

## الدور الإنذاري للخلايا اللمفاوية التائية CD8<sup>+</sup> و CD4<sup>+</sup> المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبي بمراحله المبكرة

د. يانا حسن \*

د. نادر عبد الله \*\*

د. زهير الشهابي \*\*\*

### □ ملخص

**الخلفية:** أثبتت أدلة دامغة القيمة الإنذارية للخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs)، وخاصة في سرطان الثدي ثلاثي السلبي (TNBC). ومع ذلك، لم يُجرَ سوى عددٌ محدودٌ من الدراسات التي بحثت في أهمية مجموعات فرعية من الخلايا التائية في TILs.

**الهدف:** هدفت هذه الدراسة إلى التحقيق في القيمة الإنذارية للعلامات المناعية، بما في ذلك الخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs) السدوية، والخلايا التائية CD8<sup>+</sup>، والخلايا التائية CD4<sup>+</sup> في سرطان الثدي ثلاثي السلبي غير النقلي.

**المواد والطرائق:** تمت مراجعة 109 مريضات مصابات بـ TNBC من المرحلة الأولى إلى الثالثة، ممن تلقين العلاج الكيميائي المساعد القائم على الأنتراسيكلين-التاكسان في مستشفى اللاذقية الجامعي، اللاذقية، سوريا بين عامي 2020-2024. قُيِّمت كثافة الخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs) السدوية، بالإضافة إلى وجود الخلايا التائية السدوية CD8<sup>+</sup> و CD4<sup>+</sup> باستخدام الهيماتوكسيلين والإيوزين والتلوينات الكيميائية النسيجية المناعية. حُلَّت البقايا الخالية من النكس لمدة 3 سنوات باستخدام نماذج كابلان-ماير وانحدار كوكس (COX).

**النتائج:** لوحظت كثافة عالية من TILs السدوية (≤30%) لدى 59.6% من المريضات وارتبطت بعمر أصغر (P=0.009)، وأورام أصغر حجماً (P=0.026)، وغياب إصابة العقد اللمفاوية (P=0.017). أظهرت المريضات ذوات الكثافة العالية من TILs السدوية تحسناً كبيراً

الدور الإنذاري للخلايا اللمفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبيّة  
بمراحله المبكرة

---

في البقيا الخالية من النكس لمدة 3 سنوات (72.3% مقابل 40.9%،  $P=0.002$ ). ارتبط ارتفاع CD8+ بانخفاض معدل النكس (نسبة الخطر: 3.38،  $P<0.001$ )، بينما لم تُظهر CD4+ أهمية إنذارية ( $P=0.41$ ). أكد التحليل متعدد المتغيرات أن TILs (نسبة الخطر: 2.05) و CD8+ (نسبة الخطر: 3.12) كانت مؤشرات إنذارية مُستقلة إلى جانب حالة العقد اللمفاوية (N3: نسبة الخطر: 4.91)، وحجم الورم (T3-T4: نسبة الخطر: 1.72)، ودرجة الورم (G3: نسبة الخطر: 2.18).

الاستنتاج: بالإضافة إلى الخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs)، فإن إدراج الخلايا التائية CD8+ قد يؤدي إلى تحسين النموذج الإنذاري لسرطان الثدي ثلاثي السلبيّة غير النقلي بشكل أكبر بما يتجاوز تضمين العوامل التقليدية وحدها.

الكلمات المفتاحية: سرطان الثدي ثلاثي السلبيّة (TNBC)، الخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs)، العلاج الكيميائي المساعد، الخلايا CD8+، الخلايا CD4+.

---

\* طالبة دكتوراه - قسم الأورام، كلية الطب البشري، جامعة اللاذقية، اللاذقية، سوريا.

[yana.hasan@latakia-univ.edu.sy](mailto:yana.hasan@latakia-univ.edu.sy)

\*\* أستاذ - قسم الأورام، كلية الطب البشري، جامعة اللاذقية، اللاذقية، سوريا.

\*\*\* أستاذ - قسم التشريح المرضي، كلية الطب البشري، جامعة اللاذقية، اللاذقية، سوريا.

## The Prognostic Role of Tumor–infiltrating CD8 and CD4 T Lymphocytes in Early Stage Triple Negative Breast Cancer

Dr. Yana Hasan \*

Dr. Nader Abdullah \*\*

Dr. Zuheir Alshehabi \*\*\*

### Abstract

**Background:** Accumulating evidence supports the prognostic significance of tumor–infiltrating lymphocytes (TILs), particularly in triple–negative breast cancer (TNBC). However, the role of specific T–cell subsets within TILs remains insufficiently explored.

**Aim:** This study aimed to investigate the prognostic value of immune markers, including stromal TILs (sTILs), CD8<sup>+</sup> T cells, and CD4<sup>+</sup> T cells in non–metastatic TNBC.

**Materials and methods:** In this prospective cohort study, we analyzed 109 patients with stage I–III TNBC who received adjuvant anthracycline–taxane chemotherapy at Lattakia University Hospital, Syria( 2020–2024). Stromal TIL density, CD8<sup>+</sup>, and CD4<sup>+</sup> infiltration were assessed using hematoxylin–eosin staining and immunohistochemistry. Three–year recurrence–free survival (RFS) was analyzed using Kaplan–Meier estimates and Cox proportional hazards models.

**Results:** High sTILs ( $\geq 30\%$ ) were observed in 59.6% of patients and correlated with younger age ( $P=0.009$ ), smaller tumor size ( $P=0.026$ ), and node–negative disease ( $P=0.017$ ). Patients with high TILs exhibited significantly better 3–year RFS (72.3% vs. 40.9%,  $P=0.002$ ). Elevated CD8<sup>+</sup> T–cell infiltration was associated with reduced recurrence (hazard ratio [HR]: 3.38,  $P<0.001$ ), while CD4<sup>+</sup> T–cell infiltration showed no prognostic relevance ( $P=0.41$ ). Multivariable analysis confirmed TILs (HR: 2.05) and CD8<sup>+</sup> (HR: 3.12) as independent predictors, alongside nodal involvement (N3: HR: 4.91), large tumor size (T3–T4: HR: 1.72), and high tumor grade (G3: HR: 2.18).

**Conclusion:** Beyond traditional clinicopathological factors, incorporating CD8<sup>+</sup> T–cell density alongside TILs may enhance prognostic stratification in non–metastatic TNBC, offering potential clinical utility in risk assessment

**Keywords:** Triple–negative breast cancer (TNBC), tumor–infiltrating lymphocytes (TILs), adjuvant chemotherapy, CD8<sup>+</sup> T cells, CD4<sup>+</sup> T cells.

---

\* PHD Student -Department of Oncology, Faculty of Medicine,  
Lattakia University, Lattakia, Syria [yana.hasan@latakia-univ.edu.sy](mailto:yana.hasan@latakia-univ.edu.sy)

\*\* Professor -Department of Oncology, Faculty of Medicine, Lattakia  
University, Lattakia, Syria.

\*\*\* Professor -Department of Pathology, Faculty of Medicine,  
Lattakia University, Lattakia, Syria.

### مقدّمة:

سرطان الثدي هو أكثر أنواع السرطان شيوعاً بين النساء في جميع أنحاء العالم. تُقدّر الوكالة الدولية لأبحاث السرطان أنّ معدّل الإصابة بسرطان الثدي سيزداد بأكثر من 40% وأنّ معدّل الوفيات سيزداد بأكثر من 50% بحلول عام 2040 [1]. يُمكن تصنيف سرطان الثدي إلى أربعة أنواع فرعيّة: Luminal A، Luminal B، والمُخصّب بـ HER2، وثلاثي السّلبية [2]. من بينها، يُعدّ سرطان الثدي ثلاثي السّلبية (triple-negative breast cancer) (TNBC) ذو النتائج الكيماويّة المناعيّة النسيجيّة السّلبية لمُستقبلات الإستروجين ومُستقبلات البروجسترون وHER2 في أنسجة سرطان الثدي مرضاً غير متجانسٍ مع إنذارٍ سيئٍ للغاية [3]. يُمثّل TNBC 15-20% من سرطانات الثدي [4]. نظراً إلى نمطه الظّاهري الفريد، يتمّ علاج سرطان الثدي ثلاثي السّلبية بشكلٍ أساسيٍّ بالعلاج الكيماوي السّام للخلايا [5].

تحتلّ البيئة الدّقيقة المناعيّة للورم باهتمامٍ كبيرٍ في نطاقِ الواسمات الحيويّة التنبؤيّة والإنداريّة. بوصفها مُلتقى تفاعلات الورم-المُضيف، فإنّ لهذه البيئة تأثيراً بالغاً في تكوّن الورم (tumorigenesis)، ليس فقط من حيثُ بدء السرطان وتقدّمه، ولكن أيضاً من حيثُ الاستجابة للتّدخلات العلاجيّة [6]. ومن بين العناصر التي استأثرت باهتمامٍ بالغٍ في السّنوات الأخيرة الخلايا اللّمفاويّة المُتسلّلة للورم (tumor-infiltrating lymphocytes) (TILs)، التي تُمثّل خطّ الدّفاع الأوّل للجهاز المناعي داخل الورم. وقد قدّر تنوع وكثافة TILs كمؤشّر للاستجابة المناعيّة، حيثُ أكّدت العديد من الدّراسات تأثير هذه الخلايا على إنذار السرطان [7].

تُمثّل الخلايا التّائيّة السّامّة للخلايا CD8+ المجموعة المهيمنة ضمن TILs، القادرة على التّعريف على الخلايا السرطانيّة ومُهاجمتها من خلال التّعريف على مستضداتٍ مُحدّدة تُظهر على جزيئات مُعدّد التوافق النسيجي الرئيسي من الصّنف الأوّل (MHC class I). بمجرد تنشيطها، تُطلق هذه الخلايا التّائيّة CD8+ إنزيماتٍ حائلة للبروتين وحالة للخلايا تُؤدّي إلى موت الخلايا

السرطانية [8]. وتتعرّز الآليات المضادة للسرطان لهذه الخلايا بإفراز إنترفيرون-غاما، الذي يُعزّز تثبيط نمو الخلايا الخبيثة ويحفّز موتها المُبرمج [9].

إن القيمة الإنذارية للخلايا المفاوية التائية CD4+ في سرطان الثدي ثلاثي السلبية مُعقّدة وتعتمد على النمط الظاهري الخاص بها ووظيفتها. يمكن للخلايا المفاوية التائية CD4+ أن تتمايز إلى مجموعات فرعية مختلفة من الخلايا التائية المساعدة (Th1، Th2، Th17)، والخلايا التائية التنظيمية (Treg)، والخلايا التائية الجريبية، ولكل منها أدوار مميزة [9]. تساعد الخلايا CD4+ في القتل الخلوي الذي تقوم به الخلايا CD8+، مما يسهم بفعالية في الاستجابة المناعية للورم [9]. من ناحية أخرى، يمكن أن تزيد الخلايا التائية التنظيمية (Treg)، والتي تُشكّل 10% من إجمالي الخلايا CD4+ في الدم المحيطي للأفراد الأصحاء، إلى 30-50% داخل آفات الورم، مما يُبطل تنشيط الخلايا CD8+ و CD4+، ويلعب دوراً حاسماً في تثبيط المناعة وتكوين الأوعية الدموية، وقد يُعيق الاستجابة المناعية المضادة للأورام في الجسم. يمكن أن يشمل هذا التراكم الكبير للمجموعات الفرعية من الخلايا التائية التنظيمية (Treg) المثبطة للمناعة تسليلاً عالياً للخلايا FOXP3+ [6]. يمكن لهذه الخلايا التنظيمية FOXP3+ أن تقمع الاستجابات المناعية ضدّ المستضدات الذاتية، وتُعيق المناعة المضادة للأورام، وهي مؤشّر تنبؤي للنتائج السيئة [10]. وقد ثبت أن الارتباط بين الخلايا التائية التنظيمية والخلايا التائية CD8+ المتسللة له أهمية إنذارية وتنبؤية، وذلك حسب موقع وكثافة كل مجموعة فرعية [5].

#### أهمية البحث وأهدافه:

- **الهدف الرئيسي:** تحديد القيمة الإنذارية للخلايا المفاوية المتسللة للورم (TILs) في التنبؤ بحدوث النكس خلال ثلاث سنوات لدى مريضات TNBC اللواتي تلقين العلاج الكيميائي المساعد.

- **الهدفُ الثانويُّ:** تحديدُ القيمةِ الإنذاريةِ لكلِّ من الخلايا اللمفاويةِ التائيةِ  $CD8^+$  و  $CD4^+$  في التنبؤِ بحدوثِ النكسِ خلالَ ثلاثِ سنواتٍ.

مواد وطرائق البحث:

- **مببرات البحث:**

تتمثلُ العواملُ الإنذاريةُ الرئيسيةُ في TNBC بمراحلهِ الباكرةِ في عبءِ الورمِ التَّشريحيِ. وعلى الرُّغمِ من إدراجِ أهميةِ الخلايا اللمفاويةِ المُتسلِّلةِ للورمِ (TILs) كواسمٍ حيويٍّ إنذاريٍّ في العديدِ من المبادئِ التوجيهيةِ الدَّوليةِ لـ TNBC [11] [12]، إلا أنَّ التَّوصيفَ الأكثرَ تفصيلاً للبيئةِ المناعيةِ للورمِ قد يكونُ مفيداً لمزيدٍ من التَّصنيفِ الإنذاريِ. في هذهِ الدَّراسةِ، سعينا إلى تحديدِ القيمةِ الإنذاريةِ لـ TILs والخلايا التائيةِ  $CD8^+$  و  $CD4^+$  في هذا النوعِ الفرعيِ من سرطانِ الثديِ. ستدعمُ هذهِ الأدلَّةُ بقوةً تطبيقَ واسمٍ حيويٍّ جديدٍ في أنظمةِ تحديدِ مرحلةِ سرطانِ الثديِ الإنذاريةِ المُستقبليةِ لسرطانِ الثديِ ثلاثيِ السُّلبيةِ بمراحلهِ الباكرةِ.

- **عيَّنة المرضى وطرائقُ الدَّراسة:**

تصميمُ الدَّراسة: دراسةٌ حشديةٌ تقدِّميةٌ (prospective cohort study).  
العيَّنة: شملتِ الدَّراسةُ 109 من مريضاتِ سرطانِ الثديِ ثلاثيِ السُّلبيةِ غيرِ النَّقائليِ (أي، في المراحلِ I-III) اللواتي خضعنَ لجراحةِ استئصالِ الثديِ وتلقينَ العلاجَ الكيماويَّ المُساعدَ (من دونِ تلقِّيِ أيِّ علاجٍ قبلَ الجراحةِ) في مستشفى اللَّاذقيةِ الجامعيِ بين عامي 2020-2024م وتمَّت متابعتُهُنَّ لمدَّةِ ثلاثِ سنواتٍ على الأقلِّ، وحققنَ الشُّروطَ التالية:

- توفُّرُ عيَّناٍ نسيجيةٍ من الورمِ الأوَّليِ (قبلَ العلاجِ الكيماويِّ) مُتنبَّةٍ بالفورمالين ومغموسةٍ بالبارافين.
- متابعةٌ سريريةٌ لمدَّةِ 3 سنواتٍ على الأقلِّ لتقييمِ البُقايا الخاليةِ من النكسِ.

الدور الإنذاري للخلايا المفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

- توفر بيانات كاملة عن العمر، والخصائص السريرية المرضية للورم.
- الموافقة على الدخول في الدراسة.
- استبعدت المريضات عند وجود أحد المعايير التالية:
  - وجود نقائل بعيدة (المرحلة IV) عند التشخيص.
  - سرطانات الثدي غير TNBC.
  - تلقي علاج كيميائي أو شعاعي قبل الجراحة.
  - وجود قصة سابقة لسرطان آخر.
  - العينات النسيجية غير الكافية أو منخفضة الجودة (تلف النسيج أو عدم وجود مناطق غنية بالورم).
- نقص في البيانات السريرية أو المتابعة (مثل فقدان المتابعة قبل 3 سنوات).
- المريضات غير الراغبات في المشاركة في الدراسة (اللواتي رفضن الموافقة).

جمع البيانات:

جمعت العينات في هذه الدراسة بشكلٍ تقدمي (prospectively) للمريضات اللواتي تمَّ تشخيصهنَّ وعلاجهنَّ أثناء فترة الدراسة بعد أخذ موافقة خطية من المريضة. وُنقَّت البيانات التالية عبر أضايبير المريضات:

- العمر عند تشخيص سرطان الثدي ( $> 50$  سنة،  $\leq 50$  سنة)
- حجم الورم البدئي: (T1-T2، T3-T4)
- إصابة العقد اللمفاوية: (N0، N1، N2)
- درجة الورم: (GI، GII، GIII)
- مرحلة السرطان: (IA، IIA، IIB، IIIA، IIIB، IIIC)

خضعت جميع المريضات لجراحة استئصال الثدي وتلقين العلاج الكيميائي المساعد التالي:  
دوكسوروبيسين (60 مغ/م<sup>2</sup>) + سيكلوفوسفاميد (600 مغ/م<sup>2</sup>) كل 3 أسابيع لـ 4 دورات. ثم إمّا:  
▪ باكليتاكسيل 175 مغ/م<sup>2</sup> كل 3 أسابيع أو بشكل أسبوعي لـ 4 دورات.  
▪ أو (باكليتاكسيل 175 مغ/م<sup>2</sup> + كاربوبلاتين بجرعة مساحة تحت المنحني 6) كل 3 أسابيع لـ 4 دورات.

### قياس TILs السدوية:

تمّ تحديد كمية TILs السدوية في مقاطع الهيماتوكسيلين والأيوزين من خزعات الاستئصال الجراحي قبل بدء العلاج الكيميائي المساعد. وقُيِّمت TILs وفقاً لمعايير مجموعة العمل الدولية للخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (International TILs Working Group) [13]. تمّ تحديد المنطقة السدوية (أي المنطقة التي تشغلها خلايا غير سرطانية) مع استبعاد مواقع الخزعات السابقة، أو مناطق النخر، أو المناطق ذات النكف النسيجي. قُيِّمت مستويات TILs داخل المنطقة السدوية، وبلغت نسبتها من 0% إلى 100% من الأنسجة السدوية. بمعنى آخر تُعرف نسبة TILs السدوية بأنها: (مساحة السدى المحتوية على خلايا لمفاوية/المساحة الكلية للسدى) × 100. ونظراً لعدم تحديد عتبات TILs المثلى فقد اعتمدنا التعريف المُعتمد في الدراسات التي تناولت TILs في سياق العلاج الكيميائي المساعد في تحديد TILs المرتفعة وهي  $\leq 30\%$  [14].

### التلوينات الكيميائية النسيجية المناعية (IHC):

أجريت التلوينات الكيميائية النسيجية المناعية باستخدام الأضداد وحيدة النسيلة التآلية مع ضبط التركيز والزمن حسب توصيات الشركة المُصنعة:

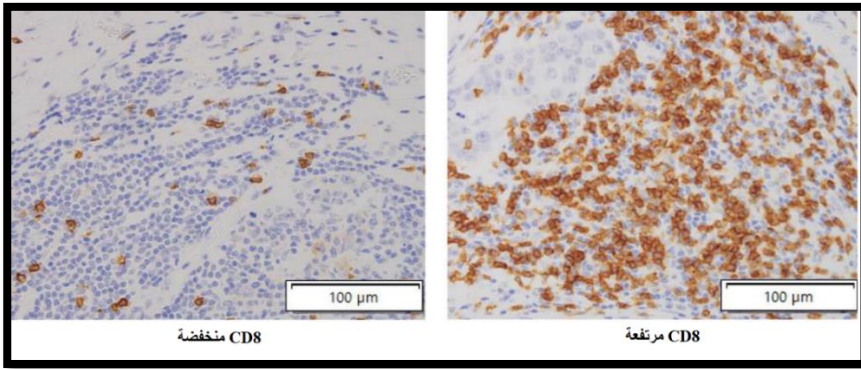
○ CD45 (LCA): (clone:4B11, Wetzlar, Germany Biosystems, UK)

الدور الإنذاري للخلايا المفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

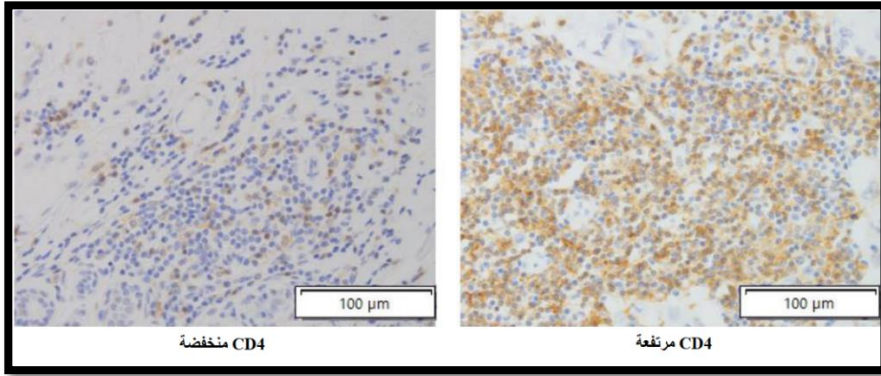
○ CD8 : (clone:4B11, Wetzlar, Germany Biosystems, UK)

○ CD4 : (clone:4B11, Wetzlar, Germany Biosystems, UK)

حُسِبَت أعدادُ الخلايا المفاوية CD4<sup>+</sup> و CD8<sup>+</sup> كعددِ الخلايا الإيجابية/مم<sup>2</sup> في سُدى الورم. رُصدت كُلُّ عَيْنَةٍ بالمجهرِ الضَّوئي مع تكبير 20× أو 40×. واختيرت المناطقُ العشرُ التي تحتوي على أكبرِ عددٍ من الخلايا المتلونة إيجابياً في السُدى. بعدَ ذلك، تمَّ حسابُ عددِ الخلايا الإيجابية لكلِّ مم<sup>2</sup> في هذه المناطق يدوياً. صُنِّفَت الأورام التي تضمُّ عدداً من الخلايا الإيجابية يساوي أو يفوقُ قيمةَ الرِّقم الوسيطِ على أنَّها مُرتفعةٌ، بينما اعتُبرت البقيةُ مُنخفضةً من أجلِ تحليلِ البُقايا الخالية من النَّكسِ (الأشكال 1، 2).



الشكل (1): مقطع بتكبير 400×، IHC يُظهر مستويات مرتفعة ومنخفضة من الخلايا CD8<sup>+</sup>



الشكل (2): مقطع بتكبير  $\times 400$ ، IHC يُظهر مستويات مرتفعة ومنخفضة من الخلايا  $CD4^+$

#### المتابعة والنتائج:

- مدّة المتابعة: ثلاث سنوات من تاريخ انتهاء العلاج الكيميائي.
- الفحوصات الدورية (كل 3-6 أشهر): فحص سريري، تصوير الثدي، تصوير مقطعي/رنين مغناطيسي عند الضرورة.
- تعريف النكس: أي ظهور موضعي، ناحي، أو نقائل بعيدة.
- معدّل البقايا الخالية من النكس لـ 3 سنوات (3 year RFS): نسبة المريضات اللواتي لم يحدث لديهنّ نكس من انتهاء العلاج الكيميائي وحتى 3 سنوات.

#### الدراسة الإحصائية:

جُمعت البيانات على استبانة خاصة لكل مشاركة، وأدخلت على برنامج Microsoft Excel 365، ومن ثمّ صُدّرت لإجراء التّحليل الإحصائي إلى برنامج IBM SPSS النسخة 26. اعتبرت القيمة التنبؤية التي تقل عن 0.05 ( $P \text{ value} < 0.05$ ) مهمة إحصائياً.

الإحصاء الوصفي (Description Statistical): للمتغيرات الفئوية، قمنا بالاعتماد على التكرار، والنسب المئوية، والأشكال البيانية. للمتغيرات المتواصلة، استُخدمت مقاييس النزعة المركزية (المتوسط الحسابي والانحراف المعياري، الوسيط والمدى الربيعي، المجال).

الإحصاء الاستدلالي (Inferential Statistical): بالنسبة لاختبار العلاقات الإحصائية بين الخصائص القاعدية قمنا باستخدام الأساليب الإحصائية التالية:

- ❖ اختبار كاي مربع ( $X^2$ -test): لاختبار الفروق القاعدية في المتغيرات الفئوية بين المجموعات.
- ❖ طريقة كابلان-ماير (Kaplan-Meier Method): لتقدير معدل البقاء الخالية من النكس (RFS) مع فواصل ثقة 95%. اختبار Log-rank للمقارنات الأحادية.
- ❖ انحدار مخاطر كوكس النسبية (Cox Proportional Hazards Regression).

#### النتائج:

بلغ عدد المريضات مع كثافة TILs مرتفعة 65 مريضة (59.6%)، وعدد المريضات مع كثافة TILs منخفضة 44 مريضة (40.4%). أظهرت المريضات ذوات الكثافة المرتفعة من TILs نسباً أعلى بشكلٍ مهمٍ إحصائياً من حيث: العمر الأصغر ( $p=0.009$ )، والأورام البدئية الأصغر حجماً ( $p=0.026$ )، وعدم إصابة العقد المفاوية ( $p=0.017$ )، ودرجة الورم النسيجية العالية ( $p=0.037$ ) مقارنةً بمجموعة الكثافة المنخفضة. بينما لم تُسجل فروق ذات دلالة إحصائية في توزيع المراحل التشريحية ( $p=0.224$ ). يعرض الجدول (1) مقارنةً للخصائص السريرية والورمية والعلاجية للمريضات وفقاً لكثافة TILs.

الجدول (1): الخصائص السريرية والورمية للمريضات وفقاً لكثافة TILs

المتغير	TILs مرتفعة (65 مريضة)	TILs منخفضة (44 مريضة)	X <sup>2</sup> -test	P-value
<b>الفئة العمرية</b>				
> 50 سنة	47 (72.3%)	21 (47.7%)	6.756	<b>0.009</b>
≤ 50 سنة	18 (27.7%)	23 (52.3%)		
<b>حجم الورم البدني (T)</b>				
T1-T2	50 (76.9%)	25 (56.8%)	4.941	<b>0.026</b>
T3-T4	15 (23.1%)	19 (43.2%)		
<b>فئة إصابة العقد اللمفاوية (N)</b>				
N0	27 (41.5%)	12 (27.3%)	10.18	<b>0.017</b>
N1	21 (32.3%)	14 (31.8%)		
N2	7 (10.8%)	15 (34.1%)		
N3	10 (15.3%)	3 (6.8%)		
<b>درجة الورم (G)</b>				
1	14 (21.5%)	19 (43.2%)	6.552	<b>0.037</b>
2	21 (32.3%)	13 (29.5%)		
3	30 (46.2%)	12 (27.3%)		
<b>مرحلة السرطان (stage)</b>				
IA	12 (18.5%)	5 (11.4%)	6.944	0.224
IIA	20 (30.8%)	10 (22.7%)		

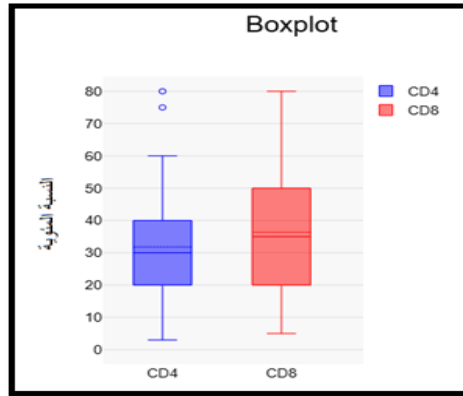
الدور الإنذاري للخلايا المفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

IIB	12 (18.5%)	8 (18.2%)
IIIA	8 (12.3%)	12 (27.3%)
IIIB	2 (3%)	4 (9.1%)
IIIC	11 (16.9%)	5 (11.3%)

يوضّح الجدول (2) والشكل (1) تحليلاً كمياً لـ CD8+ و CD4+ في عينات الورم لمريضات البحث.

الجدول (2): توزيع المكونات الفرعية لـ TILs

المكوّن	المتوسط ± انحراف معياري (%)	الوسيط (المدى الربيعي)	مرتفع ( $\leq$ الوسيط)	مخفض ( $>$ الوسيط)
CD4+	15.2 ± 31.7	30 (20-40)	54 (49.5%)	55 (50.5%)
CD8+	18.3 ± 36.4	35 (20-50)	58 (53.2%)	51 (46.8%)



الشكل (3): توزُّع نسبِ المكوّناتِ الفرعيّةِ لـ TILs

بعدَ متابعةٍ لمُدّةِ ثلاثِ سنوَاتٍ، لوحِظَ حدوثُ النَّكْسِ في 44 حالةً (ما يعادلُ 40.3% من العيّنة). وبالتالي، بلغَ معدّلُ البقيا الخاليةِ من النَّكْسِ لمُدّةِ ثلاثِ سنوَاتٍ بينَ جميعِ المريضاَتِ 59.6% (فاصل ثقة 95%: 49.8-68.8). أمّا عندَ تحليلِ النَّتائِجِ وفقاً لكثافةِ الخلاياِ اللمفاويّةِ المُتسلّلةِ للورمِ (TILs)، فقد سُجّلتْ حالاتُ النَّكْسِ لدى 18 من المريضاَتِ ذواتِ الكثافةِ المُرتفعةِ من TILs (27.7%)، ولدى 26 من المريضاَتِ ذواتِ الكثافةِ المنخفضةِ من TILs (59.1%). يُبيِّنُ الجدولُ (3) العلاقةَ بينَ كثافةِ TILs والمعدّلِ التراكمي للنكس.

الجدول (3): المعدّلُ التراكميُّ لحدوثِ النَّكْسِ وفقاً لكثافةِ TILs

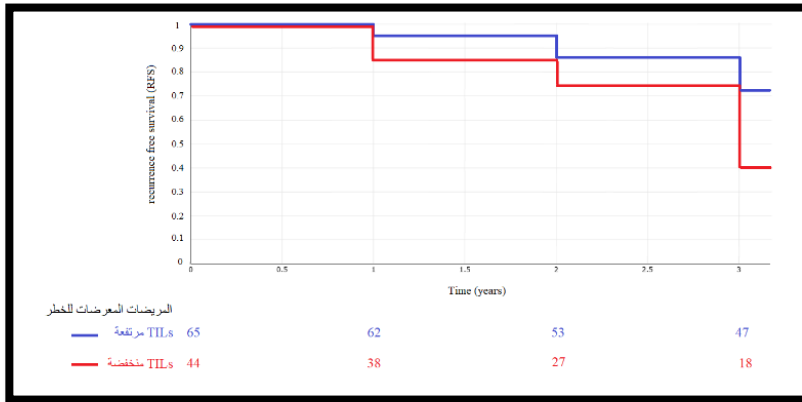
P-value	X <sup>2</sup> -test	TILs منخفضة (44 مريضة)	TILs مرتفعة (65 مريضة)	زمن النَّكْسِ من بدء العلاج
0.09	2.819	6 (13.6%)	3 (4.6%)	بعد سنة
0.139	2.179	11 (25%)	9 (13.8%)	بعد سنتين
0.001	10.74	26 (59.1%)	18 (27.7%)	بعد 3 سنوات

الدور الإنذاري للخلايا المفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

كان معدل حدوث النكس بعد ثلاث سنوات لدى مريضات TNBC ذوات كثافة TILs المنخفضة أعلى بفرق ذي دلالة إحصائية مقارنة بالمريضات ذوات كثافة TILs المرتفعة (P=0.001). كان معدل البقيا الخالية من النكس للمريضات مع كثافة TILs مرتفعة (72.3%) أعلى بفرق مهم إحصائياً مقارنة بالمريضات ذوات كثافة TILs المنخفضة (40.9%) (الجدول 4) (الشكل 2).

الجدول (4): مقارنة معدل البقيا الخالية من النكس لثلاث سنوات وفقاً لكثافة TILs

Log-rank P-value	TILs منخفضة (44 مريضة)	TILs مرتفعة (65 مريضة)	المتغير
0.001	%40.9	%72.3	3-year RFS



الشكل (4): منحنيات كابلان-ماير للبقيا الخالية من النكس (RFS) وفقاً لكثافة TILs

### النتائج وفقاً لـ CD4<sup>+</sup>:

حدث النكس لدى 20 مريضة (37%) من المريضات ذوات كثافة CD4<sup>+</sup> المرتفعة، ولدى 24 مريضة (43.6%) من المريضات ذوات كثافة CD4<sup>+</sup> المنخفضة. يوضّح الجدول (5) العلاقة بين كثافة CD4<sup>+</sup> والمعدل التراكمي للنكس.

الجدول (5): المعدل التراكمي لحدوث النكس وفقاً لكثافة CD4<sup>+</sup>

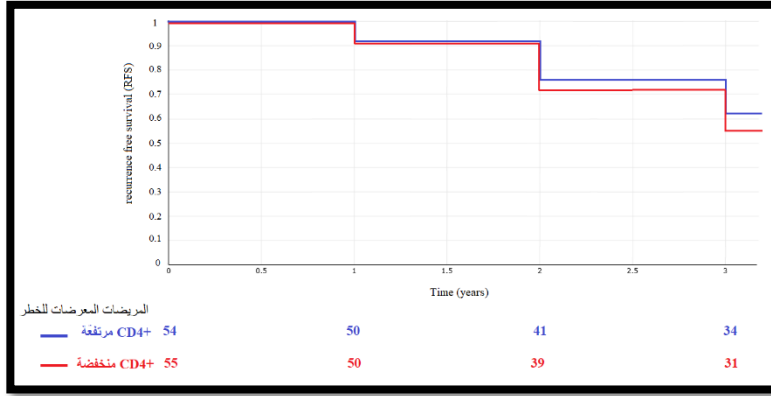
P-value	X <sup>2</sup> -test	CD4 <sup>+</sup> منخفضة (55 مريضة)	CD4 <sup>+</sup> مرتفعة (54 مريضة)	زمن النكس من بدء العلاج
0.749	0.102	5 (9.1%)	4 (7.4%)	بعد سنة
0.553	0.351	16 (29.1%)	13 (24.1%)	بعد سنتين
0.482	0.493	24 (43.6%)	20 (37%)	بعد 3 سنوات

لم يكن هنالك فرق مهم إحصائياً في المعدل التراكمي للنكس بعد سنة (P=0.749) وبعد سنتين (P=0.553)، وبعد ثلاث سنوات (P=0.482) بين مريضات TNBC في مراحله الباكرة ذوات كثافة CD4<sup>+</sup> المنخفضة وذوات كثافة CD4<sup>+</sup> المرتفعة. كذلك لم يكن الفرق ذا دلالة إحصائية في معدل البقيا الخالية من النكس لثلاث سنوات (3-year RFS) (63% مقابل 56.3%) (الجدول 6) و(الشكل 3).

الجدول (6): مقارنة معدل البقيا الخالية من النكس لثلاث سنوات وفقاً لكثافة CD4<sup>+</sup>

Log-rank P-value	CD4 <sup>+</sup> منخفضة (55 مريضة)	CD4 <sup>+</sup> مرتفعة (54 مريضة)	المتغير
0.31	56.3%	63%	3-year RFS

الدور الإنذاري للخلايا المفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة



الشكل (5): منحنيات كابلان-ماير للبقيا الخالية من النكس (RFS) وفقاً لكثافة CD4+

النتائج وفقاً لـ CD8+

حدث النكس لدى 13 مريضة (22.4%) من المريضات ذوات كثافة CD8+ المرتفعة، ولدى 31 مريضة (60.8%) من المريضات ذوات كثافة CD8+ المنخفضة. يوضّح الجدول (7) العلاقة بين كثافة CD8+ والمعدّل التراكمي للنكس.

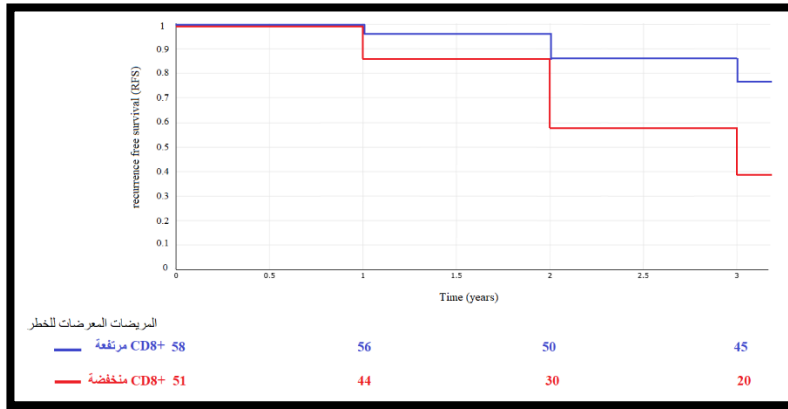
الجدول (7): المعدّل التراكمي لحدوث النكس وفقاً لكثافة CD8+

P-value	X <sup>2</sup> -test	CD8 <sup>+</sup> منخفضة (51 مريضة)	CD8 <sup>+</sup> مرتفعة (58 مريضة)	زمن النكس من بدء العلاج
0.051	3.784	7 (13.7%)	2 (3.4%)	بعد سنة
<b>0.001</b>	10.42	21 (41.2%)	8 (13.8%)	بعد سنتين
<b>0.0001</b>	16.59	31 (60.8%)	13 (22.4%)	بعد 3 سنوات

كان معدّل حدوث النّكس التّراكمي بعدَ سنتين وبعدَ ثلاثِ سنواتٍ في مجموعة مريضاتِ TNBC ذواتِ كثافةِ CD8<sup>+</sup> المنخفضةِ أعلى بفرقٍ مهمٍّ إحصائياً مقارنةً بالمريضاتِ ذواتِ كثافةِ CD8<sup>+</sup> المرتفعةِ (P=0.001) و (P=0.0001)، على التّوالي. كان معدّلُ البقيا الخاليةِ من النّكسِ لمدةِ ثلاثِ سنواتٍ (3-year RFS) للمريضاتِ مع كثافةِ CD8<sup>+</sup> المرتفعةِ (77.6%) أعلى بفرقٍ مهمٍّ إحصائياً مقارنةً بالمريضاتِ ذواتِ كثافةِ CD8<sup>+</sup> المنخفضةِ (39.2%) (الجدول 8) (الشكل 4).

الجدول (8): مقارنة معدّل البقيا الخالية من النّكس لثلاثِ سنواتٍ وفقاً لكثافةِ CD8<sup>+</sup>

المتغير	CD8 <sup>+</sup> مرتفعة	CD8 <sup>+</sup> منخفضة	Log-rank P-value
3-year RFS	77.6%	39.2%	0.008
	(58 مريضة)	(51 مريضة)	



الشكل (6): منحنيات كابلان-ماير للبقيا الخالية من النّكس (RFS) وفقاً لكثافةِ CD8<sup>+</sup>

الدور الإنذاري للخلايا اللمفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

في التحليل أحادي المتغير للعوامل المؤثرة في حدوث النكس (الجدول 9)، كانت العوامل التي زادت من خطر حدوث النكس هي إصابة العقد اللمفاوية (N2 و N3) مقارنة بعدم إصابة العقد اللمفاوية (N0)، والمرحلة التشريحية المتقدمة (IIA-IIIB و IIB-IIIC) مقارنة بالمراحل (IA- IIA)، وحجم الورم البدني الكبير (T3-T4) مقارنة ب (T1-T2)، والدرجة الورمية (G III) مقارنة ب GI، وانخفاض كثافة TILs مقارنة بارتفاع كثافة TILs، وانخفاض كثافة CD8+ مقارنة بارتفاع كثافة CD8+. لم يكن لانخفاض كثافة CD4+ تأثير على حدوث النكس (P=0.41).

من أجل التحديد الدقيق للعوامل المستقلة المؤثرة في البقاء الخالية من النكس، أجرينا تحليل انحدار كوكس (Cox) متعدد المتغيرات شمل جميع المتغيرات ذات الدلالة الإحصائية في التحليل الأحادي (P<0.05). يعرض الجدول (10) النموذج النهائي للتحليل.

الجدول (9): التحليل أحادي المتغير للعوامل الباثولوجية السريرية المؤثرة في حدوث النكس

المتغير	العدد	حالات النكس	معدل 3- year RFS	نسبة الخطر	فاصل ثقة %95	P- value
<b>العمر</b>						
> 50 سنة	68	24	%64.7		فئة مرجعية	
≤ 50 سنة	41	20	%53.6	1.12	1.93-0.65	0.68
<b>حجم الورم البدني (T)</b>						
T1-T2	75	26	%65.3		فئة مرجعية	
T3-T4	34	18	%47.1	1.89	3.18-1.12	0.017
<b>إصابة العقد اللمفاوية (N)</b>						
N0	39	7	%82.1		فئة مرجعية	

0.12	4.7-0.83	1.97	%62.9	13	35	N1
<b>0.007</b>	7.1-1.37	3.12	%45.5	12	22	N2
<b>0.001 &gt;</b>	13.8-2.14	5.44	%7.7	12	13	N3
<b>الدرجة النسيجية (G)</b>						
	فئة مرجعية		%78.8	7	33	G I
0.2	3.36-0.78	1.62	%64.7	12	34	G II
<b>0.008</b>	4.89-1.27	2.49	%40.5	25	42	G III
<b>مرحلة السرطان (stage)</b>						
	فئة مرجعية		%87.2	6	47	IA-IIA
<b>0.01</b>	5.11-1.25	2.53	%50	20	40	IIB-III A
<b>0.001 &gt;</b>	11.3-2.32	5.12	%18.2	18	22	IIIB-III C
<b>TILS</b>						
	فئة مرجعية		%72.3	18	65	مرتفعة
<b>0.002</b>	4.32-1.38	2.44	%40.9	26	44	منخفضة
<b>CD4<sup>+</sup></b>						
	فئة مرجعية		%63	20	54	مرتفعة
0.41	2.23-0.72	1.27	%56.3	24	55	منخفضة
<b>CD8<sup>+</sup></b>						
	فئة مرجعية		%77.6	13	58	مرتفعة
<b>0.001 &gt;</b>	6.31-1.81	3.38	%39.2	31	51	منخفضة

الدور الإنذاري للخلايا اللمفاوية التائية CD8+ و CD4+ المتسللة للورم في سرطان الثدي ثلاثي السلبية  
بمراحله المبكرة

الجدول (10): تحليل انحدار Cox متعدد المتغيرات للعوامل المؤثرة في حدوث النكس

المتغير	نسبة الخطر المعدلة	فاصل ثقة %95	P- value	التفسير
حجم الورم T3-T4 مقابل (T1-T2)	1.72	-1.12	0.013	تزيد الأورام الكبيرة (<5 سم) خطر النكس بنسبة 72% مقارنة بالأورام الصغيرة
إصابة العقد اللمفاوية (N2 مقابل N0)	2.85	-1.45	0.002	تزيد إصابة العقد (N2) خطر النكس تقريباً 3 مرات مقارنة بعدم الإصابة
إصابة العقد اللمفاوية (N3 مقابل N0)	4.91	-1.89	>	تزيد إصابة العقد (N3) خطر النكس تقريباً 5 مرات مقارنة بعدم الإصابة
الدرجة النسيجية (G III مقابل G I)	2.18	-1.25	0.006	الأورام عالية الدرجة (G III) أكثر عدوانية مع خطر نكس أعلى بمرتين
كثافة TILs (منخفضة مقابل مرتفعة)	2.05	-1.31	0.001	يرتبط انخفاض TILs بضعف الاستجابة المناعية وزيادة خطر النكس

كثافة CD8 <sup>+</sup>	3.12	-1.55	0.001	تلعب الخلايا التائية السامة
(منخفضة مقابل مرتفعة)		6.28		للخلايا (CD8 <sup>+</sup> ) دوراً حاسماً في السيطرة على الورم

أظهر النموذج النهائي (الجدول 10) أن إصابة العقد اللمفاوية (N2 مقابل N0، نسبة الخطر 2.85) و (N3 مقابل N0، نسبة الخطر 4.91)، وحجم الورم (T3-T4 مقابل T1-T2، نسبة الخطر 1.72)، والدرجة النسيجية العالية (G III مقابل GI، نسبة الخطر 2.18) ظلت مرتبطة ارتباطاً مستقلاً بزيادة خطر النكس. من الجدير بالذكر أن انخفاض كثافة TILs (نسبة الخطر 2.05) وانخفاض كثافة CD8<sup>+</sup> (نسبة الخطر 3.12) برزت كمؤشرات مناعية مستقلة قوية للنتائج السيئة، حتى بعد تعديل العوامل المربكة السريرية والمرضية.

تؤكد هذه النتائج أن العوامل المرضية التقليدية (حجم الورم، إصابة العقد، الدرجة النسيجية) تظل مؤشرات مستقلة قوية للتنبؤ بحدوث النكس. تمثل المؤشرات المناعية (CD8<sup>+</sup>، TILs) عوامل تنبؤية مستقلة تُضيف قيمة إلى النماذج التنبؤية التقليدية.

#### المناقشة:

كشفت هذه الدراسة أن 59.6% من مريضات TNBC بمراحله البكرة لديهن كثافة مرتفعة من TILs ( $\leq 30\%$ )، تتماشى هذه النتيجة مع النطاق العالمي. لا يوجد إجماع على نقطة الحد المثالية لتحديد TILs المرتفعة والمنخفضة [13]. وقد استخدمت الدراسات نقاطاً حديثة تتراوح من 20% إلى 75% لتعريف TILs المرتفعة مع نسب انتشار مختلفة تتراوح من 5% إلى 61% [6]. وعلى الرغم من أن TNBC هو النوع الأكثر تحفيزاً للمناعة بين الأنواع الفرعية

لسرطان الثدي، تشير الدراسات إلى أن غالبية الحالات تتميز بكثافة TILs منخفضة أو متوسطة [6]. قد يُعزى ارتفاع النسبة في دراستنا إلى ما يلي: أولاً، عمر المريضات الأصغر (متوسط 46.7 سنة) مقارنة بالدراسات الغربية (50-60 سنة)، حيث يرتبط العمر الأصغر بزيادة التسلسل المناعي [15]. ثانياً، ارتفاع نسبة الأورام عالية الدرجة (Grade III) (37.6%)، والتي ترتبط تقليدياً بزيادة كثافة TILs [16]. ثالثاً، استخدام عينات جراحية كاملة قبل العلاج الكيميائي بدلاً من عينات الخزعة أو العينات الجراحية بعد العلاج، مما يعكس التوزيع المناعي بدقة أكبر.

ارتبطت كثافة TILs المرتفعة بخصائص أفضل مثل العمر الأصغر، وحجم الورم الأصغر، وعدم إصابة العقد اللمفاوية، لكنها ارتبطت أيضاً بالدرجة النسيجية العالية. تتوافق هذه النتائج مع دراسات سابقة مثل دراسة Loi وزملائها (2019) [14]، ودراسة Denkert وزملائه [17]، ودراسة Pruneri وزملائه [18]. يُفسر الارتباط بين TILs والدرجة العالية بأن الأورام ذات الدرجة النسيجية العالية تتميز ما يلي: عدم الاستقرار الجينومي، مما يؤدي لمستضدات جديدة (neoantigens)، ومعدل تكاثر خلوي مرتفع (Ki67 عالي) مما يحفز موت الخلايا المناعي (immunogenic cell death)، وإفراز سيتوكينات التهابية تجذب الخلايا المناعية [19].

أثبتت دراستنا القيمة الإندارية المستقلة لـ TILs في TNBC. فكان معدل البقاء الخالية من النكس لمدة 3 سنوات (3-year RFS) 72.3% في المريضات ذوات TILs المرتفعة مقابل 40.9% في ذوات TILs المنخفضة (P=0.001). في التحليل متعدد المتغيرات، كانت TILs المنخفضة عامل خطر مستقل للنكس (نسبة الخطر 2.05، P=0.001)، مما يؤكد أن هذه العلاقة ليست مجرد ارتباط عشوائي. تأتي هذه النتائج لتعزيز وتوسيع الأدلة من الدراسات الرائدة في هذا المجال. في عام 2010، أبلغ Denkert وزملاؤه لأول مرة عن العلاقة بين TILs وإنذار سرطان الثدي، والاستجابة السريرية لأنظمة العلاج الكيميائي المساعد الأولي القائمة على

الأنتراسايكلين-التاكسان، والتي ارتبطت ارتباطاً خطياً [20]. وفيما يتعلّق بالعلاج الكيميائي المساعد:

أظهرت Loi وزملاؤها (2013) أنّ وجود TILs وقت التشخيص يرتبط ارتباطاً واضحاً بنتائج سريرية أفضل لدى مريضات TNBC، بغض النظر عن نوع العلاج الكيميائي المساعد، وأنّ ارتفاع TILs يرتبط ارتباطاً خطياً بانخفاض خطر النكس والوفاة [21]. أفادت دراسة Sylvania وAdams وزملائها أنّ غالبية حالات TNBC تملك TILs، ووُجِدَت TILs المرتفعة ( $\leq 50\%$ ) لدى 4.4% فقط من المريضات. وبمتوسط متابعة بلغ 10.6 سنوات، ارتبطت كثافة TILs السدوية الأعلى بإنذار أفضل. فمع كلّ زيادة بنسبة 10% في TILs السدوية، لوحظ انخفاض بنسبة 14% في خطر النكس أو الوفاة، وانخفاض بنسبة 18% في خطر النكس البعيد، وانخفاض بنسبة 19% في خطر الوفاة. وأكّد التحليل متعدّد المتغيرات أنّ TILs السدوية تُعدّ مؤشراً إنذارياً مستقلاً للبقيا الخالية من المرض، والبقيا الكلية، والفترة الزمنية الخالية من النكس [22]. شملت دراسة Pruneri وزملائه 647 مريضة مصابةً بـ TNBC في مرحلته المبكرة واللواتي تلقين العلاج الكيميائي المساعد. مع استخدام نقطة حدية ( $\leq 50\%$ ) كانت نسبة ارتفاع كثافة TILs هي 18%. أظهرت الدراسة أنّه مع كلّ زيادة بنسبة 10% في TILs السدوية، انخفض خطر عودة السرطان بنسبة 13%، وتحسّن كلّ من البقا الخالية من المرض بنسبة 11%، والبقيا الخالية من النكس (RFS) بنسبة 16%، والبقيا الكلية بنسبة 17% [18]. مؤخراً، أكّدت سلسلة من تحليلات البيانات المُجمّعة الدّور الإنذاريّ القويّ لـ TILs السدوية في TNBC بمراحله المبكرة، معدّل البقا الممتاز مع ارتفاع كثافة TILs بعد العلاج الكيميائي المساعد. قامت Loi وزملاؤها بتجميع بياناتٍ فرديةٍ لـ 2148 مريضةً من تسع دراساتٍ، وبنى الباحثون نموذجاً متعدّد المتغيرات، حيثُ تُقابل كلّ زيادة بنسبة 10% في TILs السدوية نسبة خطرٍ تبلغ 0.87 للبقيا الخالية من المرض، و0.83 للبقيا الخالية من النكس البعيد، و0.84 للبقيا الكلية. في

المرضى سلبيات العقد مع TILs  $\leq 30\%$ ، كانت نسبة البقايا الخالية من المرض لمدة 3 سنوات 92%، ونسبة البقايا الخالية من النكس البعيد 97%، ونسبة البقايا الكلية 99% [14].

أظهرت دراستنا أن CD8+ تمثل المكون الأكثر أهمية في TILs للتنبؤ بالإنذار. فالمرضى ذات CD8+ المرتفعة كان لديهم معدل بقيا خالية من النكس لمدة 3 سنوات يبلغ 77.6% مقابل 39.2% في ذات CD8+ المنخفضة ( $P=0.008$ ). في التحليل متعدد المتغيرات، كانت CD8+ المنخفضة أقوى عامل خطر مستقل للنكس (نسبة الخطر 3.12،  $P=0.001$ ). في المقابل، لم تظهر CD4+ قيمة إنذارية مستقلة في دراستنا ولم يختلف معدل البقايا الخالية من النكس لمدة 3 سنوات بين مجموعتي CD4+ المرتفعة والمنخفضة (63% مقابل 56.3%،  $P=0.31$ ).

تتصدّر الخلايا المفاوية التائية السامة للخلايا (CD8+) الاستجابة المناعية المضادة للورم. هذه الخلايا هي المدافع الرئيسي ضد السرطان، ومهمتها التعرف المباشر على الخلايا السرطانية والقضاء عليها [23]. تكمن فعاليتها في علاج TNBC في عدة آليات رئيسية. يتمثل الدور الأساسي للخلايا CD8+ في التردد المناعي وقتل الخلايا التي تظهر ببتيدات غير ذاتية أو ببتيدات ذاتية معدلة (أي، المستضدات الجديدة التي تعبر عنها الخلايا السرطانية وتعرضها على سطحها بواسطة جزيئات معقد التوافق النسيجي الكبير من الصنف الأول). تتعرف الخلايا CD8+ على هذه المستضدات وترتبط بها وتتسبب وتطلق ترسانتها السامة للخلايا، المكونة بشكل أساسي من البيروفرين (perforin)، الذي يكون مساماً في غشاء الخلية المستهدفة، والگرانزيمات (granzymes)، وهي بروتيازات تدخل عبر هذه المسام وتُحفّر شلال caspase، مما يؤدي إلى موت الخلايا المبرمج (apoptosis) [23]. إلى جانب القتل المباشر، تُفرز الخلايا CD8+ المنشطة السيتوكينات بفعالية، وأبرزها إنترفيرون-غاما ( $IFN-\gamma$ ). يُعزّز  $IFN-\gamma$  التعبير عن جزيئات معقد التوافق النسيجي الكبير من الصنف الأول على الخلايا السرطانية

المُحيطة. هذا يجعلها أكثر وضوحاً للخلايا CD8+ الأخرى. يُحفّز  $IFN-\gamma$  تفعيل البالعات المقوية للالتهاب والقادرة على بلعمة خلايا الورم وإنتاج أنواع جذور الأكسجين التفاعلية. يُمكن لـ  $IFN-\gamma$  أن يُنبّط تكاثر بعض الخلايا السرطانية بشكلٍ مباشرٍ، ويُعزّز تثبيط تكوّن الأوعية الدموية، ممّا يُقلّل من نمو الورم بشكل أكبر [9].

تُعدُّ الأهمية السريرية للخلايا التائية CD8+ قوية للغاية ومُحدّدةً لـ TNBC. وقد أظهرت العديد من الدراسات أنّ ارتفاع كثافة CD8+، يرتبط بشكلٍ كبيرٍ بتحسّن معدلات البقاء في TNBC، وهو ارتباط لم يُلاحظ في أنواع فرعيةٍ أخرى من سرطان الثدي. في دراسة Yazaki وزملائه، تمّ تحليل 125 مريضة مصابةً بـ TNBC في المراحل المبكرة ولم يتلقين العلاج الكيميائي [24]. ركز الباحثون على تقييم الواسمات الحيوية المناعية، بما في ذلك TILs، والبنى اللمفاوية التالتيّة (tertiary lymphoid structures) (TLS)، والتعبير عن بروتين PD-L1، وكثافة الخلايا CD8+ و CD20+. ارتبط ارتفاع كثافة الخلايا CD8+ بتحسّن البقاء الخالية من المرض (نسبة الخطر 0.69)، بينما ارتبط وجود PD-L1 بتفاقم الإنذار (نسبة الخطر 4.33). بشكلٍ ملحوظٍ، حققت المريضات ذوات (CD8+ المرتفعة/ PD-L1 السلبية) أفضل نتائج، بينما كانت النتائج أسوأ في المجموعة ذات (CD8+ المنخفضة/ PD-L1 الإيجابية). خلصت الدراسة إلى أنّ CD8+ و PD-L1 يُقدّمان معلومات إنذارية إضافية تفوق TILs في تقييم إنذار TNBC المُبكر [24].

على الرُغم من أنّ TILs أصبحت اسماً حيويّاً قوياً للتنبؤ بمسار سرطان الثدي ثلاثي السلبية (TNBC)، فإنّ دور الخلايا التائية من نوع CD4+ لا يزال محلّ جدلٍ. كشفت دراستنا عدم وجود ارتباط ذي دلالة إحصائية بين تسليّ الخلايا CD4+ السدوية والبقايا الخالية من النكس لمدة 3 سنوات ( $P=0.41$ ). وأكّد التحليل مُتعدّد المتغيرات أنّ كثافة الخلايا CD4+ لم تكن

مؤشراً مستقلاً للتنبؤ بالنتيجة. تتفق هذه النتائج مع دراسة Jamiyan وزملائه [25] ودراسة Wang وزملائه [26].

هناك تباينٌ وظيفي كبير بين مجموعات الخلايا CD4+ الفرعية. فبينما تُعدّ الخلايا CD8+ متجانسةً نسبياً في وظيفتها القاتلة للخلايا السرطانية، تنقسم الخلايا CD4+ إلى مجموعاتٍ فرعيةٍ مُتعارضةٍ الوظيفة، مثل الخلايا Th1 (المضادة للورم)، والخلايا Th2 (المحفزة للورم)، والخلايا التائية التنظيمية (Treg) (المثبطة للمناعة) [9]. أظهرت دراساتٌ أنّ التأثير الصافي للخلايا CD4+ يعتمدُ على المجموعة الفرعية الغالبة. فعلى سبيل المثال، ترتبطُ خلايا Th1 بتحسُّن النتائج، بينما يرتبطُ ارتفاعُ عددِ الخلايا Treg بسوء الإنذار [25]. وفي سياق سرطان الثدي ثلاثي السلبية، قد تقومُ البالعاتُ المرتبطةُ بالورم ( tumor-associated macrophages (TAMs) المنتجةُ لعاملٍ كيميائيٍّ يُسمى CCL18 بتحويلِ الخلايا CD4+ الساذجة إلى خلايا Treg، ممَّا يُلغي أيَّ تأثيرٍ إيجابيٍّ للخلايا Th1 [19]. يُضيفُ التوزيعُ التشريحيُّ للخلايا CD4+ داخلَ الورم مستوى آخر من التعقيد. فقد أظهرت دراسةُ Jamiyan وزملائه أنّ تسلُّلَ الخلايا CD4+ داخلَ الورم (وليس في السدى) ارتبطَ بنتائجٍ أفضلَ في سرطان الثدي ثلاثي السلبية [25]، ممَّا يُشيرُ إلى أنّ موقعَ التسلُّلِ يلعبُ دوراً حاسماً في تحديدِ التأثيرِ البيولوجي. في دراسةِ Wang وزملائه لم ترتبط كثافةُ CD4+ السدى أو داخلَ الورم بالبقيا الخالية من النكس، ولكن ارتبطت نسبةُ الخلايا CD4+/CD8+ (التي تقلُّ عن 1) ببقيا خالية من النكس أفضل [26]. فضلاً عن ذلك، أظهرت مجموعةٌ فرعيةٌ من الخلايا CD4+ وهي الخلايا التائية المُساعدةُ الجريبيةُ (T follicular helper) (Tfh) قيمةً إنذاريةً مُستقلةً عن القياساتِ التقليدية للخلايا CD4+ [27].

الاستنتاجات:

تؤكد هذه الدراسة أنّ الخلايا اللمفاوية المتسللة للورم (TILs) ليست مجردَ واسمٍ ثانويٍّ، بل هي لاعبٌ مركزيٌّ في بيئة الورم المناعية، وفهمها قد يفتح الباب لعصرٍ جديدٍ من العلاجات المخصصة في سرطان الثدي ثلاثي السلبيّة. يبدو أنّ الإنذار الإيجابي المرتبط بارتفاع مستويات TILs ليس نتيجةً لاستجابةٍ التهابيةٍ عامّةٍ وغيرٍ نوعيّةٍ، بل هو نتيجةٌ مباشرةٌ لهجمةٍ مناعيةٍ مضادةٍ للورم عالية التّظيم والوظيفة والتّكيف.

تمثّل TILs، وخاصّةً الخلايا التائية السامة للخلايا ( $CD8^+$ )، مؤشراتٍ إنذاريةً مستقلةً لتحسين البقيا الخالية من النكس في سرطان الثدي الثلاثي السلبي بمراحله المبكرة، ممّا يدعم دور المناعة المضادة للورم في تحديد مآل المرض.

### التوصيات والمقترحات:

يقترح تحسّن البقيا الخالية من النكس بنسبة 31.4% في المجموعة ذات TILs المرتفعة التوصية بإدراج تقييم TILs (خاصّةً  $CD8^+$ ) ضمن البروتوكولات التشخيصية المعيارية لمرضى سرطان الثدي ثلاثي السلبيّة (TNBC) بمراحله الباكرة، مع تحديد نقاط قطع واضحة (مثل:  $\leq 30\%$  لكثافة TILs السدوية). يجب أن يُجرى هذا التقييم على عينات الخزعة الأولية أو خزعات الاستئصال قبل العلاج الكيميائي ويُدرج في التقارير المرضية كعاملٍ إنذاريٍّ مستقلٍّ.

نوصي في هذه الدراسة بضرورة تعميق البحث في الآليات المناعية عبر تقنيات متقدمة. حيثُ يجب أن تركز الدراسات المستقبلية على تقييم التعبير عن  $FOXP3^+$  للتمييز بين الخلايا التائية المساعدة (Th) والخلايا التائية التّظيمية ( $T_{reg}$ ).

تشمل الآفاق المستقبلية لهذه الدراسة تطوير نماذج تنبؤية تدمج TILs ومكوناتها مع العوامل السريرية المرضية التقليدية (الحجم، العقد، الدرجة).

المراجع:

1. Arnold M, Morgan E, Runggay H, Mafra A, Singh D. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *Breast*. 2022; 66: 15–23.
2. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012; 490(7418): 61–70.
3. Pareja F, Geyer FC, Marchiò C, Burke KA, Weigelt B, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer: the importance of molecular and histologic subtyping, and recognition of low-grade variants. *NPJ Breast Cancer*. 2016; 2: 16036.
4. Łukasiewicz S, Czeczulewski M, Forma A, Baj J, Sitarz R, Stanisławek A. Breast Cancer–Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies–An Updated Review. *Cancers*. 2021; 13(17): 4287.
5. Xiong N, Wu H, Yu Z. Advancements and challenges in triple-negative breast cancer: a comprehensive review of therapeutic and diagnostic strategies. *Front Oncol*. 2024; 14: 1405491.
6. Rosa ML, Reinert T, Pauletto MM, Sartori G, Graudenz M, Barrios CH. Implications of tumor-infiltrating lymphocytes in early-stage

- triple-negative breast cancer: clinical oncologist perspectives. *Transl Breast Cancer Res.* 2023; 5: 4.
7. El Bairi K, Haynes HR, Blackley E, Fineberg S, Shear J, Turner S, et al. The tale of TILs in breast cancer: A report from The International Immuno-Oncology Biomarker Working Group. *NPJ Breast Cancer.* 2021; 7(1): 150.
  8. Pruneri G, Vingiani A, Denkert C. Tumor infiltrating lymphocytes in early breast cancer. *Breast.* 2018; 37: 207–214.
  9. Fan Y, He S. The Characteristics of Tumor Microenvironment in Triple Negative Breast Cancer. *Cancer Manag Res.* 2022; 14: 1–17.
  10. Lee S, Cho EY, Park YH, Ahn JS, Im YH. Prognostic impact of FOXP3 expression in triple-negative breast cancer. *Acta Oncol.* 2013; 52(1): 73–81.
  11. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol.* 2019; 30(8): 1194–1220.
  12. Burstein HJ, Curigliano G, Thürlimann B, Weber WP, Poortmans P, Regan MM, et al. Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer: the St. Gallen International

- Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021. Ann Oncol. 2021; 32(10): 1216–1235.
13. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor–infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. Ann Oncol. 2015; 26(2): 259–271.
14. Loi S, Drubay D, Adams S, Pruneri G, Francis PA, Lacroix–Triki M, et al. Tumor–Infiltrating Lymphocytes and Prognosis: A Pooled Individual Patient Analysis of Early–Stage Triple–Negative Breast Cancers. J Clin Oncol. 2019; 37(7): 559–569.
15. Takada K, Kashiwagi S, Asano Y, Goto W, Morisaki T, Shibutani M, et al. Differences in tumor–infiltrating lymphocyte density and prognostic factors for breast cancer by patient age. World J Surg Oncol. 2022; 20(1):38.
16. de Moraes FCA, Souza MEC, Sano VKT, Moraes RA, Melo AC. Association of tumor–infiltrating lymphocytes with clinical outcomes in patients with triple–negative breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy: a systematic review and meta–analysis. Clin Transl Oncol. 2025; 27(3): 974–987.
17. Denkert C, von Minckwitz G, Brase JC, Sinn BV, Gade S, Kronenwett R, et al. Tumor–infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without carboplatin in human

- epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. *J Clin Oncol.* 2015; 33(9): 983-991.
18. Pruneri G, Gray KP, Vingiani A, Viale G, Curigliano G, Criscitiello C, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) are a powerful prognostic marker in patients with triple-negative breast cancer enrolled in the IBCSG phase III randomized clinical trial 22-00. *Breast Cancer Res Treat.* 2016; 158(2): 323-331.
19. Ren Z, Xue Y, Liu L, Zhang X, Pei J, Zhang Y, et al. Tissue factor overexpression in triple-negative breast cancer promotes immune evasion by impeding T-cell infiltration and effector function. *Cancer Lett.* 2023; 565: 216221.
20. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Müller BM, Komor M, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2010; 28(1): 105-113.
21. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol.* 2013; 31(7): 860-867.

22. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *J Clin Oncol.* 2014; 32(27): 2959–2966.
23. Oshi M, Asaoka M, Tokumaru Y, Yan L, Matsuyama R, Ishikawa T, et al. CD8 T Cell Score as a Prognostic Biomarker for Triple Negative Breast Cancer. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(18): 6968.
24. Yazaki S, Shimoi T, Yoshida M, Sumiyoshi-Okuma H, Arakaki M, Saito A, et al. Integrative prognostic analysis of tumor-infiltrating lymphocytes, CD8, CD20, programmed cell death-ligand 1, and tertiary lymphoid structures in patients with early-stage triple-negative breast cancer who did not receive adjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat.* 2023; 197(2): 287–297.
25. Jamiyan T, Kuroda H, Yamaguchi R, Nakazato Y, Noda S, Onozaki M, et al. Prognostic impact of a tumor-infiltrating lymphocyte subtype in triple negative cancer of the breast. *Breast Cancer.* 2020; 27(5): 880–892.
26. Wang K, Shen T, Siegal GP, Wei S. The CD4/CD8 ratio of tumor-infiltrating lymphocytes at the tumor-host interface has prognostic value in triple-negative breast cancer. *Hum Pathol.* 2017; 69: 110–117.

27. Gu-Trantien C, Loi S, Garaud S, Equeter C, Libin M, de Wind A, et al. CD4<sup>+</sup> follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. J Clin Invest. 2013; 123(7): 2873–2892.

#### ملاحظات:

- 1- بحسب المعجم الطبي الموحد Lymph هو اللمف وليس اللمف. تم التصويب في كل المقالة.
- 2- سرطان الثدي الثلاثي السلبي (triple-negative breast cancer) (TNBC)، أعتقد تسميته (ثلاثي السلبية أكثر صحة ودقة لأنه يدل على السلبية للمستقبلات الثلاث.
- 3- تم البدء بترقيم الأشكال 1 و 2 ثم تم ترقيم المخططات البيانية بدءاً بـ 1 من جديد، فأعدت تسلسل الأرقام طالما سمي المخطط البياني شكلاً (وليس مخططاً بيانياً).
- 4- مُعَدِّدُ التَّوَاظِقِ النَّسِيجِيِّ الرَّئِيسِيِّ: هو بحسب المعجم الطبي الموحد مُعَدِّدُ التَّوَاظِقِ النَّسِيجِيِّ الكبير.
- 5- غابت فقرة التوصيات من المقالة، ويجب كتابتها.