneği ve kan numunelerine ulaşılamadı; bir hastada eş zamanlı endometrium karsinomu saptandı; bir hastada takip sırasında kemik metastazı tespit edildi; 12 hastanın ise ameliyat sonrası aksiller patolojik değerlendirmesinde klipslenmiş indeks lenf nodu dışında birden fazla ek malign lenf nodu pozitifliği saptandığından çalışma dışı bırakıldı. Sonuç olarak çalışma, kriterleri sağlayan toplam 30 hasta ile tamamlandı.

Hastaların meme ve aksilla ultrasonografi incelemeleri Samsung RS85 (Samsung Medison Co., Ltd., Seul, Güney Kore) ultrasonografi cihazında, meme ve aksilla için uygun preset ayarları seçilerek 14 MHz lineer transdüser kullanılarak gerçekleştirildi. Görüntüleme yöntemleriyle metastatik olduğu düşünülen lenf nodundan İİAB yapılması zaten rutin klinik pratiğin bir parçası olduğundan, bu çalışmada ek olarak aynı aksillada benign bir lenf nodunun belirlenmesi gerekmiştir. Benign lenf nodu seçiminde ultrasonografik olarak korteks kalınlığının normal sınırlarda olması, yağlı hilusun belirgin ve korunmuş olması ve lenf nodunun oval morfolojisini sürdürmesi kriterleri esas alındı. Buna karşılık korteksi diffüz veya fokal olarak kalınlaşmış, hilusu daralmış ya da kaybolmuş ve/veya oval morfolojisi bozularak yuvarlaklaşmış lenf nodları metastaz açısından şüpheli olarak kabul edildi.

Neoadjuvan tedavi öncesi dönemde, evreleme amacıyla rutin klinik pratik kapsamında gerçekleştirilen aksiller lenf nodu İİAB sırasında eş zamanlı olarak washout örnekleri toplandı. Ultrasonografi rehberliğinde 21G iğne kullanılarak öncelikle metastaz şüphesi taşıyan lenf nodundan İİAB yapıldı. Sitolojik örnekleme tamamlandıktan sonra iğne lümeninde kalan rezidüel hücresel materyalin elde edilmesi amacıyla iğne içine 2 mL serum fizyolojik (%0,9 NaCl) ile basınçlı yıkama uygulandı ve elde edilen malign lenf nodu washout sıvısı jelsiz sarı kapaklı düz biyokimya tüpüne aktarıldı. Aynı seansta, yukarıda belirtilen ultrasonografik kriterlere göre benign olarak değerlendirilen lenf nodundan da İİAB uygulandı ve aynı yöntemle

2 mL serum fizyolojik ile basınçlı yıkama yapılarak elde edilen benign lenf nodu washout sıvısı ayrı bir sarı kapaklı tüpe konuldu.

Washout örneklemesine ek olarak, neoadjuvan tedavi öncesi dönemde her hastadan tümörün bulunduğu taraftaki üst ekstremiteden 10 mL periferik venöz kan örneği alınarak jelli biyokimya tüpüne (serum ayrıştırma tüpü) aktarıldı. Neoadjuvan sistemik tedavi tamamlandıktan sonra ameliyat öncesi hazırlık döneminde aynı hastalardan ipsilateral koldan tekrar 10 mL venöz kan örneği alınarak jelli biyokimya tüpüne konuldu. Post-tedavi örneklemeler, neoadjuvan tedavi bitimini takiben ortalama 3–6 hafta içerisinde gerçekleştirildi. Ayrıca neoadjuvan tedavi öncesinde metastatik olduğu doğrulanarak radyoopak klips ile işaretlenmiş olan indeks lenf nodundan, ameliyat öncesi radyoaktif madde ile işaretleme (ROLL – Radioguided Occult Lesion Localization) prosedürü sırasında eş zamanlı olarak ultrasonografi rehberliğinde İİAB uygulandı ve aynı basınçlı yıkama yöntemiyle 2 mL serum fizyolojik kullanılarak neoadjuvan sonrası malign lenf nodu washout örneği elde edilerek sarı kapaklı tüpe aktarıldı.

Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası toplanan tüm kan ve washout örnekleri 2000 × g'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatanlar ayrı ayrı ependorf tüplerine aktarıldı, uygun şekilde etiketlendi ve analiz gününe kadar −80 °C'de saklandı. Örneklerin toplanması ile analiz arasındaki süreçte soğuk zincir kırılmadan depolama koşulları sürdürüldü.

3.2. NEOADJUVAN TEDAVİ REJİMLERİ

Çalışmaya dahil edilen 30 hastanın tamamına multidisipliner tümör kurulu kararı doğrultusunda neoadjuvan sistemik tedavi uygulandı. Tedavi rejimleri, hastaların moleküler alt tipi ve klinik evresi göz önünde bulundurularak bireyselleştirildi.

Hormon reseptör pozitif ve HER2 negatif olan hastalarda (Luminal A ve HER2 negatif Luminal B alt tipleri) ağırlıklı olarak antrasiklin ve taksan bazlı ardışık kemoterapi protokolleri tercih edildi. Bu grupta en sık uygulanan rejim, 21 günde bir 4 kür doksorubisin + siklofosfamid (AC) ardından haftada bir 12 kür paklitaksel şeklindeydi (n=11). İki hastada ise AC sonrasında 21 günde bir 4 kür dosetaksel uygulandı (n=2).

HER2 pozitif olan hastalarda (HER2 pozitif ve HER2 pozitif Luminal B alt tipleri) tedavi rejimine trastuzumab ve pertuzumab eklendi. Bu grupta en sık uygulanan protokol, 21 günde bir 4 kür AC ardından 21 günde bir 4 kür dosetaksel + trastuzumab + pertuzumab şeklindeydi (n=12). Üç hastada ise antrasiklinsiz rejim olarak 21 günde bir 6 kür dosetaksel + karboplatin + trastuzumab + pertuzumab (TCHP) protokolü tercih edildi (n=3).

Triple negatif alt tipteki iki hastada platin bazlı kombinasyonlar kullanıldı. İki hastaya da 4 kür AC ardından 21 günde bir 4 kür karboplatin ile eş zamanlı olarak haftada bir 12 kür paklitaksel uygulandı.

Tüm hastalarda uygulanan neoadjuvan tedavi protokolleri güncel Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı (NCCN) meme kanseri kılavuzuyla uyumludur.

3.3. ÇÖZÜNÜR İMMUN KONTROL NOKTASI PROTEİNLERİNİN ÖLÇÜMÜ

Lenf nodu washout ve serum örneklerinde çözünür immün kontrol noktası proteinlerinin kantitatif analizi, boncuk tabanlı (bead-based) multipleks immünolojik ölçüm yöntemiyle gerçekleştirildi. Ölçümler için LEGENDplex™ Human Immune Checkpoint Panel 1 (12-plex) kiti (BioLegend, San Diego, CA, ABD; katalog no: 740866) kullanıldı. Örnekler üretici talimatlarına uygun şekilde seyreltilerek hazırlandı ve akış sitometri cihazı CytoFLEX (Beckman Coulter, Brea, CA, ABD) ile ölçüm yapıldı. Elde edilen veriler LEGENDplex™ Data Analysis Software ile analiz edildi.

Çalışmada ölçülen çözünür immün kontrol noktası proteinleri şunlardır: sCD25 (sIL-2Rα), s4-1BB (sCD137), sCD27, sB7.2 (sCD86), serbest aktif TGF-β1, sCTLA-4, sPD-L1, sPD-L2, sPD-1, sTim-3, sLAG-3 ve sGalectin-9. Tüm sonuçlar pg/mL cinsinden raporlandı.

3.4. ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Helsinki Bildirgesi ilkelerine uygun olarak planlandı ve yürütüldü. Çalışma protokolü, Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 22.12.2023 tarihinde 333 numaralı karar ile onaylandı. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalardan, çalışmanın

amacı, kapsamı ve prosedürleri hakkında ayrıntılı bilgi verildikten sonra yazılı bilgilendirilmiş gönüllü onam formu alındı.

3.5. ÖRNEKLEM BÜYÜKLÜĞÜ

Çalışmanın örneklem büyüklüğü, çalışma öncesinde yapılan güç analizi ile belirlendi. Tip I hata oranı (α) %5, istatistiksel güç (1-β) %80 ve standart etki büyüklüğü (Cohen's d) 0,79 kabul edilerek en az 25 olgunun yeterli olacağı hesaplandı.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Statistics 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren değişkenler ortalama ± standart sapma (mean ± SD), normal dağılım göstermeyen değişkenler ise ortanca ve çeyrekler arası aralık (median – IQR) biçiminde sunuldu. Kategorik değişkenler frekans ve yüzde (n, %) olarak ifade edildi. İki bağımsız grubun karşılaştırılmasında, normal dağılıma uyan sürekli değişkenler için bağımsız örneklem t-testi (independent samples t-test), normal dağılım varsayımının karşılanamadığı değişkenler için ise Mann-Whitney U testi uygulandı. Aynı hasta grubunda neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası ölçümlerin karşılaştırılmasında, normal dağılım gösteren eşleştirilmiş veriler için eşleştirilmiş örneklem t-testi (paired samples t-test), normal dağılım göstermeyen eşleştirilmiş veriler için ise Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanıldı.

Neoadjuvan tedavi sürecinde her bir parametre için mutlak değişim değerleri hesaplandı. Yüzdesel değişim oranları [(tedavi sonrası değer – tedavi öncesi değer) / tedavi öncesi değer] × 100 formülü kullanılarak elde edildi. Yüzdesel değişim değerlerinde negatif sonuçlar azalmayı, pozitif sonuçlar ise artışı ifade ederken; mutlak değişim değeri, tedavi öncesi ve sonrası ölçümler arasındaki farkın yönünden bağımsız olarak büyüklüğünü gösterecek şekilde |tedavi sonrası değer – tedavi öncesi değer| olarak hesaplandı. Bu değişim parametreleri, patolojik tam yanıt durumu ve lenf nodu

yanıt durumuna göre gruplar arasında yukarıda belirtilen uygun parametrik veya non-parametrik testlerle karşılaştırıldı.

İki sürekli değişken arasındaki ilişkinin incelenmesinde bivariate korelasyon analizi uygulandı. Verilerin dağılım özelliklerine göre Pearson veya Spearman korelasyon katsayısı hesaplandı. Korelasyon katsayısının (r) yorumlanmasında 0,00–0,19 arası çok zayıf, 0,20–0,39 arası zayıf, 0,40–0,59 arası orta, 0,60–0,79 arası güçlü ve 0,80–1,00 arası çok güçlü korelasyon olarak değerlendirildi.

Neoadjuvan tedavi öncesi dönemde benign ve malign lenf nodu washout örneklerinin ayırt edilmesinde immün kontrol noktası belirteçlerinin tanısal performansı, alıcı işlem karakteristiği (ROC – Receiver Operating Characteristic) eğri analizi ile değerlendirildi. ROC analizi, karşılaştırmalı analizlerde istatistiksel olarak anlamlı bulunan belirteçler üzerinde uygulandı. Eğri altında kalan alan (AUC – Area Under the Curve) değerleri %95 güven aralığı ile birlikte hesaplandı. Optimum eşik (cut-off) değerlerinin belirlenmesinde Youden indeksi (J = duyarlılık + özgüllük – 1) kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 30 hastanın demografik ve kliniko-patolojik verileri Tablo 4.1'de özetlenmiştir. Hastaların yaş ortalaması 53,03±10,27 yıl olarak saptandı. Neoadjuvan sistemik tedavi (NST) sonrası meme ve aksiller lenf nodunda eş zamanlı patolojik tam yanıt (pCR) oranı %33,3 (n=10) idi. Aksiller lenf noduna özgü tam yanıt oranı ise %63,3 (n=19) olarak saptandı.

Moleküler alt tip dağılımı değerlendirildiğinde olguların büyük çoğunluğunu Luminal B alt tipi oluşturmaktaydı (%80,0; n=24). HER2 pozitif alt tip %10,0 (n=3), triple negatif alt tip %6,7 (n=2) ve Luminal A alt tipi %3,3 (n=1) oranında temsil edilmekteydi. Neoadjuvan tedavi öncesi klinik evreleme incelendiğinde hastaların %53,3'ü (n=16) evre II, %46,7'si (n=14) ise evre III olarak sınıflandırılmıştı.

Histolojik grade değerlendirmesi yalnızca neoadjuvan tedavi sonrasında invaziv rezidü tümörü saptanan 17 hastada gerçekleştirilebildi. Bu olgularda Grade 2 diferansiyasyon %88,2 (n=15) oranıyla baskın histolojik patern olarak saptanırken, Grade 3 diferansiyasyon %11,8 (n=2) oranında gözlendi. Grade 1 tümör hiçbir olguda saptanmadı. Tablo 4.1.de histolojik grade yalnızca invaziv rezidü tümörü bulunan hastalarda (n=17) değerlendirilmiştir. Patolojik tam yanıt, meme ve aksiller lenf nodunda rezidü invaziv tümör saptanmaması olarak tanımlanmıştır.

Tablo 4.1: Hastaların demografik ve kliniko-patolojik özellikleri

Yaş(yıl) (median-IQR)		54,5-15
Patolojik Tam Yanıt(meme ve lenf nodu), n (%)		10 (33,3)
Aksiller lenf nodunda tam yanıt, n(%)		19 (63,3)
Moleküler alt tip, n(%)	Luminal A	1 (3,3)
	Luminal B	24 (80)
	Triple Negatif	2 (6,7)
	Her2 pozitif	3 (10)
Klinik evre (Neoadjuvan öncesi), n(%)	Evre II	16 (53,3)
	Evre III	14 (46,7)
Histolojik Grade, n(%)	Grade 1	0 (0)
	Grade 2	15 (88,2)
	Grade 3	2 (11,8)

Tablo 4.2: Neoadjuvan tedavi öncesi benign ve malign lenf nodu washout örneklerinde immün kontrol noktası düzeylerinin karşılaştırılması

İmmün Kontrol Noktaları	Benign Lenf Nodu	Malign Lenf Nodu	p
sCD25 (pg/mL) (Mean ± SD)	11,49 ±7,53	22,03 ± 20,98	**0,014**
s4-1BB (pg/mL) (Median – IQR)	0 – 3,10	1,17 – 9,14	0,054
sCD27 (pg/mL) (Median – IQR)	640,05 – 1717,98	966,80 – 3186,10	0,174
sB7.2 (pg/mL) (Median – IQR)	2,48 – 1,53	4,26 – 3,69	**0,024**
Serbest Aktif TGF-ß1(pg/mL) (Median – IQR)	2,16 – 5,81	5,01 – 13,71	**0,023**
sCTLA-4 (pg/mL) (Mean ± SD)	0,25 ± 0,14	0,52 ± 1,47	0,329
sPDL-1 (pg/mL) (Median – IQR)	2,13 – 1,33	3,58 – 4,03	**0,001**
sPDL-2 (pg/mL) (Median – IQR)	3,69 – 24,69	27,00 – 64,01	**0,005**
sPD-1 (pg/mL) (Median – IQR)	2,16 – 0,73	2,61 – 2,38	**0,010**
sTim-3 (pg/mL) (Median – IQR)	19,43 – 33,26	67,10 – 128,08	**0,002**
sLAG-3 (pg/mL) (Mean ± SD)	32,79 ± 13,27	51,28 ± 23,87	**0,001**
sGalectin-9 (pg/mL) (Median – IQR)	49986,90 – 163668,23	294540,65 – 445960,43	**<0,001**

Neoadjuvan tedavi öncesinde aynı aksilladan elde edilen benign ve malign lenf nodu washout örneklerinde çözünür immün kontrol noktası belirteçleri karşılaştırıldı (Tablo 4.2).

İncelenen 12 çözünür immün kontrol noktası belirtecinden 9'unda malign lenf nodu washout düzeyleri benign lenf noduna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Çözünür CD25 (sCD25) düzeyleri malign lenf nodlarında benign lenf nodlarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu (22,03 ± 20,98 vs 11,49 ± 7,53 pg/mL; p=0,014). Benzer şekilde sB7.2 (p=0,024), serbest aktif TGF-β1 (p=0,023), sPD-L1 (p=0,001), sPD-L2 (p=0,005), sPD-1 (p=0,010), sTim-3 (p=0,002), sLAG-3 (p=0,001) ve sGalectin-9 (p<0,001) düzeyleri malign lenf nodu washout örneklerinde benign örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek saptandı.

Öte yandan, s4-1BB düzeylerinde iki grup arasında istatistiksel anlamlılık sınırına yaklaşan ancak anlamlılık eşiğine ulaşmayan bir fark gözlendi (p=0,054). sCD27 (p=0,174) ve sCTLA-4 (p=0,329) düzeylerinde ise benign ve malign lenf nodları arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.3: Neoadjuvan tedavi öncesi benign ve malign lenf nodlarının ayırımında immün kontrol noktası belirteçlerinin ROC analizi sonuçları

İmmün Kontrol Noktaları	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	Cut-off	AUC(95% GA)	p
sCD25 (pg/mL)	46,7	86,7	15,715	0,674 (0,538-0,811)	0,020
sB7.2 (pg/mL)	56,7	80	3,980	0,669 (0,528-0,811)	0,024
Serbest Aktif TGF- ß1 (pg/mL)	70	60	2,895	0,671 (0,534-0,808)	0,023
sPDL-1 (pg/mL)	80	63	2,175	0,753 (0,629-0,877)	0,001
sPDL-2 (pg/mL)	93	53	4,301	0,709 (0,575-0,843)	0,005
sPD-1 (pg/mL)	60	83	2,480	0,693 (0,558-0,828)	0,010
sTim-3 (pg/mL)	87	50	19,270	0,736 (0,608-0,863)	0,002
sLAG-3 (pg/mL)	80	57	32,100	0,733 (0,605-0,860)	0,002
sGalectin-9 (pg/mL)	83	60	75988,050	0,798 (0,685-0,911)	<0,001

AUC: eğri altı alan; **GA:** güven aralığı.

Neoadjuvan tedavi öncesinde benign ve malign lenf nodu washout örneklerinin ayırımında anlamlı farklılık saptanan immün kontrol noktası belirteçlerinin tanısal performansı ROC analizi ile değerlendirildi (Tablo 4.3). Eşik değerlerinin belirlenmesinde iki farklı yaklaşım kullanıldı. sCD25, sB7.2, serbest aktif TGF-β1 ve sPD-1 için Youden indeksi ile optimal cut-off değerleri hesaplandı. sPD-L1, sPD-L2, sTim-3, sLAG-3 ve sGalectin-9 için ise klinik uygulanabilirliği artırmak amacıyla dengeli eşik değeri (balanced cut-off) yaklaşımı tercih edildi. Dengeli eşik değeri, duyarlılığın ≥%75 ve özgüllüğün ≥%50 koşulunu eş zamanlı olarak sağladığı optimal nokta olarak tanımlandı. Bu yaklaşım, tarama amaçlı kullanılacak belirteçlerde yüksek duyarlılığın korunmasını sağlarken kabul edilebilir düzeyde bir özgüllük elde edilmesine olanak tanımaktadır.

Tüm belirteçlerin AUC değerlerinin 0,5'in üzerinde olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı tanısal performans sergilediği saptandı (tüm parametreler için p<0,05). En yüksek ayırt edici performansı sGalectin-9 belirteci gösterdi (AUC=0,798; %95 GA: 0,685–0,911; p<0,001). Galectin-9'u sırasıyla sPD-L1 (AUC=0,753), sTim-3 (AUC=0,736) ve sLAG-3 (AUC=0,733) izledi. Diğer belirteçler arasında sPD-L2 (AUC=0,709), sPD-1 (AUC=0,693), sCD25 (AUC=0,674), serbest aktif TGF-β1 (AUC=0,671) ve sB7.2 (AUC=0,669) için de anlamlı ayırt edici performans saptandı.

Belirlenen eşik değerlerine göre sensitivite ve spesifite profilleri incelendiğinde, dengeli eşik değeri kullanılan belirteçlerde yüksek duyarlılık ön plana çıktı: sPD-L2 (%93), sTim-3 (%87), sGalectin-9 (%83), sPD-L1 (%80) ve sLAG-3 (%80) belirteçlerinin tümü ≥%75 duyarlılık koşulunu sağladı. Youden indeksi ile belirlenen eşik değerleri kullanılan belirteçlerde ise yüksek özgüllük dikkat çekiciydi: sCD25 (%86,7) ve sPD-1 (%83) yüksek spesifite değerleri sergiledi.

Tablo 4.4: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçlerinin karşılaştırılması

Kan Belirteçleri	Neoadjuvan Öncesi	Neoadjuvan Sonrası	p
Hematokrit (%) (mean ± SD)	38,60 ± 4,55	35,58 ± 3,72	**<0,001**
Hemoglobin (g/dL) (mean ± SD)	12,66 ± 1,68	11,60 ± 1,24	**<0,001**
WBC (10^3/μL) (mean ± SD)	6,96 ± 1,86	6,08 ± 2,55	**0,033**
Trombosit (10^3/μL) (mean ± SD)	274,09 ± 89,32	274,83 ± 77,54	0,100
Nötrofil (10^3/μL) (mean ± SD)	4,37 ± 1,54	3,87 ± 1,99	0,140
Nötrofil Yüzdesi (mean ± SD)	62,17 ± 10,38	61,18 ± 13,97	0,689
Lenfosit (10^3/μL) (mean ± SD)	1,96 ± 0,69	1,59 ± 0,77	**0,001**
Lenfosit Yüzdesi (mean ± SD)	27,44 ± 9,39	28,21 ±13,02	0,753
Albumin (g/dL) (mean ± SD)	44,02 ± 3,26	41,03 ± 3,26	**<0,001**

Tüm çalışma popülasyonunda (n=30) neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçleri karşılaştırıldı (Tablo 4.4).

Neoadjuvan tedavi sonrasında hematokrit (p<0,001) ve hemoglobin (p<0,001) düzeylerinde belirgin azalma saptandı. Lökosit (WBC) düzeyinde de tedavi sonrası anlamlı düşüş gözlendi (p=0,033). Lenfosit düzeyleri neoadjuvan tedavi sonrası anlamlı olarak azalırken (p=0,001), albümin düzeylerinde de anlamlı düşüş izlendi (p<0,001). Trombosit, nötrofil, nötrofil yüzdesi ve lenfosit yüzdesi açısından ise tedavi öncesi ve sonrası değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Tablo 4.5: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki çözünür immün kontrol noktası düzeylerinin karşılaştırılması

İmmün Kontrol Noktaları	Neoadjuvan Öncesi	Neoadjuvan Sonrası	p
sCD25 (pg/mL) (median – IQR)	382,58 – 256,06	508,29 – 328,08	**0,018**
S4-1BB (pg/mL) (median – IQR)	20,88 – 9,42	18,40 – 7,41	0,052
sCD27 (pg/mL) (mean ± SD)	45463,49 ± 35567,42	36814,37 ± 21474,40	0,119
sB7.2 (pg/mL) (mean ± SD)	109,92 ± 42,89	120,91 ± 59,21	0,226
Serbest Aktif TGF- ß1 (pg/mL) (median – IQR)	3,69 – 7,97	1,64 – 3,22	**0,002**
sCTLA4 (pg/mL) (median – IQR)	0,44 – 1,21	0,26 – 0,77	**0,013**
sPDL-1 (pg/mL) (median – IQR)	23,33 – 23,02	17,89 – 16,53	0,136
sPDL-2 (pg/mL) (mean ± SD)	6416,64 ± 1521,94	6730,19 ± 1358,98	0,337
sPD-1 (pg/mL) (median – IQR)	7,46 – 6,44	6,59 – 7,62	0,052
sTim-3 (pg/mL) (mean ± SD)	11488,71 ± 8808,37	17281,08 ± 10065,55	**<0,001**
sLAG-3 (pg/mL) (median – IQR)	349,95 – 355,4	305,55 – 455,58	0,309
sGalectin-9 (pg/mL) (mean ± SD)	30452,01 ± 17849,24	45856,89 ± 19524,65	**<0,001**

Tüm hastalarda (n=30) neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki çözünür immün kontrol noktası belirteçleri karşılaştırıldı. (Tablo 4.5).

Neoadjuvan tedavi sonrası sCD25 düzeylerinde anlamlı artış saptandı (p=0,018). Buna karşılık, serbest aktif TGF-β1 (p=0,002) ve sCTLA-4 (p=0,013)

düzeylerinde tedavi sonrası anlamlı azalma gözlendi. Ayrıca, sTim-3 (p<0,001) ve sGalectin-9 (p<0,001) düzeylerinde neoadjuvan tedavi sonrası anlamlı artış saptandı. s4-1BB (p=0,052) ve sPD-1 (p=0,052) için istatistiksel anlamlılığa yakın değerler elde edilirken, sCD27 (p=0,119), sB7.2 (p=0,226), sPD-L1 (p=0,136), sPD-L2 (p=0,337) ve sLAG-3 (p=0,309) için anlamlı değişiklik saptanmadı.

Tablo 4.6: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodundaki immün kontrol noktası düzeylerinin karşılaştırılması

İmmün Kontrol Noktaları	Neoadjuvan Öncesi	Neoadjuvan Sonrası	p
sCD25 (pg/mL) (mean ± SD)	22,03 ± 20,98	10,44 ± 4,23	**0,003**
S4-1BB (pg/mL) (median – IQR)	1,17 – 9,14	0,00 – 2,89	**0,002**
sCD27 (pg/mL) (median – IQR)	966,80 – 3186,10	264,30 – 655,70	**<0,001**
sB7.2 (pg/mL) (mean ± SD)	4,87 ± 3,82	2,61 ± 1,28	**0,003**
Serbest Aktif TGF- ß1 (pg/mL) (median – IQR)	5,01 – 13,71	1,43 – 2,24	**<0,001**
sCTLA4 (pg/mL) (mean ± SD)	0,52 ± 1,47	0,24 ± 0,15	0,299
sPDL-1 (pg/mL) (median – IQR)	3,58 – 4,03	1,81 – 1,55	**<0,001**
sPDL-2 (pg/mL) (median – IQR)	27,00 – 64,01	6,22 – 16,43	**<0,001**
sPD-1 (pg/mL) (median – IQR)	2,61 – 2,38	2,01 – 0,60	**0,003**
sTim-3 (pg/mL) (median – IQR)	67,10 – 128,08	18,77 – 14,37	**<0,001**
sLAG-3 (pg/mL) (median – IQR)	44,55 – 33,95	31,15 – 23,10	**0,014**
sGalectin-9 (pg/mL) (median – IQR)	294540,65 – 445960,40	29571,95 – 76765,80	**<0,001**

Tüm hastalarda (n=30) neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodundaki immün kontrol noktası belirteçleri karşılaştırıldı (Tablo 4.6).

Neoadjuvan tedavi sonrası malign lenf nodunda belirteçlerin büyük çoğunluğunda anlamlı azalma saptandı. sCD25 (p=0,003), s4-1BB (p=0,002), sCD27 (p<0,001), sB7.2 (p=0,003) ve serbest aktif TGF-β1 (p<0,001), sPD-L1 (p<0,001), sPD-L2 (p<0,001), sPD-1 (p=0,003), sTim-3 (p<0,001), sLAG-3 (p=0,014) ve

sGalectin-9 (p<0,001) düzeylerinde belirgin düşüş gözlendi. Buna karşılık, sCTLA-4 düzeylerinde anlamlı değişiklik saptanmadı (p=0,299).

Tablo 4.7: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçlerinin mutlak ve yüzdesel değişimlerinin patolojik tam yanıta göre karşılaştırılması

Kan Belirteçleri	Patolojik Tam Yanıt Var	Patolojik Tam Yanıt Yok	p
Hematokrit mutlak değişim (median – IQR)	13,09 – 13,42	6,63 – 10,29	0,422
Hematokrit değişim oranı (%) (mean ± SD)	-11,00 ± 9,33	-5,16 ± 10,69	0,153
Hemoglobin mutlak değişim (median-IQR)	9,65 – 11,38	7,44 – 15,47	0,880
Hemoglobin değişim oranı (%) (mean ± SD)	-10,64 ± 8,50	-5,80 ± 13,01	0,297
Lökosit mutlak değişim (mean ± SD)	28,75 ± 24,68	25,12 ± 18,18	0,651
Lökosit değişim oranı (%) (mean ± SD)	-21,11 ± 32,13	-7,14 ± 30,68	0,257
Trombosit mutlak değişim (median-IQR)	20,24 – 8,30	10,09 – 14,13	**0,011**
Trombosit değişim oranı (%) (median-IQR)	-18,65 – 13,29	2,86 – 17,01	**0,003**
Nötrofil mutlak değişim (mean ± SD)	28,94 ± 31,68	31,72 ± 19,75	0,769
Nötrofil değişim oranı (%) (mean ± SD)	-18,83 ± 39,24	-3,86 ± 37,86	0,322
Nötrofil yüzdesi mutlak değişim (median – IQR)	12,88 – 23,40	11,00 – 10,43	0,559
Nötrofil yüzdesi değişim oranı (%) (median – IQR)	0,36 – 29,71	1,64 – 21,73	0,948
Lenfosit mutlak değişim (median – IQR)	26,26 – 37,75	22,71 – 17,80	0,619
Lenfosit değişim oranı (%) (mean ± SD)	-24,28 ± 28,98	-15,00 ± 27,37	0,398
Lenfosit yüzdesi mutlak değişim (median – IQR)	30,24 – 42,47	21,04 – 22,54	0,588
Lenfosit yüzdesi değişim oranı (%) (median – IQR)	-3,18 – 68,16	-3,42 – 43,97	0,948
Albumin mutlak değişim (median – IQR)	9,68 – 10,83	5,54 – 7,88	0,267
Albumin değişim oranı (%) (median – IQR)	-6,86 – 12,15	-5,54 – 7,98	0,846

Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçlerindeki mutlak ve yüzdesel değişimler, patolojik tam yanıt (pCR) durumuna göre karşılaştırıldı (Tablo 4.7).

Trombosit düzeylerinde pCR durumuna göre anlamlı farklılık saptandı. Patolojik tam yanıt elde edilen hastalarda trombosit mutlak değişim değerleri, tam yanıt elde edilemeyen gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p=0,011). Bu bulguyla tutarlı olarak, trombosit yüzdesel değişim oranı açısından da iki grup arasında belirgin bir fark saptandı (p=0,003). Diğer kan belirteçlerinin hem mutlak hem de yüzdesel değişimleri açısından pCR durumuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (tüm parametreler için p>0,05).

Tablo 4.8: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki immün kontrol noktalarının mutlak ve yüzdesel değişimlerinin patolojik tam yanıta göre karşılaştırılması

İmmün Kontrol Noktaları	Patolojik Tam Yanıt Var	Patolojik Tam Yanıt Yok	p
sCD25 mutlak değişim (median – IQR)	30,99 – 59,92	30,55 – 84,56	0,846
sCD25 değişim oranı(%) (median – IQR)	-3,67 – 93,67	30,55 – 89,81	0,074
s4-1BB mutlak değişim (mean ± SD)	23,34 ± 16,79	22,11 ± 16,56	0,850
S4-1BB değişim oranı (%) (mean ± SD)	-1,60 ± 29,74	-9,24 ± 26,44	0,480
sCD27 mutlak değişim (median – IQR)	38,19 – 64,55	32,95 – 35,66	0,588
sCD27 değişim oranı (%) (median – IQR)	11,08 – 86,02	-7,50 – 66,04	0,880
sB7.2 mutlak değişim (mean ± SD)	34,79 ± 20,03	35,46 ± 34,76	0,956
sB7.2 değişim oranı (%) (mean ± SD)	2,63 ± 41,69	22,33 ± 44,80	0,255
Serbest Aktif TGF-ß1 mutlak değişim (mean ± SD)	61,03 ± 42,69	64,98 ± 27,93	0,795
Serbest Aktif TGF-ß1 değişim oranı (%) (median – IQR)	-26,19 – 98,37	-53,71 – 60,70	0,475
sCTLA4 mutlak değişim (median – IQR)	38,72 – 187,14	62,89 – 45,29	0,267
sCTLA4 değişim oranı (%) (median – IQR)	-18,65 – 196,95	-58,62 – 70,31	0,067
sPDL-1 mutlak değişim (median – IQR)	25,31 – 32,43	29,70 – 41,28	0,588
sPDL-1 değişim oranı (%) (median – IQR)	-16,73 – 53,49	-23,57 – 49,87	0,475
sPDL-2 mutlak değişim (median – IQR)	20,40 – 33,65	20,04 – 33,66	0,948
sPDL-2 değişim oranı (%) (median – IQR)	1,16 – 49,85	-0,37 – 56,22	1
sPD-1 mutlak değişim (median – IQR)	29,51 – 42,63	29,02 – 38,44	0,713
sPD-1 değişim oranı (%) (median – IQR)	0,33 – 67,27	-21,36 – 45,17	0,307
sTim-3 mutlak değişim (median – IQR)	40,29 – 85,35	67,89 – 135,29	0,231
sTim-3 değişim oranı (%) (median – IQR)	36,61 – 100,24	67,89 – 140,50	0,248
sLAG-3 mutlak değişim (median – IQR)	46,04 – 53,86	26,31 – 24,30	0,109
sLAG-3 değişim oranı (%) (mean ± SD)	20,85 ± 69,87	-6,66 ± 41,70	0,186
sGalectin-9 mutlak değişim (median – IQR)	39,66 – 79,15	57,42 – 137,18	0,681
sGalectin-9 değişim oranı (%) (median – IQR)	37,11 – 84,57	57,42 – 145,66	0,588

Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin mutlak ve yüzdesel değişimleri pCR durumuna göre karşılaştırıldı (Tablo 4.8).

İmmün kontrol noktası belirteçlerinin büyük çoğunluğunda hem mutlak değişim hem de yüzdesel değişim açısından pCR varlığına göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (tüm parametreler için $p>0,05$). Bununla birlikte, sCD25 değişim oranı ($p=0,074$) ve sCTLA-4 değişim oranı ($p=0,067$) için istatistiksel anlamlılığa yakın değerler dikkat çekti.

Tablo 4.9: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodundaki immün kontrol noktalarının mutlak ve yüzdesel değişimlerinin patolojik tam yanıta göre karşılaştırılması

İmmün Kontrol Noktaları	Patolojik Tam Yanıt Var	Patolojik Tam Yanıt Yok	p
sCD25 mutlak değişim (median – IQR)	66,58 – 36,51	48,49 – 35,22	0,183
sCD25 değişim oranı (%) (median – IQR)	-51,74 – 78,23	-27,75 – 58,32	0,373
s4-1BB mutlak değişim (median – IQR)	100,00 – 100,00	28,122 – 100,00	0,475
S4-1BB değişim oranı (%) (median – IQR)	-100,00 – 100,00	0,00 – 73,80	**0,028**
sCD27 mutlak değişim (median – IQR)	88,35 – 50,60	65,54 – 65,68	0,120
sCD27 değişim oranı (%) (median – IQR)	-79,41 – 52,52	-42,55 – 83,02	0,143
sB7.2 mutlak değişim (median – IQR)	60,94 – 55,22	30,38 – 33,03	0,267
sB7.2 değişim oranı (%) (mean ± SD)	-47,21 ± 36,11	-18,01 ± 42,11	0,072
Serbest Aktif TGF-ß1 mutlak değişim (median – IQR)	83,39 – 36,62	71,12 – 48,04	0,373
Serbest Aktif TGF-ß1 değişim oranı (%) (median – IQR)	-83,39 – 36,62	-60,71 – 62,78	0,183
sCTLA4 mutlak değişim (median – IQR)	91,85 – 170,17	97,38 – 208,14	0,681
sCTLA4 değişim oranı (%) (median – IQR)	-20,19 – 338,84	80,08 – 270,04	0,267
sPDL-1 mutlak değişim (mean ± SD)	57,47 ± 24,81	54,90 ± 37,50	0,846
sPDL-1 değişim oranı (%) (median – IQR)	-61,74 – 52,15	-49,54 – 72,45	0,267
sPDL-2 mutlak değişim (median – IQR)	91,94 – 59,23	82,11 – 42,97	0,231
sPDL-2 değişim oranı (%) (median – IQR)	-83,46 – 146,24	-79,63 – 108,24	0,650
sPD-1 mutlak değişim (mean ± SD)	40,22 ± 23,14	36,89 ± 23,51	0,716
sPD-1 değişim oranı (%) (mean ± SD)	-26,06 ± 39,73	-17,31 ± 40,87	0,581
sTim-3 mutlak değişim (mean ± SD)	68,67 ± 24,72	53,40 ± 22,98	0,105
sTim-3 değişim oranı (%) (median – IQR)	-70,91 – 32,78	-48,15 – 50,03	0,055
sLAG-3 mutlak değişim (mean ± SD)	57,11 ± 28,79	43,61 ± 24,50	0,190
sLAG-3 değişim oranı (%) (mean ± SD)	-23,09 ± 62,14	-6,04 ± 50,63	0,427
sGalectin-9 mutlak değişim (median – IQR)	85,48 – 42,07	88,10 – 29,91	0,812
sGalectin-9 değişim oranı (%) (median – IQR)	-85,48 – 42,07	-77,25 – 32,14	0,183

Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodundaki immün kontrol noktası belirteçlerinin mutlak ve yüzdesel değişimleri pCR durumuna göre karşılaştırıldı (Tablo 4.9).

s4-1BB değişim oranı (%) açısından pCR elde edilen ve edilemeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,028). sB7.2 değişim oranında (p=0,072) ve sTim-3 değişim oranında (p=0,055) istatistiksel anlamlılığa yaklaşan değerler gözlendi. Diğer belirteçlerin mutlak ve yüzdesel değişimleri açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Tablo 4.10: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçlerinin mutlak ve yüzdesel değişimlerinin lenf nodu yanıt durumuna göre karşılaştırılması

Kan Belirteçleri	Lenf Nodu Tam Yanıtı Var	Lenf Nodu Tam Yanıtı Yok	p
Hematokrit mutlak değişim (median – IQR)	7,63 – 10,80	8,81 – 14,66	0,268
Hematokrit değişim oranı (%) (mean ± SD)	-6,70 ± 9,65	-7,82 ± 12,23	0,783
Hemoglobin mutlak değişim (median-IQR)	7,69 – 12,85	8,59 – 17,58	0,307
Hemoglobin değişim oranı (%) (mean ± SD)	-6,48 ± 11,22	-9,03 ± 13,08	0,575
Lökosit mutlak değişim (mean ± SD)	26,78 ± 21,74	25,55 ± 18,24	0,876
Lökosit değişim oranı (%) (mean ± SD)	-8,65 ± 33,93	-17,23 ± 26,91	0,479
Trombosit mutlak değişim (median-IQR)	16,86 – 16,35	9,77 – 15,32	0,171
Trombosit değişim oranı (%) (median-IQR)	-12,20 – 24,51	7,14 – 13,59	0,070
Nötrofil mutlak değişim (mean ± SD)	31,20 ± 27,44	30,08 ± 17,13	0,904
Nötrofil değişim oranı (%) (mean ± SD)	-6,33 ± 41,69	-13,19 ± 33,13	0,645
Nötrofil yüzdesi mutlak değişim (median – IQR)	13,29 – 13,46	9,72 – 8,80	0,268
Nötrofil yüzdesi değişim oranı (%) (median – IQR)	-0,31 – 26,53	4,21 – 18,87	0,703
Lenfosit mutlak değişim (median – IQR)	24,59 – 28,26	21,74 – 27,83	0,767
Lenfosit değişim oranı (%) (mean ± SD)	-14,76 ± 30,18	-23,86 ± 23,22	0,397
Lenfosit yüzdesi mutlak değişim (median – IQR)	22,46 – 40,80	24,84 – 25,04	0,966
Lenfosit yüzdesi değişim oranı (%) (median – IQR)	-3,52 – 50,79	-3,08 – 53,32	0,672
Albumin mutlak değişim (median – IQR)	4,19 – 6,49	10,60 – 7,70	0,134
Albumin değişim oranı (%) (median – IQR)	-3,89 – 6,62	-10,60 – 7,70	**0,047**

Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçlerindeki mutlak ve yüzdesel değişimler, aksiller lenf nodu yanıt durumuna göre karşılaştırıldı (Tablo 4.10).

Kan belirteçlerinin büyük çoğunluğunda lenf nodu yanıt durumuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (tüm parametreler için $p>0,05$). Bununla birlikte, albümin değişim oranı (%) açısından lenf nodu tam yanıtı elde edilen ve edilemeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,047$). Trombosit değişim oranında ($p=0,070$) ise istatistiksel anlamlılığa yaklaşan bir eğilim gözlendi.

Tablo 4.11: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki immün kontrol noktalarının mutlak ve yüzdesel değişimlerinin lenf nodu yanıt durumuna göre karşılaştırılması

İmmün Kontrol Noktaları	Lenf Nodu Tam Yanıt Var	Lenf Nodu Tam Yanıt Yok	p
sCD25 mutlak değişim (median – IQR)	31,51 – 69,72	29,71 – 106,79	0,735
sCD25 değişim oranı(%) (median – IQR)	3,59 – 90,98	29,71 – 111,35	0,287
s4-1BB mutlak değişim (mean ± SD)	25,23 ± 17,52	17,84 ± 13,61	0,240
S4-1BB değişim oranı (%) (mean ± SD)	-2,20 ± 31,21	-14,47 ± 17,47	0,242
sCD27 mutlak değişim (median – IQR)	36,10 – 55,38	28,31 – 25,07	0,185
sCD27 değişim oranı (%) (median – IQR)	6,59 – 95,22	-12,25 – 57,24	0,767
sB7.2 mutlak değişim (mean ± SD)	39,28 ± 31,47	28,26 ± 28,10	0,346
sB7.2 değişim oranı (%) (mean ± SD)	10,69 ± 49,98	24,53 ± 31,72	0,417
Serbest Aktif TGF-ß1 mutlak değişim (mean ± SD)	63,00 ± 33,29	64,81 ± 33,70	0,887
Serbest Aktif TGF-ß1 değişim oranı (%) (median – IQR)	-45,59 – 70,49	-44,80 – 57,96	0,767
sCTLA4 mutlak değişim (median – IQR)	56,96 – 55,47	61,20 – 72,13	1
sCTLA4 değişim oranı (%) (median – IQR)	-39,78 – 81,46	-60,28 – 74,65	0,471
sPDL-1 mutlak değişim (median – IQR)	26,73 – 49,84	27,43 – 26,10	0,866
sPDL-1 değişim oranı (%) (median – IQR)	-17,69 – 52,79	-26,40 – 39,75	0,268
sPDL-2 mutlak değişim (median – IQR)	23,93 – 33,36	15,94 – 24,59	0,134
sPDL-2 değişim oranı (%) (median – IQR)	-3,54 – 63,98	-0,17 – 44,47	0,735
sPD-1 mutlak değişim (median – IQR)	29,38 – 45,37	32,90 – 22,19	0,735
sPD-1 değişim oranı (%) (median – IQR)	-13,53 – 54,77	-22,57 – 45,31	0,672
sTim-3 mutlak değişim (median – IQR)	45,30 – 70,90	73,36 – 157,16	0,350
sTim-3 değişim oranı (%) (median – IQR)	39,46 – 82,72	73,36 – 157,16	0,216
sLAG-3 mutlak değişim (median – IQR)	35,80 – 53,29	26,79 – 20,12	0,250
sLAG-3 değişim oranı (%) (mean ± SD)	7,09 ± 63,36	-5,40 ± 29,44	0,545
sGalectin-9 mutlak değişim (median – IQR)	39,59 – 95,82	68,39 – 133,07	0,445
sGalectin-9 değişim oranı (%) (median – IQR)	39,59 – 108,04	68,39 – 133,07	0,395

Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin mutlak ve yüzdesel değişimleri lenf nodu yanıt durumuna göre karşılaştırıldı (Tablo 4.11).

Yapılan analizde, immün kontrol noktası belirteçlerinin hem mutlak değişim hem de yüzdesel değişim değerleri açısından lenf nodu yanıt durumuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (tüm parametreler için $p>0,05$).

Tablo 4.12: Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodundaki immün kontrol noktalarının mutlak ve yüzdesel değişimlerinin lenf nodu yanıt durumuna göre karşılaştırılması

İmmün Kontrol Noktaları	Lenf Nodu Tam Yanıt Var	Lenf Nodu Tam Yanıt Yok	p
sCD25 mutlak değişim (median – IQR)	62,75 – 52,70	41,38 – 25,81	**0,021**
sCD25 değişim oranı(%) (median – IQR)	-34,33 – 119,14	-29,13	0,767
s4-1BB mutlak değişim (median – IQR)	100,00 – 100,00	3,73 – 100,00	0,553
S4-1BB değişim oranı (%) (median – IQR)	-75,62 – 100,00	0,00 – 56,24	**0,030**
sCD27 mutlak değişim (median – IQR)	83,25 – 61,41	70,99 – 41,81	0,395
sCD27 değişim oranı (%) (median – IQR)	-60,10 – 100,37	-43,00 – 54,69	0,582
sB7.2 mutlak değişim (median – IQR)	34,56 – 58,51	36,46 – 31,12	0,767
sB7.2 değişim oranı (%) (mean ± SD)	-23,41 ± 48,38	-35,22 ± 28,30	0,406
Serbest Aktif TGF-ß1 mutlak değişim (median – IQR)	89,22 – 28,88	49,70 – 55,58	**0,007**
Serbest Aktif TGF-ß1 değişim oranı (%) (median – IQR)	-88,00 – 44,79	-49,70 – 55,58	0,094
sCTLA4 mutlak değişim (median – IQR)	94,75 – 194,50	60,70 – 158,23	0,216
sCTLA4 değişim oranı (%) (median – IQR)	37,94 – 352,79	60,15 – 210,19	0,641
sPDL-1 mutlak değişim (mean ± SD)	57,98 ± 39,87	51,92 ± 18,50	0,640
sPDL-1 değişim oranı (%) (median – IQR)	-49,19 – 93,28	-50,79 – 22,41	0,582
sPDL-2 mutlak değişim (median – IQR)	94,57 – 16,39	79,56 – 45,19	**0,006**
sPDL-2 değişim oranı (%) (median – IQR)	-83,53 – 75,27	-79,56 – 113,32	0,328
sPD-1 mutlak değişim (mean ± SD)	41,85 ± 25,12	31,35 ± 18,06	0,235
sPD-1 değişim oranı (%) (mean ± SD)	-24,58 ± 42,92	-12,69 ± 35,07	0,443
sTim-3 mutlak değişim (mean ± SD)	63,27 ± 24,37	50,25 ± 22,83	0,161
sTim-3 değişim oranı (%) (median – IQR)	-69,45 – 49,67	-48,34 – 24,44	0,250
sLAG-3 mutlak değişim (mean ± SD)	51,58 ± 29,27	42,11 ± 20,08	0,351
sLAG-3 değişim oranı (%) (mean ± SD)	-6,62 ± 60,16	-20,55 ± 43,47	0,508
sGalectin-9 mutlak değişim (median – IQR)	89,14 – 35,00	88,00 – 24,09	0,966
sGalectin-9 değişim oranı (%) (median – IQR)	-73,96 – 34,41	-82,49 – 32,78	0,471

Neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodundaki immün kontrol noktası belirteçlerinin mutlak ve yüzdesel değişimleri lenf nodu yanıt durumuna göre karşılaştırıldı (Tablo 4.12).

sCD25 mutlak değişim değerleri, lenf nodu tam yanıtı olan grupta olmayan gruba kıyasla anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p=0,021). s4-1BB değişim oranı (%) açısından da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,030). Serbest aktif TGF-β1 mutlak değişim değerleri (p=0,007) ve sPD-L2 mutlak değişim değerleri (p=0,006) açısından da lenf nodu yanıt durumuna göre belirgin istatistiksel anlamlılık gözlendi. Diğer belirteçlerin mutlak ve yüzdesel değişimleri açısından anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Tablo 4.13: Lenf nodu tam yanıtı elde edilen hastalarda neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçlerinin karşılaştırılması

Kan Belirteçleri	Neoadjuvan Öncesi	Neoadjuvan Sonrası	p
Hematokrit (%) (mean ± std)	38,14 ± 4,50	35,38 ± 3,92	**0,003**
Hemoglobin (g/dL) (mean ± std)	12,50 ± 1,66	11,58 ± 1,26	**0,005**
WBC (10^3/μL) (mean ± std)	7,07 ± 2,10	6,32 ± 2,59	0,170
Trombosit (10^3/μL) (mean ± std)	305,21 ± 80,25	281,37 ± 82,53	0,082
Nötrofil (10^3/μL) (mean ± std)	4,51 ± 1,69	4,08 ± 2,21	0,358
Nötrofil Yüzdesi (mean ± std)	62,94 ± 9,97	60,60 ± 16,39	0,541
Lenfosit (10^3/μL) (mean ± std)	1,91 ± 0,63	1,59 ± 0,65	**0,037**
Lenfosit Yüzdesi (mean ± std)	27,86 ± 7,29	28,53 ± 15,30	0,841
Albumin (g/dL) (mean ± std)	43,10 ± 3,21	40,95 ± 3,42	**0,012**

Lenf nodu tam yanıtı sağlanan 19 hastada neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kan belirteçleri karşılaştırıldı (Tablo 4.13).

Neoadjuvan tedavi sonrasında hematokrit (p=0,003) ve hemoglobin (p=0,005) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı. Benzer şekilde, lenfosit

(p=0,037) ve albümin (p=0,012) düzeylerinde de tedavi sonrası anlamlı düşüş gözlendi. Lökosit, trombosit, nötrofil ve nötrofil/lenfosit yüzdesi parametrelerinde ise tedavi öncesi ve sonrası değerler arasında anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Tablo 4.14: Lenf nodu tam yanıtı elde edilen hastalarda neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki çözünür immün kontrol noktası düzeylerinin karşılaştırılması

İmmün Kontrol Noktaları	**Neoadjuvan Öncesi**	**Neoadjuvan Sonrası**	**p**
sCD25 (pg/mL) (mean ± std)	440,45 ± 166,50	566,22 ± 267,98	0,059
S4-1BB (pg/mL) (mean ± std)	24,99 ± 16,00	21,74 ± 7,51	0,217
sCD27 (pg/mL) (mean ± std)	40900,73 ± 29055,69	32623,64 ± 20124,73	0,266
sB7.2 (pg/mL) (mean ± std)	108,15 ± 39,60	109,00 ± 40,11	0,938
Serbest Aktif TGF- ß1 (pg/mL) (median – IQR)	3,07 – 6,31	4,44 – 2,90	0,016
sCTLA4 (pg/mL) (median – IQR)	0,44 – 0,85	0,22 – 0,76	0,117
sPDL-1 (pg/mL) (median – IQR)	20,61 – 26,25	16,74 – 19,84	0,091
sPDL-2 (pg/mL) (mean ± std)	6123,99 ± 1621,66	6378,86 ± 1234,77	0,544
sPD-1 (pg/mL) (median – IQR)	7,64 – 8,13	6,21 – 8,09	0,227
sTim-3 (pg/mL) (mean ± std)	11762,08 ± 7170,78	16195,16 ± 7570,30	**0,006**
sLAG-3 (pg/mL) (mean ± std)	701,54 ± 1044,92	519,03 ± 394,50	0,338
sGalectin-9 (pg/mL) (mean ± std)	29778,29 ± 16160,75	43602,55 ± 15778,81	**0,006**

Lenf nodu tam yanıtı sağlanan hastalarda, neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kandaki çözünür immün kontrol noktası düzeyleri karşılaştırıldı (Tablo 4.14).

Neoadjuvan tedavi sonrası serbest aktif TGF-β1 (p=0,016), sTim-3 (p=0,006) ve sGalectin-9 (p=0,006) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı. sCD25 (p=0,059) ve sPD-L1 (p=0,091) düzeylerinde ise istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan ancak artış eğilimi gösteren değişimler gözlendi. Diğer immün kontrol noktası belirteçleri açısından anlamlı değişiklik saptanmadı (p>0,05).

Tablo 4.15: Lenf nodu tam yanıtı elde edilen hastalarda neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodu washout örneklerinde çözünür immün kontrol noktası düzeylerinin karşılaştırılması

İmmün Kontrol Noktaları	Neoadjuvan Öncesi	Neoadjuvan Sonrası	p
sCD25 (pg/mL) (mean ± SD)	24,56 ± 25,63	10,01 ± 4,41	**0,017**
S4-1BB (pg/mL) (median – IQR)	4,38 – 10,53	0,68 – 0,00	**0,004**
sCD27 (pg/mL) (median – IQR)	960,00 – 6705,70	213,60 – 497,10	**0,005**
sB7.2 (pg/mL) (mean ± SD)	5,14 ± 4,60	2,60 ± 1,32	**0,026**
Serbest Aktif TGF- ß1 (pg/mL) (median – IQR)	8,11 – 20,50	1,36 – 1,73	**0,001**
sCTLA4 (pg/mL) (mean ± SD)	0,73 ± 1,83	0,25 ± 0,15	0,257
sPDL-1 (pg/mL) (mean ± SD)	10,17 ± 27,97	2,11 ± 0,94	0,226
sPDL-2 (pg/mL) (median – IQR)	16,72 – 86,73	3,74 – 16,85	**0,007**
sPD-1 (pg/mL) (mean ± SD)	4,03 ± 3,27	1,99 ± 0,40	**0,011**
sTim-3 (pg/mL) (median – IQR)	60,95 – 166,44	15,48 – 11,13	**<0,001**
sLAG-3 (pg/mL) (mean ± SD)	50,09 ± 23,42	36,71 ± 15,37	0,063
sGalectin-9 (pg/mL) (median – IQR)	271396,40 - 413683,30	14306,50 – 71952,70	**<0,001**

Lenf nodu tam yanıtı elde edilen hastalarda neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası malign lenf nodu washout örneklerindeki immün kontrol noktası belirteçleri karşılaştırıldı (Tablo 4.15).

Bu analizde belirteçlerin büyük çoğunluğunda tedavi sonrası belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı düşüşler gözlendi. sCD25 (p=0,017), s4-1BB (p=0,004), sCD27 (p=0,005), sB7.2 (p=0,026), serbest aktif TGF-β1 (p=0,001), sPD-L2 (p=0,007), sPD-1 (p=0,011), sTim-3 (p<0,001) ve sGalectin-9 (p<0,001) düzeylerinde neoadjuvan tedavi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı. sLAG-3 düzeylerinde (p=0,063) istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan ancak azalma eğiliminde bir değişim gözlendi. sCTLA-4 (p=0,257) ve sPD-L1 (p=0,226) düzeylerinde ise tedavi öncesi ve sonrası arasında anlamlı değişiklik saptanmadı.

Tablo 4.16: Klinik parametreler ile immün belirteçler ve hematolojik parametreler arasındaki anlamlı korelasyonlar

Klinik parametre	Belirteç	r	p
Ki-67	Trombosit (10^3/µL) (Neoadjuvan öncesi)	0,363	0,049
	Trombosit (10^3/µL) (Neoadjuvan sonrası)	0,446	0,014
	Malign lenf nodunda sCD27 değişim oranı	0,371	0,043
	Malign lenf nodunda sTim3 mutlak değişim	-0,404	0,027
	Malign lenf nodunda sTim3 değişim oranı	0,368	0,045
T Evresi	Progesteron Reseptör Oranı (%)	0,536	0,002
	Lenfosit (10^3/µL) (Neoadjuvan Öncesi)	-0,387	0,035
	Malign lenf nodunda sCD27 değişim oranı	0,372	0,043
	Malign lenf nodu sPDL-2 (pg/mL) (neoadjuvan sonras)	0,431	0,017
	Malign lenf nodunda sPDL-2 mutlak değişim	0,396	0,030
	Malign lenf nodunda sPDL-2 değişim oranı	0,389	0,033
Evre	Malign lenf nodunda serbest TGF-B mutlak değişim	-0,37	0,047
	Malign lenf nodunda serbest TGF-B değişim oranı	-0,36	0,050
	Malign lenf nodunda sPDL-1 mutlak değişim	-0,41	0,026
	Malign lenf nodunda sPD-1 mutlak değişim	-0,40	0,028
	Malign lenf nodunda sGalectin-9 (pg/mL) (neoadjuvan öncesi)	-0,40	0,029
ER (%)	Progesteron Reseptör oranı (%)	0,58	0,001
	Hematokrit (%) (neoadjuvan sonrası)	0,41	0,024
	Hemoglobin (g/dL) (neoadjuvan sonrası)	0,42	0,020
	Lenfosit yüzdesi mutlak değişim	-0,40	0,029
	Lenfosit yüzdesi değişim oranı	-0,36	0,048
	Kandaki sB7.2 değişim oranı	0,49	0,006
	Kandaki sCTLA-4 (pg/mL) (neoadjuvan öncesi)	-0,37	0,042
	Kandaki sLAG-3 (pg/mL) (neoadjuvan öncesi)	-0,42	0,020
	Malign lenf nodundaki sPDL-1(pg/mL) (neoadjuvan öncesi)	-0,40	0,028
	Neoadjuvan öncesi MR'da T evresi	0,54	0,002
	Estrojen Reseptör Oranı (%)	0,58	0,001
PR (%)	Nötrofil yüzdesi değişim oranı	-0,39	0,035
	Kandaki serbest TGF-B1 (pg/mL) (neoadjuvan tedavi öncesi)	-0,43	0,018
	Kandaki sPD-1 (pg/mL) (neoadjuvan tedavi sonrası)	-0,38	0,036
	Malign lenf nodunda s41BB (pg/mL) (neoadjuvan tedavi sonrası)	-0,41	0,026
	Lökosit değişim oranı	0,47	0,008
	Nötrofil değişim oranı	0,47	0,010
Yaş	Nötrofil yüzdesi mutlak değişim	0,44	0,015
	Nötrofil yüzdesi değişim oranı	0,40	0,010
	Albumin (g/dL) (neoadjuvan tedavi öncesi)	-0,50	0,005
	Albumin (g/dL) (neoadjuvan tedavi sonrası)	-0,50	0,005
	Malign lenf nodunda sCD25 değişim oranı	0,38	0,040
	Malign lenf nodunda serbest aktif TGF-B1(pg/mL) (neoadjuvan tedavi öncesi)	-0,45	0,013
	Malign lenf nodunda sPDL-2 (pg/mL) (neoadjuvan tedavi öncesi)	-0,42	0,021
	Malign lenf nodunda sTim-3 değişim oranı	0,40	0,028
	Malign lenf nodunda Galectin-9 mutlak değişim	0,46	0,010
	Malign lenf nodunda sTim-3 değişim oranı	0,40	0,028

Ki-67 proliferasyon indeksi, MR'da değerlendirilen T evresi, klinik evre, östrojen reseptör (ER) oranı, progesteron reseptör (PR) oranı ve yaş ile immün belirteçler ve hematolojik parametreler arasındaki ilişkiler korelasyon analizleri ile değerlendirildi. Anlamlı bulunan korelasyonlar Tablo 4.16'da sunulmuştur.

Ki-67 proliferasyon indeksi ile neoadjuvan tedavi öncesi trombosit değerleri arasında zayıf düzeyde pozitif korelasyon, neoadjuvan tedavi sonrası trombosit değerleri arasında ise orta düzeyde pozitif korelasyon saptandı. Ki-67 ile malign lenf nodundaki sCD27 değişim oranı arasında zayıf düzeyde pozitif korelasyon gözlenirken, sTim-3 mutlak değişimi arasında orta düzeyde negatif, sTim-3 değişim oranı ile ise zayıf düzeyde pozitif korelasyon izlendi.

Neoadjuvan tedavi öncesi MR'da değerlendirilen T evresi ile PR oranı arasında orta düzeyde pozitif korelasyon saptandı. T evresi ile neoadjuvan öncesi lenfosit düzeyi arasında zayıf düzeyde negatif korelasyon bulunurken, malign lenf nodundaki sCD27 değişim oranı ile zayıf düzeyde pozitif korelasyon gözlendi. Ayrıca sPD-L2 ile ilişkili parametreler incelendiğinde, sPD-L2 neoadjuvan sonrası düzeyi ile T evresi arasında orta düzeyde pozitif korelasyon, sPD-L2 mutlak değişimi ve değişim oranı ile T evresi arasında ise zayıf düzeyde pozitif korelasyonlar saptandı.

Klinik evre ile malign lenf nodundaki serbest aktif TGF-β1 mutlak değişimi ve değişim oranı arasında zayıf düzeyde negatif korelasyon saptandı. Buna karşılık, sPD-L1 mutlak değişimi, sPD-1 mutlak değişimi ve sGalectin-9 neoadjuvan öncesi düzeyi ile klinik evre arasında orta düzeyde negatif korelasyonlar gözlendi.

ER oranı ile PR oranı arasında orta düzeyde pozitif korelasyon saptandı. ER oranı ile neoadjuvan tedavi sonrası hematokrit ve hemoglobin düzeyleri arasında orta düzeyde pozitif korelasyon bulundu. Öte yandan, ER oranı ile lenfosit yüzdesinin hem mutlak değişimi hem de değişim oranı arasında zayıf düzeyde negatif korelasyonlar izlendi. İmmün belirteçler değerlendirildiğinde, ER oranı ile kandaki sB7.2 değişim oranı arasında orta düzeyde pozitif korelasyon saptanırken, kandaki sCTLA-4 neoadjuvan öncesi düzeyi ile zayıf düzeyde negatif korelasyon, kandaki sLAG-3 neoadjuvan öncesi düzeyi ve malign lenf nodundaki sPD-L1 neoadjuvan öncesi düzeyi ile ise orta düzeyde negatif korelasyonlar gözlendi.

PR oranı ile T evresi ve ER oranı arasında orta düzeyde pozitif korelasyonlar gözlendi. PR oranı ile nötrofil yüzdesi değişim oranı arasında zayıf düzeyde negatif korelasyon saptandı. İmmün belirteçler açısından, PR oranı ile kandaki serbest aktif TGF-β1 neoadjuvan öncesi düzeyi ve malign lenf nodundaki s4-1BB neoadjuvan sonrası düzeyi arasında orta düzeyde negatif korelasyon, kandaki sPD-1 neoadjuvan sonrası düzeyi ile ise zayıf düzeyde negatif korelasyon saptandı.

Yaş ile hematolojik parametreler arasındaki korelasyonlar incelendiğinde, lökosit değişim oranı, nötrofil değişim oranı, nötrofil yüzdesi mutlak değişimi ve nötrofil yüzdesi değişim oranı ile orta düzeyde pozitif korelasyonlar saptandı. Yaş ile albümin düzeyleri arasında ise hem neoadjuvan tedavi öncesi hem de sonrası için orta düzeyde negatif korelasyon bulundu. İmmün belirteçler değerlendirildiğinde, yaş ile malign lenf nodundaki sCD25 değişim oranı arasında zayıf düzeyde pozitif korelasyon, sTim-3 değişim oranı ve Galectin-9 mutlak değişimi arasında orta düzeyde pozitif korelasyonlar saptandı. Buna karşılık, malign lenf nodundaki serbest aktif TGF-β1 neoadjuvan öncesi düzeyi ve sPD-L2 neoadjuvan öncesi düzeyi ile yaş arasında orta düzeyde negatif korelasyonlar gözlendi.

Neoadjuvan tedavi öncesi dönemde kanda ve malign lenf nodunda ölçülen immün kontrol noktası belirteçleri arasındaki korelasyon analizinde, sCD25 ve sB7.2 düzeyleri arasında orta düzeyde pozitif korelasyon(sırasıyla r=0,412; p=0,023, r=0,462; p=0,010) saptandı. Diğer parametrelerde kan ve malign lenf nodu washout düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmedi.

Değişim parametreleri arasında yapılan korelasyon analizlerinde, ΔTGF-β1 ile ΔTim-3, ΔGalectin-9 ve ΔsCD25 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Benzer şekilde, ΔPD-1 ile ΔPD-L1 arasında da anlamlı korelasyon gözlenmedi. Bu bulgu, immün mikroçevredeki değişimlerin doğrusal ve öngörülebilir bir patern izlemediğini ve immün kontrol noktası moleküllerinin tedaviye yanıtlarının bireysel farklılıklar gösterdiğini düşündürmektedir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, aksiller lenf nodu pozitif invaziv duktal meme karsinomu tanılı 30 hastada, ultrasonografi eşliğinde ince iğne aspirasyonu ile elde edilen lenf nodu washout örneklerinde çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin düzeyleri kapsamlı biçimde analiz edilmiştir. Çalışmanın primer bulgusu olarak, incelenen 12 çözünür immün kontrol noktası belirtecinden 9'unun — sCD25, sB7.2, serbest aktif TGF-β1, sPD-L1, sPD-L2, sPD-1, sTim-3, sLAG-3 ve sGalectin-9 — malign lenf nodu washout örneklerinde benign örneklere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandığı ve ROC analizinde tüm bu belirteçlerin metastatik lenf nodu varlığını öngörmede anlamlı tanısal performans sergilediği gösterilmiştir. En yüksek ayırt edici performans sGalectin-9, sPD-L1, sTim-3 ve sLAG-3 belirteçlerinde elde edilmiştir. Çalışmanın sekonder bulguları arasında neoadjuvan sistemik tedavinin kan ve lenf nodu washout düzeyindeki immün belirteçler üzerindeki etkileri, tedavi yanıtıyla ilişkili değişimler ve bu çözünür belirteçlerin yalnızca pasif biyobelirteç olmayıp tümör immün mikroçevresinde biyoaktif immünosupresif fonksiyonlar üstlendiğine dair bulgular yer almaktadır.

Çalışmamızda neoadjuvan tedavi öncesinde malign lenf nodu washout örneklerinde sCD25, sB7.2, serbest aktif TGF-β1, sPD-L1, sPD-L2, sPD-1, sTim-3, sLAG-3 ve sGalectin-9 düzeylerinin benign lenf nodu örneklerine göre anlamlı biçimde yüksek olduğu saptanmıştır. Buna karşılık, s4-1BB, sCD27 ve sCTLA-4 düzeylerinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu bulgular, metastatik lenf nodunun immün mikroçevresinin benign lenf nodundan belirgin şekilde farklı bir immünosupresif profil sergilediğini ortaya koymaktadır.

Tümör immünolojisi alanındaki güncel kanıtlar, metastatik lenf nodlarının yalnızca tümör hücrelerinin toplandığı pasif bölgeler olmayıp, aktif immünmodülatör süreçlerin yaşandığı dinamik mikroçevreler olduğunu göstermektedir. Moura ve ark. tarafından yayımlanan kapsamlı bir derlemede, meme kanseri tümör mikroçevresinde immün hücrelerin hem tümör baskılayıcı hem de tümör destekleyici roller üstlendiği, özellikle tümör ilişkili makrofajların M2 fenotipine polarize olarak IL-10 ve TGF-β salgıladığı ve regülatör T hücrelerinin indüklenmesiyle immünosupresif bir ortamın oluştuğu vurgulanmıştır (197). Metastatik lenf nodları özelinde ise Fjørtoft ve ark.

tarafından gerçekleştirilen tek hücre düzeyinde immünofenotipleme çalışmasında, primer meme tümörünün immün profilinin lenf nodu immün profili veya metastatik durum için belirleyici olmadığı ve metastatik lenf nodlarında primer tümörden farklı bir immün hücre kompozisyonunun bulunduğu bildirilmiştir (198). Çalışmamızda saptanan çözünür immün kontrol noktası belirteçlerindeki artış, metastatik lenf nodundaki bu farklılaşmış immün ortamın biyokimyasal bir yansıması olarak değerlendirilebilir.

Çalışmamızda en belirgin farklılık sGalectin-9 düzeylerinde gözlenmiştir. Galectin-9, Tim-3 reseptörünün doğal ligandı olarak T hücre tükenme sürecinde merkezi bir rol üstlenmektedir. Yang ve ark., Galectin-9'un PD-1 ile de etkileşerek PD-1^{+}TIM-3^{+} T hücrelerinin yaşam-ölüm dengesini düzenlediğini ve yüksek Galectin-9 ekspresyonunun birçok kanser türünde kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermişlerdir (199). Meme kanseri özelinde Yasinska ve ark., Tim-3/Galectin-9 sinyal yolağının meme tümör hücrelerinde aktif olduğunu ve tümör dokusundaki bu proteinlerin sağlıklı meme dokusuna kıyasla anlamlı ölçüde artmış olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada, meme kanseri hücrelerinin Galectin-9'u salgılayamadığı ancak hücre yüzeyinde tutabildiği ve yüzey Galectin-9'unun sitotoksik T hücre kaynaklı ölüme karşı tümör hücrelerini koruduğu ortaya konmuştur (200). Çalışmamızda sGalectin-9'un malign lenf nodunda belirgin biçimde yüksek saptanması, metastatik lenf nodu mikroçevresinde Galectin-9 aracılı immünosupresyonun aktif olduğunu düşündürmektedir.

Benzer şekilde, sTim-3 düzeylerinin malign lenf nodunda anlamlı derecede yüksek bulunması, Galectin-9/Tim-3 ekseninin metastatik lenf nodunda koordineli bir şekilde upregüle olduğunu göstermektedir. Yoshikawa ve ark., triple negatif meme kanserinde tümör hücrelerinde Galectin-9 ekspresyonu ile tümör infiltran lenfositlerde Tim-3 ekspresyonunun prognostik öneme sahip olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle Galectin-9 ve Tim-3 çifte pozitifliğinin daha iyi prognozla ilişkili bulunması dikkat çekicidir; bu durum, aktif bir immün yanıtın varlığına işaret ediyor olabilir (201). Çalışmamız bu ilişkiyi doku düzeyinden washout düzeyine taşıyarak, çözünür formların da benzer bir tanısal potansiyel sunabileceğini ortaya koymuştur.

PD-1/PD-L1 ekseni açısından değerlendirildiğinde, sPD-L1, sPD-L2 ve sPD-1 düzeylerinin tümünün malign lenf nodunda yüksek olduğu saptanmıştır. Çözünür PD-L1'in çeşitli kanser türlerinde prognostik ve prediktif değeri geniş biçimde çalışılmıştır. Pitts ve ark. tarafından yayımlanan kapsamlı derlemede, yüksek serum sPD-L1 düzeylerinin hepatoselüler karsinomda tümör boyutu ve venöz invazyon, diferansiye tiroid karsinomda ise tümör boyutu ve servikal lenf nodu metastazı ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (167). Triple negatif meme kanserinde ise Li ve ark., serum sPD-1 ve sPD-L1 düzeylerinin neoadjuvan kemoterapi öncesinde tümör evresiyle birlikte arttığını ve tedaviye yanıt veren hastalarda serum sPD-1 ve sPD-L1 düzeylerinin tedavi sonrasında anlamlı biçimde azaldığını, yanıt vermeyen hastalarda ise bu azalmanın gözlenmediğini göstermişlerdir (202). Ancak bu çalışmaların tamamı periferik kan düzeylerini incelemiştir. Çalışmamız, PD-1/PD-L1 eksenini doğrudan metastatik lenf nodundan elde edilen washout materyalinde analiz eden ilk çalışma olması bakımından özgün bir değer taşımaktadır. Nitekim çalışmamızda PD-1/PD-L1 ekseni neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası hem kanda hem de washout düzeyinde değerlendirildiğinde, iki kompartman arasında dikkat çekici bir ayrışma gözlenmiştir. Kanda sPD-L1 ve sPD-1 düzeylerinde tedavi sonrası anlamlı değişim saptanmazken, malign lenf nodu washout örneklerinde sPD-L1, sPD-L2 ve sPD-1 düzeylerinde belirgin azalma gözlenmiştir. Li ve ark.'nın bildirdiği serum düzeyindeki tedaviye yanıtla ilişkili sPD-1/sPD-L1 azalmasının çalışmamızda periferik kanda değil doğrudan metastatik odağın washout materyalinde ortaya çıkması, washout yaklaşımının PD-1/PD-L1 ekseni açısından periferik kan ölçümlerinden daha duyarlı bir bilgi kaynağı olabileceğine işaret etmektedir. Bu bulgu ayrıca, neoadjuvan tedavinin metastatik lenf nodundaki PD-1/PD-L1 aracılı immünosupresif ortamı etkin biçimde çözdüğünü, ancak bu lokal değişimin sistemik dolaşıma yeterince yansımadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda sLAG-3 düzeylerinin de malign lenf nodunda anlamlı biçimde yüksek bulunması dikkat çekicidir. LAG-3, MHC sınıf II moleküllerine bağlanarak T hücre aktivasyonunu negatif yönde düzenleyen ve PD-1 ile sinerjistik immünosupresif etki gösteren bir kontrol noktası molekülüdür. Klinik açıdan LAG-3'ün önemi, melanomada relatlimab ve nivolumab kombinasyonunun tek başına nivolumaba üstünlüğünü gösteren RELATIVITY-047 çalışmasıyla kanıtlanmıştır (203).

Çalışmamızda sLAG-3'ün metastatik lenf nodu washout örneklerinde yüksek saptanması, bu molekülün yalnızca sistemik düzeyde değil, lokal tümör mikroçevresinde de aktif bir immünosupresif aracı olarak görev yaptığını desteklemektedir.

Serbest aktif TGF-β1'in malign lenf nodunda anlamlı ölçüde yüksek saptanması da immünosupresif mikroçevrenin bir diğer boyutunu yansıtmaktadır. TGF-β sinyali, tümör mikroçevresinde çok yönlü immünosupresif etkiler üzerinden görev yapmaktadır. Fridlender ve ark., TGF-β'nın tümör ilişkili nötrofilleri pro-tümöral N2 fenotipine yönlendirdiğini, TGF-β blokajının ise anti-tümöral N1 fenotipini desteklediğini deneysel modellerde göstermişlerdir (204). Ayrıca gliom hastalarında yapılan bir çalışmada Crane ve ark., TGF-β'nın NK hücrelerindeki ve $CD8^+$ T hücrelerindeki NKG2D aktivasyon reseptörünü downregüle ederek bu hücrelerin sitotoksik fonksiyonunu baskıladığını bildirmişlerdir (205). Her ne kadar bu bulgu gliom bağlamında elde edilmiş olsa da TGF-β aracılı NKG2D baskılanması birçok solid tümörde ortak bir mekanizma olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda washout düzeyinde saptanan TGF-β1 artışı, metastatik lenf nodundaki immünosupresif ortamın sadece kontrol noktası molekülleriyle sınırlı kalmayıp, sitokin düzeyinde de desteklendiğini ortaya koymaktadır.

sCD25 (çözünür IL-2 reseptör alfa, sIL-2Rα) düzeylerinin de malign lenf nodunda yüksek saptanması, regülatör T hücre aktivitesinin artmış olduğuna işaret etmektedir. CD25, regülatör T hücrelerin yüzey belirteci olarak tanımlanmakta olup çözünür formunun artması, aktive regülatör T hücre havuzunun genişlediğini yansıtabilir. Papaioannou ve ark., 207 meme kanseri hastasında $FOXP3^+$ Treg ve $CD8^+$ T hücre infiltrasyonunu standardize bir yöntemle değerlendirmişler ve lenf nodu metastazı olan hastalarda CD8/FOXP3 oranının anlamlı biçimde düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu durum, metastatik hastalarda mutlak Treg artışından ziyade sitotoksik T hücre kaybına bağlı immünosupresif dengenin bozulduğunu göstermektedir (206). Çalışmamızda washout düzeyinde saptanan yüksek sCD25, bu immünosupresif dengenin bozulmasına Treg aktivasyonunun da katkıda bulunduğuna işaret etmekte olup, Papaioannou ve ark.'nın bildirdiği CD8 kaybıyla birlikte değerlendirildiğinde metastatik lenf nodunda çift yönlü bir immün baskılama mekanizmasının varlığını düşündürmektedir.

Öte yandan, s4-1BB düzeylerinde anlamlılık sınırına yakın ancak eşik altında kalan bir fark gözlenmesi dikkat çekmektedir. 4-1BB (CD137), bir ko-stimülatör molekül olup immün aktivasyonun göstergesidir ve inhibitör moleküllerden farklı olarak immün yanıtı güçlendirici bir role sahiptir. Anlamlılığa ulaşılmaması, örneklem büyüklüğünün sınırlılığıyla ilişkili olabileceği gibi, bu stimülatör molekülün metastatik lenf nodu mikroçevresinde inhibitör moleküller kadar belirgin bir farklılık sergilememesiyle de açıklanabilir. sCD27 ve sCTLA-4 düzeylerinde fark saptanmaması ise bu moleküllerin washout düzeyinde malign ve benign lenf nodu ayrımında tanısal değerinin sınırlı olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak, malign lenf nodunun immün mikroçevresi, birden fazla inhibitör yolağın eş zamanlı aktivasyonuyla karakterize, koordineli bir immünosupresif profil sergilemektedir. Bu profil; PD-1/PD-L1/PD-L2 ekseni, Tim-3/Galectin-9 yolağı, LAG-3 sinyali, TGF-β aracılı baskılama ve regülatör T hücre aktivasyonu gibi birbirini tamamlayan mekanizmaları kapsamaktadır.

Çalışmamızda malign ve benign lenf nodu ayrımında anlamlı farklılık saptanan dokuz belirteç için ROC analizi uygulanmış ve tümünün istatistiksel olarak anlamlı tanısal performans sergilediği gösterilmiştir. En yüksek AUC değeri sGalectin-9 için elde edilmiş olup bunu sırasıyla sPD-L1, sTim-3 ve sLAG-3 izlemiştir.

Meme kanserinde lenf nodu washout yaklaşımını kullanan sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Liscia ve ark., aksiller lenf nodu ince iğne aspirasyon biyopsisi iğne washout materyalinde sitokeratin 19'un çözünür bir fragmanı olan CYFRA 21-1'i ölçmüş ve AUC=0,98, sensitivite %98, spesifite %100 gibi olağanüstü tanısal performans değerleri elde etmişlerdir (207). Bu çalışma, washout materyalinin meme kanserinde aksiller lenf nodu metastazını saptamada güvenilir bir kaynak olduğunu kanıtlamıştır. Ancak CYFRA 21-1, doğrudan tümör hücresinden salınan epitel kökenli bir protein olup metastaz varlığını tümör hücresinin kendisi üzerinden saptamaktadır. Çalışmamız ise farklı bir biyolojik pencereden bakarak, tümör hücresi yerine tümörün oluşturduğu immünosupresif mikroçevreyi hedef almaktadır. Bu yaklaşım, metastaz varlığının yanı sıra immünolojik ortamın biyolojik karakterizasyonunu da olanaklı kılmaktadır.

Çalışmamızda elde edilen AUC değerleri (0,669–0,798 aralığı), CYFRA 21-1 (AUC=0,98) veya FNA-Tg (AUC~0,98) ile kıyaslandığında görece düşük olmakla birlikte, orta-iyi düzeyde bir tanısal performansa karşılık gelmektedir. Bu farkın temel nedeni, immün kontrol noktası belirteçlerinin organa özgü olmayıp tümör immün mikroçevresinin genel bir yansıması olması ve dolayısıyla biyolojik varyasyona daha açık bulunmasıdır. Bununla birlikte, birden fazla belirtecin birlikte değerlendirilmesiyle tanısal doğruluğun artırılabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Nitekim güncel bir çalışmada Xue ve ark., meme kanseri kor iğne biyopsisi washout sıvısında VEGF-C ve CK19'un aksiller ultrasonografi ve tümör boyutu ile kombine edildiği bir nomogramın AUC=0,916'ya ulaştığını göstermişlerdir (208). Bu veri, washout materyalinden elde edilen biyobelirteçlerin görüntüleme yöntemleriyle entegre edilmesinin tanısal performansı önemli ölçüde artırabileceğini düşündürmektedir.

Eşik değerlerinin belirlenmesinde iki farklı strateji izlenmesi, çalışmanın klinik uygulanabilirlik boyutunu güçlendirmektedir. sCD25, sB7.2, serbest aktif TGF-β1 ve sPD-1 için Youden indeksi ile optimal cut-off değerleri hesaplanmış; sPD-L1, sPD-L2, sTim-3, sLAG-3 ve sGalectin-9 için ise duyarlılığın ≥%75 ve özgüllüğün ≥%50 koşulunu eş zamanlı karşılayan dengeli eşik değeri yaklaşımı tercih edilmiştir. Bu ikili yaklaşım, tarama amacıyla kullanılacak belirteçlerde yüksek duyarlılığın korunması ile tanı doğrulama amacıyla kullanılacak belirteçlerde yüksek özgüllüğün sağlanması arasındaki dengeyi gözetmektedir.

Sensitivite ve spesifite profilleri açısından değerlendirildiğinde, sPD-L2 (%93 sensitivite) ve sTim-3 (%87 sensitivite) yüksek duyarlılıklarıyla tarama amaçlı kullanıma aday belirteçler olarak öne çıkmaktadır. Yüksek sensitivitenin klinik önemi, metastatik lenf nodlarının atlanma olasılığının en aza indirilmesindedir; bu durum özellikle aksiller evrelemenin cerrahi stratejiyi belirlemede kritik rol oynadığı meme kanserinde büyük önem taşımaktadır. Mevcut ultrasonografi eşliğinde ince iğne aspirasyon sitolojisinin sensitivitesinin meta-analizlerde %79 düzeyinde kaldığı göz önüne alındığında (209), washout immün kontrol noktası analizi bu yöntemlere tamamlayıcı bir katkı sağlayabilir. Çalışmamızda da aksiller ince iğne aspirasyon biyopsisinin sensitivitesi yaklaşık %79,7 olarak bulunmuş olup, bu değer literatürde bildirilen oranlarla uyum göstermektedir. Diğer taraftan, sCD25 (%86,7 spesifite) ve

sPD-1 (%83 spesifite) yüksek özgüllükleriyle gereksiz invaziv girişimlerin önlenmesinde tamamlayıcı rol üstlenebilecek belirteçlerdir.

Çalışmamızda saptanan çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin malign lenf nodundaki yüksek düzeyleri, yalnızca tanısal bir gösterge olarak değil, aynı zamanda metastatik lenf nodu mikroçevresinde aktif biyolojik fonksiyonlar üstlenen moleküller olarak değerlendirilmelidir. Çözünür immün kontrol noktası moleküllerinin membran-bağlı formları gibi biyoaktif özellikler sergilediği son yıllarda giderek artan kanıtlarla desteklenmektedir.

Çözünür PD-L1, bu bağlamda en iyi çalışılmış moleküldür. Dragu ve ark. tarafından yayımlanan bir derlemede, sPD-L1'in membran-bağlı PD-L1 ile benzer mekanizmalarla hareket ettiği, T hücreleri üzerindeki PD-1 reseptörüne bağlanarak T lenfosit proliferasyonunu inhibe ettiği ve hücresel immüniteyi baskıladığı özetlenmiştir (210). Frigola ve ark. ise renal hücreli karsinom hastalarında çözünür B7-H1 (PD-L1) formunun immünosupresif aktivitesini koruduğunu ve T hücre apoptozunu indükleme kapasitesine sahip olduğunu deneysel olarak ortaya koymuşlardır (211). Bu veriler, çalışmamızda malign lenf nodu washout örneklerinde saptanan yüksek sPD-L1 düzeylerinin yalnızca bir biyobelirteç olmayıp, metastatik lenf nodundaki T hücre fonksiyonunu aktif biçimde baskılayan bir immünosupresif ajan olarak işlev gördüğünü düşündürmektedir.

Galectin-9'un biyoaktif rolü de kapsamlı biçimde karakterize edilmiştir. Çözünür Galectin-9, Tim-3 reseptörüne bağlanarak sitotoksik T lenfositlerde apoptoz sinyali tetiklemekte, T hücre proliferasyonunu ve sitokin üretimini (IL-2, IFN-γ) baskılayarak T hücre tükenme sürecini hızlandırmaktadır. Yang ve ark. çalışmalarında, tümör mikroçevresinde Galectin-9'un Tim-3 ile etkileşime girmesinin regülatör T (Treg) hücrelerinde ölüme (apoptoza) neden olduğunu; buna karşılık Galectin-9'un bloke edilmesinin (anti-Gal-9 tedavisi) bu baskılayıcı Treg hücrelerinin tümör içinde hızla genişlemesine yol açtığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada, PD-1'in Galectin-9'a bağlanarak $PD\text{-}1^{+}TIM\text{-}3^{+}$ T hücrelerini Galectin-9/Tim-3 aracılı bu ölümden koruduğu ortaya konmuş; bu bulgu, PD-1 ve Tim-3 yolakları arasında hücre sağkalımını düzenleyen beklenmedik bir çapraz etkileşim olduğunu kanıtlamıştır (199). Çalışmamızda hem sGalectin-9 hem de sTim-3'ün malign lenf nodunda yüksek

saptanması, bu biyoaktif sinyal yolağının metastatik lenf nodu mikroçevresinde fonksiyonel olarak aktif olduğunu güçlü biçimde desteklemektedir.

TGF-β1 ise tümör mikroçevresindeki en güçlü immünosupresif sitokinlerden biri olarak kabul edilmektedir. Serbest aktif TGF-β1, sitotoksik T hücre fonksiyonunun baskılanması, NK ve $CD8^+$ T hücrelerindeki aktivasyon reseptörlerinin (NKG2D) downregülasyonu ve tümör ilişkili nötrofillerin pro-tümöral N2 fenotipine polarizasyonu gibi çoklu immünosupresif mekanizmalar üzerinden etki göstermektedir (204,205). Çalışmamızda malign lenf nodu washout örneklerinde saptanan yüksek TGF-β1 düzeyleri, bu sitokinin metastatik lenf nodunda lokal immün yanıtı aktif olarak şekillendirdiğini ve immünosupresif ortamın oluşumuna doğrudan katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

sLAG-3'ün de biyoaktif fonksiyonları giderek daha iyi anlaşılmaktadır. Çözünür LAG-3, MHC sınıf II eksprese eden antijen sunan hücrelerle etkileşerek T hücre aktivasyonunu baskılamakta ve PD-1 ile sinerjistik bir inhibitör etki oluşturmaktadır. Bu sinerjik ilişki, melanomada anti-LAG-3 (relatlimab) ve anti-PD-1 (nivolumab) kombinasyonunun klinik etkinliğinin temelini oluşturmaktadır (203). Çalışmamızda sLAG-3'ün malign lenf nodunda yüksek düzeylerde saptanması, bu molekülün metastatik lenf nodu mikroçevresinde PD-1/PD-L1 yolağıyla birlikte koordineli bir immünosupresif ağ oluşturduğuna işaret etmektedir.

Tüm bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, çalışmamızda washout örneklerinde saptanan çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin yalnızca metastaz varlığının pasif göstergeleri olmadığı, aksine metastatik lenf nodu mikroçevresinde aktif biçimde immünosupresif fonksiyonlar üstlenerek T hücre tükenme, regülatör T hücre genişlemesi, NK hücre baskılanması ve antijen sunumu inhibisyonu gibi süreçlere doğrudan katkıda bulunduğu değerlendirilmektedir. Bu durum, söz konusu belirteçlerin klinik önemini tanısal kullanımın ötesine taşımakta ve potansiyel terapötik hedefler olarak da değerlendirilmelerini olanaklı kılmaktadır. Özellikle immün kontrol noktası inhibitörlerinin neoadjuvan tedaviye entegrasyonunun giderek yaygınlaştığı meme kanserinde, lokal immün mikroçevrenin washout düzeyinde karakterize edilmesi tedavi stratejilerinin kişiselleştirilmesine katkı sağlayabilir.

Çalışmamızda tüm hasta popülasyonunda (n=30) neoadjuvan tedavi sonrasında hematokrit, hemoglobin, lökosit, lenfosit ve albümin düzeylerinde anlamlı azalma saptanmıştır. Trombosit, nötrofil, nötrofil yüzdesi ve lenfosit yüzdesi açısından ise tedavi öncesi ve sonrasında anlamlı fark gözlenmemiştir.

Bu bulgular, neoadjuvan kemoterapinin bilinen hematolojik ve nutrisyonel toksisitesiyle uyumludur. Dixon-Douglas ve ark. tarafından 200 erken evre meme kanseri hastasında yapılan retrospektif longitudinal çalışmada, (neo)adjuvan kemoterapi sonrası mutlak lenfosit sayısında 12. ayda bile belirgin azalmanın sürdüğü gösterilmiştir ($p<0,01$). Bu azalma özellikle premenopozal hastalarda, doz-yoğun rejimlerde ve adjuvan radyoterapi alan hastalarda daha belirgin saptanmıştır. Flow sitometri analizlerinde naif $CD4^+$ T hücre havuzunun ciddi biçimde daraldığı ortaya konmuştur (212). Bu durum, kemoterapinin yalnızca geçici bir miyelosupresyon yaratmadığını, aynı zamanda adaptif immün yanıtı uzun süreli olarak olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir. Çalışmamızda saptanan lenfosit düşüşü bu bulgularla tutarlıdır.

Albümin düzeylerindeki anlamlı azalma, hem kemoterapiye bağlı nutrisyonel bozulmayı hem de sistemik inflamatuvar yanıtı yansıtmaktadır. Wang ve ark., 711 meme kanseri hastasında lenfosit × albümin (LA) çarpımının neoadjuvan kemoterapi sonrası hastalıksız sağkalımı öngören bağımsız bir prognostik biyobelirteç olduğunu göstermişlerdir (213). Çalışmamızdaki eş zamanlı lenfosit ve albümin düşüşü, neoadjuvan tedavinin hem immün hem de nutrisyonel açıdan hasta fizyolojisini olumsuz etkilediğini teyit etmektedir.

Çalışmamızda neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası kanda ölçülen 12 çözünür immün kontrol noktası belirtecinden 5'inde anlamlı değişim saptanmıştır. Bu bulgular, Rapoport ve ark. tarafından 72 erken evre meme kanseri hastasında yapılan ve çalışmamızla en yakın tasarıma sahip çalışmanın sonuçlarıyla kısmen örtüşmektedir. Söz konusu çalışmada 16 çözünür immün kontrol noktası belirteci neoadjuvan kemoterapi öncesi, sonrası ve cerrahi sonrası olmak üzere üç zaman noktasında ölçülmüştür. Neoadjuvan kemoterapi sonrası ko-inhibitör belirteçlerden sPD-L1, sLAG-3 ve sTim-3 düzeylerinin anlamlı biçimde arttığı saptanmıştır. Buna karşılık,

sPD-1 düzeyleri tedavi öncesine benzer kalmış, sCTLA-4 ise anlamlı biçimde azalmıştır (214).

İki çalışma arasındaki uyum ve tutarsızlıklar dikkatli biçimde değerlendirilmelidir. Uyum noktaları şunlardır: Her iki çalışmada da sTim-3 düzeylerinde tedavi sonrası anlamlı artış saptanmıştır. Benzer şekilde, sCTLA-4 düzeylerinde her iki çalışmada da azalma yönünde değişim gözlenmiştir. Ayrıca sPD-1 düzeylerinin her iki çalışmada da tedavi öncesine benzer kalması dikkat çekici bir uyum noktasıdır. Tutarsızlıklar ise şu şekildedir: sPD-L1 düzeylerinde Rapoport ve ark. anlamlı artış bildirirken çalışmamızda anlamlı değişim saptanmamıştır. Benzer şekilde, sLAG-3 düzeylerinde Rapoport ve ark. anlamlı artış saptamışken çalışmamızda değişim gözlenmemiştir. Bu tutarsızlıklar, örneklem büyüklüğü (72 vs 30 hasta), moleküler alt tip dağılımı (çalışmamızda %80 Luminal B vs Rapoport'un %70'i TNBC olan daha heterojen kohortu) ve ölçüm platformu farklılıkları ile açıklanabilir.

Rapoport ve ark., ko-stimülatör belirteçlerdeki (CD27, CD28, CD40, CD80, ICOS, GITR) artışı immün homeostazın kısmi restorasyonu olarak yorumlarken, ko-inhibitör belirteçlerdeki (PD-L1, LAG-3, TIM-3) artışı ise immün homeostatik dengeleme mekanizması olarak değerlendirmişlerdir (214). Bu yorum, neoadjuvan kemoterapinin paradoksal bir etkisine işaret etmektedir: bir yandan immünojenik hücre ölümü aracılığıyla immün aktivasyonu tetiklerken, diğer yandan artan immün aktivasyona karşı kompansatuvar inhibitör mekanizmaları da harekete geçirmektedir. Çalışmamızda sCD25 artışının (immün aktivasyon göstergesi) sTim-3 ve sGalectin-9 artışıyla (inhibitör belirteçler) eş zamanlı gözlenmesi, bu paradoksal etki modelini desteklemektedir.

Malign lenf nodu washout düzeyinde ise kandan çarpıcı biçimde farklı bir tablo ortaya çıkmıştır. Tüm hastalarda (n=30) neoadjuvan tedavi sonrası malign lenf nodundaki belirteçlerin büyük çoğunluğunda — 12 belirteçten 11'inde — anlamlı azalma saptanmıştır. Washout düzeyinde anlamlı değişim göstermeyen tek belirteç sCTLA-4 olmuştur; bu durum, CTLA-4'ün ağırlıklı olarak T hücre aktivasyonunun erken fazında ve lenf nodu germinal merkezlerinde konstitütif ekspresyon sergilemesiyle açıklanabilir — metastatik odaktaki tümör yükünün azalması bu

konstitütif ekspresyonu doğrudan etkilemeyebilir. Bu durum, neoadjuvan tedavinin metastatik lenf nodundaki immünosupresif mikroçevreyi belirgin biçimde çözdüğünü göstermektedir. Kan düzeyindeki değişimlerin (5/12 anlamlı) washout düzeyindeki değişimlerle (11/12 anlamlı) bu denli farklılık göstermesi, sistemik ve lokal immün yanıtların bağımsız dinamikler izlediğini ortaya koymaktadır. Bu kompartmantal ayrışma özellikle PD-1/PD-L1 ekseni üzerinden somutlaştırılabilir. Kanda sPD-L1, sPD-L2 ve sPD-1 düzeylerinde neoadjuvan tedavi sonrası anlamlı değişiklik saptanmamıştır; bu sonuç Rapoport ve ark.'nın kohortunda sPD-1 için bildirilen değişimsizlikle uyumlu olmakla birlikte, aynı çalışmada sPD-L1'de gözlenen anlamlı artıştan farklılık göstermektedir (214). Buna karşılık, malign lenf nodu washout düzeyinde PD-1/PD-L1 ekseninin üç bileşeninin tamamında — sPD-L1, sPD-L2 ve sPD-1 — istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı azalma saptanmıştır. Bu azalma, neoadjuvan tedavinin metastatik lenf nodundaki PD-1/PD-L1 aracılı immünosupresif sinyali etkin biçimde baskıladığını göstermektedir. Li ve ark., triple negatif meme kanserinde neoadjuvan kemoterapiye yanıt veren hastalarda serum sPD-1 ve sPD-L1 düzeylerinin tedavi sonrası anlamlı azalma sergilediğini, yanıt vermeyenlerde ise bu azalmanın gözlenmediğini bildirmişlerdir (202). Çalışmamızda ise bu azalma periferik kanda değil, doğrudan metastatik odağın washout materyalinde ortaya çıkmıştır. Bu bulgu iki açıdan önem taşımaktadır: birincisi, PD-1/PD-L1 ekseni açısından lokal immün yanıtın sistemik dolaşıma doğrudan yansımadığını kanıtlamakta; ikincisi, washout materyalinin periferik kan düzeylerinin yakalayamadığı lokal tedavi yanıtı bilgisini sağlayabilecek tamamlayıcı bir araç olduğunu desteklemektedir. Bu ters yönlü paternin mekanizması, muhtemelen neoadjuvan tedavinin metastatik lenf nodunda tümör hücreleri ve immünosupresif stromal elemanları doğrudan elimine etmesiyle lokal PD-L1 ve PD-L2 üretiminin azalmasına, ancak kemoterapinin tetiklediği immünojenik hücre ölümü sonrası sistemik immün aktivasyonun PD-1/PD-L1 yolağında kompansatuvar bir dengelenmeye yol açmasına dayanmaktadır. Nitekim yukarıda tartışıldığı üzere çözünür PD-L1, membran-bağlı formu gibi T hücre proliferasyonunu inhibe edebilen biyoaktif bir moleküldür (210); dolayısıyla washout düzeyindeki bu azalma yalnızca niceliksel bir değişim değil, metastatik lenf nodundaki fonksiyonel immünosupresyonun çözülmesini yansıtan biyolojik bir gösterge olarak değerlendirilmelidir. Benzer bir kompartmantal ayrışma, çalışmanın en yüksek tanısal

performansı gösteren ekseni olan Galectin-9/Tim-3 yolağında daha da çarpıcı biçimde gözlenmiştir. Kanda sTim-3 ve sGalectin-9 düzeylerinde neoadjuvan tedavi sonrası anlamlı artış saptanırken, malign lenf nodu washout örneklerinde her iki belirteçte de yine yüksek düzeyde anlamlı azalma gözlenmiştir. Bu ters yönlü değişim, PD-1/PD-L1 eksenindekine kıyasla daha belirgindir; zira PD-1/PD-L1 ekseninde kan düzeylerinde anlamlı değişim saptanmazken, Galectin-9/Tim-3 ekseninde kanda istatistiksel olarak anlamlı artış ile washout'ta anlamlı azalma eş zamanlı olarak ortaya çıkmıştır. Bu bulgunun biyolojik önemi, Tim-3/Galectin-9 etkileşiminin T hücre tükenme sürecinin temel mekanizmalarından biri olmasıyla ilişkilidir. Chen ve ark.'nın gösterdiği üzere çözünür Tim-3, terminal T hücre tükenmesini aktif olarak indükleyebilen biyoaktif bir moleküldür (220). Dolayısıyla washout düzeyindeki bu dramatik azalma, neoadjuvan tedavinin metastatik lenf nodundaki T hücre tükenme sinyalini işlevsel düzeyde baskıladığını göstermekte; kanda gözlenen artış ise kemoterapinin tetiklediği sistemik immün aktivasyona karşı gelişen kompansatuvar inhibitör yanıtı yansıtmaktadır.

Lenf nodu tam yanıtı olan hastalarda (n=19) bu tablo daha da belirgindir. Bu alt grupta kanda serbest aktif TGF-β1, sTim-3 ve sGalectin-9 düzeylerinde anlamlı artış saptanmıştır. Buna karşılık, aynı hastaların malign lenf nodu washout örneklerinde sCD25, s4-1BB, sCD27, sB7.2, serbest aktif TGF-β1, sPD-L2, sPD-1, sTim-3 ve sGalectin-9 düzeylerinde dramatik azalmalar gözlenmiştir. Bu ters yönlü değişim — kanda artış, washout'ta azalma — tedaviye yanıt veren lenf nodlarında tümör yükünün ortadan kalkmasıyla birlikte lokal immünosupresif mikroçevrenin çözüldüğünü, ancak sistemik düzeyde immün homeostatik yeniden dengelemenin sürdüğünü güçlü biçimde desteklemektedir.

Urueña ve ark. da benzer şekilde neoadjuvan kemoterapinin meme kanseri immün mikroçevresini değiştirdiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada tedavi sonrası tümör dokusunda regülatör T hücre artışı ve $CD8^+$ T hücre azalması saptanmış, bu değişimlerin lenf nodu metastaz varlığı ile korele olduğu bildirilmiştir. Luminal hastalarda ise polimorfonükleer miyeloid kaynaklı baskılayıcı hücre benzeri hücrelerde artış gözlenmiştir (215).

Çalışmamızda patolojik tam yanıt (pCR) durumuna göre kan belirteçleri değerlendirildiğinde, trombosit mutlak değişim ve trombosit yüzdesel değişim oranı pCR elde edilen hastalarda anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur. Diğer kan belirteçlerinin değişimleri açısından pCR durumuna göre anlamlı fark saptanmamıştır.

Trombosit değişiminin pCR ile ilişkisi, literatürde trombosit-lenfosit oranı (PLR) üzerinden araştırılmış bir konudur. Dan ve ark., 257 meme kanseri hastasında PLR değişiminin (ΔPLR) pCR'yi öngörmede tek başına PLR'den daha güçlü bir prediktör olduğunu bildirmişlerdir (216). Lusho ve ark. ise 120 triple negatif meme kanseri hastasında bazal PLR'nin pCR ve küçük rezidüel hastalık için prediktif değer taşıdığını göstermişlerdir (217). Çalışmamızda saptanan trombosit değişiminin pCR ile ilişkisi, trombosit dinamiklerinin neoadjuvan tedavi yanıtını yansıtan bir gösterge olabileceğini düşündürmektedir.

Buna karşılık, kanda ölçülen çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin hiçbirinin mutlak veya yüzdesel değişim açısından pCR durumuna göre anlamlı farklılık göstermemesi dikkat çekici bir negatif bulgudur. Yalnızca sCD25 değişim oranında ve sCTLA-4 değişim oranında anlamlılığa yakın eğilimler gözlenmiştir. Malign lenf nodu washout düzeyinde ise s4-1BB değişim oranı pCR ile anlamlı ilişki gösterirken, sB7.2 değişim oranı ve sTim-3 değişim oranı anlamlılık sınırına yaklaşmıştır.

Bu negatif bulgunun açıklanmasında birkaç önemli faktör göz önünde bulundurulmalıdır. Birincisi, Rapoport ve ark. tarafından 72 erken evre meme kanseri hastasında yapılan ve 16 çözünür immün kontrol noktasını değerlendiren çalışmada da çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin hiçbirinin pCR ile korelasyon göstermediği bildirilmiştir. Yazarlar bu durumu şaşırtıcı olarak nitelendirmişler ve çözünür immün kontrol noktalarının tedavi yanıtından ziyade sistemik immün homeostazı yansıttığını öne sürmüşlerdir (214). Çalışmamızdaki bulgular bu gözlemle tam bir uyum içindedir.

İkincisi, 30 hastalık örneklem büyüklüğü, pCR (n=10) ve non-pCR (n=20) grupları arasında küçük farkları tespit etmek için istatistiksel güç açısından yetersiz kalabilmektedir.

Lenf nodu tam yanıtı durumuna göre yapılan değerlendirmede, malign lenf nodu washout örneklerinde sCD25 mutlak değişimi, s4-1BB değişim oranı, serbest aktif TGF-β1 mutlak değişimi ve sPD-L2 mutlak değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır. Kan belirteçlerinde ise albümin değişim oranı anlamlı bulunmuş olup, trombosit değişim oranında anlamlılığa yaklaşan bir eğilim lenf nodu yanıt durumuna göre anlamlı bulunmuştur.

Buna karşılık, kanda ölçülen çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin değişim parametrelerinin hiçbirinde lenf nodu yanıt durumuna göre anlamlı fark saptanmamıştır. Bu negatif bulgu, sistemik kan düzeylerinin lokal lenf nodu yanıtını yansıtmada yetersiz kaldığını, washout materyalinin ise lokal immün değişimleri daha spesifik biçimde yakaladığını desteklemektedir. Washout düzeyinde 4 belirteçte anlamlı fark saptanırken kan düzeyinde hiçbir immün kontrol noktası belirtecinde anlamlılık gözlenmemesi, washout yaklaşımının lokal immün yanıt değerlendirmesindeki üstünlüğünü vurgulamaktadır.

Bu bulgular, pCR'den farklı olarak lenf nodu tam yanıtının washout immün kontrol noktası belirteçlerindeki değişimlerle daha güçlü biçimde ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Bu farkın temel nedeni, washout örneklerinin doğrudan lenf nodu mikroçevresini yansıtması olabilir; dolayısıyla lenf noduna özgü yanıtın bu örneklerden daha iyi yakalanması beklenen bir sonuçtur.

Serbest aktif TGF-β1 mutlak değişiminin lenf nodu yanıtıyla güçlü ilişkisi dikkat çekicidir. TGF-β, tümör mikroçevresinde immün baskılama, epitelyal-mezenkimal geçiş ve anjiyogenez gibi süreçlerde merkezi bir rol oynamaktadır (204). Lenf nodu tam yanıtı olan hastalarda bu sitokinin düzeyindeki belirgin değişim, tedaviye bağlı immünosupresif ortamın çözülmesiyle uyumludur.

sPD-L2 mutlak değişiminin lenf nodu yanıtıyla anlamlı ilişkisi de önemli bir bulgudur. PD-L2, PD-1 reseptörünün ikinci ligandı olup, PD-L1'den farklı olarak daha sınırlı bir ekspresyon profiline sahiptir ve özellikle antijen sunan hücreler ile tümör mikroçevresinde eksprese edilmektedir. Pitts ve ark. tarafından yayımlanan kapsamlı derlemede, çözünür immün kontrol noktalarının konvansiyonel tedavilere yanıtla ilişkisinin bağlam ve kanser tipine göre değişkenlik gösterdiği vurgulanmıştır (167).

Lenf nodu tam yanıtı elde edilen hastalarda kan belirteçlerinin analizi de tüm grupta gözlenen eğilimlerle uyumlu olarak hematokriti, hemoglobin, lenfosit ve albümin düzeylerinde neoadjuvan tedavi sonrası anlamlı azalma göstermiştir. Albümin değişim oranının lenf nodu yanıtıyla ilişkisi, nutrisyonel durumun tedavi yanıtını yansıtma potansiyeline işaret etmektedir.

Çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin tanısal, prognostik ve prediktif değeri birçok solid tümörde araştırılmıştır. Çalışmamızda saptanan belirteçlerin her biri için mevcut literatürle karşılaştırma aşağıda sunulmaktadır.

Çözünür PD-1/PD-L1 ekseninin çeşitli kanserlerdeki klinik önemi kapsamlı biçimde incelenmiştir. Zhu ve Lang tarafından yayımlanan sistematik derlemede, sPD-1 ve sPD-L1 düzeylerinin renal hücreli karsinom, gastrik kanser, hepatoselüler karsinom, küçük hücreli dışı akciğer kanseri ve multipl miyelom gibi birçok kanser türünde hastalık evresi, tedavi yanıtı ve sağkalım ile ilişkili olduğu özetlenmiştir (218). İleri evre kanser hastalarında Oh ve ark., 128 hastada (küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, melanom, ürotelyal karsinom ve diğerleri) bazal sPD-L1 düzeyinin >11,0 pg/μL olmasının progresif hastalıkla (%41,8 vs %20,7; p=0,013), daha kısa progresyonsuz sağkalımla (2,9 vs 6,3 ay; p=0,023) ve daha kısa genel sağkalımla (7,4 vs 13,3 ay; p=0,005) ilişkili olduğunu göstermişlerdir (219). Meme kanserinde Li ve ark., triple negatif meme kanseri hastalarında serum sPD-1 ve sPD-L1 düzeylerinin tümör evresiyle artış gösterdiğini ve neoadjuvan kemoterapiye yanıt veren hastalarda bu düzeylerin anlamlı biçimde azaldığını bildirmişlerdir (202). Çalışmamızda sPD-L1'in malign lenf nodu washout örneklerinde yüksek saptanması, serum düzeyindeki bu bulgularla paralellik göstermekle birlikte, lokal metastatik odağın immün mikroçevresini daha spesifik biçimde yansıtması bakımından farklılık arz etmektedir.

Çözünür Tim-3'ün kanser biyolojisindeki rolü son yıllarda önemli ölçüde aydınlatılmıştır. Chen ve ark. tarafından Cell Reports Medicine'de yayımlanan çalışmada, serum sTim-3 düzeylerinin küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ve çeşitli sindirim sistemi tümörlerinde (gastrik kanser, kolorektal kanser, hepatoselüler karsinom, kolanjiokarsinom) anlamlı biçimde yükselmiş olduğu gösterilmiştir. Özellikle dikkat çekici olan bulgu, anti-PD-1 tedavisine yanıt vermeyen küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastalarında ve anti-PD-1'e dirençli kolanjiokarsinom

hastalarında serum sTim-3 düzeylerinin yanıt verenlere kıyasla anlamlı ölçüde yüksek olmasıdır. Ayrıca sTim-3'ün yalnızca bir biyobelirteç olmadığı, CEACAM-1 bağımlı bir mekanizmayla terminal T hücre tükenmesini aktif olarak indüklediği ve anti-PD-1 direncine doğrudan katkıda bulunduğu in vivo deneylerle kanıtlanmıştır (220). Bailly ve ark. tarafından yayımlanan kapsamlı derlemede ise sTIM-3'ün ADAM10 ve ADAM17 metalloprotezleri tarafından membran formunun proteolitik kırılmasıyla üretildiği, birçok kanser türünde ve otoimmün hastalıklarda yükselmiş düzeylerde saptandığı ve hastalık ilerlemesinin göstergesi olarak değerlendirildiği özetlenmiştir (221). Çalışmamızda sTim-3'ün malign lenf nodunda benign lenf noduna kıyasla anlamlı biçimde yüksek bulunması ve ROC analizinde AUC=0,736 ile tanısal değer göstermesi, bu literatür bulgularını lokal lenf nodu düzeyine taşıyan özgün bir katkıdır.

LAG-3'ün çözünür formunun kanserdeki prognostik değeri tartışmalı sonuçlar içermektedir. Li ve ark., gastrik kanser hastalarında sLAG-3 düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla düşük olduğunu ve yüksek sLAG-3 ekspresyonunun iyi prognozla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca in vivo deneylerde sLAG-3'ün tümör büyümesini inhibe ettiği, $CD8^+$ T hücre frekansını artırdığı ve IL-12 ile IFN-γ sekresyonunu uyardığı gösterilmiştir (222). Meme kanseri özelinde Triebel ve ark., hormon reseptör pozitif meme kanseri hastalarında sLAG-3 düzeylerinin iyi prognozla korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir (223). Buna karşılık, baş-boyun skuamöz hücreli karsinomda ve hepatoselüler karsinomda yüksek sLAG-3'ün kötü prognozla ilişkili olduğu rapor edilmiştir (224). Martínez-Pérez ve ark. tarafından yayımlanan kapsamlı derlemede, sLAG-3'ün immünostimülatör fonksiyonları olduğu (IL-12 üretimini artırma, dentritik hücre olgunlaşmasını tetikleme, T hücre proliferasyonunu destekleme) ve bu özelliğinin inhibitör membran formundan farklı bir biyolojik profil çizdiği vurgulanmıştır (224). Çalışmamızda sLAG-3'ün malign lenf nodunda yüksek saptanması, metastatik lenf nodu mikroçevresinde LAG-3 sinyalinin aktif olduğunu göstermekle birlikte, çözünür formun bu bağlamda inhibitör mi yoksa stimülatör mü işlev gördüğü sorusu yanıt beklemektedir.

Galectin-9'un meme kanserindeki rolü "çift taraflı kılıç" metaforuyla tanımlanmaktadır. Zhang ve ark. tarafından yayımlanan derlemede, Galectin-9'un bir yandan tümör hücre agregasyonunu ve ekstraselüler matriks ile iletişimi destekleyerek anti-metastatik etki gösterebildiği, diğer yandan Tim-3 ile etkileşerek sitotoksik T

lenfosit ölümünü ve NK hücre fonksiyon kaybını indükleyebildiği bildirilmiştir (225). Funkhouser ve ark., meme kanseri hastalarında serum Galectin-9 düzeylerini alt tiplere göre analiz etmişler; HER2-pozitif tümörlerde Galectin-9'un anlamlı biçimde artmış olduğunu ancak evre ile korelasyon gözlenmediğini bildirmişlerdir (226). Çalışmamızda sGalectin-9'un en yüksek AUC değerine sahip belirteç olarak öne çıkması, bu molekülün lenf nodu washout düzeyinde güçlü tanısal potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Chen ve ark. tarafından yayımlanan güncel sistematik derlemede, çözünür immün kontrol noktası moleküllerinin kanser riski öngörme, sonuç tahmini ve terapötik uygulamalardaki potansiyeli kapsamlı biçimde değerlendirilmiştir. Bu derlemede, çözünür formların dolaşımda kolaylıkla izlenebilmesi nedeniyle biyobelirteç olarak büyük avantaj sunduğu, ancak terapötik uygulamaların ve mekanizmaların henüz yeterince araştırılmamış olduğu vurgulanmıştır (164). Park ve Lee tarafından yayımlanan bir diğer derlemede ise çözünür reseptörlerin kanser hastalarının vücut sıvılarında artmış düzeyleri nedeniyle erken tanı, prognoz tahmini ve tedavi izleminde minimal invaziv biyobelirteçler olarak potansiyel taşıdığı özetlenmiştir (227).

Çalışmamız, yukarıda özetlenen tüm literatürden önemli bir noktada ayrılmaktadır: mevcut çalışmaların tamamı serum veya plazma düzeylerini incelemiş olup, bu belirteçleri doğrudan metastatik lenf nodundan elde edilen washout materyalinde analiz eden başka bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yaklaşım, sistemik dolaşımdan bağımsız olarak metastatik odağın lokal immün mikroçevresini yansıtma avantajı sunmaktadır. Serum düzeylerinin tümör yükü, sistemik inflamasyon ve çeşitli non-neoplastik durumlardan etkilenebilmesi göz önünde bulundurulduğunda, washout materyalinden elde edilen lokal ölçümlerin daha spesifik bilgi sağlayabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda klinik parametreler ile immün belirteçler ve hematolojik parametreler arasında çeşitli korelasyonlar saptanmıştır.

Yaş ile hematolojik parametreler arasında lökosit değişim oranı, nötrofil değişim oranı ve nötrofil yüzdesinin mutlak değişimi arasında orta düzeyde pozitif korelasyonlar bulunmuştur. Bu bulgular, ileri yaşta neoadjuvan kemoterapiye bağlı

hematolojik değişimlerin daha belirgin olduğunu düşündürmektedir. Yaş ile albümin düzeyleri arasında hem tedavi öncesi hem de tedavi sonrası orta düzeyde negatif korelasyon saptanması, yaşlanmayla birlikte nutrisyonel rezervin azaldığını yansıtmaktadır.

İmmün belirteçler açısından yaş ile malign lenf nodundaki sCD25 değişim oranı arasında zayıf düzeyde pozitif korelasyon, sTim-3 değişim oranı ve Galectin-9 mutlak değişimi arasında ise orta düzeyde pozitif korelasyonlar saptanmıştır. Bu bulgular, ileri yaşta immün kontrol noktası belirteçlerindeki tedaviye bağlı değişimlerin daha belirgin olduğunu ve immün mikroçevrenin yaşa bağlı farklılıklar gösterebileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, yaş ile malign lenf nodundaki serbest aktif TGF-β1 neoadjuvan öncesi düzeyi ve sPD-L2 neoadjuvan öncesi düzeyi arasında orta düzeyde negatif korelasyonlar saptanması da dikkat çekicidir.

Hormon reseptör durumu ile immün belirteçler arasındaki ilişkiler de değerlendirilmiştir. ER oranı ile kandaki sCTLA-4 neoadjuvan öncesi düzeyi arasında zayıf düzeyde negatif korelasyon, sLAG-3 neoadjuvan öncesi düzeyi ile orta düzeyde negatif korelasyon gözlenmiştir. Ayrıca malign lenf nodundaki sPD-L1 neoadjuvan öncesi düzeyi ile ER oranı arasında da orta düzeyde negatif korelasyon saptanmıştır. Bu bulgular, hormon reseptör pozitif tümörlerde bazal inhibitör immün kontrol noktası düzeylerinin daha düşük olduğuna işaret etmekte olup, Luminal alt tiplerin immünolojik olarak daha az aktif (“soğuk”) tümörler olarak kabul edilmesiyle uyumludur (197). PR oranı ile malign lenf nodundaki s4-1BB neoadjuvan sonrası düzeyi arasında orta düzeyde negatif korelasyon saptanması da bu gözlemi desteklemektedir.

Ki-67 proliferasyon indeksi ile neoadjuvan tedavi öncesi trombosit değerleri arasında zayıf düzeyde pozitif korelasyon, neoadjuvan tedavi sonrası trombosit değerleri arasında ise orta düzeyde pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu bulgu, yüksek proliferatif aktiviteye sahip tümörlerde trombosit düzeylerinin daha yüksek olduğunu göstermekte olup tümör kaynaklı trombopoietik stimülasyonla açıklanabilir.

Klinik evre ile malign lenf nodundaki serbest aktif TGF-β1 mutlak değişimi arasında zayıf düzeyde negatif korelasyon, sPD-L1 mutlak değişimi, sPD-1 mutlak değişimi ve sGalectin-9 neoadjuvan öncesi düzeyi ile ise orta düzeyde negatif

korelasyonlar saptanmıştır. Bu negatif ilişkiler, ileri evre hastalıkta tedaviye bağlı immün kontrol noktası değişimlerinin daha sınırlı kalabileceğini düşündürmektedir.

Neoadjuvan tedavi öncesi dönemde kan ve malign lenf nodu washout düzeyleri arasındaki korelasyon analizi, 12 immün kontrol noktası belirtecinden yalnızca ikisinde — sCD25 ve sB7.2 — istatistiksel olarak anlamlı orta düzeyde pozitif korelasyon ortaya koymuştur. Diğer 10 belirteçte kan ve washout düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Bu bulgu, çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin büyük çoğunluğunun sistemik dolaşımdaki düzeyleri ile metastatik lenf nodu mikroçevresindeki lokal düzeyleri arasında doğrudan bir paralellik bulunmadığını göstermektedir. Bu durum, washout materyalinin yalnızca kan düzeylerinin bir yansıması olmadığını, aksine lokal immün mikroçevreyi bağımsız biçimde temsil ettiğini desteklemekte ve washout yaklaşımının kan bazlı ölçümlere kıyasla ek bilgi sağladığını ortaya koymaktadır. sCD25 ve sB7.2'nin kan-washout korelasyonu göstermesi, bu iki belirtecin hem sistemik hem de lokal düzeyde benzer kaynaklardan — aktive lenfositler ve antijen sunan hücreler — salınıyor olmasıyla açıklanabilir.

Bu çalışma, meme kanserinde aksiller lenf nodu metastazının saptanmasında immün kontrol noktası washout analizi yaklaşımını uygulayan ilk çalışma olması bakımından özgün bir değer taşımaktadır. Aynı hastada hem benign hem de malign lenf nodunun eş zamanlı örneklenmesiyle kişi içi karşılaştırma yapılabilmiş olması, 12 farklı çözünür immün kontrol noktası belirtecinin paralel analiziyle kapsamlı bir immünolojik profil ortaya konmuş olması ve prospektif tasarım ile neoadjuvan tedavi öncesi-sonrası eşleştirilmiş örneklerin değerlendirilmiş olması çalışmanın güçlü yönleridir. Washout örneklerinin hem kan hem de lenf nodu düzeyinde analiz edilmesi, sistemik ve lokal immün yanıtın karşılaştırılmasını mümkün kılmıştır.

Bununla birlikte, 30 hastalık örneklem büyüklüğü özellikle alt grup analizlerinde istatistiksel gücü sınırlamaktadır. Hasta popülasyonunun %80'inin Luminal B alt tipinden oluşması bulguların tüm alt tiplere genellenebilirliğini kısıtlamakta, tek merkezli tasarım dış geçerliliği sınırlamaktadır.

Çalışmamızda elde edilen bulgular, washout immün kontrol noktası analizinin mevcut preoperatif aksiller değerlendirme yöntemlerine tamamlayıcı bir araç olarak

konumlandırılabileceğini düşündürmektedir. Özellikle yüksek sensitiviteye sahip belirteçlerin (sPD-L2 %93, sTim-3 %87) tanımlanmış olması, sitolojik olarak şüpheli veya yetersiz materyal içeren olgularda ek tanısal değer sağlayabilir. Neoadjuvan tedavi sürecinde washout belirteçlerindeki dinamik değişimler ise tedavi yanıtının erken değerlendirilmesinde ve aksiller cerrahi kapsamının belirlenmesinde potansiyel bir araç olarak değerlendirilebilir. Bu potansiyelin gerçekleştirilmesi, çok merkezli prospektif çalışmalarla doğrulama gerektirmektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışma ile meme kanserinde aksiller lenf nodu metastazının değerlendirilmesinde, papiller tiroid kanserindeki FNA-Tg washout yönteminden esinlenerek geliştirilen immünolojik bir washout yaklaşımı ilk kez uygulanmıştır. Bu yaklaşım, metastatik lenf nodunun immün mikroçevresini doğrudan ve minimal invaziv biçimde karakterize etme olanağı sunmaktadır.

Çalışmanın temel çıktısı, çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin malign ve benign lenf nodu ayrımında anlamlı tanısal performans sergilediğidir. İncelenen 12 belirteçten 9'u malign lenf nodunda anlamlı biçimde yüksek saptanmış ve ROC analizinde tümü istatistiksel olarak anlamlı ayırt edici değer göstermiştir. Özellikle sGalectin-9, sPD-L1, sTim-3 ve sLAG-3 belirteçleri, mevcut ultrasonografi eşliğinde ince iğne aspirasyon sitolojisine (%79 sensitivite) tamamlayıcı bir tanısal araç olarak değerlendirilebilir. Bu bulgular, washout materyalinin meme kanserinde aksiller evreleme amacıyla kullanılabilecek yeni bir biyokimyasal bilgi kaynağı olduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmanın bir diğer önemli çıktısı, bu belirteçlerin yalnızca tanısal göstergeler olmadığı, aynı zamanda metastatik lenf nodu mikroçevresinde aktif biyolojik fonksiyonlar üstlendiğidir. Çözünür PD-L1'in T hücre proliferasyonunu inhibe ettiği, çözünür Galectin-9'un Tim-3 aracılığıyla T hücre tükenmesini indüklediği ve TGF-β1'in NK hücre fonksiyonunu baskıladığı bilinen biyoaktif mekanizmalardır. Washout düzeyinde bu moleküllerin yüksek saptanması, metastatik lenf nodunun yalnızca tümör hücrelerinin toplandığı pasif bir alan olmayıp koordineli bir immünosupresif ağın işlediği aktif bir mikroçevre olduğunu desteklemektedir.

Kan ve washout düzeylerinin karşılaştırılması, lokal ve sistemik immün kompartmanların birbirinden bağımsız dinamikler izlediğini ortaya koymuştur. On iki belirteçten yalnızca ikisinde (sCD25 ve sB7.2) kan-washout korelasyonu saptanması ve kanda immün kontrol noktası değişimlerinin lenf nodu yanıtını öngörememesi, washout materyalinin kan bazlı ölçümlerin ötesinde ek ve özgün bilgi sağladığını kanıtlamaktadır. Bu bağımsızlık özellikle PD-1/PD-L1 ve

Galectin-9/Tim-3 eksenlerinde somutlaşmıştır: kanda sPD-L1 ve sPD-1 düzeyleri neoadjuvan tedavi sonrası anlamlı değişim göstermezken washout'ta her ikisinde de belirgin azalma saptanmış; kanda sTim-3 ve sGalectin-9 düzeyleri artarken aynı belirteçler washout düzeyinde dramatik biçimde düşmüştür. Bu ters yönlü değişim paterni, periferik kan ölçümlerinin lokal immün mikroçevredeki tedaviye bağlı değişimleri yansıtmada yetersiz kaldığını ve washout materyalinin bu açığı kapatan tamamlayıcı bir bilgi kaynağı olduğunu doğrulamaktadır.

Neoadjuvan tedavinin washout belirteçleri üzerindeki etkisi de klinik açıdan anlamlı bulgular ortaya koymuştur. Patolojik tam yanıt açısından değerlendirildiğinde, kanda ölçülen çözünür immün kontrol noktası belirteçlerinin hiçbirinde pCR durumuna göre anlamlı fark saptanmamış olup bu negatif bulgu, benzer tasarıma sahip Rapoport ve ark.'nın sonuçlarıyla uyum göstermektedir. Buna karşılık, lenf nodu tam yanıtı durumuna göre washout düzeyinde anlamlı farklar saptanması, washout belirteçlerinin sistemik pCR'den ziyade lokal yanıtı yansıtmada daha duyarlı olduğunu düşündürmektedir. Lenf nodu tam yanıtı olan hastalarda washout immün kontrol noktası düzeylerinde gözlenen dramatik azalmalar, tedaviye bağlı immünosupresif ortamın çözüldüğünü göstermektedir. Bu dinamik değişim paterni, washout analizinin tedavi yanıtının izlenmesinde potansiyel bir araç olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir.

Son olarak, washout düzeyinde saptanan immün kontrol noktası profili, kişiselleştirilmiş immünoterapi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Yüksek sTim-3 düzeylerinin anti-PD-1 direnciyle ilişkili olduğuna dair güncel kanıtlar ve ADAM10 inhibitörleriyle sTim-3 üretiminin bloke edilmesinin terapötik potansiyeli göz önünde bulundurulduğunda, washout immün profili tedavi seçimini yönlendirmede yeni bir pencere açmaktadır. Benzer şekilde, sLAG-3 ve sGalectin-9 düzeylerinin değerlendirilmesi, LAG-3 hedefli tedaviler veya anti-Galectin-9 kombinasyon stratejileri için aday hasta seçiminde yol gösterici olabilir. Bu perspektiflerin klinik pratiğe aktarılması, çok merkezli, alt tiplere göre katmanlandırılmış ve daha geniş örneklemli prospektif çalışmalarla doğrulanmayı gerektirmektedir.

KAYNAKLAR

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660.
2. Rakha EA, Allison KH, Ellis IO, Horii R, Masuda S, Penault-Llorca F. *WHO classification of tumours of the breast.* Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2019.
3. Berry DA, Cronin KA, Plevritis SK, Fryback DG, Clarke L, Zelen M, Mandelblatt JS, Yakovlev AY, Habbema JDF, Feuer EJ. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. *N Engl J Med.* 2005;353(17):1784-1792. doi:10.1056/nejmoa050518.
4. Van Rijk MC, Deurloo EE, Nieweg OE, Gilhuijs KGA, Peterse JL, Rutgers EJT, Kröger R, Kroon BBR. Ultrasonography and fine-needle aspiration cytology can spare breast cancer patients unnecessary sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg Oncol.* 2006;13(1):31-35. doi:10.1245/ASO.2005.01.024.
5. Houssami N, Ciatto S, Turner RM, Cody HS, MacAskill P. Preoperative ultrasound-guided needle biopsy of axillary nodes in invasive breast cancer: meta-analysis of its accuracy and utility in staging the axilla. *Ann Surg.* 2011;254(2):243-251. doi:10.1097/SLA.0b013e31821f1564.
6. Sallout L, Tashkandi M, Moqnas A, AlMajed H, Al-Naeem A, Alwelaie Y. Fine-needle aspiration biopsy of axillary lymph nodes: a reliable diagnostic tool for breast cancer staging. *Cancer Cytopathol.* 2024;132(2):103-108. doi:10.1002/cncy.22770.
7. Amin MB, Edge SB, Greene FL, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, Gershenwald JE, Compton CC, Hess KR, Sullivan DC, Jessup JM, Brierley JD, Gaspar LE, Schilsky RL, Balch CM, Winchester DP, Asare EA, Madera M, Gress DM, Meyer LR, editors. *AJCC cancer staging manual*. 8th ed. New York: Springer; 2017.
8. Spring LM, Fell G, Arfe A, Sharma C, Greenup R, Reynolds KL, Smith BL, Alexander B, Moy B, Isakoff SJ, Parmigiani G, Trippa L, Bardia A. Pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy and impact on breast cancer recurrence and survival: a comprehensive meta-analysis. *Clin Cancer Res.* 2020;26(12):2838-2848. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-3492.
9. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, Bonnefoi H, Cameron D, Gianni L, Valagussa P, Swain SM, Prowell T, Loibl S, Wickerham DL, Bogaerts J, Baselga J, Perou C, Blumenthal G, Blohmer J, Mamounas EP, Bergh J, Semiglazov V, Justice R, Eidtmann H, Paik S, Piccart M, Sridhara R, Fasching PA, Slaets L, Tang S, Gerber B, Geyer CE, Pazdur R, Ditsch N, Rastogi P, Eiermann W, von Minckwitz G. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet.* 2014;384(9938):164-172. doi:10.1016/S0140-6736(13)62422-8.
10. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, Budczies J, Huober J, Klauschen F, Furlanetto J, Schmitt WD, Blohmer JU, Karn T, Pfitzner BM, Kümmel S, Engels K, Schneeweiss A, Hartmann A, Noske A, Fasching PA, Jackisch C, van Mackelenbergh M, Sinn P, Schem C, Hanusch C, Untch M, Loibl S. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *Lancet Oncol.* 2018;19(1):40-50. doi:10.1016/S1470-2045(17)30904-X.
11. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(4):252-264. doi:10.1038/nrc3239.
12. Emens LA. Breast cancer immunotherapy: facts and hopes. *Clin Cancer Res.* 2017;24(3):511-520. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-3001.
13. Fridman WH, Zitvogel L, Sautès-Fridman C, Kroemer G. The immune contexture in cancer prognosis and treatment. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017;14(12):717-734. doi:10.1038/nrclinonc.2017.101.

14. Zhou J, Mahoney KM, Giobbie-Hurder A, Zhao F, Lee S, Liao X, Rodig S, Li J, Wu X, Butterfield LH, Piesche M, Manos MP, Eastman LM, Dranoff G, Freeman GJ, Hodi FS. Soluble PD-L1 as a biomarker in malignant melanoma treated with checkpoint blockade. *Cancer Immunol Res.* 2017;5(6):480-492. doi:10.1158/2326-6066.CIR-16-0329.
15. Chen J, Lin Z, Xu B, Lu T, Zhang X. The efficacy and assessment value of the level of thyroglobulin wash-out after fine-needle aspiration cytodiagnosis in the evaluation of lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma. *World J Surg Oncol.* 2024;22(1):149. doi:10.1186/s12957-024-03430-5.
16. Kargun S, Aydemir M, Yilmaz N, Ozdem S, Sari R. Diagnostic value of thyroglobulin washout in fine-needle aspiration samples for diagnosis and follow-up of differentiated thyroid cancer. *Medicine (Baltimore).* 2023;102(52):e36426. doi:10.1097/MD.0000000000036426.
17. Yu CY, Chu EHL, Lin CH, Chen YC. Diagnostic efficiency of thyroglobulin in lymph node fine-needle aspiration washout: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2025;110(12):3569-3587. doi:10.1210/clinem/dgaf467.
18. Macias H, Hinck L. Mammary gland development. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2012;1(4):533-557. doi:10.1002/wdev.35.
19. Pandya S, Moore RG. Breast development and anatomy. *Clin Obstet Gynecol.* 2011;54(1):91-95. doi:10.1097/GRF.0b013e318207ffe9.
20. Howard BA, Gusterson BA. Human breast development. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2000;5(2):119-137. doi:10.1023/a:1026487120779.
21. Loukas M, Clarke P, Tubbs RS. Accessory breasts: a historical and current perspective. *Am Surg.* 2007;73(5):525-528.
22. Simmons PS. Diagnostic considerations in breast disorders of children and adolescents. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1992;19(1):91-102. doi:10.1016/S0889-8545(21)00503-9.
23. Dewhurst J. Breast disorders in children and adolescents. *Pediatr Clin North Am.* 1981;28(2):287-308. doi:10.1016/S0031-3955(16)33997-9.
24. Cowin P, Wysolmerski J. Molecular mechanisms guiding embryonic mammary gland development. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010;2(6):a003251. doi:10.1101/cshperspect.a003251.
25. Khan YS, Fakoya AO, Sajjad H. Anatomy, thorax: mammary gland. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Erişim: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547666/ (erişim tarihi: 27 Ocak 2026).
26. Rehnke RD, Groening RM, Van Buskirk ER, Clarke JM. Anatomy of the superficial fascia system of the breast: a comprehensive theory of breast fascial anatomy. *Plast Reconstr Surg.* 2018;142(5):1135-1144. doi:10.1097/PRS.0000000000004948.
27. Moore KL, Agur AMR, Dalley AF. *Clinically oriented anatomy.* 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2018.
28. Ramsay DT, Kent JC, Hartmann RA, Hartmann PE. Anatomy of the lactating human breast redefined with ultrasound imaging. *J Anat.* 2005;206(6):525-534. doi:10.1111/j.1469-7580.2005.00417.x.
29. Van Deventer PV, Graewe FR. The blood supply of the breast revisited. *Plast Reconstr Surg.* 2016;137(5):1388-1397. doi:10.1097/PRS.0000000000002048.
30. Henry BM, Graves MJ, Pękala JR, Sanna B, Hsieh WC, Tubbs RS, Walocha JA, Tomaszewski KA. Origin, branching, and communications of the intercostobrachial nerve: a meta-analysis with implications for mastectomy and axillary lymph node dissection in breast cancer. *Cureus.* 2017;9(3):e1101. doi:10.7759/cureus.1101.
31. Fenech M, Burke T, Arnett G, Tanner A, Werder N. Sonographic localisation of lymph nodes suspicious of metastatic breast cancer to surgical axillary levels. *J Med Radiat Sci.* 2024;72(1):119-126. doi:10.1002/jmrs.840.
32. Rassu PC. Langer axillary arch in breast surgery: a narrative review. *Ann Breast Surg.* 2021;5:7. doi:10.21037/abs-20-115.
33. Suami H, Pan WR, Mann GB, Taylor GI. The lymphatic anatomy of the breast and its implications for sentinel lymph node biopsy: a human cadaver study. *Ann Surg Oncol.* 2008;15(3):863-871. doi:10.1245/s10434-007-9709-9.

34. Zhang-Yin J, Mauel E, Talpe S. Update on sentinel lymph node methods and pathology in breast cancer. *Diagnostics (Basel).* 2024;14(3):252. doi:10.3390/diagnostics14030252.
35. Machado P, Liu JB, Needleman L, Lee C, Forsberg F. Anatomy versus physiology: is breast lymphatic drainage to the internal thoracic (internal mammary) lymphatic system clinically relevant? *J Breast Cancer.* 2023;26(3):286-296. doi:10.4048/jbc.2023.26.e16.
36. Uren RF, Howman-Giles R, Chung DKV, Spillane AJ, Noushi F, Gillett D, Gluch L, Mak C, West R, Briody J, Carmalt H. SPECT/CT scans allow precise anatomical location of sentinel lymph nodes in breast cancer and redefine lymphatic drainage from the breast to the axilla. *Breast.* 2012;21(4):480-486. doi:10.1016/j.breast.2011.11.007.
37. Gu H, Wang R, Beeraka NM, Lu P, Zhao X, Li L, Liu Y, Kandula DR, Fan R, Gayathri T, Nikolenko VN, Nagalakshmi A, Basappa B, Liu J. Global burden and trends of breast cancer: GLOBOCAN 2022 estimates of incidence and mortality in 185 countries. *Chin Med J (Engl).* 2026;139(3):404-414. doi:10.1097/CM9.0000000000003921.
38. Zhang Y, Ji Y, Liu S, Li J, Wu J, Jin Q, Liu X, Duan H, Feng Z, Liu Y, Zhang Y, Lyu Z, Song F, Song F, Yang L, Liu H, Huang Y. Global burden of female breast cancer: new estimates in 2022, temporal trend and future projections up to 2050 based on the latest release from GLOBOCAN. *J Natl Cancer Cent.* 2025;5(4):287-298. doi:10.1016/j.jncc.2025.02.002.
39. Freihat O, Sipos D, Kovacs A. Global burden and projections of breast cancer incidence and mortality to 2050: a comprehensive analysis of GLOBOCAN data. *Front Public Health.* 2025;13:1622954. doi:10.3389/fpubh.2025.1622954.
40. Siegel RL, Kratzer TB, Giaquinto AN, Sung H, Jemal A. Cancer statistics, 2025. *CA Cancer J Clin.* 2025;75(1):10-45. doi:10.3322/caac.21871.
41. Saka AH, Giaquinto AN, McCullough LE, Tossas KY, Star J, Jemal A, Siegel RL. Cancer statistics for African American and Black people, 2025. *CA Cancer J Clin.* 2025;75(2):111-140. doi:10.3322/caac.21874.
42. Giaquinto AN, Freedman RA, Newman LA, Jemal A, Siegel RL. Lobular breast cancer statistics, 2025. *Cancer.* 2025;131:e70061. doi:10.1002/cncr.70061.
43. Tas F, Erturk K. Breast cancer patients are diagnosed at younger ages in Turkey: a comparative study. *Ir J Med Sci.* 2022;192(3):1073-1075. doi:10.1007/s11845-022-03136-1.
44. Özmen V, Özmen T, Doğru V. Breast cancer in Turkey: an analysis of 20,000 patients with breast cancer. *Eur J Breast Health.* 2019;15(3):141-146. doi:10.5152/ejbh.2019.4890.
45. Özmen V, editor. *Breast cancer in Turkey: clinical and histopathological characteristics and standard prognostic factors—an analysis of data from the National Breast Cancer Database (UMKVT) of the Turkish Federation of Breast Diseases Societies (TMHDF).* İstanbul: Turkish Federation of Breast Diseases Societies; 2018.
46. Doğan N, Doğan İ, Toprak D. Geographical distribution and trends of women breast cancer mortality in Turkey between 2009-2019. *Ankara Med J.* 2023;23(3):365-377. doi:10.5505/amj.2023.45549.
47. Yekdeş AC, Han Yekdeş D, Çelikkalp Ü, Ekuklu G. Modifiable risk factors for breast cancer mortality in Türkiye from 1990 to 2019: a temporal analysis of Global Burden of Disease data. *Balkan Med J.* 2024;41(4):298-305. doi:10.4274/balkanmedj.galenos.2024.2024-4-91.
48. Admoun C, Mayrovitz HN. The etiology of breast cancer. In: Mayrovitz HN, editor. *Breast cancer: etiology, diagnosis and treatment.* Brisbane (AU): Exon Publications; 2022. p. 21-30. doi:10.36255/exon-publications-breast-cancer-etiology.
49. Yedjou CG, Sims JN, Miele L, Noubissi F, Lowe L, Fonseca DD, Alo RA, Payton M, Tchounwou PB. Health and racial disparity in breast cancer. In: Tchounwou PB, editor. *Advances in experimental medicine and biology.* Vol. 1152. Cham: Springer; 2019. p. 31-49. doi:10.1007/978-3-030-20301-6_3.
50. Rana MS, Rahman MM, Baker J, Houssami N, Yu XQ, Marinovich ML. Association of lifestyle factors with breast cancer incidence: an overview of systematic reviews. *Chin J Cancer Res.* 2025;37(4):575-584. doi:10.21147/j.issn.1000-9604.2025.04.10.
51. Van Den Brandt PA, Spiegelman D, Yaun SS, Adami HO, Beeson L, Folsom AR, Fraser G, Goldbohm RA, Graham S, Kushi L, Marshall JR, Miller AB, Rohan T, Smith-Warner SA, Speizer FE, Willett WC, Wolk A, Hunter DJ. Pooled analysis of prospective cohort studies on

height, weight, and breast cancer risk. *Am J Epidemiol.* 2000;152(6):514-527. doi:10.1093/aje/152.6.514.
52. Anton SC, Lazan A, Grigore M, Ilea C, Scripcariu ȘI, Popa S, Volovăț S, Doroftei B, Nicolaiciuc D, Popovici D, Costăchescu G, Nicolaiciuc OS, Anton E. Current trends in breast cancer genetics, risk factors, and screening strategies. *J Biol Methods.* 2025;12(2):e99010054. doi:10.14440/jbm.2025.0079.
53. Bodewes FTH, van Asselt AA, Dorrius MD, Greuter MJW, de Bock GH. Mammographic breast density and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast.* 2022;66:62-68. doi:10.1016/j.breast.2022.09.007.
54. Burke A, O'Driscoll J, Abubakar M, Bennett KE, Carmody E, Flanagan F, Gierach GL, Mullooly M. A systematic review of determinants of breast cancer risk among women with benign breast disease. *NPJ Breast Cancer.* 2025;11:1-10. doi:10.1038/s41523-024-00703-w.
55. Mastorakos G, Iatrakis G, Zervoudis S, Syropoulou S. Progestins and the risk of breast cancer. *Acta Endocrinol (Buchar).* 2021;17(1):90-100. doi:10.4183/aeb.2021.90.
56. Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group. Sex hormones and breast cancer risk in premenopausal women: collaborative reanalysis of seven prospective studies. *Lancet Oncol.* 2013;14(10):1009-1019. doi:10.1016/s1470-2045(13)70301-2.
57. Voon FL, Sim EUH. Early menarche and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of 74 case–control studies. *Cancer Causes Control.* 2026;37:32. doi:10.1007/s10552-025-02096-y.
58. Luo J, Craver A, Moore K, Stepniak L, King J, Herbert J, Aschebrook-Kilfoy B. Etiology of breast cancer: a perspective from epidemiologic studies. *J Natl Cancer Cent.* 2022;2(4):195-202. doi:10.1016/j.jncc.2022.08.004.
59. Anderson KN, Schwab RB, Martinez ME. Reproductive risk factors and breast cancer subtypes: a review of the literature. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;144(1):1-10. doi:10.1007/s10549-014-2852-7.
60. Obeagu EI, Obeagu GU. Breast cancer: a review of risk factors and diagnosis. *Medicine (Baltimore).* 2024;103(12):e36905. doi:10.1097/md.0000000000036905.
61. Clavel-Chapelon F, Gerber M. Reproductive factors and breast cancer risk: do they differ according to age at diagnosis? *Breast Cancer Res Treat.* 2002;72(2):107-115. doi:10.1023/a:1014891216621.
62. Xiong X, Zheng LW, Ding Y, Chen YF, Cai YW, Wang LP, Huang L, Liu CC, Shao ZM, Yu KD. Breast cancer: pathogenesis and treatments. *Signal Transduct Target Ther.* 2025;10(1):49. doi:10.1038/s41392-024-02108-4.
63. Simon A, Robb K. Breast cancer. In: Ayers S, Baum A, McManus C, Newman S, Wallston K, Weinman J, West R, editors. *Cambridge handbook of psychology, health and medicine.* 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2007. p. 577-580. doi:10.1017/CBO9780511543579.131.
64. Vadakekut ES, Puckett Y. New palpable breast mass. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Erişim: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560757/ (erişim tarihi: 02 Şubat 2026).
65. Henderson JA, Duffee D, Ferguson T. Breast examination techniques. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Erişim: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459179/ (erişim tarihi: 02 Şubat 2026).
66. Seth A, Slama EM. Delayed diagnosis of inflammatory breast cancer presenting as acute mastitis in a patient one month postpartum. *Am Surg.* 2024;90(8):1925-1927. doi:10.1177/00031348241241736.
67. Eisemann N, Waldmann A, Katalinic A. Epidemiology of breast cancer: current figures and trends. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2013;73(2):130-135. doi:10.1055/s-0032-1328075.
68. Rummel S, Hueman MT, Costantino N, Shriver CD, Ellsworth RE. Tumour location within the breast: does tumour site have prognostic ability? *Ecancermedicalscience.* 2015;9:552. doi:10.3332/ecancer.2015.552.
69. Dagar N, Sarin M, Yadav P, Thidwar R. Radiologic imaging and its current importance in breast cancer management. *Front Radiol.* 2026;5:1689635. doi:10.3389/fradi.2025.1689635.

70. Jaglan P, Dass R, Duhan M. Breast cancer detection techniques: issues and challenges. *J Inst Eng India Ser B.* 2019;100(4):379-386. doi:10.1007/s40031-019-00391-2.
71. Gao Y, Moy L, Heller SL. Digital breast tomosynthesis: update on technology, evidence, and clinical practice. *Radiographics.* 2021;41(2):321-337. doi:10.1148/rg.2021200101.
72. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). NCCN clinical practice guidelines in oncology: breast cancer screening and diagnosis. Version 2.2025. Plymouth Meeting (PA): NCCN; 2025. Erişim: https://www.nccn.org (erişim tarihi: 23 Şubat 2026).
73. Cserni G. Histological type and typing of breast carcinomas and the WHO classification changes over time. *Pathologica.* 2020;112(1):25-32. doi:10.32074/1591-951X-1-20.
74. Malhotra GK, Zhao X, Band H, Band V. Histological, molecular and functional subtypes of breast cancers. *Cancer Biol Ther.* 2010;10(10):955-960. doi:10.4161/cbt.10.10.13879.
75. Alloush F, Bahmad HF, Deb A, Ocejo S, Valencia AK, Abulaban A, Krishnamurthy K, Alghamdi S, Poppiti R. Influence of cancerization of lobules in ductal carcinoma in situ of the breast on the pathological outcomes in mastectomy specimens. *Cancers (Basel).* 2025;17(10):1634. doi:10.3390/cancers17101634.
76. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). NCCN clinical practice guidelines in oncology: breast cancer. Version 1.2026. Plymouth Meeting (PA): NCCN; 2026. Erişim: https://www.nccn.org (erişim tarihi: 23 Şubat 2026).
77. Zhang H, Peng Y. Unique molecular alteration of lobular breast cancer: association with pathological classification, tumor biology and behavior, and clinical management. *Cancers (Basel).* 2025;17(3):417. doi:10.3390/cancers17030417.
78. Kuba MG, Brogi E. Update on lobular lesions of the breast. *Histopathology.* 2023;82(1):36-52. doi:10.1111/his.14829.
79. Probert J, Broggio J, Darby SC, Dodwell D, McGale P, Taylor C, Gaitskell K. Histological types of invasive breast cancer in 830,000 women diagnosed in England during 1988–2016. *J Pathol Clin Res.* 2025;11:e70043. doi:10.1002/2056-4538.70043.
80. Muller K, Jorns JM, Tozbikian G. What's new in breast pathology 2022: WHO 5th edition and biomarker updates. *J Pathol Transl Med.* 2022;56(4):170-182. doi:10.4132/jptm.2022.04.25.
81. Moradi G, Ahmadinejad N, Zarei D, Sadighi N. Sonographic correlations with histological grade and biomarker profiles in breast invasive ductal carcinoma. *Cancer Rep (Hoboken).* 2025;8:e70288. doi:10.1002/cnr2.70288.
82. Raghavendra AS, Bassett R, Damodaran S, Barcenas CH, Mouabbi JA, Layman R, Tripathy D. Clinical characteristics and survival outcomes of metastatic invasive lobular and ductal carcinoma. *JAMA Netw Open.* 2025;8(3):e251888. doi:10.1001/jamanetworkopen.2025.1888.
83. Shehata M, Grimm L, Ballantyne N, Lourenco A, Demello LR, Kilgore MR, Rahbar H. Ductal carcinoma in situ: current concepts in biology, imaging, and treatment. *J Breast Imaging.* 2019;1(3):166-180. doi:10.1093/jbi/wbz039.
84. Wen HY, Brogi E. Lobular carcinoma in situ. *Surg Pathol Clin.* 2018;11(1):123-145. doi:10.1016/j.path.2017.09.009.
85. Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M, McKernin SE, Carey LA, Fitzgibbons PL, Hayes DF, Lakhani SR, Chavez-MacGregor M, Perlmutter J, Perou CM, Regan MM, Rimm DL, Symmans WF, Torlakovic EE, Varella L, Viale G, Weisberg TF, McShane LM, Wolff AC. Estrogen and progesterone receptor testing in breast cancer: ASCO/CAP guideline update. *J Clin Oncol.* 2020;38(12):1346-1366. doi:10.1200/jco.19.02309.
86. Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, Harvey BE, Mangu PB, Bartlett JMS, Bilous M, Ellis IO, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, McShane LM, Dowsett M. Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline focused update. *J Clin Oncol.* 2018;36(20):2105-2122. doi:10.1200/jco.2018.77.8738.
87. Strehl JD, Wachter DL, Fasching PA, Beckmann MW, Hartmann A. Invasive breast cancer: recognition of molecular subtypes. *Breast Care (Basel).* 2011;6(4):258-264. doi:10.1159/000331339.

88. Yersal O, Barutca S. Biological subtypes of breast cancer: prognostic and therapeutic implications. *World J Clin Oncol.* 2014;5(3):412-424. doi:10.5306/wjco.v5.i3.412.
89. Prat A, Pineda E, Adamo B, Galván P, Fernández A, Gaba L, Díez M, Viladot M, Arance A, Muñoz M. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast.* 2015;24(Suppl 2):S26-S35. doi:10.1016/j.breast.2015.07.008.
90. Krishnamurti U, Silverman JF. HER2 in breast cancer: a review and update. *Adv Anat Pathol.* 2014;21(2):100-107. doi:10.1097/PAP.0000000000000015.
91. Dietze EC, Sistrunk C, Miranda-Carboni G, O'Regan R, Seewaldt VL. Triple-negative breast cancer in African-American women: disparities versus biology. *Nat Rev Cancer.* 2015;15(4):248-254. doi:10.1038/nrc3896.
92. Sharma P, Klemp JR, Kimler BF, Mahnken JD, Geier LJ, Khan QJ, Elia M, Connor CS, McGinness MK, Mammen JMW, Wagner JL, Ward C, Ranallo L, Knight CJ, Stecklein SR, Jensen RA, Fabian CJ, Godwin AK. Germline BRCA mutation evaluation in a prospective triple-negative breast cancer registry: implications for hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome testing. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;145(3):707-714. doi:10.1007/s10549-014-2980-0.
93. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, Lickley LA, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res.* 2007;13(15):4429-4434. doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-3045.
94. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2013. *Ann Oncol.* 2013;24(9):2206-2223. doi:10.1093/annonc/mdr304.
95. Bustreo S, Osella-Abate S, Cassoni P, Donadio M, Airoldi M, Pedani F, Papotti M, Sapino A, Castellano I. Optimal Ki67 cut-off for luminal breast cancer prognostic evaluation: a large case series study with a long-term follow-up. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;157(2):363-371. doi:10.1007/s10549-016-3817-9.
96. Burstein HJ, Curigliano G, Thürlimann B, Weber WP, Poortmans P, Regan MM, Senn HJ, Winer EP, Gnant M. Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer: the St Gallen International Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021. *Ann Oncol.* 2021;32(10):1216-1235. doi:10.1016/j.annonc.2021.06.023.
97. Azim HA, Partridge AH. Biology of breast cancer in young women. *Breast Cancer Res.* 2014;16(4):427. doi:10.1186/s13058-014-0427-5.
98. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer.* 1989;63(1):181-187. doi:10.1002/1097-0142(19890101)63:1<181::AID-CNCR2820630129>3.0.CO;2-H.
99. Andersson Y, Frisell J, Sylvan M, De Boniface J, Bergkvist L. Breast cancer survival in relation to the metastatic tumor burden in axillary lymph nodes. *J Clin Oncol.* 2010;28(17):2868-2873. doi:10.1200/jco.2009.24.5001.
100. Cardoso F, Paluch-Shimon S, Senkus E, Curigliano G, Aapro MS, André F, Barrios CH, Bergh J, Bhattacharyya GS, Biganzoli L, Boyle F, Cardoso MJ, Carey LA, Cortés J, El Saghir NS, Elzayat M, Eniu A, Fallowfield L, Francis PA, Gelmon K, Gligorov J, Haidinger R, Harbeck N, Hu X, Kaufman B, Kaur R, Kiely BE, Kim SB, Lin NU, Mertz SA, Neciosup S, Offersen BV, Ohno S, Pagani O, Prat A, Penault-Llorca F, Rugo HS, Sledge GW, Thomssen C, Vorobiof DA, Wiseman T, Xu B, Norton L, Costa A, Winer EP. 5th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 5). *Ann Oncol.* 2020;31(12):1623-1649. doi:10.1016/j.annonc.2020.09.010.
101. Li CI, Uribe DJ, Daling JR. Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. *Br J Cancer.* 2005;93(9):1046-1052. doi:10.1038/sj.bjc.6602787.
102. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991;19(5):403-410. doi:10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x.
103. Pinder SE, Ellis IO, Galea M, O'Rourke S, Blamey RW, Elston CW. Pathological prognostic factors in breast cancer. III. Vascular invasion: relationship with recurrence and survival in a

large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1994;24(1):41-47. doi:10.1111/j.1365-2559.1994.tb01269.x.
104. Inwald EC, Klinkhammer-Schalke M, Hofstädter F, Zeman F, Koller M, Gerstenhauer M, Ortmann O. Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;139(2):539-552. doi:10.1007/s10549-013-2560-8.
105. Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MCU, Voduc D, Speers CH, Nielsen TO, Gelmon K. Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *J Clin Oncol.* 2010;28(20):3271-3277. doi:10.1200/jco.2009.25.9820.
106. Li Y, Yang D, Yin X, Zhang X, Huang J, Wu Y, Wang M, Yi Z, Li H, Li H, Ren G. Clinicopathological characteristics and breast cancer-specific survival of patients with single hormone receptor-positive breast cancer. *JAMA Netw Open.* 2020;3(1):e1918160. doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.18160.
107. Alsheikhly AS, Alsheikhly MAS. A comprehensive review of breast cancer and the latest advancement in diagnosis and treatment. In: *Breast cancer: from biology to medicine.* London: IntechOpen; 2025. doi:10.5772/intechopen.1008946.
108. Wang J, Wu SG. Breast cancer: an overview of current therapeutic strategies, challenges, and perspectives. *Breast Cancer (Dove Med Press).* 2023;15:721-730. doi:10.2147/BCTT.S432526.
109. Trayes KP, Cokenakes SEH. Breast cancer treatment. *Am Fam Physician.* 2021;104(2):171-178.
110. Reimer T, Kuehn T, Mueller V, Ditsch N, Fehm T, Albert US, Bartsch R, Bauerfeind I, Bjelic-Radisic V, Blohmer JU, Budach W, Dall P, Fallenberg EM, Fasching PA, Friedrich M, Gerber B, Gluz O, Harbeck N, Hartkopf A, Heil J, Hoerner-Rieber J, Huober J, Janni W, Kreipe HH, Krug D, Kuemmel S, Loibl S, Lueftner D, Lux MP, Maass N, Mundhenke C, Park-Simon TW, Reinisch M, Rhiem K, Rody A, Schmidt M, Schneeweiss A, Schuetz F, Sinn HP, Solbach C, Solomayer EF, Stickeler E, Thomssen C, Untch M, van Mackelenbergh M, Witzel I, Woeckel A, Wuerstlein R, Banys-Paluchowski M, Thill M. AGO Breast Commission recommendations for the surgical therapy of breast cancer: Working Group on Gynecologic Cancers (AGO) update 2025. *Eur J Surg Oncol.* 2025;51:110445. doi:10.1016/j.ejso.2025.110445.
111. Golara A, Kozłowski M, Lubikowski J, Cymbaluk-Płoska A. Types of breast cancer surgery and breast reconstruction. *Cancers (Basel).* 2024;16(18):3212. doi:10.3390/cancers16183212.
112. Corti C, Batra-Sharma H, Kelsten M, Shatsky RA, Garrido-Castro AC, Gradishar WJ. Systemic therapy in breast cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2024;44:e432442. doi:10.1200/edbk_432442.
113. Heidinger M, Weber WP. Axillary surgery for breast cancer in 2024. *Cancers (Basel).* 2024;16(9):1623. doi:10.3390/cancers16091623.
114. Rastogi P, Anderson SJ, Bear HD, Geyer CE, Kahlenberg MS, Robidoux A, Margolese RG, Hoehn JL, Vogel VG, Dakhil SR, Tamkus D, King KM, Pajon ER, Wright MJ, Robert J, Paik S, Mamounas EP, Wolmark N. Preoperative chemotherapy: updates of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocols B-18 and B-27. *J Clin Oncol.* 2008;26(5):778-785. doi:10.1200/jco.2007.15.0235.
115. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, Roman L, Tseng LM, Liu MC, Lluch A, Staroslawska E, de la Haba-Rodriguez J, Im SA, Pedrini JL, Poirier B, Morandi P, Semiglazov V, Srimuninnimit V, Bianchi G, Szado T, Ratnayake J, Ross G, Valagussa P. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(1):25-32. doi:10.1016/s1470-2045(11)70336-9.
116. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100 000 women in 123 randomised trials. *Lancet.* 2012;379(9814):432-444. doi:10.1016/s0140-6736(11)61625-5.

117. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Aromatase inhibitors versus tamoxifen in early breast cancer: patient-level meta-analysis of the randomised trials. *Lancet.* 2015;386(10001):1341-1352. doi:10.1016/s0140-6736(15)61074-1.
118. Davies C, Pan H, Godwin J, Gray R, Arriagada R, Raina V, Abraham M, Medeiros Alencar VH, Badran A, Bonfill X, Bradbury J, Clarke M, Collins R, Davis SR, Delmestri A, Forbes JF, Haddad P, Hou MF, Inbar M, Khaled H, Kielanowska J, Kwan WH, Mathew BS, Mittra I, Müller B, Nicolucci A, Peralta O, Pernas F, Petruzelka L, Pienkowski T, Radhika R, Rajan B, Rubach MT, Tort S, Urrútia G, Valentini M, Wang Y, Peto R. Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial. *Lancet.* 2013;381(9869):805-816. doi:10.1016/s0140-6736(12)61963-1.
119. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, Gianni L, Baselga J, Bell R, Jackisch C, Cameron D, Dowsett M, Barrios CH, Steger G, Huang CS, Andersson M, Inbar M, Lichinitser M, Láng I, Nitz U, Iwata H, Thomssen C, Lohrisch C, Suter TM, Rüschoff J, Sütő T, Greatorex V, Ward C, Straehle C, McFadden E, Dolci MS, Gelber RD. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2005;353(16):1659-1672. doi:10.1056/nejmoa052306.
120. Schmid P, Cortes J, Dent R, Pusztai L, McArthur H, Kümmel S, Bergh J, Denkert C, Park YH, Hui R, Harbeck N, Takahashi M, Untch M, Fasching PA, Cardoso F, Andersen J, Patt D, Danso M, Ferreira M, Mouret-Reynier MA, Im SA, Ahn JH, Gion M, Baron-Hay S, Boileau JF, Ding Y, Tryfonidis K, Aktan G, Karantza V, O'Shaughnessy J. Event-free survival with pembrolizumab in early triple-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2022;386(6):556-567. doi:10.1056/nejmoa2112651.
121. Adrien C, Katia M, Marie-Lucile B, Alice R, Claire B, Roman R. Prevention of lymphocele or seroma after mastectomy and axillary lymphadenectomy for breast cancer: systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2022;12(1):10016. doi:10.1038/s41598-022-13831-9.
122. Adwall L, Fredriksson I, Hultin H, Mani M, Norlin O. Postoperative complications after breast cancer surgery and effect on recurrence and survival: population-based cohort study. *BJS Open.* 2024;8:zrae137. doi:10.1093/bjsopen/zrae137.
123. Attiyah SMN. A mini review on immune system and immunological diseases: properties, classification and evolutionary aspects. *Biosci Biotechnol Res Commun.* 2020;13(4):1647-1654. doi:10.21786/bbrc/13.4/3.
124. Daëron M. The immune system as a system of relations. *Front Immunol.* 2022;13:984678. doi:10.3389/fimmu.2022.984678.
125. Nahrendorf M, Ginhoux F, Swirski FK. Immune system influence on physiology. *Science.* 2025;389(6743):594-599. doi:10.1126/science.adx4380.
126. Strbo N, Yin N, Stojadinovic O. Innate and adaptive immune responses in wound epithelialization. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2014;3(7):492-501. doi:10.1089/wound.2012.0435.
127. Devitt A, Marshall LJ. The innate immune system and the clearance of apoptotic cells. *J Leukoc Biol.* 2011;90(3):447-457. doi:10.1189/jlb.0211095.
128. Strzelec M, Detka J, Mieszczak P, Sobocińska MK, Majka M. Immunomodulation—a general review of the current state-of-the-art and new therapeutic strategies for targeting the immune system. *Front Immunol.* 2023;14:1127704. doi:10.3389/fimmu.2023.1127704.
129. Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(2 Suppl 2):S24-S32. doi:10.1016/j.jaci.2009.07.016.
130. Marshall JS, Upton JEM, Vliagoftis H, Hildebrand KJ, Byrne A, Watson W. Introduction to immunology and immune disorders. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2024;20(1):69. doi:10.1186/s13223-024-00932-5.
131. Li D, Wu M. Pattern recognition receptors in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2021;6(1):291. doi:10.1038/s41392-021-00687-0.
132. Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest.* 2000;80(5):617-654. doi:10.1038/labinvest.3780067.

133. Wang R, Lan C, Benlagha K, Camara NOS, Miller H, Kubo M, Heegaard S, Lee P, Yang L, Forsman H, Li X, Zhai Z, Liu C. The interaction of innate immune and adaptive immune system. *MedComm (Beijing).* 2024;5:e714. doi:10.1002/mco2.714.
134. Zhu X, Lee CW, Xu H, Wang YF, Yung PSH, Jiang Y, Lee OK. Phenotypic alteration of macrophages during osteoarthritis: a systematic review. *Arthritis Res Ther.* 2021;23(1):64. doi:10.1186/s13075-021-02457-3.
135. Fairweather DL, Cihakova D. Alternatively activated macrophages in infection and autoimmunity. *J Autoimmun.* 2009;33(3-4):222-230. doi:10.1016/j.jaut.2009.09.012.
136. Marshall JS, Warrington R, Watson W, Kim HL. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2018;14(Suppl 2):49. doi:10.1186/s13223-018-0278-1.
137. Thio CLP, Shao JS, Luo CH, Chang YJ. Decoding innate lymphoid cells and innate-like lymphocytes in asthma: pathways to mechanisms and therapies. *J Biomed Sci.* 2025;32(1):42. doi:10.1186/s12929-025-01142-w.
138. Mace EM. Human natural killer cells: form, function, and development. *J Allergy Clin Immunol.* 2023;151(2):371-385. doi:10.1016/j.jaci.2022.09.022.
139. Chen S, Zhu H, Jounaidi Y. Comprehensive snapshots of natural killer cells: functions, signaling, molecular mechanisms and clinical utilization. *Signal Transduct Target Ther.* 2024;9(1):302. doi:10.1038/s41392-024-02005-w.
140. Gómez-Manríquez J, Hernández-Bello J, Muñoz-Valle JF, Sifuentes-Franco S, Graciano-Machuca O, Morales-Núñez JJ. B cell development: transcriptional regulation and immunological mechanisms in homeostasis. *Front Immunol.* 2025;16:1593338. doi:10.3389/fimmu.2025.1593338.
141. Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Immunobiology. 5th ed. New York: Garland Science; 2001.
142. Nicholson LB. The immune system. *Essays Biochem.* 2016;60(3):275-301. doi:10.1042/EBC20160017.
143. Stadtmauer EA, Fraietta JA, Davis MM, Cohen AD, Weber KL, Lancaster E, Mangan PA, Kulikovskaya I, Gupta M, Chen F, Tian L, Gonzalez VE, Xu J, Jung IY, Melenhorst JJ, Plesa G, Shea J, Matlawski T, Cervini A, Gaymon AL, Desjardins S, Lamontagne A, Salas-McKee J, Fesnak A, Siegel DL, Levine BL, Jadlowsky JK, Young RM, Chew A, Hwang WT, Hexner EO, Carreno BM, Nobles CL, Bushman FD, Parker KR, Qi Y, Satpathy AT, Chang HY, Zhao Y, Lacey SF, June CH. CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer. *Science.* 2020;367(6481):eaba7365. doi:10.1126/science.aba7365.
144. Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nat Rev Immunol.* 2020;20(11):651-668. doi:10.1038/s41577-020-0306-5.
145. Guo C, Manjili MH, Subjeck JR, Sarkar D, Fisher PB, Wang XY. Therapeutic cancer vaccines: past, present and future. *Adv Cancer Res.* 2013;119:421-475. doi:10.1016/B978-0-12-407190-2.00007-1.
146. Kim R, Emi M, Tanabe K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology.* 2007;121(1):1-14. doi:10.1111/j.1365-2567.2007.02587.x.
147. Gubin MM, Vesely MD. Cancer immunoediting in the era of immuno-oncology. *Clin Cancer Res.* 2022;28(14):2971-2979. doi:10.1158/1078-0432.ccr-21-1804.
148. Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases—elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol.* 2014;27:16-25. doi:10.1016/j.coi.2014.01.004.
149. Wilczyński JR, Nowak M. Cancer immunoediting: elimination, equilibrium, and immune escape in solid tumors. *Exp Suppl.* 2022;113:1-57. doi:10.1007/978-3-030-91311-3_1.
150. Tufail M, Jiang CH, Li N. Immune evasion in cancer: mechanisms and cutting-edge therapeutic approaches. *Signal Transduct Target Ther.* 2025;10(1):227. doi:10.1038/s41392-025-02280-1.

151. Pan D, Li X, Qiao X, Wang Q. Immunosuppressive tumor microenvironment in pancreatic cancer: mechanisms and therapeutic targets. *Front Immunol.* 2025;16:1582305. doi:10.3389/fimmu.2025.1582305.
152. Peterson C, Denlinger N, Yang Y. Recent advances and challenges in cancer immunotherapy. *Cancers (Basel).* 2022;14(16):3972. doi:10.3390/cancers14163972.
153. Kaczmarek M, Poznańska J, Fechner F, Michalska N, Paszkowska S, Napierała A, Mackiewicz A. Cancer vaccine therapeutics: limitations and effectiveness—a literature review. *Cells.* 2023;12(17):2159. doi:10.3390/cells12172159.
154. Magoola M, Niazi SK. Current progress and future perspectives of RNA-based cancer vaccines: a 2025 update. *Cancers (Basel).* 2025;17(11):1882. doi:10.3390/cancers17111882.
155. Liu S, Jiang W, Sheng J, Wang L, Cui M. Adoptive cell therapy for cancer: combination strategies and biomarkers. *Front Immunol.* 2025;16:1603792. doi:10.3389/fimmu.2025.1603792.
156. Sun YP, Ke YL, Li X. Prognostic value of CD8+ tumor-infiltrating T cells in patients with breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncol Lett.* 2023;25(1):13. doi:10.3892/ol.2022.13625.
157. Rafii S, Mukherji D, Komaranchath AS, Khalil C, Iqbal F, Abdelwahab SI, Abyad A, Abuhelwa AY, Gandikota L, Al-Shamsi HO. Advancing CAR T-cell therapy in solid tumors: current landscape and future directions. *Cancers (Basel).* 2025;17(17):2898. doi:10.3390/cancers17172898.
158. Althafar ZM. Engineered immune cell therapies for solid tumors: pharmacological advances, clinical outcomes, and future directions. *Front Pharmacol.* 2025;16:1614325. doi:10.3389/fphar.2025.1614325.
159. Guo J, Zhou C, Zhao H, Li H. Challenges and breakthroughs: current landscape and future prospects of CAR-T cell therapy clinical trials for solid tumors. *Front Oncol.* 2025;15:1652329. doi:10.3389/fonc.2025.1652329.
160. Zhang Z, Wu Y. Research progress on mechanisms of tumor immune microenvironment and gastrointestinal resistance to immunotherapy: mini review. *Front Immunol.* 2025;16:1641518. doi:10.3389/fimmu.2025.1641518.
161. Li F, Gao C, Huang Y, Qiao Y, Xu H, Liu S, Wu H. Unraveling the breast cancer tumor microenvironment: crucial factors influencing natural killer cell function and therapeutic strategies. *Int J Biol Sci.* 2025;21(7):2606-2620. doi:10.7150/ijbs.108803.
162. Gu D, Ao X, Yang Y, Chen Z, Xu X. Soluble immune checkpoints in cancer: production, function and biological significance. *J Immunother Cancer.* 2018;6(1):132. doi:10.1186/s40425-018-0449-0.
163. Chakrabarti R, Kapse B, Mukherjee G. Soluble immune checkpoint molecules: serum markers for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Rep (Hoboken).* 2019;2(3):e1160. doi:10.1002/cnr2.1160.
164. Chen L, Chao Y, Li W, Wu Z, Wang Q. Soluble immune checkpoint molecules in cancer risk, outcomes prediction, and therapeutic applications. *Biomark Res.* 2024;12(1):95. doi:10.1186/s40364-024-00647-0.
165. Huang PW, Chang JWC. Immune checkpoint inhibitors win the 2018 Nobel Prize. *Biomed J.* 2019;42(5):299-306. doi:10.1016/j.bj.2019.09.002.
166. Pennock GK, Chow LQM. The evolving role of immune checkpoint inhibitors in cancer treatment. *Oncologist.* 2015;20(7):812-822. doi:10.1634/theoncologist.2014-0422.
167. Pitts SC, Schlom J, Donahue RN. Soluble immune checkpoints: implications for cancer prognosis and response to immune checkpoint therapy and conventional therapies. *J Exp Clin Cancer Res.* 2024;43(1):155. doi:10.1186/s13046-024-03074-z.
168. Lambrecht BN, Vanderkerken M, Hammad H. The emerging role of ADAM metalloproteinases in immunity. *Nat Rev Immunol.* 2018;18(12):745-758. doi:10.1038/s41577-018-0068-5.
169. Yazdanpanah P, Alavianmehr A, Ghaderi A, Monabati A, Montazer M, Tahmasbi K, Farjadian S. PD-L1 expression in tumor lesions and soluble PD-L1 serum levels in patients with breast cancer: TNBC versus TPBC. *Breast Dis.* 2021;40(1-2):43-50. doi:10.3233/bd-201049.

170. Han B, Dong L, Zhou J, Yang Y, Guo J, Xuan Q, Gao K, Xu Z, Lei W, Wang J, Zhang Q. The clinical implication of soluble PD-L1 (sPD-L1) in patients with breast cancer and its biological function in regulating the function of T lymphocytes. *Cancer Immunol Immunother.* 2021;70(10):2893-2909. doi:10.1007/s00262-021-02898-4.
171. Mocan T, Ilies M, Nenu I, Craciun R, Horhat A, Susa R, Minciuna I, Rusu I, Mocan LP, Seicean A, Iuga CA, Al Hajjar N, Sparchez M, Leucuta DC, Sparchez Z. Serum levels of soluble programmed death-ligand 1 (sPD-L1): a possible biomarker in predicting post-treatment outcomes in patients with early hepatocellular carcinoma. *Int Immunopharmacol.* 2021;94:107467. doi:10.1016/j.intimp.2021.107467.
172. Széles Á, Fazekas T, Váncsa S, Váradi M, Kovács PT, Krafft U, Grünwald V, Hadaschik B, Csizmarik A, Hegyi P, Váradi A, Nyirády P, Szarvas T. Pre-treatment soluble PD-L1 as a predictor of overall survival for immune checkpoint inhibitor therapy: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Immunol Immunother.* 2022;72(5):1061-1073. doi:10.1007/s00262-022-03328-9.
173. Oya K, Nakamura Y, Shen LTW, Ishizuki S, Matsusaka S, Fujisawa Y. Soluble PD-L1 predicts tumor response and immune-related adverse events in patients with advanced melanoma treated with anti-PD-1 antibodies. *J Dermatol.* 2024;51(6):807-815. doi:10.1111/1346-8138.17183.
174. Sorensen SF, Demuth C, Weber B, Sorensen BS, Meldgaard P. Increase in soluble PD-1 is associated with prolonged survival in patients with advanced EGFR-mutated non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *Lung Cancer.* 2016;100:77-84. doi:10.1016/j.lungcan.2016.08.001.
175. Kruger S, Legenstein ML, Rösgen V, Haas M, Modest DP, Westphalen CB, Ormanns S, Kirchner T, Heinemann V, Holdenrieder S, Boeck S. Serum levels of soluble programmed death protein 1 (sPD-1) and soluble programmed death ligand 1 (sPD-L1) in advanced pancreatic cancer. *Oncoimmunology.* 2017;6(5):e1310358. doi:10.1080/2162402X.2017.1310358.
176. Lindqvist CA, Christiansson LH, Simonsson B, Enblad G, Olsson-Strömberg U, Loskog ASI. T regulatory cells control T-cell proliferation partly by the release of soluble CD25 in patients with B-cell malignancies. *Immunology.* 2010;131(3):371-376. doi:10.1111/j.1365-2567.2010.03308.x.
177. Gonda K, Horita S, Maejima Y, Takenoshita S, Shimomura K. Soluble interleukin-2 receptor as a predictive and prognostic marker for patients with familial breast cancer. *Sci Prog.* 2021;104(3):368504211039590. doi:10.1177/00368504211039590.
178. Cheuk ATC, Mufti GJ, Guinn BA. Role of 4-1BB:4-1BB ligand in cancer immunotherapy. *Cancer Gene Ther.* 2004;11(3):215-226. doi:10.1038/sj.cgt.7700670.
179. Kinoshita R, Ishibashi M, Handa H, Sasaki M, Imai Y, Tanaka N, Ito S, Sunakawa-Kii M, Kaito Y, Asayama T, Komatsu N, Tanaka J, Odajima T, Sugimori H, Yamaguchi H, Inokuchi K, Tamura H. The levels of serum soluble CD86 are correlated with the expression of CD86 variant 3 gene and are prognostic indicators in patients with myeloma. *Exp Hematol.* 2023;121:38-47.e2. doi:10.1016/j.exphem.2023.01.006.
180. Ishibashi M, Kinoshita R, Inokuchi K, Handa H, Sasaki M, Komatsu N, Imai Y, Hiroike N, Tanaka J, Tanosaki S, Ito S, Sunakawa M, Asayama T, Kuribayashi-Hamada Y, Morita R, Tamura H. Serum soluble CD86, still a prognostic factor in the novel agent era in multiple myeloma patients, is produced by myeloma cells with high CD86 variant 3 expression. *Blood.* 2019;134(Suppl 1):4361. doi:10.1182/blood-2019-124635.
181. Magistrelli G, Jeannin P, Herbault N, Amé A, Benoit De Coignac A, François JF, Gauchat JF, Bonnefoy JY, Delneste Y. A soluble form of CTLA-4 generated by alternative splicing is expressed by nonstimulated human T cells. *Eur J Immunol.* 1999;29(11):3596-3602. doi:10.1002/(SICI)1521-4141(199911)29:11<3596::AID-IMMU3596>3.0.CO;2-Y.
182. Kim GR, Choi JM. Current understanding of cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) signaling in T-cell biology and disease therapy. *Mol Cells.* 2022;45(8):513-521. doi:10.14348/molcells.2022.2056.

183. Erfani N, Razmkhah M, Ghaderi A. Circulating soluble CTLA-4 (sCTLA-4) is elevated in patients with breast cancer. *Cancer Invest.* 2010;28(8):828-832. doi:10.3109/07357901003630934.
184. Su EW, Lin JY, Kane LP. TIM-1 and TIM-3 proteins in immune regulation. *Cytokine.* 2008;44(1):9-13. doi:10.1016/j.cyto.2008.06.013.
185. Möller-Hackbarth K, Dewitz C, Schweigert O, Trad A, Garbers C, Rose-John S, Scheller J. A disintegrin and metalloprotease (ADAM) 10 and ADAM17 are major sheddases of T-cell immunoglobulin and mucin domain 3 (Tim-3). *J Biol Chem.* 2013;288(48):34529-34544. doi:10.1074/jbc.M113.488478.
186. Clayton KL, Douglas-Vail MB, Rahman AKMN, Medcalf KE, Xie IY, Chew GM, Tandon R, Lanteri MC, Norris PJ, Deeks SG, Ndhlovu LC, Ostrowski MA. Soluble T-cell immunoglobulin mucin domain 3 is shed from CD8+ T cells by the sheddase ADAM10, is increased in plasma during untreated HIV infection, and correlates with HIV disease progression. *J Virol.* 2015;89(7):3723-3736. doi:10.1128/jvi.00006-15.
187. Qin S, Dong B, Yi M, Chu Q, Wu K. Prognostic values of TIM-3 expression in patients with solid tumors: a meta-analysis and database evaluation. *Front Oncol.* 2020;10:1288. doi:10.3389/fonc.2020.01288.
188. Workman CJ, Vignali DAA. The CD4-related molecule, LAG-3 (CD223), regulates the expansion of activated T cells. *Eur J Immunol.* 2003;33(4):970-979. doi:10.1002/eji.200323382.
189. Roy S, Proffer ML, Syed F, Smithmyer ME, Sharma AD, Twoy A, Soo-Hoo E, Rana J, Spaerth JM, Meyer E, Jensen KP, Speake C, Hagopian W, Piganelli JD. Soluble LAG-3 identifies a dynamic early T-cell activation window in self-reactivity, type 1 diabetes, and broader immune responses. *bioRxiv.* 2026:2026.02.10.705171. doi:10.64898/2026.02.10.705171.
190. Zhu C, Anderson AC, Schubart A, Xiong H, Imitola J, Khoury SJ, Zheng XX, Strom TB, Kuchroo VK. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat Immunol.* 2005;6(12):1245-1252. doi:10.1038/ni1271.
191. John S, Mishra R. Galectin-9: from cell biology to complex disease dynamics. *J Biosci.* 2016;41(3):507-534. doi:10.1007/s12038-016-9616-y.
192. Digomann D, Reiche C, Stammberger A, Willms T, Rudek LS, Grabenkamp A, Klimova A, Kölbel J, Merboth F, Natusch-Bufe L, Beer C, Golle T, Cronjaeger S, Hoffmann F, Kranich L, Schmitz M, Bruns CJ, Schlößer HA, Weitz J, Seifert L, Seifert AM. Soluble TIM-3 and galectin-9 predict survival in gastric and gastroesophageal junction cancer. *iScience.* 2025;28:113871. doi:10.1016/j.isci.2025.113871.
193. Gorelik L, Flavell RA. Transforming growth factor-β in T-cell biology. *Nat Rev Immunol.* 2002;2(1):46-53. doi:10.1038/nri704.
194. Massagué J, Sheppard D. TGF-β signaling in health and disease. *Cell.* 2023;186(19):4007-4037. doi:10.1016/j.cell.2023.07.036.
195. Mu D, Cambier S, Fjellbirkeland L, Baron JL, Munger JS, Kawakatsu H, Sheppard D, Broaddus VC, Nishimura SL. The integrin αvβ8 mediates epithelial homeostasis through MT1-MMP–dependent activation of TGF-β1. *J Cell Biol.* 2002;157(3):493-507. doi:10.1083/jcb.200109100.
196. Beck C, Schreiber H, Rowley DA. Role of TGF-β in immune evasion of cancer. *Microsc Res Tech.* 2001;52(4):387-395. doi:10.1002/1097-0029(20010215)52:4<387::AID-JEMT1023>3.0.CO;2-W.
197. Moura T, Laranjeira P, Caramelo O, Gil AM, Paiva A. Breast cancer and tumor microenvironment: the crucial role of immune cells. *Curr Oncol.* 2025;32(3):143. doi:10.3390/curroncol32030143.
198. Fjørtoft MO, Garred Ø, Lingjærde OC, Lande KT, Ottestad L, Bergheim IR, Naume B, Sahlberg KK, Borgen E, Børresen-Dale AL, Engebråten O, Fritzman B, Geisler J, Geitvik GA, Hofvind S, Kristensen VN, Kåresen R, Langerød A, Mælandsmo GM, Russnes HG, Sauer T, Skjerven HK, Schlichting E, Sørlie T, Lømo J, LaMont C, Myklebust JH, Russnes H, Huse K, Rye IH. Single-cell analysis reveals tumour size as a key driver of immune cell profile

alterations in primary breast tumours and corresponding lymph nodes. *BJC Rep.* 2025;3(1):35. doi:10.1038/s44276-025-00152-3.

199. Yang R, Sun L, Li CF, Wang YH, Yao J, Li H, Yan M, Chang WC, Hsu JM, Cha JH, Hsu JL, Chou CW, Sun X, Deng Y, Chou CK, Yu D, Hung MC. Galectin-9 interacts with PD-1 and TIM-3 to regulate T-cell death and is a target for cancer immunotherapy. *Nat Commun.* 2021;12(1):832. doi:10.1038/s41467-021-21099-2.
200. Yasinska IM, Sakhnevych SS, Pavlova L, Selnø ATH, Abeleira AMT, Benlaouer O, Silva IG, Mosimann M, Varani L, Bardelli M, Hussain R, Siligardi G, Cholewa D, Berger SM, Gibbs BF, Ushkaryov YA, Fasler-Kan E, Klenova E, Sumbayev VV. The Tim-3–galectin-9 pathway and its regulatory mechanisms in human breast cancer. *Front Immunol.* 2019;10:1594. doi:10.3389/fimmu.2019.01594.
201. Yoshikawa K, Ishida M, Yanai H, Tsuta K, Sekimoto M, Sugie T. Prognostic significance of the expression levels of T-cell immunoglobulin mucin-3 and its ligand galectin-9 for relapse-free survival in triple-negative breast cancer. *Oncol Lett.* 2022;23(4):141. doi:10.3892/ol.2022.13318.
202. Li Y, Cui X, Yang YJ, Chen QQ, Zhong L, Zhang T, Cai RL, Miao JY, Yu SC, Zhang F. Serum sPD-1 and sPD-L1 as biomarkers for evaluating the efficacy of neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer patients. *Clin Breast Cancer.* 2019;19(5):326-332.e1. doi:10.1016/j.clbc.2019.03.008.
203. Tawbi HA, Schadendorf D, Lipson EJ, Ascierto PA, Matamala L, Castillo Gutiérrez E, Rutkowski P, Gogas HJ, Lao CD, de Menezes JJ, Dalle S, Arance A, Grob JJ, Srivastava S, Abaskharoun M, Hamilton M, Keidel S, Simonsen KL, Sobiesk AM, Li B, Hodi FS, Long GV. Relatlimab and nivolumab versus nivolumab in untreated advanced melanoma. *N Engl J Med.* 2022;386(1):24-34. doi:10.1056/nejmoa2109970.
204. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, Worthen GS, Albelda SM. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-β: "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell.* 2009;16(3):183-194. doi:10.1016/j.ccr.2009.06.017.
205. Crane CA, Han SJ, Barry JJ, Ahn BJ, Lanier LL, Parsa AT. TGF-β downregulates the activating receptor NKG2D on NK cells and CD8+ T cells in glioma patients. *Neuro Oncol.* 2010;12(1):7-13. doi:10.1093/neuonc/nop009.
206. Papaioannou E, Sakellakis M, Melachrinou M, Tzoracoleftherakis E, Kalofonos H, Kourea E. A standardized evaluation method for FOXP3+ Tregs and CD8+ T-cells in breast carcinoma: association with breast carcinoma subtypes, stage and prognosis. *Anticancer Res.* 2019;39(3):1217-1232. doi:10.21873/anticanres.13232.
207. Liscia DS, Detoma P, Zanchetta M, Anrò P, Molinar D, Favettini E, Paduos A. The use of CYFRA 21-1 for the detection of breast cancer axillary lymph node metastases in needle washouts of fine-needle aspiration biopsies. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2017;25(3):190-195. doi:10.1097/pai.0000000000000287.
208. Xue J, Ma P, Guo C, Zhang Z. Tumor-proximal biomarkers from core needle biopsy washout fluid improve preoperative prediction of axillary nodal metastasis in breast cancer: a combined ultrasound-based nomogram. *Research Square.* 2026. doi:10.21203/rs.3.rs-8703235/v1.
209. Zheng H, Zhao R, Wang W, Liu X, Wang X, Wen C, Ren Y. The accuracy of ultrasound-guided fine-needle aspiration and core needle biopsy in diagnosing axillary lymph nodes in women with breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Front Oncol.* 2023;13:1166035. doi:10.3389/fonc.2023.1166035.
210. Dragu D, Necula LG, Bleotu C, Diaconu CC, Chivu-Economescu M. Soluble PD-L1: from immune evasion to cancer therapy. *Life (Basel).* 2025;15(4):626. doi:10.3390/life15040626.
211. Frigola X, Inman BA, Lohse CM, Krco CJ, Cheville JC, Thompson RH, Leibovich B, Blute ML, Dong H, Kwon ED. Identification of a soluble form of B7-H1 that retains immunosuppressive activity and is associated with aggressive renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2011;17(7):1915-1923. doi:10.1158/1078-0432.ccr-10-0250.
212. Dixon-Douglas J, Virassamy B, Clarke K, Hun M, Luen SJ, Savas P, van Geelen CT, David S, Francis PA, Salgado R, Michiels S, Loi S. Sustained lymphocyte decreases after treatment for early breast cancer. *NPJ Breast Cancer.* 2024;10(1):94. doi:10.1038/s41523-024-00698-4.

213. Wang MD, Duan FF, Hua X, Cao L, Xia W, Chen JY. A novel albumin-related nutrition biomarker predicts breast cancer prognosis in neoadjuvant chemotherapy: a two-center cohort study. *Nutrients.* 2023;15(19):4292. doi:10.3390/nu15194292.
214. Rapoport BL, Steel HC, Benn CA, Nayler S, Smit T, Heyman L, Theron AJ, Hlatshwayo N, Kwofie LLI, Meyer PWA, Anderson R. Dysregulation of systemic soluble immune checkpoints in early breast cancer is attenuated following administration of neoadjuvant chemotherapy and is associated with recovery of CD27, CD28, CD40, CD80, ICOS and GITR and substantially increased levels of co-stimulatory molecules. *Front Oncol.* 2023;13:1097309. doi:10.3389/fonc.2023.1097309.
215. Urueña C, Lasso P, Bernal-Estevez D, Rubio D, Salazar AJ, Olaya M, Barreto A, Tawil M, Torregrosa L, Fiorentino S. The breast cancer immune microenvironment is modified by neoadjuvant chemotherapy. *Sci Rep.* 2022;12(1):7981. doi:10.1038/s41598-022-12108-5.
216. Dan J, Tan J, Huang J, Yuan Z, Guo Y. Early changes of platelet-lymphocyte ratio correlate with neoadjuvant chemotherapy response and predict pathological complete response in breast cancer. *Mol Clin Oncol.* 2023;19(3):54. doi:10.3892/mco.2023.2686.
217. Lusho S, Durando X, Mouret-Reynier MA, Kossai M, Lacrampe N, Molnar I, Penault-Llorca F, Radosevic-Robin N, Abrial C. Platelet-to-lymphocyte ratio is associated with favorable response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer: a study on 120 patients. *Front Oncol.* 2021;11:678315. doi:10.3389/fonc.2021.678315.
218. Zhu X, Lang J. Soluble PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer. *Oncotarget.* 2017;8(57):97671-97682. doi:10.18632/oncotarget.18311.
219. Oh SY, Kim S, Keam B, Kim TM, Kim DW, Heo DS. Soluble PD-L1 is a predictive and prognostic biomarker in advanced cancer patients who receive immune checkpoint blockade treatment. *Sci Rep.* 2021;11(1):19712. doi:10.1038/s41598-021-99311-y.
220. Chen C, Zhao F, Peng J, Zhao D, Xu L, Li H, Ma S, Peng X, Sheng X, Sun Y, Wang T, Dong H, Ding Y, Wu Z, Liang X, Gao L, Wang H, Ma C, Li C. Soluble Tim-3 serves as a tumor prognostic marker and therapeutic target for CD8+ T-cell exhaustion and anti-PD-1 resistance. *Cell Rep Med.* 2024;5(3):101686. doi:10.1016/j.xcrm.2024.101686.
221. Bailly C, Thuru X, Goossens L, Goossens JF. Soluble TIM-3 as a biomarker of progression and therapeutic response in cancers and other human diseases. *Biochem Pharmacol.* 2023;209:115445. doi:10.1016/j.bcp.2023.115445
222. Li N, Jilisihan B, Wang W, Tang Y, Keyoumu S. Soluble LAG-3 acts as a potential prognostic marker of gastric cancer and its positive correlation with CD8+ T-cell frequency and secretion of IL-12 and IFN-γ in peripheral blood. *Cancer Biomark.* 2018;23(3):341-351. doi:10.3233/cbm-181278.
223. Triebel F, Hacene K, Pichon MF. A soluble lymphocyte activation gene-3 (sLAG-3) protein as a prognostic factor in human breast cancer expressing estrogen or progesterone receptors. *Cancer Lett.* 2006;235(1):147-153. doi:10.1016/j.canlet.2005.04.015.
224. Martínez-Pérez A, Granda-Díaz R, Aguilar-García C, Sordo-Bahamonde C, Gonzalez S. Deciphering LAG-3: unveiling molecular mechanisms and clinical advancements. *Biomark Res.* 2024;12(1):126. doi:10.1186/s40364-024-00671-0.
225. Zhang M, Liu C, Li Y, Li H, Zhang W, Liu J, Wang L, Sun C. Galectin-9 in cancer therapy: from immune checkpoint ligand to promising therapeutic target. *Front Cell Dev Biol.* 2023;11:1332205. doi:10.3389/fcell.2023.1332205.
226. Funkhouser A, Shuster H, Martin JC, Edenfield WJ, Blenda AV. Pattern analysis of serum galectins-1, -3, and -9 in breast cancer. *Cancers (Basel).* 2023;15(15):3809. doi:10.3390/cancers15153809.
227. Park EJ, Lee CW. Soluble receptors in cancer: mechanisms, clinical significance, and therapeutic strategies. *Exp Mol Med.* 2024;56(1):100-109. doi:10.1038/s12276-023-01150-6.