



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
KULAK BURUN BOĞAZ KLİNİĞİ

**TÜKÜRÜK BEZİ TÜMÖRLERİNDE PROGRAMMED
DEATH-1 LİGAND-1 (PD-L1) EKSPRESYONU VE
KLİNİKOPATOLOJİK KORELASYONU**

Dr. Tuğçe PÜTÜRGELİ ÖZER

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2019



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
KULAK BURUN BOĞAZ KLİNİĞİ

TÜKÜRÜK BEZİ TÜMÖRLERİNDE PROGRAMMED DEATH-1 LİGAND-1 (PD-L1) EKSPRESYONU VE KLİNİKOPATOLOJİK KORELASYONU

Dr. Tuğçe PÜTÜRGELİ ÖZER

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Güleser SAYLAM
Yardımcı Tez Danışmanı: Op. Dr. Bülent ÖCAL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2019

TEŞEKKÜR

Ülkemizin en iyi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi kliniklerinden birinden uzmanlığımı almanın gururu içindeyim. Başta uzmanlık eğitimim boyunca deneyimi, vizyonu, sürekli desteği, sabrı, motivasyonu ve engin bilgisi için sevgili hocamız Prof. Dr. M. Hakan KORKMAZ'a şükranlarımı sunarım.

Bu tezin araştırılması ve yazılması sırasında bilgisini, deneyimini esirgemeyen, cesaretlendirmeleri, içgörülü yorumları için tez danışmanım Prof. Dr. Güleser SAYLAM'a ve Patoloji Kliniği'nden Doç. Dr. Ünsal HAN'a ayrıca şükranlarımı sunar, teşekkürü borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim boyunca katkıları nedeniyle saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. İstemihan AKIN, Prof. Dr. Muharrem DAĞLI, Prof. Dr. Orhan YILMAZ, Doç. Dr. Cem SAKA, Doç. Dr. Emel ÇADALLI TATAR'a; sevgili başasistanlarımız Doç. Dr. Ömer BAYIR, Doç. Dr. İlker AKYILDIZ, Op. Dr. Kemal KESEROĞLU, Op. Dr. Bülent ÖCAL'a; birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm uzmanlarımıza desteklerinden dolayı teşekkür eder, saygılarımı sunarım. Asistanlık sürecinde belki de ailemizden daha çok birbirimizi gördüğümüz, uykusuz nöbetler, yorucu günler geçirdiğimiz ama her seferinde birlik ve beraberlik içerisinde olduğumuz tüm asistan arkadaşlarıma ve tüm KBB hemşire, personel ve odyoloji bölümü çalışanlarına teşekkür ederim.

Beni her zaman destekleyen, fedakarlıklarıyla bugünlere getiren, her zaman arkamda duran kıymetli annem, babam, ağabeyim, ablama ve bu süreçte desteğini esirgemeyen biricik eşim Dr. Burak ÖZER'e minnettarım.

Saygılarımla

Dr. Tuğçe PÜTÜRGELİ ÖZER

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR.....	iii
TABLO LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	18
4. BULGULAR.....	22
5. TARTIŞMA.....	40
6. SONUÇLAR.....	49
7. KAYNAKLAR.....	51
8. EKLER.....	54
EK-1: Tez Konusu Onay Formu	54
EK-2: Etik Kurul Onay Belgesi	56
EK-3: PD-L1 Veri Kağıdı	57
EK-4: Özgeçmiş ve İletişim Bilgileri	58

KISALTMALAR

AJCC	: American Joint Committee on Cancer
AKK	: Adenoid Kistik Karsinom
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CTLA-4	: Sitotoksik T Lenfosit İlişkili Protein
FDA	: Food and Drug Administration
H&E	: Hematoksilen&Eozin
IHC	: İmmünohistokimyasal boyama
IIAS	: İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi
KT	: Kemoterapi
LVI	: Lenfovasküler İnvazyon
MEK	: Mukoepidermoid Karsinom
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
PD-1	: Programmed Death - 1
PD-L1	: Programmed Death Ligand - 1
PD-L2	: Programmed Death Ligand 2
PET	: Pozitron Emisyon Tomografisi
PNI	: Perinöral İnvazyon
RT	: Radyoterapi
TNM	: Tümör, Nodal Tutulum, Metastaz
USG	: Ultrasonografi
WHO	: World Health Organization

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: WHO Tükürük bezleri tümörleri 2017 sınıflaması.....	8
Tablo 2: Tükürük bezi tümörleri için T sınıflaması.....	10
Tablo 3: Tükürük bezi tümörleri için N sınıflaması.....	11
Tablo 4: Tükürük bezi tümörleri için M sınıflaması.....	12
Tablo 5: Tükürük bezi tümörleri için prognostik evre grupları.....	12
Tablo 6: İmmünohistokimyasal boyanma değerlendirme sistemi.....	20
Tablo 7: Malign tükürük bezi tümürlü hastaların karakteristik özellikleri.....	22
Tablo 8: Histopatolojik tanılara göre derece, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı.....	24
Tablo 9: TNM evresine göre hasta dağılımı.....	25
Tablo 10: Tümör derecesine, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığına göre 5 yıllık toplam ve hastalıksız sağkalım oranları.....	27
Tablo 11: Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma yaygınlığı.....	28
Tablo 12: Histopatolojik tanı, tümör derecesi, lenfovasküler ve perinöral invazyon durumuna göre PD-L1 boyanma varlığı.....	29
Tablo 13: TNM evresine göre PD-L1 boyanma varlığı.....	30
Tablo 14: Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinom hastalarının derecelerine göre PD-L1 boyanma varlığı.....	32
Tablo 15: Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinom hastalarının lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığına göre PD-L1 boyanma varlığı.....	32

Tablo 16: Tümör infiltrate mononükleer hücrelerin varlığı ve PD-L1 boyanma yaygınlığı.....	33
Tablo 17: Skorlara göre hasta sayısı, histopatolojik alt tipler, dereceler, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığına göre tümör infiltrate mononükleer hücrelerdeki PD-L1 skoru	34
Tablo 18: TNM evrelemesine göre tümör infiltrate mononükleer hücrelerdeki PD-L1 skoru	35
Tablo 19: Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinomlarda derece, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığına göre tümör infiltrate mononükleer hücrelerde PD-L1 skoru	36
Tablo 20: Tümör hücresinde PD-L1 pozitif boyanan grup içerisindeki hastaların derecelerine göre tümör infiltrate mononükleer hücrelerde PD-L1 skoru.	37
Tablo 21: Benign tükürük bezi tümörlü hastaların karakteristik özellikleri.....	39
Tablo 22: Benign tükürük bezi tümörlü hastaların tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yaygınlığı ve tümör infiltrate mononükleer hücrelerde PD-L1 skoru.....	39

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil-1: Tükürük bezi duktal sistemi.....	4
Şekil-2: Majör tükürük bezleri ve kanalları.....	4
Şekil-3: Parotis bezi parasempatik innervasyonu.....	6
Şekil-4: Submandibuler ve sublingual bez parasempatik innervasyon.....	6
Şekil-5: PD-1 ve PD-L1 yolağı.....	16
Şekil-6: Plasenta dokusunda PD-L1'in pozitif kontrol boyanması.....	19
Şekil-7: Adenoid kistik karsinom histopatolojik alt tipleri.....	23
Şekil-8: Mukoepidermoid karsinom histopatolojik alt tipleri.....	23
Şekil-9: Adenokarsinom ve asinik hücreli karsinom.....	23
Şekil-10: Adenoid kistik karsinomda perinöral invazyon.....	25
Şekil-11: Malign tükürük bezi tümörlerinin düşük- orta/yüksek dereceye göre, LVİ ve PNI varlığına göre 5 yıllık toplam ve hastalıksız sağkalım grafikleri	27
Şekil-12: PD-L1 pozitif ve negatif tümör hücresine sahip hastaların 5 yıllık toplam sağkalım grafiği.....	31
Şekil-13: Adenoid kistik karsinomda tümör hücrelerinde ve TİMH'lerde PD-L1 boyanma örnekleri.....	37
Şekil-14: Mukoepidermoid karsinomda tümör hücrelerinde ve TİMH'lerde PD-L1 boyanma örnekleri.....	38
Şekil-15: Adenokarsinom, lenfoepitelyal karsinom ve tükürük bezi kanal karsinomunda tümör hücrelerinde ve TİMH'lerde PD-L1 boyanma örnekleri.....	38

ÖZET

TÜKÜRÜK BEZİ TÜMÖRLERİNDE PROGRAMMED DEATH-1 LİGAND-1 (PD-L1) EKSPRESYONU VE KLİNİKOPATOLOJİK KORELASYONU

Amaç

Son yıllarda lenfositler ve diğer mononükleer hücreler üzerinde negatif sinyal özelliği bulunan bazı reseptörler keşfedilmiştir. Bunların arasında sitotoksik T-lenfosit ilişkili protein-4 (CTLA-4), programmed cell death protein-1 (PD-1) ve programmed death-1 ligand-1 (PD-L1) önemli gibi görünmektedir [1]. Anti-PD-1 ve anti-PD-L1 (Programmed death-1 ligand-1)'ler gibi kontrol noktası inhibitörlerinin kullanıldığı immünoterapiler, malign melanom, akciğer kanseri, renal kanser, Hodgkin lenfoma gibi hastalıkların bakım standartlarını ve prognozlarını değiştirmiştir. Baş boyun skuamöz hücreli kanserlerinde, nazofarengeal kanserlerde ve yüksek dereceli tükürük bezi kanserlerinde yapılan ön çalışmaların sonucu da umut verici gözükmemektedir [2]. Biz de buna dayanarak kliniğimizde opere ettiğimiz tükürük bezi tümörlü hastalarda PD-L1 ekspresyonunu araştırmak için prospektif bir çalışma planladık.

Gereç ve Yöntem

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kliniği tarafından 2008-2018 yılları arasında primer majör ve minör tükürük bezi tümörü tanısıyla opere edilip takibe alınan 18 yaş üstü hastaların dosyaları incelendi. İkinci primer tümörü olan, daha önce başka nedenle kemoterapi (KT) veya radyoterapi (RT) almış olan, immunsupresif tedavi alan, immunmodulator ilaç kullanan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya 70'i malign, 10'u benign, toplam 80 hasta dahil edildi. Olgular tanılarına göre ayrıldı ve gruplar yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, tümörün lokalizasyonu, tümör, nodal metastaz ve uzak metastaz (TNM) evresi, uygulanan cerrahi, histopatolojik tanı, tümör derecelendirmesi, perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon, adjuvan tedavi gerekliliği, nüks ya da metastaz gelişimleri açısından değerlendirildi. Formalin fikse parafin bloklarda, hem tümör

hücrelerinde hem de tümör infiltre mononükleer hücrelerde PD-L1 ekspresyonu araştırıldı.

Bulgular

Çalışmamıza dahil edilen 70 malign primer tükürük bezi tümörünün 17'sinde (%24.3) pozitif PD-L1 boyanması tespit edilmiş ve yüksek derece olan 14 hastanın 12'sinde (%85.7); orta derece olan 11 hastanın 2'sinde (%18.1); düşük derece olan 28 hastanın 3'ünde (%10.7) PD-L1 pozitifliği izlendi ($p=0.004$). Lenfovasküler invazyonu olan 13 hastanın 10'unda (%76.9) PD-L1 boyanması olduğu görüldü ($p=0.02$). PD-L1 boyanma varlığıyla cinsiyet, yaş, sigara içimi, tümörün büyüklüğü, histopatolojik tanı, tümörün perinöral invazyonu, nodal metastaz, uzak metastaz, evreleme, nüks, sağkalım ile anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

Tümör infiltre mononükleer hücrelerdeki PD-L1 ekspresyonunun ise cinsiyet, yaş, sigara içimi, tümörün büyüklüğü, histopatolojik tanı, derecesi, tümörün perinöral ve lenfovasküler invazyonu (LVİ), nodal metastaz, uzak metastaz, evreleme, nüks ile anlamlı ilişkisi olmadığı tespit edildi ($p>0.05$).

Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu arttıkça, tümör infiltre mononükleer hücrelerde de PD-L1 ekspresyonunun arttığı tespit edildi ($p=0.000$).

Sonuç

Malign tükürük bezi tümörlerinde PD-L1 ekspresyonu tümör derecesi ve LVİ varlığı ile ilişkilidir. PD-L1 ekspresyonu arttıkça TİMİH varlığında artış olduğu görülmüştür. Bu bulgular ile tükürük bezi kanserlerinin tedavisinde prognozu tahmin etmek, nüksü azaltmak ve sağkalımı arttırmak için seçilmiş hastalarda gelecekteki tedavi seçeneklerinden biri immünmodülasyon (PD-1/PD-L1 yolağı inhibisyonu) olabilir.

Anahtar kelimeler

İmmünohistokimya, İmmünoterapi, Malign tükürük bezi tümörü, PD-L1, Tümör infiltre mononükleer hücre

ABSTRACT

PROGRAMMED DEATH-1 LIGAND-1(PD-L1) EXPRESSION IN SALIVARY GLAND TUMORS AND ITS CLINICOPATHOLOGICAL CORRELATION

Aim

In recent years, some receptors with negative signaling properties have been discovered on lymphocytes and other mononuclear cells. Among these, cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4 (CTLA-4), programmed cell death protein-1 (PD-1) and programmed death-1 ligand-1 (PD-L1) appear to be important [1]. Immunotherapies using immune checkpoint inhibitors such as anti-PD-1 and anti-PD-L1 (Programmed death-1 ligand-1) have changed the standards of care and prognosis of diseases such as malignant melanoma, lung cancer, renal cancer, and Hodgkin's lymphoma. Preliminary studies of head and neck squamous cell cancers, nasopharyngeal cancers and high-grade salivary gland cancers also appear promising [2]. Based on this, we planned a prospective study to investigate PD-L1 expression in patients with salivary gland tumors operated in our clinic.

Materials and Methods

The files of patients older than 18 years who were operated and followed up by the Health Sciences University Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Health Application and Research Center Ear Nose Throat and Head and Neck Surgery Clinic between 2008 and 2018 with the diagnosis of primary major and minor salivary gland neoplasm were examined. Patients with a second primary tumor, who had previously received chemotherapy or radiotherapy for other reasons, who received immunosuppressive therapy and who used immunomodulatory drugs were excluded from the study. A total of 80 patients, 70 of whom were malignant and 10 were benign, were included in the study. The patients were divided according to their diagnosis. They were evaluated for age, sex, smoking history, localization of tumor, TNM stage, surgery, histopathologic diagnosis, tumor grading, perineural invasion, lymphovascular invasion (LVI), necessity of adjuvant therapy, recurrence or

metastasis. PD-L1 expression was investigated in both tumor cells and tumor infiltrated mononuclear cells in formalin-fixed paraffin blocks.

Results

Seventy malignant primary salivary gland tumors were investigated in our study; 17 (24.3%) of them were positive for PD-L1 and PD-L1 positivity was observed in 12 (85.7%) of 14 patients with high grade; 2 (18.1%) of 11 patients with moderate grade; 3 (10.7%) of 28 patients with low grade ($p=0.004$). PD-L1 staining was observed in 10 (76.9%) of 13 patients with lymphovascular invasion ($p=0.02$). PD-L1 staining was not significantly associated with sex, age, smoking status, tumor size, histopathological diagnosis, perineural invasion, nodal metastasis, distant metastasis, staging, recurrence, and survival ($p>0.05$).

PD-L1 expression in tumor infiltrated mononuclear cells was not significantly associated with sex, age, smoking status, tumor size, histopathologic diagnosis, grade, tumor perineural and lymphovascular invasion, nodal metastasis, distant metastasis, staging, recurrence ($p>0.05$).

PD-L1 expression in tumor cells increases, an increased PD-L1 expression is detected in tumor infiltrating mononuclear cells ($p=0.000$).

Conclusion

PD-L1 expression in malignant salivary gland tumors is associated with tumor grade and presence of LVI. As PD-L1 expression increased, the presence of TIMH increased. With these findings, immunomodulation (PD-1 / PD-L1 pathway inhibition) may be one of the future treatment options for selected patients to predict prognosis, reduce recurrence and improve survival in the treatment of salivary gland cancers.

Keywords

Immunohistochemistry, Immunotherapy, Malignant salivary gland tumor, PD-L1, Tumor infiltrated mononuclear cell

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tükürük bezleri, majör bezler olan parotis, submandibuler, sublingual bezlerden ve minör bezlerden oluşurlar. Majör bezler çift yapılardır ve minör bezler nazal kaviteden ve dudaklardan başlayarak özefagus ve trakeaya kadar ilerleyen üst aerodigestif sistem boyunca submukozal lokalizasyonda yer alırlar.

Tükürük bezi tümörleri oldukça seyrek; baş ve boyun bölgesinin tüm tümörlerinin yaklaşık %3-6 kadarını oluştururlar [3]. Amerika Birleşik Devletleri'nde tükürük bezi kanserleri insidansı her yıl 100.000 kişide yaklaşık 3'tür. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Kanser Daire Başkanlığı'nın verilerine göre ise yılda görülen yaklaşık vaka sayısı 186'dır. Erkeklerde 100.000'de 0.6, kadınlarda 0.3 civarındadır, tüm baş boyun kanserleri arasında 4. sıradadır [4].

Tükürük bezi neoplazmları morfolojilerine göre sınıflandırılırlar. Tükürük bezi tümörlerinde evreleme, tedaviyi planlama ve prognoz tahmini yapabilmek için oldukça önemlidir. Tümör evresinin dışında hastanın alışkanlıkları, tümörün histopatolojik alt tipi, perinöral, perivasküler invazyon varlığı, diferansiyasyon derecesi, cerrahinin başarısı gibi etkenler de prognoz belirleyici faktörlerdir. Ancak günümüzde mevcut bilgiler hastalığın seyrini tam olarak açıklamakta yetersiz kalmaktadır. İşte bu aşamada bilim insanları kanserli dokuda ve konakçıda bazı spesifik belirleyiciler araştırma çabası içerisine girmişlerdir. Tükürük bezi tümörlerinin çok fazla histolojik alt tipinin olması ve vaka sayısının azlığı bu çalışmaları zorlaştırmaktadır.

Günümüzde tükürük bezi tümörleri için rutin kullanıma girmiş tümör belirteçleri yoktur. İmmünohistokimyasal ve genetik çalışmalarla hem tümör hücresinde hem de konak immünitesinden sorumlu hücrelerde immünoterapilerin kullanımında önemli olan PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4 gibi belirteçlerler çalışılmaya başlanmıştır. Kanser biyolojisinin anlaşılması, yeni moleküler yolların bulunması, yani sorunun belki de en temeline inilmesi, yeni tedavi modalitelerinin geliştirilmesi için yol gösterici olacaktır [3].

Tükürük bezi tümörleri için günümüzün standart tedavi seçeneği cerrahidir. Genel olarak radyo ve kemorezistan olarak değerlendirilse de radyoterapi ve kemoterapi adjuvan tedavi olarak veya unrezektabl-inoperabl tümörlerde tercih edilmektedir. Bu nedenle tedavi kararı multidisipliner yaklaşım gerektirmektedir.

Moleküler hedefli tedaviler son yıllarda özellikle malign hastalarda araştırma söz konusu olup, bazıları kullanım için onaylarını almıştır [5]. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri ve malign melanomda ekspresyon testleri ve PD-1/PD-L1 yolak blokörleri Food and Drug Administration (FDA) tarafından onay almıştır [6]. Anti-tümör konak immün sistemini baskıladığı düşünülen PD-L1 ekspresyonunun Kulak Burun Boğaz hastalıklarından özellikle Human papilloma virüs(HPV) pozitif başta olmak üzere baş boyun skuamöz hücreli kanserlerinde, iyi diferansiye tiroid kanserlerinde artmış olduğu gösterilmiştir [6, 7].

Araştırmamızda PD-L1 ekspresyonunun spesifik olarak malign tükürük bezi tümörlerindeki durumunu ortaya koymak, bu tümörlerde PD-L1'e yönelik moleküler ajanlarla olan tedavilere ışık tutacaktır. Çalışmamızla benign ve malign tükürük bezi tümörlerinde PD-L1 ekspresyon düzeyleri saptanıp; bu değerlerin yaş, cinsiyet, tümörün derecesi, hastalık evresi, cerrahi sonrası metastaz veya rekürrens, sağkalım ile korelasyonu incelendi. Elde edilen verilerle tedavi öncesi hastalık prognozunun bilinmesi, hastanın bilgilendirilmesi ve adjuvan tedavi gerekliliği konularında bilgi sahibi olmak hedeflendi.

Bu amaçlarla çalışmamıza 2008-2018 yılları arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kliniği'nde 70 malign, 10 benign tükürük bezi tümörü nedeniyle opere olan hastalar dahil edildi. Hastaların patoloji spesmenlerinden immünohistokimyasal inceleme ile tümör hücrelerinde ve konak immün yanıtının bir göstergesi olduğu düşünülen tümör infiltre mononükleer hücrelerde PD-L1 boyanma oranları araştırıldı. Bu veriler, hastaların yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri, sigara kullanımları, tümöre ait boyutları, yerleşim yerleri, tarafı, histopatolojik alt tipleri, farklılaşma dereceleri, perinöral ve perivasküler invazyon varlıkları, TNM evrelemeleri, uygulanan cerrahileri, adjuvan tedavi gereklilikleri, rekürrens ve metastatik hastalık varlığıyla karşılaştırmalı olarak

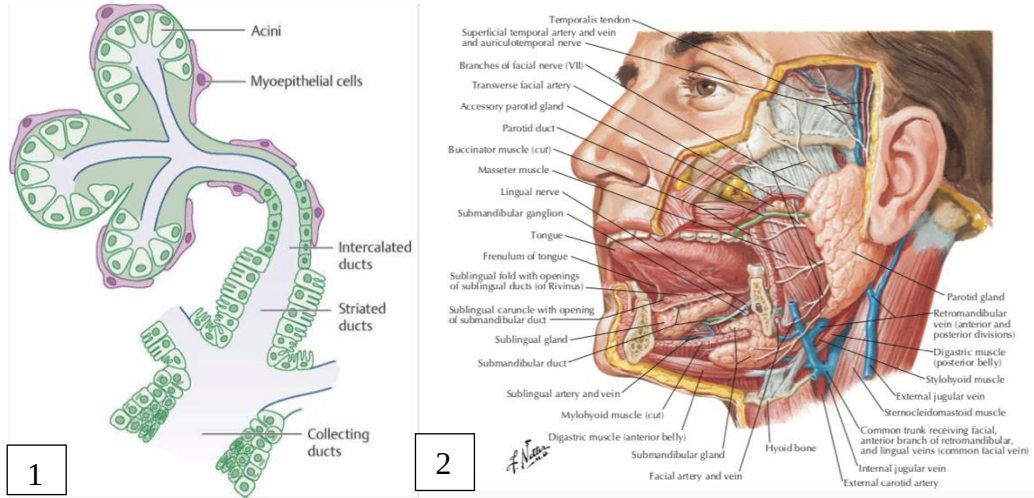
değerlendirildi. Formalin fikse parafin bloklardan elde edilen kesitlerde, tümör hücrelerinde ve tümör infiltre mononükleer hücrelerde PD-L1 varlığı immünohistokimyasal olarak çalışıldı. Bu konuyla ilgili tıbbi literatür incelendi ve elde edilen sonuçlar mevcut literatür bilgileri ışığında değerlendirildi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. TÜKÜRÜK BEZLERİ ANATOMİ, HİSTOLOJİ VE FİZYOLOJİSİ

İnsanlarda bulunan 3 çift majör tükürük bezleri parotis, submandibuler ve sublingual bezlerdir. Bu bezlerin anatomik yapısı esasen birbirine benzerdir: sekresyonlarıyla oral kaviteye açılan dallanan duktal yapılar, asini, tükürük üretimi. Asiner hücreler ekstrasellüler matriks , miyoepitelyal hücreler, miyofibroblastlar, immün hücreler, endotelyal hücreler, stromal hücreler ve sinir uçları tarafından çevrelenmiştir (Şekil-1). Duktuslar, tükürük salgısının oral kaviteye salınmasından önce bu salgıyı modifiye etme ve trasportunda görev alırlar. Stensen kanalı parotis bezinin ana boşaltım kanalıdır ve 2. maksiller molar diş yakınındaki bukkal mukozadan, massater kası geçerek ve buksinatör kası delerek oral kaviteye girerler. Wharton kanalı submandibular bezin ana boşaltım kanalıdır ve dilin altında sublingual karünkül adı verilen bir alana açılır. Sublingual bezler ise Rivinus kanalları denilen küçük kanallara ve sublingual karünkülde Wharton kanalı ile birleşen Bartolin kanalı adı verilen ana kanala sahiptirler [8](Şekil-2).



Şekil-1: Tükürük bezi duktal sistemi (Guntinas- Lichius O, eds. Salivary Gland

Disorders and Diseases: Diagnosis and Management. New York, NY: Thieme; 2011)

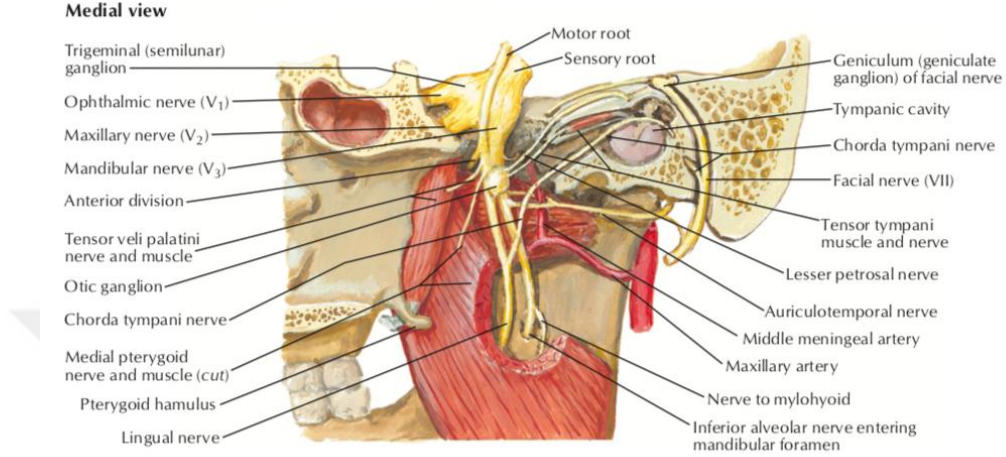
Şekil-2: Majör tükürük bezleri ve kanalları (Netter FH: Atlas of Human Anatomy, 6th edition, plate 46, 2014)

Minör tükürük bezleri ise sayıları 800-1000 arasında değişen, sinonazal kavite, oral kavite, farinks, larinks, trakea, akciğerler ve orta kulak boşluğunun submukozası boyunca dağınık şekilde yerleşmişlerdir. Minör tükürük bezleri aerodigestif sistem boyunca herhangi bir yerde bulunabilmesine rağmen, özellikle bukkal mukoza, dudak mukozası, lingual mukoza, yumuşak/sert damak ve ağız tabanında yoğunlaşmışlardır. Minör tükürük bezleri konvansiyonel görüntüleme yöntemleriyle izlenmezler; fakat benign ya da malign tümörler geliştiği zaman belirgin hale gelirler [9].

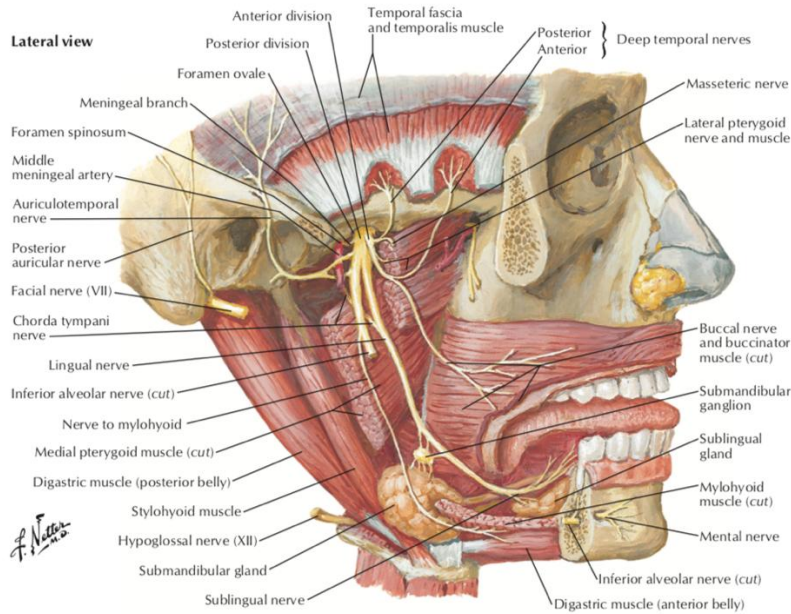
Tükürüğün bir çok fonksiyonu vardır. Konuşma, yutma, yeme, tad alma, dental sağlık ve oral homeostazı koruma için oral kavitenin lubrikasyonunu sağlarken; sindirime yardımcı ve koruyucu işlevleri vardır. Her bezdeki farklı tipteki asiner hücreler farklı özelliklerde tükürük salgısı yapımında rol alır. Parotis bezi seröz asinilerden zengin olup seröz vasıfta tükürük salgılar. Submandibuler ve sublingual bezler mikst bezler olup muköz ve seröz asinilerden oluşurlar. Submandibuler bez daha çok seröz daha az muköz hücrelerden oluşurken, sublingual bezlerin çoğunluğu muköz asiner hücrelerden oluşmaktadır. Majör tükürük bezleri sağlıklı erişkin bir insanın tükürük salgısının %90'ını üretir.

Parasempatik uyarı seröz, sulu tükürük salgısı ve iyonların sekresyonunu sağlarken, sempatik uyarı protein sekresyonunu artırmayı sağlar. Parotis bezini uyaran parasempatik sinirlerin hücre gövdeleri beze yakın yerleşimli olan otik ganglionda bulunmaktadır ve 5. kranial sinirin 3. dalı olan mandibuler sinirin (V3) dalı olan aurikulotemporal sinire katılan postganglionik liflerle innerve edilirler [10]. Submandibuler ve sublingual bezlerin parasempatik uyarımını gerçekleştiren hücre gövdeleri ise submandibuler glanda yakın seyreden submandibuler ganglionda bulunurlar. Submandibuler ve sublingual bezler postganglionik liflerle tükürük salgısını sağlarlar ve miyoepitelyal hücreleri innerve ederler. Submandibuler ganglionun preganglionik parasempatik lifleri 7. kranial sinirin korda timpani dalıyla taşınır ve sonradan infratemporal fossada V3'ün dalı olan lingual sinire katılır ve submandibuler ganglionda sinaps yaparlar. Ayrıca fonksiyonel önemi net olmamasına karşın, bazı sinir hücre gövdeleri ve küçük ganglionlar da submandibuler bez stroması içerisinde bulunmaktadır [11].

Sempatik sinirlerin hücre gövdeleri ise süperior servikal ganglionda bulunurlar ve postganglionik lifler eksternal karotid arterin karotid pleksusundan gelen kan damarları boyunca tükürük bezlerini innerve ederler. Sempatik innervasyon tükürük bezleri için önemlidir, lokal inflamasyonu etkilerler [12].



Şekil-3: Parotis bezi parasempatik innervasyonu (Netter FH: Atlas of Human Anatomy, 6th edition, plate 50, 2014)



Şekil-4: Submandibuler ve sublingual bez parasempatik innervasyon (Netter FH: Atlas of Human Anatomy, 6th edition, plate 50, 2014)

2.2. TÜKÜRÜK BEZİ TÜMÖRLERİ

Tükürük bezinden gelişen neoplazmlar seyrek görülürler; fakat benign ve malign histolojik çeşitli alt tipleriyle oldukça geniş bir yelpazededirler. Yıllar boyunca farklı tümör gruplarının çalışmalarından çok şey öğrenilmiş olsa da tükürük bezi neoplazmlarının tanı ve tedavisi hala karmaşık ve baş boyun cerrahları için zorlu problemlerdir.

Akciğer ve oral skuamöz hücreli kanserlerin aksine tükürük bezi karsinomlarının belirli risk faktörleri yoktur. Sigara içimi, benign Warthin tümörleri için bir risk faktörüdür fakat neredeyse hiçbir zaman malign transformasyon göstermezler [13]. Etyolojide radyasyon maruziyeti nadirdir, hormonal faktörler az önemlidir, cinsiyet üstünlüğü yoktur [14].

Tükürük bezi neoplazmlarının semptomları, tümörün yerleştiği alana bağlı değişiklikler gösterir. Majör bez tümörlerinde sıklıkla asemptomatik kitleler karşımıza çıkarken, minör tükürük bezleri yerleşimli tümörlerde bulundukları alanlara göre farklı semptomlar ortaya çıkabilir.

Tükürük bezi tümörlerinin yeni varyantları, isimlendirmedeki değişiklikler için Dünya Sağlık Örgütü (WHO) yapılan konsensus sonucu 2017 yılında baş boyun tümörleri için yeni bir sınıflandırma oluşturmuştur [15](Tablo 1).

Tükürük bezi tümörlerinin büyük çoğunluğu parotis kökenlidir. Tüm olguların %80'i parotis, %10'u submandibuler, %10'u da sublingual bezlerde gelişirler [8]. Minör bezlerde ise en sık damak yerleşimli tümörler daha sık görülür. Parotis neoplazilerinin %80'i, submandibuler bez neoplazilerinin %54'ü, minör bezlerin %35'i benign, geri kalan kısım malign kabul edilir. Pediatrik popülasyonda ise oldukça nadir görülmekle birlikte %65 kadarı benign ve çoğunluğu pleomorfik adenom, %35 kadarı ise maligndir ve bunun da çoğunu mukoepidermoid karsinom oluşturur.

Tükürük bezi malign neoplazmlarının çok geniş bir spektrumda olduğu görülmektedir. Farklı biyolojik davranışların her bir hücre grubunda dahi farklı kinetik özellikler gösterdiği ve buna bağlı farklı histolojik alt tiplerin olduğu bir gerçektir [16]. Bu nedenle belli histopatolojik yapıda olan malign olguları aynı

karakterde kabul etmek pek olası değildir. Aynı seri içinde bile standart tedavi uygulamayı zorlaştırmaktadır.

Tükürük bezi malignitelerinde prognostik faktörler ise; evre dışında tümörün histopatolojisi (diferansiyasyon derecesi, perinöral, perivasküler invazyon varlığı), bölgesel lenf nodu tutulumu, fasiyal sinir tutulumu, radyoterapiye yanıtı, tümör nüksü varlığı, uzak metastaz varlığıdır.

Tablo 1: WHO Tükürük bezleri tümörleri 2017 sınıflaması.

Malign Tümörler	Benign tümörler
Asinik hücreli karsinom	Pleomorfik adenom
Sekretuar karsinom	Miyoeptilyoma
Mukoepidermoid karsinom	Bazal hücreli adenom
Adenoid kistik karsinom	Warthin tümör
Polimorföz adenokarsinom	Onkositom
Epitelyal-miyoeptilyal karsinom	Lenfadenom
Clear cell karsinom	Kistadenom
Bazal hücreli karsinom	Siyaladenoma papilliferum
Sebaseöz adenokarsinom	Duktal papillom
İntraduktal karsinom	Sebaseöz adenom
Kistadenokarsinom	Kanaliküler adenom ve diğer duktal adenomlar
Adenokarsinom, NOS	
Tükürük bezi kanal karsinomu	Diğer epitelyal lezyonlar
Miyoeptilyal karsinom	Sklerozan polikistik adenozis
Karsinoma ex pleomorfik adenoma	Nodüler onkositik hiperplazi
Karsinosarkom	Lenfoepitelyal lezyonlar
Az diferansiye karsinom	İnterkalat kanal hiperplazisi
Nöroendokrin ve non-nöroendokrin	
Undiferansiye karsinom	Yumuşak doku lezyonları
Büyük hücreli nöroendokrin karsinom	Hemanjiom
Küçük hücreli nöroendokrin karsinom	Lipom/siyalolipom
Lenfoepitelyal karsinom	Nodüler fasiit
Skumöz hücreli karsinom	Hematolenfoid tümörler
Onkositik karsinom	Ekstranodal marjinal zon lenfoma (MALT)
Borderline tümörler	Sekonder tümörler
Siyaloblastom	

2.3. TÜKÜRÜK BEZİ MALİGNİTELERİNDE TANI YÖNTEMLERİ

Tükürük bezi patolojilerinin tanısında anamnez ve fizik muayene önemli unsurlardır. Tükürük bezi neoplazmlarında, kitlenin hızla büyümesi, sertliğinin artması, ağrı, hareketliliğinin azalması, çevre dokuya yayılımı, parotis kitlelerinde fasiyal paralizi gelişmesi malignite kriterleri olarak değerlendirilmelidir [17]. Bu bulgular önem arz etmekle birlikte tükürük bezi karsinomlarının %10-35'ini oluşturmaktadırlar [18]. Malign tümörlerin çoğu belirgin özelliklere sahip değildir ve klinik özelliklerle benign neoplazmlardan ayrımı yapılamaz.

Ultrasonografi (USG), manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve bilgisayarlı tomografi (BT) bir tükürük bezi lezyonunu karakterize etmemize yardım edebilir. USG hızlı ve non-invaziv bir prosedür ve tükürük bezi patolojilerindeki görüntüleme modalitesi tercihidir. Gerçek zamanlı bir tarama, multiplanar ve yüksek çözünürlüğü nedeniyle çoğu olguda yeterli olmaktadır; fakat büyük lezyonlarda, parotis derin lobuna uzanan lezyonlarda, tümörün mandibula tarafından gizlendiği durumlarda yetersizdir [19].

Tümörün gerçek uzanımı ve niteliği için ileri incelemede kesitsel görüntüleme yapılabilen BT ve MRG uygulanmalıdır [20].

İnflamatuvar bir hastalıktan şüphelenildiğinde ve perinöral yayılım değerlendirilmek istendiğinde BT yardımcı olur [20]. Gadolinyumlu MRG ise kuvvetle neoplastik lezyon şüphesi olduğunda seçim tercihi olmalıdır [21].

Son zamanlarda Dinamik Kontrast MRG(DCE-MRI), Difüzyon Ağırlıklı MRG(DW-MRI) ve Proton MR Spektroskopisi(MRS) gibi yeni MRG teknolojilerinin benign ve malign tükürük bezi tümörlerinin ayırımında umut verici sonuçlar verdiği gösterilmiştir [22].

İnce iğne aspirasyon sitolojisi(İİAS) tükürük bezi patolojilerinin tanısı için oldukça yaygın kullanılan 1. basamak tekniktir [19]. Aspirasyon sitolojisini ilk defa 1847 yılında Kun tariflemiştir [23]. Eneroth ve arkadaşları ise 1950-1960'larda bu yöntemi geliştirmişlerdir [24]. Görüntüleme eşliğinde yapılan bir biyopsinin doğruluğunun daha yüksek olduğu bildirilmiştir. İİAS'nin bildirilen sensitivite oranları sıklıkla %60-80 arasında olmasına rağmen, en düşük oranlar olan

%38-55'de Balakrishnan ve ark. ve Atula ve ark. tarafından bildirilmiştir; fakat bilindiği üzere İİAS kesin bir tanı vermemekle birlikte, öncü bir sınıflandırma yapmamızı sağlar [19]. İnce iğne aspirasyon biyopsisi yetersiz gelir ise eksizyonel biyopsi yapılmalıdır. Tükürük bezi kitlelerinde insizyonel biyopsi kontraendikedir.

İntraoperatif donmuş kesit çalışılması tartışılan bir diğer alternatif yaklaşımdır; fakat tanısıl hataların yüksek oranları ve düşük sensitivitesi vardır.

Son yıllarda perkütan görüntüleme eşliğinde core iğne biyopsisi derin yerleşimli kitlelerden doku örneği için yaygın popülerlik kazanmıştır; yine de tümör ekilmesi ihtimalinin yüksek olması nedeniyle limitasyonu vardır [19].

Baş boyun kanserlerinde fluorine-18 fluorodeoxyglucose pozitron emisyon tomografisi (PET-BT) primer tümörün yaygınlığını araştırmada, metastatik lenf nodu, tümör rekürrensi, uzak metastaz, radyoterapi ve kemoterapi öncesi tedavi planlamaları açısından oldukça yardımcıdır.

2.4. TÜKÜRÜK BEZİ MALİGNİTELERİNDE EVRELEME

Majör tükürük bezi malign tümörlerinin evrelenmesinde *American Joint Commitee on Cancer (AJCC)*'in önerdiği evreleme sistemi kabul görmüş olup, 2017 yılında güncellenmiştir (Tablo 2,3,4,5)[25]. Minör tükürük bezleri malign tümörleri için geliştirilmiş bir evreleme sistemi olmayıp genellikle köken aldıkları bölgenin kanserleri için kullanılan evreleme sistemi kullanılır.

Tablo 2: Tükürük bezi tümörleri için T sınıflaması.

Primer Tümör(T)

Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor
T0	Primer tümör bulgusu yok
Tis	Karsinoma in situ
T1	Ekstraparenkimal uzanımı* olmayan en büyük boyutu 2 cm ve altında olan tümör
T2	Ekstraparenkimal uzanımı* olmayan en büyük boyutu 2 cm üstünde, 4 cm altında tümör
T3	Ekstraparenkimal uzanımı* olan ve/veya boyutu 4 cm'den büyük tümör
T4	T4a: Orta derecede ileri hastalık Cildi, mandibulayı, dış kulak kanalını ve/veya fasiyal siniri invaze etmiş tümör T4b: Çok ileri hastalık Kafa tabanı ve/veya pterigoid çıkıntıları ve/veya karotid arteri invaze eden tümör

*Ekstraparenkimal uzanım yumuşak doku invazyonunun klinik ya da makroskopik kanıtıdır. Tek başına mikroskopik kanıt varlığı sınıflandırmadaki ekstraparenkimal uzanıma dahil değildir.

Tablo 3: Tükürük bezi tümörleri için N sınıflaması.

Bölgesel lenf nodları(N)

	Klinik N (cN)
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	İpsilateral en büyük boyutu 3 cm ve altında tek bir tane lenf nodu; ektranodal uzanım yok
N2	N2a: İpsilateral en büyük boyutu 3 cm'den büyük, 6 cm'den küçük tek bir lenf nodu metastazı; ektranodal uzanım yok N2b: İpsilateral en büyük boyutu 6 cm'den küçük multiple lenf nodu metastazı; ektranodal uzanım yok N2c: Bilateral ya da kontralateral en büyük boyutu 6 cm'den küçük lenf nodu metastazı; ektranodal uzanım yok
N3	N3a: En büyük boyutu 6 cm'den büyük lenf nodu metastazı; ektranodal uzanım yok N3b: Klinik olarak aşikar ektranodal uzanım varlığı olan lenf nodu metastazı
	Patolojik N (pN)
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	İpsilateral en büyük boyutu 3 cm ve altında tek bir tane lenf nodu; ektranodal uzanım yok
N2	N2a: İpsilateral 3 cm ya da daha küçük tek bir tane lenf nodu; ektranodal uzanım var İpsilateral en büyük boyutu 3 cm'den büyük, 6 cm'den küçük tek bir lenf nodu metastazı; ektranodal uzanım yok N2b: İpsilateral en büyük boyutu 6 cm'den küçük multiple lenf nodu metastazı; ektranodal uzanım yok N2c: Bilateral ya da kontralateral en büyük boyutu 6 cm'den küçük lenf nodu metastazı; ektranodal uzanım yok
N3	N3a: En büyük boyutu 6 cm'den büyük lenf nodu metastazı; ektranodal uzanım yok N3b: İpsilateral en büyük boyutu 3 cm'den büyük tek bir lenf nodu; ektranodal uzanım var İpsilateral, kontralateral ya da bilateral multiple lenf nodu metastazı; ektranodal uzanım var Kontralateral tek bir tane herhangi bir boyutta lenf nodu metastazı; ektranodal uzanım var

Tablo 4: Tükürük bezi tümörleri için M sınıflaması.

Uzak Metastaz (M)

cM0	Uzak metastaz yok
cM1	Uzak metastaz var
pM1	Uzak metastaz, mikroskopik olarak doğrulanmış

Tablo 5: Tükürük bezi tümörleri için prognostik evre grupları.

Evre	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T3	N0	M0
	T0-T3	N1	M0
IVA	T4a	N0-N1	M0
	T0-T4a	N2	M0
IVB	T herhangi biri	N3	M0
	T4b	N herhangi biri	M0
IVC	T herhangi biri	N herhangi biri	M1

2.5. TÜKÜRÜK BEZİ MALİGNİTELERİNDE TEDAVİ

2.5.1. Cerrahi

Tükürük bezleri tümörlerinin tedavisinde üç tedavi modalitesi bulunmaktadır: cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi. Tedavideki ilk ve en önemli modalite cerrahidir. Tükürük bezi tümörlerinin %80'inin parotis bezinde geliştiği göz önüne alınırsa cerrahinin parotis ve fasiyal sinir cerrahisi niteliği taşıdığı söylenebilir [17].

Submandibuler, sublingual ve minör bez tümörlerine yaklaşım total eksizyondur. Agresif olmayan, bölgesel lenf nodu tutulumu olmayan tümörlerde gland/kitle rezeksiyonları yeterli olurken, agresif olanlarda daha geniş eksizyonlar ve boyun diseksiyonları eklenebilir [26]. Parotis yerleşimli tümörler için total/radikal parotidektomi tercih edilmelidir. Parotidektomi sırasında mutlaka fasiyal sinirin

tümör ile ilişkisi kontrol edilmeli ve invazyon varlığı durumunda fasiyal sinir sakrifiye edilmelidir. Cerrahi sırasında sakrifiye edilen fasiyal sinire greftleme yapılmalıdır.

Yüksek ve orta dereceli mukoepidermoid karsinomda klinik olarak N0 boyunda okult metastaz riski %21'dir. Mukoepidermoid karsinomlarda yüksek dereceli tümör alt tipi varlığında parotidektomiye, elektif boyun diseksiyonu da eklenmelidir [27]. Asinik hücreli karsinom gibi düşük dereceli tümörlerde ise boyuna metastaz riski oldukça düşüktür. Elektif boyun diseksiyonuna gerek yoktur.

Minör bezlerde cerrahi lokalizasyona göre planlanır.

2.5.2. Radyoterapi

Hiçbir zaman cerrahinin alternatifi olarak değerlendirilmemesi gereken radyoterapi modalitesi, yüksek riskli hastalarda cerrahi sonrası lokorejyonel relapları azaltmakta ve sağ kalımları etkilemektedir. Yüksek derece, rekürren karsinomlarda, pozitif cerrahi sınırlar varlığı, bölgesel lenf nodu metastazı olan tümörlerde, kas, kemik, cilt ya da sinir invazyonu veya ekstraparotid yayılımlar olduğunda, pleomorfik adenomda kapsül yırtılması durumunda, perinöral, perivasküler invazyon saptandığında, T1 ve T2 düşük grade tümör dışındaki tümörlerde, herhangi bir T3 karsinomda ve eksizyonun yeterli olduğundan şüphelenildiğinde radyoterapi adjuvan tedavi olarak uygulanmaktadır [16]. Cerrahiyi kabul etmeyen hastalar, kitlenin tam olarak çıkarılamayacağı düşünülen hastalarda tek başına ya da kemoterapi ile kombine, adjuvan olarak hastalık kontrolünde kullanılabilir.

Minimal rezidüel hastalık varlığında veya mikroskopik perinöral invazyon bulunduğu postoperatif dozlara bölünmüş halde 60 Gy veya daha fazla dozlarda radyoterapi uygulanmaktadır [28]. Özellikle kafa tabanı ve paranazal sinüs yerleşimli tükürük bezi tümörlerinin hayati önemi olan anatomik alanlara yakınlığı nedeni ile radyoterapide küratif dozlara ulaşmak pek mümkün olamamaktadır.

Yoğunluk ayarlı radyasyon tedavisi (IMRT), görüntü eşliğinde radyasyon tedavisi (IGRT), adaptif radyoterapi, brakiterapi, proton terapileri, radyoterapinin tükürük bezleri tümörleri tedavisinde kullanılan formlarıdır ve günümüzde ülkemizde çoğunlukla IMRT kullanılmaktadır.

2.5.3. Kemoterapi

Tükürük bezi tümörlerinin sayıca az oluşları, histolojik özelliklerinin çok fazla değişkenlik içermesi ve biyolojik davranışlarının farklı olması nedeniyle bu tümörlerde kematerapötik ilaçların etkinliğini ve rolünü açıklamak oldukça güçtür. Adjuvan kemoterapi rekürrensini önlenmesi amacıyla adjuvan radyoterapi gibi yeri yoktur. Buna bağlı uzak metastatik tümörlerin önlenmesi amacıyla da kemoterapinin yeri yoktur. Kemoterapi unrezektabl ve inoperabl tümörlerde semptomatik palyasyon amaçlı geçmişte kullanılmıştır. Günümüzde radyoterapiye ek radyosensitif özellikleri ile paklitaksel ve karboplatin ile çalışmalar yapılmıştır. Faz 3 çalışmalar ile sisplatin sonuçları değerlendirilmiştir. Henüz prospektif çalışmalar ile etkinliği kanıtlanmış ajanlar saptanamamıştır [29]. Çeşitli ajanlara yönelik klinik araştırmalar hala devam etmektedir.

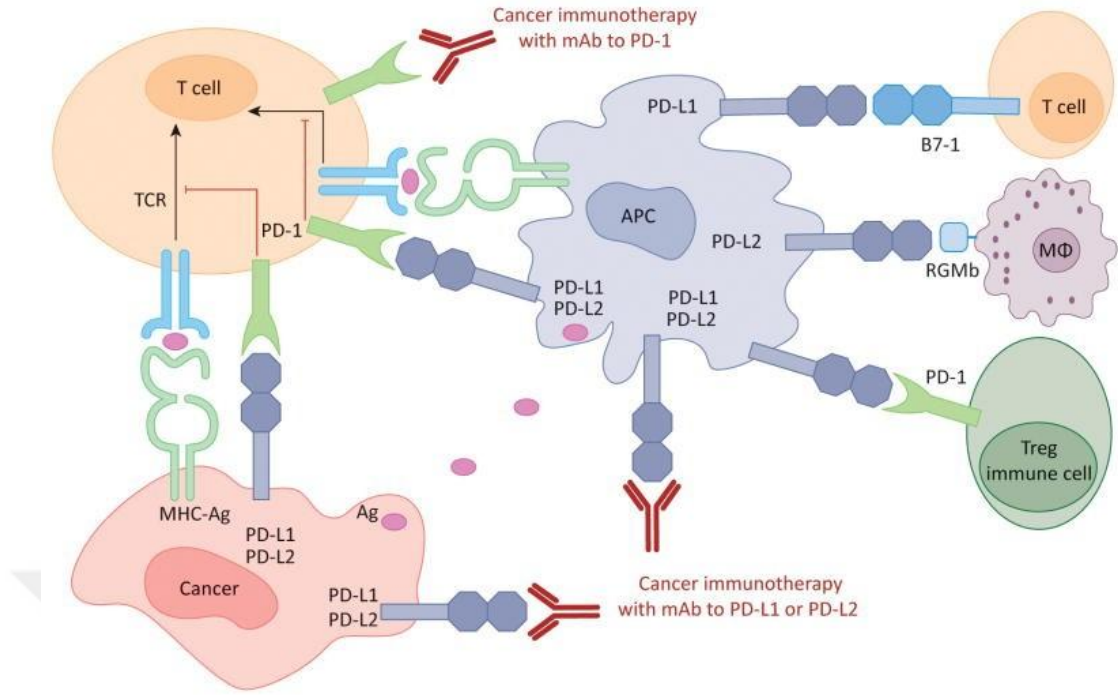
2.6. KANSER, KONAK İMMÜN CEVABI, PD-1 ve PD-L1 YOLAĞI

İmmün sistem kanser biyolojisinde kompleks bir role sahiptir. Başlangıçta akut inflamasyon tetiklenip tümör mikroçevresinde immün hücre toplanması sağlanarak eradikasyon gerçekleşir ya da tümörün genetik evrimi konak immün cevabından kaçışı sağlar. Zamanla inflamatuvar süreç kronikleşir ve tümör eradikasyonunda etkisiz olmaya başlar ve tümörün büyümesine, metastazlara neden olur [30]. İmmün cevabın süresini ve şiddetini modüle etmek için, normal doku hasarını azaltan bir dizi immün kontrol noktası, bağışıklık sistemine bağlanır.

Programmed death 1(PD-1), ilk olarak 1992 yılında programlanmış hücre ölümünden sorumlu genleri araştırırken Ishida ve ark. tarafından keşfedilmiştir ve aktive T hücrelerden, B hücrelerden, myeloid hücreler ve diğer antijen sunan

hücrelerden eksprese edilen bir immünoinhibitör reseptördür [31]. Programmed death ligand 1 (PD-L1), orijinal olarak B7H1 diye adlandırılan B7 gen ailesinin bir üyesidir [32]. Normal karaciğer parankiminde, meme, kolon, böbrek, uterus, kas, pankreas ya da gastrik dokuda bulunmayan immüno-modulator bir glikoproteindir [33]; fakat selektif olarak çeşitli malignitelerde (özefageal, gastrik, pankreatik, kolorektal, timik kanser) eksprese edildiği gösterilmiştir [34].

PD-1 reseptör-ligand etkileşimi, immün kontrolü baskılamak için tümör dokuları tarafından kullanılan ana bir yoldur [35]. PD-1'in normal fonksiyonu, sağlıklı koşullarda aktive T hücre yüzeyinde eksprese edilip, otoimmün cevapları da içeren istenmeyen ve fazla immün cevabı azaltmaktır. Ana bir immün kontrol noktasını temsil eden bu yolak, tümör hücreleri tarafından işgal edilebilir. PD-L1 ve Programmed death ligand 2 (PD-L2) primer reseptörleri PD-1 için ligand görevi gören transmembran proteinlerdir. PD-L1 antijen sunan hücrelerde yaygın bir şekilde eksprese edilir, ayrıca epitelial hücreler dahil bir çok hücre tipinde de eksprese edilebilir. PD-L1, reseptörüne bağlandığında fosfatidilinozitol 3-kinaz/Akt yolu inhibe olur, T hücre aktivasyonunu baskılayan, T hücrelerin İnterlökin-2 (IL-2) üretimini azaltan ve sonra T hücre proliferasyonu ve yaşamını azaltan inhibitör bir sinyal üretilir. PD-L1'in tümör hücrelerinde ve tümör mikroçevresinde fazla eksprese edilmesi tümörün immün yanıtta rahatça kaçabileceği anlamına gelir [30](Şekil-5). İlginç bir şekilde, tümör hücrelerinde yüksek PD-L1 ekspresyonunun bazı tümör tiplerinde kötü prognoz ve sağkalım ile korele olduğu ve bazılarında daha iyi sonuç elde edildiği bulunmuştur [36]. Bu değişkenliğin hastalığın evresi ve immünojenikliği, alternatif direnç mekanizmaları ve PD-L1 antikörünün boyanmalarındaki çeşitlilikten kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.



Şekil-5: Anti-PD-1 ve anti-PD-L1/L2 ile insan kanser immünoterapisi. Antijen sunan hücre(APC) kanser hücresinden salınan antijenleri(Ag) alır ve T hücrelerine sunar. Kanser hücreleri aynı zamanda aktive T hücrelerine de MHC kompleksi ile Ag sunabilir. T hücre aktivasyonu üzerine, PD-1 reseptörleri T hücreler üzerinde eksprese edilir ve APC ve tümör hücresi üzerindeki PD-L1/L2 ligandlarına bağlanarak immün yanıtı inhibe ederler. Bu nedenle PD-1/PD-L1/PD-L2 yolağını inhibe eden monoklonal antikörler(mAb) anti-tümör immüniteyi geliştirebilir.

[http://www.cell.com/trends/molecular-medicine/fulltext/S1471-4914\(14\)00183-X](http://www.cell.com/trends/molecular-medicine/fulltext/S1471-4914(14)00183-X)

Heineman ve ark.'ın yaptıkları çalışmada belirtilmiştir ki; baş boyun skuamöz hücreli kanserlerinin (BBSHK) önemli bir oranında PD-L1 için genetik değişiklikler mevcuttur (%6.2). BBSHK'ler, tüm kanserler içerisinde PD-L1'i 60 kat daha fazla eksprese ederek, en yüksek PD-L1 ekspresyonuna sahip olanlardır. Bu çalışmada PD-L1 değişkenli kanserlerde mutasyonlar araştırılmış ve en belirgin genin "zinc finger FYVE domain containing 9(ZFYVE9)" olduğu bulunmuştur [6].

Günümüzde, tamamen bir insan immünglobülin G4 (IgG4) anti-PD-1 monoklonal antikoru olan Nivolumab, faz 3 Checkmate 141 çalışmasının sonuçlarına dayanarak rekürren ya da metastatik baş boyun skuamöz hücreli kanserleri için FDA onayını almıştır [37, 38]. Durvalumab bir IgG1 PD-L1'e karşı monoklonal antikordur ve rekürren ya da metastatik baş boyun skuamöz hücreli kanserlerde çalışılmıştır fakat henüz bu hasta popülasyonunun tedavisinde FDA onayı

almamıştır. Pembrolizumab da potent ve yüksek selektiflik oranına sahip PD-1 ile PD-L1/PD-L2 etkileşimini bloke eden bir hümanize monoklonal antikordur.

Baş boyun kanserlerinden, tükürük bezi kanserleri için immün kontrol noktalarını hedef alan monoklonal antikor araştırmaları devam etmektedir. PD-1/PD-L1 yolağının bu tümörlerin davranışına etkisini ortaya koymak için ek araştırmalar yapılmalıdır.



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. VAKA GRUBUNUN TANIMLANMASI

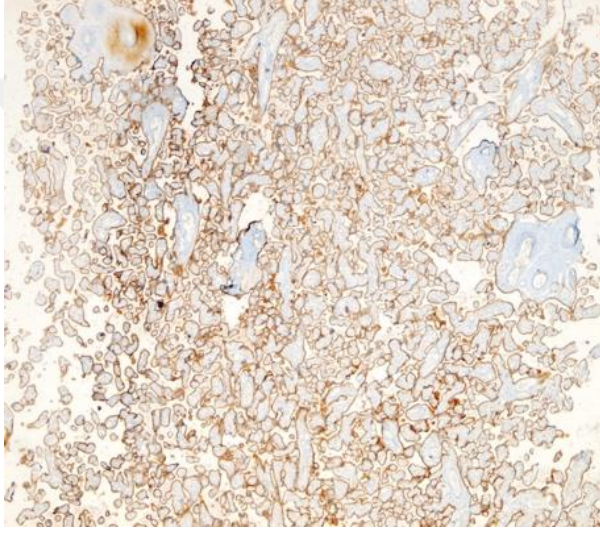
Bu çalışmaya 2008-2018 yılları arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kliniği'nde majör ve minör tükürük bezi neoplazmı tanısıyla opere edilip takibe alınan 18 yaş üstü hastalar dahil edildi. Hastalara ait ameliyat notları, epikrizler, takip notları, patoloji raporları hastane bilgi yönetim sistemi üzerinden ve kliniğin arşivinden edinilerek incelendi. İkinci primer tümörü olan, daha önce başka nedenle KT veya RT almış olan, immunsupresif tedavi alan, immunmodulator ilaç kullanan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çalışma 70'i malign, 10'u benign toplam 80 hasta üzerinden yapıldı. Olgular tanılarına göre ayrıldı ve gruplar yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, tümörün lokalizasyonu, TNM evresi (AJCC 2017), uygulanan cerrahi, histopatolojik tanı, tümör derecelendirmesi, perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon, adjuvan tedavi gerekliliği, nüks ya da metastaz gelişimleri açısından değerlendirildi.

3.2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Patoloji Kliniği laboratuvarında, arşivden çıkarılan vakalara ait Hematoksilen&Eozin (H&E) boyalı preparatlar yeniden gözden geçirildi, tanı kategorilerine göre tiplendirme yapıldı. Lenfovasküler, perinöral invazyonlar değerlendirildi. Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinomlar kendi içinde tek göz tarafından düşük, orta ve yüksek olarak derecelendirildi. TNM klasifikasyonuna göre tümör evresi klinik ve patolojik olarak değerlendirildi. İmmünohistokimyasal çalışma için tamamen tümöral alanı içeren uygun lamlara ait parafin bloklar seçildi.

3.3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMALAR

Pozitif şarjlı lamlara %10'luk formalin fikse, tümörü temsil eden parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. İmmünohistokimyasal metotla primer antikor olarak PD-L1 Rabbit Monoclonal Primary Antibody (SP263, Roche, Almanya) antikoruna ile Ventana Benchmark XT marka cihazda otomatize olarak boyama yapıldı. Datasında belirtildiği gibi pozitif kontrol olarak plasenta kullanıldı (Şekil-6, Ek 3). Antikor kullanıma hazır olarak temin edildi, dilüsyon uygulanmadı. Tüm örnekler ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse Ni fotomikroskop) değerlendirildi.



Şekil-6: Plasenta dokusunda PD-L1'in pozitif kontrol boyanması (IHC, PD-L1x40)

3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

İmmünohistokimyasal değerlendirmede PD-L1 için sitoplazmik ve membranöz boyanma pozitif olarak kabul edildi. Değerlendirme tümör hücrelerinde ve lenfoid stroma içeren tümörler için tümör infiltrate mononükleer hücrelerde olmak üzere 2 kategoride yapıldı. Her iki kategoride de boyanmanın en yaygın olduğu odaklar değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı hasta bilgilerini bilmeyen tek patolog tarafından tümör hücrelerinde ve tümör infiltrate mononükleer hücrelerde Tablo-6'da belirtilen özelliklere göre değerlendirildi. Tümör infiltrate mononükleer hücrelerin varlığı ayrıca derecelendirilip; hücre varlığı ve boyanma yaygınlığı çarpımıyla elde edilen bir skor oluşturuldu.

Tablo 6: İmmünohistokimyasal boyanma değerlendirme sistemi.

Tümör hücresinde PD-L1 boyanma yaygınlığı 0: Hiç boyanma yok 1: %5 veya daha az boyanma 2: %5'ten daha fazla boyanma (0:Negatif, 1 ve 2: Pozitif boyanma)
Tümör infiltrate mononükleer hücre varlığı 0: Yok 1: Fokal 2: Ilımlı 3: Orta 4: Belirgin
Tümör infiltrate mononükleer hücrelerde PD-L1 boyanma yaygınlığı 0: Hiç boyanma yok 1: %5 veya daha az boyanma 2: %5'ten daha fazla boyanma
Skor Tümör infiltrate mononükleer hücre varlığı x Tümör infiltrate mononükleer hücrelerde boyanma yaygınlığı

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler IBM SPSS for Windows Version 22.0 paket programında yapıldı. Sayısal değişkenler ortalama±standart sapma ve median [min-maks] ile kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile özetlendi. Gruplar sayısal değişkenler bakımından karşılaştırılmadan önce parametrik test varsayımları (normallik ve varyansların homojenliği) kontrol edildi. Sayısal değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro Wilks testi ile incelendi. Karşılaştırılan grupların varyanslarının homojenliği ise Levene testi ile incelendi. Grupların sayısal değişkenler bakımından karşılaştırılması grup sayısına göre Mann Whitney U veya Kruskal Wallis testi ile yapıldı. Gruplar arasında kategorik değişkenler bakımından farklılık olup olmadığı ki kare testi ile incelendi. Genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım kestirimleri Kaplan Meier yöntemi ile elde edildi. Sağkalım karşılaştırmaları ise log-rank testi ile yapıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

3.6. ETİK KURUL ONAYI

Prospektif klinik araştırma olarak Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 17.12.2018 tarihinde 57/32 karar nolu etik kurul onayı alınmıştır (Ek 2).

Gerekli bütçe hastanemizin Bilimsel Çalışmaları Destekleme Kurulu tarafından 15.01.2019 tarihli 71/2 nolu kararıyla karşılanmıştır. Hiçbir kurum ve kuruluş ile ilişkisi yoktur.



4. BULGULAR

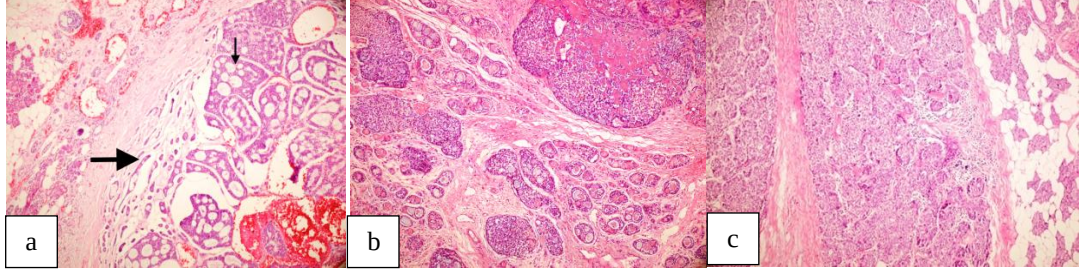
Çalışmamıza 70 malign, 10 benign toplam 80 tükürük bezi primer tümörü olan hasta dahil edildi. Malign hastaların cinsiyet, yaş, sigara kullanımı gibi demografik verileri ve tümör lokalizasyonu, tümörün histopatolojik tanısı, tümör derecesi aşağıdaki tabloda özetlendi (Tablo 7). Bu değerlendirme parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamış ve dolayısıyla çalışmamızın homojenitesini göstermektedir.

Tablo 7: Malign tükürük bezi tümürlü hastaların karakteristik özellikleri

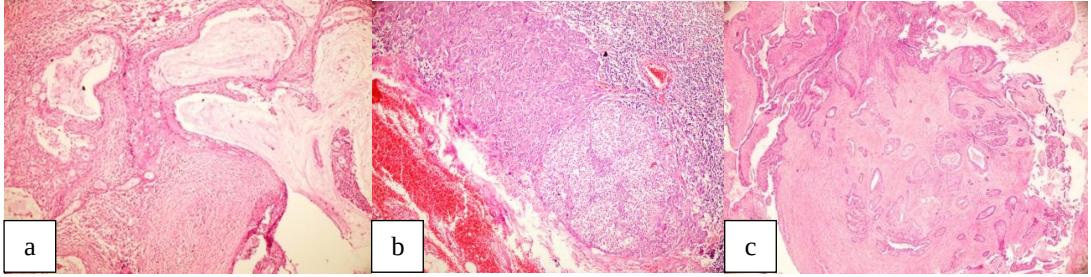
Hasta özellikleri	Toplam sayı (n:70)	Yüzdesi(%)
Cinsiyet		
Erkek	34	48.6
Kadın	36	51.4
Sigara içimi	22	52.3
Yaş	Median:52.4	Min-Max:20-87
Taraf		
Sağ/Sol	31/39	44.3/55.7
Lokalizasyon		
Majör	48	68.6
Parotis	36	51.4
Submandibuler	9	12.9
Sublingual	3	4.3
Minör	22	31.4
Bukkal	4	5.7
Sert damak	3	4.3
Dil kökü	1	1.4
Nazal kavite	3	4.3
Yumuşak damak	1	1.4
Ağız tabanı	1	1.4
Paranasal sinüs	7	10
Dudak	2	2.9
Histopatolojik tanı		
AKK	25	35.7
MEK	22	31.4
Tükürük bezi kanal karsinomu	7	10
Asinik hücreli karsinom	6	8.6
Lenfoepitelyoma	3	4.3
Adenokarsinom, NOS	3	4.3
Karsinoma ex pleomorfik adenom	1	1.4
Malign epitelyal tümör	1	1.4
Skvamöz hücreli karsinom	1	1.4
Sekretuar karsinom	1	1.4
Derecelendirme		
Düşük	31	44.3
Orta	13	18.6
Yüksek	26	37.1

*AKK: Adenoid kistik karsinom, MEK: Mukoepidermoid karsinom, NOS: Başka yerde sınıflandırılmamış

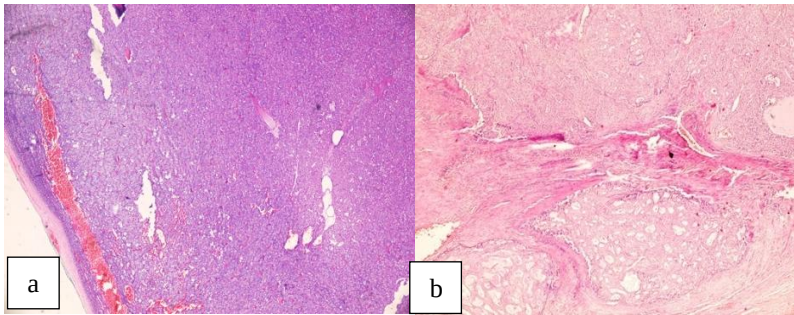
Çalışmamıza dahil olan malign tükürük bezi tümörlerinin bazılarının H&E boyasındaki görüntüleri Şekil-7, 8, 9’da yer almaktadır.



Şekil-7: Adenoid kistik karsinom (H&Ex400). a:Tübüler ve kribriform patern bir arada, düşük dereceli, kalın siyah ok tübüler, ince siyah ok kribriform paterni göstermekte, b:Fokal solid patern, orta dereceli, c:Solid patern, yüksek dereceli.



Şekil-8: Mukoepidermoid karsinom. a: Kistik patern, düşük dereceli (H&Ex100), b: Düşük ve yüksek dereceli bir arada (H&Ex100), c: Orta dereceli (H&Ex400).



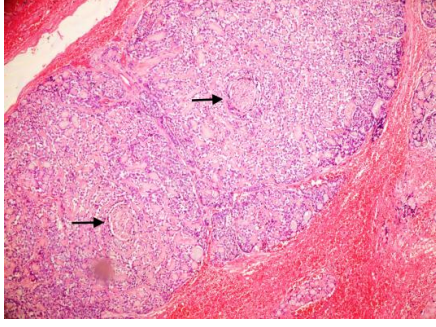
Şekil-9: a: Adenokarsinom, NOS, düşük dereceli (H&Ex400), b: Asinik hücreli karsinom (H&Ex400).

Histopatolojik tanılarına göre düşük, orta ve yüksek derecelere sahip hasta sayıları, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlıklarına göre hasta dağılımları Tablo-8’de sunulmuştur. Adenoid kistik karsinomlu 25 hastanın %80’inde perinöral invazyon (PNİ) izlenmiş, yüksek dereceli olarak nitelendirilen tükürük bezi kanal karsinomlu 7 hasta, lenfoepitelyomalı 3 hastanın hepsinde, karsinoma ex pleomorfik adenomlu ve skuamöz hücreli karsinomlu 1 hastada PNİ ve lenfovasküler (LVİ) izlenmiştir.

Tablo 8: Histopatolojik tanılarına göre derece, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı

Histopatolojik tanı	Derece	Hasta sayısı	LVİ var	LVİ yok	PNİ var	PNİ yok
AKK	Düşük	10	0	10	6	4
	Orta	11	1	10	10	1
	Yüksek	4	1	3	4	0
MEK	Düşük	13	2	11	3	10
	Orta	2	1	1	0	2
	Yüksek	7	6	1	7	0
Asinik hücreli karsinom	Düşük	6	0	6	0	6
Tükürük bezi kanal karsinomu	Yüksek	7	7	0	7	0
Lenfoepitelyoma	Yüksek	3	3	0	3	0
Karsinoma ex pleomorfik adenom	Yüksek	1	1	0	1	0
Malign epitelyal tümör	Yüksek	1	0	1	1	0
Adeokarsinom, NOS	Düşük	1	0	1	0	1
	Yüksek	2	0	2	1	1
Skuamöz hücreli karsinom	Yüksek	1	1	0	1	0
Sekretuar karsinom	Düşük	1	0	1	1	0
Toplam		70 (%100)	23 (%32.9)	47 (%67.1)	45 (%64.3)	25 (%35.7)

*AKK: Adenoid kistik karsinom, MEK: Mukoepidermoid karsinom, NOS: Başka yerde sınıflandırılmamış, LVİ: Lenfovasküler invazyon, PNİ: Perinöral invazyon



Şekil-10: Adenoid kistik karsinomda perinöral invazyon varlığı, siyah ok sinir hücrelerini sarmış tümör hücrelerini temsil etmekte (H&Ex200).

Hastaların büyük çoğunluğunu T1N0M0 (Evre 1) hastalar oluşturmuş olup, hiçbir hastada tanı anında ve sonrasında metastaz izlenmemiştir. TNM evresi ve prognostik evre gruplarının dağılımı Tablo-9’da verilmiştir.

Tablo 9: TNM evresine göre hasta dağılımı.

TNM	Hasta sayısı (n:70)	Yüzdesi (%)
T1	22	34
T2	23	32.9
T3	16	22.9
T4a	9	12.9
pN0	52	74.3
pN1	2	2.9
pN2a	2	2.9
pN2b	9	12.9
pN3b	5	7.1
M0	70	100
Evre 1	22	31.4
Evre 2	18	25.7
Evre 3	12	17.1
Evre 4a	13	18.6
Evre 4b	5	7.1

On üç (%18.6) hastaya süperfisyal parotidektomi uygulanırken, 24 (%34.3) hastaya total parotidektomi, 2 (%2.9) hastaya radikal parotidektomi, 5 (%7.1) hastaya submandibuler bez eksizyonu, minör tükürük bezi kaynaklı tümör nedeniyle 26 (%37.1) hastaya cerrahi uygulandı. Bu hastaların 21 (%44.3)'ine en az seviye 1 ve 2'yi içerecek boyun diseksiyonu uygulandı.

Hastaların 32 (%45.7)'si adjuvan tedavi almazken, 30 (%42.9)'u adjuvan RT, 8 (%11.4)'i adjuvan KRT aldı.

Altmış üç (%90) hastada nüks izlenmezken, 7 (%10) hastada nüks izlendi. Nüks izlenen hastalardan 4'ü (%57.1) hastalık nedeniyle kaybedilirken, diğerleri takibe devam etmektedir.

Hastaların takip sürelerine bakıldığında ortalama 39.1 ay (min 1 – max 120 ay) içerisinde 17 hasta tümöre bağlı veya sistemik başka nedenlerden kaybedilmiştir.

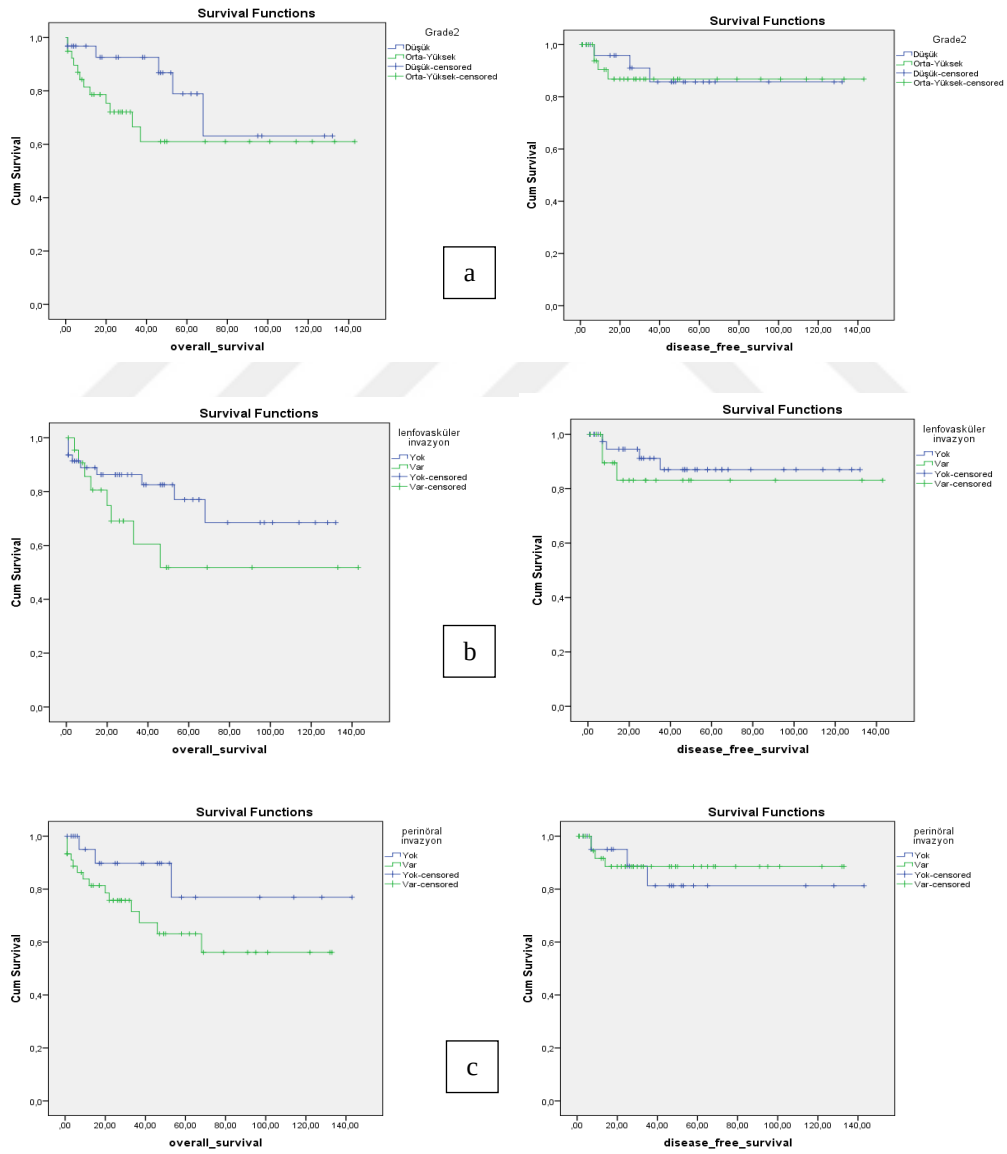
Çalışmamıza dahil edilen malign tükürük bezi tümörlerinin derece, lenfovasküler ve perinöral invazyonlarının sağkalım üzerine etkisi Tablo-10 ve Şekil-11'dedir. İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilmese de izlenmektedir ki; düşük dereceli tümörlerin orta-yüksek derecelilere göre 5 yıllık toplam sağkalım oranları daha yüksektir. Hastalıksız sağkalım oranlarının toplam sağkalım oranlarından yüksek olması ise hastaların başka nedenlerle kaybedilmelerinin neden olduğu buradan çıkarılabilir. Aynı zamanda görülmektedir ki; istatistiksel olarak anlamlı olmasa da LVİ invazyon varlığı 5 yıllık toplam ve hastalıksız sağkalım oranlarını düşürmektedir. Yine aynı şekilde PNİ varlığı olan hastaların da 5 yıllık toplam sağkalım süreleri, olmayanlara göre kısa bulunmuştur. Bu bulgu da istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamasına karşın önemlidir.

Çalışmaya dahil edilen 25 adenoid kistik karsinomlu hastada 5 yıllık toplam sağkalım oranı %70.2; hastalıksız sağkalım oranı %95.2 bulunurken; 22 mukoepidermoid karsinomlu hastada 5 yıllık toplam sağkalım oranı %60.5; hastalıksız sağkalım oranı %84.8 bulunmuştur. Sayıca fazla olan bu alt gruplara bakıldığında da görülmektedir ki; hastaların çoğunluğu başka bir sebepten hayatlarını kaybetmişlerdir. AKK ve MEK arasında da istatistiksel anlamda birbirlerine bir üstünlükleri bulunmamıştır.

Tablo 10: Tümör derecesine, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığına göre sağkalım oranları.

	Hasta sayısı (n:70)	5 yıllık toplam sağkalım (%)	5 yıllık hastalıksız sağkalım (%)
Düşük dereceli	31	78.9	85.7
Orta-yüksek dereceli	39	61	86.8
p değeri		0.133	0.801
LVİ var	23	51.8	83.1
LVİ yok	47	77	87
p değeri		0.142	0.468
PNİ var	45	63.1	88.5
PNİ yok	25	76.9	81.3
p değeri		0.103	0.757

*LVİ: Lenfovasküler invazyon, PNİ: Perinöral invazyon.



Şekil-11: Malign tükürük bezi tümörlerinin düşük- orta/yüksek dereceye göre (a), LVİ (b) ve PNİ (c) varlığına göre 5 yıllık toplam ve hastalıksız sağkalım grafikleri

4.1. TÜMÖR HÜCRELERİNDE BOYANMA ORANLARI

Çalışmamızdaki 70 hastanın tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma yaygınlığı Tablo-11’de yer almaktadır. Hastaların % 24.3’ünde boyanma olduğu görülmüştür. Hasta sayısının az olması nedeniyle karşılaştırma yapılabilmesi amacıyla %5’in altında ve üstünde boyanan hastalar birleştirilip bir grup halinde sunulmuştur.

Tablo 11: Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma yaygınlığı

PD-L1 boyanma yaygınlığı	Hasta sayısı (n:70)		Yüzdesi (%)	
Boyanma yok	53		75.7	
%5’in altında boyanma var	10	17	14.3	24.3
%5’in üstünde boyanma var	7		10	
Toplam	70		100	

Çalışmamıza dahil edilen 70 malign primer tükürük bezi tümörü değerlendirildiğinde yüksek dereceli olan 14 hastanın 12 (%85.7)’sinde; orta dereceli olan 11 hastanın 2 (%18.1)’sinde; düşük dereceli olan 28 hastanın yalnızca 3 (%10.7)’ünde PD-L1 pozitifliği izlendi ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.004$).

Lenfovasküler invazyonu olan 13 hastanın 10 (%76.9)’unda PD-L1 boyanma varlığı izlenmesi istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ($p=0.02$).

Perinöral invazyonu olan hastaların PD-L1 boyanma varlıkları açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.74$). Fakat yine de PNİ olan hastalar arasında boyanma oranı %26.6 iken; PNİ olmayanlar arasında boyanma oranı %20 olarak izlenmiş olup, PNİ’nin boyanma oranını arttırdığı söylenebilir (Tablo 12).

Histopatolojik tanı gruplarında en fazla boyanma oranına %66.7 ile lenfoepitelyoma ve adenokarsinom sahip iken; tükürük bezi kanal karsinomunda

boyanma oranı %42.9, MEK’lerde %31.8, AKK’larda %8 olarak bulunmuştur. Asinik hücreli karsinom tanılı 6 hastanın hiçbirinde boyanma izlenmemiştir. Düşük dereceli bir tümör olarak değerlendirilen sekretuar karsinom tanılı bir hastamızda boyanma olmadığı izlenmiştir. Yüksek dereceli tümörler olarak kabul gören malign epitelyal tümör tanılı olan bir hastamız pozitif boyanırken; karsinoma ex pleomorfik adenom ve skuamöz hücreli karsinom tanılı birer hastamızda boyanma olmamıştır. Hasta sayılarının az olması nedeniyle bir grubun diğerine karşı boyanma konusunda istatistiksel açıdan anlamlı bir üstünlüğü bulunmamıştır.

Tablo 12: Histopatolojik tanı, tümör derecesi, lenfovasküler ve perinöral invazyon durumuna göre PD-L1 boyanma varlığı

	Boyanma yok (hasta sayısı)	Boyanma var (hasta sayısı)	Toplam	p değeri
Histopatolojik tanı				
AKK	23	2	25	
MEK	15	7	22	
Asinik hücreli karsinom	6	0	6	
Tükürük bezi kanal karsinomu	4	3	7	
Lenfoepitelyoma	1	2	3	
Karsinoma ex pleomorfik adenom	1	0	1	
Malign epitelyal tümör	0	1	1	
Adeokarsinom, NOS	1	2	3	
Skuamöz hücreli karsinom	1	0	1	
Sekretuar karsinom	1	0	1	
Derecelendirme				
Düşük	28	3	31	
Orta	11	2	13	0.004
Yüksek	14	12	26	
LVİ var	13	10	23	
LVİ yok	40	7	47	0.02
PNİ var	33	12	45	
PNİ yok	20	5	25	0.74
Toplam	53 (%75.7)	17 (%24.3)	70 (%100)	

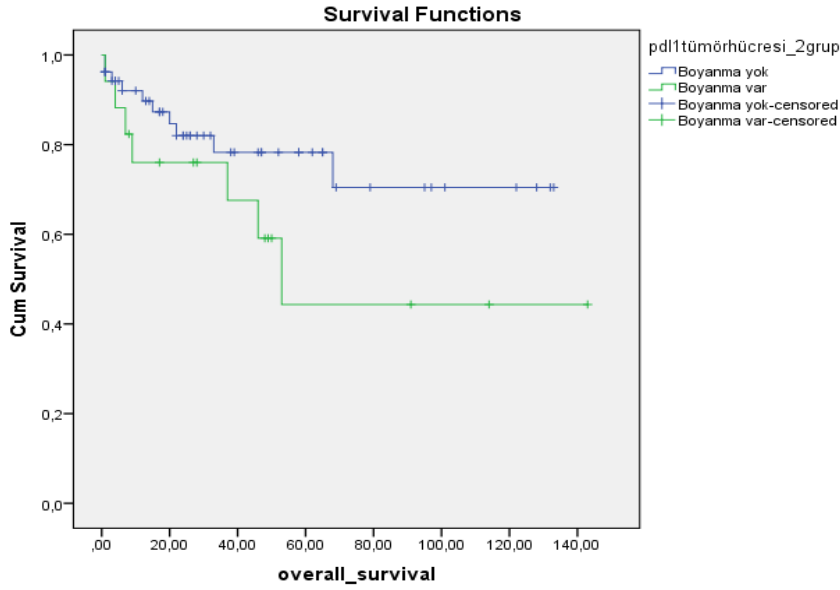
*AKK: Adenoid kistik karsinom, MEK: Mukoepidermoid karsinom, NOS: Başka yerde sınıflanmamış, LVİ: Lenfovasküler invazyon, PNİ: Perinöral invazyon

Tablo 13’de TNM evrelerinde ve prognostik evre gruplarında PD-L1 boyanma varlığı ve her evrenin kendi içerisinde boyanma yüzdeleri verilmiştir. İstatistiksel olarak evrelerin birbirlerine herhangi bir üstünlüğü bulunmamıştır. Ancak verilere bakıldığında evre arttıkça boyanma yüzdesinde artma olduğu dikkat çekmektedir.

Tablo 13: TNM evresine göre PD-L1 boyanma varlığı

TNM	Boyanma yok	Boyanma var	Toplam
T1	18	4 (%18.1)	22
T2	17	6 (%26)	23
T3	11	5 (%31.2)	16
T4a	7	2 (%22.2)	9
pN0	41	11 (%21.1)	52
pN1	1	1 (%50)	2
pN2a	1	1 (%50)	2
pN2b	7	2 (%22.2)	9
pN3b	3	2 (%40)	5
Evre 1	18	4 (%18.1)	22
Evre 2	14	4 (%22.2)	18
Evre 3	8	4 (%33.3)	12
Evre 4a	10	3 (%23)	13
Evre 4b	3	2 (%40)	5
Toplam	53(%75.7)	17 (%24.3)	70 (%100)

PD-L1 negatif tümör hücrelerine sahip olan hastaların 5 yıllık toplam sağkalım oranı %78.3; PD-L1 pozitif tümör hücrelerine sahip hastalarda 5 yıllık toplam sağkalım oranı %44.3 olarak tespit edildi. PD-L1 pozitifliğinin sağkalımda belirgin azalmaya neden olduğu görüldü, ancak iki grup arasında anlamlı fark izlenmedi ($p=0.133$) (Şekil-12).



Şekil-12: PD-L1 pozitif ve negatif tümör hücrelerine sahip hastaların 5 yıllık toplam sağkalım grafiği.

PD-L1 negatif tümör hücrelerine sahip olan hastaların 5 yıllık hastalısız sağkalım oranı %78.9 bulunurken; PD-L1 pozitif tümör hücrelerine sahip hastalarda 5 yıllık hastalısız sağkalım oranı %87.1 bulundu ve iki grup arasında anlamlı fark izlenmedi ($p=0.66$).

AKK ve MEK hastalarında kendi içlerinde düşük, orta-yüksek dereceye göre, LVİ ve PNİ varlığına göre PD-L1 boyanma oranlarına bakıldığında dereceler arasında ve invazyonlar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı (Tablo 14,15). Fakat verilere bakıldığında MEK'lerin AKK'lara göre daha fazla PD-L1 eksprese ettiği ve MEK'ler arasında da orta-yüksek derecelilerin düşük derecelilere göre daha fazla PD-L1 eksprese ettiği izlendi. AKK'lar arasında ise böyle bir farklılık izlenmedi.

LVİ ve PNİ açısından AKK ve MEK'ler incelendiğindeyse; LVİ ve PNİ'nin MEK'lerde daha çok izlendiği görüldü. MEK'lerde LVİ ve PNİ varlığının PD-L1 ekspresyonunu arttırdığı görüldü.

Tablo 14: Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinom hastalarının derecelerine göre PD-L1 boyanma varlığı.

	Derece	Boyanma yok	Boyanma var	Toplam	p değeri
AKK	Düşük	9	1 (%10)	10	1
	Orta-yüksek	14	1 (%6.66)	15	
MEK	Düşük	11	2 (%15.3)	13	0.074
	Orta-yüksek	4	5 (%55.5)	9	

*AKK: Adenoid kistik karsinom, MEK: Mukoepidermoid karsinom.

Tablo 15: Adenoid kistik karsinom ve mukoepidermoid karsinom hastalarının lenfovasküler ve perinöral invazyon varlıklarına göre PD-L1 boyanma varlığı.

		Boyanma yok	Boyanma var	Total	p değeri
AKK	LVİ yok	21	2 (%8.69)	23	1
	LVİ var	2	0 (%0)	2	
	PNİ yok	4	1 (%20)	5	
	PNİ var	19	1 (%5)	20	
MEK	LVİ yok	11	2 (%15.3)	13	0.074
	LVİ var	4	5 (%55.5)	9	
	PNİ yok	9	3 (%25)	12	
	PNİ var	6	4 (%40)	10	

*AKK: Adenoid kistik karsinom, MEK: Mukoepidermoid karsinom, LVİ: Lenfovasküler invazyon, PNİ: Perinöral invazyon.

4.2. TİMİH'LERDE BOYANMA ORANLARI

Tümör infiltrate mononükleer hücreler 27 (%38.5) hastada tespit edildi. Bu hücrelerin PD-L1 boyanma oranları, yaygınlığı ve elde edilen skorlar Tablo-16'da sunulmuştur.

Tablo 16: Tümör infiltrate mononükleer hücrelerin varlığı ve PD-L1 boyanma varlığı.

TİMH varlığı	Hasta sayısı (n:70)	Yüzdesi (%)
Yok (0)	43	61.4
Fokal (1)	16	22.9
İlımlı (2)	5	7.1
Orta (3)	3	4.3
Belirgin (4)	3	4.3
TİMH’de PD-L1 boyanma yaygınlığı		
Yok (0)	43	61.4
%5’in altında (1)	16	22.9
%5’in üstünde (2)	11	15.7
Ortalama skor		
0	43	61.4
1	16	22.8
4	5	7.14
6	3	4.2
8	3	4.2
Toplam	70	100

*TİMH: Tümör infiltrate mononükleer hücre.

Histopatolojik alt tipler karşılaştırıldığında, tümörlerin dereceleri, PNI ve LVI varlıkları arasında tümör infiltrate mononükleer hücrelerde PD-L1 skoru açısından anlamlı fark bulunmadı (Tablo 17). En fazla skor adenokarsinomlardayken (2.67), bunu lenfoepitelyoma (2.33) takip etmiş, sonra da tükürük bezi kanal karsinomu (1.14) gelmiştir. Asinik hücreli karsinomlarda, karsinoma ex pleomorfik adenomu ve skuamöz hücreli karsinomu olan bir hastamızın skoru sıfır olarak gelmiştir.

İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın derecenin yükselmesiyle ve PNI, LVI varlığıyla skurun arttığı izlenmiştir.

Tablo 17: Histopatolojik alt tipler, dereceler, lenfovasküler ve perinöral invazyona göre tümör infiltrate mononükleer hücrelerde PD-L1 skoru

Histopatolojik tanı	Hasta sayısı	Ortalama skor	p
AKK	25	0.36	
MEK	22	2	
Asinik hücreli karsinom	6	0	
Tükürük bezi kanal karsinomu	7	1.14	
Lenfoepitelyoma	3	2.33	
Karsinoma ex pleomorfik adenom	1	0	
Malign epitelyal tümör	1	1	
Adeokarsinom, NOS	3	2.67	
Skuamöz hücreli karsinom	1	0	
Sekretuar karsinom	1	1	
Derecelendirme			
Düşük	31	0.94	
Orta	13	0.31	0.095
Yüksek	26	1.73	
LVİ var	23	1.78	
LVİ yok	47	0.79	0.079
PNİ var	45	1.22	
PNİ yok	25	0.92	0.248
Toplam	70	1.11	

*AKK: Adenoid kistik karsinom, MEK: Mukoepidermoid karsinom, LVİ: Lenfovasküler invazyon, PNİ: Perinöral invazyon.

TNM evrelemesine göre TİMİH'lerde PD-L1 skorunun istatistiksel olarak değişiklik göstermediği bulundu (Tablo 18). Fakat T evresi arttıkça skorun da belirgin olarak artmış olduğu izlendi.

Tablo 18: TNM evrelemesine göre TİMİH’lerde PD-L1 skoru.

TNM	Hasta sayısı	Skor	p
T1	22	0.86	0.973
T2	23	1.13	
T3	16	1.13	
T4a	9	1.67	
N0	52	0.92	0.893
N1	2	2	
N2a	2	8	
N2b	9	0.89	
N3b	5	0.4	
Evre 1	22	0.86	0.88
Evre 2	18	0.89	
Evre 3	12	1.42	
Evre 4a	13	1.85	
Evre 4b	5	0.4	
Toplam	70	1.11	

Nüks olmayan hastalarda (n:63) skor 1.19 iken; nüks olanlarda (n:7) skor 0.43 olarak bulunmuştur (p=0.893).

Adenoid kistik ve mukoepidermoid karsinomlarda derecelere, LVİ ve PNİ varlığına göre skorlar incelendi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı görüldü (Tablo 19). AKK’larda derece yükseldikçe ve PNİ varlığıyla skorun da yükseldiği izlenmiştir. MEK’lerde PNİ ve LVİ varlığıyla skorun da yükseldiği izlenmiştir.

Tablo 19: AKK ve MEK’lerde derece, LVİ ve PNI varlığına göre TİMİH’lerde PD-L1 skoru.

	Skor	p değeri
AKK		
Düşük derece	0.1	0.338
Orta-yüksek derece	0.53	
MEK		
Düşük derece	2.08	0.948
Orta-yüksek derece	1.89	
AKK		
LVİ var	0	0.549
LVİ yok	0.39	
AKK		
PNI var	0.4	0.869
PNI yok	0.2	
MEK		
LVİ var	2.89	0.144
LVİ yok	1.38	
MEK		
PNI var	2.6	0.283
PNI yok	1.5	

*AKK: Adenoid kistik karsinom, MEK: Mukoepidermoid karsinom

Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitif boyanan grup içerisinde düşük, orta ve yüksek dereceli tümörler kendi içerisinde değerlendirilip skor için bir limit değer verilmek istendi; fakat değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığından verilemedi (Tablo 20).

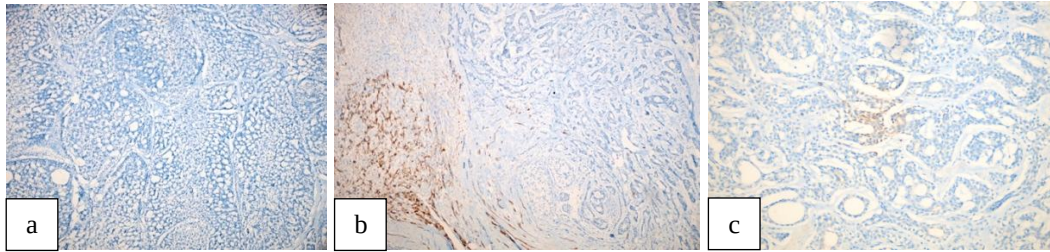
Tablo 20: Tümör hücresinde PD-L1 pozitif boyanan grup içerisindeki hastaların derecelerine göre TİMİH'deki PD-L1 skoru.

PD-L1 boyanan tümörlerin dereceleri	TİMİH'de PD-L1 skoru	Hasta sayısı (n:17)
Düşük	3	3
Orta	0.5	2
Yüksek	3.58	12
Ortalama	3.12	17

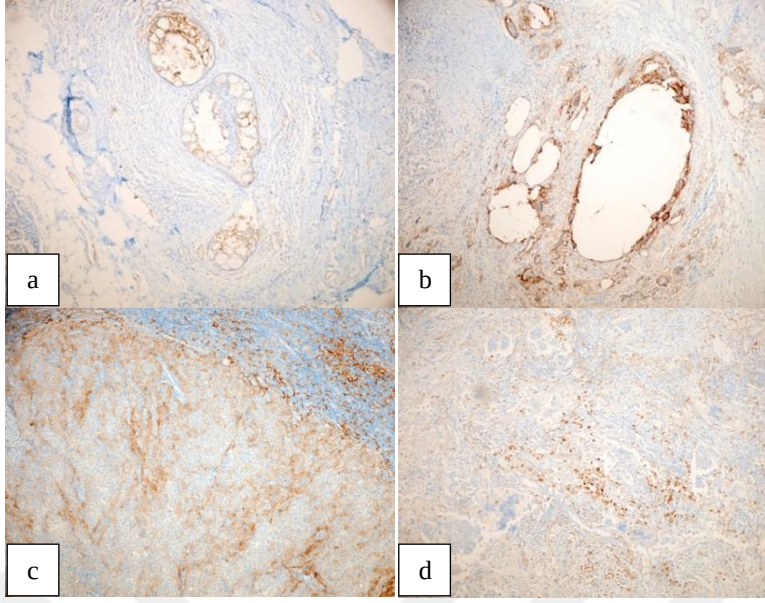
*TİMİH: Tümör infiltre mononükleer hücre.

Tümör hücresinde PD-L1 boyanma pozitifliği varsa TİMİH'de skor ortalaması 3.12 iken; PD-L1 boyanma negatifliğinde skor ortalaması 0.47 olarak bulunmuştur ($p=0.000$).

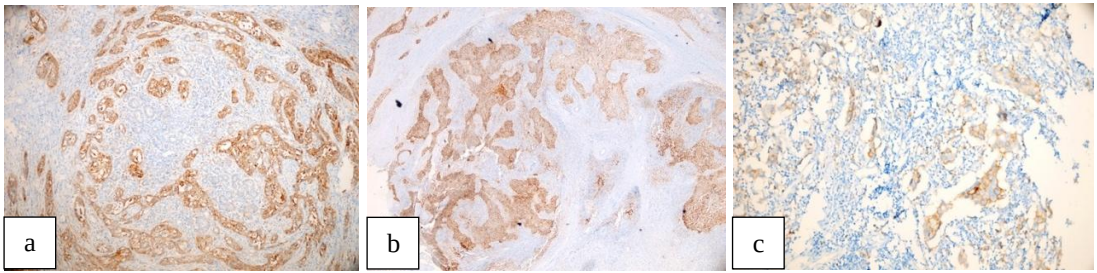
Tümör hücrelerinde ve TİMİH'lerde PD-L1 boyanma örnekleri Şekil-13,14,15'te yer almaktadır.



Şekil-13: Adenoid kistik karsinom. **a:** Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu yok; tümör infiltre mononükleer hücre yok, skoru 0 (IHC, PD-L1x200), **b:** Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu yok; tümör infiltre mononükleer hücre miktarı şiddetli(2), ılımlı derecede PD-L1 ekspresyonu mevcut, skoru 4 (IHC, PD-L1x200), **c:** Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu %5'in altında(1); tümör infiltre mononükleer hücre yok, skoru 0 (IHC, PD-L1x400)



Şekil-14: Mukoepidermoid karsinom. **a:** Düşük derece, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu %5'in altında(1); tümör infiltrate mononükleer hücre yok, skoru 0 (IHC, PD-L1x400), **b:** Düşük derece, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu %5'in üstünde(2); tümör infiltrate mononükleer hücre miktarı hafif(1), fokal PD-L1 ekspresyonu var, skoru 1 (IHC, PD-L1x100), **c:** Orta derece, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu %5'in üstünde(2); tümör infiltrate mononükleer hücre miktarı şiddetli(2), ılımlı PD-L1 ekspresyonu var, skoru 4 (IHC, PD-L1x200), **d:** Orta derece, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu %5'in altında(1); tümör infiltrate mononükleer hücre miktarı şiddetli(2), ılımlı PD-L1 ekspresyonu var, skoru 4 (IHC, PD-L1x100)



Şekil-15: **a:** Adenokarsinom, NOS, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu %5'in üstünde(2); tümör infiltrate mononükleer hücre hafif miktarda(1), PD-L1 ekspresyonu fokal(1), skoru 1 (IHC, PD-L1x100), **b:** Lenfoepitelyal karsinom, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu %5'in üstünde(2); tümör infiltrate mononükleer hücre şiddetli miktarda(2), PD-L1 ekspresyonu orta derecede(3), skoru 6 (IHC, PD-L1x400), **c:** Tükürük bezi kanal karsinomu, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu %5'in üstünde(2); tümör infiltrate mononükleer hücre yok(0), skoru 0 (IHC, PD-L1x200)

Çalışmamızda yer alan 10 benign tükürük bezi tümörüne sahip hastaların özellikleri Tablo-21’de yer almaktadır.

Tablo 21: Benign tükürük bezi tümörlü hastaların karakteristik özellikleri.

	Hasta sayısı (n:10)	Yüzdesi (%)
Cinsiyet Erkek/Kadın	6/4	60/40
Yaş	Ortalama: 51.1	Min-Max: 37-65
Histopatolojik tanı		
Pleomorfik adenom	7	70
Stromadan zengin	3	30
Sellüler	4	40
Warthin	3	30
Lokalizasyon		
Parotis	9	90
Sert damak	1	10
Uygulanan cerrahi		
Süperfisyal parotidektomi	9	90
Tümör eksizyonu	1	10

Benign tükürük bezi tümörü olan 10 hastanın hem tümör hücrelerinde hem de tümör infiltrate mononükleer hücrelerinde PD-L1 boyanması izlenmemiştir (Tablo 22). Bu da göstermektedir ki; benign tümörlerde mononükleer hücre infiltrasyonu görülmemektedir.

Tablo 22: Benign tükürük bezi tümörlü hastaların tümör hücrelerindeki PD-L1 boyanma yaygınlığı ve TİMİH’lerdeki PD-L1 skoru.

	Hasta sayısı (n:10)	
Tümör hücresinde PD-L1 boyanma yaygınlığı	10	Boyanma yok
TİMİH’de PD-L1 boyanma skoru	10	0

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada 70 malign, 10 benign tükürük bezi tümöründe, tümör hücrelerinde ve tümör infiltrate mononükleer hücrelerdeki PD-L1 ekspresyonu araştırıldı. Benign tümörlerde hiç ekspresyon görülmezken; malign tümörlerde ekspresyonun farklı derecelerde olduğu görüldü. Tümör hücresinde PD-L1 ekspresyonunun tümörün derecesi arttıkça ($p=0.004$) ve lenfovasküler invazyon varlığında anlamlı olarak arttığı ortaya çıkarıldı ($p=0.02$). Tümör hücresinde PD-L1 ekspresyonu arttıkça, tümör infiltrate mononükleer hücrelerde de ekspresyonun arttığı bulundu. Fakat ekspresyonun, cinsiyet, yaş, sigara içimi, tümörün büyüklüğü, histopatolojik tanı, tümörün perinöral invazyonu, nodal metastaz, uzak metastaz, evreleme, nüks, sağkalım ile anlamlı olarak ilişkili olmadığı tespit edildi ($p>0.05$).

PD-L1'in tümör hücrelerinde ve TİMİH'lerdeki ekspresyonunun detaylı mekanizması hala bilinmemektedir. Normal koşullarda özellikle sitotoksik T hücrelerde bulunan PD-1 immün kontrol noktası olarak işlev gören bir proteindir ve 2 ligandı vardır: PD-L1 ve PD-L2. T hücreler antijeni tanıyıp aktive olunca, T hücreler ve natural killer hücreler interferon-gama, tümör nekrozis faktör-alfa ve interleokin-2 gibi sitokinler eksprese ederler; böylece PD-L1 tümörde ve çevresindeki immün hücrelerde eksprese edilmeye başlar [39]. TİMİH'lerin rolü tümör büyümesine katkı sağlayan ve tümörün immün cevaptan kaçışını sağlamak üzere ürettiği birçok sitokin ve PD-L1 ekspresyonunu indüklemesi nedeniyle önemlidir. Her ne kadar mekanizmanın tam aydınlatılması zor olsa da TİMİH'lerin yaygınlığı anti-PD-1 monoklonal antikoruna cevap için önemli bir prediktif faktördür [5].

PD-1 geninin insanlarda kromozom 2q37'de lokalize olduğu saptanmıştır [40]. Bolstad ve ark.'ın yaptıkları çalışmada primer Sjögren sendromlu hastalarla sağlıklı hastaların labial minör tükürük bezi spesmenleri karşılaştırılmış ve sağlıklı bireylerde CTLA-4 ve PD-1'nin kromozom analizlerinde mRNA ekspresyonları sifıra yakın bulunmuş [40]. Bu da sağlıklı bir tükürük bezi dokusunda mononükleer hücre akümüasyonu yokken, PD-1 eksprese edecek dokunun olmadığını kanıtlar ve negatif bir immünmodülatör olduğunu destekler.

Harada ve ark. 2018'de çalışmamıza benzer nitelikte yaptıkları bir çalışmada, 47 malign tükürük bezi tümörlü hastanın 24 (%51.1)'ünde tümör hücrelerinde pozitif ekspresyon saptamış. AKK'ların %44'ü, MEK'lerin %63.6'sı, adenokarsinomların %55.6'sı, müsinöz adenokarsinomların %50'sinde pozitiflik saptanmıştır. Tümör hücrelerindeki PD-L1 pozitifliği ile yüksek evre, cerrahi sonrası rekürrens/metastaz gelişimi, kısa sağkalım süresinin birbirleriyle ilişkili olduğunu bulmuşlardır [42].

Çalışmamızda ise 70 hastanın 17'sinde (%24.3) boyanma izlenmiş olup; lenfoepitelyoma ve adenokarsinomlarda %66.6, tükürük bezi kanal karsinomunda %42.8, MEK'lerde %31.8, AKK'larda %8 oranında boyanma olduğu görüldü. Malign epitelyal tümör ve karsinoma ex pleomorfik adenom tanılı birer hastada boyanma izlenirken; asinik hücreli karsinom tanılı 6 hastada, sekretuar karsinom tanılı 1 hastada, skuamöz hücreli karsinom tanılı 1 hastada ise hiç boyanma olmadığı ortaya koyuldu. Çalışmamızda metastatik ve rekürren hasta azlığı ve dahil edilen düşük dereceli tümörler nedeniyle oranların nispeten düşük olduğunu düşünmekteyiz.

Intraoral 30 mukoepidermoid karsinomla yapılan bir çalışmada PD-L1 ekspresyonunun hastaların %16.6'sında arttığı ve immün kaçışın nedeninin olabileceği düşünülmüştür [41].

Çalışmamızda ise mukoepidermoid karsinomlu 22 hastanın %31.8'inde pozitif boyanma olduğu, AKK'lara göre MEK'lerde daha fazla LVİ (%40.9) olduğu görüldü. MEK'lerde düşük dereceli tümörlerde pozitif boyanma %15.3 iken; orta-yüksek dereceli tümörlerde boyanmanın %55.5'e çıktığı izlendi ($p=0.074$). Ayrıca MEK'ler arasında LVİ varlığında PD-L1 ekspresyon oranı %55.5 iken ($p=0.074$); PNİ varlığında PD-L1 ekspresyonu %40 olarak bulundu ($p=0.652$).

Sato ve ark.'ın yaptıkları çalışmada 18 tükürük bezi kanal karsinomunda PD-L1 ekspresyonu ve bunun prognoz ile ilişkisi araştırılmış. Agresif bir tümör olan kanal karsinomunda, 4 hastada yüksek olmak üzere 9 hastada (%50) PD-L1 ekspresyonu izlenmiş. İstatistiksel olarak bu hastaların düşük PD-L1 ekspresyonu olan ve hiç ekspresyon olmayan tümörlere göre sağkalımlarının kısa olduğu ortaya çıkarılmış [44]. Haderlein ve ark. 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada 67 tükürük

bezi kanal karsinomu olan 50 hastanın spesmenlerinde PD-L1 ekspresyonu araştırmışlar ve %5'in üstünde sitoplazmik boyanmayı pozitif kabul etmişler, %50 oranında pozitiflik bulmuşlar. PD-L1 ekspresyonuyla cinsiyet, yaş, tümör evresi ve büyüklüğü, nodal metastaz evresi arasında anlamlı bir korelasyon bulamamışlar [42].

Çalışmamızda tükürük bezi kanal karsinomlu 7 hasta bulunmaktaydı ve bu hastaların %42.9'unda pozitif PD-L1 boyanması olduğu izlendi. Yüksek dereceli bir tükürük bezi karsinomu olarak kabul edilen bu hastaların hepsinde LVİ ve PNI varlığı izlendi.

Mukaigawa ve ark. 219 tükürük bezi karsinomunda PD-L1 ekspresyonunu araştırmış ve bu çalışma tüm tükürük bezi tümörlerini içeren sayıca en fazla hastaya sahip çalışmadır. Bu çalışmada %1'den daha fazla boyanmayı pozitif kabul etmiş, %50 hastada pozitiflik saptanmışlar. Pozitif boyanan tümörlerin daha çok majör glandlarda (%86), T3-4 tümör evresinde (%70), N1-3 nodal metastaz evresinde (%62), lenfovasküler invazyonu olan (%66), perinöral invazyonu olmayan (%60), yüksek derecede olan (%90) tümörler olduğu görölmüş [43].

Çalışmamızda PD-L1 pozitifliği %5'in altında ve üstünde olmak üzere değerlendirilmiş; fakat sonrasında hasta sayısı yetersizliği nedeniyle gruplar birleştirilmek zorunda kalınmıştır. Hastalarımızın %24.3'ünde boyanma pozitifliği gözlenirken, boyanan tümör dokularının %82.3'ünün majör glandlarda ($p=0.269$), %41.1'inin T3-4 tümör evresinde, %35.2'sinin N1-3 nodal metastaz evresinde, %58'inin LVİ'si ($p=0.02$), %70.5'inin PNI'si olduğu ($p=0.74$), %82.3'ünün orta-yüksek dereceli ($p=0.04$) olduğu göröldü. Fakat bu şekilde görölen yüksek oranların hasta popölasyonunun daha çok karsinoma ex pleomorfik adenom, tükürük bezi kanal karsinomu gibi yüksek dereceli tümörlerde toplanmasından kaynaklandığı düşünölmüştür.

Chang ve ark. 70 tükürük bezi karsinomunda PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonunu araştırmış. PD-L2'nin PD-L1'e göre tümör hücrelerinde daha fazla eksprese edildiğini bulmuşlar [44]. Pardoll ve ark. da PD-L2'yi araştırmışlar; fakat PD-L1'in fazla ekspresyonunun kötü prognozla anlamlı ilişkisi bulunmuş, PD-L2'nin herhangi bir klinikopatolojik faktörle ilişkisi saptanmamış [45].

Bahsedilen bu değişik sonuçların temel nedenleri belirsiz kalmakla birlikte birkaç olasılık düşünölmektedir. Öncelikle immünohistokimyasal boyamada kullanılan antikorlar farklı olmakla birlikte, farklı klonlarla boyamalarda aynı hücrelerde bile farklı sonuçlar çıkabilmektedir [46]. İkinci olarak her çalışmada farklı değerlendirme kriterleri, limit değerleri kullanılmakta. Mukaigawa ve ark., Sato ve ark. [43, 47] PD-L1 ekspresyonunu tam oran vermeden %1'in üzerinde anlamlı kabul ederken, biz çalışmamızda her ne kadar sonradan grupları birleştirmemiz gerekse de pozitif boyanmayı %5'in altında ve %5'in üstünde olmak üzere ikiye ayırdık. Ayrıca yapılan çalışmaların çoğunda tek tip veya çok görölen histopatolojik tipler dikkat çekmektedir.

TİMH denildiğinde tümör mikroçevresinde bulunan T lenfositler, B lenfositler, makrofajlar, dendritik hücreler, antijen sunan hücreler anlaşılmaktadır. Pek çok tümör tipinde TİMH varlığı ve çeşitli belirteçlerle boyanma durumu araştırılmış, prognoz, sağkalım, nüks ve metastaz ile ilişkilendirilmeye çalışılmıştır. Harada ve ark. 2018'de yaptıkları çalışmada, TİMH varlığı ve PD-L1 boyanması kullanılarak bir skor oluşturulmuş ve bu skor doğrultusunda değerlendirmeler yapılmıştır. Skor için limit değer belirlenmiş ve bu limit değer üstündeki skora sahip olan hastaların kötü prognostik seyir göstereceği kabul edilmiş. Bu çalışmada 47 malign tükürük bezi tümörlü hastanın TİMH'lerdeki PD-L1 ekspresyon düzeylerini yansıtan skor için limit değer 4 olarak belirlenmiş. Hastaların %42.6'sının skoru 4'ün üstünde bulunmuş ve rekürrens/metastaz ilişkili olduğunu bulmuşlar ($p=0.011$). Bu sonuçlarla PD-L1 pozitif malign tükürük bezi tümörlerinin ve TİMH varlığının kötü prognostik bir faktör olduğunu vurgulamışlardır [48].

Sato ve ark. da TİMH'lerdeki ekspresyonun tümör hücrelerindeki boyanma ile korele olduğunu bulmuşlar. Fakat TİMH'de eksprese edilen PD-1 dahil hiçbir parametrenin prognozla bir ilişkisi bulunamamıştır. PD-1 ekspresyonunun ise yalnızca TİMH'lerde olduğu, tümör hücrelerinin hiçbirinde eksprese olmadığı bulunmuştur [47].

Çalışmamızda tümör hücrelerinde PD-L1 boyanması arttıkça tümör infiltrate mononükleer hücrelerdeki PD-L1 skorunun da arttığı ($p=0.000$), TİMH'deki skorun cinsiyet, yaş, sigara içimi, tümörün büyüklüğü, histopatolojik tanı, derecesi, tümörün

perinöral ve lenfovasküler invazyonu, nodal metastaz, uzak metastaz, evreleme, nüks ile ilişkili olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). Referanslar da göz önünde bulundurularak buradan çıkarılacak sonuç, TİMİH'lerin varlığının ve boyanma yaygınlığının her histopatolojik tipte ayrı, tipler içerisinde de farklılık gösterdiğidir. İmmün yanıtla ilişkili olan bu durum, kişiden kişiye değişmektedir. İmmünoterapiye alınacak olan cevapta TİMİH'lerin başrolü olması nedeniyle, varlıklarının ve ekspresyon düzeylerinin ölçümü önemli bir yer tutmaktadır.

Çalışmamızda yer alan 10 benign tükürük bezi tümöründe PD-L1 ekspresyonu gözlenmemiştir. Bu hastaların mononükleer hücre infiltrasyonlarının da olmadığı izlenmiştir. Literatür incelendiğinde benign tükürük bezi tümörlerinde PD-L1 ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Tükürük bezi dışında kalan baş boyun kanserleriyle ilgili de PD-L1 alanında oldukça fazla çalışma mevcuttur. Her ne kadar farklı dokuların kanser yolundaki ilerlemesi farklı mekanizmalar içerse de; PD-L1 alanında yapılmış çalışmaların bilinmesi, hem kanser biyolojisini anlayabilme hem de yeni ve etkili tedavi protokolleri geliştirmekte fayda sağlayacaktır ve araştırmalarımıza ışık tutacaktır.

BBSHK'ların immünsupresif bir malignensi olduğu gerçeği gittikçe daha da kabul görmektedir [49, 50]. BBSHK'lerinin çoğunda tümörün konak immün yanıtından kaçması için PD-1/PD-L1 yolağı kullanılmakta ve aynı zamanda çevre mononükleer hücrelerde belirgin bir anergi gelişmektedir. Yüzde 60'dan daha fazla bir oranda PD-L1 eksprese ederek ve T hücrelerdeki PD-1'i tüketerek immün yanıtı kaçırmaya çalışırlar. Dolayısıyla bu yolağı bloke eden bir ajanla tedavi planlama amaçlanabilir. Durvalumab ilk insan IgG1 PD-L1 antikoru ve rekürren/metastatik BBSHK'lerinde umut verici bir ajandır [51].

Cho ve ark. oral skuamöz hücreli karsinomlarda yüksek PD-L1 ekspresyon oranının, düşük sayıda intratümöral sitotoksik T hücresi ve yüksek histolojik derece ile bağlantılı olduğunu ortaya koymuşlardır [52].

Yüksek dereceli meme, ürotelyal, karaciğer, oral karsinomlar ve akciğer adenokarsinomlarının PD-L1 ekspresyonu ile ilişkili olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir [53, 54].

Mürin Her2 ekspresyonu fazla olan meme kanser modelinde trastuzumab emtansine(T-DM1) ile anti-PD-1/CTLA-4 kombinasyonunun, tek başına kullanımlarındansa sağkalım üzerine daha etkili olduğu gösterilmiştir [55].

Renal hücreli karsinomda TİMİH'lerdeki PD-1 ekspresyonu kötü prognoz için bağımsız bir faktör olarak bulunmuş [56].

Glioblastoma ve Her2 pozitif meme kanserinde, tümör hücresinde PD-L1 pozitifliğinin, TİMİH'lerde PD-1'in düşük ekspresyonun kötü prognozla ilişkili olduğu bulunmuş [57, 58]. Bu sonuçlar göstermektedir ki; PD-1'in durumu, tümör hücrelerindeki PD-L1 ile etkileşimi sonucu değişkenlik gösterebilmektedir.

Literatür incelendiğinde T hücre infiltrasyonu, tümör hücrelerinde ve TİMİH'lerdeki PD-L1 ekspresyonuna dayalı kanser sınıflamasına dair çalışmalar dikkati çekmiştir. Kanser dokularında sayısız immün hücre tipleri vardır ve kansere karşı immün reaksiyonun birçok bileşeni vardır. Bunlar düşünülüp tümör mikroçevresinde tümör infiltre mononükleer hücre ve PD-L1 ekspresyon varlığı ve yokluğuna dayalı 4 farklı kanser tipi önerilmiştir. Bu önerenin temelinde sitotoksik T hücrelerin (CD8+), mononükleer hücreler arasında sağkalım için en önemli hücreler olduğu yatmaktadır. Bahsedilen çalışmada TİMİH yoğunluğu, yeri ve tümörün PD-L1 durumunun, tümöre özgü T hücrelerinin terapötik müdahale ile yeniden aktiveleştirilmesinin kesin olmadığından bahseder. Tümör kökeni, genetiği, histopatolojisi ve diğer faktörlerin hepsi büyük olasılıkla katkıda bulunacaktır [59].

Bu sınıflamaya göre 4 tip vardır: Tip 1 (PD-L1 +, TİMİH +) %38'lik grubu oluştururken, tip 2 (PD-L1 -, TİMİH -) %41'lik grubu oluşturur, tip 3 (PD-L1 +, TİMİH -) intrinsik indüksiyon, tip 4 (PD-L1 -, TİMİH +) immün toleransı sağlayan diğer baskılayıcılar. Tip 1 ve 2 en iyi prognoza sahiptir [59, 60].

Teng ve ark. tümör hücrelerinde PD-L1 boyanması ve TİMİH varlığı üzerine yaptığı çalışmada PD-L1 pozitifliği, anti-PD-1/L1 tedavisine yanıt alınacağını bir göstergesiymiş gibi düşünülse de, PD-L1 negatifliği olan bazı hastaların da tedaviye yanıt gösterdiği bulunmuştur. Bu da negatif belirteçli hastaların tedavi dışı bırakılması endişesini ortaya çıkarmıştır [59, 60].

Tip 1 yani hem PD-L1 hem de TİMİH pozitifliği olan grubun çoğunluğunun tekli PD-1/L1 inhibitöründen fayda göreceği düşünülür. PD-1 inhibitörü kullanmak ligandları olan PD-L1 ve PD-L2 ile etkileşimlerini de inhibe edecektir; fakat PD-L1 inhibitörü kullanıldığında yalnızca PD-1 ve PD-L1 etkileşimi inhibe olacaktır. Bazı tümör hücrelerinde PD-L2'nin daha yaygın eksprese edildiği de bilindiğinden hangi tümörde hangi inhibitörü kullanalım sorusunun cevabı için klinik çalışmalar hala yapılmaktadır [59, 61]. Tip 2 (PD-L1 -, TİMİH -) olan grupta ise saptanabilir immün reaksiyon azlığı nedeniyle tekli inhibitör tedavinin fayda göstermeyeceği düşünülmektedir. Önce T hücrelerini tümör mikroçevresine toplama planı, sonra onların inaktif olmalarını engellemek için anti-CTLA-4 ve anti-PD-1 kombinasyonu uygulanabilir. CTLA-4 blokajı T hücre cevaplarını indüklemeye oldukça başarılı bulunmuştur [59, 62]. Diğer bir T hücre infiltrasyonu sağlayan yöntem ise tip 1 interferon yanıtı oluşturmaktır. Balb ve ark. fare malign melanom modelinde peritümöral immünstimülatör RNA enjeksiyonları yaparak sitotoksik inflamatuvar yanıt sağlamışlardır [59, 63]. Tip 3 (PD-L1 +, TİMİH -) olan grup, PD-L1'in onkogenik sinyal yoluyla kanser hücrelerinde yapısal olarak eksprese edilmesiyle açıklanır. Bu grup, tek başına PD-L1 pozitifliğinin, anti-PD-1 veya anti-PD-L1 tedavilerine cevap olarak öngörücü bir faktör olarak alınamayacağını altını çizer, tümörde TİMİH olmadan PD-1 veya PD-L1'in bloke edilmesinin kansere karşı bir T hücresi tepkisi vermesi muhtemel değildir. Bu grupta da tip 2'de olduğu gibi önce T hücreleri indükleyiciler kullanılabilir. Ayrıca RT de T hücreleri indüklemek için kullanılabilir [59, 64]. Tip 4 (PD-L1 -, TİMİH +) olan grupta diğer baskılayıcı yollar dominant olabilir. Bu tümörlerde PD-1/L1 kontrol noktası inhibitörü dışında kalan immün kontrol noktası inhibitörleriyle, bu yolların bazı metabolitlerinin inhibisyonu(örneğin adenosin) tedavi planlanabilir [59].

Setuksimab, bir kimerik insan/fare IgG1 monoklonal epidermal growth factor receptor (EGFR) antikorudur ve baş boyun kanserinde kullanılan ilk immünoterapidir. Jie ve ark. setuksimab alan prospektif bir faz II çalışmasında tümör infiltrate CD8+ T hücrelerindeki PD-1'in artmış varlığının tedaviye cevap alımında olumsuz sonuca yol açtığı görülmüştür [65].

Bonomo ve ark.'larının yaptıkları bir çalışmada PD-1/PD-L1 kontrol noktası inhibisyonunun, setuksimab ve RT ile birlikte kullanıldığında sinerjistik bir etki oluşturacağı yönünde kanaate varılmıştır [66]. RT sonrası hayatta kalan hücrelerde PD-L1'in fazla eksprese edildiği izlenmiş; bunun da radyorezistan tümör mekanizmasını açıklayabileceğinden bahsedilmiştir [67]. Deng ve ark. da bir mürin modelinde yaptıkları çalışmada, RT ile birlikte PD-L1 antikorunun birlikte verildiği durumda tümörde önemli oranda küçülme saptamışlardır [68].

İmmün kontrol noktası inhibitörü olarak FDA tarafından onaylanan 3 antikor mevcuttur: Sitotoksik T lenfosit-ilişkili protein 4 (CTLA-4) antikoru olan ipilimumab; PD-1 antikorları nivolumab ve pembrolizumab.

Nivolumab, immün kontrol noktası inhibitörü olarak PD-1 monoklonal antikorudur ve malign melanom, küçük hücreli dışı akciğer karsinomu, renal hücreli karsinom tedavilerinin yolunu açmıştır. Bunun ligandı olan PD-L1 ise çoğu insan kanser hücresinde üretilmektedir. PD-L1'in PD-1'e bağlanması apoptozu ve aktive T hücrelerin tükenmesine neden olur [53].

Nivolumab, yakın dönemde yapılan bir faz 3 çalışmasında platin rezistan rekürren/metastatik BBSHK'lerinin toplam sağkalımı üzerine de önemli katkı sağlamıştır [2].

Karsinomlarda ve varsa eğer her bir metastazında çeşitli subklonların olduğu hesaba katıldığında moleküler hedefli tedavilerin bu noktada başarısızlığı ortaya çıkabilir. Tümörün moleküler profili modifiye olup, tedaviye direnç veya farklı yanıtlar gelişebilir. Bu nedenle belli aralıklarla yeniden ekspresyon testleri, yeniden biyopsi alımları tedavi sırasında gerekebilir [69].

İmmunoterapiyi diğer yöntemlerle birleştiren rejimler muhtemelen sonuçları daha da iyileştirecektir [70].

Gelecekte hastalara anti-PD-1/L1 tedavisi düşünüldüğünde hastaların tedaviden fayda görüp görmeyeceğini tespit etmek amacıyla PD-1/L1 bazlı görüntüleme sistemleri kullanılabilir. Aynı zamanda bu birçok hastayı gereksiz yan etkilerden de korumuş olacaktır. Bununla ilgili yapılmış çalışmalar mevcuttur.

Zirkonyum-89 işaretli nivolumab bir mürin akciğer kanseri modeline verilip pozitron emisyon tomografi görüntüleme uygulanmıştır. PD-1 eksprese eden T hücreler böylece lokalize edilebilmiştir [71].

Bu konuda araştırma yapan bilim insanlarının cevaplaması gereken bazı sorular vardır. Araştırmacıların standardizasyon azlığı ve patologların neyi PD-L1 pozitif olarak değerlendireceği konusu önem arz etmektedir. Pozitif olarak değerlendirildiğinde hangi değerin limit olarak alınacağı, tümör hücrelerinin ve immün hücrelerin boyanmasının birbiriyle ilişkisi ve anlamlılığı sorularına cevap verilmesi gerekmektedir. Bu soruların yanıtları her tümör tipinde farklı olabilir ve hepsinde ayrı terapötik antikörler kullanılması gerekebilir [7]. Ayrıca TİMİH'lerdeki boyanmayı ayırt etmek tecrübeli patologlar için bile zor olabilmektedir. Bu nedenle bazı çalışmalarda bu boyanmanın aslında hem tümör hücresinde hem de TİMİH'lerdeki toplam boyanma oranı olabileceği de düşünülmelidir.

Efektif tedaviler malign tükürük bezi tümörlerinde hala tam tanımlanamamıştır. Malign tükürük bezi kanserleri az görülmekle birlikte çok fazla histopatolojik alt tipi olması ve prospektif klinik çalışma yapmak için yeterince hasta popülasyonu sağlanamamasının çalışmamızın kısıtlandığı bir yön olarak düşünülmektedir. Çalışmamızda kötü prognoz kriteri sayılan parametreler üzerinden PD-L1 ekspresyonu araştırıldı. Tümörün derecesi, perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon, prognostik evre grubunun, 5 yıllık toplam sağkalımın tümör hücresinde PD-L1 ekspresyonuyla korele olduğu bulundu. Lenfovasküler invazyon ($p=0.02$) ve tümörün derecesindeki yükselme ($p=0.004$) ise istatistiksel olarak anlamlı bulundu. TİMİH'lerindeki ekspresyonun ise tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonuyla, lenfovasküler ve perinöral invazyonla, T evresiyle ilişkili olduğu görüldü. Fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Tüm bu aldığımız sonuçlar PD-1/PD-L1 yolağının inhibisyonunun bu tümörlerde etkili olabileceğini gösterir. Sonuçlarımızı doğrulamak için, daha büyük ölçekli hatta çok merkezli çalışmalar gerekli olacaktır.

6. SONUÇLAR

Sonuç olarak baktığımızda çalışmamız hasta popülasyonu açısından yeterli ve homojen bir gruptan oluşmaktadır. Belli bir histopatolojik grupta yığılma yaşanmamıştır. Yeni bir tedavi modalitesi olarak immünoterapinin, malign tükürük bezi tümörlerinde hangi alt gruplarda, hangi kriterlerde uygulanabilir olabileceği konusunda bazı fikirler verebileceği kanaatindeyiz.

Tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyon oranı, tümörün derecesi, prognostik evre grubu arttıkça, LVİ, PNİ varlığında artmaktadır ve 5 yıllık toplam sağkalımı azaltmaktadır.

PD-L1 ekspresyonunun %66.7 oranıyla en fazla lenfoepitelyoma ve adenokarsinomlarda, %42.9 ile tükürük bezi kanal karsinomunda, %31.8 ile MEK'lerde, %8 ile AKK'larda olduğu görülmüştür.

MEK'ler kendi içerisinde değerlendirildiğinde, LVİ ve PNİ varlığıyla PD-L1 ekspresyonu ilişkilidir.

TİMH varlığı her histopatolojik tipte farklı olmakla birlikte, aynı histopatolojik tipteki tümörlerde bile değişiklik gösterebilmektedir. Tek başına prognoz belirleyici bir rolü yoktur. Tümör hücresindeki PD-L1 boyanma varlığıyla beraber değerlendirilmelidir.

Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu arttıkça, TİMH'lerde PD-L1 skoru artmaktadır.

TİMH'deki PD-L1 skorunun en fazla adenokarsinomlarda (2.67), lenfoepitelyoma (2.33), tükürük bezi kanal karsinomunda (1.14) olduğu görülmüştür.

TİMH'lerdeki PD-L1 skorunun T evresi arttıkça arttığı izlenmiştir.

MEK'lerde PNİ ve LVİ varlığında; AKK'larda tümörün derecesi yükseldikçe ve PNİ varlığında TİMH'lerin PD-L1 skorunun arttığı izlenmiştir.

Benign tükürük bezi tümörlerinde PD-L1 ekspresyonu saptanmamıştır ve mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmemiştir.

Çağımızın belki de en önemli hastalıklarından olan kanser, immünoterapi ile ileriki yıllarda birçok kanserin ana tedavisi haline gelebilir. Bunun için tümör dokularında bazı moleküler belirteçlerin ekspresyonunun araştırılması, bu belirteçlere yönelik monoklonal antikorlara cevap alınıp alınmayacağı konusunda hasta seçimini kolaylaştırabilir. Yapılacak olan çalışmalar ve geliştirilebilecek tekniklerle belki de bunun için yalnızca İİAS bile yeterli olabilecektir. Böylece seçilmiş hastalarda prognozu iyileştirmek, sağkalımı arttırmak, nüksü azaltmak immünoterapi ile mümkün olabilecektir.



7. KAYNAKLAR

1. Nishimura, H. and T. Honjo, PD-1: an inhibitory immunoreceptor involved in peripheral tolerance. *Trends Immunol*, 2001. 22(5): p. 265-8.
2. Sivade, A., et al., [Head and neck cancer : promising results of immunotherapy]. *Rev Med Suisse*, 2017. 13(563): p. 1029-1031.
3. Speight, P.M. and A.W. Barrett, Salivary gland tumours. *Oral Dis*, 2002. 8(5): p. 229-40.
4. T.C.S.B.H.S.G. Müdürlüğü, Türkiye Kanser İstatistikleri in 2011-2015. 2018. p. 14,17.
5. Brahmer, J.R., et al., Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol*, 2010. 28(19): p. 3167-75.
6. Heineman, T.E., et al., The genetic landscape of programmed death ligand-1 (PD-L1) alterations in head and neck cancer. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*, 2017. 2(3): p. 99-103.
7. Pai, S.I. and W.C. Faquin, Programmed cell death ligand 1 as a biomarker in head and neck cancer. *Cancer Cytopathol*, 2017. 125(7): p. 529-533.
8. Holmberg, K.V. and M.P. Hoffman, Anatomy, biogenesis and regeneration of salivary glands. *Monogr Oral Sci*, 2014. 24: p. 1-13.
9. Som PM, B.-G.M., Head and Neck Imaging, in *Anatomy and pathology of the salivary glands*, C.H. Som PM, Editor. 2011, Mosby. p. 2449–602.
10. Davis, R.A., et al., Surgical anatomy of the facial nerve and parotid gland based upon a study of 350 cervicofacial halves. *Surg Gynecol Obstet*, 1956. 102(4): p. 385-412.
11. Tosios, K.I., et al., Nerve cell bodies and small ganglia in the connective tissue stroma of human submandibular glands. *Neurosci Lett*, 2010. 475(1): p. 53-5.
12. Savastano, L.E., et al., A standardized surgical technique for rat superior cervical ganglionectomy. *J Neurosci Methods*, 2010. 192(1): p. 22-33.
13. Senft, E., et al., Expression of cyclin-dependent kinase inhibitor 2A 16, tumour protein 53 and epidermal growth factor receptor in salivary gland carcinomas is not associated with oncogenic virus infection. *Int J Oral Sci*, 2015. 7(1): p. 18-22.
14. Boysen, T., et al., The Inuit cancer pattern--the influence of migration. *Int J Cancer*, 2008. 122(11): p. 2568-72.
15. Seethala, R.R. and G. Stenman, Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Tumors of the Salivary Gland. *Head Neck Pathol*, 2017. 11(1): p. 55-67.
16. Spiro, R.H., et al., Carcinoma of major salivary glands. Recent trends. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1989. 115(3): p. 316-21.
17. C, C.u., et al., Parotis malign tumorleri hakkındaki klinik gozlemlerimiz ve tedavi prensiplerimiz. *Turk Arch Otolaryngol* 1995. 33(33): p. 212-2.
18. Ethunandan, M., et al., Atypical features in pleomorphic adenoma--a clinicopathologic study and implications for management. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2006. 35(7): p. 608-12.
19. Pfeiffer, J. and G.J. Ridder, Diagnostic value of ultrasound-guided core needle biopsy in patients with salivary gland masses. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2012. 41(4): p. 437-43.
20. Yousem, D.M., M.A. Kraut, and A.A. Chalian, Major salivary gland imaging. *Radiology*, 2000. 216(1): p. 19-29.
21. Barakos, J.A., W.P. Dillon, and W.M. Chew, Orbit, skull base, and pharynx: contrast-enhanced fat suppression MR imaging. *Radiology*, 1991. 179(1): p. 191-8.
22. Swartz, J.D., et al., MR imaging of parotid mass lesions: attempts at histopathologic differentiation. *J Comput Assist Tomogr*, 1989. 13(5): p. 789-96.
23. Shintani, S., H. Matsuura, and Y. Hasegawa, Fine needle aspiration of salivary gland tumors. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1997. 26(4): p. 284-6.
24. Jo, H.J., et al., Diagnostic difficulties in fine needle aspiration of benign salivary glandular lesions. *Korean J Pathol*, 2012. 46(6): p. 569-75.
25. Lydiatt, W.M., et al., Head and Neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin*, 2017. 67(2): p. 122-137.

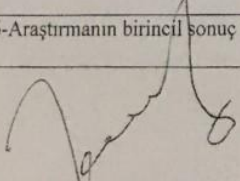
26. Yılmaz O., C.C., Aktürk T., Demireller A., Saatçi M., Adenoid cystic carcinoma of the Head and Neck, in XV. World Congress of Otorhinolaryngology Head&Neck Surgery. 1993: İstanbul. p. 98-100.
27. Aro, K., I. Leivo, and A.A. Makitie, Management and outcome of patients with mucoepidermoid carcinoma of major salivary gland origin: a single institution's 30-year experience. *Laryngoscope*, 2008. 118(2): p. 258-62.
28. Bradley, P.J., Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: a review. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2004. 12(2): p. 127-32.
29. Coca-Pelaz, A., et al., Adenoid cystic carcinoma of the head and neck--An update. *Oral Oncol*, 2015. 51(7): p. 652-61.
30. Dawood, S. and H.S. Rugo, Targeting the host immune system: PD-1 and PD-L1 antibodies and breast cancer. *Curr Opin Support Palliat Care*, 2016. 10(4): p. 336-342.
31. Dong, H., et al., B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med*, 1999. 5(12): p. 1365-9.
32. Dong, H., et al., Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med*, 2002. 8(8): p. 793-800.
33. Ohigashi, Y., et al., Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 and programmed death-1 ligand-2 expression in human esophageal cancer. *Clin Cancer Res*, 2005. 11(8): p. 2947-53.
34. Yang, M.W., et al., Clinical significance of programmed death 1/programmed death ligand 1 pathway in gastric neuroendocrine carcinomas. *World J Gastroenterol*, 2019. 25(14): p. 1684-1696.
35. Zou, W., J.D. Wolchok, and L. Chen, PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: Mechanisms, response biomarkers, and combinations. *Sci Transl Med*, 2016. 8(328): p. 328rv4.
36. Wang, X., et al., PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. *Onco Targets Ther*, 2016. 9: p. 5023-39.
37. Sheth, S. and J. Weiss, Pembrolizumab and its use in the treatment of recurrent or metastatic head and neck cancer. *Future Oncol*, 2018. 14(16): p. 1547-1558.
38. Ferris, R.L., et al., Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *N Engl J Med*, 2016. 375(19): p. 1856-1867.
39. Ritprajak, P. and M. Azuma, Intrinsic and extrinsic control of expression of the immunoregulatory molecule PD-L1 in epithelial cells and squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, 2015. 51(3): p. 221-8.
40. Bolstad, A.I., et al., Increased salivary gland tissue expression of Fas, Fas ligand, cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, and programmed cell death 1 in primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum*, 2003. 48(1): p. 174-85.
41. Mosconi, C., et al., Immunohistochemical investigations on the expression of programmed cell death ligand 1, human leukocyte antigens G and E, and granzyme B in intraoral mucoepidermoid carcinoma. *Arch Oral Biol*, 2017. 83: p. 55-62.
42. Haderlein, M., et al., Impact of postoperative radiotherapy and HER2/new overexpression in salivary duct carcinoma : A monocentric clinicopathologic analysis. *Strahlenther Onkol*, 2017. 193(11): p. 961-970.
43. Mukaigawa, T., et al., Programmed death ligand-1 expression is associated with poor disease free survival in salivary gland carcinomas. *J Surg Oncol*, 2016. 114(1): p. 36-43.
44. Chang, H., et al., Overexpression of PD-L2 is associated with shorter relapse-free survival in patients with malignant salivary gland tumors. *Onco Targets Ther*, 2017. 10: p. 2983-2992.
45. Pardoll, D.M., The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 2012. 12(4): p. 252-64.
46. Parra, E.R., et al., Comparison of Different Antibody Clones for Immunohistochemistry Detection of Programmed Cell Death Ligand 1 (PD-L1) on Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2018. 26(2): p. 83-93.
47. Sato, F., et al., The expression of programmed death ligand-1 could be related with unfavorable prognosis in salivary duct carcinoma. *J Oral Pathol Med*, 2018. 47(7): p. 683-690.
48. Harada, K., T. Ferdous, and Y. Ueyama, PD-L1 expression in malignant salivary gland tumors. *BMC Cancer*, 2018. 18(1): p. 156.
49. Bauman, J.E. and R.L. Ferris, Integrating novel therapeutic monoclonal antibodies into the management of head and neck cancer. *Cancer*, 2014. 120(5): p. 624-32.

50. Ferris, R.L., Immunology and Immunotherapy of Head and Neck Cancer. *J Clin Oncol*, 2015. 33(29): p. 3293-304.
51. Zandberg, D.P., et al., Durvalumab for recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma: Results from a single-arm, phase II study in patients with $\geq 25\%$ tumour cell PD-L1 expression who have progressed on platinum-based chemotherapy. *Eur J Cancer*, 2019. 107: p. 142-152.
52. Cho, Y.A., et al., Relationship between the expressions of PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, 2011. 47(12): p. 1148-53.
53. Ghebeh, H., et al., The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: correlation with important high-risk prognostic factors. *Neoplasia*, 2006. 8(3): p. 190-8.
54. Shimoji, M., et al., Clinical and pathologic features of lung cancer expressing programmed cell death ligand 1 (PD-L1). *Lung Cancer*, 2016. 98: p. 69-75.
55. Muller, P., et al., Trastuzumab emtansine (T-DM1) renders HER2+ breast cancer highly susceptible to CTLA-4/PD-1 blockade. *Sci Transl Med*, 2015. 7(315): p. 315ra188.
56. Thompson, R.H., et al., PD-1 is expressed by tumor-infiltrating immune cells and is associated with poor outcome for patients with renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2007. 13(6): p. 1757-61.
57. Tsang, J.Y., et al., PD-L1 expression and tumor infiltrating PD-1+ lymphocytes associated with outcome in HER2+ breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*, 2017. 162(1): p. 19-30.
58. Han, J., Y. Hong, and Y.S. Lee, PD-L1 Expression and Combined Status of PD-L1/PD-1-Positive Tumor Infiltrating Mononuclear Cell Density Predict Prognosis in Glioblastoma Patients. *J Pathol Transl Med*, 2017. 51(1): p. 40-48.
59. Teng, M.W., et al., Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration and PD-L1. *Cancer Res*, 2015. 75(11): p. 2139-45.
60. Gandhi, L. and R. Hui, MK-3475(anti-PD-1 monoclonal antibody) for non-small cell lung cancer(NSCLC) antitumor activity and association with tumor PD-L1 expression, in AACR Annual Meeting. 2014.
61. Intlekofer, A.M. and C.B. Thompson, At the bench: preclinical rationale for CTLA-4 and PD-1 blockade as cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol*, 2013. 94(1): p. 25-39.
62. Huang, R.R., et al., CTLA4 blockade induces frequent tumor infiltration by activated lymphocytes regardless of clinical responses in humans. *Clin Cancer Res*, 2011. 17(12): p. 4101-9.
63. Bald, T., et al., Immune cell-poor melanomas benefit from PD-1 blockade after targeted type I IFN activation. *Cancer Discov*, 2014. 4(6): p. 674-87.
64. Kalbasi, A., et al., Radiation and immunotherapy: a synergistic combination. *J Clin Invest*, 2013. 123(7): p. 2756-63.
65. Jie, H.B., et al., Increased PD-1(+) and TIM-3(+) TILs during Cetuximab Therapy Inversely Correlate with Response in Head and Neck Cancer Patients. *Cancer Immunol Res*, 2017. 5(5): p. 408-416.
66. Bonomo, P., et al., Anti PD-L1 DUrvalumab combined with Cetuximab and Radiotherapy in locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: A phase I/II study (DUCRO). *Clin Transl Radiat Oncol*, 2018. 9: p. 42-47.
67. Dovedi, S.J., et al., Acquired resistance to fractionated radiotherapy can be overcome by concurrent PD-L1 blockade. *Cancer Res*, 2014. 74(19): p. 5458-68.
68. Deng, L., et al., Irradiation and anti-PD-L1 treatment synergistically promote antitumor immunity in mice. *J Clin Invest*, 2014. 124(2): p. 687-95.
69. Keller, G., et al., New concepts of personalized therapy in salivary gland carcinomas. *Oral Oncol*, 2017. 68: p. 103-113.
70. Szturcz, P. and J.B. Vermorken, Immunotherapy in head and neck cancer: aiming at EXTREME precision. *BMC Med*, 2017. 15(1): p. 110.
71. England, C.G., et al., (89)Zr-labeled nivolumab for imaging of T-cell infiltration in a humanized murine model of lung cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2018. 45(1): p. 110-120.

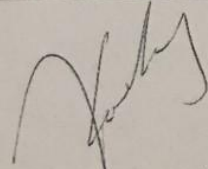
8. EKLER

Ek-1: Tez Onay Formu

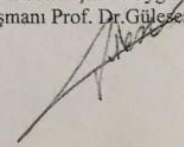
TEZ KONUSU ONAY FORMU	
Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı: Telefon: E-Posta:	Tuğçe Pütürgeli Özer 05378274424 tugceputurgeli@gmail.com
Uzmanlık Dalı:	Kulak Burun Boğaz Hastalıkları
Eğitim Kurumu:	T.C.S.B. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Kliniği
Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi:	24.06.2014
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi:	24.06.2019
Tez Danışmanının Adı Soyadı: Telefon: E-Posta:	Prof.Dr.Güleser Saylam 05325460487 guleserkilic@yahoo.com
1-Tez Başlığı/Konusu: Tükürük bezi tümörlerinde Programmed death-1 ligand-1(PD-L1) ekspresyonu ve klinikopatolojik korelasyonu	
2-Araştırma sorusu: Anti-tümör konak immün sistemini baskılayan önemli bir kanser belirtici olan PD-L1 ekspresyon düzeyinin tükürük bezi tümörlerinde kötü prognoz ile ilişkisi var mıdır?	
3-Araştırmanın amacı: Anti-tümör konak immün sistemini baskıladığı düşünülen PD-L1'in malign ve benign tükürük bezi tümörlerinde ekspresyon düzeylerini, prognoz ve sağkalım ile ilişkisini araştırmak	
4-Araştırma materyalleri, popülasyonu: Kliniğimizde malign ve benign tükürük bezi tümörü nedeniyle cerrahi uygulanan hastaların dosyaları ve formalin fikse parafin blokları retrospektif olarak incelenecektir. Hastalar iki grup halinde çalışmaya dahil edilecektir. 2008-2018 yılları arası cerrahi yapılmış en az 40 malign ve 40 benign hasta çalışmaya dahil edilecektir.	
5-Dahil etme ve hariç tutma kriterleri: Dahil etme kriterleri: 18 yaş üstü hastalar, minör ve majör tükürük bezi tümörü nedeniyle cerrahi tedavi uygulanan hastalar Hariç tutma kriterleri: İkinci primer tümörler, daha önce başka nedenle kemoterapi(KT) veya radyoterapi(RT) almış olması, immunsupresif tedavi alanlar, immunmodulator ilaç kullananlar	
6-Araştırmanın birincil sonuç değişkenleri:	



PD-L1 ekspresyon düzeyinin belirlenmesi ve bu düzeyin: Yaş, cinsiyet, hastalık evresi, cerrahi sonrası metastaz veya rekürrens, sağkalım süresi ile ilişkisi
7-Araştırmanın türü ve tasarımı: Prospektif klinik çalışma
8- Araştırma hipotezi: Malign tükürük bezi tümörlerinde benign tükürük bezi tümörlerine göre anti-tümör konak immün sistemini baskılayan PD-L1'in daha fazla eksprese edilmesi ve bunun kötü prognoz ile korele olması beklenmektedir.
9-Örneklem sayısı ve belirleme yöntemi: Patoloji arşiv verileri incelenerek ulaşılan tüm malign tükürük bezi tümörü olan hastalar ve aynı sayıda benign tükürük bezi tümörü olan hastalar çalışmaya dahil edilecektir.
10-Araştırmada kullanılacak istatistik yöntemler: İstatistiksel analizler IBM SPSS for Windows paket programında yapılacaktır. Sayısal değişkenler ortalama±standart sapma veya median [minimum – maksimum] değerler ile özetlenecektir. Kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile, gruplar arasında kategorik değişkenler bakımından farklılık olup olmadığı ki kare testi veya Fisher kesin test ile araştırılacaktır. Sayısal değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov Smirnov testi ile incelenecektir. Sayısal değişkenler bakımından iki bağımsız grup arası farklılıklar; parametrik test varsayımlarının sağlanması durumunda bağımsız gruplarda t testi ile incelenecektir. Parametrik test varsayımlarının sağlanmaması durumunda ise iki grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alınacaktır.
11-Araştırmanın orijinalliği ve bilime katkısının açıklaması: Malign tükürük bezi tümörlerinin diğer baş boyun tümörlerine kıyasla insidansı düşüktür ve genellikle ileri evrede saptanırlar. Malign tükürük bezi tümörlerinin tedavisi cerrahidir. KT ve RT unrezektabl-inoperabl tümörlerde tercih edilmektedir. High grade tümörlerde patolojik parametrelere bakılarak adjuvan RT/KT verilmektedir. Moleküler hedefli tedaviler son yıllarda özellikle malign hastalarda araştırma söz konusu olup, bazıları kullanım için onaylarını almıştır. PD-L1 ekspresyonun kulak burun boğaz hastalıklarından larinks malign neoplazmlarında da artmış olduğu gösterilmiştir. Araştırmamızda PD-L1 ekspresyonunun spesifik olarak malign tükürük bezi tümörlerinde artmış olduğunu kanıtlamak, bu tümörlerde PD-L1'e yönelik moleküler ajanlarla olan tedavide prognozun iyileşmesine ve tedavide yeni yaklaşımlara ışık tutacaktır. Çalışma sonunda elde edilen verilerle tedavi öncesi hastalık prognozunun bilinmesi, hastanın bilgilendirilmesi ve adjuvan tedavi gerekliliği konularında bilgi sahibi olmayı hedeflemektedir.
12-Açıklamak istediğiniz diğer konular:


 Prof. Dr. Mehmet Hakan Korkmaz
 KBB Eğitim Sorumlusu

Kontrol edilmiştir ve uygundur.
 Tez danışmanı Prof. Dr. Gülester Saylam



Ek-2: Etik Kurul Onayı



**T.C. Sağlık Bakanlığı
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Dışkapı Yıldırım Beyazıt
Eğitim ve Araştırma Hastanesi**



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

KARAR TARİHİ: 17.12.2018
KARAR NO : 57/32

Hastanemiz Kulak Burun Boğaz Kliniğinde **Prof.Dr. Güleser SAYLAM** sorumluluğunda yapılması planlanan **Dr. Tuğçe PÜTÜRGELİ ÖZER**' e ait **“Tükrük Bezi Tümörlerinde Programmed Death-1 Ligand-1(PD-L1) Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Korelasyonu”** konulu tez çalışması amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Güleser SAYLAM
Başkan
(Kartlı imzası)

Prof. Dr. S.İbrahim AKDAĞ
Başkan Yard.

Prof. Dr. Fatih YALÇINKAYA
Üye

Yrd. Doç. Dr. Bülent KÜÇÜK BİÇER
Üye

Doç. Dr. Jülide ERGİL
Üye

Av. Harun KOZAN
Üye

Uz. Dr. S. Dörtmeç KETİŞ
Üye

Doç. Dr. Huriye Hayat GÜVEN
Üye

Prof. Dr. Sibel ÖRSEL
Üye

Prof. Dr. E. Pelin KELİCEN UĞUR
Üye

B.M.M. Burcu DEMİR
Üye

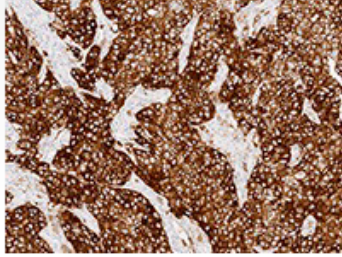
Hülya BALA
Üye

Ek-3: PD-L1 Veri kağıdı

ROCHE TISSUE DIAGNOSTICS | REAGENT CATALOG

Home > [Primary Antibodies](#) > PD-L1 (SP263) Assay, VENTANA

VENTANA PD-L1 (SP263) Assay



Catalog Number:	740-4907
Ordering Code:	07208162001
Quantity:	50 tests
Controls:	Placenta
Clone Name:	SP263
Species:	Rabbit
Localization:	Membranous and/or Cytoplasmic Staining
Regulatory Status:	IVD

VENTANA PD-L1 (SP263) Assay is a qualitative immunohistochemical assay using rabbit monoclonal anti-PD-L1 clone SP263 intended for use in the assessment of the PD-L1 protein in formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) urothelial carcinoma tissue stained with OptiView DAB IHC Detection Kit on a VENTANA BenchMark ULTRA instrument.

PD-L1 status is determined by the percentage of tumor cells with any membrane staining above background or by the percentage of tumor-associated immune cells with staining (IC+) at any intensity above background. The percent of tumor area occupied by any tumor-associated immune cells (Immune Cells Present, ICP) is used to determine IC+, which is the percent area of ICP exhibiting PD-L1 positive immune cell staining. PD-L1 status is considered High if any of the following are met:

- $\geq 25\%$ of tumor cells exhibit membrane staining; or,
- $ICP > 1\%$ and $IC+ \geq 25\%$; or,
- $ICP = 1\%$ and $IC+ = 100\%$

PD-L1 High status as determined by VENTANA PD-L1 (SP263) Assay was associated with increased objective response rate (ORR) in a single arm study of IMFINZI™ (durvalumab).

This antibody is intended for *in vitro* diagnostic (IVD) use.

Ek-4: Özgeçmiş ve iletişim bilgileri

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Tuğçe Pütürgeli Özer

Doğum yeri ve tarihi: Mersin, 1989

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu: tugceputurgeli@gmail.com , +905378274424

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kliniği

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

İçel Anadolu Lisesi, Mersin

Pirireis İlköğretim Okulu, Mersin

III- Ünvanları

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kliniği, Asistan hekim

IV- Mesleki Deneyimi

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kliniği, Asistan hekim

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı, Asistan hekim

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları:

1. Kara E, Öztürk K, Oktay E, Hamzaoglu V, Uzmansel D, Vayisoğlu Y, Özalp H, Farsak M, Aladağ ZC, **Pütürgeli T**, Eti CM, Dağtekin A, Türkegün M, Ümit Talas D. The Predictability Precision of Superior Semicircular Canal Through Radiological Assessment and Microanatomical Dissection. J Int Adv Otol.2018 Aug;14(2):290-294. doi: 10.5152/iao.2018.4428. PubMed PMID: 29460825; PubMed Central PMCID: PMC6354473.
2. Serinoglu L, Yarar O, Eti CM, **Puturgeli T**, Vayisoglu Y, Farsak M, Cukurova ES, Tancil C, Kanik EA, Talas DU. The importance of ICD-10 applications on daily practice, Medicine Science | International Medical Journal. 2018; 7(4): 873-7.
3. İsmi O, Özcan C, Polat G, Kul S, Görür K, **Pütürgeli T**. TNF- α and IL-1 β Cytokine Gene Polymorphism in Patients with Nasal Polyposis. Turk Arch Otorhinolaryngol. 2017 Jun;55(2):51-56. doi: 10.5152/tao.2017.2389. Epub 2017 Jun 1. PubMed PMID: 29392055; PubMed Central PMCID: PMC5782942.
4. İsmi O, Eti CM, **Pütürgeli T**, Farsak M, Kara E, Kaleagası H, Hamzaoglu V, Turan H, Vayisoğlu Y, Görür K, Özcan C, Talas DU. Periferik Fasiyal Sinir Paralizisi:70 Hastanın Retrospektif Analizi. Medica Medical Journal, Cilt 1, Sayı 2, Mayıs 2017.
5. İsmi O, Arpacı RB, Ozgur A, Citak EC, Eti N, **Puturgeli T**, Vayisoglu Y. Facial nerve paralysis as initial symptom of langerhans cell histiocytosis. Braz J Otorhinolaryngol. 2016 Jun 16. pii: S1808-8694(16)30110-0. doi: 10.1016/j.bjorl.2016.05.006. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27401939.
6. İsmi O, Arpacı RB, **Puturgeli T**, Ozcan C, Gorur K. Leiomyosarcoma of Larynx as a Metachronous Tumor of Squamous Cell Carcinoma: An Unusual Case. J Voice. 2016 Mar;30(2):242-5. doi: 10.1016/j.jvoice.2015.04.011. Epub 2015 May 9. PubMed PMID:25972049.
7. İsmi O, Vayisoğlu Y, Arpacı RB, Eti C, **Pütürgeli T**, Gorur K, Ozcan C. Carcinoma ex pleomorphic adenoma originating from ectopic salivary gland

in the neck region: case report. Gland Surg. 2015 Dec;4(6):567-71. doi:10.3978/j.issn.2227-684X.2015.01.03. PubMed PMID: 26645012; PubMed Central PMCID:PMC4647010.

8. Mehmet Farsak, Can Mehmet Eti, Zeynep Cansu Aladağ, Ülkü Çömelekoğlu, Hakan Özalp, Vural Hamzaoglu, Ahmet Dağtekin, Onur İsmi, Yusuf Vayisoğlu, **Tuğçe Pütürgeli**, Fatma Söğüt, Ezgi Oktay, Kübra Öztürk, Derya Ümit Talas. Factors Affecting Intraoperative Nerve Monitorization and Artefact Formation. Kuru Proceedings. Volume 5, Issue 3, December 2015. ISSN: 2146-4782, pages 130-135.

Sözel bildiriler:

1. Bülent Öcal, **Tuğçe Pütürgeli Özer**, Emel Çadallı Tatar, Mehmet Hakan Korkmaz. Kronik rinosinüzit hastalarında uygulanan medikal tedavilerin klinik üzerine etkilerinin incelenmesi. 40. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 7-11 Kasım 2018, Antalya, Türkiye.
2. Güleser Saylam, Ömer Bayır, **Tuğçe Pütürgeli**, Bülent Öcal, İlker Akyıldız, Mehmet Hakan Korkmaz. Pectoralis Major Myokutan Flebi: Baş Boyun Kanserlerinin Olmazsa Olmazı. 13. Uluslararası Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 5-7 Nisan 2018, Ankara, Türkiye.
3. Emel Çadallı Tatar, Bülent Öcal, **Tuğçe Pütürgeli**, Cem Saka, İlker Akyıldız, Mehmet Hakan Korkmaz. Endoskopik Yaklaşım İleri Evre Juvenil Nazofarengeal Anjiofibromlarda da tek başına yeterli midir? 13. Uluslararası Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 5-7 Nisan 2018, Ankara, Türkiye.
4. Engin Kara, Kubra Ozturk, Ezgi Oktay, Vural Hamzaoglu, Deniz Uzmansel, Yusuf Vayisoglu, Mehmet Farsak, Zeynep Cansu Aladag, **Tugce Puturgeli**, Can Mehmet Eti, Derya Umit Talas. The Predictability Precision of Superior Semisircular Canal Through Radiological Assessment. 15. International Meeting of the Mediterranean Society of Otolaryngology and Audiology (MSOA), 28-30 April 2016, Cappadocia, Turkey.
5. **Tugce Puturgeli**, Anis Togrul, Yalcin Kucuk, Kubra Ozturk, Yusuf Vayisoglu, Can Mehmet Eti, Kemal Koray Bal, Ecem Cakir, Mehmet Farsak, Ezgi Oktay, Derya Umit Talas. Evaluation of Hyperbilirubinemic Neonates for Hearing Function. 15. International Meeting of the Mediterranean Society of Otolaryngology and Audiology (MSOA), 28-30 April 2016, Cappadocia, Turkey.

6. **Tugce Puturgeli**, Anis Togrul, Yalcin Kucuk, Mehmet Farsak, Yusuf Vayisoglu, Can Mehmet Eti, Kemal Koray Bal, Ecem Cakir, Kubra Ozturk, Ezgi Oktay, Derya Umit Talas. Hearing Function Assessment of Premature Neonates. 15. International Meeting of the Mediterranean Society of Otolaryngology and Audiology (MSOA), 28-30 April 2016, Cappadocia, Turkey.
7. Badel Arslan Mamur, Nurcan Aras, Ulku Comelekoglu, Selma Korkutan, Aysegul Akar, **Tugce Puturgeli**, Can Mehmet Eti, Mehmet Farsak, Yusuf Vayisoglu, Derya Umit Talas. Investigation of audiological status, Hsp27 and p38MAPK genes expression levels in rat brains exposed to electromagnetic radiation. 12th Annual Middle East Update in Otolaryngology Conference&Exhibition. 19-21 April 2015, Dubai, UAE.

Poster bildiriler:

1. Emel Çadallı Tatar, **Tuğçe Pütürgeli Özer**, İlker Akyıldız, Bülent Öcal, Mehmet Hakan Korkmaz. Pediatrik Hastada Primer Maksiller Sinüs Anevrizmal Kemik Kisti. 15. Türk Rinoloji Kongresi, 4-7 Nisan 2019, Antalya, Türkiye.
2. Cem Saka, **Tuğçe Pütürgeli Özer**, Bülent Öcal, İlker Akyıldız, Mehmet Hakan Korkmaz. Bilateral Respiratuar Adenomatoid Hamartoma. 15. Türk Rinoloji Kongresi, 4-7 Nisan 2019, Antalya, Türkiye.
3. Bülent Öcal, Cem Saka, **Tuğçe Pütürgeli Özer**, Emel Çadallı Tatar, Mehmet Hakan Korkmaz. Pterigopalatin fossada ancient schwannoma: olgu sunumu. 40. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 7-11 Kasım 2018, Antalya, Türkiye.
4. Güleser Saylam, Ömer Bayır, **Tuğçe Pütürgeli Özer**, Bülent Öcal, Kemal Keseroğlu, İlker Akyıldız, Emel Çadallı Tatar, Cem Saka, Mehmet Hakan Korkmaz. Kulak burun boğaz ve baş boyun cerrahisinde hayati tehdit eden komplikasyon: cerrahi sonrası kanama. 40. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 7-11 Kasım 2018, Antalya, Türkiye.
5. Gökhan Toptaş, **Tuğçe Pütürgeli**, Ömer Bayır, Güleser Saylam, Mehmet Hakan Korkmaz. Papiller tiroid karsinomu ve boyunda rabdomyom birlikteliği. 39. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 8-12 Kasım 2017, Antalya, Türkiye.

6. **Tuğçe Pütürgeli**, Gökhan Toptaş, Güleser Saylam, Cem Saka, Ömer Bayır. İntraparotidal metastaz ile başvuran nazofarinks kanseri vakası. 39. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 8-12 Kasım 2017, Antalya, Türkiye.
7. **Tuğçe Pütürgeli**, Onur İsmi, Can Mehmet Eti, Osman Erdoğan, Yusuf Vayisoğlu. Dilin nadir rastlanan lezyonu: Fibrolipom. 38. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 26-30 Ekim 2016, Antalya, Türkiye.
8. Onur İsmi, Cengiz Özcan, Gürbüz Polat, Seval Kul, **Tuğçe Pütürgeli**, Kemal Görür. Nazal Polipli Hastalarda proinflamatuvar Sitokin Gen Polimorfizmi, 12. Türk Rinoloji Kongresi ve 4. Ulusal Otoloji ve Nörootoloji Kongresi, 21-24 Nisan 2016, Antalya, Türkiye.
9. **Tuğçe Pütürgeli**, Onur İsmi, Tuba Kara, Helen Bucioğlu, Kemal Görür. Fasiyal Paralize Neden Olan ve Temporal Kemiği Tutan Anjiosarkom: Olgu Sunumu. 12. Türk Rinoloji Kongresi ve 4. Ulusal Otoloji ve Nörootoloji Kongresi, 21-24 Nisan 2016, Antalya, Türkiye.
10. **Tuğçe Pütürgeli**, Onur İsmi, Rabia Bozdoğan Arpacı, Yusuf Vayisoğlu, Derya Ümit Talas. Fasiyal Paraliziye Neden Olan Temporal Kemiği Tutan Langerhans Hücreli Histiositoz: Olgu Sunumu. 37. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 28 Ekim-1 Kasım 2015, Antalya, Türkiye.
11. Leyla Serinoğlu, Onur Yarar, Can Mehmet Eti, **Tuğçe Pütürgeli**, Yusuf Vayisoğlu, Mehmet Farsak, Ece Sevin Çukurova, Derya Ümit Talas. Klinik örneklemeler ışığında ICD-10 uygulamalarının değerlendirilmesi. 37. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 28 Ekim-1 Kasım 2015, Antalya, Türkiye.

Kitap Bölümü Çevirisi:

1. **Pütürgeli Özer Tuğçe**. Pippa Smart. Editör El Kitabı. Bölüm 1-3, Sayfa 6-23. Çeviri baskısı: Trakya Üniversitesi, Mart 2019, Edirne.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Ödüller

1. Poster birinciliği. Onur İsmi, Cengiz Özcan, Gürbüz Polat, Seval Kul, **Tuğçe Pütürgeli**, Kemal Görür. Nazal Polipli Hastalarda

proinflatuvar Sitokin Gen Polimorfizmi, 12. Türk Rinoloji Kongresi ve 4. Ulusal Otoloji ve Nörootoloji Kongresi, 21-24 Nisan 2016, Antalya, Türkiye.

Projeleri

1. Tükürük bezi tümörlerinde programmed death-1 ligand-1 (PD-L1) ekspresyonu ve klinikopatolojik korelasyonu. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Bilimsel Araştırma Projesi, 71/2, 2019, **Yardımcı Araştırmacı**.

Katıldığı paneller

1. Panel - Münazara: Seniorlar Asistanlara Karşı; Akut Bakteriyel Rinosinüzit Komplikasyon Tedavisi, Panelistler: Berna Uslu Coşkun, Gürkan Keskin, Raşit Midilli, Suzan Taş, Kemal Koray Bal, **Tuğçe Pütürgeli Özer**. 15. Türk Rinoloji Kongresi, 4-7 Nisan 2019, Antalya, Türkiye.

VIII- Diğer Bilgiler

Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Harvard Medical School, Observership, October 2015, Boston, USA

Deney hayvanları kullanım sertifikası, 2015

Kaunas University, Obstetric and Gynecology, Observer, July-2010, Kaunas, Lithuania