

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**MEME KANSERLİ HASTALARDA NEOADJUVAN KEMOTERAPİ ÖNCESİ VE
SONRASI PERİFERİK KANDAKİ EOZİNOFİL HÜCRELERİN YÜZEYİNDE
İFADE EDİLEN BAZI BELİRTEÇLERİN DEĞİŞİMİ**

Dr. Sera YAZICI

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2024

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**MEME KANSERLİ HASTALARDA NEOADJUVAN KEMOTERAPİ ÖNCESİ VE
SONRASI PERİFERİK KANDAKİ EOZİNOFİL HÜCRELERİN YÜZEYİNDE
İFADE EDİLEN BAZI BELİRTEÇLERİN DEĞİŞİMİ**

Dr. Sera YAZICI

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ataç BAYKAL

ANKARA

2024

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesi ve ortaya çıkmasında desteğini esirgemeyen, eğitim ve öğretim sürecim boyunca bana her daim destek olan, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan ve beni mesleki anlamda yüreklendiren Genel Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri'ne sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın uygulama sürecinde yardımlarını esirgemeyen ve kıymetli vakitlerini bana ayıran Prof. Dr. Güneş ESENDAĞLI ve Uzm. Biyolog Sibel GÖKŞEN'e teşekkür ederim.

Hastalardan alınan kan örneklerin toplanmasında ve tüm tez süresi boyunca yardımlarını esirgemeyen Hemşire Hilal Türkiler'e de ayrıca teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde çok büyük katkıları olan, hayatım boyunca beni destekleyen, haklarını asla ödeyemeyeceğim aileme teşekkürü borç bilirim.

Dr. S. YAZICI

ÖZET

Yazıcı S., Meme Kanserli Hastalarda Neoadjuvan Kemoterapi Öncesi ve Sonrası Periferik Kandaki Eozinofil Hücrelerin Yüzeyinde İfade Edilen Bazı Belirteçlerin Değişimi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Ankara, 2024.

Meme kanserinde kullanılan neoadjuvan kemoterapinin tümör mikroçevresi üzerine etkileri olduğu bilinmektedir. Tümör mikroçevresinde immün hücreler olarak da görev alan eozinofillerin yüzeylerinde fonksiyonlarını gerçekleştirmeye yarayan yüzey reseptörleri bulunmaktadır. Eozinofillerin immün hücreler olarak görev almaları nedeniyle neoadjuvan kemoterapi yanıtında rol alabilecekleri ve klinik sonuçları etkileyebilecekleri düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı; meme kanserli hastalarda neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası periferik kandaki eozinofil hücrelerin yüzeyinde ifade edilen bazı belirteçlerin (CD80, CD86, CD274, CD125) değişiminin incelenmesidir. Ayrıca eozinofil sayılarının ve yüzdelerinin ölçümünde tam kan sayımı ile akım sitometrinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla 31 adet neoadjuvan kemoterapi öncesi ve 43 adet neoadjuvan kemoterapi sonrası meme kanseri hastasından ve 12 adet sağlıklı kontrol katılımcıdan; periferik venöz kan örnekleri toplanarak, tam kan sayımında ve akım sitometride eozinofiller tarafından ifade edilen CD80, CD86, CD125 ve CD274 belirteçlerin düzeyleri ve eozinofil sayıları ölçülmüştür. Sonuç olarak hem akım sitometride hem de tam kan sayımında eozinofil sayıları ve yüzdeleri birbiriyle korele olarak bulunmuştur. Ayrıca meme kanserli hastalarda sağlıklı kişilere göre CD80 düzeyleri daha düşük saptanırken, CD86 düzeyleri ise daha yüksek saptanmıştır. Bu bulguların neoadjuvan kemoterapiden ve östrojen reseptör ekspresyonundan etkilenmediği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: eozinofil, meme kanseri, neoadjuvan kemoterapi, tümör immünolojisi, yüzey belirteçleri

ABSTRACT

Yazici S., Changes in Expression of Certain Markers on the Surface of Eosinophil Cells in Peripheral Blood Before and After Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer Patients, Thesis of General Surgery, Department of General Surgery, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, 2024.

Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer can effect the tumor microenvironment. Eosinophils, which also act as immune cells in the tumor microenvironment, have surface receptors that are responsible for carrying out their functions. Due to the role of eosinophils as immune cells, it is thought that they may play a role in the response to neoadjuvant chemotherapy and can affect clinical outcomes. The aim of this study is to investigate the changes in the expression of certain markers (CD80, CD86, CD274, CD125) on the surface of eosinophil cells in peripheral blood before and after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. Additionally, the comparison of eosinophil counts and percentages measured by complete blood count and flow cytometry was also aimed. For this purpose, peripheral venous blood samples were collected from 31 breast cancer patients before neoadjuvant chemotherapy, 43 breast cancer patients after neoadjuvant chemotherapy, and 12 healthy control participants; and the levels of CD80, CD86, CD125, and CD274 markers expressed by eosinophils were measured in complete blood count and flow cytometry. As a result, eosinophil counts and percentages were found to be correlated with each other in both flow cytometry and complete blood count. In addition, levels of CD80 were found to be lower while levels of CD86 were found to be higher in breast cancer patients compared to healthy individuals. These findings were not influenced by neoadjuvant chemotherapy or estrogen receptor expression.

Keywords: eosinophil, breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, tumour immunology, surface markers

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
TABLolar	xii
ŞEKİLLER	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Meme Kanseri	5
2.1.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi	5
2.1.2. Meme Kanseri Patogenezi	5
2.1.3. Meme Kanseri Risk Faktörleri	7
2.1.3.1. Hormon Düzeyi İlişkili Risk Faktörleri	7
2.1.3.2. Medikal Risk Faktörleri	9
2.1.3.3. Memenin Kendisi ile ilişkili Risk Faktörleri	9
2.1.3.4. Genetik Faktörler ile İlişkili Risk Faktörleri	10
2.1.4. Meme Kanseri Tipleri	10
2.1.4.1. Luminal A alt grup	11
2.1.4.2. Luminal B alt grup	11
2.1.4.3. Her2 alt grup	12
2.1.4.4. Üçlü negatif alt grup	12
2.1.5. Meme Kanseri Evrelemesi ve Prognozu	12
2.1.6. Meme Kanserinde Tanı ve Tarama	15
2.1.7. Meme Kanserinde Tedavi Seçenekleri	16

2.1.7.1. Cerrahi Tedavi	17
2.1.7.1.1. Meme Koruyucu Cerrahiler (Parsiyel Mastektomiler)	17
2.1.7.1.2. Mastektomi	19
2.1.7.1.3. Meme Kanserinde Aksilla Yönetimi	20
2.1.7.2. Cerrahi dışı Tedavi	21
2.1.7.2.1. Radyasyon	21
2.1.7.2.2. Sistemik Tedavi	23
2.1.7.2.2.1. Adjuvan Kemoterapi	23
2.1.7.2.2.2. Neoadjuvan Kemoterapi	24
2.1.7.2.2.3. Biyolojik Tedavi	27
2.1.7.2.2.4. Hormon Tedavisi	27
2.2. Hematopoetik Sistem	28
2.2.1. Eozinofiller	30
2.2.2. Eozinofillerin kökeni, farklılaşması ve fonksiyonları	31
2.2.3. Eozinofil Yüzey Belirteçleri	33
2.2.4. Eozinofillerin kanserdeki değişimi ve rolleri	36
2.2.4.1. Protümöral etkileri	36
2.2.4.2. Anti-tümöral etkileri	37
2.2.5. Eozinofillerin meme kanserindeki değişimi ve rolleri	39
2.3. Tümör İmmünolojisi	42
2.3.1. Tümör mikroçevresi	44
2.3.2. Kanser ilişkili inflamasyon ve medyatörler	48
3. MATERYAL – METOD	53
3.1. Çalışma Grupları	53
3.2. Tam Kan Sayım Analizi	54

3.3. İmmüfenotipleme Analizi	54
3.4. İstatiksel Analiz	55
4. BULGULAR	57
4.1. Tanımlayıcı İstatistikler	57
4.2. Tam Kan Sayımında ve Akım Sitometrideki Eozinofil Sayıların ve Yüzdelerinin Karşılaştırılması	59
4.3. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Östrojen Reseptör Statüsüne Göre Tam Kan Sayım Sonuçlarının Karşılaştırılması	60
4.4. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Östrojen Reseptör Statüsüne Göre Akım Sitometri Sonuçlarının Karşılaştırılması	62
4.5. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Neoadjuvan Tedavi Öncesi ve Sonrası Tam Kan Sayım Sonuçlarının Karşılaştırılması	64
4.6. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Neoadjuvan Tedavi Öncesi ve Sonrası Akım Sitometri Sonuçlarının Karşılaştırılması	66
4.7. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Alt Gruplara Göre Tam Kan Sayım Sonuçlarının Karşılaştırılması	69
4.8. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Alt Gruplara Göre Akım Sitometri Sonuçlarının Karşılaştırılması	71
5. TARTIŞMA	74
6. SONUÇLAR	82
KAYNAKLAR	83

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACR	"American College of Radiology"
ALND	Aksiller Lenf Nodu Disseksiyonu
C5a	Kompleman üyesi 5a
CAF	Kanser ilişkili Fibroblastlar
CCL	C-C Motif Kemokin Ligand
CCL11	Eotaksin-1-C-C Motif Kemokin Ligand
CCNE1	Siklin 1
CCR3	C-C Motif Kemokin Reseptör 3
CDK4/6	Siklin-Bağımlı Kinaz 4/6
COX	Siklooksijenaz
CTLA4	Sitotoksik T-Lenfosit İlişkili Protein 4
CXCL	C-X-C Motif Ligand
CysLT	Sisteinil Reseptör
DAMP	Hasar-İlişkili Moleküler Paternler
EBCTCG	" Early Breast Cancer Trialist' Collaborative Group"
ECM	Ekstrasellüler Matris
ECP	Eozinofil Katyonik Protein
EDN	Eozinofil-Derive Nörotoksin
EDTA	Etilenediamin tetraasetik asit
EPO	Eozinofil Peroksidaz
ER	Östrojen Reseptörü
fMLP	N-formyl-met-leu-phe
FOG1	GATA1 proteinin arkadaşı
GGH	Gamma-Glutamil Hidrolaz
GM-CSF	Granülosit Makrofaj-Koloni Stimüle Edici Faktör
GnRH	Gonadotropin Salgılayıcı Hormon
HER2	İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2
HMGB1	Yüksek Mobilite Grup Box 1 Protein

HPV	İnsan Papilloma Virüsü
ICAM1	İntersellüler Adezyon Molekülü 1
Id1	DNA-bağlanmanın inhibitörü 1
IL	İnterlökin
IRE1 α	İnositol-Bağımlı Enzim Alfa 1
Klf5	Kruppel-Benzeri Faktör 5
LCIS	Lobüler Karsinoma İn Situ
LFA-1	Lenfosit Fonksiyon Antijeni 1
MBP	Majör Bazik Protein
MDSC	Myeloid-Türevi Baskılayıcı Hücre
MEP	Megakaryositik/Eritroid Progenitör Hücre
MFY	Ortalama Floresan Yoğunluk
MHC	Majör Histokompatibilite Kompleksi
MMP	Matriks Metalloproteinaz
mTOR	Rapamisin Kompleksinin Memeli Hedefi
NCCN	"National Comprehensive Cancer Network"
NK	Doğal Öldürücü Hücre
NSEP1	Nükleaz Duyarlı Elementi Bağlayan Protein 1
OLP	Ortak Lenfoid Progenitör Hücreler
OMP	Ortak Myeloid Progenitör Hücreler
p53	Tümör Protein 53
PAF	Platelet Aktive Edici Faktör
PD-L1/2	Programlanmış Ölüm Ligandı 1/2
PGD ₂	Prostaglandin Tip2 Reseptörü
PIK3CA	Fosfoinositid 3-Kinaz İnhibitörü
PR	Progesteron Reseptörü
PSGL-1/CD162	P-Selektin Glikoprotein Ligand 1
RANTES (CCL5)	Aktivasyon Sonrası Regüle Edilir, Normal T-Hücre tarafından İfade Edilmekte ve Salınmakta (C-C Motif Kemokin Ligand 5)
SIGLEC-8	Siyalik Asit Bağlayan İmmunglobulin-Benzeri Lektin 8
SLNB	Sentinel Lenf Nodu Biyopsisi

TATE	Tümör İlişkili Doku Eozinofilisi
TEC	Tümör-İlişkili Endotel Hücreleri
TGF- β 1	Transforme Edici Büyüme Faktörü-beta 1
TİL	Tümör İnfiltrate Edici Lenfosit
TLR	Toll-Benzeri Reseptör
TNF- α	Tümör Nekroz Faktörü Alfa
TNM	Tümör, Lenf Nodu, Metastaz
VEGF	Vasküler Endotel Büyüme Faktörü
v-MYB	Aviyan Myeloblastoz Viral Onkogen Homoloğu
XBP1	X-Box bağlayıcı Protein 1

TABLolar

Tablo 2.1. Neoadjuvan Kemoterapinin Avantajları ve Dezavantajları	25
Tablo 4.1. Sağlıklı kontrol grup ile hasta grubun tanımlayıcı istatistikleri	56
Tablo 4.2. Östrojen reseptör ekspresyonuna göre hasta grubun tanımlayıcı istatistikleri	57
Tablo 4.3. Meme kanseri alt tipine göre hasta grubun tanımlayıcı istatistikleri	57
Tablo 4.4. CD80MFY, CD86% ve CD86MFY Yüzey Belirteçlerin Alt Gruplara Göre Dağılımı	72

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Meme Kanseri Patogenezi ile ilişkili Modeller	7
Şekil 2.2. Hematopoetik Sistem Hücreleri	30
Şekil 2.3. Sitokin Etkisi altında Eozinofil Fenotip Değişikliği	52
Şekil 3.1. Kapılama Stratejisi	55
Şekil 4.1. Tam Kan Sayımında ve Akım Sitometrideki Eozinofil Sayıların ve Yüzdelerin Karşılaştırılması	58
Şekil 4.2. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Östrojen Reseptör Statüsüne Göre Tam Kan Sayım Sonuçlarının Karşılaştırılması	60
Şekil 4.3. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Östrojen Reseptör Statüsüne Göre Akım Sitometri Sonuçlarının Karşılaştırılması	62
Şekil 4.4. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Neoadjuvan Tedavi Öncesi ve Sonrası Tam Kan Sayım Sonuçlarının Karşılaştırılması	64
Şekil 4.5. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Neoadjuvan Tedavi Öncesi ve Sonrası Akım Sitometri Sonuçlarının Karşılaştırılması	67
Şekil 4.6. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Alt Gruplara Göre Tam Kan Sayım Sonuçlarının Karşılaştırılması	69
Şekil 4.7. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Alt Gruplara Göre Akım Sitometri Sonuçlarının Karşılaştırılması	71

1. GİRİŞ

Meme kanseri, dünya genelinde kadınlarda en sık tanı konulan kanser türüdür ve kanser ilişkili ölümlerin %14'ünü oluşturmaktadır. Geliştirilen tarama programları ve mamografi kullanımının daha yaygın hale gelmesi sonucunda kadınlarda meme kanseri prognozunda iyileşme görülmüştür. [1]. Bununla birlikte erken tanı ve tedavinin sonucu olarak meme kanseri ilişkili mortalite oranlarında düşüş gözlenmektedir. Mortalite ve insidans oranı coğrafik, etnik ve ırksal faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermekte olup multifaktöriyeldir [2].

Neoadjuvan kemoterapi tarihsel olarak ilk defa 1970'li yıllarda lokal ileri evre hastalığı olan hasta grubunda, o dönemde inoperabl kabul edilen meme kanserli hastaları cerrahiye uygun adaylar haline getirmek amacıyla kullanılmıştır [3]. Neoadjuvan kemoterapi günümüzde lokal ileri meme kanserli hastalarda, yüksek riskli üçlü negatif ve Her2(+) olan meme kanserli hasta gruplarında uygulanmaktadır [4].

Tümör boyutunu küçülterek meme koruyucu cerrahiye uygun hale getirmesinin dışında neoadjuvan kemoterapi ilacın tümör üzerine etkisini ortaya koyarak tanı ve tedavide kullanılabilen yeni ilaç ve ajanların ve bunlarla birlikte prediktif belirteçlerin araştırılmasına olanak sağlamaktadır. Tedavi sonrası tümörün tedaviye verdiği yanıtı in vivo değerlendirip hasta için daha özgül tanı ve tedavi imkanları yaratmakla birlikte kemoterapinin toksik etkilerini de azaltmaktadır [5].

Granülositlerin bir alt grubu olan eozinofiller, konak savunmasında, özellikle alerjik ve paraziter reaksiyonlardaki rolleri ile tanınmaktadırlar [6]. Toplam dolaşan lökositlerin %1-5' ini oluşturup kanda çok düşük miktarlarda bulunmaktadırlar. Eozinofiller transkripsiyon faktör ve sitokin uyarımı ile CD34 eksprese eden myeloid progenitör hücrelerden gelişmektedir. Eozinofillerin fizyolojik fonksiyonları tam olarak ortaya konmamış olsa da enfeksiyonlara karşı immün cevapta, dokunun yeniden yapılanmasında ve diğer immün hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde yer alan multifonksiyonel lökositler oldukları düşünülmektedir [7]. Eozinofillerden sitokinler, lipid mediatörleri, büyüme faktörleri ve kemokinler gibi birçok

immünolojik faktör salgılanmaktadır. Bu faktörler eozinofillerin aktivasyonlarının devamlılığını, sağkalımlarının desteklenmesini ve diğer immün hücrelerin toplanmasını sağlamaktadır [8].

Kanser gelişiminde immün sistemin önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Eozinofillerin kanser oluşumu ve gelişimi ile ilişkileri de çok uzun zaman önce tanımlanmıştır [7]. Nekrotik tümör hücreleri tarafından salgılanan Eotaksin, RANTES ve DAMP (Hasar-İlişkili Moleküler Paternler) gibi kemotaktik faktörler yoluyla eozinofillerin tümörün olduğu alana çekildiği düşünülmektedir [6]. Aktive olmuş eozinofiller direkt sitotoksik etki ile tümör mikroçevresinde tümör hücrelerini ortadan kaldırmaktadır. Yüzeylelerinde ifade ettikleri CD80 ve CD86 gibi kostimulatörler ile MHC1 ve 2 üzerinden CD8 T-hücrelerin aktivasyonunu sağlayıp indirekt etki ile de tümör hücrelerini yok etmektedirler [9, 10]. Ayrıca kemoatraktanlar salgılayarak farklı immün hücrelerin tümör dokusuna göç etmelerini sağlayarak inflamatuvar yanıtı güçlendirmektedirler [11]. Güncel çalışmalarda immün sistemin, özellikle nötrofillerin, lenfositlerin ve eozinofillerin, kemoterapi yanıtında da bir rolü olabileceği ve klinik sonuçları etkileyebileceği düşünülmektedir [7].

Neoadjuvan kemoterapi meme dokusunda tümör mikroçevresini etkileyerek tümöre karşı gelişen yanıtı olumlu etkilemektedir. Neoadjuvan kemoterapi sonrası CD4 ve CD8 T-hücreler, B-hücreler, NK- hücreler, CD45, PMN hücreler ve MDSC'ler gibi bazı immün hücrelerin sayılarında artış gözlemlendiği bildirilmiştir [12, 13]. Bunun aksine immün-baskılayıcı özellikleri olan VEGF ve CTLA4 düzeylerinde neoadjuvan kemoterapi sonrası düşüş izlendiği tespit edilmiştir [13].

Neoadjuvan kemoterapinin etkinliğini değerlendirmedeki en önemli belirteç patolojik tam yanıtıdır[14]. Neoadjuvan kemoterapi alan meme kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada kanda tümör infiltre edici lenfositlerin yüksek bulunması daha iyi patolojik tam yanıt ile ilişkilendirilirken neoadjuvan kemoterapi sonrası düşük seviyede seyretmeleri ise azalmış sağkalıma ve kötü kemoterapi yanıtına neden olduğu gösterilmiştir. ER(-) tümörlerde ise neoadjuvan kemoterapiye yanıtın olması

T-helper ve B-hücre varlığı ile ilişkilendirilmiştir [7]. Neoadjuvan kemoterapiye yanıt veren hastalarda bu aktive olmuş immün hücreler tümör hücrelerine saldırarak tümör boyutunda küçülmeye yol açmaktadır. Neoadjuvan kemoterapiye yanıt vermeyen hastalarda bazı immün-baskılayıcı faktörlerin etkili olduğu savunulmaktadır ancak henüz nasıl etki ettikleri bilinmemektedir [13].

Meme kanserinde neoadjuvan kemoterapi tümör spesifik T-hücrelerini uyarak antitümöral yanıtı başlatmaktadır [15]. Eozinofiller de CD80 ve CD86 üzerinden CD8 T-hücrelerinde artışa neden olmaktadır [10]. Tümör mikroçevresinde CD8 T-hücrelerin yüksekliği ile yüksek patolojik tam yanıt oranları arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır. Bu nedenle hem eozinofillerin hem de neoadjuvan kemoterapinin inflamatuvar yanıtta bir artışa neden olarak tümör progreyonunu engellediği düşünülmektedir. Bu bulgulardan yola çıkarak eozinofillerin neoadjuvan kemoterapi yanıtının değerlendirilmesinde bir biyomarker olarak kullanılıp kullanılmayacakları araştırma konusudur [16].

Neoadjuvan kemoterapi almış olan meme kanserli hastalar ile eozinofillerin ilişkisini araştıran az sayıda çalışma mevcuttur. Üçlü negatif ve Her2(+) neoadjuvan kemoterapi alan hastalarla yapılan bir çalışmada bazal ve cerrahi sonrası kandaki eozinofil yüksekliğinin daha iyi sağkalım ve patolojik yanıtla pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir [7]. İmmünoterapi alan metastatik meme kanserli hastalarda kandaki eozinofil yüksekliği immünoterapiye yanıt ile olumlu olarak ilişkilendirilmiştir [11]. Eozinofillerin immünoterapi alan metastatik meme kanserinde antitümöral yanıtta nasıl sebep olduklarını araştıran bir çalışmada immünoterapiye yanıt veren hastalarda hem periferik kanda hem de tümör dokusunda yüksek eozinofil sayıları saptanmıştır. Eozinofil aktivasyonunda önemli bir rolü olan IL-5'in immünoterapi ile aktive olarak CD4 T-hücrelerinden salgılandığı tespit edilmiştir. IL-5 aktivasyonu ise kemik iliğinden eozinofil salgılanmasına neden olmaktadır [17].

Periferik kandaki eozinofil oranları genelde immünoterapi alan solid tümörlü hastalarda çalışılmış olup, kemoterapi alan hastalarla ilgili rolleri hakkında daha az bilgi bulunmaktadır [7]. Antitümöral yanıtta hem neoadjuvan kemoterapinin etkili

olduğu hem de eozinofillerin direk sitotoksik etki ile ya da kostimölatör moleküller (CD80,CD86) üzerinden CD8 T-hücre aktivasyonu ile etki ettikleri bilinmektedir. İmmün sistemin ve özellikle eozinofillerin, kemoterapi yanıtındaki rolleri göz önünde bulundurulduğunda, eozinofillerin neoadjuvan kemoterapiden nasıl etkilendiklerini gösterme amacıyla bu çalışma gerçekleştirildi.

AMAÇ:

Bu çalışmada meme kanserli hastaların neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası periferik kandan eldesi gerçekleşen eozinofil hücrelerin yüzey belirteçlerinden CD80,CD86,CD125 ve CD274'ün değişimlerinin sağlıklı bireyler ile kıyaslanarak çalışılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Kanseri

Kanser, tüm dünyada giderek artan önemli bir sağlık sorunudur. Meme kanseri günümüzde kadınlarda en sık görülen kanser türü olup önemli bir halk sağlığı sorunu teşkil etmektedir. Ayrıca kadınlarda kanser ilişkili ölümlerin en sık nedenidir [18].

2.1.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Meme kanseri insidansı her yıl giderek artmaktadır. Meme kanseri insidansın yüksek olduğu ülkeler daha çok gelişmiş ülkeler olup, insidansı en yüksek olan ülke Belçika'dır. Bu dağılımın batılı tarzda beslenme, aşırı stres ve azalmış fiziksel aktiviteye bağlı olduğu düşünülmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde tarama ve tedavi imkanları kısıtlı olduğundan meme kanseri insidansı düşük ancak mortalite oranları daha yüksektir [18].

Türkiye'de de meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanserlerde ilk sırada yer almaktadır ve insidansı her yüz binde 48.6'dır [19].

2.1.2. Meme Kanseri Patogenezi

Meme dokusu yaşamın farklı dönemlerinde hormonal etkilerin altında kalarak farklılaşma gösterir. Bu dönemsel değişiklikler ile memede yeni duktus ve lobül gelişiminin olması, meme dokusunda kök hücrelerin varlığını destekler niteliktedir. Bu sayede meme dokusu hem her menstrüel siklusta değişebilmekte hem de doğurganlık çağından başlayarak yaşlılığa kadar olan süre boyunca, hormonal etkilere uygun yanıt geliştirebilmektedir.

Normal sağlıklı dokulardaki hücrelerin kısıtlı proliferasyon kapasitesi mevcuttur. Farklı mekanizmalar ile anormal bir çoğalma engellenmektedir. Kanser dokusundaki hücreler ise çoğalmayı baskılayıcı genleri atlatarak uzamış kronik bir çoğalma yeteneğine sahip olmaktadır [20].

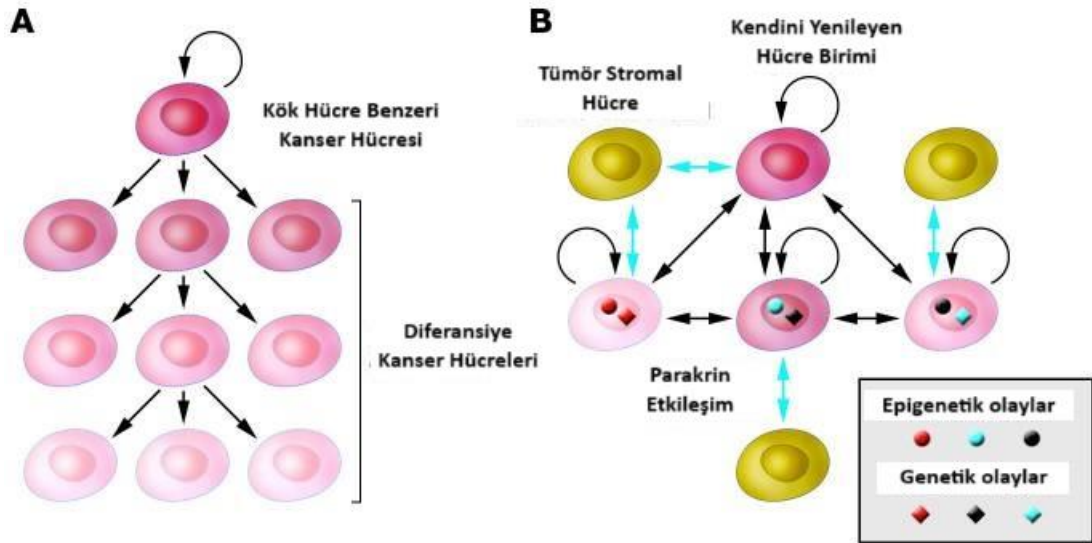
Meme kanserinin genel olarak duktuslardan kaynaklı bir hiperproliferasyon ile başladığı düşünülmektedir [21]. Sonraki aşamalarda bu hücreler sırasıyla in situ, invazif karsinom ve metastatik hastalığa neden olmaktadır [22].

Meme kanseri patogenezi tam olarak ortaya konmamıştır ancak meme kanserin başlamasına ve ilerlemesine yönelik iki kabul görmüş hipotez mevcuttur: Kanser kök hücre teorisi ve stokastik teori [21].

Tüm kanser alt gruplarının aynı kök veya progenitör hücreden kaynaklandığını ve edinilmiş genetik ve çevresel değişiklikler sonucu farklı kanser alt gruplarının oluşmasını savunan teori, kanser kök hücre teorisidir. Bu teoriye göre çoğalabilen tek hücre kanser kök hücresidir ve ondan oluşan, farklı alt grupları oluşturacak diferansiye kanser hücrelerin böyle bir yeteneği yoktur [22].

Stokastik teoride ise her bir kanser alt grubunun farklı tek bir kök hücreden köken aldığı savunulmaktadır [21]. Bundan dolayı tümör fenotipi, köken alınan hücre özellikleri, edinilmiş genetik ve çevresel farklılaşmalar ve çevrede bulunan hücrelerden kaynaklanan parakrin sinyaller ile şekillenmektedir. Bu hücreler çoğalabilmektedir. Kök hücre teorisinden farklı olarak tümör gelişimine ve ilaç direncine katkıda bulunabilirler.

Her iki teoriyi destekleyen veriler mevcut olup iki teorinin kombinasyonu da mümkün olabilmektedir [22]. (Şekil 2.1.)



Şekil 2.1. Meme Kanseri Patogenezi ile ilişkili modeller; A = Kanseri kök hücre hipotezi; B = Stokastik hipotez [22]

2.1.3. Meme Kanseri Risk Faktörleri

2.1.3.1. Hormon Düzeyi İlişkili Risk Faktörleri

Meme kanserlerin yaklaşık üçte ikisi hormon reseptör pozitif olan Luminal A ve Luminal B alt tiplerinden oluşmaktadır. Östrojen ve Progesteron reseptörleri bu alt tiplerde pozitif saptanmaktadır. Östrojenin, iki farklı mekanizma ile karsinojenik etki oluşturabileceği düşünülmektedir. Östrojen reseptörü üzerinden hücre içi farklı sinyalizasyon yolları ile gen ekspresyonunda farklılıklar meydana gelebilmektedir. İkinci bir yolak ise östrojen metabolizması sonucu oluşan kinon metaboliterin reaktif oksijen radikalleri oluşturarak DNA hasarına neden olmalarıdır [23].

Erken menarş yaşının meme kanseri oluşumunda bir risk faktörü olduğu bilinmektedir [21]. Yapılan bir çalışmada menarş yaşının her bir yıl gecikmesinin premenopozal meme kanser riskini %9 ve postmenopozal kanser riskini %4 düşürdüğü gösterilmiştir [24]. Ancak, 20-44 yaş aralığında farklı kanser alt tiplerinde üreme ile ilgili risk faktörlerini değerlendiren bir çalışmada, menarş yaşı risk faktörü olarak meme kanserinin 3 farklı alt tipinde (ER(+),üçlü negatif, Her2(+)) anlamlı bulunmamıştır [25].

Birçok çalışmada erken parite yaşının ve çoklu term gebeliklerin meme kanserine karşı koruyucu olduğu ortaya konmuştur [26]. Her term gebelik premenopozal kadınlar için %3, postmenopozal kadınlar için %12 oranında meme kanser riskinde bir azalmaya neden olmaktadır [24]. 20-44 yaş aralığındaki kadınlarla yapılan başka bir toplum temelli vaka-kontrol çalışmasında ER-pozitif ve üçlü negatif kanserler için, doğurma meme kanserine karşı %30 oranında koruyucu olarak saptanmıştır [25]. Farklı dört çalışmada ise ilk gebelik yaşı ile meme kanser riski arasında bir ilişki bulunamamıştır [27-30].

Kürtajın meme kanserine yakalanma riskini arttırabileceği düşünülmüştür. Fakat yapılan çalışmalar sonucunda meme kanser riskini arttırmadığı ortaya konmuştur [26]. BRCA2 mutasyon taşıyıcılarında ise gebeliğin sonlandırılmasının meme kanserine yakalanma riskini %64 oranında düşürdüğü gösterilmiştir [31]. Menopozdaki her bir yıllık gecikme meme kanserine yakalanma riskini %3 arttırmaktadır [21].

Östrojen kullanımı meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir ve eksojen östrojenin en sık kaynağı, oral kontraseptif kullanımı ile hormon replasman tedavisidir [21]. Oral kontraseptifler ve meme kanseri arasındaki ilişki çok kez araştırılmıştır. Oral kontraseptif kullanan kadınların, 10 yıllık kullanım sonrası oral kontraseptifleri kestiklerinde, meme kanser tanısı alma olasılıklarında rölatif olarak çok düşük bir artış vardır [26]. Nurses' Health Study II adlı çalışmada 55 yaş altı oral kontraseptif kullanan kadınlarda meme kanser riskinde %33'lük artış saptanırken çok merkezli olan CARE çalışmasında 35-44 yaş aralığındaki oral kontraseptif kullanan kadınlarda böyle bir risk artışı saptanmamıştır [32, 33]. 15 yıl ve üzeri oral kontraseptif kullanımının yaştan bağımsız olarak tüm kadınlarda meme kanser riskini %50 arttırdığı gösterilmiştir. Ancak çalışmaya dahil edilen hastalar nulipar olup aile öyküsü pozitif olan hastalardan seçildiğinden bu sonuçlar kısıtlı bilgi içermektedir [34]. Hormon replasman tedavisi ile ilgili artmış meme kanser riskinin mevcut ya da yakın zaman postmenopozal ilaç kullanımı ile ilişkili olduğu ve ciddi bir risk artışının 15 yıl ve üzeri bir kullanımda gözlemlendiği saptanmıştır [35].

2.1.3.2. Medikal Risk Faktörleri

Obezite giderek artan bir sağlık sorunudur ve obez postmenopozal kadınlarda meme kanser riski artmıştır [20]. Premenopozal kadınlarda yüksek vücut kitle endeksi ile meme kanseri görülme olasılığı arasında bir ilişki saptanmamıştır [26]. Düzenli fiziksel aktivitenin meme kanser riskini azalttığı tespit edilmiştir. Fiziksel aktivite vücut yağ oranını azaltmaktadır ve daha az periferik androjenin östrojene dönüşümüne neden olmaktadır. Ayrıca egzersizin insülin ve diğer büyüme faktörlerin düzeylerinde düşüşe neden olduğu bilinmektedir [23].

Alkol alımının meme kanserinin görülme sıklığında artışa neden olduğu son dönemlerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda kanıtlanmıştır. 53 epidemiyolojik çalışmayı kapsayan bir meta-analizde günlük 35-44 gram alkol alımının meme kanser riskini %32 arttırdığı gösterilmiştir [21].

2004 yılında yapılan bir çalışmada sigara içimi ile meme kanserine yakalanma riski arasında bir ilişki saptanmamış olsa da, güncel çalışmalarda özellikle erken yaşta sigara içmenin meme kanserinin görülme sıklığında bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir [21, 23].

2.1.3.3. Memenin Kendisi ile ilişkili Risk Faktörleri

Nurses' Health Study adlı çalışmanın dahilinde yapılan bir vaka-kontrol çalışmasında meme kanseri ile ilgili aile öyküsü pozitif olan ve benign proliferatif lezyonlar saptanan kadınlarda, pozitif aile öyküsü olmayan kadınlara oranla 2,5 kat artmış meme kanseri riski saptanmıştır [36]. Atipili proliferatif lezyonlarda meme kanser riskinin 4 kat arttığı bilinmektedir [37]. Lobüler karsinoma in situ benign gelen meme biyopsilerinin yaklaşık olarak %0.5-4' ünü oluşturmaktadır [23]. 1060 LCIS tanılı kadından oluşan geniş kapsamlı bir çalışmada 15 yıllık kümülatif meme kanseri gelişme riski %26 saptanmıştır [38]. Benzer sonuçlar "National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-17" adlı çalışmadan elde edilmiştir. 12 yıllık meme kanseri riski %22 olarak bulunmuştur [39]. Dens meme dokusu mamografinin tanı duyarlılığını düşürmektedir ve tanı koymayı zorlaştırmaktadır [23]. 2007 yılında Boyd

ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada mamografide dens meme dokusuna sahip hastalarda meme kanser riski artmış olarak bulunmuştur [40].

2.1.3.4. Genetik Faktörler ile İlişkili Risk Faktörleri

Meme kanserlerinin yaklaşık %5-10'u herediter meme kanserlerinden oluşmaktadır. Bu kanserler otozomal dominant bir şekilde aktarılır ve en sık görülen mutasyonlar BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlardır. Bu mutasyonlara bazı toplumlarda daha sık rastlanmaktadır [23]. Birinci derece yakınında meme kanseri öyküsü olan hastaların meme kanserine yakalanma riski 3 kat fazladır [41]. BRCA1 ve BRCA2 mutasyon kaynaklı meme kanserleri herediter olmayan meme kanserlerine göre daha erken yaşta saptanmaktadır.

Herediter meme kanserine yol açabilecek diğer mutasyonlar arasında tümör supresör genler olan p53 mutasyonu ve PTEN gen mutasyonu bulunmaktadır [23]. P53 mutasyonuna sahip kişilerde multipl kanserler görülebilmektedir ve 45 yaşından önce meme kanseri olma ihtimali normal popülasyona göre 20 kat fazladır. PTEN gen mutasyonu için normal popülasyona göre %85 artmış meme kanserine yakalanma riski mevcuttur [42-44].

2.1.4. Meme Kanseri Tipleri

Hormon reseptörlerinin (ER, PR, Her2(+)) immunohistokimyasal ekspresyonuna göre meme kanseri 4 farklı alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar Luminal A, Luminal B, Her2(+) grup ve üçlü negatif gruptan oluşmaktadır. Hormon reseptörlerden östrojen reseptörü meme kanserlerin tümünde yaklaşık olarak %70-75 oranında pozitif bulunmaktadır [45]. Östrojen reseptörü pozitif olanlarda progesteron reseptör pozitifliği %50 olarak saptanmıştır. Bundan dolayı PR ekspresyonunun ER ekspresyonuna bağlı olduğu bilinmektedir [46]. ER'nin yüksek olarak ifade edildiği meme kanserlerinde genel sağkalım, rekürrense kadar geçen zaman ve progresyon süresi daha uzundur. Bunun tam tersi ER negatif olan meme kanserleri için geçerlidir [47]. Başka bir hücre reseptörü olan Her2'ye sahip meme kanserli hastalarda metastatik hastalık ve rekürrens oranı %50 -80 oranında artmış olarak belirlenmiştir. Tümör varlığını ve rekürrensini saptamak için Her2 düzeyleri

belirteç olarak kullanılabilir. Her2 pozitif hastalarda kötü prognozun nedeni protoonkojenik sinyal yolağının aşırı aktivasyonu ve bunun sonucunda gerçekleşen kontrolsüz kanser hücrelerinin çoğalmasdır [48].

Hücre proliferasyonunu, tümörün agresif davranışını, tedaviye yanıtı ve rekürrense kadar geçen zamanı en iyi gösteren hücresel belirteçlerden biri Ki67 antijenidir [49]. Meme kanserini farklı alt tiplere ayırmaktaki amaç, hormon tedavisi veya antiHer2 gibi, hedefe yönelik tedavilerden kimlerin faydalanacağını belirlemektir [50].

2.1.4.1. Luminal A alt grup

Tüm meme kanserlerin büyük çoğunluğunu oluşturan ve en sık görülen alt gruptur. Bu tümörler ER ve/veya PR pozitif iken Her2 negatiftirler. Ki67 düzeyi genelde %20'in altındadır. Tüm meme kanserleri arasında en iyi prognoza sahiptirler ve genelde düşük dereceli, yavaş büyüyen ve yüksek sağkalım oranlarına sahip tümörlerdir. Nüks oranları diğer alt gruplara kıyasla daha düşüktür [45].

Farklı histolojik tipleri mevcuttur ve bunlar tübüler, invazif kribriform, müsinöz ve lobüler alt tiplerinden oluşmaktadır [51].

Hormon tedavisine (Tamoksifen, Aromataz inhibitörleri) en iyi yanıt veren tümör tipidir ve kemoterapinin sınırlı yararı bulunmaktadır. Genel nüks oranı düşük olmasına rağmen, nüks gelişmesi durumunda en sık kemikte görülmektedir. Karaciğer, akciğer ve santral sinir sistemine metastaz daha az saptanmaktadır [45].

2.1.4.2. Luminal B alt grup

Meme kanserlerinin yaklaşık %10-20'si bu alt tipten oluşmaktadır. ER pozitif, PR pozitif/negatif, Her2 pozitif tümörlerdir ve Luminal A alt tipi ile kıyaslandığında bu tümörler daha yüksek dereceli ve daha kötü prognoza sahiptir [45]. Ayrıca daha sık nüks ve daha düşük sağkalım oranları gözlenmektedir [51]. Ki67 düzeyleri genelde yüksek seyretmektedir (>%20) [45].

Luminal A ile B kıyaslandığında aralarındaki en önemli fark proliferasyon-ilişkili genlerin artmış ekspresyonudur. Bu genler v-MYB, GGH, LAPTMB4, NSEP1 ve CCNE1 genleridir ve luminal B grubunda ağırlıklı olarak eksprese edilmektedir [52].

Ayrıca Luminal A alt tipine göre hormonterapiye yanıtları daha az iken, neoadjuvan tedaviye daha iyi yanıt verdikleri gösterilmiştir. Metastazları sıklıkla kemiğe olup, solid organ metastazları Luminal A'ya göre daha sık görülmektedir [51].

2.1.4.3. Her2 alt grup

Her2, membran tirozinkinaz ailesinin bir üyesidir ve geni 17. kromozomun kısa kolunda bulunmaktadır [51]. Meme kanserlerin %10-15'lik bir kesimini oluşturur, diğer alt tiplere göre daha agresif seyirlidir ve daha kısa sürede tümörde boyut artışı gözlenebilmektedir. Genelde ER negatif, PR negatif iken bu tümörlerin Her2 pozitif olmaları karakteristiktir. Luminal tip meme kanserlerinden ayırt edici en önemli özellikleri arasında yüksek proliferasyon derecesine ve kötü prognoza sahip olmalarıdır. Ancak luminal alt tiplerine göre Her2 pozitif olan tümörlerin kemoterapiye yanıtlarının iyi olduğu gösterilmiştir. Kemoterapi dışında hedefe yönelik tedavi olarak Anti-Her2 tedavileri (Trastuzumab, Pertuzumab) ve Tirozinkinaz inhibitörleri (Lapatinib, Neratinib) uygulanmaktadır [45].

2.1.4.4. Üçlü negatif alt grup

Bu tümör alt grubunda üç hormon reseptörü de (ER,PR,Her2) negatif olarak saptanmaktadır. Diğer alt gruplardan ayırt edici bir özelliği 40 yaş altı kadınlarda daha sık görülmesidir ve tüm meme kanserlerin yaklaşık olarak %20'lik kısmını oluşturmaktadır. Bazal-benzeri, claudin-düşük, mezenkimal, luminal androjen reseptör ve immünmodülatör tip, üçlü negatif meme kanserinin kendi içindeki farklı alt tipleridir [53]. Yüksek histolojik derece ve agresif davranış ile seyreden bu alt gruptaki tümörlerin oluşum ve gelişiminde genetik faktörler, ırk, yaş, obezite, laktasyon durumu ve paritenin önemli bir yeri olduğu bilinmektedir. Nüks diğer alt gruplara göre daha erken dönemde görülür ve genelde tanı anında hastalar daha ileri evre hastalığa sahiptir [45].

2.1.5. Meme Kanseri Evrelemesi ve Prognozu

Meme kanseri evrelemesi, öncelikli olarak TNM evrelemesi olarak bilinen, tümörün boyutuna, lenf nodların tutulumuna ve metastaz varlığına göre yapılmakta idi. Ancak 2018 yılında AJCC tarafından yayınlanan 8.revizyona, hormon reseptörleri

ve tümörün histolojik derecesi de eklendi. Kullanılan reseptörler ER, PR ve Her2'dir. Ayrıca tümörün histolojik derecesi de evrelemede yer almaktadır.

Yeni evreleme sistemi, klinik ve patolojik evreleme şeklinde, ikiye ayrılmaktadır. Klinik prognostik evreleme grubu henüz herhangi bir tedavi almamış hastalar için kullanılır ve fizik muayene ve görüntüleme yöntemleri ile evreleme yapılır. Bu gruba neoadjuvan tedavi almış hastalar da dahil edilmektedir.

Patolojik prognostik evreleme grubu ise cerrahi tedavisini tamamlamış kişiler için kullanılmaktadır. Evreleme spesimenin patolojik değerlendirmesi (T ve N) ve biyolojik belirteçlerin durumu ile yapılmaktadır. Biyolojik belirteçlerin evrelemeye eklenmesi ile, TNM'e göre evreleme yapılan hastaların yaklaşık %40'ında hastalık evresinin en az bir evre kadar değişebileceği düşünülmektedir [54].

Temelde evreleme tümörün boyutuna göre yapılmaktadır ve T harfi ile belirtilmektedir. Tis ile T4 arasında farklı evreler bulunmaktadır. T harfinin önüne eklenen "c" harfi klinik evrelemeyi belirtirken, "p" harfi patolojik evrelemeyi gösterir [55]. Tx primer tümörün değerlendirilemediğini, T0 ise tümör izine rastlanmadığını gösterir. Tis ise duktal karsinoma in situ'ya veya meme başının Paget hastalığına işaret eder ve invaziv kanser olmadığını gösterir.

T1 kendi içinde üçe ayrılır: T1a 1mm'den büyük ancak 5mm'den küçük tümör anlamına gelirken, T1b 5-10mm arası tümörü gösterir. Tümör 10-20mm arasında bir büyüklükte ise T1c evresine denk gelir. T2 evresinde olan tümörlerin boyutu 20-50mm arasında değişmektedir. 50mm'den büyük tümörler T3 evresindedir.

T4 evresi kendi içinde T4a-T4d olarak dörde ayrılır: T4a evresine ait bir tümör herhangi bir boyutta olup göğüs duvarına ve/veya cilde invaze olan bir tümör iken, T4b'de ise boyuttan bağımsız ülserasyonun, ipsilateral satelit nodüllerin ve cilt ödeminin eşlik ettiği cilde invaze bir tümör mevcuttur. T4c ise T4a ve T4b'nin birlikte görülmesi durumudur. T4d ise inflamatuvar meme kanseridir.

Lenf nodların değerlendirilmesi evreleme sisteminde N harfi ile gösterilir. NX bölgesel lenf nodlarının değerlendirilemediğini gösterirken, N0 ise lenf nodlarında metastaz olmadığını belirtir. Klinik evrelemede ipsilateral level 1,2 ve 3 aksiller lenf

nodlarında metastazın olması ve bu lenf nodlarının mobil olması cN1 evresini oluşturur. Patolojik evrelemede ise pN1, pN1a-pN1c olarak üçe ayrılır. pN1a evresinde 1-3 adet aksiller lenf nodunda (biri en az 2mm'den büyük olmak şartıyla) metastaz mevcuttur. pN1b'de ise ipsilateral internal mammaryan sentinel lenf nodlarında metastaza rastlanırken, pN1c ise pN1a ve pN1b'nin birlikte olması durumudur.

Klinik evrelemede aynı taraflı level 1,2 ve 3 aksiller lenf nodlarında metastazın olması ancak bu lenf nodlarının fikse olması (cN2a) veya aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın ipsilateral internal mammaryan lenf nodlarında metastaz olması N2 evresine işaret eder (cN2b). Patolojik evreleme de ikiye ayrılır. pN2a 4-9 adet aksiller lenf nodunda metastaz varlığını gösterirken, pN2b, aksiller lenf nodlarının patolojik negatifliğinde, klinik olarak saptanan internal mammaryan lenf nodlarında metastazın olması durumudur. N3 evresinde ise klinik evrelemede ipsilateral infraklaviküler (cN3a) veya ipsilateral internal mammaryan ve aksiller (cN3b) veya ipsilateral supraklaviküler (cN3c) lenf nodlarında metastaz vardır. 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastazın olması veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz olması pN3a evresidir. cN2b varlığında pN1a veya pN2a gözlenmesi veya pN1b varlığında pN2a olması, pN3b evresini oluşturur. Ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz ise pN3c evresidir.

Uzak metastaz varlığı M harfi ile belirtilir. Uzak metastazın olmaması M0 ile ifade edilir. Klinik ve radyolojik olarak saptanan uzak metastazlar cM1 olarak adlandırılırken, uzak organda histolojik olarak kanıtlanmış metastaz veya bölgesel olmayan lenf nodlarında 0.2mm'den büyük metastazlar pM1 evresine aittir [56].

Tümör farklılaşmasının değerlendirilmesinde en önemli belirteçlerden biri tümörün histolojik derecesidir. Tümörün histolojik derecesi, tümör hücrelerinin normal meme hücrelerine benzerlik derecesini yansıtan bir farklılaşma derecesidir ve iyi diferansiye, orta derece diferansiye ve kötü diferansiye olarak üçe ayrılmaktadır [57]. Tümör boyutundan ve pozitif lenf nodu sayısından bağımsız olarak tümör derecesinin hastalık prognozu ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir.

Yüksek dereceli veya kötü farklılaşma gösteren tümörler daha kötü prognozlu seyrederken, düşük dereceli veya iyi diferansiye tümörlerin prognozu daha iyidir [55]. Klasik TNM evrelemesine reseptörler ve tümörün histolojik derecesi de dahil edilerek güncel ve daha prognostik bir evreleme sistemi meydana gelmiştir.

Evre 1 hastalar için 5 yıllık sağkalım oranı > %99 iken, Evre 2 için %93, Evre 3 için %75 ve Evre 4 için bu oran %29 olarak bilinmektedir. Sağkalım oranları ırklara göre değişiklik gösterebilmektedir. Ayrıca meme kanserinin alt tiplerine bakıldığında en düşük 5 yıllık sağkalım üçlü negatif alt grubundadır. Sağkalım oranları sadece evre veya alt gruplara göre şekillenmemektedir ve tümör biyolojisindeki farklılıklar, komorbiditeler ve tedaviye ulaşma olanağı bu oranları etkilemektedir [2].

2.1.6.Meme Kanserinde Tanı ve Tarama

Hastaların çoğu, memede ele gelen kitle veya memede ağrı şikâyeti gibi, aktif bir yakınma sonucu tanı almaktadır. Ayrıca yapılan tarama programları sırasında meme kanseri görüntüleme tetkikleriyle de saptanabilmektedir. Hastaların çoğuna bu şekilde tanı konulmaktadır. Yeni tanı almış meme kanserli hastalarda lokal evreleme için genelde fizik muayene, mamografi veya ultrason yeterli olmakta iken, metastatik hastalık şüphesinde NCCN kılavuzlarına göre toraks ve abdomen BT/MR ile PET-BT önerilmektedir. Genç hastalarda, genetik mutasyonu olan veya multifokal hastalığı olan hastalarda bazen MR da tercih edilebilmektedir ve karşı taraf memede eşzamanlı hastalık saptama oranı %3'tür.

Taramada en etkili görüntüleme yöntemi olarak mamografi kullanılmaktadır [58]. Çok dens meme dokularında ise mamografinin duyarlılığı düşmektedir [59]. Mamografinin birtakım dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar yanlış pozitiflik, radyasyona maruziyet, ağrı ve anksiyetedir. 40-50 yaş aralığında meme kanseri taramasına başlayan kadınların, 10 yıllık bir süreçte mamografi ile %61 yanlış pozitiflik olasılığı bulunmaktadır [58].

Meme kanserine yönelik tarama programlarında tarama yaşı ve aralıklarına yönelik farklılıklar bulunmaktadır. 40-74 yaş aralığı genel anlamda tarama yaş aralığı

olarak önerilmektedir [59]. Mamografi ile yapılan taramanın meme kanseri ilişkili mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir [58].

Taramanın sonlandırılması ile ilişkili kılavuzlarda farklı öneriler bulunmaktadır. ACR derneği hastanın sağlık durumunun ve yaşam beklentisinin (10 yıldan az olması durumunda) değerlendirilerek taramaya son verilmesini önermektedir.

Mamografi ile tarama aralığı olarak bazı kılavuzlar 1-2 yıl önerirken, bazıları ise bu aralığın hastanın yaşına göre belirlenmesini önermektedir. Tarama amaçlı yapılacak olan görüntülemelerde MR ve BT'nin faydası gösterilemediği için bu tetkikler kullanılmamalıdır. Kılavuzlara göre yüksek riskli hastalarda yıllık mamografi veya meme MR'ı ile tarama yapılmalıdır [59]. Mamografiye ek olarak kullanılan MR'ın malignite için duyarlılığı %92,7 iken, bu duyarlılık ultrason için sadece %52'dir. Meme kanserine yakalanma riski %20 ve üzerinde olan kadınlar için ACS kılavuzlarında mamografiye ek olarak MR ile meme kanseri taramasının yapılması önerilmektedir [58].

BRCA1 veya BRCA2 mutasyonuna sahip hastalarda veya birinci derece BRCA1/2 mutasyonlu yakını olan hastalarda meme kanserine yakalanma riski artmış olduğundan, bu hastalarda kılavuzlar daha erken yaşta taramaya başlanması gerektiğini savunmaktadır. İki ayrı kılavuz bu hastaların yıllık mamografi veya MR ile 25-30 yaşından itibaren başlanarak taranmasını önermektedir [59].

2.1.7.Meme Kanserinde Tedavi Seçenekleri

Günümüzde meme kanseri tedavisi multidisiplinerdir ve hastaya ve meme kanserinin tipine göre farklı tedavi seçenekleri mevcuttur. Cerrahi meme kanserinin temel tedavisidir. Çoğu erken evre hastalığa sahip kişilerde öncelikli olarak cerrahi tedavi tercih edilmektedir. Büyük boyutlu kitlesi olan, cilt invazyonu bulunan veya inflamatuvar meme kanseri tanısı olan hastalarda önce kemoterapi, sonra cerrahi tercih edilebilir. Cerrahi tedavi ve kemoterapi bitiminde endikasyon bulunması halinde radyasyon tedavisi verilebilmektedir. Hormon reseptörü pozitif olup, ileri yaş veya performansı düşük meme kanserli hastalarda ise endokrin tedavi de tek tedavi olarak değerlendirilebilmektedir [60].

2.1.7.1. Cerrahi Tedavi

Antik çağlardan beri meme kanseri tanımlanmıştır. Hipokrat'ın meme kanserinin sistemik bir hastalık olduğu söylemi uzun yıllar kabul görmüştür. Fransız bir doktor olan Henri Le Dran'ın meme kanserinin lokal bir hastalık olduğunu ve tümörün cerrahi olarak çıkarılmasının hastalığı iyileştirebileceğini savunması ile bu görüş değişmeye başlamıştır. Bu düşünce ancak 19. yüzyılın sonlarına doğru, William Halsted meme kanseri için ilk radikal mastektomiye gerçekleştirdiğinde, bir temele oturup altın standart olarak kabul görmüştür. Bernard Fischer tarafından yürütülen protokol B-04 adlı klinik çalışmada total mastektominin Halsted mastektomi kadar etkili olduğunun gösterilmesi, protokol B-06 adlı klinik çalışmada lumpektomiye ek olarak radyoterapinin verilmesinin mastektomi kadar etkili olduğunun kanıtlanması ile uygun hastalarda daha agresif tedaviler yerine meme koruyucu cerrahilerin tercih edilebileceği sonucuna varılmıştır [61].

2.1.7.1.1. Meme Koruyucu Cerrahiler (Parsiyel Mastektomiler)

Meme koruyucu cerrahi Milano'da yapılan uluslararası uzlaşma konferansında 'Kozmetik açıdan kabul edilebilir şekilde, sağlıklı bir doku içeren sınırlar ile meme dokusunun tamamen çıkarılması ve takibinde radyoterapi verilmesi' şeklinde tanımlanmıştır [62].

Radikal mastektomi ile karşılaştırıldığında meme koruyucu cerrahinin birtakım avantajları mevcuttur. Bunlar daha az postoperatif komplikasyon oranı, daha iyi kozmetik sonuçlar ve daha yüksek bir hayat kalitesidir [63].

Genel anlamda erken evre meme kanserlerinde (T1 ve T2) tercih edilen ilk tedavi seçeneğidir.

Mastektomi ile kıyaslandığında sağkalım açısından bir fark olmadığı kanıtlanmıştır. Mastektomiye göre daha kozmetik bir işlem olmasına rağmen, meme koruyucu cerrahi uygulanan hastalarda hayat boyunca lokal rekürrens risk oranı her yıl için %1 olarak bulunmuştur.

Meme koruyucu cerrahi için kontrendikasyonlar aşağıdakilerdir:

1. Lokal yaygın hastalık
2. Yaygın mikrokalsifikasyonlar
3. Gebeliğin birinci veya ikinci trimesteri
4. BRCA1 veya BRCA2 mutasyon taşıyıcısı olan hastalar
5. Göğüs duvarına uygulanmış radyasyon öyküsü olan hastalar
6. Multisentrik tümör (küçük tümöre ve uygun histolojik özelliklere sahip hastalarda meme koruyucu yapılabilir) [64, 65]

Bu hastalarda meme koruyucu cerrahi yerine genelde mastektomi tercih edilmektedir. İnvazif lobüler karsinomun da meme koruyucu cerrahi ile başarılı bir şekilde tedavi edilebileceği gösterilmiştir.

Lokal nükse neden olan pozitif cerrahi sınırlara engel olmak için, ne kadar sağlıklı dokunun çıkarılması gerektiği, meme koruyucu cerrahi uygulamasında temel sorudur [65]. Pozitif cerrahi sınırların varlığı lokal rekürrens riski ile yakından ilişkilidir. Tümörün verilen boyaya temas etmemesi uygun negatif cerrahi sınır olarak tanımlanmıştır. Danimarka'da yapılan bir çalışmada, daha geniş negatif bir sınırın daha dar negatif bir sınıra kıyasla, ipsilateral meme rekürrens oranında azalmaya neden olmadığını göstermiştir [63].

Lumpektomi ve radyoterapi sonrası gelişen ipsilateral meme rekürrensin tedavisinde farklı görüşler mevcuttur. Uluslararası kılavuzlar tedavi seçeneği olarak total mastektomiyi önermekte iken, ikinci bir meme koruyucu cerrahinin de tedavi alternatifi olarak yeterli olabileceği kanıtlanmıştır. İki grup kıyaslandığında lokal kontrol, hastalısız ve genel sağkalım arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır [66].

Hollanda'da yapılan bir çalışmada tümör boyutundan ve lenf nodu durumundan bağımsız olarak, meme koruyucu cerrahi radyoterapisiz mastektomi ile kıyaslandığında, 10 yıllık genel sağkalım ile hastalısız sağkalım oranlarının benzer olduğu tespit edilmiştir [67]. Çok merkezli başka bir çalışmada meme koruyucu cerrahi + radyoterapi verilen grup ile total mastektomi uygulanan iki grup

karşılaştırıldığında, meme koruyucu cerrahi + radyoterapinin genel sağkalım anlamında total mastektomi ile eşit olduğu gösterilmiştir [68].

Negatif sınırlı tam rezeksiyonun mümkün olabileceği seçilmiş hastalarda kozmetik olarak başarılı bir sonuç alınabileceksen meme koruyucu cerrahi tedavi olarak önerilmektedir [63].

2.1.7.1.2. Mastektomi

Mastektominin farklı çeşitleri bulunmaktadır. Halsted tarafından tanımlanan radikal mastektomi, meme dokusunun, pektoral kasların ve aksiller dokunun en blok olarak çıkarılması olarak tanımlanmıştır. Radikal mastektomi, pektoral kas invazyonu varlığında ve bazı neoadjuvan kemoterapiye yanıtız Evre 3 tümörler gibi, nadir durumlarda kullanılmaktadır. Uzun yıllar meme kanserinin cerrahi tedavisinde kullanılmış olsa da günümüzde yerini modifiye radikal mastektomiye bırakmıştır. 1948 yılında Patey ve Dyson tarafından tanımlanan modifiye radikal mastektomide meme dokusu, majör pektoral kasın fasyası, minör pektoral kası ve aksiller lenf nodları çıkarılmaktadır. Minör pektoral kasın korunması Auchincloss modifikasyonu olarak adlandırılır. Total mastektomi ise, aksiller doku çıkarılmaksızın, meme dokusu ile majör pektoral kas fasyasının çıkarılması işlemidir [69].

Erken evre meme kanserlerinde genellikle meme koruyucu cerrahiler tercih edilirken, göğüs duvarına radyasyon almış hastalarda, küçük memede büyük tümör varlığında, yaygın kalsifikasyon ve multisentrik tümör saptanan hastalarda mastektomi tercih edilebilir [58]. Meme koruyucu cerrahi sonrası, cerrahi sınırların yaygın olarak pozitif gelmesi durumunda da mastektomi öncelikli olarak düşünülmelidir [70]. Total mastektomi genelde memede yaygın kanser varlığında ve aksiller metastazın olmadığı hastalarda uygulanmaktadır [71].

Yapılan bir çalışmada (Kurtz ve ark.) klinik veya radyolojik kanıtlanmış multisentrik tümör varlığında memede lokal rekürrens oranı %36 olarak saptanırken, bu oran unifokal tümörler için sadece %11 olarak bulunmuştur. Ayrıca, multisentrik tümöre sahip hastalarda lokal rekürrensler, daha farklı kadranlarda gelişmiş ve tek lezyonu olan hastalara göre daha geniş bir alanda görülmüştür. Bu bulgulardan yola

çıkarak, memede yaygın hastalık varlığında meme koruyucu cerrahi yerine mastektominin uygulanması önerilmektedir [72]. Multisentrik tümör varlığında mastektomi uygulanan hastalarda eş zamanlı rekonstrüksiyon seçeneği de bulunmaktadır. Rekonstrüksiyon yapılan hastalarda cilt-koruyucu mastektomi (areola koruyucu ya da koruyucu olmadan) uygulanabilmektedir [58].

2.1.7.1.3. Meme Kanserinde Aksilla Yönetimi

Aksiller lenf nodu diseksiyonu (ALND) yapılan hastaların sadece %40'ında aksiller lenf nodlarında metastaz saptanmaktadır. Bu işleme bağlı morbiditeyi azaltmak veya ortadan kaldırmak için her hastaya aksiller lenf nodu diseksiyonu uygulamadan lenf nodlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla sentinel lenf nodu biyopsisi (SLNB) geliştirilmiştir. Bu uygulama ile aksilladaki sentinel lenf nodu tespit edilerek, nodal tutulumu olmayan hastalarda ALND'a gerek kalmaz ve uygun evreleme sağlanır [61]. Ancak aksiller lenf nodları pozitif olan hastalarda ALND'un rutin uygulanması veya uygulanmaması gerektiği hakkında bir fikir birliği mevcut değildir [63].

ACOSOG Z0011 çalışmasına klinik olarak lenf nodu palpe edilemeyen, T1-2 evre tümörü olan ve SLNB'de 1-2 pozitif lenf nodu saptanan hastalar dahil edilmiştir. Bir grup hastaya SLNB uygulanırken diğer grup hastaya ise ALND uygulanmış. İki grup karşılaştırıldığında 10 yıllık genel sağkalım oranlarında fark saptanmamış ve bu hastalarda rutin ALND uygulanması önerilmemiştir [73].

Büyük tümör veya pozitif aksiller lenf noduna sahip hastaları, meme koruyucu cerrahiye uygun hale getirmek için, neoadjuvan kemoterapi uygulanmaktadır. Bu hastalarda, kemoterapi bitiminden sonra aksillada rezidü tümör varlığını değerlendirmek önemlidir ancak bunun için uygulanacak olan aksiller lenf nodu diseksiyonu hastalara cerrahi morbidite eklemektedir. Neoadjuvan kemoterapiye bağlı yanlış negatif sonuçlar elde edilebileceğinden, bazı yayınlar aksiller lenf nodu negatif olan hastalarda neoadjuvan kemoterapiye başlamadan önce SLNB'sini önermektedir. Evrelemenin bu şekilde daha uygun olacağı savunulmaktadır [63]. Fakat aksillası klinik olarak negatif, T1-3 hastalığa sahip, 3746

hastayla yapılan bir çalışmada hastaların %15,3'üne kemoterapi sonrası SLNB uygulanırken, %84,7'sine kemoterapi öncesi SLNB uygulanmış. İki grup arasındaki yanlış negatiflik oranı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (%5,9 vs. %4,1, p=0.39). Evrelere göre hastalar incelendiğinde de genel sağkalım, hastalısız sağkalım ve lokal rekürrens oranlarında da benzer sonuçlar elde edilmiştir [74].

Neoadjuvan kemoterapinin, aksilladaki lenf nodu tutulumunu hastaların yaklaşık %29'unda ortadan kaldırdığı gösterildi. Bu nedenle T evresinden bağımsız, klinik N1 hastalığa sahip kişilerde, kemoterapi sonrası sentinel lenf nodu cerrahisinin uygulanması tartışmalıdır ve kemoterapi öncesi SLNB uygulamak bu hastalar için bir alternatif olabilmektedir [75]. ACOSOG Z1071 çalışmasında neoadjuvan kemoterapi sonrası yapılan SLNB'nin yanlış negatiflik oranı %12,6 bulunmuştur ve bu hasta grubunda SLNB'nin uygulanabileceği önerilmiştir. En az 3 lenf nodu çıkarıldığında bu oran %9,1' düştüğü gözlenmiştir [58].

Sentinel lenf nodu biyopsisi için endikasyonlar aşağıdakilerdir:

1. Erken evre meme kanseri (T1-2)
2. Multisentrik tümörler
3. DCIS olup mastektomi uygulanan hastalar
4. Neoadjuvan kemoterapiden önce
5. Memeye yönelik radyasyon öyküsü olan hastalar
6. Yaşlılar ve obezler
7. Erkek meme kanseri [76]

Meme kanserli hamile hastada ve inflamatuvar meme kanserinde sentinel lenf nodu biyopsisi kontrendikedir [77].

2.1.7.2. Cerrahi dışı Tedavi

2.1.7.2.1. Radyasyon

Radyasyon tedavisi öncelikli olarak meme koruyucu cerrahi yapılan hastalarda adjuvan olarak verilmektedir. Mastektomi yapılan hastalarla

kıyaslandığında, meme koruyucu cerrahi + radyoterapi uygulanan hastalarda benzer uzun dönem mortalite ve sağkalım oranları saptanmıştır. Ayrıca iki grup kıyaslandığında, meme koruyucu cerrahi + radyoterapi verilen grubun da mastektomi grubuna göre benzer lokal hastalık kontrol oranlarına sahip olduğu gösterilmiştir. Tedavi sonrası 10 yıllık süreçte korunan memede lokal hastalık kontrol oranları %90-95 oranında bulunmuştur. Meme koruyucu cerrahi sonrası radyoterapi uygulanmayan hastalarda lokal rekürrens oranı daha yüksek saptanmıştır [58].

Mastektomi yapılmış hastalarda aşağıdaki durumlarda radyoterapi endikasyonu bulunmaktadır:

1. T4 tümörler
2. pT3pN0R0 ve risk faktörleri olan (Evre 3, premenopozal, < 50yaş) hastalar
3. R1/R2 rezeksiyon ve tekrar yapılacak cerrahide R0 mümkün olmayan hastalar
4. 3 veya daha fazla pozitif aksiller lenf nodu varlığı
5. 1-3 pozitif aksiller lenf nodu ve artmış rekürrens risk varlığında (Her2 pozitif, Üçlü-negatif, Evre 3, Ki67 > %30, çıkarılan lenf nodlarının > %25'in pozitif olması, 45 yaş, medial yerleşimli tümör, >2cm tümör boyutu, ER-negatif) [78]

Radyoterapi genelde 6-6,5 hafta süreyle tüm memeye uygulanmaktadır. Lokal rekürrensi azalttığı için, öncesinde tek seferlik lokal bir yükleme dozu yapılmaktadır [60, 78]. Yaşam beklentisi 10 yıldan kısa, küçük ve lenf nodu negatif, hormon reseptör pozitif, Her2 negatif tümörü olan hastalarda radyoterapi verilmeyebilir ancak lokal rekürrens riski göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca bu hastalarda R0 rezeksiyon uygulanmış olmalıdır [78].

Mastektomi sonrası rekonstrüksiyon yapılacak hastalarda radyoterapinin kozmetik kötü sonuçlara neden olabileceği bilinmektedir ve radyoterapi planlanması ona göre yapılmalıdır. Konvansiyonel radyoterapiye alternatif olması amacıyla son yıllarda yeni radyoterapi yöntemleri geliştirilmiştir. Parsiyel meme ışınlaması, intraoperatif radyoterapi ve brakiterapi bunlara örnek sayılabilir [61].

2.1.7.2.2. Sistemik Tedavi

Sistemik tedavi kendi içinde hormon tedavisi, kemoterapi ve biyolojik tedavi olarak üçe ayrılmaktadır. Verilecek olan tedavi türü hastaya spesifiktir ve tümörün biyolojik özellikleri, evresi, boyutu gibi birçok faktörden etkilenmektedir [78].

2.1.7.2.2.1. Adjuvan Kemoterapi

Meme kanserinin zamanla dissemine olma eğiliminde olduğu gerçeği 1950'li yıllarda fark edilmiş olmasına rağmen, ancak 1980'li yıllarda yapılan çalışmalarda adjuvan kemoterapinin sağkalım üzerine olumlu bir etkisi olabileceği gösterilmiştir. EBCTCG tarafından 1985-2000 yılları arasında yapılan bir meta analizde hastanın sağkalımının hastanın yaşı ile yakından ilişkili olduğu ve Antrasiklin tedavisinin mortaliteyi azaltabileceği gösterilmiştir. 21. yüzyılda yapılan randomize çalışmalar da Antrasiklin tedavisine Taksanların eklenmesinin meme kanseri ilişkili mortaliteyi tedavi sonrası 8. yılda %3 oranında düşürdüğünü kanıtlamıştır [61]. Antrasiklinlerin önemli yan etkilerinden biri kardiyotoksisitedir. Bu nedenle bilinen kardiyak hastalığı olan veya yaşlı hastalarda dikkatle kullanılmalıdırlar [60].

Adjuvan kemoterapi endikasyonunu koymak için farklı kriterler olsa da, 2009 St.Gallen önerileri endokrin duyarlılığı ve 2011 önerileri ise moleküler alt tipleri, kriter olarak öne sürmektedir. Adjuvan ve neoadjuvan verilen standart kemoterapi rejimi Antrasiklinler ve Taksanlardan oluşmakta iken, üçlü negatif tümörler için bu tedavilere ayrıca Karboplatinler de eklenebilmektedir. Adjuvan kemoterapi endikasyonları aşağıdakilerdir:

1. Her2 pozitif tümörler (eş zamanlı Trastuzumab ve neoadjuvan tedavi)
2. Hormon reseptör negatif tümörler (ER/PR negatif)
3. Şüpheli hormon reseptör pozitif tümörler
4. Aksiller lenf nodu pozitifliği
5. Evre 3 tümörler
6. Genç yaş (<35 yaş) [78]

2.1.7.2.2. Neoadjuvan Kemoterapi

Neoadjuvan kemoterapi ilk defa 1970'li yıllarda lokal ileri evre meme kanserinde inoperabl meme kanserli hastaları cerrahiye uygun adaylar haline getirmek amacıyla kullanılmıştır. Sonraki yıllarda meme kanseri tedavisinde adjuvan kemoterapinin yanında bir tedavi seçeneği olarak yerini almıştır.

Daha erken dönem, operabl olan hasta grubun da tedaviden fayda görebileceği düşüncesiyle neoadjuvan kemoterapi bu grup hasta için de kullanılmaya başlanmıştır. Bazı hastalarda neoadjuvan kemoterapi sonrası tam patolojik yanıtın alınması neoadjuvan kemoterapinin sağkalım üzerine yararlı etkilerinin olabileceği düşüncesini de yaratmıştır [3].

Neoadjuvan kemoterapi genel olarak yüksek riskli üçlü negatif ve Her2(+) meme kanserlerinde standart tedavi olarak kullanılsa da hormon reseptörü (özellikle ER(+)) olan hastalarda da bazı durumlarda kullanılabilir. Erken dönem üçlü negatif meme kanserinde özellikle 2cm ve üzeri tümör boyutu olan veya lenf nodu metastazı olan hastalarda ilk tedavi seçeneğidir. Her2(+) olan ve evresi en az T2 olan veya lenf nodlarında metastazı olan hasta grubunda da neoadjuvan kemoterapi ilk tercihtir.

ER+ tümörler kemoterapiye daha duyarsız olduğu için neoadjuvan kemoterapi için net bir endikasyon mevcut değildir ve hasta ile tümör özellikleri göz önünde bulundurularak karar verilmesi önerilmektedir. ER+ olan hastalarda standart neoadjuvan kemoterapiye alternatif olarak neoadjuvan endokrin tedavi de verilebilmektedir ve yapılan çalışmalar iki kemoterapi türünün benzer yanıt oranlarına sahip olduğunu göstermektedir [4].

Neoadjuvan kemoterapinin olası avantaj ve dezavantajları aşağıdaki tabloda özetlenmiştir:

Tablo 2.1. Neoadjuvan Kemoterapinin Avantajları ve Dezavantajları [4]

Avantajlar	Dezavantajlar
Tümör boyutunda küçülme	Klinik/ radyolojik değerlendirme yetersiz
Tümör evresinde gerileme	Küçük tümörlerde gereksiz/aşırı tedavi
Tümör yanıtını in vivo değerlendirme imkânı	Cerrahinin sınırını belirlemede zorluk
Daha sınırlı cerrahi rezeksiyon	Aksiller lenf nodlarının prognostik önemini kaybetmesi
Cerrahi sonrası tümörde ani büyümenin engellenmesi	Cerrahi sınırların gerekliliği sorunsalı
Sistemik tedaviye erken başlangıç	İlaca dirençli hücre gelişimi
Kemoterapiye yanıtta uzun dönem sonuçlar için bir belirteç	Lokal tedavide gecikme
Kemoterapi sırasında gerçekleşen değişikliklerin tümörde alınan örneklerle takip edilebilmesi	Primer tümör yanıtı ile mikrometastaz yanıtı arasındaki uyumsuzluk

Mauri ve ark. tarafından 2005 yılında yapılan bir meta-analizde neoadjuvan ve adjuvan kemoterapi alan hastalar karşılaştırılmış ve iki grup arasında ölüm, hastalık durumunda ilerleme ve uzak metastaz açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak neoadjuvan kemoterapi alan grupta lokal hastalık ve rekürrens oranında adjuvan gruba göre %22'lik artmış rölatif risk oranı saptanmıştır. Ayrıca neoadjuvan ile adjuvan kemoterapinin sağkalım ve hastalık progresyon

oranlarında eşit olduğu tespit edilmiştir. Neoadjuvan kemoterapi verilen hastalara, adjuvan kemoterapi alan hastalara kıyasla, daha sık cerrahi uygulamaksızın radyoterapi verildiği de ayrıca gözlemlenmiştir [79].

Ancak 2007'de Mieog ve ark. tarafından yürütülen sistemik bir incelemede, cerrahi uygulanmaksızın radyoterapi verilen hastalar dışlandığında, lokal rekürrens oranında iki grup arasında bir fark bulunamamıştır. Uygulanan cerrahiden bağımsız olarak lokal rekürrens ile kemoterapinin veriliş zamanı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Neoadjuvan kemoterapi verilen hastalarda meme koruyucu cerrahiye göre mastektomi uygulanma oranı daha düşük tespit edilmiştir. Sonuç olarak neoadjuvan kemoterapi verilen hastalarda meme koruyucu girişimlerin oranının arttığı ve kemoterapi ilişkili enfeksiyonların daha az olduğu gösterilmiştir [5].

Neoadjuvan kemoterapi sonrası yanıt değerlendirmede patolojik tam yanıt, özellikle Her2(+) ve üçlü negatif kanserlerde, önemli bir belirteç olarak kullanılmaktadır. ER + hastalarda gelecekte gen ekspresyon profillerinin dokudan çalışılacağı ve bir belirteç olarak kullanılacağı öngörülmektedir [4].

Neoadjuvan kemoterapi olarak en sık kullanılan ajanlar Siklofosamid, Adriamisin, Fluorourasil ve Metotreksat olsa da tedaviye antrasiklinlerin eklenmesinin tedaviye yanıt, hastaliksız ve genel sağkalım oranlarında yükselmeye neden olduğu gösterilmiştir. GEPAR Trio çalışmasında toplamda 6 veya 8 kür neoadjuvan kemoterapi alan hastalar kıyaslandığında patolojik tam yanıt ve meme koruyucu cerrahi oranında bir fark saptanmamıştır. Ancak 8 kür alan grupta kemoterapiye bağlı yan etkiler daha çok gözlemlendiğinden 6 kür neoadjuvan kemoterapinin daha uygun olacağı sonucuna varılmıştır [3].

Neoadjuvan kemoterapinin en önemli avantajlarından biri olumlu kozmetik sonuçlarıdır ve meme koruyucu cerrahiye bağlı gelişen daha düşük morbidite oranlarıdır [5]. Ek olarak verilen kemoterapinin tümör üzerine etkisini in vivo olarak izleme şansı ile aynı zamanda prediktif biyomarkerların ve potansiyel yeni ilaç ajanlarının araştırılmasına olanak sağlamaktadır [4]. Hastaya yönelik daha az

toksisiteye sahip, daha özelleşmiş ve özgün tedavi seçeneklerin de önünü açmaktadır.

2.1.7.2.2.3. Biyolojik Tedavi

Meme kanserinin bir alt tipi olan Her2 pozitif tümörlerde monoklonal bir antikor olan Trastuzumab standart kemoterapiye eklenmektedir. Standart kemoterapiye Trastuzumabın eklenmesi mortaliteyi %30 azaltırken, rekürrens oranlarını da %50 oranında azaltmaktadır [61]. Trastuzumab'ın sağkalım üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Rutinde en az 1 yıl tedavi olarak kullanılması önerilmektedir [58].

Her2'ye yönelik farklı ajanlar araştırılmıştır. Bunlardan tirozinkinaz inhibitörü olan Lapatinib ile monoklonal bir antikor olan Pertuzumab, Trastuzumab ve kemoterapi ile kombine edilmiştir. Özellikle ileri evre hastalıkta ve neoadjuvan kemoterapi olarak kullanıldıklarında daha iyi etkinlik gösterdikleri kanıtlanmıştır.

Her2 pozitif olan hastaların bir kısmı biyolojik tedavilere yanıtız kalmaktadır. Bu nedenle kanser hücrelerine yönelik antikor geliştirilip verilmesi gündem konusu olmuştur. Buna yönelik ilk kullanılan ajan T-DM1 (mikrotübül-depolimerize edici ajan) olmuştur. KATHERINE çalışmasında adjuvan T-DM1'in Her2 pozitif erken evre meme kanserinde neoadjuvan kemoterapi tamamlandıktan sonra, tek başına Trastuzumab ile kıyaslandığında rekürrens riskini %50 azalttığı gösterilmiştir. Farklı bir ajan olan Sacituzumab Govitecan ASCENT çalışmasında araştırılmış ve ileri evre üçlü negatif kanserlerde genel sağkalım ile progresyonsuz sağkalım üzerine olumlu etkileri olduğu tespit edilmiştir [61].

2.1.7.2.2.4. Hormon Tedavisi

Hormon tedavisi ER pozitif ve/veya PR pozitif olan hastalarda tercih edilmelidir [58].

Tedavi ajanı olarak Tamoksifen ve Aromataz inhibitörleri kullanılmaktadır ve 60 yıldan fazladır meme kanseri tedavisinde yer almaktadırlar. En sık kullanılan ajan Tamoksifendir ve PR pozitifliği Tamoksifen tedavisine oluşacak yanıtın güçlü bir

göstergesidir. Tercihen en az 5 yıl kullanılmalıdır ancak ATLAS çalışmasında 10 yıllık kullanım ile mortalitede %3'lük bir iyileşme gösterilmiştir.

Yüksek riskli meme kanserine sahip, kemoterapi almış premenopozal kadınlarda, aromataz inhibitörü ile over supresyonu (GnRH analogları veya bilateral ooforektomi) birlikte uygulandığında, Tamoksifene göre daha üstün olduğu randomize SOFT çalışmasında gösterilmiştir [58, 60]. Bu hastalarda daha yüksek hastaliksız ve genel sağkalım sağlandığı görülmüştür [61]. GnRH analogları veya bilateral ooforektomi sadece kemoterapi tedavisi tamamlanmış, rekürrens riski yüksek kişilerde uygulanmalıdır [78]. Kemoterapi almayan premenopozal kadınlarda Tamoksifen tek başına kullanılabilir [58].

Tamoksifen ile Anastrozolü karşılaştıran ATAC çalışmasında, postmenopozal kadınlarda uzamış hastaliksız sağkalım, rekürrense kadar uzamış zaman ve daha az uzak metastaz ile ilişki bulunmuştur ve bu yüzden postmenopozal kadınlarda ilk tercih olarak Aromataz inhibitörleri kullanılmalıdır [60].

Tedavi sırasında gelişen progresyon veya relaps durumlarında Aromataz inhibitörlerin etkinliğini arttırmak için en sık kullanılan ikinci ajan CDK4/6 inhibitörleridir. CDK4/6 inhibitörler haricinde mTOR inhibitörü olan Everolimus ile PIK3CA inhibitörü olan Alpelisib de bu anlamda araştırılmaktadır [61].

2.2. Hematopoetik Sistem

Hematopoezis kanı oluşturan hücrelerin süregelen oluşum ve gelişimine verilen isimdir. Bu süreç embriyonik dönemde başlayıp erişkin dönemde de devamlılığını sürdürmektedir [80]. Hematopoetik sistem farklı zamanlarda iki farklı türde mevcuttur. Embriyonik hematopoezis geçici hematopoetik kök hücrelerin (primitif eritrositler ve bazı myeloid hücreler) oluşumundan sorumludur [81]. Bu progenitör hücreler pluripotent değildir ve kendilerini yenileyememektedir [80]. Nihai hematopoetik kök hücrelerden gelişen hematopoezis ise erişkin insanda tüm matür kan hücrelerinin (eritroid, myeloid ve lenfoid) kökenidir [81]. Bu kök hücreler multipotenttir ve tüm kan eleman serileri için kaynak oluşturmaktadırlar [80].

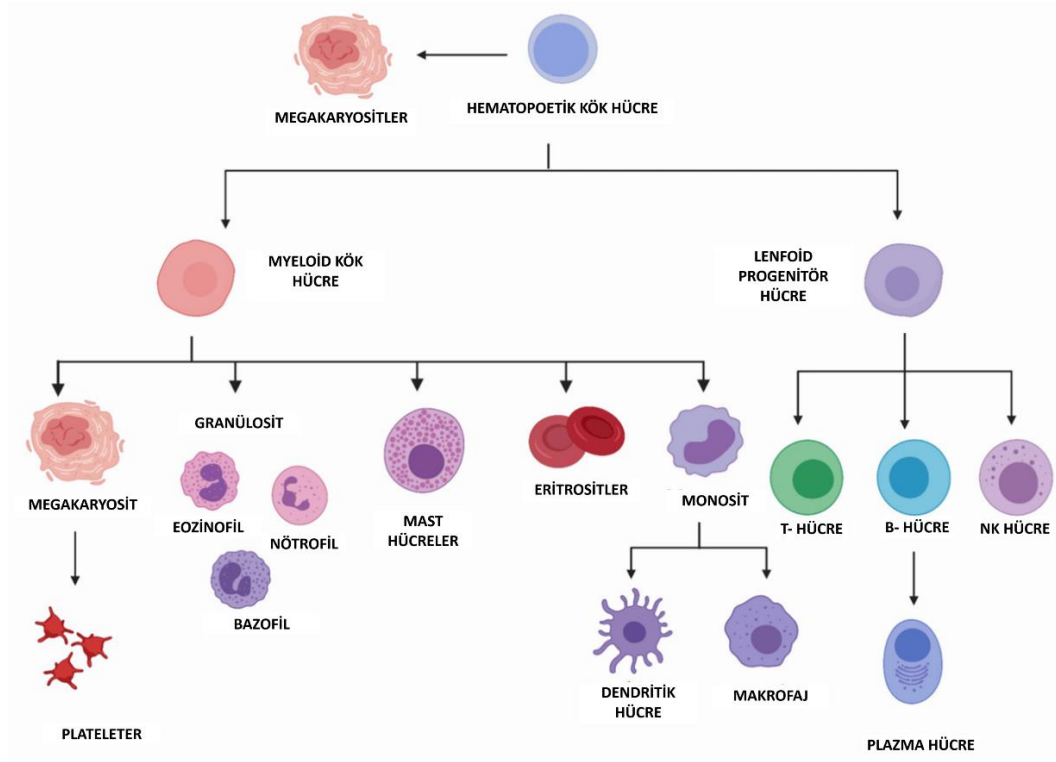
Matür kan hücrelerin ömürleri sınırlı olduğu için sürekli yeni oluşan ve gelişen matür kan hücrelerine ihtiyaç vardır. İnsan hayatı boyunca bunu sağlayan hücelere hematopoetik kök hücreler (HKH) denilmektedir ve matür kan elemanları bu hücrelerden gelişmektedir. Kan üretimi enfeksiyon, kanama, alerji veya inflamasyon gibi birçok etkenden etkilenirken, çok sıkı mekanizmalar ile düzenlenmektedir.

Hematopoezis insanda ilk olarak embriyonal dönemde yolk kesesinde başlamaktadır ve sırasıyla aorta-gonadal-mezonefrik alanlarda, fetal karaciğerde ve son olarak da kemik iliğinde devamlılığını sürdürmektedir [82]. Nihai hematopoezisteki hematopoetik kök hücreler primer olarak aorta-gonadal-mezonefrik alanlardan köken almaktadır ve daha sonra önce embriyonik karaciğere ve sonrasında da embriyonik timus, dalak, lenf nodlarına ve kemik iliğine göç etmektedir [83]. Tüm kan eleman serilerinin oluşumu hematopoetik kök hücrelerin ancak kemik iliğine yerleşip çoğalmasıyla oluşmaktadır ve önceki hematopoetik lokalizasyonlarda tüm kan eleman serilerine rastlanmamaktadır [82].

Erişkin insanda hematopoezisin kaynağı kemik iliği ve timus'tur [80]. Kemik iliği insan vücudundaki en büyük lenfoid organdır ve hematopoetik ve lenfoid serileri oluşturacak ortak multipotent kök hücreler barındırmaktadır. Bu multipotent kök hücrelerden önce hematopoetik, mezenkimal ve endotelial kök hücreler, daha sonra ise lenfositler, plazma hücreleri, eritrositler, trombositler, granülositler, monositler ve NK (Doğal Öldürücü) hücreler gelişmektedir.

Kemik iliğinin en önemli özelliği, tüm kan ve immün sistem hücrelerinin oluşumunu sağlamasıdır. Farklı hücre gruplarının gelişimi hiyerarşik düzende olur ve eritrosit, lökosit ve plateletlerin ilk öncülü hematopoetik kök hücrelerdir. Bu hücrelerden önce multipotent progenitör hücreler gelişirken, ikinci aşamada ise primitif ortak lenfoid (OLP) ya da myeloid progenitör hücreler (OMP) oluşmaktadır. Sonraki basamakta ortak myeloid progenitör hücreler (OMP), eritrosit ve trombositleri meydana getirecek olan megakaryositik/eritroid progenitör(MEP) hücelere bölünmektedir. Ayrıca ortak myeloid progenitör hücrelerden (OMP)

Granülosit/Monosit progenitör hücreler oluşurken, benzer basamaklar sonrasında monosit/makrofaj, granülosit ve mast hücreleri gelişmektedir. Ortak lenfoid progenitör hücreler bölünerek T-hücre, B-hücre ve NK hücrelerini oluşturmaktadır [83]. (Şekil 2.2.)



Şekil 2.2. Hematopoetik Sistem Hücreleri [84]

2.2.1. Eozinofiller

İlk defa 1879 tarihinde Paul Ehrlich tarafından eozin boyası ve diğer asidik boyalara karşı afinite gösteren granüllü hücreleri tanımlamak için Eozinofil terimi kullanılmıştır [85].

Eozinofiller dolaşımda bulunan lökositlerin bir alt grubunu oluşturmaktadır ve diğer granülositler gibi kemik iliğinden köken almaktadır [86]. Kandaki eozinofil oranı lökositler arasında oldukça düşüktür ve toplam lökositlerin %5'inden daha azını oluşturmaktadır. Salgılandıktan 8-12 saat sonra periferik organlar olan akciğer, karaciğer, böbrek, deri, kalp, dalak, lenf nodları, timus, yağ dokusu, meme dokusu, uterus ve sindirim sistemine dağılmaktadırlar ve orada yaklaşık olarak 7-10 gün kalmaktadırlar. Normal şartlarda az miktarda bulunmalarına rağmen, inflamatuvar

süreçler, alerjik reaksiyonlar ve paraziter enfeksiyonlar gibi durumlarda eozinofil sayılarında ciddi bir artış gözlenmektedir [87]. Aktive olan eozinofillerin yaşam süreleri ise 8-18 saat arasında değişmektedir. Kandaki aktif eozinofiller karaciğer, dalak ve kemik iliğine dağılarak yok edilmektedir. Ancak dokuda bulunan eozinofiller tekrar kan dolaşımına geçememektedir ve yaşam süreleri dokularda 14 güne kadar uzayabilmektedir. Kandaki eozinofillerden farklı olarak insitu elimine edilmektedirler [88].

2.2.2. Eozinofillerin kökeni, farklılaşması ve fonksiyonları

Nonlenfoid lökositler olarak adlandırılan monositlerin, makrofajların, granülositlerin ve mast hücrelerin gelişimine myelopoiesis adı verilmektedir. Ortak myeloid progenitör hücreden köken almaktadırlar. Progenitör hücreler bölünerek farklı lökosit türleri olan monosit, nötrofil, eozinofil, bazofil ve mast hücre progenitörlerine dönüşmektedir. Bu dönüşüm özelleşmiş bazı sitokinlerin ve transkripsiyon faktörlerin aracılığı ile olmaktadır. Granüler lökositler, nötrofilleri, eozinofilleri ve bazofilleri kapsamaktadır. Gelişimleri granulopoiezis olarak adlandırılmaktadır. En erken tespit edilebilen myeloid hücreler myeloblastlardır ve granül oluşumu, tip 1'den tip2'ye olgunlaşmaları sırasında gerçekleşmektedir. Her bir myeloblast yaklaşık olarak 1-32 adet metamyelosit üretmektedir. Bu metamyelositlerden ise matürasyon sonucu bant granülositler oluşmaktadır ve sonraki aşamalarda, daha fazla bölünmeksizin, nükleer matürasyon aşamasını tamamlamaktadırlar. Çekirdek içindeki kromatinin yoğunlaşması ve nükleer bölünme, bu matürasyon aşamasını kapsamaktadır. Azurofilik primer granül içeren hücrelere promyelosit adı verilmektedir. Farklılaşmalarının son aşaması olan myelosit aşamasında, sekonder granüller izlenmektedir. Granülosit hattını nötrofilik, bazofilik veya eozinofilik olarak tanımlayan şey sekonder granüllerin varlığıdır ve diğer granülosit tiplerinden ayırt edici önemli bir özelliktir [83].

Eozinofillerin matürasyon süresi yaklaşık olarak 8 gündür. Kemik iliğinde bulunan CD34⁺ kök hücreleri eozinofillerin geliştiği temel hücrelerdir ve yukarıda bahsedilen OMP yolağı üzerinden eozinofillere dönüşmektedirler. Bu farklılaşma yolağındaki en önemli transkripsiyon faktörü GATA-1' dir [87]. Eozinofilleri diğer

granüler lökositlerden ayıran diğer transkripsiyon faktörleri ise XBP1 ve IRE1 α 'dır [89]. Eozinofil gelişimini ve oluşumunu engelleyen bir takım transkripsiyon faktörleri bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri FOG1, Id1 ve Klf5 'tir.

Eozinofillerin içinde bulunan granüller çok farklı sitokinler, kemokinler, enzimler, ekstrasellüler matriks ve büyüme faktörleri barındırmaktadır ve bunlardan eozinofillerin aktivasyonu ve regülasyonu ile ilişkili olan en önemli sitokinler IL-5, IL-3 ve GM-CSF'dir. Ayrıca eozinofiller içlerindeki sekonder granüllerde depolanan, IL-5, IL-6, IL-13, TNF- α , GM-CSF ile IL-2 ve IL-4 gibi sitokinler salgılamaktadır [87, 88]. Buna ek olarak eozinofiller, C5a, fMLP, inflamatuvar sitokinler ve ECM proteinlerin yardımıyla da, de novo sitokinler üretebilmektedir [90].

IL-5, eozinofillerin CD34⁺ progenitör hücreden farklılaşma aşamasında önemli bir rolü olan pro-inflamatuvar bir sitokindir. Ayrıca eozinofillerin göçü, aktivasyonları ve periferik dokulardaki sağkalımları ile yakından ilişkilidir. CCR3 ligandı olan Eotaksin, eozinofillerin çoğalmasında ve dokularda toplanmasında IL-5 ile birlikte rol almaktadır [87]. Eozinofil, bazofil, yardımcı T-hücreler ve solunum yolları epitel hücreleri tarafından salgılanan CCL11 Eotaksin reseptörü olan CC3'e bağlanarak eozinofillerin farklı dokularda toplanmasını sağlamaktadır. IL-13 Eotaksin-1 üretimini arttırırken, IL-5 ise eozinofillerin Eotaksin-1'e karşı duyarlılıklarını arttırmaktadır. IL-5 ayrıca eozinofillerin yaşamlarını destekleyen en önemli sitokindir [7].

IL-5 haricinde dokularda eozinofillerin yaşam sürelerini uzatanlar arasında IL-3, IL-9, IL-13, IL-15 ve GM-CSF bulunmaktadır [91].

Eozinofillerin toplanmasında, aktive olduktan sonra düzenlenen CCL24 ve CCL26 gibi ve normal T-hücrelerde eksprese edilip salınan RANTES (CCL5) gibi, başka eotaksinler de yer almaktadır [7].

Eozinofillerin alerjik reaksiyonlarda ve paraziter enfeksiyonlarda önemli rolleri olsa da başka birçok fonksiyonları mevcuttur. Kanda bulunan eozinofillerde fizyolojik şartlarda degranülasyon gerçekleşmez ancak proinflamatuvar medyatörlerin uyarımı sonrası birçok granül proteinlerin, sitokinlerin, büyüme faktörlerin ve kemokinlerin salgısı meydana gelmektedir. Degranülasyon kandan ziyade dokularda

gelişmektedir ve gerçekleşebilmesi için IL-3, IL-5 ve GM-CSF ile birlikte aktive olmak zorundadır [91]. Eozinofillerin konak savunmasından özellikle sitotoksik aktiviteleri sorumludur. Sekretuar granüllerde bulunan MBP 1 ve 2, ECP, EDN ve EPO sitotoksik aktiviteden sorumlu moleküllerdir [7].

Eozinofillerin hücrel ve hümoral immünitede önemli fonksiyonları olduğu bilinmektedir ve hem T hem de B lenfositlerin fonksiyonları üzerine etkileri bulunmaktadır. MHC sınıf II ve T-hücre kostimülör moleküller olan, CD80 ile CD86'nın, eozinofiller tarafından eksprese edildiği kanıtlanmıştır. Antijenlerle etkileşerek, antijen-spesifik T-hücre proliferasyonunu ve T-hücreler tarafından sitokin salgısını bu yollar ile sağlamaktadırlar. Hümöral bağışıklık üzerindeki etkilerini, antijen-spesifik IgM üretiminin ve plazma hücrelerin kemik iliğindeki gelişiminin sağlanması ile göstermektedirler. Ayrıca nötrofillerden proinflamatuvar medyatörlerin salgısına aracılık edip proinflamatuvar etkilerini güçlendirmektedirler [91].

Ekstrasellüler mikroorganizmaların yok edilmesini kolaylaştıran DNA tuzakların oluşumunda da rolleri bulunmaktadır. Bunun için mitokondriyal DNA ile birlikte granüler proteinler salgırlar ve DNA tuzaklarını oluştururlar [7].

2.2.3. Eozinofil Yüzey Belirteçleri

Eozinofillerin birçok fonksiyona sahip olmalarının dışında aynı zamanda reseptör görevi gören birçok hücre yüzey belirteçlerine de sahiptirler. Bu belirteçler ile büyümeleri, adezyonları, kemotaksisleri ve hücrelerarası etkileşimleri desteklenmektedir. Eozinofiller ile ilgili en göze çarpan sitokin ise IL-5 reseptörünün α -alt ünitesidir. Eozinofillere özgü ana reseptörlerden biri de SIGLEC-8 ile CCR3' tür [92]. SIGLEC-8'in aktive olmuş eozinofillerde apoptozisi indüklediği çalışmalarda gösterilmiştir [93].

CD16 molekülün yokluğu ve CD49d molekülün ekspresyonu eozinofilleri nötrofillerden ayıran iki önemli belirteçtir [88]. IL-5 ve GM-CSF eozinofillerin aktive olmasını sağlar ve bazofillerin aksine eozinofiller için daha etkili ve özgündür [94]. Bu reseptörler haricinde farklı görevleri tamamlayan reseptörleri de bulunmaktadır.

Eozinofillerin endotel üzerinde ilerlemesini sağlayan önemli bir belirteç de L-

selektin'dir. Ayrıca adezyonda görevli, E-selektin ve P-selektinler ile etkileşime giren, PSGL-1/CD162 ve CD15s moleküllerini de ifade etmektedirler [92]. Aktive olmuş eozinofillerde PSGL-1 düzeyi düşük saptanırken, SIGLEC-8 düzeyi stabil seyretmektedir [88]. Hücresel çevreyi düzenleyen integrin ailesine ait $\alpha 7$, $\beta 1$ ve $\beta 2$ de eozinofil yüzeyinde bulunmaktadır [92]. Endotel hücre yüzeyinde bulunan ve T-hücre proliferasyonuna aracılık yapan ICAM-1, eozinofiller tarafından salgılanan LFA-1 ile etkileşmektedir. Yapılan çalışmalarda ICAM-1 yokluğunda eozinofillerin hava yollarına girişi engellendiği gösterilmiştir [95]. Kolonda eozinofillerin toplanmasına yol açan olası bir yolak da $\beta 2$ -integrin/ICAM-1 bağımlı yolaktır [96]. Vasküler endotel üzerinde bulunan ve adezyon moleküllerine bağlanan integrinler kandaki eozinofillerin dokulara geçişine yardım etmektedir [92].

Adezyon molekülleri için olan reseptörler haricinde lipidleri tanımaya yarayan birkaç reseptör araştırılmıştır. Bunlardan en iyi bilinenler CysLT, yüksek-afiniteli PGD₂ ve PAF reseptörüdür. Hem olgunlaşmış hem de olgunlaşmamış eozinofillerde ifade edilen belirteç CysLT1R iken, sadece olgunlaşmış eozinofillerde ifade edilen belirteç ise CysLT2R'dir. PDG₂'in eozinofillerdeki görevi net olarak ortaya konmamıştır. PDG₂ ICAM-1 ile eozinofilik özefajitte eozinofil sayısında artışa neden olurken, atopik astım ve alerjik rinitte ise eozinofil düzeyinde bir yükselmeye neden olmamaktadır [97]. Ancak eozinofillerin göçlerinde ve Th2 hücreler üzerinden eozinofil toplanmasında etkili olabileceği öne sürülmektedir ve ilerleyen zamanlarda bu reseptörün eozinofil-ilişkili hastalıklarda terapötik bir ajan olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir [92].

Eozinofiller tarafından ifade edilen önemli iki belirteç kemokin reseptörleri olan CCR1 ve CCR3'tür. CCR3'ün toplamda 11 ligandı bulunmaktadır ve bunlardan en önemlileri Eotaksinlerdir. Eotaksinler CCL11'i (Eotaksin-1), CCL24'i (Eotaksin-2) ve CCL26'i (Eotaksin-3) kapsamaktadır. Eotaksinler dışında CCR3 aktivasyonunu sağlayan CCL5 (RANTES), CCL7 (Makrofaj kemotaktik protein-3, MCP3), CCL8 (MCP2) ve CCL12 (MCP5) diğer ligandlardır. CCR3 ve CCR1 dışında CXCR3, CXCR4, CCR5, CCR6 ve CCR8 gibi kemokin reseptörleri de eozinofillerde bulunmaktadır [92, 98].

Daha önce bahsedilen IL-5, IL-3 ve GM-CSF'e ait alt üniteler için spesifik reseptörler dışında, CD117, CDw119, CD120a, CD120b, CD124, CD132, CD129 ve

CD132 eozinofiller tarafından sitokin reseptörleri olarak eksprese edilmektedir. Bunların arasında en önemli olan sitokin reseptörü IL-5 reseptörün α -alt ünitesidir. Eozinofillerin olgunlaşmalarının dışında aktivasyonlarına ve kan ile dokularda hayatta kalmalarına aracılık eder [99]. Eozinofillerin yaşam süreleri dolduğunda, programlı hücre ölümlerinden sorumlu olan reseptörlerin CD120a ve CD120b olduğu tahmin edilmektedir [100].

Patojenlerle ilişkili molekülleri tanımaya yarayan PPR ailesinden olan Toll-benzeri (TLR) , nükleotid-bağlayıcı oligomerizasyon birim (NOD) -benzeri ve ileri glikolizasyon son-ürünlere (RAGE) ait reseptörlere insan eozinofillerinde rastlanmaktadır [101]. TLR1-TLR7 ve TLR9'un insan eozinofillerindeki ekspresyonları gösterilmiş olmasına rağmen insan eozinofillerde TLR2 ifade edilişi tartışmalıdır [92]. Bazı çalışmalarda insan eozinofillerde TLR2 ekspresyonunun gerçekleşmediği belirtilirken, başka bir çalışmada TLR2'nin ICAM-1 ve CD18 üzerinden eozinofil aktivasyonunu sağladığı gösterilmiştir [92, 102]. Genel olarak TLR ekspresyonu nötrofillere kıyasla daha düşük iken, en çok ifade edilen reseptör TLR7'dir. Eozinofillerin salgılanmasını sağlarken yaşam sürelerini de uzatmaktadır [102].

Eozinofillerle ilgili yapılan son çalışmalarda, bahsedilen diğer reseptör tiplerine ek olarak, eozinofillerin kompleman reseptörleri de ihtiva ettikleri tespit edilmiştir. Bunlar CR1 (CD35), CR3 (CD11b/CD18), C3aR, C5aR ve C1q reseptörlerdir [92]. CR1'in ekspresyonu LTB4 gibi birçok molekül tarafından düzenlenmektedir ve CR1 komplemana ait C3b, C4b, iC3b ve C1q ürünler ile etkileşebilmektedir. iC3b ve ICAM-1 varlığı CR3'ün tanınması için esastır ve bağlanmaları sonucu eozinofil aktivasyonu gerçekleşmektedir [103]. CD35 gibi kompleman reseptörlerin eozinofillerin ve nötrofillerin aktivasyonlarında ve dokulara adezyonlarında önemli rolleri olduğu bilinmektedir. Astım ilişkili reaksiyonlarda kanda dolaşan granülositlerde kompleman reseptör sayısı artmış olarak bulunmuştur [104].

Eozinofil yaşamını ve degranülasyonunu ile lökotrien oluşumunu destekleyen IgA, IgD, IgG ve IgM için gerekli olan Fc reseptörler de eozinofillerde bulunmaktadır. Eozinofillerde IgE ekspresyonu konusu tartışmalıdır ve çoğu araştırmacı çok düşük düzeyde ifade edildiğini düşünmektedir [92].

2.2.4. Eozinofillerin kanserdeki değişimi ve rolleri

Kanserli hastaların periferik kanında eozinofili saptanması 120 yıl öncesinden tanımlanmıştır ve birçok tümör türünde infiltrasyonları tespit edilmiştir [105, 106].

Eozinofillerin kanserdeki rolleri hakkında kesin bilgi bulunmasa da yapılan birçok çalışmada eozinofillerin kanserde bimodal etkilerinin olduğu gösterilmiştir.

Genelde immün kontrol noktası inhibitörler ile olan tedavilerde Tümör İlişkili Doku Eozinofilisi (TATE) geçmiş zamanlarda tanımlanmış olsa da eozinofillerin kanserdeki rolleri hala tartışmalıdır [7]. Periferik eozinofil sayısı öncelikli olarak immünoterapi altında olan melanom ve akciğer kanserli hastalarda çalışılmıştır [107].

Eozinofillerin tümöre infiltre olması, immün kontrol noktası inhibitörü alan hastalarda olumlu tedavi yanıtı ile ilişkilendirilmiştir [108]. Baş-boyun karsinomlu metastatik olgularda non-metastatik olgulara göre eozinofil sayısında daha ciddi bir artış gözlenmiştir [109].

Eozinofillerde hem protümöral hem de antitümöral etki gösterilmiştir ve bu etkilerini diğer immün hücreleri düzenleyerek ya da direk sitotoksik etki oluşturarak gerçekleştirmektedirler [107].

2.2.4.1. Protümöral etkileri

Eozinofillerin, diğer immün hücrelerini etkileyerek, büyüme faktörleri ve MMP salgılayarak, protümöral etkilerini indirekt yolla gösterdiklerine inanılmaktadır [105].

Protümöral etkileri arasında MMP9 üzerinden metastazların dokulara yerleşmesi, büyüme faktörleri, interlökinler ve kemokinler aracılığıyla fibroblast ve endotel hücre proliferasyonu ve IL-4 ve IL-13 ile makrofajların M2 formuna polarizasyonu bulunmaktadır [7].

Eozinofiller, tümör-kaynaklı timik stromal lenfopoyetin (TSLP) tarafından aktive edildikten sonra, IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 ekspresyonunu arttırabilmektedir ve serviks kanserinde tümör proliferasyonunu desteklemektedir [110]. Eozinofil

aktivasyonunun en önemli sitokinlerinden olan IL-5'in nötralizasyonu farklı kanser türlerinde (Akciğer kanseri, melanom, kolorektal kanser) akciğerlerde metastatik odakların oluşumunu azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca IL-5 yoksunu sıçanlara eksojen yolla verilen IL-5 ve eozinofiller akciğer metastazların gelişimini tetiklemektedir.

Yapılan çalışmalarda eozinofillerin primer tümör oluşumundan ve büyümesinden ziyade metastatik odakların oluşumunu kolaylaştırarak katkı sağladıkları gösterilmiştir [111]. Bu bulgulardan yola çıkarak eozinofillerin faaliyetlerinin buldukları dokuya göre değişebileceği ve doku bağımlı olduğu düşünülmüştür.

İnsanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda meme kanserli hastalar ile IL-5 arasında anlamlı bir ilişki tespit edilirken, daha fazla uzak metastaz ve kötü prognoz saptanmıştır. Oral skuamöz hücreli karsinomlarda ağırlıklı olarak protümöral etki gösterilmiştir. Yapılan hayvan deneylerinde anti-IL-5 antikor kullanımı sonrası tümör yükünde ve insidansında azalma gözlenmiştir [105].

Kolon kanserinin karaciğer metastazlarıyla ilgili yapılan deneysel çalışmalarda MMP9 ve vimentin-pozitif eozinofiller saptanmıştır [112].

Ayrıca hipoksik tümör çevresine geçerek orada anjiyogenezisi ve endotelial proliferasyonu tetikleyebilmektedirler. Bu yeteneklerine ek olarak fibrozisde ve dokunun yeniden şekillenmesinde, eozinofil kökenli TGF- β 1 üzerinden etkileri de gösterilmiştir. IL-4 ve IL-13 salgılayarak makrofaj polarizasyonu üzerinden tümörün büyümesine de yol açabilmektedirler. IL-13'ün makrofafların M2 polarizasyonuna destek olabileceği düşünülmektedir [105].

2.2.4.2. Anti-tümöral etkileri

Antitümöral etkilerini hem direkt hem de dolaylı yoldan göstermektedirler. Direkt etkileri sitotoksik etkileri sayesinde gerçekleşmektedir [7].

Eozinofillerden sitotoksik etki için ECP, EDN ve MBP denilen granül proteinleri salgılanmaktadır. Degranülasyonun bir etki mekanizması olduğu düşünülmektedir ancak eozinofillerin tümörisidal etkileri henüz net ortaya konulamamıştır [8].

T-hücre uyarımı ile CD8 T-hücrelerin mobilizasyonu, makrofajların M1 formuna polarizasyonu, antijen sunumu ve vasküler yatağın normalizasyonu indirekt antitümöral etkileri arasında sayılabilmektedir [7]. CD8 T- hücreler tümör içine girerek etki gösterirken, M1 makrofajlar ise inflamasyonu ve fagositozu tetiklemektedir. Eozinofiller ayrıca yüzeylerindeki MHC I ve II ekspresyonu ile antijen sunan hücrelere dönüşerek CD86, CD40, CD40L ve CD28 gibi kostimülatör moleküller salgılayabilmektedir. Bu kostimülatörler aracılığıyla T-hücreleri uyararak antitümöral etki gösterebilmektedirler [107].

Eozinofillerin dokularda toplanmasına neden olan tümör ilişkili sitokinler arasında, IL-2, IL-3, IL-5, IL-25, GM-CSF, Eotaksin-1 ve HMGB1 bulunmaktadır [8]. İn vitro yapılan çalışmalarda aktive eozinofillerin IL-10 ve IL-12 yardımıyla prostat kanser hücrelerinin büyümesine engel olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada da metastatik yayılımı baskılayan ve bir adezyon molekülü olan E-kaderin'in ekspresyonunu arttırdıkları gösterilmiştir [113].

Fare veya insan eozinofillerin, mastositoma hücreleri (P815 hücreler), Epstein-Barr virüsü enfekte B hücre hatları (721.221 hücreler), hepatoselüler karsinom hücreleri (MH134 hücreler), fibrosarkom (MCA hücreler), melanom (HBL ve B16-F10 hücreler) ve kolorektal kanser hücreleri (MC38, CT26, SW480, HBL ve Colo-205 hücreler) gibi çeşitli hücre türleriyle yapılan ortak kültür çalışmalarında doğrudan sitotoksik etki gösterdikleri izlenmiştir. Ancak, eozinofillerin L428 Hodgkin lenfoma hücrelerine karşı sitotoksikite göstermedikleri tespit edilmiştir.

Eozinofil-aracılı öldürme etkisi IFN γ , IL-5, IL-33 ve CCL11 gibi bir takım aracı moleküller ile arttırılabilmektedir [105].

Eozinofillerin sitotoksik etkilerini gösterebilmeleri için tümör hücrelerini tanıma ve bağlama yeteneğine sahip olmaları önemlidir. Bu yetenekleri için önemli bir aracı molekül IL-18'dir. IL-18 eozinofillerin tümör hücrelerine yapışmasını sağlayarak ve LFA1 ile ICAM1'i yüksek düzeyde ifade ederek bu yeteneklerini desteklemektedir [114].

Önemli diğer bir interlökin IL-5'tir ve çalışmalarda eozinofil aracılı antitümöral etkisi fibrosarkom ve hepatoselüler karsinom gibi tümörlerde gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada Anti- IL-5R α (CD125) antikolların uygulanması eozinofil düzeylerinde düşüşe ve tümör hücrelerinin büyümesine neden olduğu tespit edilmiştir [105].

Başka bir çalışmada B-16 F10 melanoma sahip farelerde IL-33 enjeksiyonu sonrası tümör büyümesinde bir yavaşlama gözlenmiştir ve bu etkinin tümör içine CD8 T-hücrelerin ve eozinofillerin toplanmasına sekonder geliştiği gösterilmiştir. Aynı zamanda myeloid kökenli baskılayıcı hücrelerin (MDSC) miktarında azalma ile eozinofil toplanmasına neden olan sitokinlerde ve CD8 T-hücrelerinde artış izlenmiştir. CD8 T-hücre aktivasyon belirteçlerinde, NK hücrelerinde, CD107 ve INF γ 'da da tümör içinde artış tespit edilmiştir. Saptanan diğer bir bulgu ise, intranazal uygulanan IL-33'ün, CD8 T-hücreleri ve NK hücreleri etkilemeden eozinofil takviyesi aracılığıyla akciğer metastaz sayısında azalmaya yol açtığı olmuştur [115]. IL-33'ün yukarıda bahsedilen antitümöral etkileri dışında eozinofillerden ve CD8 T-hücrelerden CCL5 üretimini sağlamaktadır. CCL5 ise immün hücrelerden NK hücrelerin tümöral bölgeye toplanmasına yol açmaktadır [116]. IL-33 ayrıca eozinofil adezyonu, degranülasyonu ve sitotoksitesi için gerekli olan CD11b ve ICAM1 ekspresyonunu arttırmaktadır.

Bazı çalışmalarda ise eozinofillerin primer tümör oluşumdan sorumlu olmaktan ziyade metastatik odakların gelişmesini desteklediği bildirilmiştir [117, 118].

2.2.5. Eozinofillerin meme kanserindeki değişimi ve rolleri

Eozinofili sadece gastrointestinal kanserlerde değil, aynı zamanda meme, akciğer, serviks ve over gibi epitel hücrelerden köken alan kanserlerde de izlenmektedir. IL-5'in ve IL-3 'ün tümör hücreleri tarafından salgılanması eozinofilin kaynağını oluşturmaktadır.

Böbrek, tiroid, karaciğer, safra kesesi, pankreas ve meme kanserlerinde tümör ilişkili kan eozinofilisi daha çok gözlenmektedir ve genelde daha kötü prognoz

ile ilişkilidir ve tümörün uzak metastaz yaptığının göstergesidir [119]. Başka çalışmalarda ise TATE iyi prognoz ile ilişkilendirilmiştir ve bu yüzden varlığının etkisi tartışmalıdır [120].

Eozinofillerin meme kanserindeki rolleri ile ilgili kısıtlı bilgi mevcuttur ve az sayıda çalışma yapılmıştır. CIBERSORT tekniğiyle yapılan 11.000 kişilik transkriptomik retrospektif bir analizde östrojen reseptörü pozitif olan hastalarda, tümör çevresinde eozinofillerin varlığı iyi prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Ancak neoadjuvan kemoterapiye yanıt ile ilgili bir bağlantı bulunamamıştır [121]. Chouliaras ve ark. tarafından da CIBERSORT tekniğiyle meme kanserinde eozinofillerin etkisi araştırıldığında, TATE hastaların %3,7'sinde pozitif bulunmuştur. Eozinofil varlığı özellikle luminal alt tipe ait meme kanserlerinde tespit edilmiştir. Çalışmada saptanan başka bir bulgu ise, TATE pozitif olan hastalarda yardımcı T-hücrelerin ve monositlerin de tümör çevresinde saptanması ancak B-hücrelerin, Mast hücrelerin ve CD4 hafıza T-hücrelerin daha az miktarda bulunması olmuştur. Takip edilen hastalarda TATE hastalısız sağkalım ile pozitif ilişkilendirilmiştir ancak genel sağkalım ile bir ilişkisi saptanamamıştır [122].

Başka bir çalışmada yüksek derecede ER pozitifliğe sahip meme kanserli hastalarda stromal eozinofil sayısı azalmış olarak tespit edilmiş ve stromal veya intratümöral eozinofil infiltrasyonu tümör evresi ve tümör boyutu ile pozitif ilişkilendirilmiştir. Tümörün derecesi ile eozinofil sayıları arasında bir bağlantı saptanamamıştır [123].

İn vitro yapılan birkaç çalışmada, MDA-MB-453,T47D ve MCF7 gibi bazı meme kanseri hatlarında, ECP'in sitotoksik aktivite gösterdiği ve eozinofillerin tümöre infiltre olarak apoptozu indükleyebildiği gösterilmiştir [7].

EMT6 ekilmiş meme kanserli farelere DPP4 (Dipeptidil peptidaz) inhibitörü verilmesini takiben, tümörün içinde CCL11 birikimi gözlenmiştir. CCL11 eozinofiller için kemoatraktan olduğundan, bunun sonucunda tümör çevresinde kemotaksis ve tümör boyutunda küçülme gözlemlenmiştir [124].

Farelerde oluşturulan meme kanseri modelinde, bir çalışmada IL-33'ün NK hücrelerin toplanmasına aracılık ederek metastazların gelişimini engellediği gösterilirken, başka bir çalışmada ise Anti-CTLA4 tedavinin TATE'yi arttırarak damarların normalizasyonuna neden olduğu tespit edilmiştir.

Lai ve ark. tarafından yürütülen bir çalışmada da eozinofil enjeksiyonunun MDA-MB-231 meme kanseri hattında tümörün küçülmesine neden olduğu saptanmıştır.

Eozinofillerin meme kanserindeki antitümöral etkileri gösterilmiş olsa da protümöral etkilerini gösteren çalışmalar da mevcuttur.

Eozinofil salınımını arttıran IL-33 ile yapılan üç farklı çalışmada IL-33'ün meme kanserinin ilerlemesine neden olduğu ve neovaskülarizasyon yardımıyla akciğer ve karaciğer metastazların gelişimine yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca IL-33'ün tümör mikroçevresinde bulunarak, apoptozisi azaltarak ve MDSC'lerin yaşam sürelerini uzatarak immünsüpresif etkilerini desteklemektedir. Eozinofillerden salınan MPO ve EPO ise tümörün boyut kazanmasına ve fibroblast migrasyonuna, dokuda kollajen depolanmasına ve anjiyogenezis ile metastazların gelişimine neden olmaktadır [7].

Periferik kandaki eozinofil sayısı birçok kanser için çalışılmış olsa da meme kanserindeki önemiyle ilgili kısıtlı bilgi bulunmaktadır.

Adjuvan Trastuzumab alan Her2 pozitif meme kanserli hastalarla yapılan bir çalışmada düşük bazal eozinofil sayısı daha iyi hastalısız sağkalım ile ilişkilendirilmiştir [125]. Ownby ve ark. tarafından tüm meme kanseri alt tiplerini kapsayan 419 hastalı bir çalışmada ise düşük rekürrens oranları ile bazal yüksek eozinofil sayısı arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır [126]. Her2 pozitif veya üçlü negatif olan ve neoadjuvan kemoterapi alan hastalarla yapılan başka bir retrospektif çalışmada ise bazal ve cerrahi sonrası rölatif eozinofil sayısı ile patolojik tam yanıt ve sağkalım arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Ayrıca cerrahi sonrası rölatif eozinofil sayısında yükseklik saptanmış ve bu yükseklik rekürrens gelişmeyen olgularda stabil seyretmiştir [16]. Retrospektif olarak Zenan ve ark. tarafından değerlendirilen 601

hastada periferik eozinofil sayısı ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır [127].

Eozinofillerden salınan sitokinler ile meme kanseri arasındaki ilişki de araştırılmıştır. Özellikle RANTES ve Eotaksin meme kanserli hastalarda yüksek saptanmıştır ve lenf nodu pozitif olan hastalarda IL-13 seviyeleri yüksek tespit edilmiştir [128]. Ayrıca IL-4 ile birlikte yükseklikleri meme kanserinde kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir [7]. IL-5 de lenf nodu pozitif olan hastalarda daha yüksek bulunmuştur ve özellikle Her2 pozitif hastalarda tespit edilmiştir [129].

Yapılan çalışmalar sonucunda eozinofillerin meme kanserinde hem protümöral hem de antitümöral etkileri olduğu gösterilmiştir. Tartışmalı rolleri olmaları nedeniyle ve özellikle meme kanserli neoadjuvan kemoterapi almış hastalarda değişimleri ile ilgili kısıtlı bilgi bulunması nedeniyle bu çalışmada eozinofillerin yüzeyinde ifade edilen belirteçlerin olası değişimlerinin neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası kıyaslanarak ortaya konulması amaçlanmıştır.

2.3. Tümör İmmünolojisi

İnsan bağışıklık sistemi, insanı enfeksiyonlar gibi yabancı etkenlerden koruyarak, organizmanın bütünlüğünün sağlanmasından sorumludur. Yabancı etkenler arasında bulunan tümörlere karşı da koruyucu etkisinin olduğu bilinmektedir.

İmmünoloji ve onkolojinin araştırma alanları bu nedenle son yarım yüzyılda sık sık kesişmiştir. Tümör immünolojisinin asıl gelişimi ise 1990'lı yıllarda ivme kazanmıştır. O yıllarda CLTA4'ün immünsüpresif etkileri keşfedilmiştir ve potansiyel bir tedavi hedefi olarak araştırılmıştır. Ayrıca tümör gelişiminin immün sistemi etkileyerek, tümör hücrelerinin immün sistem hücreleri ile iletişim ve etkileşim halinde oldukları keşfedilmiştir. 2000'li yıllarda ise prelinik ve klinik çalışmalar sayesinde tümör gelişimin immün sistem tarafından kontrol edilebildiği ve buna karşılık da tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmak için yöntemler geliştirdiği tespit edilmiştir. Bu buluşlar, 2010'lu yıllarda farklı kanser türlerinde kullanılmak üzere en az 12 adet immünoterapötik ajanın onaylanmasına yol açmıştır [130].

Tümör gelişimi oldukça karmaşık bir süreçtir ve hücre içinde birtakım genetik ve hücresel değişikliklerle seyretmektedir. Normal hücrelerin malign hücrelere dönüşümü sırasında immün sistem aktive olarak tümör gelişimini baskılamaya çalışmaktadır [131].

İmmün sistem, immün sistem hücreleri olan lökositlerden, immün organ ve dokulardan (timüs, dalak, tonsiller, lenf nodları, kemik iliği) meydana gelmektedir [132].

İmmün sistem hem doğal hem de edinilmiş bağışıklık olarak ikiye ayrılmaktadır ve sonuncusu antijen yardımcı immün cevabı oluşturmaktadır. Fiziksel bariyerler, anatomik bariyerler, epitelyal ve fagositik hücre enzimleri, inflamasyon-ilişkili serum proteinleri ve antimikrobiyal peptidler doğal bağışıklığın elemanlarını oluşturmaktadır. Edinsel bağışıklığın hücreleri ise, antijen sunumu sonrasında spesifik antikor oluşturan CD4 ve CD8 T-hücreleridir [131].

Günümüzde kanser gelişimi için "immün düzenleme" hipotezi kullanılmaktadır ve bu terim kanser hücrelerinin gelişimini ve bağışıklık sisteminden kaçmak için uğradıkları değişimleri tanımlamaktadır. Üç aşamadan oluşmaktadır. Bunlar sırasıyla eliminasyon, denge ve kaçış aşamalarıdır. Eliminasyon aşamasında doğal ve edinsel immünite yardımıyla değişime uğramış hücreler farklı yöntemlerle tanınmaktadır ve yok edilmektedir. Bu aşamadan kurtulabilen değişime uğramış hücreler ise ikinci aşama olan denge aşamasına geçmektedir. Bu aşamada doğal bağışıklığın bir rolü yoktur ve edinsel bağışıklığın bir parçası olan Th1 hücreler, CTLs'ler ve IL-12, IL-2 ve IFN-gamma gibi sitokinler bu süreçte yer almaktadır. Değişime uğramış hücreler, yıllar ve bazen de bir ömür boyu latent fazda kalıp aktive olmayabilmektedir. Bu süreç denge aşamasını tanımlamaktadır. Son aşama ise tümörün ortaya çıktığı aşamadır ve kaçış aşaması olarak tanımlanmıştır. Bu süreçte kanser hücreleri hızla gelişmektedir ve immün sistem tarafından tanınmamaktadır. Eş zamanlı olarak tümörün çevresinde proanjyogenetik bir çevre oluşturulup tümörün daha hızlı büyümesini ve gözle görünür hale gelmesini sağlamaktadır.

Tümör gelişip çoğaldıkça inflamasyon da giderek artmaktadır ve bu tümör için uygun ortam oluşturarak daha da çoğalmasına neden olmaktadır. Ayrıca bu ortamda bulunan hücrel ve hümorale bileşenler tümöre karşı etkili bir yanıtın oluşumunu engellemektedir ve böylece tümör gelişimi için uygun şartlar sağlanmış olmaktadır [133].

Kanser hücrelerinde antijen sunumundaki bozukluk, kanser hücrelerin immün sistemden kaçışlarının bir mekanizmasını oluşturmaktadır. Antijen sunumu sonrası sitotoksik T-hücrelerin üretimindeki artış ile kanser hücreleri tarafından antijen sunumu zorlanarak yeni geliştirecek olan kanser ilaçları için bir hedef haline getirilebilmektedir.

Tümör hücreleri tarafından salınan bazı tümör- spesifik (TSA) veya tümör- ilişkili (TAA) antijenler immün sistemden kaçışın başka bir kolunu oluşturmaktadır.

Sağlıklı immün sisteme rağmen kanser hücreleri immün sistemden kaçmak ve çoğalmak için farklı mekanizmalar geliştirmiştir ve bu nedenle başarılı terapötik kanser ilaçları için ana bir engel oluşturmaktadır.

Tümör immünolojisinin anlaşılması kolorektal kanser, prostat kanseri, meme kanseri, akciğer ve karaciğer kanseri gibi birçok kanser türünde yeni tedavi ajanlarının gelişimine yol açmıştır [131].

2.3.1. Tümör mikroçevresi

Tümör mikroçevresi tümör gelişimi sırasında tümörü saran ve farklı elemanlardan oluşan mikroskobik çevreyi tanımlamaktadır. Bu çevreyi oluşturan farklı hücreler (endotel hücreler, fibroblastlar, immün hücreler) ve ekstrasellüler bileşenler (sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar, ekstrasellüler matriks) ile birlikte damarsal bir yapılanma mevcuttur.

Majör bileşenleri damarsal yapılanma, kanser-ilişkili fibroblastlar, immün hücreler, tümör-ilişkili endotel hücreler ve ekstrasellüler matrikstir [134]. Kanser hücreleri farklı sitokinler ve kemokinler gibi maddeler salgılayarak bu ortamı oluşturabilmektedir [135].

Kanserin en önemli özelliklerinden biri tümörü besleyecek yeni kan damarların oluşumudur ve anjiyogenezis olarak tanınmaktadır [134]. Yeni gelişen damarların mevcut damarsal ağda bulunan endotel hücrelerin birtakım medyatörler ile çoğalması ve göç etmesi sonucu oluştuğu düşünülmektedir ancak mekanizması henüz tam olarak ortaya konulamamıştır [136]. Tümör gelişimi ve metastaz oluşumu için elzemdir. Anjiyogenezisin en önemli aracı moleküllerinden biri VEGF'dir ve tümör hücrelerin içinde bulunmaktadır [136]. VEGF ekspresyonu kanserlerde kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir [134].

Tümör mikroçevresinin diğer bir üyesi stromal hücreler içerisinde bulunan kanser-ilişkili fibroblastlardır (CAF) ve tümörün gelişimi için birçok fonksiyona sahiptirler [134]. Farklı uyarılar sonrası aktive olmuş fibroblastlardır ve faal olmayan fibroblastlardan, endotel hücrelerden, kanser kök hücrelerden, adipositlerden, perisitlerden ve stellat hücrelerden köken alabilmektedirler. Ekstrasellüler matrikste tümör gelişimini desteklemek, tümöre karşı immün yanıtı baskılamak ve kanser tedavilerine karşı ilaç direnci geliştirmek gibi geniş bir etki yelpazesine sahiptirler. Faal olmayan fibroblastlara göre daha fazla sitokinler ve kemokinler salgılamaktadırlar ve bunlar tümör gelişimini ve progresyonunu desteklemektedir. CAF'ların salgıladıkları moleküllerin en önemlisi TGF- β ' dir ve fibrozisin ana düzenleyicisidir. TGF- β inhibisyonun tümör ve metastaz gelişimini engellediği gösterilmiştir [137]. Yüksek miktarda CAF düzeyi meme, akciğer ve pankreas karsinomlarında kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir [138, 139]. Ayrıca IL-6 üzerinden tümör hücrelerin gelişimini ve göçünü indüklemektedirler. Genel anlamda CAF'lar tümör mikroçevresini proinflamatuvar sitokinler salgılayarak ve immünsüpresif yolakları harekete geçirerek düzenlemektedir. Ayrıca TGF- β ve CXCL12 üzerinden sitotoksik CD8 T-hücrelerin aktive olup tümör mikroçevresine infiltre olmalarını engellemektedirler [137].

Hem doğal (makrofajlar, mast hücreleri, nötrofiller, dendritik hücreler, MDSC ve NK hücreler) hem de edinsel immün sistem hücreleri (T ve B lenfositler) tümör mikroçevresinde bulunmaktadır. Direk yolla ya da kemokinler/sitokinler aracılığıyla tümör hücrelerini ve mikroçevreyi etkileyebilmektedirler [134].

Doğal bağışıklığın bir hücresi olan makrofajların tümör progresyonunda, anjiyogenezde (VEGF üreterek), tümör hücrelerin migrasyonunda ve tümöre karşı oluşacak immün yanıtın baskılanmasında rol oynadıkları gösterilmiştir [140]. Solid tümörlerde makrofajların kaynağını dolaşan monositler oluşturmaktadır ve kan dolaşımı ile tümör odaklarına ulaşmaktadırlar [134]. Ayrıca metastatik odakların oluşumunu kolaylaştırmaktadırlar. Yapılan çalışmalarda yüksek makrofaj düzeyleri tiroid, akciğer ve hepatosellüler kanserde kötü sağkalım göstergesi olarak saptanmıştır [140]. Bazı yayınlarda makrofajların tümör gelişimini engellediği de gösterilmiştir. Bu farklı sonuçlar makrofajların iki farklı alt tipine bağlanabilmektedir. M1 makrofajlar Th1 sitokinleri tarafından aktive edilebilmektedir ve ağırlıklı olarak tümörisidal etkileri bulunmaktadır. Buna karşılık M2 makrofajlar ise Th2 sitokinler tarafından uyarılmaktadır ve genelde tümör oluşumunu ve gelişimini desteklemektedir [134]. Farklı yollar ile sitotoksik T-hücre fonksiyonlarını baskılayıp malign hücrelerin proliferasyonuna neden olmaktadır [140]. Tümör ilişkili makrofajların ayrıca bazı kemoterapötik ajanlara ve anti-VEGF tedavilerine karşı direnç geliştirdikleri gösterilmiştir [134]. T- hücre etkinliğini azaltan ve bağışıklığı baskılayan sitokinler olan IL-1 β , IL-6, IL-10 ve TGF- β da makrofajlar tarafından salgılanmaktadır [140].

Myeloid kökenli hücreler olan myeloid progenitör hücreler, immatür makrofajlar, granülositler ve dendritik hücreler MDSC denilen heterojen hücre topluluğunu oluşturmaktadır [134]. MDSC'ler patolojik olarak aktive edilmiş myeloid hücrelerdir ve immünsüpresif etkilere sahiptir. Tümör patogenezin bir parçası olan anormal myelopoezis ve olgunlaşmamış myeloid hücrelerin dokulara geçişi sonrasında bazı aktive edici sinyaller ile MDSCler immünsüpresif fonksiyonlar kazanabilmektedir [141]. MDSC'ler tümör çevresine ulaştıklarında tümör ilişkili makrofajlara dönüşebilmektedir. Hem MDSC'lerin hem de tümör ilişkili makrofajların kemoterapiye karşı direnç gelişiminde önemli rolleri bulunmaktadır [134].

Normal endotel hücrelerden farklı olarak tümör ilişkili endotel hücreler malign vaskülarizasyonu tetiklerken, tümör hücrelerin proliferasyonunu ve metastatik yeteneklerini de etkilemektedir. Tümör ilişkili damarsal yapıların iç

kesiminde bulunmaktadırlar ve normal vasküler endotel hücrelerden von Willebrand faktörün yokluğu ile ayrılmaktadırlar [142, 143]. Tümörün damarsal yapılanmasının bozuk olmasına aracılık eden önemli bir molekül de VEGF-A'dır. VEGF-A'nın kronik stimülasyonu abartılı bir damarsal ağa ve düzensizliğe neden olmaktadır [144]. TEC'lerin tümör mikroçevresinde bulunması E-selektin, ICAM1, ICAM2 ve VCAM1 ekspresyonunda azalmaya neden olmaktadır ve azalmış ekspresyon sonucunda sitotoksik T-hücrelerin tümör içine infiltrasyonu sekteye uğramaktadır [145]. Antitümöral yanıtı farklı mekanizmalarla azaltabilmekte veya bozabilmektedirler. Bunlara örnek olarak kandan tümör çevresine immünsüpresif myeloid hücrelerin geçişine sebep olmaları sayılabilmektedir.

Tümör mikroçevresine ait hücreler (fibroblastlar, endotel hücreler, perisitler, immün ve inflamatuvar hücreler) modifiye edilmiş ECM denilen ortamda bulunmaktadır [134]. ECM genel olarak glikoproteinlerden, kolajenden ve enzimlerden oluşmaktadır [146]. ECM tümör hücrelerine destek sağlamakla kalmayıp aynı zamanda tümör progresyonu için de güçlü bir iletişim ağı oluşturmaktadır. ECM'nin oluşumuna en önemli katkıyı sağlayan hücreler CAF hücreleridir ve normal endotel hücrelerine oranla daha fazla ECM proteinleri üretirler [147]. Solid tümörlerde ECM'nin mekanik dayanıklılığında kolajen ve fibronektin sorumlu iken, proteoglikanlar ECM'nin sitokin-bağlayıcı özelliğini ve büyüme faktörlerini sağlamaktadır [134].

Özetle tümör mikroçevresinin yapısal özelliği ve içeriği her bir hasta ve kanser tipi için farklılık göstermektedir ve çok farklı hücre tiplerini barındırmaktadır. Tümörün ortaya çıkışından, gelişimine ve progresyonuna kadar olan süreç üzerinde farklı etkileri bulunmaktadır. Dinamik ve değişken bir yapıya sahiptir ve kanser gelişimi için farklı yollar ve moleküller aracılığıyla önemli alt yapıyı sağlamaktadır. Bağışıklık sistemi ile olan etkileşimi hastanın tümöre olan yanıtını belirlemektedir [146].

Eozinofillerin tümör mikroçevresini infiltre ettikleri bilinmektedir ve bu durum daha önce de belirtildiği şekilde doku ilişkili eozinofili (TATE) olarak tanımlanmıştır ancak görevleri hakkında net bilgi bulunmamaktadır [93].

2.3.2. Kanser ilişkili inflamasyon ve medyatörler

Kanser ile inflamasyon arasındaki ilişki uzun yıllardır araştırılmıştır ve 1863'te Virchow'un, tümörün içinde lökositler saptaması üzerine, kanserin kronik inflamasyon odaklarından gelişebileceğini öne sürmüştür [148, 149]. Günümüzde inflamasyon, doğal bağışıklık ile kanser gelişimi arasında ilişkiler olduğu bilinse de bu bağlantıları oluşturan ve sürdüren mekanizmalar henüz tam olarak ortaya konulamamıştır [149].

İnflamasyon kendi içinde ikiye ayrılmaktadır: akut ve kronik inflamasyon.

Akut inflamasyon zararlı uyarılara karşı gelişen ve birkaç gün ile hafta arasında değişen vücudun bir savunma sürecidir. Bu süreçte ana hücreler granülositlerdir. Akut inflamasyonda oluşan proinflamatuvar uyarı sonlandırılmazsa kronik inflamasyon aşamasına geçilmektedir.

Kronik inflamasyon ise eşzamanlı doku iyileşmesi ve yıkımı ile karakterizedir. Bu uzun vadeli süreçte ana inflamatuvar hücreler ise makrofajlar ve lenfositlerdir [150]. Kronik inflamasyon kanser dışında kardiyovasküler hastalık, diyabet, artrit, Alzheimer hastalığı ve otoimmün hastalıklar gibi birçok hastalık için zemin oluşturmaktadır. Kanser gelişim basamakları olan hücresel dönüşüm, proliferasyon, invazyon, anjiyogenezis, metastaz gelişimi ve sağkalımda kronik inflamasyonun rolleri tanımlanmıştır [149]. Kanser-ilişkili kronik inflamasyonun tümör mikroçevresini baskıladığı ve kanser gelişimini kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Kanserlerin yaklaşık %25'i kronik inflamasyon zemininde gelişmektedir [151].

Kanser ve inflamasyon arasındaki ilişkiyi açıklayabilmek için iki farklı yolak tanımlanmıştır. Bunlardan birincisi intrinsik yolaktır ve genetik değişiklikler inflamatuvar süreci başlatarak kanser gelişimine neden olmaktadır. İkinci yolak ise ekstrinsek yolaktır ve inflamatuvar süreçlerin kanser gelişimini kolaylaştırdığı düşünülmektedir [149]. Bunlara örnek olarak *Helicobacter pylori*'den kaynaklanan

gastrointestinal kanserler, Hepatit B'den kaynaklanan hepatosellüler karsinom ve Şistosomiazis'den kaynaklanan mesane kanserleri sayılabilmektedir.

Kronik inflamasyon sırasında salgılanan birçok medyatör inflamasyon bölgesinde inflamatuvar hücrelerin toplanmasına neden olmaktadır [152]. İnflamasyon medyatörleri olarak sitokinler, kemokinler, serbest radikaller, prostaglandinler, büyüme faktörleri ve enzimler (Siklooksijenaz, Metalloproteinazlar) bilinmektedir [153]. İnflamasyon devam ettiği sürece pro-inflamatuvar medyatörlerin sayısı yükselmektedir. İnflamasyon bölgesinde yüksek miktarda bulunan medyatörler hücre proliferasyonuna neden olarak kanser gelişimini başlatabilmektedir. İnflamatuvar sürecin devam etmesi durumunda kanser progresyonuna da yol açmaktadırlar.

İnflamasyon gelişiminde ve buna bağlı kanser gelişiminde farklı fonksiyonlara sahip farklı medyatörler yer almaktadır. Tümörün monositler tarafından infiltrasyonuna yol açan medyatörler arasında kemokinler bulunmaktadır [152]. Kanser ilişki inflamasyonda anahtar bir role sahiptirler ve reseptörleri ile ligandları kronik inflamasyon zemininde kanser gelişimine neden olmaktadır. Kanser gelişimindeki lökosit toplanmasında, neovaskülarizasyonda, proliferasyonda, invazyonda, sağkalımda ve metastaz gelişiminde etki etmektedirler [153]. Meme kanserli hastaların doku ve kan örneklerinden alınan CCL2 ve CCL5 analizlerinde, yükseklikleri ileri evre hastalık ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir [152].

İnflamasyonu düzenleyici sitokinler arasında önemli bir yeri olan TGF- β ve IL-10 bulunmaktadır. IL-10'un inflamatuvar süreçleri baskılayan bir sitokin olduğu bilinmektedir ve bu yeteneğini antijen sunumunu azaltarak, Th1 hücre-ilişkili cevapların engelleyerek, NK hücreler tarafından sitokin üretimini baskılayarak ve makrofaj fonksiyonlarını azaltarak sergilemektedir [152]. Ayrıca TNF α , IL-6 ve IL-12 üretimini de engellemektedir ve böylece tümörün gelişimini ve ilerlemesini kısıtlamaktadır [153].

TGF- β ise tümör ilişkili makrofajların mobilizasyonunu sağlamaktadır ve immünsüpresif etkileri olan bir sitokindir. Birçok tümör çeşidinde TGF- β ' nın

makrofajlar ve T-hücreler ile infiltre hücreler tarafından salgılandığı tespit edilmiştir. Tümör büyümesini engelleyici özelliği özellikle tümör gelişimin erken evrelerinde gösterilmiştir [152].

Sinyal yollarındaki değişiklikler ise kanser gelişimine yol açmaktadır [153]. Kanser mikroçevresinde bulunan diğer sitokinler arasında IL-1 β bulunmaktadır ve p53 ekspresyonunu engelleyerek tümör gelişimine neden olmaktadır [154]. NF- κ B bağımlı yolak üzerindeki genleri etkileyerek kanser oluşumuna ve gelişimine neden olan başka bir sitokin ise TNF α 'dır. IL-6 ve IL-17 de pro-inflamatuar sitokinlerdir ve ikisinin de yüksek düzeyleri kanserli hastaların kanlarında saptanmıştır. IL-6 ileri evre ile ilişkili iken, IL-17 ise farklı kanser türlerinde saptanmıştır. Anti-inflamatuar ve kansere karşı koruyucu rolleri olan sitokinler ise IL-12 ve IL-18'dir. IL-12, NK ve CD8 T-hücrelerin sitotoksik aktivitelerini destekleyerek, tümör gelişimini, büyümesini ve metastatik odaklar oluşturmasını engellemektedir [153].

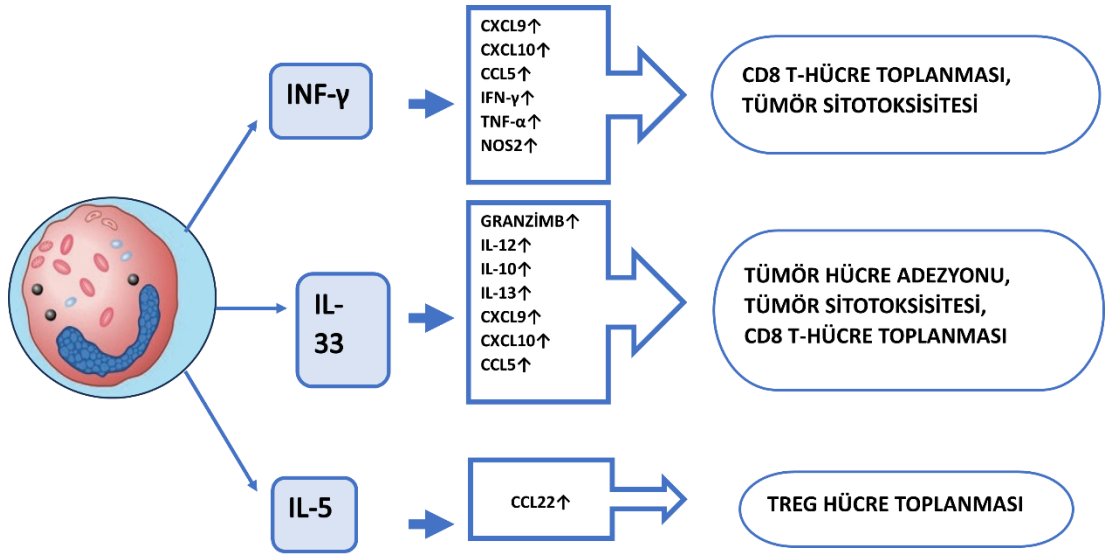
Ekstrasellüler matriksin bazı elemanlarının yıkımından sorumlu olan metalloproteinazlar bir enzim grubudur. Normal şartlarda kemik şekillenmesinde, anjiyogenezde, yara iyileşmesinde ve bağışıklıkta yer alırken, fazla eksprese edildiklerinde ise patolojik süreçler olan artrit, inflamasyona ve kansere yol açmaktadırlar. Kanser gelişimine büyüme faktörlerin, sitokinlerin, kemokinlerin, hücre adezyon moleküllerin, apoptotik ligandların ve anjiyogenetik faktörlerin reseptörlerine bağlanarak sebep olmaktadır [152]. Metalloproteinaz aktivasyonu sonucunda ECM'de bulunan proteinler yıkılmaktadır. Bu ise anormal anjiyogenezis ve progenitör hücrelerin, endotel hücrelerin ve vasküler düz kas hücrelerin bölgeye toplanmasına neden olmaktadır ve bu hücrelerdeki değişiklikler kanser dahil birtakım hastalıklara neden olmaktadır [155].

Kolorektal kanserde MMP1 ekspresyonu kötü prognoz ve ileri evre hastalık ile ilişkilendirilmiştir ve yüksek düzeyde MMP1 varlığı lenf nodların invazyon derecesini belirlediği gösterilmiştir. Benzer şekilde MMP13 enzimin yüksek düzeyde ifade edildiği de kolorektal kanserli hastalarda azalmış sağkalıma neden olmaktadır [156]. Kolorektal kanserli hastalarda tespit edilen diğer metalloproteinazlar ise MMP2, MMP7 ve MMP9' dur ve protümöral etkiler sergiledikleri düşünülmektedir.

Kolorektal kanserde koruyucu bir rolü olduğu düşünölen metalloproteinaz ise MMP12'dir [157].

Metalloproteinazlar haricinde kanser gelişiminde önemli bir rol oynayan diğer enzim grubu da siklooksijenazlardır. İki tür COX bulunmaktadır: COX1 ve COX2. Bunlardan kanser gelişimi ile ilişkisi en çok saptanan COX2'dir [153]. Kolorektal kanserde düşük sağkalımı etkileyen moleküller araştırıldığında kolorektal kanser ile COX2 düzeylerin yüksekliği arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır ve kanser dokusunda COX2 tespit edilmiştir [158]. Serviks kanserli hastalarda E5, E6, E7 HPV onkojenin COX/Prostaglandin inflamatuvar yolağını aktive ettiği ve bunun sonucunda tümör gelişimi ve progresyonu için uygun bir mikroçevre oluşturduğu fark edilmiştir [159].

Eozinofillerin tümör mikroçevresinde salgılanan sitokin çeşidine göre fenotiplerinin değişebileceğini ve oluşan fenotipe göre farklı görevler üstlenebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. INF-γ ile aktive olan eozinofillerin özellikle T-hücreleri uyaran kemokinlerin aktive ederek CD8 T-hücrelerin tümör çevresine toplanmasına yol açmaktadır. CD8 T-hücreler üzerinden eozinofiller sitotoksik aktiviteyi desteklemektedir. Benzer mekanizma ile IL-33 salgısı eozinofillerin direk ve CD8 T-hücreleri üzerinden indirekt olarak antitümöral etkilerini güçlendirmektedir. IL-5 ise eozinofillerin protümöral etkilerine Treg hücrelerin tümör mikroçevresine göçlerini sağlayarak aracılık etmektedir. Bu bulgular eozinofillerin çift yönlü etkilerini destekler niteliktedir. Ayrıca ne yönde fonksiyon göstereceklerini belirleyen önemli başka bir parametre de kanserin türüdür. Farklı kanserlerde farklı fonksiyonlar sergiledikleri gösterilmiştir [93]. (Şekil 2.3.)



Şekil 2.3. Sitokin Etkisi altında Eozinofil Fenotip Değişikliği [93]

3. MATERYAL – METOD

Çalışma; Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun GO 23/382 kayıt ve 2023/08-41 karar numaralı izni ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın tüm aşamalarında, Helsinki Bildirgesi ve İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu'na uyulmuştur.

Çalışmada; meme kanserli hastalarda neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası periferik kandan elde edilen eozinofillerin yüzey belirteçlerinin değişimi araştırıldı. Bu amaçla; Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalına başvuran meme kanserli hastaların gönüllü olanlarından 31 neoadjuvan öncesi ve 43 neoadjuvan sonrası katılımcı ile 12 sağlıklı katılımcıdan; EDTA'lı tüpe toplamda 13'er ml periferik venöz kan örneği elde edildi. Çalışmaya dahil edilen kişilerden alınan kanın 3 ml'si tam kan sayımında ve 10 ml'si akım sitometri analizlerinde kullanıldı. Kan örneklerin toplanması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Araştırmadaki katılımcılardan periferik kan örneği alınması dışında bir işlem yapılmadı. Alınan periferik kan örneklerinden rutin tam kan sayımı Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda yapıldı. Eozinofil popülasyonuna yönelik olarak immünofenotipleme analizleri Temel Onkoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı. Verilerin tümü rutin veya araştırma laboratuvar analizleri sonucunda elde edilmiş verilerdir.

3.1. Çalışma Grupları

Çalışmamıza üç farklı grupta hasta kabul edildi. Gruplar temel olarak sağlıklı, neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası olmak üzere ayrıldı. Tüm hasta gruplarına dahil edilen hastaların yeni tanı almış olması ve tanı anında uzak metastazlarının ve ikinci bir primer tümörün olmaması hastaların temel seçim kriterlerini oluşturdu. Çalışmadan dışlanma kriterleri ise; geçmişte farklı bir malignite öyküsünün bulunması ve buna bağlı olarak kemoterapi almış olmak olarak belirlendi. Ayrıca eozinofil sayıları birbirine uzak olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Neoadjuvan kemoterapi öncesi grup yeni meme kanseri tanısı almış, neoadjuvan kemoterapi

endikasyonu konmuş ancak henüz tedavi almamış hastalardan oluşturuldu. Neoadjuvan kemoterapi sonrası grup ise meme kanseri tanısı almış, neoadjuvan kemoterapisinin tamamladıktan sonraki 1 ay içerisinde kontrole gelen grup olarak tanımlandı. Kontrol sağlıklı grupta ise; hasta grubunun yaş ve cinsiyet dağılımına uygun, sağlıklı kişilerden alınan periferik kan örnekleri çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya sağlıklı 12, meme kanserli 31 neoadjuvan kemoterapi öncesi ve 43 neoadjuvan kemoterapi sonrası hasta olmak üzere, toplamda 86 hasta dahil edildi. Çalışmada başlangıçta neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası aynı hastadan periferik venöz kanın alınması tasarlanmıştı ancak çalışma için planlanan süreçte etik kurul onayının alınmasının mümkün olmaması nedeniyle neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası hastaların aynı bireyler olmamasına karar verildi.

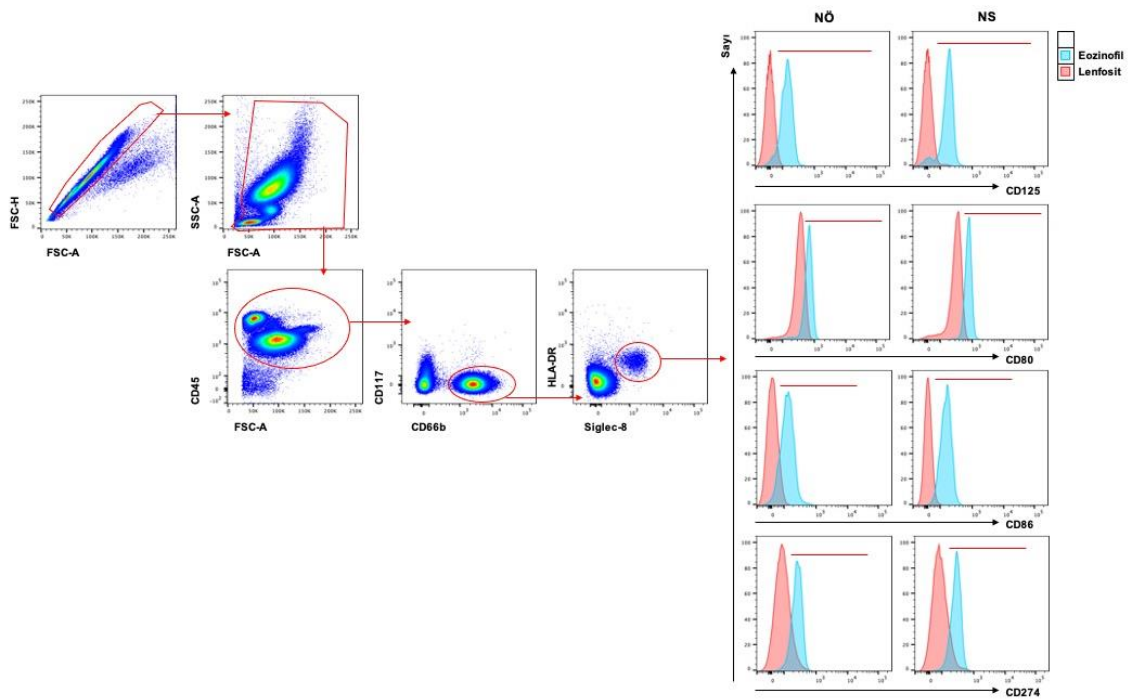
3.2. Tam Kan Sayım Analizi

Katılımcılardan alınan kan örnekleri, pıhtılaşmayı engelleyen ajan (EDTA) içeren tüpe konuldu. 3ml periferik kan örneği içeren bir EDTA'lı tüp rutin tam kan sayımı testi için kullanıldı. Elde edilen periferik kandan rutin olarak tam kan sayımı yapılarak toplam lökosit, granülosit ve eozinofil sayıları tespit edilerek temel gruplara ve farklı meme kanseri alt gruplarına göre karşılaştırıldı.

3.3. İmmünofenotipleme Analizi

Hastalardan alınan periferik kan örnekleri 10ml'lik EDTA'lı tüpe alındı. Ardından eozinofillere spesifik yüzey belirteçlerine (anti-insan -CD45 (klon2D1), -CD66b (klonG10FS), -CD117 (klon104D2), -Siglec8 (7C9), -CD125 (klonA14), -CD80 (klon 2D10.4), -CD86 (klon IT2.2) , -HLA-DR (L243) ve -PD-L1 (CD274)(klonMIH2)) özgü florokrom işaretli antikolarla boyama yapıldı. Kullanılan antikolar Biolegend, Sony ve BD Pharmingen firmalarından temin edilmiştir. Antikor boyaması için oda sıcaklığında ve karanlıkta 20 dk inkübasyona bırakıldı. Boyamanın ardından eritrositlerin patlatılması için 1:10 oranında 1XRBC lizis/fiksasyon tampon eklenerek oda sıcaklığı ve karanlıkta 15 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında yıkama solüsyonu eklenerek 1800 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. İşaretlenen hücrelerin analizi FACSCantoll akım sitometri cihazında ve FACS Diva (Becton Dickinson, ABD) yazılımı

kullanılarak gerçekleştirildi. Kapılama stratejisi oluşturulurken eozinofillerde ifade edilen aktivasyon (CD80 ve CD86) ve inhibisyon ile (CD274) ilişkili belirteçlerin kesim noktası her kişinin kendi lenfosit popülasyonlarının CD45 hariç diğer belirteçler açısından negatif olması sağlanarak ilgili belirteçlerin ifade düzeyleri belirlenmiştir. Akım sitometriden elde edilen verilerin analizi FlowJo yazılımı ile yapıldı. Elde edilen sonuçlar temel gruplara ve farklı meme kanseri alt gruplarına göre karşılaştırıldı.



Şekil 3.1. Kapılama Stratejisi

3.4. İstatiksel Analiz

Bu çalışmada hasta gruplarındaki sırasıyla neoadjuvan kemoterapi öncesi 31 hastada ve neoadjuvan kemoterapi sonrası 43 hastada karşılaştırılan parametrelerde (CD80%,CD80MFY, CD86%, CD86MFY, CD125%, CD125MFY, CD274%,CD274MFY) neoadjuvan öncesi ve sonrası arasında bu farklı parametrelerin her biri için ölçülen standart sapmanın en az %70'i boyutunda farklılıklar olduğu takdirde söz konusu farklar %80 güç ve %5 tip 1 hata düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde gösterilebilmektedir. Birden fazla parametre için geçerli olan koşul değer aralıklarının parametrik değerlere göre değişmesi nedeniyle ayrı ayrı hesaplanmamış, standart

sapmaya göreceli olarak bir etki büyüklüğü şeklinde hesaplanmıştır. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi için GraphPad v8 programı ile One-way ANOVA ve t testi kullanılarak istatistiksel analizler yapıldı. Veriler; %95 güven düzeyinde incelenerek, $p < 0.05$ 'ten olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Tanımlayıcı İstatistikler

Çalışmada; neoadjuvan kemoterapi öncesi grupta 31, neoadjuvan kemoterapi sonrası grupta 43 ve kontrol sağlıklı grupta da 12 kişi olmak üzere toplamda 86 kişi incelenmiştir. Kontrol sağlıklı grubun yaş ortalaması 40,33, neoadjuvan kemoterapi öncesi grubun yaş ortalaması 48,39 ve neoadjuvan kemoterapi sonrası grubun ise yaş ortalaması 48,86 olarak saptanmıştır. Toplam yaş ortalaması 45,86, p değeri 0,051 olarak bulunmuştur ve gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Neoadjuvan öncesi grupta meme kanseri 18 hastada sağ memeye lokalize iken 13 hastada da sol memeye lokalize idi. Neoadjuvan sonrası grupta ise meme kanseri 20 hastada sağ memeye ve 23 hastada ise sol memeye lokalize idi. Kontrol sağlıklı grup ile hasta grubun tanımlayıcı istatistikleri Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Kontrol sağlıklı grup ile hasta grubun tanımlayıcı istatistikleri

	SAĞLIKLI GRUP	NEOADJUVAN ÖNCESİ	NEOADJUVAN SONRASI	TOPLAM
SAYI	12	31	43	86
YAŞ, ORTALAMA (P DEĞERİ)	40,33	48,39	48,86	45,86 (p=0.051)
KANSER LOKALİZASYONU, SAĞ MEME, N (%)	0	18 (%47.37)	20 (%52.63)	38 (%100)
KANSER LOKALİZASYONU, SOL MEME, N (%)	0	13 (%36.11)	23 (%63.89)	36 (%100)

Eozinofil yüzey belirteçlerin değişiminin; meme kanserinin östrojen reseptör ekspresyonuna göre değişkenlik gösterip göstermediğini araştırmak amacıyla 32 ER(+) [n=32] ve 42 ER(-) [n=42] hasta öncelikli olarak 2 grup halinde incelenmiştir. Ayrıca meme kanserinin her bir alt tipinde değişimleri gözlemlemek amacıyla 11 Luminal A [n=11 (3 neoadjuvan kemoterapi öncesi ,8 neoadjuvan kemoterapi sonrası)], 22 Luminal B [n=21 (9 neoadjuvan kemoterapi öncesi, 12 neoadjuvan kemoterapi sonrası)], 24 Her2(+) [n=24 (10 neoadjuvan kemoterapi öncesi, 14

neoadjuvan kemoterapi sonrası]]ve 17 üçlü negatif (TNBC)[n=18 (9 neoadjuvan kemoterapi öncesi, 9 neoadjuvan kemoterapi sonrası)] hastası reseptör statüsüne göre 4 grup halinde incelenmiştir. Östrojen reseptör ekspresyonuna göre grupların tanımlayıcı istatistikleri Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. Meme kanserinin alt tipine göre olan grupların tanımlayıcı istatistikleri ise Tablo 4.3.'de gösterilmiştir. Neoadjuvan kemoterapi sonrası hasta grubunda alınan kemoterapi seans sayısı ortalama $8.67 \pm 3,39$ olarak bulunmuştur.

Tablo 4.2. Östrojen reseptör ekspresyonuna göre hasta grubun tanımlayıcı istatistikleri

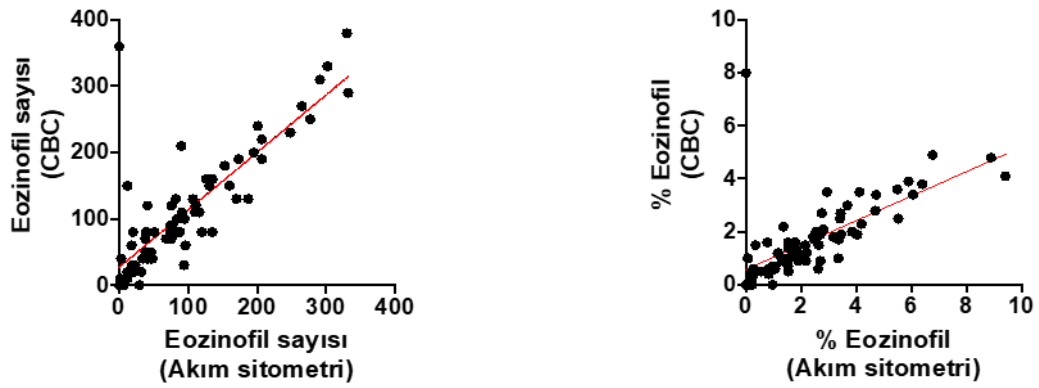
ÖSTROJEN RESEPTÖR EKSPRESYONU	NEOADJUVAN ÖNCESİ SAYI(N)	NEOADJUVAN SONRASI SAYI(N)	TOPLAM SAYI (N)	TOPLAM YÜZDE (%)
ER (+)	12	20	32	43,2
ER (-)	19	23	42	56,8
TOPLAM	31	43	74	100

Tablo 4.3. Meme kanseri alt tipine göre hasta grubun tanımlayıcı istatistikleri

MEME KANSERİ ALT TİPİ	NEOADJUVAN ÖNCESİ SAYI(N)	NEOADJUVAN SONRASI SAYI(N)	TOPLAM SAYI (N)	TOPLAM YÜZDE (%)
LUMİNAL A	3	8	11	14.9
LUMİNAL B	9	12	21	28.4
HER2+	10	14	24	32.4
ÜÇLÜ NEGATİF	9	9	18	24.3
TOPLAM	31	43	74	100

4.2. Tam Kan Sayımında ve Akım Sitometrideki Eozinofil Sayıların ve Yüzdelerinin Karşılaştırılması

Hem kontrol sağlıklı grup hem de hasta grubu dahil edilerek hem tam kan sayımında hem de akım sitometride eozinofil sayısı ve yüzdesine bakılmıştır. Her iki ölçüm yönteminde sonuçlarda yüksek korelasyon saptanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Eozinofil sayısı için korelasyon katsayısı $r = 0,82$, determinasyon katsayısı $R^2 = \%67$, $p < 0,0001$ bulunurken, eozinofil yüzdesi için bu değerler sırasıyla $r = 0,67$, $R^2 = \%45$, $p < 0,0001$ olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



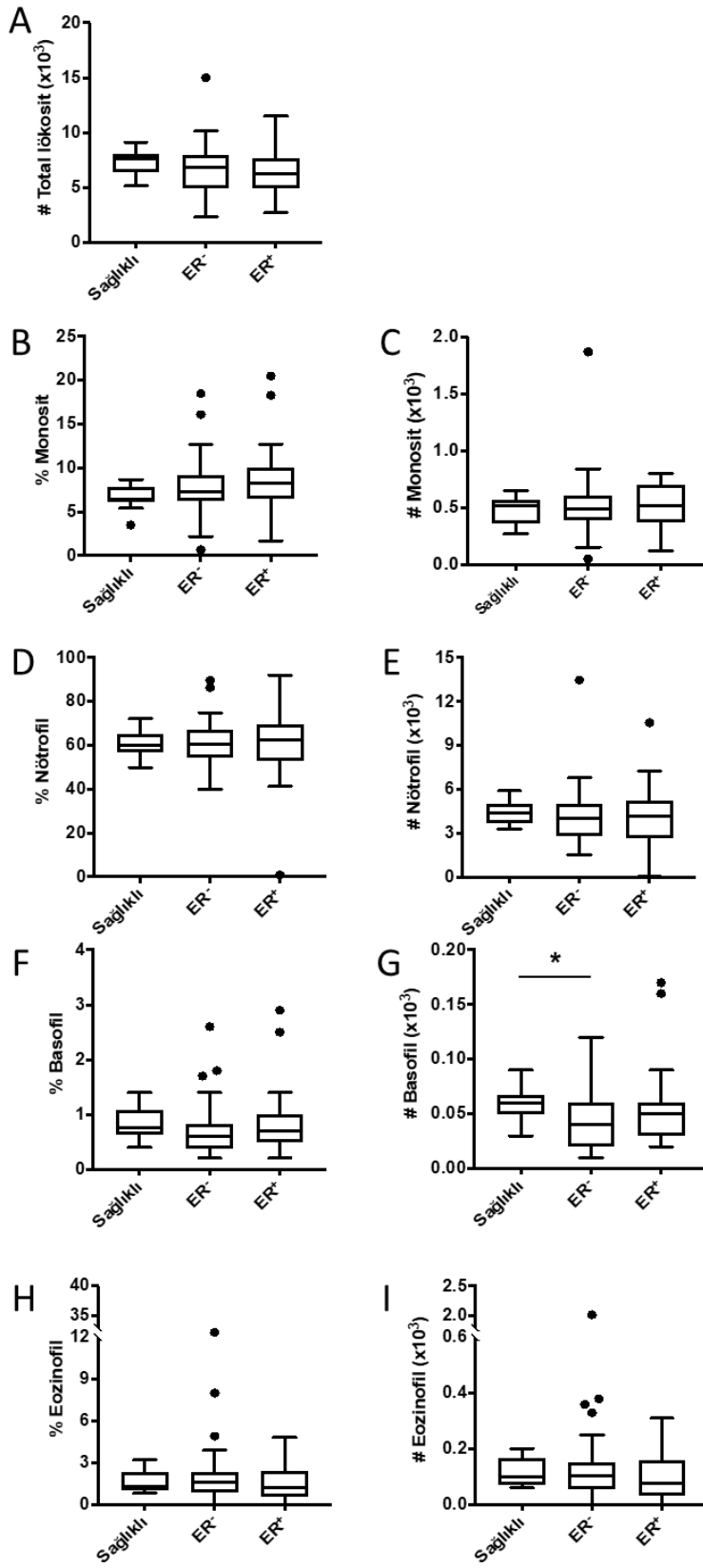
Şekil 4.1. Tam kan sayımında ve akım sitometrideki eozinofil sayılarının ve yüzdelerinin karşılaştırılması

4.3. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Östrojen Reseptör Statüsüne Göre Tam Kan Sayım Sonuçlarının Karşılaştırılması

Bireyler sağlıklı kontrol grup ve hasta grubunu kapsayan ER(+)ve ER(-) hastalar olarak 3 grup şeklinde neoadjuvan kemoterapi durumundan bağımsız olarak incelenmiştir. 3 grup birbirleri ile kıyaslandığında, bakılan tam kan sayımında eozinofil sayılarında ve yüzdelerinde anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Anlamlı tek fark sağlıklı bireyler ile ER(-) meme kanserine sahip bireyler arasında bazofil sayıları için tespit edilmiştir ve sağlıklı grupta bazofil sayısı daha yüksek iken ER(-) grupta kıyasla daha düşük bulunmuştur. (p = 0.0256; Şekil 4.2., Grafik G)

ER(+)/ER(-) ve alt tiplerin belirlenmesi için gerekli olan tüm immünohistokimya testleri Hacettepe Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında çalışılmıştır.



Şekil 4.2. Kontrol grubun ve hasta grubun östrojen reseptör (ER) statüsüne göre tam kan sayım sonuçlarının karşılaştırılması

4.4. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Östrojen Reseptör Statüsüne Göre Akım Sitometri Sonuçlarının Karşılaştırılması

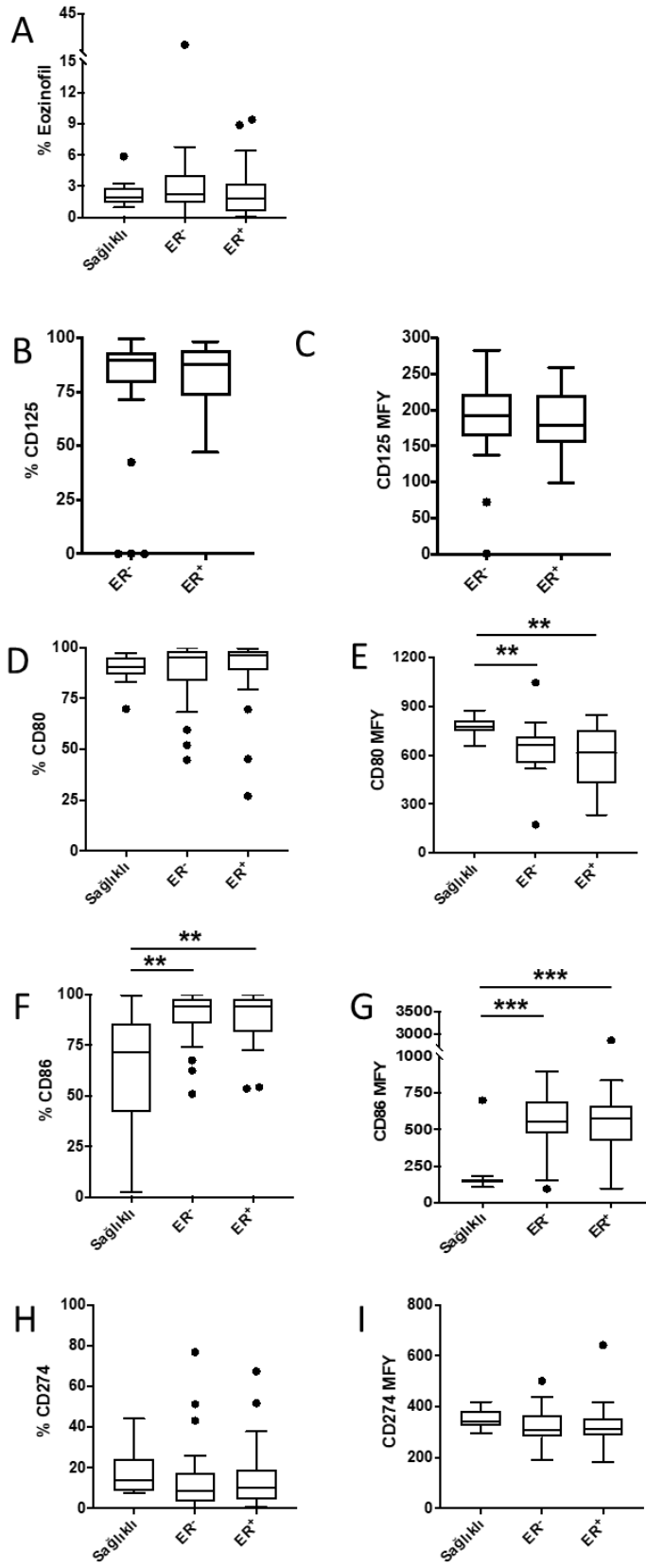
Akım sitometride eozinofiller tarafından ifade edilen berliteçlerin yüzdelere ve ortalama floresan yoğunluklarına (MFY) bakılmıştır. Ortalama floresan yoğunluk immünfenotiplemede antikorların antijene bağlanmasını gösteren ve antijen yoğunluğunu ölçen bir parametredir [160].

ER(+) ve ER(-) meme kanserli hastalar ile kontrol sağlıklı grup, akım sitometri ile eozinofil sayısı, CD125 yüzdesi ve MFY'u, CD80 yüzdesi ve MFY'u, CD86 yüzdesi ve MFY'u ve CD274 yüzdesi ve MFY'u açısından değerlendirildiğinde, eozinofil yüzdesinde anlamlı kabul edilebilecek bir fark bulunmamıştır.

CD86 belirteci değerlendirildiğinde, CD86 yüzdesi kontrol sağlıklı grupta ER(-) gruba göre daha düşük bulunmuştur ($p = 0.0021$; Şekil 4.3., Grafik F). Kontrol sağlıklı grup ve ER(+) grup CD86 yüzdesi açısından ele alındığında ER(+) grupta CD86 yüzdesi daha yüksek tespit edilmiştir ($p = 0.005$; Şekil 4.3., Grafik F). Diğer yüzey belirteçlerin yüzdesinde herhangi bir grup için anlamlı bir fark saptanmamıştır.

CD80 MFY açısından kontrol sağlıklı grup ile ER(-) ve ER(+) kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcuttur. Kontrol sağlıklı grup ile ER (-) grup için p değeri 0.0027 bulunurken, kontrol sağlıklı grup ER(+) grup ile kıyaslandığında p değeri 0.0029 olarak saptanmış olup istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Kontrol sağlıklı grupta CD80 MFY daha düşük iken hem ER(-) hem de ER(+) grupta daha yüksek seyretmektedir (Şekil 4.3., E grafiği).

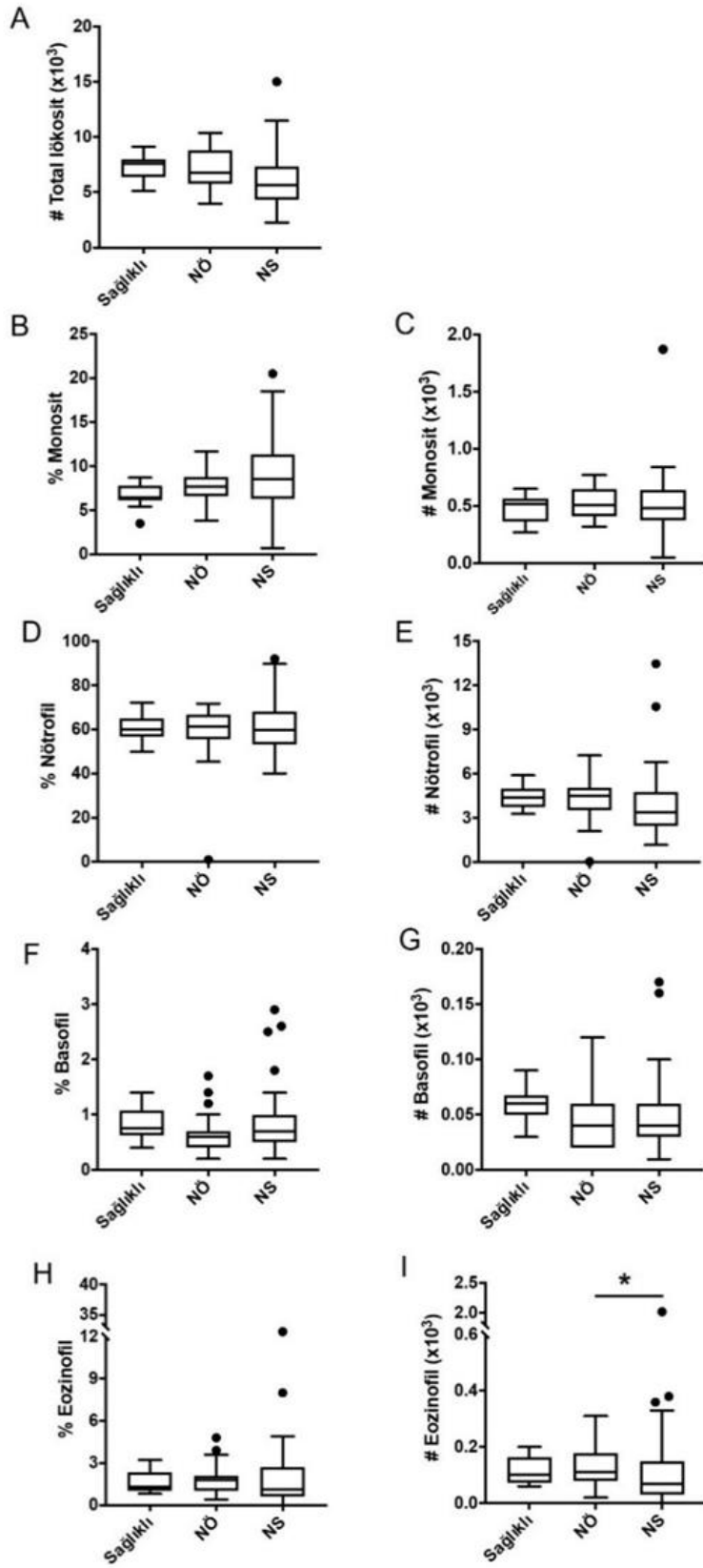
En belirgin fark ise CD86 MFY'unda tespit edilmiştir. Kontrol sağlıklı grupta CD86 MFY hem ER(-) gruba göre ($p = 0.0005$), hem de ER(+) gruba göre ($p = 0.0002$) daha düşüktür ve bu bulgular Şekil 4.3.'de G grafiğinde gösterilmiştir. ER (-) ve ER(+) gruplar arasında herhangi bir yüzey belirteci için bir fark saptanmamıştır.



Şekil 4.3. Kontrol grubun ve hasta grubun östrojen reseptör statüsüne göre akım sitometri sonuçlarının karşılaştırılması

4.5. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Neoadjuvan Tedavi Öncesi ve Sonrası Tam Kan Sayım Sonuçlarının Karşılaştırılması

Kontrol sağlıklı grup, neoadjuvan kemoterapi öncesi (NÖ) ve neoadjuvan kemoterapi sonrası (NS) gruplar arasında tam kan sayımında bakılan total lökosit sayısında, monosit, nötrofil, bazofil yüzdelerinde ve sayılarında her üç grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ayrıca 3 grup karşılaştırıldığında eozinofil yüzdesinde de anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ancak eozinofil sayıları neoadjuvan kemoterapi öncesi grupta daha yüksek seyrederken neoadjuvan kemoterapi sonrası grupta ise neoadjuvan öncesi gruba göre daha düşük bulunmuştur ($p = 0,0478$). Bu bulgu Şekil 4.4.'de I grafiğinde gösterilmiştir. Sağlıklı grup ile hasta grubu karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark saptanmamıştır. Hasta grubu ile sağlıklı grubun tam kan sayımlarının karşılaştırılması Şekil 4.4.'de bahsedilen her bir hücre için gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Kontrol grubun ve hasta grubun neoadjuvan tedavi öncesi (NÖ) ve sonrası (NS) tam kan sayım sonuçlarının karşılaştırılması

4.6. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Neoadjuvan Tedavi Öncesi ve Sonrası Akım Sitometri Sonuçlarının Karşılaştırılması

Kontrol sağlıklı grup ile hasta grubu kıyaslandığında akım sitometride eozinofil yüzdesinde anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak neoadjuvan kemoterapi öncesi grup ile neoadjuvan kemoterapi sonrası grup eozinofil yüzdesi açısından kıyaslandığında neoadjuvan kemoterapi öncesi grupta daha yüksek eozinofil yüzdesi saptanırken neoadjuvan kemoterapi sonrası grupta eozinofil yüzdesi anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p = 0.028$; Şekil 4.5., Grafik A).

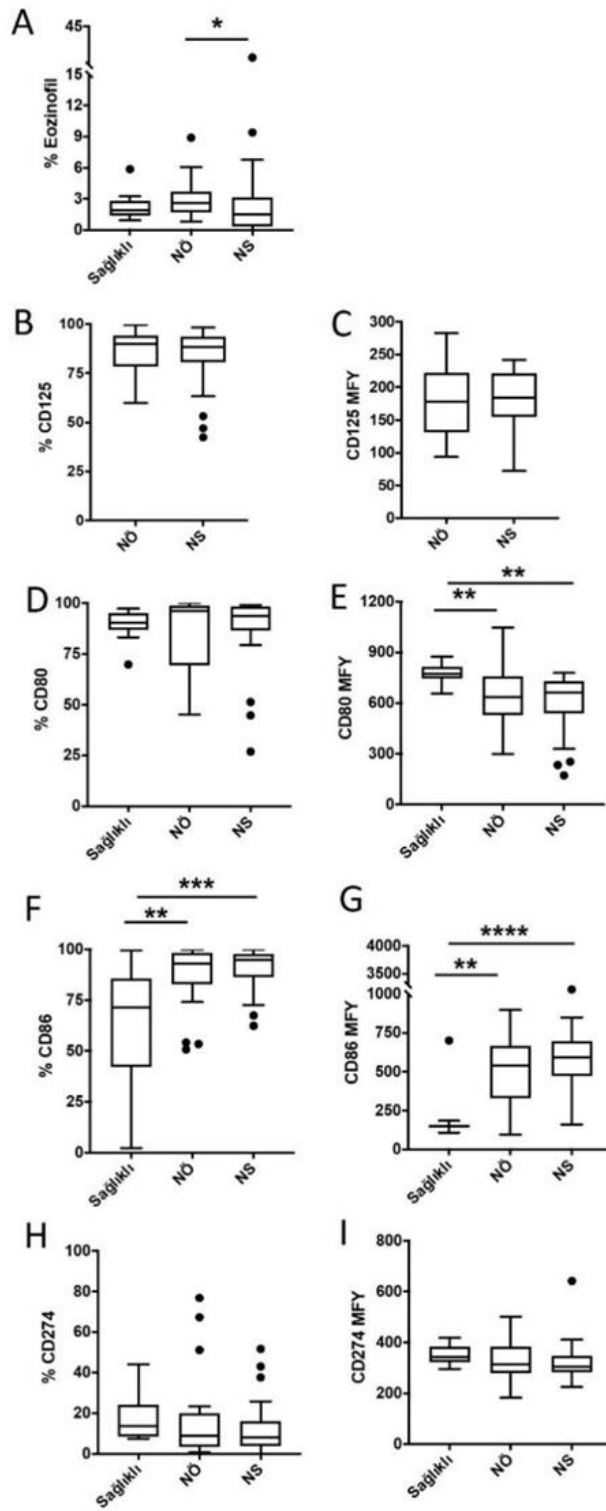
CD125 neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası gruplar için bakılmıştır ve kontrol sağlıklı grupta bakılmamıştır. CD125 yüzdesinde ve CD125 MFY'unda her iki grup kıyaslandığında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Her 3 grup CD80 açısından birbiri ile kıyaslandığında CD80 yüzdesinde her üç grup için de anlamlı bir fark saptanmamıştır. Kontrol sağlıklı grup ile neoadjuvan kemoterapi öncesi grup CD80 MFY açısından karşılaştırıldığında neoadjuvan kemoterapi öncesi CD80 MFY orta dereceli anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır ($p = 0.0066$; Şekil 4.5., Grafik E). Kontrol sağlıklı grupta CD80 MFY oranı daha yüksek iken bu oran neoadjuvan kemoterapi sonrası grupta daha düşük bulunmuştur ($p = 0.0013$; Şekil 4.5., Grafik E).

Kontrol sağlıklı grup ile neoadjuvan kemoterapi öncesi grup CD86 yüzdesi açısından kıyaslandığında kontrol sağlıklı grupta anlamlı olarak daha düşük bir yüzde bulunmuştur ($p = 0.0096$; Şekil 4.5., Grafik F). CD86 MFY için benzer sonuçlar elde edilmiştir ($p = 0.0031$; Şekil 4.5., Grafik G). Kontrol sağlıklı grupta CD86 yüzdesi neoadjuvan kemoterapi sonrası gruba göre de daha düşük saptanmıştır ($p < 0.001$; Şekil 4.5., Grafik F). En ciddi fark ise kontrol sağlıklı grup ve neoadjuvan kemoterapi sonrası grupta CD86 MFY'da tespit edilmiştir ($p < 0.0001$; Şekil 4.5., Grafik G). Neoadjuvan kemoterapi öncesi grupta CD86 yüzdesi ve MFY'u neoadjuvan sonrası gruba göre daha düşük olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir farka ulaşmamıştır.

Ayrıca bakılan CD274 yüzdesi ve MFY'u her üç grup birbirleri ile kıyaslandığında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Akım sitometride eozinofil

yüzdesi, CD125 yüzdesi, CD125 MFY'u, CD80 yüzdesi, CD80 MFY'u, CD86 yüzdesi, CD86 MFY'u, CD274 yüzdesi ve CD274 MFY'u her üç grup karşılaştırılarak Şekil 4.5.'de gösterilmiştir.



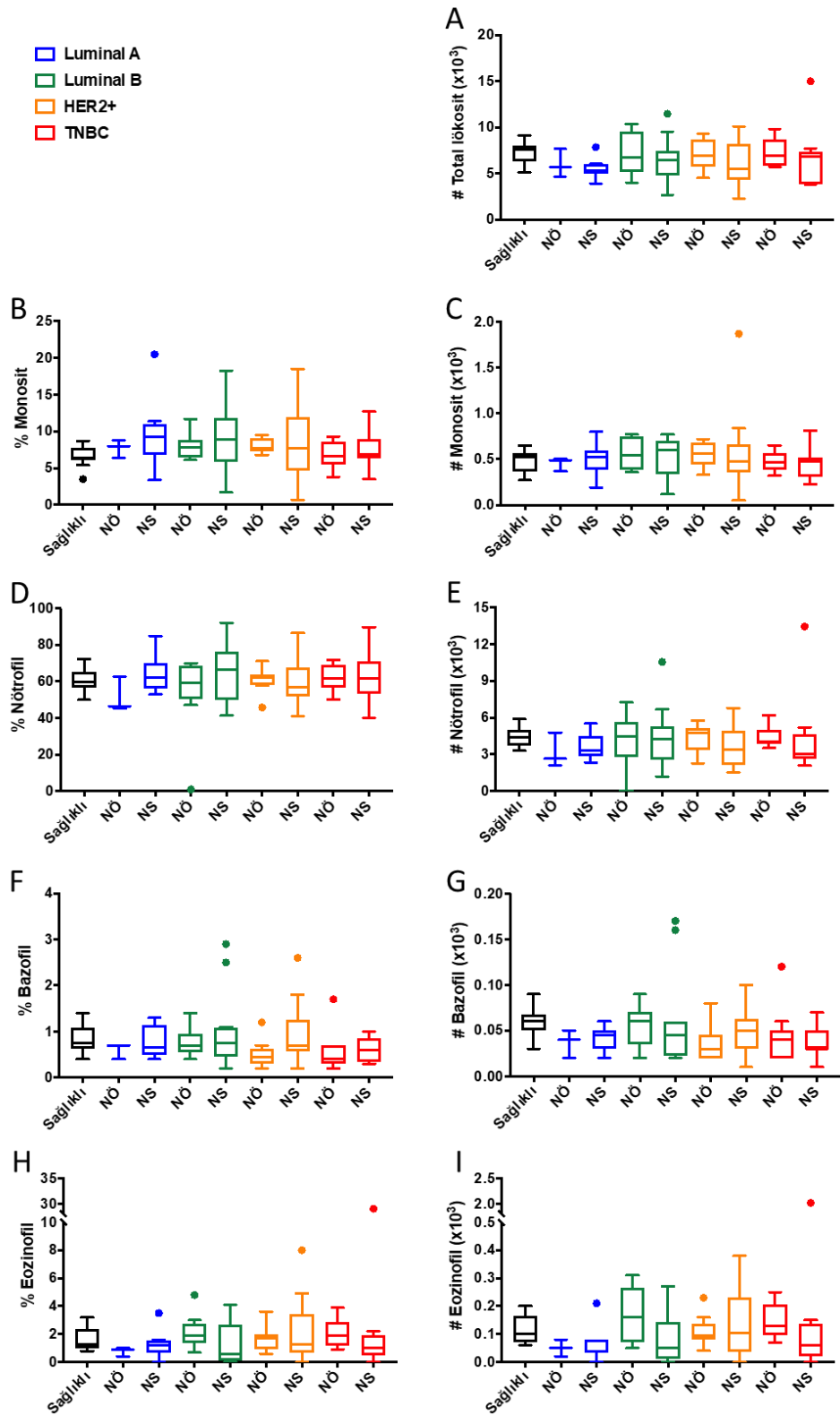
Şekil 4.5. Kontrol grubun ve hasta grubun neoadjuvan tedavi öncesi (NÖ) ve sonrası (NS) akım sitometri sonuçlarının karşılaştırılması

4.7. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Alt Gruplara Göre Tam Kan Sayım Sonuçlarının Karşılaştırılması

Kontrol sağlıklı grup ile meme kanserin her bir alt tipi , 4 grup olacak şekilde, birbirleri ile karşılaştırıldı. Kontrol sağlıklı grup ile meme kanserindeki alt tipler olan Luminal A, Luminal B, Her2(+) ve üçlü negatif (TNBC) hasta grupların her biri kıyaslandığında sağlıklı grupta tüm alt tiplere göre daha yüksek lökosit sayısı saptanmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir.

Luminal B ve üçlü negatif alt grupta neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası eozinofil sayı ve yüzdeleri kıyaslandığında neoadjuvan kemoterapi sonrasında bir düşüş eğilimi gözlenmektedir ancak istatistiksel olarak anlamlı bir farka ulaşmamıştır.

Monosit, nötrofil ve bazofil sayılarında ve yüzdelerinde de gruplar arasında bir fark tespit edilmemiştir. Sağlıklı grubun ve hasta grubun her bir alt tipinin tam kan sayımlarındaki hücrelerin karşılaştırılması Şekil 4.6.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Kontrol grubun ve hasta grubun alt gruplara göre tam kan sayım sonuçlarının karşılaştırılması (NÖ = Neoadjuvan kemoterapi öncesi, NS = Neoadjuvan kemoterapi sonrası)

4.8. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Alt Gruplara Göre Akım Sitometri Sonuçlarının Karşılaştırılması

Kontrol sağlıklı grup ile meme kanserin her bir alt tipi , 4 grup olacak şekilde, birbirleri ile karşılaştırıldı. Kontrol sağlıklı grup ile meme kanserindeki alt tipler olan Luminal A, Luminal B, Her2(+) ve üçlü negatif (TNBC) hasta grupların her biri kıyaslandığında eozinofil yüzdesinde anlamlı bir fark saptanmamıştır.

CD125 kontrol sağlıklı grupta bakılmamıştır ve hasta grubunda her bir alt grup birbiriyle kıyaslandığında farklılık tespit edilmemiştir.

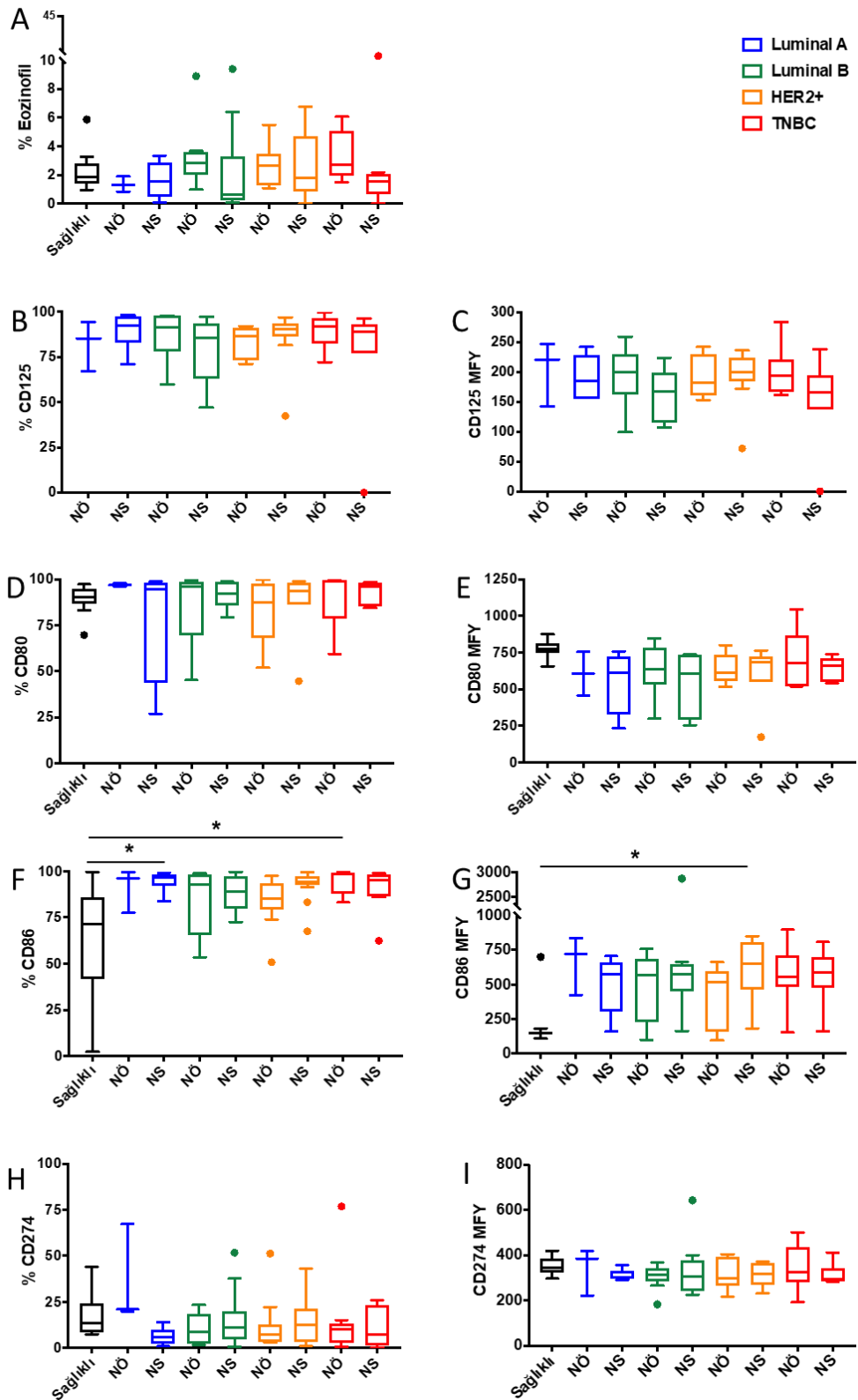
CD80 ve CD274 yüzdeleri ve MFY'ları gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir farklılığa ulaşmamıştır.

Kontrol sağlıklı grup neoadjuvan kemoterapi sonrası Luminal A alt grubu ile karşılaştırıldığında kontrol sağlıklı grupta daha düşük CD86 yüzdesi olduğu görülmüştür ($p = 0.0311$; Şekil 4.7., Grafik F).

Kontrol sağlıklı grupta CD86 yüzdesi neoadjuvan öncesi üçlü negatif gruba göre de düşük bulunmuştur ($p = 0.0166$; Şekil 4.7., Grafik F).

CD86 MFY'unda kontrol sağlıklı grupta Her2(+) neoadjuvan kemoterapi sonrası gruba göre anlamlı bir düşüklük gözlenmiştir ($p = 0.0016$; Şekil 4.7., Grafik G). Kontrol sağlıklı grup ile kalan diğer alt tipler CD86 açısından değerlendirildiğinde kontrol sağlıklı grupta belirgin bir düşüklük izlenmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir değere ulaşmamıştır.

Kontrol sağlıklı grup ve hasta grubun her bir alt tipinin akım sitometri sonuçlarının karşılaştırılması Şekil 4.7.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Kontrol Grubun ve Hasta Grubun Alt Gruplara Göre Akım Sitometri Sonuçlarının Karşılaştırılması (NÖ = Neoadjuvan Kemoterapi Öncesi, NS = Neoadjuvan Kemoterapi Sonrası)

Tablo 4.4. CD80MFY, CD86% ve CD86MFY Yüzey Belirteçlerin Alt Gruplara Göre Dağılımı (Ortanca, 25.persentil, 75.persentil)

	CD80MFY			CD86%			CD86 MFY		
	Ortanca	25p	75p	Ortanca	25p	75p	Ortanca	25p	75p
Sağlıklı	774,5	747,5	815	71,5	44,05	84,9	152,5	139,5	160
ER (+)	614,5	457	755	94,2	81,3	98	577	427,5	665
ER (-)	663	549	719,5	94,1	85,15	97,55	552	451	671,5
NÖ	635,5	525	723,5	92,8	81,95	98,1	539	245,5	664,5
NS	663	532	725	94,5	86,15	97,75	593	469	688
NS Lum. A	611,5	417	690,5	96,5	87,4	97,3	576,5	357	640
NÖ TNBC	681	519,5	869	98,6	87,9	98,9	557	481	713,5
NS HER2(+)	687	550	721	94,4	92,55	97,2	652	467	772

5. TARTIŞMA

Meme kanseri ülkemizde ve dünya genelinde kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Tedavisinde hastalığın evresine, lenf nodu tutulumuna ve özellikle alt tiplerine göre farklı tedavi yaklaşımları mevcuttur. Tedavi modalitelerden birisi olan neoadjuvan kemoterapi öncelikli olarak lokal ileri evre hastalıkta ve bazı erken dönem meme kanserlerinde kullanılmaktadır [3]. Neoadjuvan kemoterapinin meme dokusunda ve tümör mikroçevresi üzerinde farklı etkileri olduğu bilinmektedir [12].

Eozinofiller granülositlerin bir alt grubudur ve tümör mikroçevresinde bulunan hücre gruplarından biridir. Tümöral dokunun eozinofil infiltrasyonuna uğradığı gösterilmiştir. Ayrıca periferik kandaki eozinofil sayısının da kanser gelişiminde prognostik bir öneme sahip olduğu gösterilmiştir. Eozinofil ve kanser ilişkisi ile ilgili bilgilerin çoğu immunoterapi alan melanomlu ve akciğer kanserli hastalardan elde edilmiştir. Meme kanserinde hangi mekanizma ile eozinofillerin kanser gelişim basamaklarında yer aldıkları henüz tam anlamıyla ortaya konulamamıştır ve meme kanserindeki rolleri araştırılmaktadır [7].

Tümör immünolojisi, diğer birçok kanser türünde olduğu gibi, meme kanser oluşumunda ve yayılımında da önemli fonksiyonlara sahiptir. Meme kanserinin Her2 negatif olan alt tiplerinde tümör mikroçevresinin immün hücreler tarafından infiltrasyonu daha iyi sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. Bu etki özellikle CD8+ T-hücrelerden zengin bir infiltrasyon söz konusu ise saptanmıştır. Buna ek olarak T-hücrelerin yüksek miktarda varlığı neoadjuvan kemoterapiye daha yüksek yanıt oranları ve azalmış tümör çoğalımı ile yakından ilişkilidir. Tümör mikroçevresini birçok hücre grubu oluşturmaktadır ve Treg hücreler ile MDSC'lerin yüksek miktarda ekspresyonu meme kanserinde, CD8 T-hücrelerin aksine, neoadjuvan kemoterapiye kötü yanıt ve kötü klinik sonuçlara neden olmaktadır [12]. Eozinofillerin meme kanserinde tümör hücrelerini infiltre ederek tümör mikroçevresinde bulunmaları, meme kanseri gelişiminde rolleri olduğunu desteklemektedir.

Periferik kanda eozinofil sayısı özellikle melanom veya akciğer kanseri olan ve immunoterapi alan hastalarda çokca çalışılmıştır. Tedavi öncesi ve tedavi süresi boyunca yüksek eozinofil sayısı daha iyi sağkalım ve tedaviye daha iyi yanıt ile ilişkilendirilmiştir [161, 162]. Meme kanserli hastalarda yapılan çalışmalardan, Her2(+) meme kanserli adjuvan Trastuzumab alan hastalarla yapılan çalışmada düşük periferik bazal eozinofil sayısının ($<70/mm^3$) daha iyi hastalısız sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [125]. Ownby ve ark. tarafından yapılan ve tüm meme kanseri alt tiplerini içeren çalışmada periferik düşük bazal eozinofil sayısı ($<55/mm^3$) düşük rekürrens oranları ile ilişkili olarak saptanmıştır [126]. Ancak başka bir çalışmada rölatif eozinofil bazal sayısının yüksek olması daha iyi sağkalıma neden olduğu görülmüştür. Ayrıca meme kanseri için cerrahi geçiren ve rekürrens gelişmeyen hastalarda rölatif eozinofil bazal sayısının yüksek seyrettiği de tespit edilmiştir [107]. İmmünoterapi veya kemoterapi alan metastatik üçlü negatif hastalarda periferik yüksek eozinofil sayısı ile tedavi sonrası progresyonsuz sağkalım arasında anlamlı bir bağlantı saptanmıştır [11].

Yapılan çalışmalarda periferik kandaki bazal eozinofil sayısının hem yüksekliği hem de düşüklüğü sağkalım ile ilişkilendirilmiştir ancak net bir sonuca ulaşılamamıştır [7]. Ayrıca neoadjuvan kemoterapi almış olan meme kanserli hastalar ile eozinofillerin ilişkisini araştıran çok az sayıda çalışma mevcuttur. Lokal ileri evre hastalığa sahip neoadjuvan kemoterapi alan ve meme kanserinin tüm alt tiplerini inceleyen prospektif bir çalışma olmaması nedeniyle bu çalışmayı gerçekleştirdik.

Çalışmamızda eozinofil sayısı ve yüzdesi bakımından kontrol sağlıklı grup ve hasta grubu arasında herhangi bir fark saptanmaz iken, hasta grubunda neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilmiştir. Neoadjuvan kemoterapi öncesi grupta eozinofil sayısı daha yüksek iken tedavi sonrası grupta ise bu yüzde istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur. Eozinofillerin kanser gelişiminde erken inflamatuvar yanıt ve tümöre karşı sistemik yanıtı neden olduğu bilinmektedir [11]. Eozinofil sayısının ve yüzdesinin neoadjuvan kemoterapiden etkilenmesi, diğer birçok immün

hücreler gibi eozinofillerin de tümör mikroçevresinde kemoterapi etkisi altında değişime uğradığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Onesti ve ark. tarafından Her2(+) ve üçlü negatif hastalarla yapılan çalışma tedavi öncesi yüksek bazal eozinofil sayısının patolojik tam yanıtı ve daha uzun sağkalımı olumlu yönde etkilediğini göstermektedir [16]. Çalışmamızda patolojik tam yanıt ve sağkalım analizleri yapılmamış olsa da neoadjuvan kemoterapi öncesi eozinofil sayısının çalışmamızda yüksek olması eozinofillerin tümör mikroçevresindeki immün yanıtlarda rol alabileceklerini düşündürmektedir. Kemoterapi genel olarak immün-baskılayıcı özellikte tanımlanmıştır ancak güncel çalışmalar kemoterapinin immün sistemi etkinleştirerek tümör hücrelerini yok edilmesini sağladığını göstermiştir. Antrasiklin alan hastalarda tümör hücreleri tarafından tip-I IFN salgılanması, tümör hücrelerinde MHC-I ekspresyonuna sebep olarak, antijen sunan hücreler tarafından tümör hücrelerin tanınmasına ve T-hücre yanıtına neden olmaktadır [163]. Eozinofiller de antijen sunan hücre olarak T-hücre yanıtına neden olmaktadır ve neoadjuvan kemoterapi ile birlikte antitümöral yanıtı güçlendirebilmektedirler. Neoadjuvan kemoterapi sonrası tümör infiltrate edici lenfositlerde azalma olduğu bir çalışmada gözlenmiştir ve bu bulgu için iki hipotez öne sürülmüştür. Neoadjuvan kemoterapi TİL'ler üzerinde ya direk sitotoksik etki ile sayılarında azalmaya neden olmaktadır ya da neoadjuvan kemoterapi ile birlikte tümöral büyümede gerileme ve immün yanıtta azalma olduğu için TİL sayılarında da azalma izlenmektedir [163]. Çalışmamızda neoadjuvan kemoterapi sonrası eozinofillerde düşüş izlenmesi bu iki hipotez ile açıklanabilmektedir ancak eozinofillerin aynı yolak üzerinden etki edip etmedikleri araştırılmalıdır.

Elde edilen periferik tam kandan eozinofil yüzdeleri ve sayıları hem tam kan sayımında hem de akım sitometride incelendi. Akım sitometri her bir hücrenin hem fiziksel hem de kimyasal özelliklerini ölçmeye yarayan bir araçtır ve birçok alanda kullanılmaktadır. En önemli özelliği ise kısa bir sürede çok sayıda hücreleri değerlendirebilmesi ve ayrıştırabilmesidir. Ancak aynı zamanda yüksek maliyetli olması, kalibrasyon gerekliliği olması ve karmaşık ölçüm cihazlarına ihtiyaç

duyması dezavantajları arasında sayılabilmektedir [164]. Eozinofil sayı ve yüzdelerini değerlendirmede daha basit ve daha maliyetsiz olan diğer bir ölçüm metodu ise tam kan sayımıdır. Eozinofil yüzdesi ve sayısı elde edilerek tam kan sayımı ile akım sitometri sonuçlarını kıyasladığımızda iki ölçüm yöntemi arasında güçlü bir korelasyon saptadık. Bu nedenle eozinofillerin sayı ve yüzdelerinin değerlendirilmesinde akım sitometri yerine tam kan sayımı tercih edilebilmektedir.

Eozinofillerin çok yönlü fonksiyonlarının olması, tümör mikroçevresindeki diğer hücreler ile etkileşime girmeleri ve bazı kanserlerde prognostik değere sahip olmaları nedeniyle özellikle meme kanserindeki rolleri ile ilgili araştırmalar önem arz etmektedir. Çalışmamızda sağlıklı bireyler ile meme kanserli hastalarda akım sitometride eozinofil yüzey belirteçlerinden CD80, CD86, CD125 (IL-5R α) ve CD274(PD-L1)'i değerlendirdik.

Meme kanseri önceleri immünojen bir tümör olarak kabul edilmemiş olsa da güncel çalışmalar meme kanserinin özellikle bazı alt tiplerinde (Her2+), üçlü negatif) yoğun immün hücre infiltrasyonu olduğunu göstermiştir [165].

Bir immün hücresi olan eozinofillerin yüzeyinde fonksiyonlarını yerine getirmeye aracılık yapan birçok yüzey reseptörleri bulunmaktadır. Bilindiği üzere vücutta oluşan yabancı bir uyarı sonrası özellikle CD8 T-hücreler aktive olup immün yanıtı neden olmaktadır. T-lenfositlerin üzerinde bulunan CD28 molekülü, antijen sunan hücreler üzerinde bulunan ve kostimülatör olarak görev alan CD80 ve CD86 ile etkileşimi girmektedir. T-hücre aktivasyonu gerçekleşmektedir ancak fazla gelişen T-hücre aktivasyonu aşırı inflamasyon ve doku yıkımına neden olacağından bunu engellemek için immün kontrol noktaları denilen CTLA4 ve PD-1 gibi moleküllere ihtiyaç vardır. PD-1'in T-hücrelerin fonksiyonlarını engelleyebilmesi için PD-L1 (CD274) reseptörüne ihtiyaç duymaktadır. PD-L1 tümör hücreleri tarafından fazlaca ifade edilmektedir ve immün sistemden kaçışın başka bir yoludur. Güncel pratikte CTLA4 ve PD-1 inhibitörleri CD4/8 T-hücre aktivasyonunda artışa ve Treg hücrelerinde azalmaya

neden olmakta ve birçok kanser türünde tedavi ajanları olarak kullanılmaktadır [166].

Meme kanserli hücrelerde CTLA4'ün yüksek düzeyde ifade edilmesi ve CD80/86 ile etkileşime girmesi, T-hücre fonksiyonlarında azalmaya ve tümöre karşı oluşan immün yanıtın baskılanmasına neden olmaktadır [167]. CD80/86'in varlığı hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda güçlü antitümoral yanıt ile yakından ilişkilendirilmiştir [168]. Gliomalarda, gastrik karsinomlarda, pankreatik karsinomlarda ve hematolojik malignitelerde CD80/86 ekspresyonu mevcuttur [169]. Başka kanser türlerinde ise (Akciğer, Tiroid) CD80 düzeyleri düşük saptanmış ve bu nedenle CD80'nin başka immün hücreler ile de etkileşime girerek farklı kanser türlerinde farklı immün yanıtlara neden olduğu öngörülmüştür. Bu açıdan immün kontrol nokta inhibitörleri ile kombine edilerek immünoterapide yer alabileceği düşünülmektedir. CD80 ve 86'in meme kanserindeki rolleri ile ilgili fazla bilgi bulunmamaktadır.

Zhang ve ark. tarafından yapılan çalışmada CD80'in meme kanserinde inflamatuvar aktivite ve immün yanıt ile ilişkili olduğu görülmüştür. Üçlü negatif ve Her2(+) alt tiplerinde CD80 düzeyleri yüksek tespit edilirken, Luminal A alt tipinde daha düşük bulunmuştur. Ayrıca daha yüksek dereceli tümörlerde CD80'nin daha çok ifade edildiği tespit edilmiştir [170]. Meme kanseri ile ilgili bir meta-analizde MDA-MB-468, MCF-7, ve MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde normal MCF10A hücrelerine göre daha yüksek CD80 ekspresyonu saptanmıştır ve CD80 ekspresyonunun meme kanseri gelişimi ve metastaz oluşumu ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [171].

Genelde makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından CD86 ekspresyonu araştırılmıştır ve başta meme kanseri olmak üzere birçok solid kanser türünde dendritik hücrelerde CD86 yüksekliği kanıtlanmıştır [172]. Meme kanserli hastalarda makrofajlar tarafından eksprese edilen CD86 ile ilgili yapılan bir çalışmada ise CD86 yüksekliği azalmış sağkalım, immünsüpresif etki ve tümör progresyonu ile ilişkilendirilmiştir [173, 174].

Eozinofillerin CD80 ve CD86 aracılığıyla antijen sunan hücre olarak özellikle CD4 T-hücre aktivasyonuna yol açarak farklı hastalıklarda görev aldıkları bilinmektedir. Bu etkilerini T-hücreler üzerinde bulunan CD28 molekülü ile gerçekleştirmektedirler [175]. CD80 ve CD86 aynı reseptöre bağlansa da yapılan araştırmalarda hem benzer hem de farklı görevleri ve etkileri oldukları gösterilmiştir. CD86, CD80'e göre daha hızlı ve daha yüksek miktarda indüklenebilmektedir [176]. CD86 ayrıca CTLA4 tarafından CD80'e göre daha az baskılandığı için CD28'e daha yüksek afinite ile bağlanarak T-hücre aktivasyonunda daha önemli bir yeri olmaktadır. Yapılan çalışmalarda CD86 ve CD80 ekilen tümörlerde, CD86'nın daha immünojenik bir yanıtı neden olarak tümör gelişimini baskıladığı tespit edilmiştir. Ayrıca CD86 yokluğu daha fazla CD80-CTLA4 etkileşimine neden olarak immün yanıtın baskılanmasına neden olmaktadır [177]. CD80 ekspresyonunun daha çok Tip 1 T-hücre salınımına neden olurken, CD86 ekspresyonu ise Tip 2 T-hücre salınımını tetiklemektedir. Eozinofilik hastalarla yapılan bir çalışmada eozinofillerin CD86 ifade ettiğini ancak CD80 ekspresyonunun olmadığını göstermiştir [176]. IL-3 CD86 düzeyini artırırken, CD80 üzerine etkisizdir [175]. Dendritik hücrelerde, monositlerde ve aktive olmuş B-hücrelerde CD86 sürekli olarak ifade edildiğinden CD86'nın immün yanıtı başlatmakta CD80'e göre daha üstün olduğu düşünülmektedir [178]. Ayrıca CD80'nin özellikle CTLA4 ile etkileşime daha fazla girmesi CD80'nin özellikle immün yanıtı baskılayıcı etkilerinin olduğunu desteklemektedir. CD86'nın daha çok CD28 ile etkileştiği için CD80'e kıyasla immün yanıtı tetiklediği düşünülmektedir [179].

Çalışmamızda CD80 yüzdesinde anlamlı bir fark olmaksızın, CD80 MFY'unda hasta grubunda düşüklük görülmektedir. CD80 MFY'unun hasta grubunda sağlıklı bireylere göre daha düşük olması, CD86'ya göre daha geç indüklendiği bulgusunu destekleyen bir ipucu olabilmektedir. Ayrıca CD80'nin özellikle CTLA4 ile etkileşime girerek immün yanıtı baskılaması, çalışmamızda CD80 düzeyinin düşüklüğünün tümör mikroçevresinde yoğun bir immün yanıtı neden olabileceğini düşündürmektedir. Yoğun immün yanıtın çalışmamızdaki diğer olası

bulgusu ise CD86'nın hem yüzdesinde hem de MFY'unda yüksekliğin olmasıdır. Dendritik hücreler ve makrofajlar tarafından CD80 ekspresyonu olmaksızın yüksek CD86 ekspresyonu SLE ve kronik Hepatit B enfeksiyonunda inflamasyonun bir göstergesidir ve inflamasyon yanıtının Th2 tipinde T-hücreler tarafına bir kayma ile ilişkilidir. Talaat ve ark. tarafından yapılan çalışmada da meme kanserli hastalarda makrofajlar tarafından yüksek CD86 ekspresyonu gösterilmiştir [173]. Sousa ve ark. tarafından yapılan çalışmada da makrofajların CD86 ekspresyonu meme kanserli hastalarda araştırılmış ve CD86 düşüklüğünün immün yanıtı baskılayarak meme kanser gelişimini desteklediği savunulmuştur [174].

Meme kanseri alt tiplerinden bağımsız olarak meme kanserli hastalarda çalışmamızda eozinofiller tarafından yüksek CD86 ekspresyonunun olması eozinofillerin tümör mikroçevresinde aktif rol alabileceklerini akla getirmektedir. CD80'nın ağırlıklı olarak eksprese edilip CTLA4'e yüksek afinite ile bağlanarak immün yanıtta baskılanmaya neden olması eozinofillerin protümöral etkilerini açıklamakta bir ipucu olabilmektedir. Benzer şekilde CD86 ekspresyonunun fazla olduğu durumlarda CD28 üzerinden inflamasyonu tetikleyerek eozinofillerin antitümöral etkilerine yol açtığı düşünölebilmektedir. Eozinofillerin meme kanserinde hangi duruma göre hangi yüzey belirteçlerini ifade ettikleri bilinmemektedir. Klasik olarak eozinofiller normodens ve hipodens olarak alt gruplara ayrılmaktadır ancak güncel bilgilere göre ifade ettikleri yüzey reseptörleri temel alınarak bazal ve indüklenabilir eozinofiller olarak sınıflandırılabilirler. Bu iki alt gruba özellikle astımlı hastalarda solunum yollarında sık rastlanmaktadır [180]. Başka bir çalışmada barsaklarda aktif ve bazal eozinofiller olmak üzere iki alt gruba rastlanmıştır ve aktif eozinofillerin özellikle inflamatuvar barsak hastalıklarında immünmodölasyonda rol alabilecekleri gösterilmiştir [181]. Yoğun inflamasyonun olduğu meme kanserinde CD80 ve CD86'nın farklı düzeylerde ifade edilişı meme dokusunda da farklı eozinofil alt grupların olabileceği düşünöncesini akla getirmektedir.

Eozinofillerin, sadece bilinen alerjik ve paraziter reaksiyonların dışında, kanser gelişiminde ve tümör mikroçevresinde de önemli görevleri olduğu bilinmektedir. Meme kanserli hastalarda tümör mikroçevresini nasıl etkiledikleri hakkında kısıtlı bilgi mevcuttur. Bilgimiz dahilinde neoadjuvan kemoterapi alan meme kanserli hastalarda eozinofil yüzey belirteçlerini değerlendiren bu çalışma ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Meme kanserinde eozinofillerin yüzey belirteçleri olan CD80 ve CD86 üzerinden etki edebileceklerini ve farklı düzeylerde ifade edilebileceklerini çalışmamızda gösterdik. Hasta grubunu neoadjuvan kemoterapi öncesi ile sonrasına ve östrojen reseptör statüsüne göre ayırıp eozinofil yüzey belirteçleri açısından değerlendirdiğimizde ise gruplar arası istatistiksel anlamlı bir fark izlenmedi.

Örnekleme büyüklüğünün kısmında görülebileceği gibi CD80MFY' u bu çalışmada neoadjuvan kemoterapi öncesi 635,5; neoadjuvan kemoterapi sonrası 663; ER(+) grupta 614,5; ER(-) grupta ise 663 değerlerine sahiptir. Bu değerler CD86%'si için sırasıyla 92,8; 94,5; 94,2 ve 94,1'dir. CD86MFY' u için değerler ise 539; 593; 577 ve 552 şeklindedir. Bununla birlikte gruplar arası (neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası ile ER(+) ve ER(-) grup) gözlenen farkların zaten çok düşük olduğuna işaret etmektedir. Bu nedenle gözlenen bir farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde gösterilememesi şeklindeki düşük istatistiksel güç riskinin olmadığı düşünülmektedir.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları vardır. İlk kısıtlılık olarak aynı hastaların neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası eozinofil değerlerinin ölçülmemesidir. Sonraki çalışmalarda neoadjuvan kemoterapi öncesi ve sonrası aynı hasta seçimi yapılarak bu kısıtlılık ortadan kaldırılabilir. Son olarak sağkalım analizlerin yapılmaması ikinci kısıtlılığımız olarak kabul edilebilir. Literatürde meme kanseri ve CD86/CD80 ilişkisini inceleyen çalışmalar sağkalım analizlerini içermektedir. Bu sebeple çalışmamıza dahil edilen hastaların ilerleyen yıllarda sağkalım analizleri retrospektif incelenerek çalışma yeniden tasarlanıp güçlendirilebilir.

6. SONUÇLAR

1. Eozinofil sayı ve yüzdelerini ölçmekte akım sitometri yerine daha kolay uygulanabilen ve daha düşük maliyetli olan tam kan sayımı kullanılabilir. kullanılabilmektedir.
2. Sağlıklı ve hasta grubu arasında eozinofil sayılarında fark izlenmemektedir. Ancak neoadjuvan kemoterapi öncesi eozinofil sayılarında yükseklik gözlenirken, neoadjuvan kemoterapi sonrasında ise düşüklük izlenmektedir.
3. Neoadjuvan kemoterapiden ve östrojen reseptör statüsünden bağımsız olarak meme kanserli hastalarda sağlıklı kişilere göre eozinofillerde CD80 ekspresyonu düşük iken CD86 ekspresyonu yüksektir.
4. Eozinofil aktivasyon belirteçleri olan CD80 ve CD86'nın genelde benzer yanıtlara neden olmalarına rağmen meme kanserinde farklı düzeyde ifade edilişlerinin nedenleri araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Roginski, M., ve Ark. *Paradoxes of breast cancer incidence and mortality in two corners of Europe*. BMC Cancer, 2022. **22**(1): p. 1123.
2. Giaquinto, A.N., ve Ark. *Breast Cancer Statistics, 2022*. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2022. **72**(6): p. 524-541.
3. Raut, N.V., Chordiya, N. *NEO adjuvant chemotherapy in breast cancer: What have we learned so far?* Indian J Med Paediatr Oncol, 2010. **31**(1): p. 8-17.
4. Spring, L.M., Y. Bar, Isakoff S.J. *The Evolving Role of Neoadjuvant Therapy for Operable Breast Cancer*. J Natl Compr Canc Netw, 2022. **20**(6): p. 723-734.
5. Mieog, J.S., J.A. van der Hage, van de Velde, C.J. *Neoadjuvant chemotherapy for operable breast cancer*. Br J Surg, 2007. **94**(10): p. 1189-200.
6. Simon, S.C.S., J. Utikal, Umansky, V. *Opposing roles of eosinophils in cancer*. Cancer Immunology, Immunotherapy, 2019. **68**(5): p. 823-833.
7. Poncin, A., ve Ark. *Immunity and Breast Cancer: Focus on Eosinophils*. Biomedicines, 2021. **9**(9).
8. Davis, B.P., Rothenberg, M.E. *Eosinophils and cancer*. Cancer Immunol Res, 2014. **2**(1): p. 1-8.
9. Ramirez, G.A., ve Ark. *Eosinophils from Physiology to Disease: A Comprehensive Review*. Biomed Res Int, 2018. **2018**: p. 9095275.
10. Lotfi, R., J.J. Lee, Lotze, M.T. *Eosinophilic granulocytes and damage-associated molecular pattern molecules (DAMPs): role in the inflammatory response within tumors*. J Immunother, 2007. **30**(1): p. 16-28.
11. Ghebeh, H., ve Ark. *Peripheral blood eosinophil count is associated with response to chemoimmunotherapy in metastatic triple-negative breast cancer*. Immunotherapy, 2022. **14**(4): p. 189-199.
12. Urueña, C., ve Ark. *The breast cancer immune microenvironment is modified by neoadjuvant chemotherapy*. Sci Rep, 2022. **12**(1): p. 7981.
13. Kim, R., ve Ark. *Immune correlates of the differing pathological and therapeutic effects of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer*. European Journal of Surgical Oncology, 2020. **46**(1): p. 77-84.

14. Spring, L.M., ve Ark. *Pathologic Complete Response after Neoadjuvant Chemotherapy and Impact on Breast Cancer Recurrence and Survival: A Comprehensive Meta-analysis*. Clin Cancer Res, 2020. **26**(12): p. 2838-2848.
15. Hwang, H.W., ve Ark. *A nomogram to predict pathologic complete response (pCR) and the value of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) for prediction of response to neoadjuvant chemotherapy (NAC) in breast cancer patients*. Breast Cancer Res Treat, 2019. **173**(2): p. 255-266.
16. Onesti, C.E., ve Ark. *Predictive and prognostic role of peripheral blood eosinophil count in triple-negative and hormone receptor-negative/HER2-positive breast cancer patients undergoing neoadjuvant treatment*. Oncotarget, 2018. **9**(72): p. 33719-33733.
17. Blomberg, O.S., ve Ark. *IL-5-producing CD4(+) T cells and eosinophils cooperate to enhance response to immune checkpoint blockade in breast cancer*. Cancer Cell, 2023. **41**(1): p. 106-123.e10.
18. Smolarz, B., Nowak, A.Z., Romanowicz, H. *Breast Cancer-Epidemiology, Classification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature)*. Cancers (Basel), 2022. **14**(10).
19. Müdürlüğü, T.C.S.B.H.S.G., *Türkiye Kanser İstatistikleri 2018*. 2022.
20. Akram, M., ve Ark. *Awareness and current knowledge of breast cancer*. Biol Res, 2017. **50**(1): p. 33.
21. Sun, Y.S., ve Ark. *Risk Factors and Preventions of Breast Cancer*. Int J Biol Sci, 2017. **13**(11): p. 1387-1397.
22. Polyak, K. *Breast cancer: origins and evolution*. J Clin Invest, 2007. **117**(11): p. 3155-63.
23. Rojas, K., Stuckey, A. *Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors*. Clin Obstet Gynecol, 2016. **59**(4): p. 651-672.
24. Clavel-Chapelon, F., Gerber, M. *Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis?* Breast Cancer Res Treat, 2002. **72**(2): p. 107-15.

25. Li, C.I., ve Ark. *Reproductive factors and risk of estrogen receptor positive, triple-negative, and HER2-neu overexpressing breast cancer among women 20-44 years of age*. Breast Cancer Res Treat, 2013. **137**(2): p. 579-87.
26. Veronesi, U., ve Ark. *Breast cancer*. Lancet, 2005. **365**(9472): p. 1727-41.
27. Ma, H., ve Ark *Use of four biomarkers to evaluate the risk of breast cancer subtypes in the women's contraceptive and reproductive experiences study*. Cancer Res, 2010. **70**(2): p. 575-87.
28. Yang, X.R., ve Ark. *Differences in risk factors for breast cancer molecular subtypes in a population-based study*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2007. **16**(3): p. 439-43.
29. Phipps, A.I., ve Ark. *Reproductive and hormonal risk factors for postmenopausal luminal, HER-2-overexpressing, and triple-negative breast cancer*. Cancer, 2008. **113**(7): p. 1521-6.
30. Phipps, A.I., ve Ark. *Reproductive history and oral contraceptive use in relation to risk of triple-negative breast cancer*. J Natl Cancer Inst, 2011. **103**(6): p. 470-7.
31. Friedman, E., ve Ark. *Spontaneous and therapeutic abortions and the risk of breast cancer among BRCA mutation carriers*. Breast Cancer Res, 2006. **8**(2): p. R15.
32. Hunter, D.J., ve Ark. *Oral contraceptive use and breast cancer: a prospective study of young women*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010. **19**(10): p. 2496-502.
33. Marchbanks, P.A., ve Ark. *Oral contraceptives and the risk of breast cancer*. N Engl J Med, 2002. **346**(26): p. 2025-32.
34. Gambrell, R.D., Jr., R.C. Maier, Sanders, B.I. *Decreased incidence of breast cancer in postmenopausal estrogen-progestogen users*. Obstet Gynecol, 1983. **62**(4): p. 435-43.
35. *Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer*

- and 108,411 women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. *Lancet*, 1997. **350**(9084): p. 1047-59.
36. Collins, L.C., ve Ark. *Magnitude and laterality of breast cancer risk according to histologic type of atypical hyperplasia: results from the Nurses' Health Study*. *Cancer*, 2007. **109**(2): p. 180-7.
 37. Hartmann, L.C., ve Ark. *Benign breast disease and the risk of breast cancer*. *N Engl J Med*, 2005. **353**(3): p. 229-37.
 38. King, T.A., ve Ark. *Lobular Carcinoma in Situ: A 29-Year Longitudinal Experience Evaluating Clinicopathologic Features and Breast Cancer Risk*. *J Clin Oncol*, 2015. **33**(33): p. 3945-52.
 39. Fisher, E.R., ve Ark. *Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project: twelve-year observations concerning lobular carcinoma in situ*. *Cancer*, 2004. **100**(2): p. 238-44.
 40. Boyd, N.F., ve Ark. *Mammographic densities and breast cancer risk*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1998. **7**(12): p. 1133-44.
 41. Goldgar, D.E., ve Ark. *Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands*. *J Natl Cancer Inst*, 1994. **86**(21): p. 1600-8.
 42. Tan, M.H., ve Ark. *Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations*. *Clin Cancer Res*, 2012. **18**(2): p. 400-7.
 43. Sidransky, D., ve Ark. *Inherited p53 gene mutations in breast cancer*. *Cancer Res*, 1992. **52**(10): p. 2984-6.
 44. Garber, J.E., ve Ark. *Follow-up study of twenty-four families with Li-Fraumeni syndrome*. *Cancer Res*, 1991. **51**(22): p. 6094-7.
 45. Orrantia-Borunda, E., ve Ark. *Subtypes of Breast Cancer*. 2022, Exon Publications. p. 31-42.
 46. Hicks, D.G., Lester, S.C. *Hormone Receptors (ER/PR)*, in *Diagnostic Pathology: Breast (Second Edition)*, D.G. Hicks and S.C. Lester, Editors. 2016, Elsevier: Philadelphia. p. 430-439.

47. Purdie, C.A., ve Ark. *Progesterone receptor expression is an independent prognostic variable in early breast cancer: a population-based study*. British Journal of Cancer, 2014. **110**(3): p. 565-572.
48. Krishnamurti, U., ve Ark *Poor prognostic significance of unamplified chromosome 17 polysomy in invasive breast carcinoma*. Modern Pathology, 2009. **22**(8): p. 1044-1048.
49. Haroon, S., ve Ark. *Ki67 Index in Breast Cancer: Correlation with Other Prognostic Markers and Potential in Pakistani Patients*. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2013. **14**(7): p. 4353-4358.
50. Sharma, J.D., ve Ark. *Prevalence of Molecular Subtypes of Breast Carcinoma and Its Comparison between Two Different Age Groups: A Retrospective Study from a Tertiary Care Center of Northeast India*. South Asian J Cancer, 2021. **10**(04): p. 220-224.
51. Yersal, O., Barutca, S. *Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications*. World J Clin Oncol, 2014. **5**(3): p. 412-24.
52. Reis-Filho, J.S., ve Ark. *Molecular profiling: moving away from tumor philately*. Sci Transl Med, 2010. **2**(47): p. 47ps43.
53. Kumar, P., Aggarwal, R. *An overview of triple-negative breast cancer*. Archives of Gynecology and Obstetrics, 2016. **293**(2): p. 247-269.
54. Hortobagyi, G.N., S.B. Edge, Giuliano, A. *New and Important Changes in the TNM Staging System for Breast Cancer*. Am Soc Clin Oncol Educ Book, 2018. **38**: p. 457-467.
55. Zhu, H., Dogan, B.E. *American Joint Committee on Cancer's Staging System for Breast Cancer, Eighth Edition: Summary for Clinicians*. Eur J Breast Health, 2021. **17**(3): p. 234-238.
56. C.C. Parker, S.D., K.I. Bland, K.K. Hunt, *The Breast*, in *Schwartz's Principles of Surgery*, D.K.A. F.C. Brunickardi, T.H. Billiar, D.L. Dunn, J.G. Hunter, L.S. Kao, J.B. Matthews, R.E. Pollock, Editor. 2019. p. 561-562, 576-577.
57. van Dooijeweert, C., van Diest, P.J., Ellis, I.O. *Grading of invasive breast carcinoma: the way forward*. Virchows Arch, 2022. **480**(1): p. 33-43.

58. McDonald, E.S., ve Ark. *Clinical Diagnosis and Management of Breast Cancer*. J Nucl Med, 2016. **57 Suppl 1**: p. 9S-16S.
59. Ren, W., ve Ark. *Global guidelines for breast cancer screening: A systematic review*. Breast, 2022. **64**: p. 85-99.
60. Matsen, C.B., Neumayer, L.A. *Breast Cancer*. JAMA Surgery, 2013. **148**(10): p. 971.
61. Ben-Dror, J., M. Shalamov, Sonnenblick, A. *The History of Early Breast Cancer Treatment*. Genes (Basel), 2022. **13**(6).
62. Schwartz, G.F., ve Ark. *Consensus conference on breast conservation, Milan, Italy, April 28-May 1, 2005*. Breast J, 2006. **12**(4): p. 398-407.
63. Xing, L., ve Ark. *Advances in the surgical treatment of breast cancer*. Chin Clin Oncol, 2016. **5**(3): p. 34.
64. Rosenkranz, K.M., ve Ark. *The Feasibility of Breast-Conserving Surgery for Multiple Ipsilateral Breast Cancer: An Initial Report from ACOSOG Z11102 (Alliance) Trial*. Ann Surg Oncol, 2018. **25**(10): p. 2858-2866.
65. Fajdic, J., ve Ark. *Criteria and procedures for breast conserving surgery*. Acta Inform Med, 2013. **21**(1): p. 16-9.
66. Kolben, T., ve Ark. *Surgical management of ipsilateral breast tumor recurrence*. Int J Surg, 2015. **23**(Pt A): p. 141-6.
67. Black, D.M., K.K. Hunt, Mittendorf, E.A. *Long term outcomes reporting the safety of breast conserving therapy compared to mastectomy: 20-year results of EORTC 10801*. Gland Surg, 2013. **2**(3): p. 120-3.
68. Kim, H., ve Ark. *Survival of Breast-Conserving Surgery Plus Radiotherapy versus Total Mastectomy in Early Breast Cancer*. Ann Surg Oncol, 2021. **28**(9): p. 5039-5047.
69. Osborne, M.P., Borgen, P.I. *Role of mastectomy in breast cancer*. Surg Clin North Am, 1990. **70**(5): p. 1023-46.
70. Margolese, R.G., *Surgical considerations for invasive breast cancer*. Surg Clin North Am, 1999. **79**(5): p. 1031-46.

71. Nakanishi, C., ve Ark. [*Current indications for mastectomy in patients with breast cancer*]. Nihon Geka Gakkai Zasshi, 2002. **103**(11): p. 821-4.
72. Kurtz, J.M., ve Ark. *Breast-conserving therapy for macroscopically multiple cancers*. Ann Surg, 1990. **212**(1): p. 38-44.
73. Giuliano, A.E., ve Ark. *Effect of Axillary Dissection vs No Axillary Dissection on 10-Year Overall Survival Among Women With Invasive Breast Cancer and Sentinel Node Metastasis: The ACOSOG Z0011 (Alliance) Randomized Clinical Trial*. Jama, 2017. **318**(10): p. 918-926.
74. Hunt, K.K., ve Ark. *Sentinel lymph node surgery after neoadjuvant chemotherapy is accurate and reduces the need for axillary dissection in breast cancer patients*. Ann Surg, 2009. **250**(4): p. 558-66.
75. Hennessy, B.T., ve Ark. *Outcome after pathologic complete eradication of cytologically proven breast cancer axillary node metastases following primary chemotherapy*. J Clin Oncol, 2005. **23**(36): p. 9304-11.
76. Manca, G., ve Ark. *Sentinel Lymph Node Biopsy in Breast Cancer: Indications, Contraindications, and Controversies*. Clinical Nuclear Medicine, 2016. **41**(2): p. 126-133.
77. Amersi, F., Giuliano A.E. *Management of the axilla*. Hematol Oncol Clin North Am, 2013. **27**(4): p. 687-702, vii.
78. Wockel, A., ve Ark. *The Screening, Diagnosis, Treatment, and Follow-Up of Breast Cancer*. Dtsch Arztebl Int, 2018. **115**(18): p. 316-323.
79. Mauri, D., N. Pavlidis, Ioannidis, J.P. *Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis*. J Natl Cancer Inst, 2005. **97**(3): p. 188-94.
80. Jagannathan-Bogdan, M., Zon, L.I. *Hematopoiesis*. Development, 2013. **140**(12): p. 2463-7.
81. Medvinsky, A., S. Rybtsov, Taoudi, S. *Embryonic origin of the adult hematopoietic system: advances and questions*. Development, 2011. **138**(6): p. 1017-31.

82. Fernandez, K.S., de Alarcon, P.A. *Development of the hematopoietic system and disorders of hematopoiesis that present during infancy and early childhood*. *Pediatr Clin North Am*, 2013. **60**(6): p. 1273-89.
83. Ramaiah, L., D.I. Bounous, Elmore, S.A. *Chapter 50 - Hematopoietic System*, in *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology (Third Edition)*, W.M. Haschek, C.G. Rousseaux, and M.A. Wallig, Editors. 2013, Academic Press: Boston. p. 1863-1933.
84. Raza, Y., H. Salman, Luberto, C. *Sphingolipids in Hematopoiesis: Exploring Their Role in Lineage Commitment*. *Cells*, 2021. **10**(10).
85. Kay, A.B., *The early history of the eosinophil*. *Clin Exp Allergy*, 2015. **45**(3): p. 575-82.
86. Wen, T., Rothenberg, M.E. *The Regulatory Function of Eosinophils*. *Microbiol Spectr*, 2016. **4**(5).
87. Aoki, A., ve Ark. *Eosinophils: Cells known for over 140 years with broad and new functions*. *Allergology International*, 2021. **70**(1): p. 3-8.
88. Gigon, L., ve Ark. *Eosinophils from A to Z*. *Allergy*, 2023. **78**(7): p. 1810-1846.
89. Bettigole, S.E., ve Ark. *The transcription factor XBP1 is selectively required for eosinophil differentiation*. *Nat Immunol*, 2015. **16**(8): p. 829-37.
90. Wong, C.K., ve Ark. *Intracellular signaling mechanisms regulating toll-like receptor-mediated activation of eosinophils*. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007. **37**(1): p. 85-96.
91. Lacy, P., H.F. Rosenberg, Walsh, G.M. *Molecular Biology of Eosinophils: Introduction*. *Methods Mol Biol*, 2021. **2241**: p. 1-14.
92. Liao, W., ve Ark. *The Eosinophil in Health and Disease: from Bench to Bedside and Back*. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2016. **50**(2): p. 125-39.
93. Mattei, F., ve Ark. *Eosinophils in the Tumor Microenvironment*, in *Tumor Microenvironment: Hematopoietic Cells – Part B*, A. Birbrair, Editor. 2020, Springer International Publishing: Cham. p. 1-28.
94. Bochner, B.S. *Systemic activation of basophils and eosinophils: markers and consequences*. *J Allergy Clin Immunol*, 2000. **106**(5 Suppl): p. S292-302.

95. Wang, H.,Rudd,C.E. *SKAP-55, SKAP-55-related and ADAP adaptors modulate integrin-mediated immune-cell adhesion*. Trends Cell Biol, 2008. **18**(10): p. 486-93.
96. Forbes, E., ve Ark. *ICAM-1-dependent pathways regulate colonic eosinophilic inflammation*. J Leukoc Biol, 2006. **80**(2): p. 330-41.
97. Metcalfe, D.D., ve Ark. *Biomarkers of the involvement of mast cells, basophils and eosinophils in asthma and allergic diseases*. World Allergy Organ J, 2016. **9**: p. 7.
98. Gong, L., Wilhelm,R.S. *CCR3 antagonists: a survey of the patent literature*. Expert Opin Ther Pat, 2009. **19**(8): p. 1109-32.
99. Wechsler, M.E., ve Ark. *Novel targeted therapies for eosinophilic disorders*. J Allergy Clin Immunol, 2012. **130**(3): p. 563-71.
100. Zeck-Kapp, G., W. Czech,Kapp,A. *TNF alpha-induced activation of eosinophil oxidative metabolism and morphology--comparison with IL-5*. Exp Dermatol, 1994. **3**(4): p. 176-88.
101. Kvarnhammar, A.M.,Cardell,L.O. *Pattern-recognition receptors in human eosinophils*. Immunology, 2012. **136**(1): p. 11-20.
102. Nagase, H., ve Ark. *Expression and function of Toll-like receptors in eosinophils: activation by Toll-like receptor 7 ligand*. J Immunol, 2003. **171**(8): p. 3977-82.
103. Koenderman, L., ve Ark. *Characteristics of CR3-mediated aggregation in human eosinophils: effect of priming by platelet-activating factor*. J Allergy Clin Immunol, 1991. **87**(5): p. 947-54.
104. Dallaire, M.J., ve Ark. *Endothelial cells modulate eosinophil surface markers and mediator release*. Eur Respir J, 2003. **21**(6): p. 918-24.
105. Grisar-Tal, S., ve Ark. *A new dawn for eosinophils in the tumour microenvironment*. Nat Rev Cancer, 2020. **20**(10): p. 594-607.
106. Reinbach, G. *Uber das Verhalten der Lekocyten bei malignen Tumoren*. Arch. f. klin. Chir., 1983. **46**: p. 486-562.

107. Onesti, C.E., ve Ark. *Blood eosinophilic relative count is prognostic for breast cancer and associated with the presence of tumor at diagnosis and at time of relapse.* Oncoimmunology, 2020. **9**(1): p. 1761176.
108. Varricchi, G., ve Ark. *Eosinophils: The unsung heroes in cancer?* Oncoimmunology, 2018. **7**(2): p. e1393134.
109. Jain, M., ve Ark. *Assessment of tissue eosinophilia as a prognosticator in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma-an image analysis study.* Patholog Res Int, 2014. **2014**: p. 507512.
110. Xie, F., ve Ark. *The infiltration and functional regulation of eosinophils induced by TSLP promote the proliferation of cervical cancer cell.* Cancer Lett, 2015. **364**(2): p. 106-17.
111. Zaynagetdinov, R., ve Ark. *Interleukin-5 facilitates lung metastasis by modulating the immune microenvironment.* Cancer Res, 2015. **75**(8): p. 1624-1634.
112. Hirai, H., ve Ark. *CCR1-mediated accumulation of myeloid cells in the liver microenvironment promoting mouse colon cancer metastasis.* Clin Exp Metastasis, 2014. **31**(8): p. 977-89.
113. Furbert-Harris, P.M., ve Ark. *Activated eosinophils upregulate the metastasis suppressor molecule E-cadherin on prostate tumor cells.* Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2003. **49**(7): p. 1009-16.
114. Gatault, S., ve Ark. *IL-18 Is Involved in Eosinophil-Mediated Tumoricidal Activity against a Colon Carcinoma Cell Line by Upregulating LFA-1 and ICAM-1.* J Immunol, 2015. **195**(5): p. 2483-92.
115. Lucarini, V., ve Ark. *IL-33 restricts tumor growth and inhibits pulmonary metastasis in melanoma-bearing mice through eosinophils.* Oncoimmunology, 2017. **6**(6): p. e1317420.
116. Qi, L., ve Ark. *Interleukin-33 activates and recruits natural killer cells to inhibit pulmonary metastatic cancer development.* Int J Cancer, 2020. **146**(5): p. 1421-1434.

117. Gatault, S., ve Ark. *Involvement of eosinophils in the anti-tumor response.* Cancer Immunol Immunother, 2012. **61**(9): p. 1527-34.
118. Reichman, H., D. Karo-Atar, Munitz, A. *Emerging Roles for Eosinophils in the Tumor Microenvironment.* Trends Cancer, 2016. **2**(11): p. 664-675.
119. Sakkal, S., ve Ark. *Eosinophils in Cancer: Favourable or Unfavourable?* Curr Med Chem, 2016. **23**(7): p. 650-66.
120. Zheng, X., ve Ark. *CTLA4 blockade promotes vessel normalization in breast tumors via the accumulation of eosinophils.* Int J Cancer, 2020. **146**(6): p. 1730-1740.
121. Ali, H.R., ve Ark. *Patterns of Immune Infiltration in Breast Cancer and Their Clinical Implications: A Gene-Expression-Based Retrospective Study.* PLoS Med, 2016. **13**(12): p. e1002194.
122. Chouliaras, K., ve Ark. *Prevalence and clinical relevance of tumor-associated tissue eosinophilia (TATE) in breast cancer.* Surgery, 2021. **169**(5): p. 1234-1239.
123. Grisar-Tal, S., ve Ark. *Primary tumors from mucosal barrier organs drive unique eosinophil infiltration patterns and clinical associations.* Oncoimmunology, 2020. **10**(1): p. 1859732.
124. Hollande, C., ve Ark. *Inhibition of the dipeptidyl peptidase DPP4 (CD26) reveals IL-33-dependent eosinophil-mediated control of tumor growth.* Nat Immunol, 2019. **20**(3): p. 257-264.
125. Gunduz, S., ve Ark. *Factors affecting disease-free survival in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer who receive adjuvant trastuzumab.* Mol Clin Oncol, 2015. **3**(5): p. 1109-1112.
126. Ownby, H.E., ve Ark. *Peripheral lymphocyte and eosinophil counts as indicators of prognosis in primary breast cancer.* Cancer, 1983. **52**(1): p. 126-30.
127. Zenan, H., ve Ark. *Clinical prognostic evaluation of immunocytes in different molecular subtypes of breast cancer.* J Cell Physiol, 2019. **234**(11): p. 20584-20602.

128. Dehqanzada, Z.A., ve Ark. *Assessing serum cytokine profiles in breast cancer patients receiving a HER2/neu vaccine using Luminex technology*. *Oncol Rep*, 2007. **17**(3): p. 687-94.
129. Konig, A., ve Ark. *Determination of Interleukin-4, -5, -6, -8 and -13 in Serum of Patients with Breast Cancer Before Treatment and its Correlation to Circulating Tumor Cells*. *Anticancer Res*, 2016. **36**(6): p. 3123-30.
130. Galluzzi, L., Rudqvist, N.P. *Preface: More than two decades of modern tumor immunology*. *Methods Enzymol*, 2020. **631**: p. xxiii-xlii.
131. Kumar, A.R., ve Ark. *Harnessing the immune system against cancer: current immunotherapy approaches and therapeutic targets*. *Mol Biol Rep*, 2021. **48**(12): p. 8075-8095.
132. Abbott, M., Ustoyev, Y. *Cancer and the Immune System: The History and Background of Immunotherapy*. *Semin Oncol Nurs*, 2019. **35**(5): p. 150923.
133. Lasek, W. *Cancer immunoediting hypothesis: history, clinical implications and controversies*. *Cent Eur J Immunol*, 2022. **47**(2): p. 168-174.
134. Wu, T., Dai, Y. *Tumor microenvironment and therapeutic response*. *Cancer Lett*, 2017. **387**: p. 61-68.
135. Hinshaw, D.C., Shevde, L.A., *The Tumor Microenvironment Innately Modulates Cancer Progression*. *Cancer Res*, 2019. **79**(18): p. 4557-4566.
136. Fukumura, D., ve Ark. *Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells*. *Cell*, 1998. **94**(6): p. 715-25.
137. Glabman, R.A., P.L. Choyke, Sato, N. *Cancer-Associated Fibroblasts: Tumorigenicity and Targeting for Cancer Therapy*. *Cancers (Basel)*, 2022. **14**(16).
138. Orimo, A., ve Ark. *Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion*. *Cell*, 2005. **121**(3): p. 335-48.
139. Rasanen, K., Vaheri, A. *Activation of fibroblasts in cancer stroma*. *Exp Cell Res*, 2010. **316**(17): p. 2713-22.

140. Qian, B.Z.,Pollard,J.W. *Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis*. Cell, 2010. **141**(1): p. 39-51.
141. Gabrilovich, D.I., S. Ostrand-Rosenberg,Bronte,V. *Coordinated regulation of myeloid cells by tumours*. Nature Reviews Immunology, 2012. **12**(4): p. 253-268.
142. Naschberger, E., ve Ark. *Isolation of endothelial cells from human tumors*. Methods Mol Biol, 2011. **731**: p. 209-18.
143. Yao, X.,Zeng,Y. *Tumour associated endothelial cells: origin, characteristics and role in metastasis and anti-angiogenic resistance*. Front Physiol, 2023. **14**: p. 1199225.
144. Dudley, A.C. *Tumor endothelial cells*. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012. **2**(3): p. a006536.
145. Griffioen, A.W., ve Ark. *Tumor angiogenesis is accompanied by a decreased inflammatory response of tumor-associated endothelium*. Blood, 1996. **88**(2): p. 667-73.
146. Arneth, B. *Tumor Microenvironment*. Medicina (Kaunas), 2019. **56**(1).
147. Brassart-Pasco, S., ve Ark. *Tumor Microenvironment: Extracellular Matrix Alterations Influence Tumor Progression*. Front Oncol, 2020. **10**: p. 397.
148. Coussens, L.M,Werb,Z. *Inflammation and cancer*. Nature, 2002. **420**(6917): p. 860-7.
149. Singh, N., ve Ark. *Inflammation and cancer*. Ann Afr Med, 2019. **18**(3): p. 121-126.
150. Zhao, H., ve Ark. *Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention*. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2021. **6**(1).
151. Liu, X., ve Ark. *Inflammation and cancer: paradoxical roles in tumorigenesis and implications in immunotherapies*. Genes Dis, 2023. **10**(1): p. 151-164.
152. Ben-Baruch, A. *Inflammation-associated immune suppression in cancer: the roles played by cytokines, chemokines and additional mediators*. Semin Cancer Biol, 2006. **16**(1): p. 38-52.

153. Fernandes, J.V., ve Ark. *The role of the mediators of inflammation in cancer development*. Pathol Oncol Res, 2015. **21**(3): p. 527-34.
154. Allavena, P., ve Ark. *Chemokines in cancer related inflammation*. Exp Cell Res, 2011. **317**(5): p. 664-73.
155. Schauer, I.G., ve Ark. *Interleukin-1 β promotes ovarian tumorigenesis through a p53/NF- κ B-mediated inflammatory response in stromal fibroblasts*. Neoplasia, 2013. **15**(4): p. 409-20.
156. Hussain, S.P., L.J. Hofseth, Harris, C.C. *Radical causes of cancer*. Nat Rev Cancer, 2003. **3**(4): p. 276-85.
157. Luo, J.L., ve Ark. *Inhibition of NF-kappaB in cancer cells converts inflammation- induced tumor growth mediated by TNFalpha to TRAIL-mediated tumor regression*. Cancer Cell, 2004. **6**(3): p. 297-305.
158. Chen, W., Konkel, J.E. *TGF-beta and 'adaptive' Foxp3(+) regulatory T cells*. J Mol Cell Biol, 2010. **2**(1): p. 30-6.
159. Guo, Y., ve Ark. *Interleukin-6 signaling pathway in targeted therapy for cancer*. Cancer Treat Rev, 2012. **38**(7): p. 904-10.
160. Mizrahi, O., ve Ark. *Quantitative Flow Cytometry: Concerns and Recommendations in Clinic and Research*. Cytometry Part B: Clinical Cytometry, 2018. **94**(2): p. 211-218.
161. Delyon, J., ve Ark. *Experience in daily practice with ipilimumab for the treatment of patients with metastatic melanoma: an early increase in lymphocyte and eosinophil counts is associated with improved survival*. Ann Oncol, 2013. **24**(6): p. 1697-703.
162. Sibille, A., ve Ark. *Clinical benefit to programmed death-1 inhibition for non-small-cell lung cancer is associated with higher blood eosinophil levels*. Acta Oncol, 2020. **59**(3): p. 257-259.
163. Llano-León, M., ve Ark. *Effect of neoadjuvant chemotherapy on tumor immune infiltration in breast cancer patients: Systematic review and meta-analysis*. PLOS ONE, 2023. **18**(4): p. e0277714.

164. Bouzid, M. *Waterborne parasites | Detection of Food- and Waterborne Parasites: Conventional Methods and Recent Developments*, in *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*, C.A. Batt and M.L. Tortorello, Editors. 2014, Academic Press: Oxford. p. 773-781.
165. Fang, J., ve Ark. *Prognostic value of immune checkpoint molecules in breast cancer*. *Biosci Rep*, 2020. **40**(7).
166. Aksu, O.B.,Sengul,S. *Immune Checkpoints and Inhibitors/Immun Denetim Noktaları ve Inhibitorleri*. *Journal of Ankara University Faculty of Medicine*, 2019. **72**: p. 262+.
167. Henriques, B., F. Mendes,Martins,D. *Immunotherapy in Breast Cancer: When, How, and What Challenges?* *Biomedicines*, 2021. **9**(11).
168. Li, J., ve Ark. *The expression of costimulatory molecules CD80 and CD86 in human carcinoma cell lines: its regulation by interferon γ and interleukin-10*. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 1996. **43**(4): p. 213-219.
169. Sato, T., ve Ark. *Immunolocalization of CD80 and CD86 in Non-Small Cell Lung Carcinoma: CD80 as a Potent Prognostic Factor*. *Acta Histochem Cytochem*, 2022. **55**(1): p. 25-35.
170. Zhang, Q., ve Ark. *Molecular and Clinical Characterization of CD80 Expression via Large-Scale Analysis in Breast Cancer*. *Front Pharmacol*, 2022. **13**: p. 869877.
171. Li, Y., W. Bai, Zhang,L. *The Overexpression of CD80 and ISG15 Are Associated with the Progression and Metastasis of Breast Cancer by a Meta-Analysis Integrating Three Microarray Datasets*. *Pathol Oncol Res*, 2020. **26**(1): p. 443-452.
172. Zhang, Q., ve Ark. *CD86 Is Associated with Immune Infiltration and Immunotherapy Signatures in AML and Promotes Its Progression*. *Journal of Oncology*, 2023. **2023**: p. 9988405.
173. Talaat, I., N. Elemam,Abdullah,H. *CD68, CD86 and CD163 Expression Profile in Breast Cancer Molecular Subtypes*. *The FASEB Journal*, 2022. **36**.

174. Sousa, S., ve Ark. *Human breast cancer cells educate macrophages toward the M2 activation status*. Breast Cancer Research, 2015. **17**(1): p. 101.
175. Shi, H.-Z. *Eosinophils function as antigen-presenting cells*. Journal of leukocyte biology, 2004. **76**: p. 520-7.
176. Woerly, G., ve Ark. *Expression of CD28 and CD86 by human eosinophils and role in the secretion of type 1 cytokines (interleukin 2 and interferon gamma): inhibition by immunoglobulin a complexes*. J Exp Med, 1999. **190**(4): p. 487-95.
177. Sansom, D.M., C.N. Manzotti,Zheng,Y. *What's the difference between CD80 and CD86?* Trends Immunol, 2003. **24**(6): p. 314-9.
178. Borriello, F., ve Ark. *B7-1 and B7-2 have overlapping, critical roles in immunoglobulin class switching and germinal center formation*. Immunity, 1997. **6**(3): p. 303-13.
179. Collins, A.V., ve Ark. *The interaction properties of costimulatory molecules revisited*. Immunity, 2002. **17**(2): p. 201-10.
180. Kanda, A., ve Ark. *The multiple functions and subpopulations of eosinophils in tissues under steady-state and pathological conditions*. Allergy International, 2021. **70**(1): p. 9-18.
181. Gurtner, A., ve Ark. *Active eosinophils regulate host defence and immune responses in colitis*. Nature, 2023. **615**(7950): p. 151-157.