T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

HAYDARPAŞA NUMUNE SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ

MEME KANSERİNDE PERİTÜMORAL STROMADA KANSER İLİŞKİLİ FİBROBLAST YOĞUNLUĞUNUN KLİNİKOPATOLOJİK VERİLERLE İLİŞKİSİ

Dr. Doğukan AKKUŞ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2025

T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

HAYDARPAŞA NUMUNE SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ

MEME KANSERİNDE PERİTÜMORAL STROMADA KANSER İLİŞKİLİ FİBROBLAST YOĞUNLUĞUNUN KLİNİKOPATOLOJİK VERİLERLE İLİŞKİSİ

Dr. Doğukan AKKUŞ

Prof. Dr. Meryem Günay Gürleyik

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2025

TEŞEKKÜR

Tüm uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde, gerekli imkanları sağlayan, bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren, tüm yardım ve emekleri için tez danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Günay GÜRLEYİK'e, engin bilgi, sabır ve tecrübeleri ile bize yol gösteren değerli hocam Op. Dr. Mehmet TALU'ya başta olmak üzere bilgi ve tecrübelerini bizlere aktaran değerli hocalarım Prof. Dr. Erkan ÖZKAN, Op. Dr. Metin TİLKİ, , Doç. Dr. Ali SÜRMELİOĞLU, Doç. Dr. Cebrail AKYÜZ, Op. Dr. Gülten ÇİÇEK OKUYAN, Doç. Dr. Oğuzhan SUNAMAK, Doç. Dr. Hakan ÖZDEMİR, Doç. Dr. Zehra ÜNAL ÖZDEMİR, Doç. Dr. Mehmet Kamil YILDIZ, Op. Dr. Doğan ERDOĞAN, , Op. Dr. Evren BESLER, Op. Dr. Süleyman TOKER, Op. Dr. Ferdi Cambaztepe, Op. Dr. Ayşegül AKTAŞ, Op. Dr. Aytaç SELMAN, Op. Dr. Gül KÖKSAL, Op. Dr. Damla BEYAZADAM'a ayrıca asistanlık eğitimimde bir dönem birlikte çalıştığım değerli hocalarım Doç. Dr. Mehmet Ali UZUN, Prof. Dr. Ali AKTEKİN, Prof. Dr. Aysun ŞİMŞEK, Doç. Dr. Sevcan ALKAN KAYAOĞLU, Op. Dr. İsmail Ege SUBAŞI, Op. Dr. Emre TEKE'ye tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Fügen VARDAR AKER ve Doç. Dr. Sibel AYDIN AKSU, Cavit Kerem KAYHAN ve Dr. Yaşar Kaan AKGÖK'e,

Beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum desteklerini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma, abilerime ve ablalarıma,

Servis ve ameliyathanelerde beraber çalıştığımız tüm hemşire, sekreter ve personellere,

Varlıklarıyla bana her zaman güç veren, sevgisini ve desteğini her daim hissettiğim çok değerli aileme ve arkadaşlarıma

İlk tanıştığımız günden beridir beni hep destekleyen, her başarımdaki en büyük pay sahibi sevgili eşime,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Doğukan AKKUŞ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
ÖZET iii
ABSTRACT v
KISALTMALAR vii
TABLOLAR ix
ŞEKİLLER x
1.GİRİŞ VE AMAÇ 11
2.1 MEME KANSERİ 14
2.1.1 Epidemiyoloji 14
2.1.2 Risk Faktörleri 15
2.1.3 Tanı ve Tarama Yöntemleri 15
2.1.4 Moleküler Sınıflandırma 16
2.1.5 Evreleme 17
2.1.6 Tedavi 18
2.1.6.1 Erken Evre Meme Kanserinde Cerrahi: 19
2.1.6.2 Erken Evre Meme Kanserinde Sistemik Adjuvan Tedavi: 20
2.1.6.3 Lokal İleri Evre Meme Kanseri: 20
2.1.6.4 Radyoterapi: 21
2.2 TÜMÖR MİKROÇEVRESİ 21
2.2.1 Tümör Mikroçevresinin Tanımlanması 21
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER 24
4.BULGULAR 28
5.TARTIŞMA 39
6. SONUÇLAR 45
7. KAYNAKLAR 45
8. ÖZGEÇMİŞ 54
EKLER 55
Ek-1:Etik Kurul Onay Formu 55

ÖZET

Amaç: Bu çalışma, immünohistokimyasal (İHK) boyama ile tanımlanan kanser ilişkili fibroblast (CAF) alt grupları ile farklı meme kanseri alt tiplerine sahip hastalardaki klinik sonuçlar arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçlamaktadır.

Gereç-Yöntem: Bu prospektif çalışmaya, Eylül 2021 ile Ocak 2024 arasında tedavi edilen 69 meme kanseri hastası dahil edildi. Neoadjuvan kemoterapi (NAK) alan veya primer cerrahi uygulanan hastalar çalışmaya alınırken, Luminal A moleküler alt tipine sahip hastalar çalışmaya dahil edilmedi. NAK öncesinde ultrason rehberliğinde veya perimer cerrahi ile tedavi edilen hastalarda cerrahi sırasında kalın iğne biyopsileri alındı. Doku örnekleri fibroblast aktivasyon proteini-alfa (FAP-α), alfa smooth muscle actin (α-SMA) ve platelet-derived growth factor receptor-beta (PDGFR-β) için IHK kullanılarak analiz edildi. Boyama yoğunluğu ve dağılımı için H-skoru hesaplamasında yapay zeka tabanlı dijital patoloji algoritmaları kullanıldı. Yaş, tümör boyutu, nodal tutulum ve NAK yanıtı (Residuel Cancer Burden[RCB] skorları ile ölçüldü) gibi klinik veriler toplandı. CAF belirteçleri ile hasta sonuçları arasındaki ilişkiler SPSS kullanılarak analiz edildi.

Bulgular: Yaş ortalaması 50,68 ± 13,60 yıl idi. Meme kanseri alt tipleri Luminal B (%29,0), Luminal B HER2+ (%24,6), HER2+ (%15,9) ve Üçlü Negatif (%30,5) olarak dağıldı. Tümör merkezi CAF'lar CAF-1 (%36,2), CAF-2 (%18,9), CAF-3 (%24,6) ve CAF-4 (%20,3) olarak sınıflandırılırken, tümör çevresi CAF'lar ağırlıklı olarak CAF-2 (%47,9) ve CAF-4 (%39,1) olarak tespit edildi. CAF alt grupları ile klinik özellikler, tedavi yanıtı veya sonuçlar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). FAP-α ekspresyonu, tümör merkezi ($r=0,650$, ICC=0,604) ve tümör çevresi bölgeler ($r=0,745$, ICC=0,817, $p<0,01$) için yapay zeka tabanlı metriklerle güçlü bir korelasyon gösterdi.

Sonuç: CAF alt grupları meme kanserinin tümör mikroçevresinde heterojenlik sergilemektedir. Klinik sonuçlarla anlamlı bir ilişki göstermemelerine rağmen, FAP-α ekspresyonu ile yapay zeka tabanlı metrikler arasındaki güçlü korelasyon, dijital patolojinin CAF karakterizasyonunda potansiyelini vurgulamaktadır. Bu bulgular, tümör ilerlemesi ve

tedavi direncinde CAF'ların rollerinin daha fazla araştırılmasını ve yenilikçi terapötik stratejilere rehberlik edilmesini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Kanser ilişkili fibroblast, Tümör Mikroçevresi, Yapay Zeka

ABSTRACT

Aim: This study investigates the relationship between CAF subgroups identified through immunohistochemical (IHC) staining and clinical outcomes in patients with different subtypes of breast cancer.

Materials and Methods: This prospective study included 69 breast cancer patients treated between September 2021 and January 2024. Patients receiving neoadjuvant chemotherapy (NAC) or undergoing primary surgery were enrolled, excluding those with Luminal A molecular subtypes. Core needle biopsies were collected under ultrasound guidance before NAC initiation or intraoperatively for primary surgery patients. Tissue samples were analyzed using IHC for fibroblast activation protein-alpha (FAP-α), alfa-smooth muslce actin (α-SMA) and platelet-derived growth factor receptor-beta (PDGFR-β). Artificial Intelligince based digital pathology algorithms were employed for H-score calculation of staining intensity and density. Clinical data, including age, tumor size, nodal involvement, and response to NAC (measured via Residual Cancer Burden [RCB] scores), were recorded. Statistical analyses were conducted using SPSS to assess associations between CAF markers and patient outcomes.

Results: The cohort's mean age was 50.68 ± 13.60 years. Subtypes included Luminal B (29.0%), Luminal B HER2+ (24.6%), HER2+ (15.9%), and Triple Negative (30.5%). Tumor central CAFs were classified into CAF-1 (36.2%), CAF-2 (18.9%), CAF-3 (24.6%), and CAF-4 (20.3%), while peripheral CAFs were mainly CAF-2 (47.9%) and CAF-4 (39.1%). No significant differences in clinical characteristics, treatment response, or outcomes were observed among CAF subgroups ($p>0.05$). FAP-α expression correlated strongly with AI-derived metrics for tumor central ($r=0.650$, ICC=0.604) and peripheral regions ($r=0.745$, ICC=0.817, $p<0.01$).

Conclusion: CAF subgroups exhibit heterogeneity within the tumor microenvironment of breast cancer. Although they showed no significant associations with clinical outcomes, strong correlations between FAP-α expression and AI metrics highlight

the potential for digital pathology in CAF characterization. These findings support further research into CAFs' roles in tumor progression and therapy resistance to guide innovative therapeutic strategies.

Keywords: Cancer-Associated Fibroblast, Tumor Microenvironment, Artificial Intelligence

KISALTMALAR

α-SMA	:	Alfa Smooth Muscle Actin
AI	:	Yapay Zeka
AJCC	:	American Joint Committee on Cancer
BM	:	Bazal Membran
CAF	:	Kanser İlişkili Fibroblast
CAV-1	:	Caveolin-1
DCIS	:	Duktal Karsinoma in Situ
ECM	:	Ekstrasellüler matriks
ER	:	Östrojen Reseptör
FAP-α	:	Fibroblast Activating Protein alfa
FISH	:	Fluorescence in situ Hybridisation
FSP-1	:	Fibroblast Spesific Protein-1
H&E	:	Hematoksilen Eozin
HER 2	:	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
HRT	:	Hormon Replasman Terapisi
ICC	:	Intraclass Correlation Coefficient
IGF-2	:	Insulin Like Growth Factor-2
IL-6	:	İnterlökin-6
İHK	:	İmmünhistokimya
Ki67	:	Hücre Proliferasyon Düzenleyicisi
LCIS	:	Lobuler Karsinoma in Situ
LVI	:	Lenfovasküler invazyon
MKBH	:	Miyeloid Kaynaklı Baskılayıcı Hücreler
MKC	:	Meme Koruyucu Cerrahi
MMP	:	Matrix Metalloproteinaz
MRG	:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NAK	:	Neoadjuvan Kemoterapi
NCCN	:	National Comprehensive Cancer Network
PARP	:	Poly ADP Ribose Polymerase

PCR : Patolojik Tam Yanıt
PDGFRβ : Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktör Reseptörü Beta
PET : Pozitron Emisyon Tomografi
PNI : Perinöral İnvazyon
PR : Progesteron Reseptör
RCB : Residual Cancer Burden
RT : Radyoterapi
SDF-1 : Stromal Cell Derived Factor-1
SEER : Surveillance Epidemiology and End Results
SLNB : Sentinel Lenf Nodu Biyopsisi
TAM : Tümör İlişkili Makrofaj
TAN : Tümör İlişkili Nötrofil
TGF-β : Transforming Growth Factor beta
TIL : Tümör İnfiltre Lenfosit
TME : Tümör mikro çevresi
TN : Triple Negatif
TNM : Tümör Nod Metastaz
VKİ : Vücut Kitle İndeksi

TABLOLAR

Tablo 1: Meme kanseri ile ilişkili risk ve koruyucu faktörler 11
Tablo 2: Meme kanserinin moleküler alt tiplerinin sınıflandırılması ve tedavileri. 17
Tablo 3: AJCC Kanser Evreleme Kılavuzu, Meme Kanseri Evreleme Sistemi 18
Tablo 4: Metastatik olmayan meme kanseri tedavileri 21
Tablo 5: Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı 28
Tablo 6: H Skoru ve CAF Düzeylerinin Dağılımı 30
Tablo 7: Tümör Santralinde CAF Gruplarına Göre Değerlendirmeler 33
Tablo 8: Tümör Periferinde CAF Gruplarına Göre Değerlendirmeler 35
Tablo 9: Patolog ve Yapay Zeka Tarafından Hesaplanan H-skoru İlişkisi 36
Tablo 10: Patolog ve Yapay Zeka Tarafından Hesaplanan H-skorlarının Uyumu 38
Tablo 11: ICC Skorunun Değerlere Göre Yorumu 38

ŞEKİLLER

Şekil 1: Tümör mikroçevresinde rol oynayan önemli elemanlar 13
Şekil 2: Dünya geneli, her iki cinsiyet için en çok görülen kanserlerin yaşa göre standardize edilmiş insidans ve mortalite oranları 15
Şekil 3: Tümör santralinde CAF alt gruplarının dağılımı 31
Şekil 4: Tümör santralindeki CAF alt gruplarının immünhistokimyasal olarak gruplandırılması 32
Şekil 5: Tümör periferindeki CAF alt gruplarının dağılımı 33
Şekil 6: Tümör periferindeki CAF alt gruplarının immünhistokimyasal olarak gruplandırılması 33
Şekil 7: Tümör Santralinde Patolog ve Yapay Zeka Tarafından Hesaplanan FAP-α ile α-SMA H-skorlarının İlişkisi 37
Şekil 8: Tümör Periferinde Patolog ve Yapay Zeka Tarafından Hesaplanan FAP-α ile α-SMA H-skorlarının İlişkisi 37

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri dünya çapında en sık teşhis edilen kanserdir ve hastalar arasında kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir (1). Kadın meme kanseri insidans oranları, 2000'li yılların ortalarından bu yana yaklaşık %0,6 artarak yavaş bir artış göstermiştir (2). Gelişmiş ülkelerde meme kanseri görülme sıklığının arttığını ancak meme kanserine bağlı ölümlerin ise azaldığı izlenmiştir. Bu konuda tarama çalışmalarının ve erken teşhisin rol oynadığı düşünülmektedir. Ülkemizde meme kanseri sıklığı ise 46.6/100.000'in üzerinde olup, 2020 yılı insidansı ise 47/100.000 olarak hesaplanmıştır (3). Son veriler meme kanseri yönetimi konusunda erken ve ileri evre hastalığın biyolojisi ve tedavisi hakkındaki anlayışın geliştiğini yansıtmaktadır (1).

Çeşitli faktörler, meme kanseri gelişme riski ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar değiştirilebilir ve değiştirilemez risk faktörleri olarak iki gruba ayrılabilir. Değiştirilebilir risk faktörleri; obezite, hareketsiz yaşam tarzı ve dış kaynaklı hormonlara maruz kalma gibi faktörlerdir. Kişinin genetik yatkınlığı ve yaşlanma gibi faktörler değiştirilemez ve kaçınılamazdır (4).

Tablo 1: Meme kanseri ile ilişkili risk ve koruyucu faktörler (4)

Kategori	Faktörler
Değiştirilebilir Risk Faktörleri	- Obezite - Fazla alkol tüketimi - Sedanter yaşam tarzı - Egzojen hormon maruziyeti (doğum kontrol hapları, hormon replasman tedavisi dahil) - Radyasyon maruziyeti

Değiştirilemez Risk Faktörleri	- İlerleyen yaş
	- Genetik yatkınlık:
	  - BRCA1 veya BRCA2
	  - PALB2, TP53, PTEN, STK11, NF1
	- Endojen hormon maruziyeti:
	  - Erken menarş, geç menopoz
	  - Nulliparite, geç gebelik

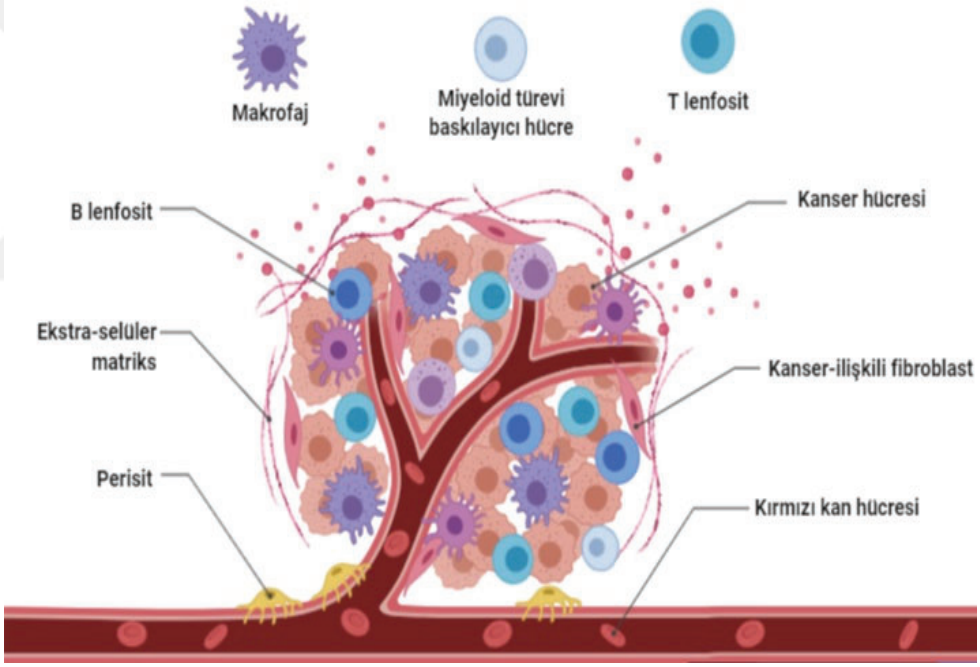
Koruyucu Faktörler	- Emzirme - Fiziksel aktivite - Alkol tüketiminin azaltılması - Aspirin veya non-steroid antiinflamatuar ilaçların kullanımı

Meme kanserinin seyri ve tedavisinde hangi evrede saptandığının yanında birçok faktör önemli rol oynamaktadır. Tümör boyutu, aksiller lenf nodu tutulumu, hastanın yaşı, cinsiyeti, tümörün histolojik alt tipi, moleküler alt tipi (hormon reseptör pozitifliği, HER 2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) ekspresyonu, hücre proliferasyonu düzenleyici (Ki-67) indeksi, LVI ve PNI (lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon), hücresel ve nükleer sınıflaması, tümör nekrozu varlığı, genetik mutasyon varlığı tümör davranışını etkileyebilecek parametrelerdir. AJCC'nin (American Joint Committee on Cancer) 8. TNM (Tümör Nod Metastaz) evrelemesinde anatomik evrelemeye ek olarak ER (östrojen reseptörü), PR (progesteron reseptörü), HER 2 durumu ve histolojik evrenin dahil edildiği prognostik evreleme dikkati çekmektedir(5,6).

Meme kanserinin biyolojisi, patogenezi ve tedavisi konusunda oldukça fazla gelişmeler elde edilmiştir. Meme kanseri tedavisinde kullanılan başlıca tedavi yaklaşımları kemoterapi, cerrahi, radyoterapi, hormonoterapi, hedefe yönelik tedavi ve immünoterapidir (7,8). Erken evre kanserlerde öncelikli olarak cerrahi tedavi tercih edilmekteyken, lokal ileri meme kanserlerinde neoadjuvan kemoterapi (NAK) temel tedavi yöntemimiz haline gelmiştir. NAK ile tedavisi başlanan hastalarda moleküler sınıflamaya göre hormon reseptörü pozitif olan Luminal subtipler NAK'a daha düşük yanıt gösterirken hormonoterapiden fayda görürler ve daha iyi prognozludurlar. HER 2 ifade eden tümörlerde ise HER 2'ye karşı geliştirilen monoklonal antikorlar kullanılabilir. Üçlü negatif grupta ise kemoterapi yanıtı çok iyi olduğundan erken evrede bile NAK kullanımı uygun görülmüştür. Bu grup hastalarda yeni geliştirilen ajanlar sayesinde patolojik tam yanıt alınmaktadır. Fakat aynı subtip meme kanserine sahip olan hastalar NAK'dan aynı düzeyde fayda görememektedir. Bu noktada başka parametrelerin araştırılması yeni çalışmaların odağı olmuştur.

Meme kanseri evrimi yalnızca epitelyal hücrelerin davranışına değil, aynı zamanda kanserli olmayan hücresel bileşenlerin (fibroblastlar, yağ hücreleri, endotelyal hücreler, mezenkimal hücreler,inflamatuar hücreleri) ve hücresel olmayan kompenentlerin (kan, lenfatik damarlar ve ekstraselüler matriks (ECM)) oluşturduğu mikroçevrenin bileşimine ve biyolojik işlevlerine de bağlıdır (9). Epitelyal ve stromal hücreler arasındaki ilişki, meme bezinin normal gelişimi ve farklılaşması için gereklidir. Fizyolojik stroma, epitelyal polariteyi korur ve kontrolsüz hücre

büyümesini ve neoplastik dönüşümü engeller (10). Örneğin, miyoepitelyal hücreler, meme dokusunda doğal tümör baskılayıcılar olarak tanınmıştır ve tümör oluşumunun bekçileri olarak işlev görürler, çünkü bazal membranı (BM) üretirler ve lüminal epitelyal hücreleri çevreleyen fiziksel bir bariyer oluştururlar (11). Normal miyoepitelyal hücrelerin ayrıca meme kanseri hücrelerinin büyümesini, invazyonunu ve anjiyogenezini baskıladığı gösterilmiştir (12). Ancak, kanserle ilişkili stromada, miyofibroblastlar ve fibroblastlar, karmaşık parakrin sinyaller ile tümör oluşumunu ve metastatik yayılmayı teşvik etmektedir (11). Böylece hassas bir mikroçevre oluşturarak kanser ilerlemesini ve metastazını etkilerler. Kanserle ilişkili tümör stroması, fibroblast proliferasyonu ve ECM yeniden şekillenmesi ile fizyolojik kontrol eksikliği yaşayan kronik bir yara gibi görünmektedir (13). Şekil-1'de tümör mikroçevresinde (TME) yer alan önemli faktörler şematize edilmiştir.



Şekil 1: Tümör mikroçevresinde rol oynayan önemli elemanlar (14)

TME, mevcut meme kanseri tedavi stratejilerinin verimsizliği ile de ilişkilidir. Kanser ilişkili fibroblastlar (cancer associated fibroblasts - CAF) meme tümörü bölgesindeki büyüme, artan vaskülerizasyon, metastaz ve ilaç direnci gibi çeşitli tümör teşvik edici süreçleri destekleyebilen ana hücre tiplerinden biridir (15).

CAF'lar, sağlıklı fibroblastlardan daha farklı bir fenotipe sahip olup salınan faktörler inflamasyona, kanserin bağışıklık sisteminden kaçışına ve tedavi direncine

katkıda bulunabilir (16). Ayrıca geleneksel kemoterapi uygulamalarının stromal fibroblastları CAF'lara dönüştürerek inflamatuar, otofajik ve glikolitik tümör mikroçevresi oluşumuna katkı sağladıkları belirtilmiştir. Meme kanseri hücrelerini saran ve yeni indüklenen bu tümör mikroçevresi; yeni kanser kök hücresi oluşumunu ve oksidatif stresi teşvik eder, interferon bağımlı sinyal yolağını aktive eder (17).

Biz çalışmamızda farklı alt tipteki meme kanseri hastalarından kesici iğne biyopsisi yöntemi ile elde ettiğimiz dokularda immün boyama yaparak saptadığımız CAF grupları ile hastaların klinik seyirleri ve patolojik verileri arasındaki ilişkiyi araştırdık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 MEME KANSERİ

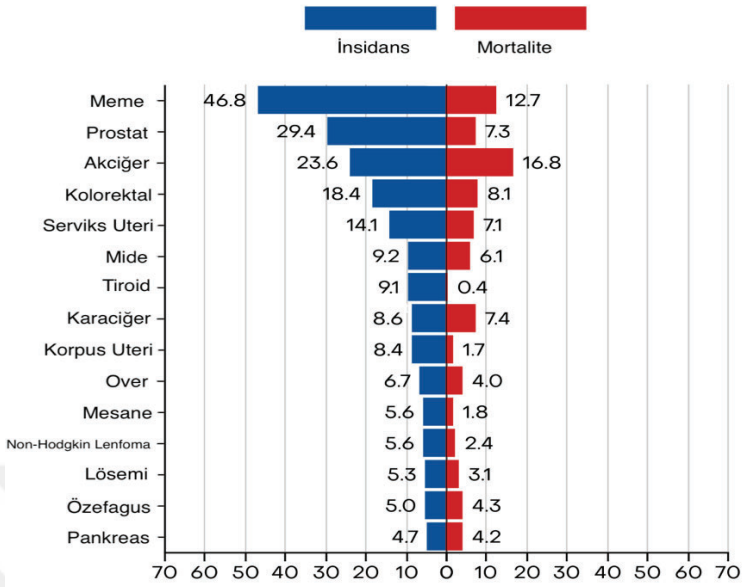
2.1.1 Epidemiyoloji

2020 yılında, dünya genelinde meme kanseri 2,26 milyondan fazla yeni vaka ile en sık teşhis edilen kanser türü olmuştur. 2022'de yeni meme kanseri vakalarının sayısının 2,31 milyona yükselmesine rağmen, meme kanseri, akciğer kanserinden sonra en sık görülen ikinci kanser türü haline gelmiştir. Meme kanseri, kadınlar arasında en sık teşhis edilen kanser türü ve kanser kaynaklı ölümlerin en yaygın nedenidir. Genel olarak, kanser kaynaklı ölümler arasında dördüncü en yaygın nedendir (18). GLOBOCAN 2022 ve Türkiye Birleşik Veri Tabanı'nın en son yayınlanan 2018 verilerine göre kadınlarda %26 ile en sık tanı alan kanser türüdür (19,20)

Dünya genelinde meme kanseri insidansı yıllar içinde artmasına karşın; sevindirici bir gelişme olarak, 1990'lı yıllardan sonra meme kanserine bağlı ölümlerde azalma gözlenmektedir. Bu olumlu eğilim, erken teşhis yöntemlerinin ve tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi, kanser tarama programlarının yaygınlaştırılması ve toplumda kanser konusunda bilincin artması gibi faktörlere bağlı olarak ortaya çıktığı söylenebilmektedir (21).

Meme kanseri insidansının artması ve 2019 koronavirüs hastalığı (COVID-19) pandemisinin uzun vadeli sonuçları, örneğin rutin bakımda yaşanan kesintiler ve gecikmiş tanı gibi durumlar nedeniyle bu gelişim engellenebilir. Bu kesintilerin

toplumsal düzeyde meme kanseri insidansı ve sonuçları üzerindeki etkisi zamanla ortaya çıkacaktır (22).



Şekil 2: Dünya geneli, her iki cinsiyet için en çok görülen kanserlerin yaşa göre standardize edilmiş insidans ve mortalite oranları (19)

2.1.2 Risk Faktörleri

Meme kanseri, genetik, çevresel ve yaşam tarzı bileşenleri olan multifaktöriyel bir hastalıktır. Meme kanseri için başlıca risk faktörleri genetik faktörler, özellikle aile öyküsü; diyet ve obezite, ülkemizde yaşam kalitesi arttıkça kadınlar daha fazla obezleşmekte ve diyetleri daha fazla yağ içermeye eğilim göstermektedir; sigara ve alkol kullanımı, fiziksel aktivite kısıtlılığı ve iyonize radyasyondur; ayrıca menstrüasyon, doğum yapma ve emzirme gibi faktörler de meme kanserinin oluşumunu etkileyebilir (23).

2.1.3 Tanı ve Tarama Yöntemleri

NCCN (National Comprehensive Cancer Network) Klinik Uygulama Kılavuzları, meme kanserinin erken teşhisi için ortalama risk altındaki kadınlarda 40 yaşından itibaren rutin mamografik tarama yapılmasını önermektedir. Mamografi,

ultrason ve MRG(Manyetik Rezonans Görüntüleme) gibi tanısal görüntüleme yöntemleri, anormal bulgular veya yüksek riskli vakalarda kullanılmaktadır (24).

En basit tarama yöntemi kendi kendine meme muayenesi ve klinik meme muayenesi olup, son dönemde bu yöntemlerin erken dönem meme kanseri saptama ve sağkalım üzerine olan etkileri tartışılmaktadır. Klinik meme muayenesi 20'li ve 30'lu yaşlardaki kadınlar için her 1-3 yılda bir, 40 yaş ve üzerindeki kadınlar için ise yıllık olarak önerilir. Kendi kendine meme muayenesinin ise ölüm oranını azaltmadaki faydası tartışmalı olsa da meme sağlığı konusunda farkındalığı artırır (24).

Mamografi; kabaca memelerin X ışını görüntülemesidir. 40-74 yaş arasındaki kadınlar için standart tarama yöntemidir. Dijital mamografi ve tomosentez (3D mamografi), özellikle yoğun meme dokusuna sahip kadınlarda hassasiyeti artırır.

Ultrason; yoğun meme dokusunda veya mamografide anormallikler tespit edildiğinde tamamlayıcı bir araç olarak kullanışlıdır. Solid kitleler ile kistleri ayırt etmede etkilidir.

MRG; Yüksek riskli bireyler (örneğin, BRCA1/2 mutasyonu taşıyıcıları) için önerilir. Manyetik alanlar kullanarak ayrıntılı görüntüler sağlar ve genellikle mamografi ile birlikte kullanılır (25).

Muayene ve görüntüleme yöntemleri ile bir ön tanı oluşturulsa da kesin tanı doku tanısı ile konur.

- İnce iğne aspirasyon biyopsisi; sitolojik analiz için kullanılır.
- Kalın iğne biyopsisi; histopatolojik inceleme için küçük bir doku silindiri çıkarılır.
- Cerrahi Biyopsi (Eksizyonel veya İnsizyonel); Diğer yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda uygulanır.

Yeni ve ileri yöntemler arasında Pozitron Emisyon Tomografi (PET), Likid Biyopsi, Kontrastlı Mamografi ve Yapay Zeka ile Mammografi bulunmaktadır (24).

2.1.4 Moleküler Sınıflandırma

Meme kanserinin bireysel fenotipi, hastalık prognozunu ve sistemik tedavi planlamasını yansıtan, gen ekspresyonları açısından farklılıklar gösteren alt tipleri bulunmaktadır. Kapsamlı gen ekspresyon profili çalışmaları sonucunda, klinik açıdan önemli dört moleküler alt tip ortaya çıkarılmıştır. Meme kanserinin moleküler alt

tiplerinin ayrımından sorumlu gen grupları esas olarak ER, PR, HER2 ve Ki-67 ile ilgili genlerdir. Bu dört biyobelirteç ile yapılan immünohistokimyasal panel, bu moleküler sınıflandırılmada etkili ve anlamlı kabul edilmektedir (26).

Tablo 2: Meme kanserinin moleküler alt tiplerinin sınıflandırılması ve tedavileri (27).

Moleküler Alt Tipler	Luminal A	Luminal B (HER2-)	Luminal B (HER2+)	HER2+	TN (Üçlü Negatif)
Biyobelirteçler	ER+, PR+, HER2-, Ki67 düşük	ER+, PR-, HER2-, Ki67 yüksek	ER+, PR-/+, HER2+, Ki67 düşük/yüksek	ER-, PR-, HER2+, Ki67 yüksek	ER-, PR-, HER2-, Ki67 yüksek
Vaka Sıklığı (%)	%40–50	%20–30	%20–30	%15–20	%10–20
Histolojik Derece	İyi Diferansiye (Derece I)	Orta Derecede Diferansiye (Derece II)	Orta Derecede Diferansiye (Derece II)	Az Diferansiye (Derece III)	Az Diferansiye (Derece III)
Prognoz	İyi	Orta	Orta	Kötü	Kötü
Tedavilere Yanıt	Endokrin	Endokrin, Kemoterapi	Endokrin, Kemoterapi, Hedefe Yönelik Tedavi	Hedefe Yönelik Tedavi, Kemoterapi	Kemoterapi, PARP İnhibitörleri

PARP: Poly ADP Ribose Polymerase

2.1.5 Evreleme

Meme kanserinde TNM evreleme sistemi, hastalığın evresini belirlemek için kullanılan uluslararası kabul görmüş bir sistemdir. En son AJCC tarafından 2017 yılında yayınlanan 8. TNM sistemi en yaygın kullanılan evreleme sistemidir. Son güncellemeler ile anatomik evreleme ile birlikte grade ve reseptör durumları da göz önüne alınarak prognostik evreleme de düzenlenmiştir.

Tablo 3: AJCC Kanser Evreleme Kılavuzu, Meme Kanseri Evreleme Sistemi (28)

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

2.1.6 Tedavi

Meme kanseri tedavisi; tümörün tipi, evresi, moleküler özellikleri, hastanın genel durumu ve tercihlerine göre kişiselleştirilir. Başlıca tedavi yöntemleri arasında cerrahi, sistemik tedavi, radyoterapi ve hedefe yönelik tedavi yer alır. Bu yöntemler, en iyi sonuçları elde etmek için genellikle birlikte kullanılır.

Metastatik olmayan meme kanseri genel olarak iki kategoriye ayrılır:

Erken evre – Bu kategori, evre I, IIA veya evre IIB hastalığın bir alt grubunu (T2N1) içeren hastaları kapsar.

Lokal ileri evre – Bu kategori, evre IIB hastalığın bir alt grubunu (T3N0) ve evre IIIA'dan IIIC'ye kadar olan hastaları kapsar.

2.1.6.1 Erken Evre Meme Kanserinde Cerrahi:

Genel olarak, erken evre meme kanseri olan hastalarda, meme ve bölgesel lenf düğümlerine yönelik primer cerrahi (lumpektomi veya mastektomi) ile beraber radyoterapi (RT) ve ya sadece cerrahi uygulanmaktadır.

Primer cerrahiyi takiben, tümörün boyutu, derecesi, etkilenen lenf düğümlerinin sayısı, ER ve PR reseptör durumları ile HER2 reseptör ekspresyonu gibi primer tümör özelliklerine dayanarak adjuvan sistemik tedavi önerilebilir.

Bununla birlikte, bazı erken evre invaziv meme kanseri hastaları (özellikle HER2-pozitif veya üçlü negatif hastalığı olanlar) öncelikle neoadjuvan tedavi ile tedavi edilebilir ve ardından cerrahi uygulanabilir (29)

Aksiller Lenf Düğümlerinin Değerlendirilmesi:

Bölgesel lenf düğümlerinin değerlendirilmesi, aksiller tutulumun cerrahiden önce şüphelenilip şüphelenilmediğine bağlıdır:

Klinik olarak şüpheli aksiller lenf düğümleri olan hastalarda; preoperatif değerlendirme kapsamında ultrason ve ince iğne aspirasyon biyopsisi veya kor biyopsisi, en iyi cerrahi yaklaşımı belirlemeye ve neoadjuvan tedavinin gerekli olup olmadığını değerlendirmeye yardımcı olabilir (29).

Pozitif biyopsisi olan ve doğrudan cerrahiye yönlendirilen hastalarda; meme cerrahisi sırasında aksiller lenf düğümü diseksiyonu yapılmalıdır. Neoadjuvan tedavi gören hastalarda aksilla yönetimi ayrı bir şekilde ele alınır (30).

Negatif biyopsi ile başvuran hastalarda; cerrahiden önce başka bir değerlendirmeye gerek yoktur. Bu hastalara cerrahi sırasında sentinel lenf nodu biyopsisi (SLNB) yapılmalıdır (31).

Klinik olarak negatif aksillaya sahip hastalara; SLNB yapılmalıdır. Bölgesel lenf düğümlerinin daha ileri değerlendirilmesi, SLNB bulgularına bağlıdır. Bir veya iki patolojik olarak etkilenmiş sentinel lenf düğümü olan hastalar genellikle tam aksiller lenf düğümü diseksiyonu gerektirmez (32). Üç

veya daha fazla patolojik olarak etkilenmiş sentinel düğümü olan hastalara genellikle aksiller diseksiyon yapılır. Ancak hastanın genel durumu ve eşlik eden hastalıkları da dikkate alınır (33).

2.1.6.2 Erken Evre Meme Kanserinde Sistemik Adjuvan Tedavi:

Erken evre meme kanseri olan hastalarda tedavi, tümör özelliklerine, hasta durumuna ve hasta tercihlerine göre şekillenir:

Hormon reseptörü pozitif meme kanseri olan hastalar genellikle endokrin tedavi almalıdır. Adjuvan kemoterapinin gerekliliği hasta ve tümör özelliklerine bağlıdır (34).

Erken evre, hormon reseptörü pozitif, HER2-negatif kanseri olan ve yüksek riskli özellikler taşıyan hastalara kemoterapi önerilir (35).
Üçlü negatif meme kanseri olan hastalarda; tümör boyutu ≥0,5 cm olanlara genellikle adjuvan kemoterapi uygulanır. HER2-pozitif meme kanseri olan hastalarda ise tümör boyutu >1 cm ise genellikle kemoterapi ve HER2'ye yönelik tedavi kombinasyonu uygulanır.

2.1.6.3 Lokal İleri Evre Meme Kanseri:

Lokal ileri meme kanseri olan hastaların çoğu ve özellikle üçlü negatif veya HER2 pozitif erken evre hastalığı olan bazı hastalar neoadjuvan sistemik tedaviyle tedavi edilir.

Bu tedavinin amacı, cerrahiden önce tümör yanıtı sağlayarak meme dokusu koruma şansını artırmaktır.

Neoadjuvan tedavi, primer cerrahi ve ardından adjuvan sistemik tedavi ile karşılaştırıldığında, uzun dönemde hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (36).

Neoadjuvan tedavi sonrası tüm hastalar, klinik veya radyolojik olarak tam yanıt alsalar bile cerrahi ile ilerlenmelidir. Ayrıca, neoadjuvan sistemik tedavi sırasında lokorejyonel progresyon tespit edilen hastaların kemoterapi rejimini değiştirmek yerine hastalar cerrahiye yönlendirilmelidir (37).

2.1.6.4 Radyoterapi:

Cerrahiden sonra meme koruyucu cerrahi geçiren tüm hastalar adjuvan RT'ye tabi tutulmalıdır.

Mastektomi uygulanan bazı hastalar cerrahi sonrası RT alır. Adjuvan RT uygulaması genellikle neoadjuvan tedavi öncesi evresine dayanarak yapılır, ancak neoadjuvan tedaviye patolojik yanıt da bu kararda etkilidir (38).

Tablo 4: Metastatik olmayan meme kanseri tedavileri

Tedavi	HR-pozitif / HER2-negatif	HR-pozitif veya HR-negatif / HER2-pozitif	HR-negatif / HER2-negatif
Cerrahi?	Evet	Evet	Evet
Kemoterapi?	Yüksek riskli vakalarda	Evet	Evet
İmmünoterapi?	Hayır	Hayır	Yüksek riskli vakalarda
Endokrin Tedavi?	Evet	HR-pozitif hastalarda	Hayır
Anti-HER2 Tedavisi?	Hayır	Evet	Hayır
Radyoterapi?	Genellikle MKC sonrası, bazen mastektomi sonrası	Genellikle MKC sonrası, bazen mastektomi sonrası	Genellikle MKC sonrası, bazen mastektomi sonrası

2.2 TÜMÖR MİKROÇEVRESİ

2.2.1 Tümör Mikroçevresinin Tanımlanması

TME, çoğalan tümör hücrelerini ve tümörde bulunan çeşitli kanser dışı hücreleri (genellikle stroma olarak adlandırılır) kapsar. Bu hücreler arasında fibroblastlar, bağışıklık hücreleri, endotelyal hücreler, infiltre olmuş inflamatuar hücreler, adipositler, sinyal molekülleri ve ECM bileşenleri bulunur (9). Bu, tümör progresyonuyla birlikte sürekli değişen bir ortamdır ve meme tümör tipleri arasında da farklılık gösterebilir. Stromal hücreler, bir dizi ECM proteini, kemokin, sitokin ve büyüme faktörü salgılayarak epitelyal hücrelerin davranışını etkiler. Stromal hücreler tarafından salgılanan çeşitli proteinler, anormal otokrin ve parakrin döngüleri aktive edebilir. Stromal ve tümör hücreleri arasındaki bu etkileşimler, tümör hücrelerinin altta yatan genetik kusurlarıyla birlikte, tümörün büyüme özelliklerini, morfolojisini ve invazivliğini belirler (39).

Pre-invaziv ve invaziv meme kanserinde, TME'nin ve ilişkili moleküllerin, özellikle bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonu, çözünebilir faktörlerin ve değişime uğramış ekstrasellüler matriksin tümör büyümesini ve metastazını teşvik ettiğini güçlü bir şekilde gösteren kanıtlar ortaya koymuştur (40). TME'nin bu önemli özelliği, tümör gelişimi ve ilerlemesi ile ilişkili biyolojik, immünolojik ve immünosüpresif yeni meme kanseri belirteçlerinin tanımlanmasının önünü açmıştır (41).

TME'nin kanser progresyonuna katkısı, tümörle ilişkili makrofajlar (TAM), CAF, endotelyal hücreler, perisitler, lökositler, tümör-infiltre lenfositler (TIL), sitokin ortamı ve ECM gibi TME'de bulunan bileşenlere bağlıdır. Tümör hücrelerinin, büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler salgılayarak stromal hücreleri (örneğin fibroblastlar), bağışıklık hücrelerini ve vasküler hücreleri etkili bir şekilde etkilediği önemle belirtilmelidir. Bu hücreler, büyümeyi teşvik eden sinyaller ve ara metabolitler salıp doku yapısını yeniden düzenleyerek mikroçevreyi oluşturur. Kanser hücreleri ile TME arasındaki sinyalleşme, proliferasyonu ve metastaz yeteneğini ya uyarır ya da baskılar (42). Tümör, yalnızca konak bağışıklık sisteminden kaçmayı başarmakla kalmaz, aynı zamanda mikroçevrenin işlevini değiştirerek tümör progresyonuna elverişli hale getirmek için bu hücrelerden faydalanır (43).

Tümör İnfiltre Lenfositler:

Tümör mikroçevresinde adaptif (T hücreleri, dendritik hücreler, B hücreleri) ve kalıtsal (makrofajlar, nötrofiller, eozinofiller ve doğal öldürücü hücreler) bağışıklık yanıtlarını düzenleyen bağışıklık hücreleri bulunur. TIL'ler çoğunlukla CD8+ T hücreleri, CD4+ yardımcı T hücreleri ve düzenleyici T hücrelerdir. Bu hücreler, tümör mikroçevresindeki diğer hücrelerle etkileşime girerek kanserin büyüme ve metastaz potansiyelini etkiler. ER negatif meme kanseri alt tiplerinde TIL sayısının daha yüksek olduğu gözlenmiştir (43).

Tümörle İlişkili Makrofajlar:

Makrofajlar, tümör mikroçevresine sızarak inflamatuar yanıt başlatır ve uyarılarak M2 makrofaja (TAM) dönüşür. TAM'lar, bağışıklık hücrelerinin işlevlerini baskılayarak tümör büyümesini, anjiyogenezi ve metastazı destekler. TN meme kanseri alt tipinde TAM'lar, bağışıklık kaçış mekanizmaları ile ilişkilendirilmiştir (44).

Tümörle İlişkili Nötrofiller (TAN):

Nötrofiller, TME'ye göç ederek tümör büyümesini destekleyen (N2) veya engelleyen (N1) fenotipler sergileyebilir. TAN'lar, özellikle TN meme kanserinde daha yaygındır ve anjiyogenez, mutajenez ve bağışıklık sistemi baskılanması ile ilişkilendirilmiştir (45).

Tümörle İlişkili Eozinofiller:

Eozinofillerin meme kanseri mikroçevresinde varlığı sınırlıdır. Ancak bazı kanserlerde eozinofillerin tümör büyümesini baskılayabileceği veya destekleyebileceği gösterilmiştir. Meme kanserindeki rolleri üzerine daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (46).

Miyeloid Kaynaklı Baskılayıcı Hücreler (MKBH):

MKBH'ler, bağışıklık hücrelerini baskılayarak ve tümör büyümesini teşvik ederek meme kanseri mikroçevresinde önemli bir rol oynar. Bu hücreler, T hücre işlevlerini azaltan enzimler salgılar ve bağışıklık baskılanmasını artırır. TME'de bu hücrelerin yüksek seviyeleri, T hücrelerinin apoptozuna ve bağışıklık sisteminin işlev kaybına yol açar (47).

Kanser İlişkili Fibroblastlar:

CAF’lar, primer tümörlerde bulunan en yaygın stromal hücre türleridir. Normal fibroblastlar ile CAF'lar benzer bir fenotipe sahip görünse de, mRNA ve protein ekspresyonunda farklılıklar bildirilmiştir. Bir dizi fibroblast işaretçisi tanımlanmış olsa da, bunların hiçbiri sadece CAF'lara özgü değildir, bu da CAF'ların tümörlerde tanımlanmasını zorlaştırmaktadır. CAF'ların, α-SMA(alfa-Smooth Muscle Actin), p53, podoplanin, CD10, FAP (fibroblast aktivasyon proteini), matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), tenaskin-C ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörleri (PDGFRα/β) gibi işaretleyicilerle birlikte caveolin-1 ekspresyon kaybı gösterdiği kanıtlanmıştır (48).

CAF'lar, büyüme faktörleri salgılayarak tümör hücrelerinin proliferasyonunu hızlandırırlar. Fibroblastlar tarafından salgılanan sitokinler de proliferasyon, metastaz,

anjiyogenez, invazyon ve doğrudan tümör büyümesine katkıda bulunur (49). Aktifleşmiş fibroblastlar, fibroblast faktörleri ve gap junctions'ta meydana gelen IL-6 (interlökin 6) üretimi yoluyla tümör progresyonunun erken evrelerinde inhibe edici bir rol oynar. Bununla birlikte, epitel hücreleri, endotel hücreleri ve kanser hücreleri; fibroblastları kanserle ilişkili fibroblastlara dönüştürmekle ilişkilendirilmiştir (50).

Fibroblast büyüme faktörü, insan büyüme faktörü, tenaskin, trombospondin-1, TGF-β (Transforming Growth Factor) ve SDF-1 (Stromal Cell Derived Factor-1); CAF'lar tarafından üretilen ve meme kanseri dahil kanser hücrelerinde, kronik inflamasyon bölgelerinde bulunur (51). Tümör hücreleri tarafından yüksek seviyelerde TGF-β salgılanması, fibroblastların TME'ye migrasyonuna yol açarak fibroblastların CAF'lara dönüşümünü başlatır (52). Ayrıca, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, makrofajlardan TGF-β salgısını uyandırarak miyofibroblastları dolaylı olarak aktive edebilir (53). Böylece, CAF'lar büyümeyi ve anjiyogenezi teşvik etme, ECM'yi yeniden şekillendirme ve hücreler arası etkileşimleri yönlendirme potansiyeline sahiptir (54). Bu nedenle, CAF'lara yönelik başarılı terapötik hedefleme, meme kanseri gelişimiyle ilişkili bir dizi önemli süreci etkileme potansiyeline sahiptir.

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

Meme kanseri tanılı hastalardan çalışma grubu oluşturulması:

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde HNEAH-GAEK 2024/149 kararı ile alınan etik onam ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri 2023/029 nolu proje kapsamında alınan maddi destek ile Eylül 2021 ve Ocak 2024 tarihleri arasında 18 yaş üzerinde, meme kanseri nedeniyle NAK alması kararlaştırılan veya öncelikle cerrahi planlanan 79 olgu; α-SMA, FAP-α, ve PDGFRβ immün belirteçleri ile CAF alt grupları belirlemek amacıyla incelendi. Bu hastaların kalın iğne ile alınan biyopsileri immünohistokimyasal yöntemler ve gerekli olduğu noktalarda FISH(fluoresan in situ hibridizasyon) kullanılarak alt tipleri belirlendi. Luminal A molekuler alt tipe sahip hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Yapılan örneklem hesabı sonucu minimum olgu sayısı 44 olarak belirlendi.

Hasta seçimi ve biyopsi alınması:

Luminal A alt tipinde olanlar dışındaki hastaların meme kitleleri, Toshiba Aplio 500 sonografi cihazı ile, supin pozisyonda, 14mHz frekanslı, lineer dizilimli transdüser kullanılarak incelendi. Tümöral ve tümör dışı parankim, 1,5 T MRG cihazı ile (GE Optima 360 Bamboo: General Electric, Milwaukee, WI, USA), 16- kanallı meme sarmalı kullanılarak, pron pozisyonda gerçekleştirilen dinamik kontrastlı ve difüzyon ağırlıklı görüntüler kılavuzluğunda değerlendirildi. NAK alması planlanan hastalardan kemoterapi öncesi işaretleyici koyulması aşamasında sonografi kılavuzluğunda, lokal anestezi altında, 14G/10 santimetre kesici iğne ile 1 adet tümörün merkezinden, 1 adet MRG ile belirlenen tümör dışı parankimden biyopsi alınarak formaldehite koyuldu. Öncelikle cerrahi yapılacak hastalara operasyon sırasında örnek alındı.

TIL Skoru Belirlenmesi:

Formalinde fikse edilen ve parafine gömülen tümöral dokudan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Ardından hematoksilen eozin (H&E) ile boyanarak incelendi. Tümörün invaziv sınırında pozitif boyanma gösteren peritümöral T lenfosit infiltrasyon yoğunluğunu nicel olarak belirlemek için her vakada 1 mm²'deki T lenfosit sayısını belirlemek üzere 40× objektifte tümör adaları çevresindeki ve tümör adaları çevresinde kalan stromal alanda bulunan mononükleer inflamatuar hücreler belirlenerek iki ardışık alan seçildi ve toplamda 1 mm²'lik bir alan kapsandı. Seçilen alanlardaki toplam T lenfositler (pozitif boyanmış ve boyanmamış) belirlenerek bu lenfositlerin tümör stromasında kapladığı alan yüzdesel olarak hesaplandı. Bu oran TIL skoru olarak belirtildi. Skorlama yapılırken tümör stroması dışında bulunan, nekroz alanları içinde bulunan ve tümör hücrelerini attake eden lenfositler hesaplama haricinde tutuldu.

İmmünhistokimyasal Analiz:

İmmünhistokimyasal (İHK) analiz için tümoral ve tümör dışı alandan kesici iğne ile biyopsi alınmış dokulardan hazırlanmış parafin bloklardan 3 μm kalınlıktaki kesitler alınarak 60 °C'lik etüvde deparafinize edildi. Hazırlanan lamlar H&E ile boyanarak tümöral ve tümör dışı alanları incelemeye uygun olan hastalar seçildi. İncelemeye uygun olmayan 10 hasta çalışma dışı bırakıldı. Seçilen hastaların

immünhistokimyasal incelemeleri LEICA Bond III tam otomatik İHK cihaz sistemi ile FAP-α antikoru (ABCAM, ürün kodu ab227703, 1:100 dilüsyon), α-SMA antikoru (CellMarque, ürün kodu 202M-94, 1:100-500 dilüsyon), PDGFR-β antikoru (Santa Cruz, ürün kodu sc-374573, 1:50-500 dilüsyon) kullanılarak yapıldı. Kromojen olarak diaminobenzidin kullanıldı. Pozitif kontrol dokusu olarak Fibroblast activation protein-alpha [SP325] Conc. 0.1mL (1:100) için kolon adenokarsinom, Actin Smooth Muscle [1A4] Conc. 0.1mL (1:100-500) için apandiks, PDGFR-B [D-6] C.Liq.1ml (1:50-500) için böbrek kullanıldı.

FAP-α, α-SMA ve PDGFR-β antikorları ile İHK boyalı preparatlar eşlenik H&E kesitleri ile birlikte mikroskop altında deneyimli patolog tarafından değerlendirildi. Değerlendirilen preparatların tümöral stromadaki ve tümör dışı stromadaki boyanma yüzdeleri ve boyanma dansiteleri (en koyu renk 4+, en açık renk 1+) çarpılarak her İHK boyası için ayrı ayrı H-skoru hesaplandı.

Aynı FAP-α, α-SMA ve PDGFR-β antikorları ile İHK boyalı preparatlar eşlenik H&E kesitleri ile 3DHistech – Pannoramic P250 (Budapeşte/Macaristan) dijital patoloji cihazının 40X objektifi ile tarandı.

Dijitalize preparatlar yine 3DHistech firmasına ait dijital görüntüleme programı olan CaseViewer arayüzü ile görüntüleri teyit edilerek, teknik bir dönüştürme işlemi ile Virasoft AŞ. (İstanbul/Türkiye)'nin ViraCenter (New York/ABD) programına aktarıldı. ViraCenter programında görüntülenen dijitalize preparatlardan tümöral ve tümör dışı alanlar H&E kesitlerden konfirme edilerek, İHK boyalı dijitalize preparatlar üzerinden anote edildi. Anotasyonu tamamlanan dijitalize preparatlar ViraCenter'ın analiz modülünde açıldı. Analiz modülünde henüz klinik validasyonu tamamlanmamış olan, yapay zeka (AI) tabanlı-dijital patoloji algoritması ile nükleer boyanma skorlaması yapabilen 'CD4 Analizi' modülünün ön segmentasyon uygulaması ile birleştirilmesi metoduna dayalı bir sistemle skorlandı. Tümöral ve tümör dışı alandaki total boyanmış alanlar; çekirdek bölütlemesi, çekirdek birleştirme özellikleriyle (hem dairesellik hem de solidite yönünden) implante edilerek total olarak boyanmış alanlar yüzde olarak hesaplandı. Hesaplanan alanların boyanma yoğunlukları (en koyu renk 4+, en açık renk 1+) boyanma yüzdesi ile çarpılarak her İHK boyası için ayrı ayrı H-Skorları hesaplandı.

Sistemik tedavi protokolü:

Primer sistemik tedavi ile başlanan hastalara doksorubisin, siklofosfamid beraberinde gerekli ise taksanlar ve HER-2 eksprese eden gruba ek olarak trastuzumab emtansin ve pertuzumab NAK rejimi uygulandı.

Klinikopatolojik Veriler:

Tüm hastaların tanı anındaki yaşı, tümör çapı, aksilladaki lenf nodu sayısı, tümörün multifokalitesi; yapılan meme ve aksilla operasyonunun türü, takip sırasında mortalitesi, nüks, metastaz ve reoperasyon durumu kayıt altına alındı.

NAK sonrası opere edilen ve öncelikle cerrahi kararı alınan hastaların postoperatif piyes patoloji raporları incelendi. NAK alan hastaların MD Anderson RCB (residual cancer burden) hesaplayıcısı kullanılarak hem primer tümörün hem lenf nodlarının tedavi yanıtı birlikte değerlendirildi. Hesaplanan RCB değerlerinin karşılığı sınıflamalar geride memede ya da aksillada invazif hastalığın kalmaması durumunda; RCB 0 patolojik tam yanıt (PCR), RCB 1 minimal rezidüel hastalık, RCB 2 kısmi rezidüel hastalık ve RCB 3 tedavi yanıtının olmaması olarak değerlendirildi. Tüm hastaların tümörlerindeki nükleer grade, TIL yüzdesi, in-situ komponent ve lenfovasküler invazyon varlığı patoloji laboratuvarı kayıtlarından elde edildi.

İstatistiksel Analiz:

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 26 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodlardan ortalama, standart sapma, medyan, frekans, oran, minimum, maksimum kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk testi, Çarpıklık-Basıklık testi ve grafiksel olarak değerlendirildi.

Normal dağılım göstermeyen üç ve üzeri grupların karşılaştırmalarında Kruskal Wallis test kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında Pearson Chi-Square testi ve Fisher Freeman Halton Exact testi kullanıldı. Değişkenler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman’s Korelasyon Analizi kullanıldı.

H skorlarının gerçek ve yapay zeka sonuçları arasındaki uyumların değerlendirilmesinde Intraclass correlation coefficient (ICC) testi kullanıldı. Anlamlılık en az $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4.BULGULAR

Çalışmaya 09/2021 ile 01/2024 tarihleri arasında 79 kadın olgu dahil edilmiştir. Bu olgulardan 10 tanesinde tümöral ve tümör dışı alanlar net değerlendirelemediği için çalışma dışı bırakılarak 69 kadın olgu ile çalışma sonuçlandırılmıştır. Olguların yaşları 23 ile 85 arasında değişmekte olup, ortalama 50,68±13,60 yıldır. %50,7'si (n=34) 50 yaşın altında iken, %49,3'ü (n=35) 50 yaş ve üzerindedir.

Tablo 5: Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı

		n	%
Yaş (yıl)	Medyan (Min-Max); Ort±SS	50 (23-85)	50,68±13,60
Subgrup	**Luminal B**	20	29
	Luminal B Her2+	17	24,6
	Her2 + Sınıf	11	15,9
	Üçlü Negatif	21	30,4
Her2 Reseptörü	**Pozitif**	28	40,6
	Negatif	41	59,4
Nükleer Grade (n=68)	**Grade 1**	1	1,5
	Grade 2	18	26,5
	Grade 3	49	72,1
Tümör Çapı (cm)	Medyan (Min-Max); Ort±SS	2,5 (0,9-7,6)	2,75±1,35
cN	**0**	28	40,6
	1	28	40,6
	2	9	13
	3	4	5,8
NAK	**Yok**	14	20,3
	Var	55	79,7
Aksiller Cerrahi (n=66)	**SLNB**	52	78,8
	AD	14	21,2
Meme Cerrahisi (n=66)	**MKC**	49	74,2
	Mastektomi	10	15,2
	CKM / MKM	7	10,6
TIL (%)	Medyan (Min-Max); Ort±Ss	7,5 (0-90)	18,15±24,72

Mortalite	**Yok**	68	98,6
	Var	1	1,4
Nüks	**Yok**	68	98,6
	Var	1	1,4
Metastaz	**Yok**	65	94,2
	Var	4	5,8
İn situ komponent (n=68)	**Yok**	34	50
	Var	34	50
Multifokalite	**Yok**	37	53,6
	Var	32	46,4
LVI (n=68)	**Yok**	48	70,6
	Var	20	29,4
RCB Skoru (n=52)	**PCR**	25	48,1
	Sınıf 1	8	15,4
	Sınıf 2	17	32,7
	Sınıf 3	2	3,8

cN: Klinik Aksiller Lenf Nodu Sınıfı, NAK: Neoadjuvan Kemoterapi durumu, SLNB: Sentinel Lenf Nodu Biyopsisi, AD: Aksiller Diseksiyon, MKC: Meme Koruyucu Cerrahi, CKM: Cilt Koruyucu Mastektomi, MKM:Memebaşı Koruyucu Mastektomi, TIL: Tümör İnfiltran Lenfosit, LVI:Lenfovasküler İnvazyon, RCB: Residual Cancer Burden, PCR: Patolojik Tam Yanıt

Olguların tanı anındaki muayene, kalın iğne biyopsi örnekleri, görüntüleme yöntemlerinden elde edilen klinikopatolojik özellikler; olguların takip ve operasyon bilgileri Tablo-5'te gösterilmiştir.

Subgruplar incelendiğinde; %29,0'unun (n=20) Luminal B, %24,6'sının (n=17) Luminal B Her2+ Sınıf, %15,9'unun (n=11) Her2 + Sınıf ve %30,5'inin (n=21) Üçlü Negatif Sınıf olduğu görülmektedir. Olguların %40,6'sında (n=28) Her2 reseptör pozitifliği görülmektedir.

Nükleer gradeler incelendiğinde; %1,5'inin (n=1) grade 1, %26,5'inin (n=18) grade 2, %72,0'sinin (n=49) grade 3 olduğu görülmektedir.

Tümör çapları 0,9 ile 7,6 cm arasında değişmekte olup, ortalama 2,75±1,35 cm ve medyan değer 2,5 cm'dir.

Klinik aksiller lenf nodu durumu olguların %40,6'sında (n=28) N0, %40,6'sında (n=28) N1, %13'ünde (n=9) N2, %5,8'inde (n=3) N3'tür.

Olguların %20,3'ü (n=14) NAK almamışken, %79,7'si (n=55) NAK almıştır.

Aksiller cerrahi olguların %78,8'inde (n=52) SLNB iken, %21,2'sinde (n=14) AD'dir. Meme cerrahisi %74,2'sinde (n=49) MKC , %15,2'sinde (n=10) mastektomi, %10,6'sında (n=7) CKM/MKM'dir.

TIL ölçümleri %0 ile %90 arasında değişmekte olup, ortalama %18,15±24,72 ve medyan %7,5'dir.

Olguların %1,4'ünde (n=1) mortalite, %1,4'ünde (n=1) nüks ve %5,8'inde (n=4) metastaz görülmektedir.

Olguların %50,0'sinde (n=34) in situ tümör, %46,4'ünde (n=32) multifokalite ve %29,4'ünde (n=20) LVI görülmektedir.

RCB skoru olguların %48,1'inde (n=25) PCR iken, %15,4'ünde (n=8) Sınıf 1, %32,7'sinde (n=17) Sınıf 3, %3,8'inde (n=2) Sınıf 3'tür.

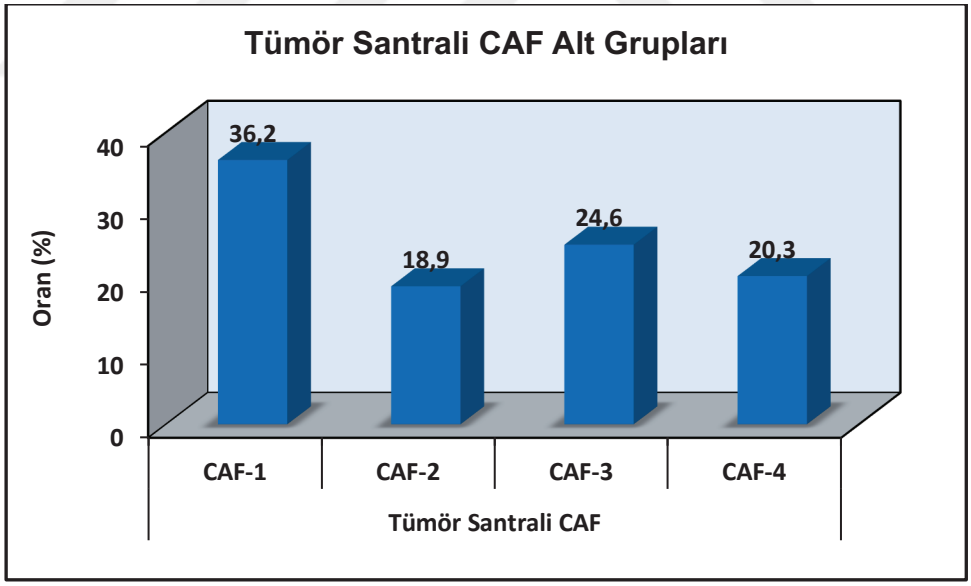
Tablo 6: H Skoru ve CAF Düzeylerinin Dağılımı

		n	**%**
Tümör Santrali FAP-α H Skoru	Medyan (Min-Max); Ort±SS	160 (5-320)	148,70±84,04
	H Skoru < 160	31	44,9
	H Skoru ≥ 160	38	55,1
Tümör Santrali α-SMA H Skoru	Medyan (Min-Max); Ort±SS	280 (40-360)	261,16±81,25
	H Skoru < 280	27	39,1
	H Skoru ≥ 280	42	60,9
Tümör Santrali PDGFRβ H Skoru	Medyan (Min-Max); Ort±SS	0	0
	H Skoru < 0	0	0,0
	H Skoru ≥ 0	69	100,0
Tümör Santrali CAF	**CAF-1**	25	36,2
	CAF-2	13	18,9
	CAF-3	17	24,6
	CAF-4	14	20,3
Tümör Periferi FAP-α H Skoru	Medyan (Min-Max); Ort±SS	1 (0-120)	12,46±25,44
	H Skoru < 1	27	39,1
	H Skoru ≥ 1	42	60,9
Tümör Periferi α-SMA H Skoru	Medyan (Min-Max); Ort±SS	0 (0-20)	0,67±2,91
	H Skoru < 1	60	87,0
	H Skoru ≥ 1	9	13,0
Tümör Periferi PDGFRβ H Skoru	Medyan (Min-Max); Ort±SS	0	0
	H Skoru < 0	0	0,0
	H Skoru ≥ 0	69	100,0
Tümör Periferi CAF	**CAF-1**	9	13,0
	CAF-2	33	47,9
	CAF-3	0	0
	CAF-4	27	39,1

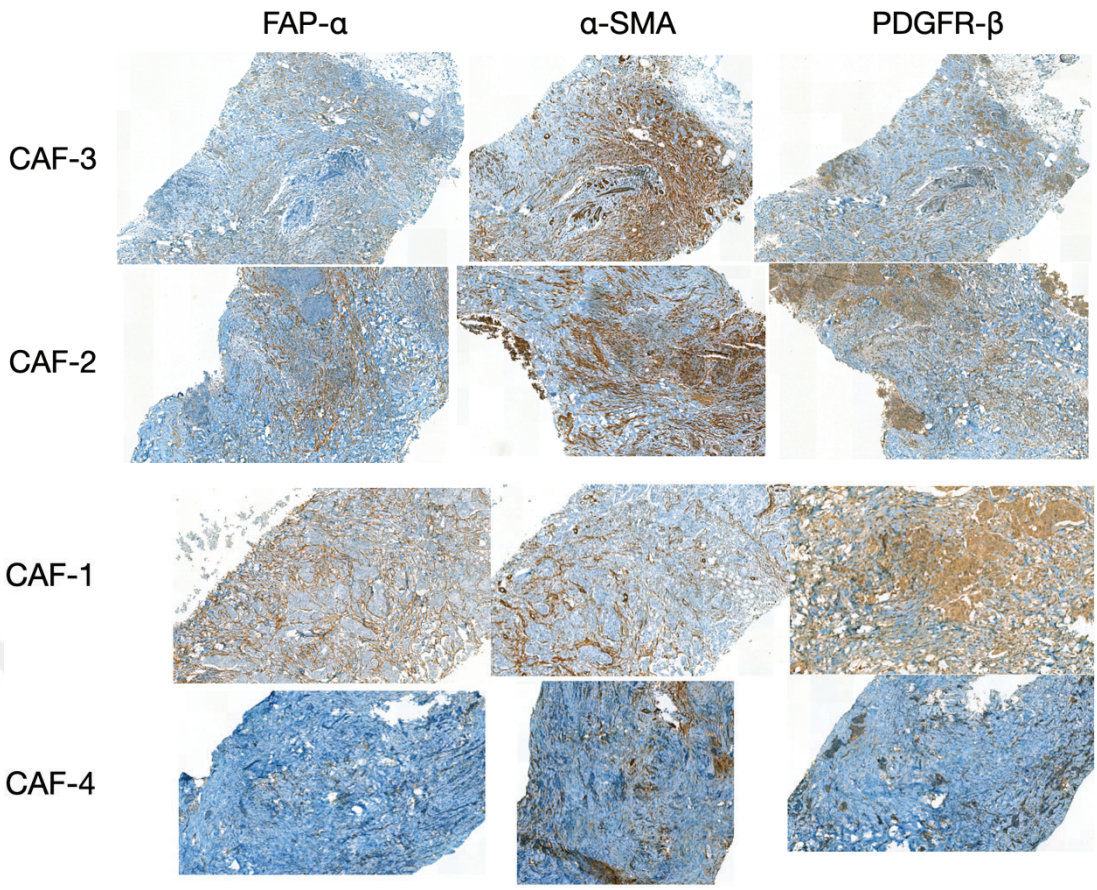
FAP-α: Fibroblast Activating Protein alfa, α-SMA:alfa Smooth Muscle Actin, PDGFRβ: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktör Reseptörü Beta, H-Skor: Histolojik Skor, CAF:Kanser İlişkili Fibroblast

Medyan değere eşit ve değerden büyük H-skorları ilgili immün boyama için pozitif medyan değerin altındaki H-skorları negatif kabul edildi. PDGFRβ ile boyanan tüm preparatlarda H-skoru 0 olarak hesaplandı. Bu sebeple tüm CAF gruplarında negatif olarak değerlendirildi. Örnek çalışmalarda olduğu gibi CAF'lar, H-skorları baz alınarak istatistiksel olarak 4 gruba ayrıldı (55). CAF-1: FAP-α pozitif, α-SMA pozitif, PDGFRβ negatif; CAF-2: FAP-α pozitif, α-SMA negatif, PDGFRβ negatif; CAF-3: FAP-α negatif, α-SMA pozitif, PDGFRβ negatif; CAF-4: FAP-α negatif, α-SMA negatif, PDGFRβ negatif olarak gruplandırıldı.

Olguların tümör santralinde FAP-α H skorları 5 ile 320 arasında değişmekte olup, ortalama 148,70±84,04 ve medyan 160'dır. Olguların tümör santrali α-SMA H skorları 40 ile 360 arasında değişmekte olup, ortalama 261,16±81,25 ve medyan 280'dir. Medyan değerlerine göre oluşturulan CAF gruplaması incelendiğinde; %36,2'sinin (n=25) CAF-1, %18,9'unun (n=13) CAF-2, %24,6'sının (n=17) CAF-3, %20,3'ünün (n=14) ise CAF-4 olduğu görülmektedir.

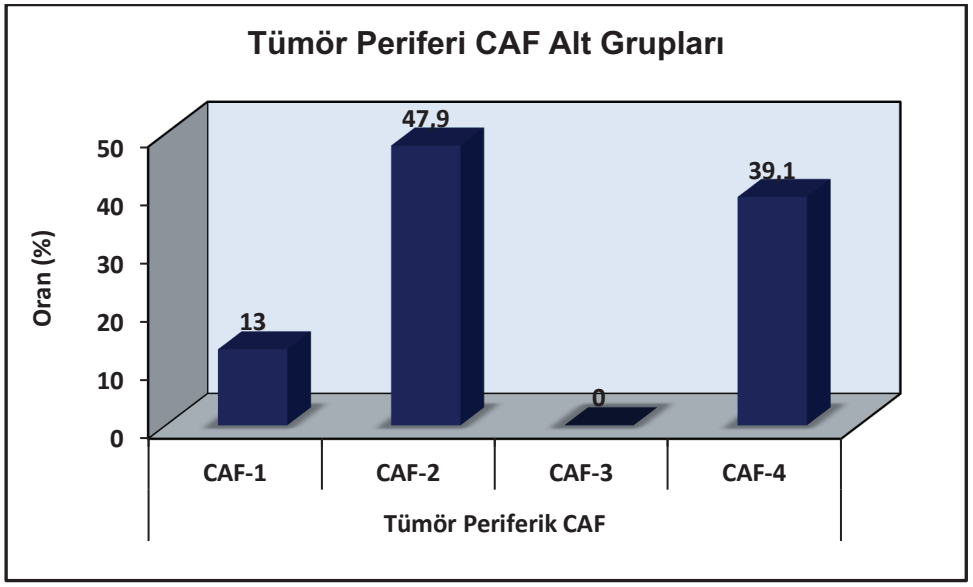


Şekil 3: Tümör santralinde CAF alt gruplarının dağılımı

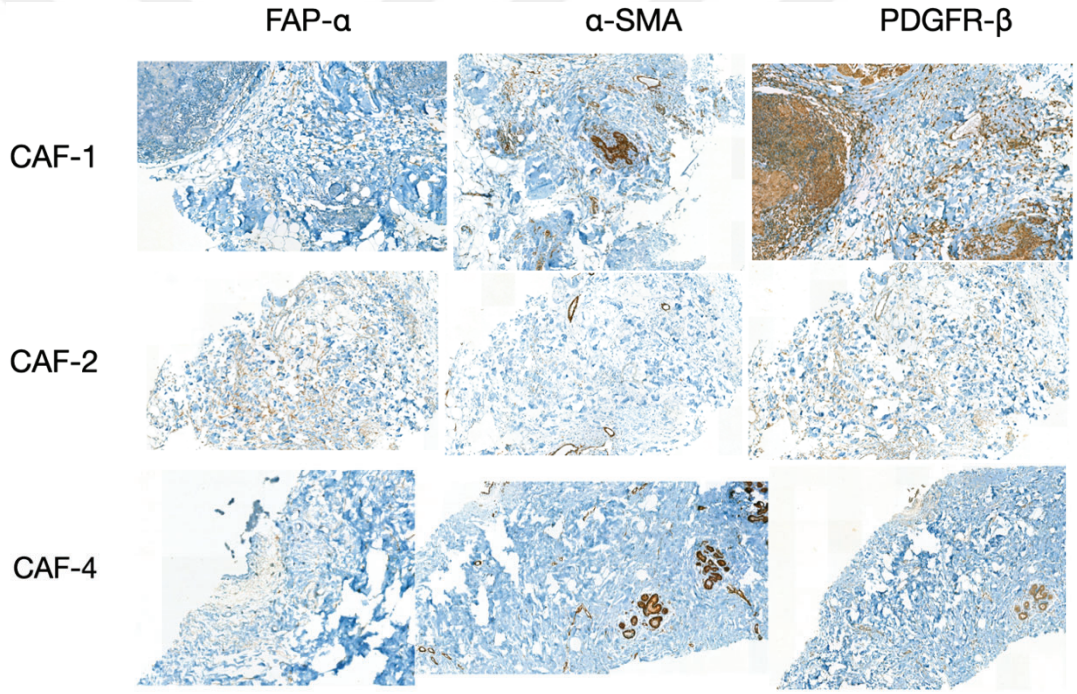


Şekil 4: Tümör santralindeki CAF alt gruplarının immünhistokimyasal olarak gruplandırılması

Olguların tümör periferi FAP-α H skorları 0 ile 120 arasında değişmekte olup, ortalama 12,46±25,44 ve medyan 1'dir. Olguların tümör periferi α-SMA H skorları 0 ile 20 arasında değişmekte olup, ortalama 0,67±2,91 ve medyan 0'dir. Medyan değerlerine göre oluşturulan CAF gruplaması incelendiğinde; %13,0'ünün (n=9) CAF-1, %47,9'unun (n=33) CAF-2, %39,1'inin (n=27) ise CAF-4 olduğu görülmektedir.



Şekil 5: Tümör periferindeki CAF alt gruplarının dağılımı



Şekil 6: Tümör periferindeki CAF alt gruplarının immünhistokimyasal olarak gruplandırılması

Tablo 7: Tümör Santralinde CAF Gruplarına Göre Değerlendirmeler

		TM Santrali CAF				
		CAF-1 (n=25)	CAF-2 (n=13)	CAF-3 (n=17)	CAF-4 (n=14)	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	p
Yaş (yıl)	Medyan (Min-Max)	57 (32-82)	51 (23-85)	46 (34-68)	44,5 (24-71)	[a]**0,230**
	Ort±SS	54,16±13,32	53,46±18,83	47,71±10,16	45,5±10,71	

Subgrup	**Luminal B**	5 (20,0)	2 (15,4)	7 (41,2)	6 (42,9)	[b]**0,771**
	Luminal B Her2+	8 (32,0)	3 (23,1)	3 (17,6)	3 (21,4)	
	Her2 + Sınıf	4 (16,0)	3 (23,1)	3 (17,6)	1 (7,1)	
	Üçlü Negatif	8 (32,0)	5 (38,5)	4 (23,5)	4 (28,6)	
Her2 Reseptörü	**Pozitif**	12 (48,0)	6 (46,2)	6 (35,3)	4 (28,6)	[c]**0,621**
	Negatif	13 (52,0)	7 (53,8)	11 (64,7)	10 (71,4)	
Nükleer Grade (n=68)	**Grade 1**	0 (0)	0 (0)	1 (5,9)	0 (0)	[b]**0,227**
	Grade 2	4 (16,0)	4 (33,3)	7 (41,2)	3 (21,4)	
	Grade 3	21 (84,0)	8 (66,7)	9 (52,9)	11 (78,6)	
cN	**0**	10 (40,0)	7 (53,8)	8 (47,1)	3 (21,4)	[b]**0,582**
	1	10 (40,0)	3 (23,1)	7 (41,2)	8 (57,1)	
	2	4 (16,0)	1 (7,7)	2 (11,8)	2 (14,3)	
	3	1 (4,0)	2 (15,4)	0 (0)	1 (7,1)	
NAK	**Yok**	5 (20,0)	4 (30,8)	4 (23,5)	1 (7,1)	[b]**0,476**
	Var	20 (80,0)	9 (69,2)	13 (76,5)	13 (92,9)	
TIL (%)	Medyan (Min-Max)	5 (0-85)	7,5 (0-70)	10 (0-90)	0 (0-85)	[a]**0,378**
	Ort±SS	12,9±18,85	19,04±22,63	27,21±31,32	15,71±26,3	
İn situ komponent (n=68)	**Yok**	13 (52,0)	5 (41,7)	10 (58,8)	6 (42,9)	[c]**0,756**
	Var	12 (48,0)	7 (58,3)	7 (41,2)	8 (57,1)	
LVI (n=68)	**Yok**	19 (76,0)	9 (75,0)	11 (64,7)	9 (64,3)	[b]**0,796**
	Var	6 (24,0)	3 (25,0)	6 (35,3)	5 (35,7)	
RCB Skoru (n=52)	**PCR**	10 (50,0)	6 (75,0)	6 (50,0)	3 (25,0)	[b]**0,513**
	Sınıf 1	4 (20,0)	0 (0)	1 (8,3)	3 (25,0)	
	Sınıf 2	6 (30,0)	2 (25,0)	4 (33,3)	5 (41,7)	
	Sınıf 3	0 (0)	0 (0)	1 (8,3)	1 (8,3)	

[a]Kruskal Wallis Test [b]Fisher Freeman Halton Exact Test [c]Pearson Chi-Square Test

Tümör santrali CAF gruplarına göre olguların yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

Tümör santrali CAF gruplarına göre subgrup, nükleer gradeleri ve Her2 reseptör durumu istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Tümör santrali CAF gruplarına göre cN ve NAK verilme oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Tümör santrali CAF gruplarına göre olguların TIL (%) ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

Tümör santrali CAF gruplarına göre in-situ komponent varlığı ve LVI görülme oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Tümör santrali CAF gruplarına göre olguların RCB skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

Tablo 8: Tümör Periferinde CAF Gruplarına Göre Değerlendirmeler

		TM Periferi CAF			
		CAF-1 (n=9)	**CAF-2 (n=33)**	**CAF-4 (n=27)**	
		n (%)	**n (%)**	**n (%)**	**p**
Yaş (yıl)	Medyan (Min-Max)	49 (24-85)	51 (32-77)	47 (23-82)	[a]**0,453**
	Ort±SS	48,33±17,53	52,64±13,20	49,07±12,87	
Subgrup	**Luminal B**	4 (44,4)	7 (21,2)	9 (33,3)	[b]**0,280**
	Luminal B Her2 +	1 (11,1)	7 (21,2)	9 (33,3)	
	Her2+ Sınıf	1 (11,1)	5 (15,2)	5 (18,5)	
	Üçlü Negatif	3 (33,3)	14 (42,4)	4 (14,8)	
Her2 Reseptörü	**Pozitif**	2 (22,2)	12 (36,4)	14 (51,9)	[c]**0,232**
	Negatif	7 (77,8)	21 (63,6)	13 (48,1)	
Nükleer Grade (n=68)	**Grade 1**	0 (0)	0 (0)	1 (3,7)	[b]**0,732**
	Grade 2	2 (22,2)	10 (31,3)	6 (22,2)	
	Grade 3	7 (77,8)	22 (68,8)	20 (74,1)	
cN	**0**	3 (33,3)	18 (54,5)	7 (25,9)	[b]**0,326**
	1	5 (55,6)	9 (27,3)	14 (51,9)	
	2	1 (11,1)	4 (12,1)	4 (14,8)	
	3	0 (0)	2 (6,1)	2 (7,4)	
NAK	**Yok**	1 (11,1)	8 (24,2)	5 (18,5)	[c]**0,657**
	Var	8 (88,9)	25 (75,8)	22 (81,5)	
TIL (%)	Medyan (Min-Max)	5 (0-26,5)	10 (0-85)	10 (0-90)	[a]**0,620**
	Ort±SS	7,11±7,93	21,24±27	18,06±25,04	
İn situ komponent (n=68)	**Yok**	6 (66,7)	18 (56,3)	10 (37,0)	[b]**0,200**
	Var	3 (33,3)	14 (43,8)	17 (63,0)	
LVI (n=68)	**Yok**	6 (66,7)	25 (78,1)	17 (63,0)	[c]**0,428**
	Var	3 (33,3)	7 (21,9)	10 (37,0)	
RCB Skoru (n=52)	**PCR**	3 (42,9)	10 (41,7)	12 (57,1)	[b]**0,882**
	Sınıf 1	1 (14,3)	4 (16,7)	3 (14,3)	
	Sınıf 2	3 (42,9)	8 (33,3)	6 (28,6)	
	Sınıf 3	0 (0)	2 (8,3)	0 (0)	

[a]Kruskal Wallis Test [b]Fisher Freeman Halton Exact Test [c]Pearson Chi-Square Test

Tümör periferi CAF gruplarına göre olguların yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

Tümör periferi CAF gruplarına göre subgrup, Her2 reseptör durumu ve nükleer gradeleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Tümör periferi CAF gruplarına göre cN ve NAK verilme oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Tümör periferi CAF gruplarına göre olguların TIL (%) ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

Tümör periferi CAF gruplarına göre in-situ komponent varlığı ve LVI görülme oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Tümör periferi CAF gruplarına göre olguların RCB skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

Tablo 9: Patolog ve Yapay Zeka Tarafından Hesaplanan H-skoru İlişkisi

H Skoru	r	p
Tümör Santrali FAP-α & Yapay Zeka ilişkisi	0,650	**0,001****
Tümör Santrali α-SMA & Yapay Zeka ilişkisi	0,229	**0,067**
Tümör Periferi FAP-α & Yapay Zeka ilişkisi	0,745	**0,001****
Tümör Periferi α-SMA & Yapay Zeka ilişkisi	0,306	**0,017***
r: Spearman's Korelasyon Katsayısı	*p<0,05	**p<0,01

Korelasyon katsayısının (r) değerlendirilmesi aşağıdaki ölçüte göre yapılır:

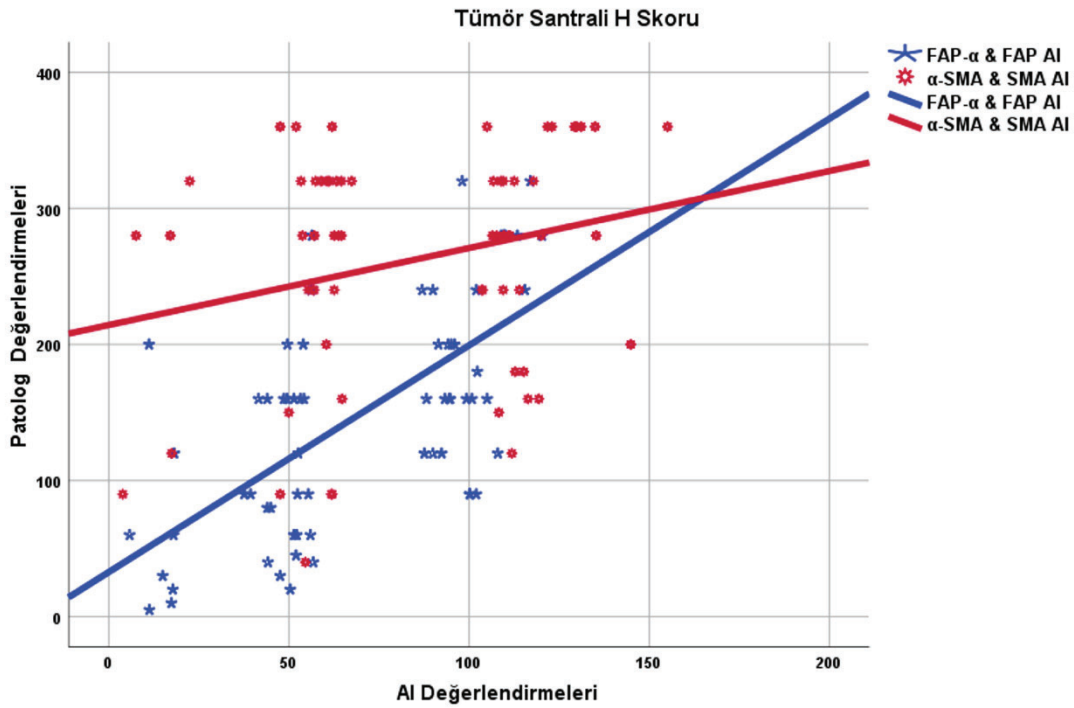
0 - 0,25	Çok zayıf
0,26 - 0,49	Zayıf
0,50 - 0,69	Orta
0,70 - 0,89	İyi
0,90 - 1,00	Çok iyi (56)

Tümör santrali FAP-α ölçümleri AI sonuçları arasında pozitif yönlü *(biri arttıkça diğeri de artan, biri azaldıkça diğeri de azalan)* istatistiksel olarak anlamlı orta düzeyde ilişki saptanmıştır (r:0,650; p=0,001; p<0,01).

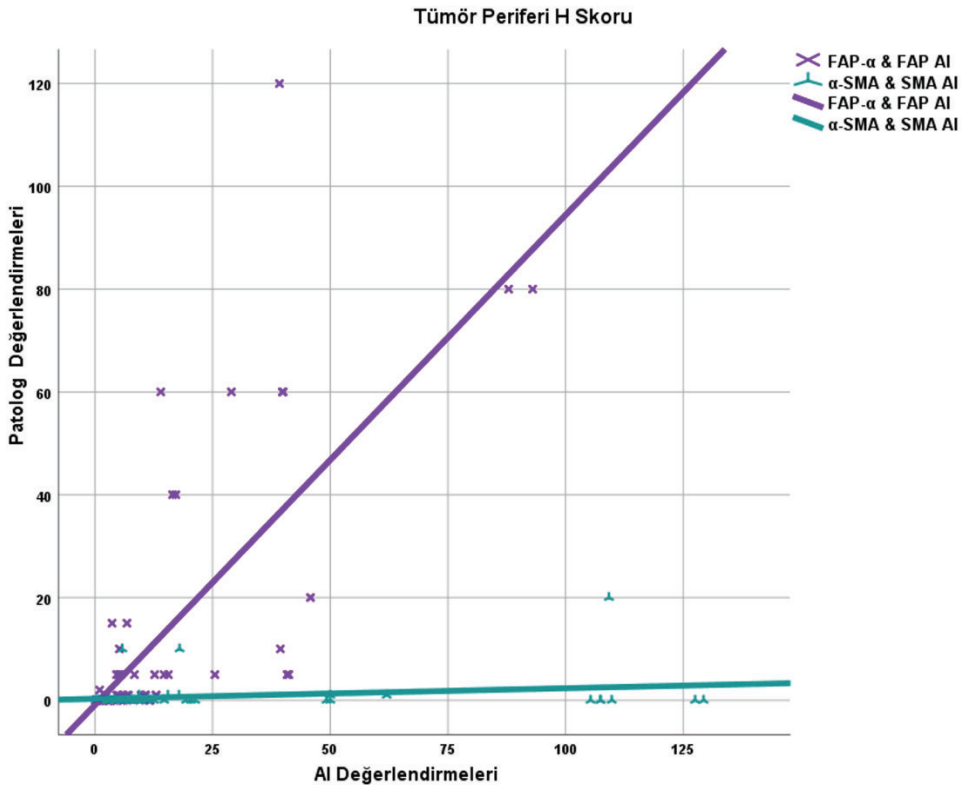
Tümör santrali α-SMA ölçümleri AI sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p>0,05).

Tümör periferi FAP-α ölçümleri AI sonuçları arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı iyi düzeyde ilişki saptanmıştır (r:0,745; p=0,001; p<0,01).

Tümör periferi α-SMA ölçümleri AI sonuçları arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı zayıf düzeyde ilişki saptanmıştır (r:0,306; p=0,017; p<0,05).



Şekil 7: Tümör Santralinde Patolog ve Yapay Zeka Tarafından Hesaplanan FAP-α ile α-SMA H-skorlarının İlişkisi



Şekil 8: Tümör Periferinde Patolog ve Yapay Zeka Tarafından Hesaplanan FAP-α ile α-SMA H-skorlarının İlişkisi

Tablo 10: Patolog ve Yapay Zeka Tarafından Hesaplanan H-skorlarının Uyumu

H Skoru		Patolog	AI
Tümör Santrali FAP-α	Medyan (Min-Max)	160 (5-320)	56,40 (5,8-120,3)
	Ort±Ss	148,70±84,04	69,60±32,28
	ICC %95 CI	**0,604** (0,356-0,757)	
	p	**0,001****	
Tümör Santrali α-SMA	Medyan (Min-Max)	280 (40-360)	67,4 (3,9-155,1)
	Ort±Ss	261,16±81,25	84,08±36,28
	ICC %95 CI	**0,304** (-0,141-0,576)	
	p	**0,075**	
Tümör Periferi FAP-α	Medyan (Min-Max)	1 (0-120)	6,8 (0,1-93)
	Ort±Ss	12,46±25,44	13,87±6,80
	ICC %95 CI	**0,817** (0,701-0,888)	
	p	**0,001****	
Tümör Periferi α-SMA	Medyan (Min-Max)	0 (0-20)	7,8 (0,2-129,3)
	Ort±Ss	0,67±2,91	22,74±35,80
	ICC %95 CI	**0,078** (-0,543-0,449)	
	p	**0,378**	

ICC: İntraclass Correlation Coefficient **p<0,01

Tablo 11: ICC Skorunun Değerlere Göre Yorumu (57)

ICC	Yorum
< 0.40	Zayıf
0.40 — 0.59	Orta
0.60 — 0.74	İyi
0.75 — 1.00	Mükemmel

Tümör santrali FAP-α ile AI değerleri arasında 0,817 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı iyi uyum saptanmıştır (p=0,001; p<0,01) [ICC: 0,604; %95 Cl (0,556-0,757)].

Tümör santrali α-SMA ile AI değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum saptanmamıştır (p=0,075; p>0,05).

Tümör periferi FAP-α ile AI değerleri arasında 0,817 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı mükemmel uyum saptanmıştır (p=0,001; p<0,01) [ICC: 0,817; %95 Cl (0,701-0,888)].

Tümör periferi α-SMA ile AI değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum saptanmamıştır (p=0,378; p>0,05).

5.TARTIŞMA

Günümüzde tümörler, birbirini etkileyen çeşitli hücresel ve çevresel bileşenlerle oldukça karmaşık yapılar olarak kabul edilmektedir. TME'nin temel bileşenlerinden biri olan CAF'lar, kanserin başlangıcından büyümesine, invazyonuna, metastazına ve ilaç direncine kadar tüm aşamalarında önemli rol oynamaktadırlar (58). CAF'lar, meme tümörünün progresyonunu en çok destekleyen hücre popülasyonlarından biridir. Bu hücreler hem erken evrede hem de geç evrede aktif hale gelirler. Büyüme faktörleri, sitokinler, östrojenler, ECM enzimleri ve proteinleri aracılığıyla tümörün başlangıcına, büyümesine, metastazına ve tedaviye direnç göstermesine katkıda bulunurlar. Ayrıca, sadece CAF'lar ile meme tümör hücreleri arasında değil, aynı zamanda bu iki hücre tipi ile meme tümör mikroçevresinin diğer bileşenleri arasında da bir iletişim bulunmaktadır (59). Şu anda, insan meme kanserinde CAF'ların net ve doğru bir moleküler sınıflandırması bulunmamaktadır, bu da onların klinik tanıda kullanımını zorlaştırmaktadır.

Aktive CAF'ların fenotipik heterojenliği, belirli TME'ler bağlamında seçici ekspresyon paternleri gösteren geniş bir biyolojik belirteç yelpazesiyle ortaya çıkmaktadır. Önceki çalışmalar α-SMA, FAP-α, ve PDGFRβ'nın CAF'ları tanımlamak için bir belirteç seti olarak kullanılabileceğini göstermiştir (60). Ancak, bu hücre yüzeyi belirteçlerinin hiçbiri sadece CAF'lara özgü değildir; bu durum fibroblastların heterojenliğini de vurgulamaktadır. Bu belirteçler spesifik olmasa da, bir arada kullanıldıklarında CAF'ları tanımlamak için faydalı olduğu görülmüştür (58). Biz de çalışmamızda α-SMA, FAP-α, ve PDGFRβ immün belirteçlerini kullanarak CAF'ları tanımlayıp hastaların klinikopatolojik verileriyle karşılaştırdık.

American Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) verilerine göre meme kanserinin medyan görülme yaşı 63 olup 50 yaş altı ve üstünde belirgin fark görülürken, bizim çalışmamızda ise ortalama yaş 50,68±13,6 olup 50 yaş altı ve üstü dağılımlarında belirgin fark görülmemektedir ve tespit ettiğimiz CAF subgrupları ile yaş arasında bir korelasyon saptanmamıştır. Bu sebeple prediktif olarak CAF

subgruplarının değerlendirilmesi ve prognoz için yaşın belirleyici özelliği bulunmamaktadır.

Meme kanserinde CAF subgrupları farklı çalışmalarda bilinen prognostik klinikopatolojik kriterler ile ilişkilendirilmiştir. Meme kanseri moleküler subtipleri, tümör büyüklüğü, aksiller lenf nodu durumu, yüksek histolojik ve nükleer grade, LVI, gibi birçok klinikopatolojik özellik değerlendirilmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir (58,59,61,62). Costa ve arkadaşları, meme kanserinde CD29, FAP, α-SMA, PDGFR-β, FSP1 (Fibroblast Spesific Protein-1) ve CAV1 (Caveolin-1) ekspresyon düzeylerine göre dört farklı CAF alt grubu belirlediler. CAF alt grupları ile meme kanseri alt tipleri arasında anlamlı bir ilişki buldular. Alt gruplar şu şekilde tanımlandı: **CAF-S1**: CD29 Orta, FAP Yüksek, FSP1 Düşük−Yüksek, α-SMA Yüksek, PDGFR-β Orta−Yüksek ve CAV1 Düşük; **CAF-S2**: CD29 Düşük, FAP Negatif, FSP1 Negatif−Düşük, α-SMA Negatif, PDGFR-β Negatif ve CAV1 Negatif; **CAF-S3**: CD29 Orta, FAP Negatif, FSP1 Orta−Yüksek, α-SMA Negatif−Düşük, PDGFR-β Orta ve CAV1 Negatif−Düşük; **CAF-S4**: CD29 Yüksek, FAP Negatif, FSP1 Düşük−Orta, α-SMA Yüksek, PDGFR-β Düşük−Orta ve CAV1 Negatif−Düşük. CAF-S1 grubu üçlü negatif meme kanserinde baskınken, CAF-S4 grubu HER2 pozitif meme kanserlerinde baskındı. Ancak, CAF alt gruplarının tek başlarına meme kanseri hastalarının sağkalımını öngördüğüne dair bir bulguya rastlanmadı (63). Park ve arkadaşları, 642 insan meme kanseri örneğinden oluşan bir çalışma gerçekleştirdiler. Bu çalışmada, Her2 pozitif meme tümörlerinden elde edilen CAF'larda podoplanin, prolyl 4-hidroksilaz, FAP, S100A4, PDGFR-α, PDGFR-β ve kondroitin sülfat proteoglikan proteinlerinin yüksek ekspresyonunu buldular. Buna karşılık, bu proteinlerin ekspresyonunun luminal A ve üçlü negatif meme tümörlerinde daha düşük olduğu gözlemlendi (64). Başka çalışmalarda ise stromal hücrelerdeki PDGFRβ ekspresyonu, histopatolojik derece ve HER2 ekspresyonu ile pozitif korelasyon gösterirken, ER ekspresyonu ile negatif korelasyon göstermiştir (65,66). Bizim çalışmamızda ise CAF alt grupları ile moleküler alt tip, nükleer grade LVI, in-situ komponent varlığı ve TIL yüzdesi arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır. Moleküler alt tip grupları ve CAF alt grupları arasında anlamlı korelasyon saptanmamasının çalışmamızdaki hasta sayısının az olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Meme kanserinin klinik tanı ve prognozu için bazı CAF belirteçlerinin tanımlanmasının önemi, geçmişte olduğu gibi günümüzde de kapsamlı bir şekilde

incelenmektedir. Bu bağlamda, Yamashita ve arkadaşları, miyofibroblastlardaki α-SMA ekspresyonunun, invaziv meme kanseri hastalarında metastaz ve kötü prognoz için bağımsız bir prognostik faktör olduğunu belirlediler (67). Ayrıca, PDGFR-β ve FAP, hastalık nüksü, hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım süreleri ile anlamlı derecede ilişkilidir (65,68,69). Başka çalışmalarda, α-SMA-pozitif miyofibroblastların oranı, tümör hücrelerinin proliferasyonu ile pozitif; genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım ile negatif korelasyon göstermiştir (69,70). FAP-pozitif CAF'lar, dipeptidil peptidaz 4 bağımlı bir mekanizma aracılığıyla düzeleyici T hücre aktivasyonunu sağlamış ve immünsüpresif bir aktivite göstermiştir; bu durum kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, FAP-negatif CAF alt grubunun, daha kötü bir prognozla karakterize edilen üçlü negatif meme kanserinde immünsüpresif bir ortamı teşvik edebileceği gösterilmiştir (63). Ancak beklenmedik bir şekilde, bir çalışmada FAP'ın yüksek ekspresyonunun, invaziv duktal karsinom hastalarında daha uzun genel ve hastalıksız sağkalım ile pozitif bir ilişki gösterdiği ortaya koyulmuştur (71). Stromal hücrelerde PDGFRβ ekspresyonu, radyoterapi yararı, hastalıksız sağkalım ve meme kanserine özgü sağkalımla da negatif korelasyon göstermiştir (65,66,72). Bununla birlikte, stromal PDGFRβ ekspresyonu, genç ve premenopozal meme kanseri hastaları arasında daha iyi bir prognostik değere sahip olmuştur (65,66). Strell ve arkadaşları DCIS'li hastalarda nüks riskinin arttığının bir işareti olarak PDGFRα düşük/PDGFRβ yüksek fibroblast alt grubunu tanımlamıştır (73). Bu çalışmalar ışığında, moleküler belirteçlerin değerlendirilmesi durumunda CAF'lar, meme kanseri hastalarının klinik tanı ve prognozunun belirlenmesi açısından büyük bir potansiyele sahiptir (74).

Bizim çalışmamıza benzer şekilde CAF'ların alt gruplandırılmasına dayanan klinik çalışmalarda prognoz belirlenmesi açısından anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Bir çalışmada CAF'ların prognostik rolünü güçlü bir şekilde destekleyen bir bulgu olarak, vasküler CAF (vCAF) alt grubunun; lenf nodu durumu, tümör boyutu, HER2 reseptör durumu ve proliferatif indeks gibi yaygın risk faktörlerini içeren koşullu lojistik regresyon modelinde metastatik hastalık gelişme riski ile ilişkili bağımsız bir prognostik göstergesi olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, matriks CAF (mCAF) alt grubu da daha düşük bir düzeyde de olsa metastatik hastalık riski ile ilişkilendirilmiştir (75). Yine CAF alt gruplandırılmasına dayanan fakat farklı olarak aksiller lenf düğümlerinde de CAF tespiti yapılan bir çalışmada ise lenf düğümlerindeki CAF-S1/CAF-S4 alt gruplarında prognostik bir değer bulurken,

primer tümörlerdeki CAF alt gruplarında herhangi bir prognostik değer bulunamamıştır. Metastatik lenf düğümlerinin %96'sında CAF-S1 ve CAF-S4 birikimi tespit edilmiştir. Dikkat çekici bir şekilde, lenf düğümlerindeki yüksek stromal içerik, daha kısa bir hastalıksız sağkalım süresi ile ilişkilendirilmiş ve benzer bir eğilim genel sağkalım için de gözlemlenmiştir. Tanı anında lenf düğümlerinde yüksek stromal içerik gösteren hastalar arasında, CAF-S4 baskın olanlar en kötü genel sağkalımı sergilemiştir (55). Bizim çalışmamızda da benzer olarak primer tümörlerin hem santralinden hem periferinden alınan örneklerde tespit edilen ve alt gruplara ayrılan CAF'lar ile hastaların nüks, metastatik hastalık, mortalite ve tanı anındaki aksiller lenf nodu durumu arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir. Ayrıca klinik olarak takip edilen hastaların prognostik göstergeleri açısından tanı sonrası NAK'a yönlendirilip yönlendirilmedikleri de CAF alt gruplarıyla karşılaştırılmış olup anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Sonuçlarımızda istatistiksel olarak bir anlam tespit edilememesinin nedeninin CAF alt gruplarının primer tümörlerde heterojen olması bu heterojenliğin karakterizasyonu ve CAF fonksiyonlarıyla olan bağlantısının hâlâ tam olarak anlaşılamaması olduğunu düşünmekteyiz (63). CAF'ların tümör invazyonundaki ve gelişimindeki rolü iyi bir şekilde ortaya konmuş olsa da klinik prognoz açısından daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu görüşündeyiz.

Kanser hücrelerinin genomik instabilitesinin sonucu olarak ilaç direnci gelişmesi halinde; meme kanseri hastalarında tedaviye yanıt alınamayabildiği bilinmektedir (76). Bu nedenle, hedefe yönelik tedaviler için CAF'lar gibi genetik olarak stabil bir tümör stromal hücresi seçmek oldukça önemlidir (77). CAF'ların ilaç direncindeki yerini aydınlatmak için yapılan çalışmalar mevcuttur. Brechbuhl ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada CD146-pozitif CAF'ların tamoksifen duyarlılığına sebep olduğu, komşu meme kanseri hücrelerindeki CD146-negatif CAF'ların ise ER baskılanmasını tetikleyerek tamoksifen direncine neden olduğu gösterilmiştir (78). Meme kanserinde bulunan CAF'lar, IGF-2(Insulin Like Growth Factor-2) salınımı yoluyla Hedgehog sinyal yolunu aktive ederek meme kanseri hücrelerinde paklitaksel direncini tetikler (79). Ayrıca, CAF'lar meme kanserinin hedefe yönelik tedavilere yanıtını modüle edici bir rol üstlenir. Örneğin, tirozin kinaz inhibitörü gefitinib'e direnç, CAF'lar tarafından Hepatosit Büyüme Faktörü salınımıyla ilişkilendirilmiştir. CAF'lar tarafından salgılanan IL-6 'nın ise meme kanserlerinde trastuzumab direncine parakrin bir şekilde katkıda bulunabileceğini doğrulamaktadır (80). CAF alt

gruplandırılmasına dayanan bir çalışmada ise sCAF(S100A4+ CAF) alt grubunun hem patolojik tam yanıt hem de rezidüel hastalık olan gruplarda benzer şekilde ifade edildiği ve nüks olmayan hastalarda nüks yaşayanlara kıyasla anlamlı şekilde kümelendiği gösterildi. Buna karşılık, CAF-S1 ve pCAF(Podoplanin+ CAF) alt gruplarının her ikisinin de anti-HER2 tedaviye yanıt vermeyen ve tedavi sonrası nükse eğilimli HER2+ meme kanseri hastalarında anlamlı derecede kümelendiği bulundu. Dolayısıyla, CAF-S1 ve pCAF ile ilişkili immünosupresif fonksiyonların, HER2+ meme kanseri hastalarında trastuzumab direnciyle bağlantılı olabileceği düşünüldü (81). Biz de çalışmamızda kemoterapiye verilen yanıtı belirtirken objektif değerlendirmenin sağlanabilmesi için MD Anderson RCB hesaplayıcısı kullandık (82). Çalışmamızdaki 69 hastanın 52'si NAK'ye yönlendirilmişti. 52 hastanın RCB skoru hesaplandığında 25 hastada patolojik tam yanıt, 8 hastada RCB sınıf 1, 17 hastada RCB sınıf 2 ve 2 hastada RCB sınıf 3 görüldü. RCB skorlarının tümör periferindeki ve santralindeki CAF alt grupları ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir kümelenme görülmedi. Bu senaryoda, kanser tedavisi için tüm CAF popülasyonunun spesifik olmayan şekilde hedeflenmesinin etkisiz hatta zararlı olabileceğini düşünmekteyiz. Bu durum, terapötik hedefleme için tümör destekleyici CAF alt gruplarının belirlenmesi gerektiğini göstermektedir. Dolayısıyla, gelecekteki hassas tedaviler için tümör destekleyici ve tümör karşıtı CAF alt gruplarını ayırt edebilmek amacıyla daha spesifik ve güvenilir hücre yüzeyi belirteçleri bulunmalıdır.

Meme patolojisi, meme kanseri tanı ve tedavisinin temelini oluşturur. Geleneksel olarak meme kanseri tanısı, mikroskobik histopatolojik özelliklere dayanır. Dijital patoloji, daha hassas ve hızlı tanı sonuçları sağlamak için manuel inceleme yerine dijital ve bilgisayar destekli görüntü analiz tekniklerini kullanır (83). Derin öğrenme ve makine öğrenme algoritmaları dijital patoloji görüntülerini otomatik olarak segmentleyebilir, sınıflandırabilir ve tanımlayabilir; böylece patolojik incelemenin doğruluğunu ve etkinliği artırılabilir (84). Geleneksel biyobelirteçler duyarlılık ve özgüllükten yoksundur; bu nedenle araştırmacılar, yapay zeka destekli biyobelirteç ekspresyon değerlendirmesini önermişlerdir (85). Bir çalışmada, ER, PR ve HER2 durumları derin öğrenme algoritması kullanılarak değerlendirilmiş ve ER, PR ve HER2 değerlendirmeleri yüksek eğri altındaki alan(AUC) değerleri ile iyi bir performans göstermiştir (86). Meng ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çok merkezli bir çalışmada, 74 HER2 skor 0 ve 126 HER2 skor 1+ invaziv meme kanseri

örneği 15 patolog tarafından yorumlanmıştır. Kappa değeri (%95 Güven Aralığı) 0.58 iken, yapay zeka destekli ikinci tur değerlendirme sonrası HER2 yorumlama doğruluğu önemli ölçüde iyileşmiştir (Kappa değeri 0.82); ve yapay zeka sonuçlarının doğruluğu genel olarak patologların sonuçlarıyla tutarlıydı (Kappa değeri 0.83). Bu nedenle, yapay zeka destekli yorumlama, HER2 skor 0/1+ sonuçlarının doğruluğunu artırabilir (87). Xie ve arkadaşları ölçekten bağımsız özellik dönüşümü tabanlı bir sistem geliştirerek meme kanserinde Ki-67 hesaplamasını bilgisayar destekli bir şekilde gerçekleştirmiştir. Bu sistem, tüm lam görüntülerinde Ki-67 pozitif kanser hücrelerini etkili bir şekilde tanımladı ve %91,5 doğrulukla Ki-67 indeksini hesapladı. Bu sistem, her bir Ki-67 sonucunun süresini 2 saniyenin altına düşürdü (88). Bu çalışmada da görüldüğü gibi yapay zeka ile immün belirteç tespiti geleneksel tespit yöntemlerine göre sonuç elde etmemizi ciddi derecede hızlandırmaktadır. CAF tespiti gibi uzun süre ve emek gereken belirteçlerde yapay zeka kullanımı, belirteçlerin tespitini kolaylaştırıp rutin biyobelirteç olarak kullanılmasının önünü açacaktır.

Meme patolojisinde yapay zeka teknolojisinin uygulaması hala başlangıç aşamasında olmasına rağmen, teknolojideki sürekli ilerlemeler ve veri hacmindeki artış ile birlikte, meme kanseri patolojisinin tanı ve tedavisinde daha hızlı, daha kullanışlı, doğru ve kişiselleştirilmiş tedavi planları sunarak önemli bir araç haline geleceğine inanılmaktadır. Bizim çalışmamızda da klinik sonuçlarla anlamlı bir ilişki göstermemelerine rağmen, FAP-α ekspresyonu ile yapay zeka tabanlı metrikler arasındaki güçlü korelasyon, yapay zeka tabanlı dijital patolojinin CAF karakterizasyonundaki potansiyelini vurgulamaktadır. Bu bulgular, tümör progresyonu ve tedavi direncinde CAF'ların rollerinin daha fazla araştırılmasını ve yenilikçi terapötik stratejilere rehberlik edilmesini desteklemektedir.

Bu çalışmanın sonuçlarını yorumlarken dikkate alınması gereken birkaç kısıtlılık bulunmaktadır. Birincisi, hasta sayısının düşük olması analizlerin istatistiksel gücünü azaltmakta ve bulguların genelleştirilebilirliğini sınırlamaktadır. Gelecekte daha geniş hasta gruplarıyla yapılacak çalışmalar, sonuçlarımızın doğrulanması için gereklidir. İkincisi, çalışmada yer alan moleküler alt tip gruplarındaki hasta dağılımının eşit olmaması alt grup analizlerinde yanlılık oluşturmuş ve sonuçları etkilemiş olabilir. Moleküler alt tip gruplarının daha dengeli bir şekilde temsil edildiği çalışmalar, bu tür karşılaştırmalardan elde edilen sonuçların güvenilirliğini artıracaktır. Üçüncüsü, CAF tespiti ve tanımlanması patolog tarafından zor ve

subjektif bir süreç olmasından dolayı bazı zorluklar yaratmıştır. Bu değişkenlik, sonuçların tekrarlanabilirliğini etkileyebilir ve yapay zeka gibi standardize objektif yöntemlere ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇLAR

CAF'ların genel olarak kabul edilen kökenleri ve belirteçleri hala net bir şekilde tanımlanmamıştır; bu da CAF'ları araştırmada zorluk yaratmaktadır. Fibroblastlar; antitümör tedavi ile aktive olarak fenotip değiştirmesi nedeni ile tedaviye direnç geliştirebilmektedir. Bu nedenle geleneksel antitümör ajanların CAF hedefli ilaçlarla birleştirilmesi için daha iyi yöntemlerin aranması, meme kanseri alt tiplerine göre daha spesifik CAF hedefli tedavilerin seçilmesi gerekmektedir. Zaman içinde CAF'ların meme kanseri tedavisinin yönetiminde daha etkili olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle, meme kanserindeki CAF'ların heterojenliği hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Curigliano G, Burstein HJ, Gnant M, Loibl S, Cameron D, Regan MM, et al. Understanding breast cancer complexity to improve patient outcomes: The St Gallen International Consensus Conference for the Primary Therapy of Individuals with Early Breast Cancer 2023. Annals of Oncology [Internet]. 2023 Nov 1 [cited 2024 Feb 8];34(11):970–86. Available from: http://www.annalsofoncology.org/article/S0923753423008359/fulltext
2. Siegel Mph RL, Giaquinto AN, Ahmedin |, Dvm J, Siegel RL. Cancer statistics, 2024. CA Cancer J Clin [Internet]. 2024 Jan 1 [cited 2024 Feb 8];74(1):12–49. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21820
3. Başara BB, Çağlar İS, Aygün A, Özdemir TA, Kulali B, Ünal G, et al. Sağlık İstatistiği 2022. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Bilgi Sistemleri Genel Müdürlüğü. [Internet]. Ankara; 2024 [cited 2024 May 9]. Available from: https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/48054/0/siy202205042024pdf.pdf
4. Feng Y, Spezia M, Huang S, Yuan C, Zeng Z, Zhang L, et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. Genes Dis [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2024 May 10];5(2):77–106. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30258937/

5. Narayan P, Flynn J, Zhang Z, Gillespie EF, Mueller B, Xu AJ, et al. Perineural invasion as a risk factor for locoregional recurrence of invasive breast cancer. Sci Rep [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 May 9];11(1):12781. Available from: /pmc/articles/PMC8211664/
6. Lian CL, Li GQ, Zhou P, Wang J, He ZY, Wu SG. Triple-negative breast cancer outcomes: Does AJCC 8th staging improve chemotherapy decision-making. The Breast : Official Journal of the European Society of Mastology [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 May 9];59:117. Available from: /pmc/articles/PMC8261075/
7. Kazemi T, Younesi V, Jadidi-Niaragh F, Yousefi M. Immunotherapeutic approaches for cancer therapy: An updated review. Artif Cells Nanomed Biotechnol [Internet]. 2016 Apr 2 [cited 2024 May 9];44(3):769–79. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25801036/
8. Bange J, Zwick E, Ullrich A. Molecular targets for breast cancer therapy and prevention. Nat Med [Internet]. 2001 May [cited 2024 May 9];7(5):548–52. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11329054/
9. Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. Cancer Cell [Internet]. 2012 Mar 20 [cited 2024 May 10];21(3):309–22. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22439926/
10. Folgueira MAAK, Maistro S, Katayama MLH, Roela RA, Mundim FGL, Nanogaki S, et al. Markers of breast cancer stromal fibroblasts in the primary tumour site associated with lymph node metastasis: a systematic review including our case series. Biosci Rep [Internet]. 2013 [cited 2024 Oct 19];33(6):e00085. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3860578/
11. Hu M, Polyak K. Microenvironmental regulation of cancer development. Curr Opin Genet Dev [Internet]. 2008 Feb [cited 2024 Oct 19];18(1):27–34. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18282701/
12. Barsky SH, Karlin NJ. Myoepithelial cells: autocrine and paracrine suppressors of breast cancer progression. J Mammary Gland Biol Neoplasia [Internet]. 2005 Jul 1 [cited 2024 Oct 19];10(3):249–60. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16807804/
13. Flier JS, Underhill LH, Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. N Engl J Med [Internet]. 1986 Dec 25 [cited 2024 Oct 19];315(26):1650–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3537791/
14. File:Tümör mikro çevresi2.tif - Wikimedia Commons [Internet]. [cited 2024 Oct 19]. Available from: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:T%C3%BCm%C3%B6r_mikro_%C3%A7evresi2.tif?page=1
15. Salimifard S, Masjedi A, Hojjat-Farsangi M, Ghalamfarsa G, Irandoust M, Azizi G, et al. Cancer associated fibroblasts as novel promising therapeutic targets in breast cancer. Pathol Res Pract [Internet]. 2020 May 1 [cited 2024 Oct 19];216(5). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32146002/
16. Eiro N, Gonzalez LO, Fraile M, Cid S, Schneider J, Vizoso FJ. Breast Cancer Tumor Stroma: Cellular Components, Phenotypic Heterogeneity, Intercellular Communication, Prognostic

Implications and Therapeutic Opportunities. Cancers (Basel) [Internet]. 2019 May 1 [cited 2024 Oct 19];11(5):1–26. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31086100/

17. Peiris-Pagès M, Sotgia F, Lisanti M. Chemotherapy induces the cancer-associated fibroblast phenotype, activating paracrine Hedgehog-GLI signalling in breast cancer cells. Oncotarget [Internet]. 2015 [cited 2024 Oct 19];6(13):10728–45. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25915429/
18. Statistics at a glance. [cited 2024 Oct 26]; Available from: https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/900-world-fact-sheet.pdf
19. Statistics at a glance. [cited 2024 Oct 26]; Available from: https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/792-turkiye-fact-sheet.pdf
20. TÜRKİYE KANSER İSTATİSTİKLERİ 2018 [Internet]. [cited 2024 Oct 26]. Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/Dokumanlar/Istatistikler/Kanser_Rapor_2018.pdf
21. Meme Kanseri. [cited 2024 Oct 29]; Available from: https://www.who.int/europe/news-room/events/item/2022/10/01/default-calendar/breast-
22. Giaquinto AN, Sung H, Newman LA, Freedman RA, Smith RA, Star J, et al. Breast cancer statistics 2024. CA Cancer J Clin [Internet]. 2024 Oct 1 [cited 2024 Oct 29]; Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/39352042
23. Obeagu EI, Obeagu GU. Breast cancer: A review of risk factors and diagnosis. Medicine [Internet]. 2024 Jan 19 [cited 2024 Nov 7];103(3):e36905. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10798762/
24. Bevers TB, Niell BL, Baker JL, Bennett DL, Bonaccio E, Camp MS, et al. NCCN Guidelines® Insights: Breast Cancer Screening and Diagnosis, Version 1.2023. J Natl Compr Canc Netw [Internet]. 2023 Sep 1 [cited 2024 Nov 17];21(9):900–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37673117/
25. Loibl S, André F, Bachelot T, Barrios CH, Bergh J, Burstein HJ, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up ☆. Annals of Oncology [Internet]. 2024 Feb 1 [cited 2024 Nov 17];35(2):159–82. Available from: http://www.annalsofoncology.org/article/S0923753423051049/fulltext
26. Tsang JYS, Tse GM. Molecular Classification of Breast Cancer. Adv Anat Pathol [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2024 Nov 18];27(1):27–35. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31045583/
27. Nascimento RG do, Otoni KM. Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? Mastology [Internet]. 2020 [cited 2024 Nov 18];30. Available from: https://www.researchgate.net/publication/345024446_Histological_and_molecular_classification_of_breast_cancer_what_do_we_know
28. MB A, FL G, SB E, CC C, JE G, RK B, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. CA Cancer J Clin [Internet]. 2017 [cited 2024 Nov 18];67(2). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28094848/

29. Overview of the treatment of newly diagnosed, invasive, non-metastatic breast cancer - UpToDate [Internet]. [cited 2024 Nov 23]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-treatment-of-newly-diagnosed-invasive-non-metastatic-breast-cancer?search=breast%20cancer%20treatment&source=search_result#H8580118
30. Technique of axillary lymph node dissection - UpToDate [Internet]. [cited 2024 Nov 23]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/technique-of-axillary-lymph-node-dissection?search=breast%20cancer%20treatment&topicRef=737&source=see_link
31. Overview of sentinel lymph node biopsy in breast cancer - UpToDate [Internet]. [cited 2024 Nov 23]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/overview-of-sentinel-lymph-node-biopsy-in-breast-cancer?search=breast%20cancer%20treatment&topicRef=737&source=see_link
32. Giuliano AE, Hunt KK, Ballman K V., Beitsch PD, Whitworth PW, Blumencranz PW, et al. Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: a randomized clinical trial. JAMA [Internet]. 2011 Feb 9 [cited 2024 Nov 23];305(6):569–75. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21304082/
33. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: Techniques - UpToDate [Internet]. [cited 2024 Nov 23]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/sentinel-lymph-node-biopsy-in-breast-cancer-techniques?search=breast%20cancer%20treatment&topicRef=737&source=see_link
34. Adjuvant endocrine and targeted therapy for postmenopausal women with hormone receptor-positive breast cancer - UpToDate [Internet]. [cited 2024 Nov 23]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/adjuvant-endocrine-and-targeted-therapy-for-postmenopausal-women-with-hormone-receptor-positive-breast-cancer?search=breast%20cancer%20treatment&topicRef=737&source=see_link
35. Deciding when to use adjuvant chemotherapy for hormone receptor-positive, HER2-negative breast cancer - UpToDate [Internet]. [cited 2024 Nov 23]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/deciding-when-to-use-adjuvant-chemotherapy-for-hormone-receptor-positive-her2-negative-breast-cancer?search=breast%20cancer%20treatment&topicRef=737&source=see_link
36. General principles of neoadjuvant management of breast cancer - UpToDate [Internet]. [cited 2024 Nov 23]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/general-principles-of-neoadjuvant-management-of-breast-cancer?sectionName=PATIENT%20SELECTION&search=breast%20cancer%20treatment&topicRef=737&anchor=H11989615&source=see_link#H11989615
37. General principles of neoadjuvant management of breast cancer - UpToDate [Internet]. [cited 2024 Nov 23]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/general-principles-of-neoadjuvant-management-of-breast-cancer?sectionName=POST-TREATMENT%20EVALUATION%20AND%20MANAGEMENT&search=breast%20cancer%20treatment&topicRef=737&anchor=H2482417208&source=see_link#H2482417208

38. Adjuvant radiation therapy for women with newly diagnosed, non-metastatic breast cancer - UpToDate [Internet]. [cited 2024 Nov 23]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/adjuvant-radiation-therapy-for-women-with-newly-diagnosed-non-metastatic-breast-cancer?search=breast%20cancer%20treatment&topicRef=737&source=see_link
39. Mittal S, Brown NJ, Holen I. The breast tumor microenvironment: role in cancer development, progression and response to therapy. Expert Rev Mol Diagn [Internet]. 2018 Mar 4 [cited 2024 Nov 24];18(3):227–43. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29424261/
40. Soliman H, Rawal B, Fulp J, Lee JH, Lopez A, Bui MM, et al. Analysis of indoleamine 2-3 dioxygenase (IDO1) expression in breast cancer tissue by immunohistochemistry. Cancer Immunol Immunother [Internet]. 2013 May [cited 2024 Nov 24];62(5):829–37. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23344392/
41. Nagarajan D, McArdle SEB. Immune Landscape of Breast Cancers. Biomedicines [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2024 Nov 24];6(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29439457/
42. Barriga V, Kuol N, Nurgali K, Apostolopoulos V. The Complex Interaction between the Tumor Micro-Environment and Immune Checkpoints in Breast Cancer. Cancers (Basel) [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2024 Nov 24];11(8). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31430935/
43. Whiteside TL. The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth. Oncogene [Internet]. 2008 Oct 6 [cited 2024 Nov 24];27(45):5904–12. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18836471/
44. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: Tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. Trends Immunol [Internet]. 2002 Nov 1 [cited 2024 Nov 24];23(11):549–55. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12401408/
45. Treffers LW, Hiemstra IH, Kuijpers TW, van den Berg TK, Matlung HL. Neutrophils in cancer. Immunol Rev [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2024 Nov 24];273(1):312–28. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27558343/
46. Amini RM, Aaltonen K, Nevanlinna H, Carvalho R, Salonen L, Heikkilä P, et al. Mast cells and eosinophils in invasive breast carcinoma. BMC Cancer [Internet]. 2007 Aug 29 [cited 2024 Nov 24];7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17727696/
47. Toor SM, Syed Khaja AS, El Salhat H, Faour I, Kanbar J, Quadri AA, et al. Myeloid cells in circulation and tumor microenvironment of breast cancer patients. Cancer Immunol Immunother [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2024 Nov 24];66(6):753–64. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28283696/
48. Buchsbaum RJ, Oh SY. Breast Cancer-Associated Fibroblasts: Where We Are and Where We Need to Go. Cancers (Basel) [Internet]. 2016 Jan 27 [cited 2024 Nov 24];8(2). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26828520/

49. Martens JWM, Siewertz AM, Bolt-De Vries J, Bosma PT, Swiggers SJJ, Klijn JGM, et al. Aging of stromal-derived human breast fibroblasts might contribute to breast cancer progression. Thromb Haemost [Internet]. 2003 Feb 1 [cited 2024 Nov 24];89(2):393–404. Available from: https://www.researchgate.net/publication/10910905_Aging_of_stromal-derived_human_breast_fibroblasts_might_contribute_to_breast_cancer_progression

50. Shiga K, Hara M, Nagasaki T, Sato T, Takahashi H, Takeyama H. Cancer-Associated Fibroblasts: Their Characteristics and Their Roles in Tumor Growth. Cancers (Basel) [Internet]. 2015 Dec 11 [cited 2024 Oct 19];7(4):2443–58. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26690480/

51. Scherz-Shouval R, Santagata S, Mendillo ML, Sholl LM, Ben-Aharon I, Beck AH, et al. The reprogramming of tumor stroma by HSF1 is a potent enabler of malignancy. Cell [Internet]. 2014 Jul 31 [cited 2024 Nov 24];158(3):564–78. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25083868/

52. Pickup M, Novitskiy S, Moses HL. The roles of TGFβ in the tumour microenvironment. Nat Rev Cancer [Internet]. 2013 [cited 2024 Nov 24];13(11):788–99. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24132110/

53. De Wever O, Mareel M. Role of tissue stroma in cancer cell invasion. J Pathol [Internet]. 2003 Jul 1 [cited 2024 Nov 24];200(4):429–47. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12845611/

54. Tchou J, Kossenkov A V., Chang L, Satija C, Herlyn M, Showe LC, et al. Human breast cancer associated fibroblasts exhibit subtype specific gene expression profiles. BMC Med Genomics [Internet]. 2012 [cited 2024 Nov 24];5. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22954256/

55. Pelon F, Bourachot B, Kieffer Y, Magagna I, Mermet-Meillon F, Bonnet I, et al. Cancer-associated fibroblast heterogeneity in axillary lymph nodes drives metastases in breast cancer through complementary mechanisms. Nat Commun [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2024 Dec 14];11(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31964880/

56. Chen X, Song E. Turning foes to friends: targeting cancer-associated fibroblasts. Nat Rev Drug Discov [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2024 Dec 6];18(2):99–115. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30470818/

57. Cicchetti D V. Guidelines, Criteria, and Rules of Thumb for Evaluating Normed and Standardized Assessment Instruments in Psychology. Psychol Assess. 1994;6(4):284–90.

58. Hu D, Li Z, Zheng B, Lin X, Pan Y, Gong P, et al. Cancer-associated fibroblasts in breast cancer: Challenges and opportunities. Cancer Commun (Lond) [Internet]. 2022 May 1 [cited 2024 Dec 6];42(5):401–34. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35481621/

59. Giorello MB, Borzone FR, Labovsky V, Piccioni FV, Chasseing NA. Cancer-Associated Fibroblasts in the Breast Tumor Microenvironment. J Mammary Gland Biol Neoplasia [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2024 Dec 6];26(2):135–55. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33398516/

60. Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. Nat Rev Cancer [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2024 Dec 6];16(9):582–98. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27550820/
61. Rivas EI, Linares J, Zwick M, Gómez-Llonin A, Guiu M, Labernadie A, et al. Targeted immunotherapy against distinct cancer-associated fibroblasts overcomes treatment resistance in refractory HER2+ breast tumors. Nat Commun [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2024 Dec 10];13(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36085201/
62. Bartoschek M, Oskolkov N, Bocci M, Lövrot J, Larsson C, Sommarin M, et al. Spatially and functionally distinct subclasses of breast cancer-associated fibroblasts revealed by single cell RNA sequencing. Nat Commun [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2024 Dec 10];9(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30514914/
63. Costa A, Kieffer Y, Scholer-Dahirel A, Pelon F, Bourachot B, Cardon M, et al. Fibroblast Heterogeneity and Immunosuppressive Environment in Human Breast Cancer. Cancer Cell [Internet]. 2018 Mar 12 [cited 2024 Dec 12];33(3):463-479.e10. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29455927/
64. Park SY, Kim HM, Koo JS. Differential expression of cancer-associated fibroblast-related proteins according to molecular subtype and stromal histology in breast cancer. Breast Cancer Res Treat [Internet]. 2015 Feb 1 [cited 2024 Dec 12];149(3):727–41. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25667103/
65. Paulsson J, Sjöblom T, Micke P, Pontén F, Landberg G, Heldin CH, et al. Prognostic significance of stromal platelet-derived growth factor beta-receptor expression in human breast cancer. Am J Pathol [Internet]. 2009 [cited 2024 Dec 12];175(1):334–41. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19498003/
66. Strell C, Stenmark Tullberg A, Jetne Edelmann R, Akslen LA, Malmström P, Fernö M, et al. Prognostic and predictive impact of stroma cells defined by PDGFRb expression in early breast cancer: results from the randomized SweBCG91RT trial. Breast Cancer Res Treat [Internet]. 2021 May 1 [cited 2024 Dec 12];187(1):45. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8062362/
67. Yamashita M, Ogawa T, Zhang X, Hanamura N, Kashikura Y, Takamura M, et al. Role of stromal myofibroblasts in invasive breast cancer: stromal expression of alpha-smooth muscle actin correlates with worse clinical outcome. Breast Cancer [Internet]. 2012 Apr [cited 2024 Dec 12];19(2):170–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20978953/
68. Iwasa S, Jin X, Okada K, Mitsumata M, Ooi A. Increased expression of seprase, a membrane-type serine protease, is associated with lymph node metastasis in human colorectal cancer. Cancer Lett. 2003 Sep 10;199(1):91–8.
69. Paulsson J, Micke P. Prognostic relevance of cancer-associated fibroblasts in human cancer. Semin Cancer Biol [Internet]. 2014 [cited 2024 Dec 12];25:61–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24560651/

70. Occurence of stromal myofibroblasts in the invasive ductal breast cancer tissue is an unfavourable prognostic factor - PubMed [Internet]. [cited 2024 Dec 12]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17695471/
71. Stromal expression of fibroblast activation protein/seprase, a cell membrane serine proteinase and gelatinase, is associated with longer survival in patients with invasive ductal carcinoma of breast - PubMed [Internet]. [cited 2024 Dec 12]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11241314/
72. Frings O, Augsten M, Tobin NP, Carlson J, Paulsson J, Pena C, et al. Prognostic significance in breast cancer of a gene signature capturing stromal PDGF signaling. Am J Pathol [Internet]. 2013 Jun [cited 2024 Dec 12];182(6):2037–47. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23583284/
73. Strell C, Paulsson J, Jin SB, Tobin NP, Mezheyeuski A, Roswall P, et al. Impact of Epithelial-Stromal Interactions on Peritumoral Fibroblasts in Ductal Carcinoma in Situ. J Natl Cancer Inst [Internet]. 2019 Sep 1 [cited 2024 Dec 12];111(9):983–95. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30816935/
74. Qiao A, Gu F, Guo X, Zhang X, Fu L. Breast cancer-associated fibroblasts: their roles in tumor initiation, progression and clinical applications. Front Med [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2024 Dec 12];10(1):33–40. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26791754/
75. Bartoschek M, Oskolkov N, Bocci M, Lövrot J, Larsson C, Sommarin M, et al. Spatially and functionally distinct subclasses of breast cancer-associated fibroblasts revealed by single cell RNA sequencing. Nat Commun [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2024 Dec 14];9(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30514914/
76. Konieczkowski DJ, Johannessen CM, Garraway LA. A Convergence-Based Framework for Cancer Drug Resistance. Cancer Cell [Internet]. 2018 May 14 [cited 2024 Dec 15];33(5):801–15. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29763622/
77. Valkenburg KC, De Groot AE, Pienta KJ. Targeting the tumour stroma to improve cancer therapy. Nat Rev Clin Oncol [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2024 Dec 15];15(6):366–81. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29651130/
78. Brechbuhl HM, Finlay-Schultz J, Yamamoto TM, Gillen AE, Cittelly DM, Tan AC, et al. Fibroblast Subtypes Regulate Responsiveness of Luminal Breast Cancer to Estrogen. Clin Cancer Res [Internet]. 2017 Apr 1 [cited 2024 Dec 15];23(7):1710–21. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27702820/
79. Liu Y, Yu C, Wu Y, Sun X, Su Q, You C, et al. CD44+ fibroblasts increases breast cancer cell survival and drug resistance via IGF2BP3-CD44-IGF2 signalling. J Cell Mol Med [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2024 Dec 15];21(9):1979–88. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28523716/
80. Mao Y, Zhang Y, Qu Q, Zhao M, Lou Y, Liu J, et al. Cancer-associated fibroblasts induce trastuzumab resistance in HER2 positive breast cancer cells. Mol Biosyst [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2024 Dec 15];11(4):1029–40. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25648538/

81. Rivas EI, Linares J, Zwick M, Gómez-Llonin A, Guiu M, Labernadie A, et al. Targeted immunotherapy against distinct cancer-associated fibroblasts overcomes treatment resistance in refractory HER2+ breast tumors. Nat Commun [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2024 Dec 15];13(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36085201/
82. Peintinger F, Sinn B, Hatzis C, Albarracin C, Downs-Kelly E, Morkowski J, et al. Reproducibility of residual cancer burden for prognostic assessment of breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. Mod Pathol [Internet]. 2015 Jul 2 [cited 2024 Dec 15];28(7):913–20. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25932963/
83. Bera K, Schalper KA, Rimm DL, Velcheti V, Madabhushi A. Artificial intelligence in digital pathology - new tools for diagnosis and precision oncology. Nat Rev Clin Oncol [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2024 Dec 16];16(11):703–15. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31399699/
84. Litjens G, Sánchez CI, Timofeeva N, Hermsen M, Nagtegaal I, Kovacs I, et al. Deep learning as a tool for increased accuracy and efficiency of histopathological diagnosis. Sci Rep [Internet]. 2016 May 23 [cited 2024 Dec 16];6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27212078/
85. Yan S, Li J, Wu W. Artificial intelligence in breast cancer: application and future perspectives. J Cancer Res Clin Oncol [Internet]. 2023 Nov 1 [cited 2024 Dec 16];149(17):16179–90. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37656245/
86. Rawat RR, Ortega I, Roy P, Sha F, Shibata D, Ruderman D, et al. Deep learned tissue “fingerprints” classify breast cancers by ER/PR/Her2 status from H&E images. Sci Rep [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2024 Dec 16];10(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32350370/
87. Yue M, Zhang J, Wang X, Yan K, Cai L, Tian K, et al. Can AI-assisted microscope facilitate breast HER2 interpretation? A multi-institutional ring study. Virchows Arch [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2024 Dec 16];479(3):443–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34279719/
88. Xie N, Zhou H, Yu L, Huang S, Tian C, Li K, et al. Artificial intelligence scale-invariant feature transform algorithm-based system to improve the calculation accuracy of Ki-67 index in invasive breast cancer: a multicenter retrospective study. Ann Transl Med [Internet]. 2022 Oct [cited 2024 Dec 16];10(19):1067–1067. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36330383/