

**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**EVRE 3 KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER  
KANSERLERİNDE NEOADJUVAN  
KEMOTERAPİ/KEMORADYOTERAPİNİN TÜMÖR  
DOKUSUNDA PD-L1 VE VISTA EKSPRESYON  
DÜZEYİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. ORHUN AKDOĞAN**

**ANKARA  
MART 2021**

**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**EVRE 3 KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER  
KANSERLERİNDE NEOADJUVAN  
KEMOTERAPİ/KEMORADYOTERAPİNİN TÜMÖR  
DOKUSUNDA PD-L1 VE VISTA EKSPRESYON  
DÜZEYİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. ORHUN AKDOĞAN**

**TEZ DANIŐMANI  
Doç. Dr. OZAN YAZICI**

**ANKARA  
MART 2021**

## KABUL ve ONAY



### Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Orhun AKDOĞAN
Baba Adı	Aİ
Doğum Yeri/Tarihi	Niksar / 16
Diploma Tarihi / Diploma No	18/ 16 / 0090
Mezun Olduğu Fakülte	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	İç Hastalıkları Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	Yıl: 4 Ay:48
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

**UZMANLIK TEZİNİN ADI:** Evre 3 Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserlerinde Neoadjuvan Kemoterapi/Kemoradyoterapinin Tümör Dokusunda PD-L1 ve Vista Ekspresyon Düzeyine Etkisi

**JÜRİ KARARI:** İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmakta olan Orhun Akdoğan'ın "Evre 3 Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserlerinde Neoadjuvan Kemoterapi/Kemoradyoterapinin Tümör Dokusunda PD-L1 ve Vista Ekspresyon Düzeyine Etkisi" isimli tezi, komisyonumuzca yapılan tez sınavında başarılı bulunmuş ve uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir. Uzmanlık sınavına girmeye hak kazanmıştır.

#### JÜRİ ÜYELERİ

## TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca bilgisi ve deneyimiyle bana yol gösteren, akademik çalışma yapma konusunda beni eğiten ve teşvik eden, tezimin tüm aşamalarında desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ozan YAZICI'ya, Hem tezime olan katkıları hem de asistanlık eğitimime olan katkıları benim için çok anlamlı olan, çömezi olmaktan her daim onur duyduğum değerli ağabeyim Uzm. Dr. Osman SÜTÇÜOĞLU'na,

Bu çalışmanın bana kazandırdığı en değerli insanlardan olan, yıllar sonra bana tekrar patolojiyi sevdiren, sabırla anlatan ve çalışmada sonsuz emekleri olan çok değerli ablam Uzm. Dr. Betül ÇİMER ÖĞÜT'e ,

Bu çalışmanın istatistiğine olan katkıları ve her an yanımda hissettiğim desteği için Uzm. Dr. Bengü MUTLU SÜTÇÜOĞLU'na,

4 yıllık eğitim sürecimdeki bütün tez girişimlerimde yanımda olan, bilgi ve desteğini esirgemeyen çok değerli Uzm. Dr. Fatih GÜRLER ve Uzm. Dr. Bediz KURT İNCİ'ye ,

Hekimlik kimliğime olan çok değerli katkıları ve üzerimde olan sonsuz emekleri için Gazi Üniversitesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. İlhan YETKİN, Sayın Prof. Dr. Turgay ARINSOY, Sayın Prof. Dr. Ülver DERİCİ, Sayın Prof. Dr. Gülbin AYGENCEL, Sayın Prof. Dr. Abdurrahman TUFAN başta olmak üzere tüm Gazi Üniversitesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nın öğretim görevlilerine,

Asistanlık eğitimimi keyifli kılan, bana çok şey katan Gazi Dahiliye ailesine, ağabeylerime, ablalarım ve kardeşlerime,

Varlıklarına her zaman şükrettiğim, hekim olma yolundaki en büyük destekçilerim, en değerlilerim olan aileme,

Hayattaki en büyük şansım olan, gerek asistanlık yolunda gerekse hayat yolunda tüm engelleri gülerek aşmamızı sağlayan değerli eşim Dr. Merve ASLAN AKDOĞAN'a sonsuz teşekkür ederim.

**Dr. Orhun AKDOĞAN**

# İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY .....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
TABLOLAR .....	x
ŞEKİLLER.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	7
2.1. Epidemiyoloji.....	7
2.2. Etiyoloji .....	10
2.3. Akciğer Kanserinde Histopatolojik Sınıflama .....	10
2.4. Evreleme.....	13
2.5. İmmün Sistem .....	15
2.6. İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri .....	16
2.7. Programlanmış Ölüm 1 (Pd1)/ Programlanmış Ölüm Ligandı 1-2 (PDL 1-2) Yolağı .....	18
2.8. VISTA (V-domain immunoglobulin suppressor of T cell activation) .....	19
2.9. Radyasyon ve kemoterapinin etkisi .....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	23
3.1. Olguların Seçilmesi ve Verilerin Toplanması .....	23
3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem .....	24

3.3. İstatistiksel Analiz.....	25
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA.....	37
KAYNAKLAR.....	44



## ÖZET

Akciğer kanseri, tüm dünyada erkeklerde en sık ve kadınlarda 2. sıklıkta görülen kanserdir. Akciğer kanserinin yaklaşık %80'ini Küçük Hücreli Dışı Akciğer kanseri (KHDAK) oluşturmaktadır. Programlanmış hücre ölümü 1'i (PD - 1) veya ligandını (PD - L1) hedefleyen immün kontrol noktası inhibitörlerinin (ICI) ortaya çıkması, lokal ileri ve ileri evre KHDAK tedavisini önemli ölçüde değiştirmiştir. Radyasyonun tümör antijen salınımını indükleyerek PD-L1 ekspresyonunu artırıcı etkisi gösterilmiştir. Bu etki, radyoterapi ve kontrol noktası inhibitörlerinin birlikte kullanımını birçok çalışmanın odak noktası haline getirmiştir. Bir diğer kontrol noktası reseptörü olan VISTA'nın (V-domain Ig Suppressor of T Cell Activation) da KHDAK'inde immünmodülatör rol oynadığı ve terapötik hedef olabileceği gösterilmiştir. Bu nedenle bu çalışmada, Evre 3 Küçük Hücreli Dışı Akciğer kanseri hastalarında neoadjuvan kemoterapi ya da kemoradyoterapi tedavisi sonrasında, PD-L1 ve VISTA ekspresyon düzeyinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalı'nda takip edilen; patolojik tanısı Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri, tümör evresi Evre 3a, 3b ve 3c olan, neoadjuvan kemoterapi ya da kemoradyoterapi sonrasında opere edilmiş hastaların tedavi öncesi ve sonrası doku biyopsileri arasındaki PD-L1 ve VISTA ekspresyon düzeyi değerlendirilmiştir. Uygun kriterleri karşılayan 34 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmanın sonuçlarına bakıldığında; neoadjuvan kemoterapi veya kemoradyoterapi sonrasında tümör dokusunda PD-L1 ve Vista düzeyinin arttığı gösterilmiştir (PD-L1 için p değeri 0,004, VİSTA için p değeri 0,025). Tanı anında 22 hastanın PD-L1 düzeyi < %1 iken, tedavi sonrasında 11 hastanın PD-L1 düzeyi <%1 olarak değerlendirilmiş ve 14 hastada PD-L1 düzeyinde tedavi sonrası artış olduğu saptanmıştır. Vista düzeyi tanı anında 20 hastanın <%1 iken , tedavi

sonrası 12 hastanın Vista düzeyi  $<1\%$  olarak saptanmıştır ve 15 hastanın Vista düzeyinde tedavi sonrası artış olduğu saptanmıştır.

Tanı anı yüksek PD-L1 düzeyinin azalmış sağkalım ile ilişkili olduğu saptanmıştır (p değeri 0.033). Vista düzeyi ile sağkalım arasında ilişki gösterilememiştir (p değeri 0.534). İmmünoterapi KHDAK hastalarında umut vadetmektedir. İmmünoterapi etkisini arttırmak için kemoterapi ve radyoterapi immünizan olarak kullanılabilir. Bu konuda daha geniş çalışmalara, tedavi alt tipleri ile olan daha geniş analizlere ve tedavi hedefi olarak Vista'nın değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

## **ABSTRACT**

Lung cancer is the most common cancer in men and the second most common cancer in women worldwide. Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) constitutes approximately 80% of lung cancer. The development of immune checkpoint inhibitors (ICIs) targeting programmed cell death 1 (PD - 1) or its ligand (PD - L1) has significantly changed the treatment of local advanced and advanced NSCLC. Radiation has been shown to induce tumor antigen release and increase PD-L1 expression. This effect has made the combined use of radiotherapy and checkpoint inhibitors the main focus of many studies.

It has been shown that VISTA (V-domain Ig Suppressor of T Cell Activation), another checkpoint receptor, also plays an immunomodulatory role in NSCLC and can be therapeutic target. Therefore, in this study, we aimed to evaluate the expression level of PD-L1 and VISTA after neoadjuvant chemotherapy or chemoradiotherapy in Stage 3 Non-Small Cell Lung Cancer patients.

Patients with pathological diagnosis of Non-Small Cell Lung cancer, tumor stages 3a, 3b and 3c were operated after neoadjuvant chemotherapy or chemoradiotherapy and followed in Gazi University Medical Faculty Oncology Department were included in study. The expression levels of PD-L1 and VISTA between pre-and post- treatment tissue biopsies of these patients were evaluated. Thirty four patients meeting the appropriate criteria were included in the study. When we look at the results of our study, it has been shown that PD-L1 and Vista levels increase in tumor tissue after neoadjuvant chemotherapy or chemoradiotherapy (p value for PD-L1 0.004, p value 0.025 for VISTA). While the PD-L1 level of 22 patients at the time of diagnosis was <1%, after treatment, the PD-L1 level of 11 patients was evaluated as <1%, and an increase in the PD-L1 level was found in 14 patients after treatment. While Vista level of 20 patients at the time of diagnosis was <1% ,it was found that the Vista level of 12 patients

after treatment was <1% and 15 patients had an increase in Vista level after treatment. High PD-L1 level at the time of diagnosis was found to be associated with decreased survival.

There was no relationship between Vista level and survival ( p value 0.534). Immunotherapy is a promising treatment modality in patients with NSCLC. Chemotherapy and radiotherapy can be used as immunizers to increase the effect of immunotherapy. There is a need for larger studies on this subject, broader analyzes with treatment subtypes and studies evaluating Vista as a treatment target.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>IARC</b>	:Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
<b>KHDAK</b>	:Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
<b>ICI</b>	:İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri
<b>PD - 1</b>	:Programlanmış Hücre Ölümü 1
<b>PD - L1</b>	:Programlanmış Hücre Ölümü Ligandı 1
<b>PD-L2</b>	:Programlanmış Hücre Ölümü Ligandı 2
<b>VISTA</b>	:V-domain Ig Suppressor of T cell Activation
<b>FDA</b>	:Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
<b>DSÖ</b>	:Dünya Sağlık Örgütü
<b>cTNM</b>	:Klinik Tümör Nod Metastaz
<b>pTNM</b>	:Patolojik Tümör Nod Metastaz
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	:Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta
<b>Treg Hücre</b>	:Regülatuar T Hücreler
<b>MDSC</b>	:Myeloid Kökenli Baskılayıcı Hücreler
<b>CTLA-4</b>	:Sitotoksik T Lenfosit İlişkili Antijen 4
<b>MHC</b>	:Major Doku Uygunluk Kompleksi
<b>IL-2</b>	:İnterlökin 2
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	:Tümör Nekroz Faktör Alfa
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	:İnterferon Gamma
<b>Ig</b>	:İmmüoglobulin
<b>TIL</b>	:Tümörü İnfiltrate eden Lenfosit

## TABLÖLAR

Tablo 1: Akciğer tümörleri sınıflaması (DSÖ, 2015).....	12
Tablo 2. TNM Gruplarına Göre Evreleme.....	14
Tablo 3. PD-1/PD-L1 İnhibitörleri.....	17
Tablo 4. PD-L1 ekspresyonunun değerlendirilmesi.....	25
Tablo 5. VISTA ekspresyonunun değerlendirilmesi.....	25



## ŞEKİLLER

Şekil 1: Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide).....	8
Şekil 2: Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide).....	8
Şekil 3: Tüm Yaş Gruplarındaki Erkeklerde En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) .....	9
Şekil 4: Tüm Yaş Gruplarındaki Kadınlarda En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) .....	9
Şekil 5: Patolojik Tanı Dağılımı .....	28
Şekil 6: Neoadjuvan Kemoterapi Protokolü Dağılımı .....	29
Şekil 7: Tanı anı PD-L1 düzeyi düşük ve yüksek olan gruplar arası sağkalım değerlendirmesi .....	30
Şekil 8: Vista düzeyi düşük ve yüksek olan gruplar arası sağkalım değerlendirmesi.....	31
Şekil 9: Tanı Anı ve Tedavi Sonrası PD-L1 Grup Dağılımları .....	32
Şekil 10: Hastaların Tedavi Öncesi ve Sonrası PD-L1 düzeyleri.....	32
Şekil 11: Tanı Anı ve Tedavi Sonrası Vista Grup Dağılımları.....	33
Şekil 12: Hastaların Tedavi Öncesi ve Sonrası Vista düzeyleri .....	33
Şekil 13: Tedavi Öncesi ve Sonrası PD-L1 ekspresyon Değişiminin Mikroskopik Görünümü .....	34
Şekil 14: Tedavi Öncesi ve Sonrası Vista ekspresyon Değişiminin Mikroskopik Görünümü .....	35

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) Globocan 2020 verilerine göre, dünyada erkeklerde en sık ve kadınlarda ise 2. sıklıkta görülen kanserdir (1-3). Ülkemizde ise; Türkiye Halk Sağlığı Kurumu tarafından yayınlanan 2016 yılı Türkiye Kanser İstatistikleri'ne göre erkeklerde en sık görülen kanser olup, kadınlarda da görülen kanserler içerisinde 5. sırada yer almaktadır. Türkiye'de görülen toraks kanserlerinin %97.5'ini akciğer kanseri ve %2.5'ini mezotelyoma oluşturmaktadır. Akciğer kanseri alt tiplerine bakıldığında tüm toraks kanserlerinin; % 79,3'ü küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK), %16.3'ü küçük hücreli akciğer kanseri ve %4.3'ü diğer kanserler (Bazal hücreli karsinom, sarkomatoid karsinom, iğsi hücreli karsinom, Melanom, Mukoepidermoid karsinom, sarkom, periferik nöroektodermal tümör) olarak dağılım göstermiştir (4) . Küçük hücreli dışı akciğer kanserleri içerisindeki alt tiplere baktığımızda en sık adenokarsinom %47,1 oranında görülmüş olup, 2. sırada %37,7 ile yassı hücreli karsinom, 3. sırada %1,6 oranında büyük hücreli karsinom saptanmıştır. %13,6'lık kısım ise herhangi bir sınıfa girmeyen (NOS) olarak değerlendirilmiştir (4).

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri TNM sınıflamasına göre 4 evreye ayrılmaktadır. Erken Evre hastalık olarak adlandırılan grup; Evre 1 ve Evre 2'den oluşmaktadır. Lokal ileri hastalık ise T3N1 ve daha ileri toraks içi tutulumu ifade eden, uzak metastazın görülmediği Evre 3'ten oluşmaktadır. Evre 3 kendi

içerisinde 3 A,3 B ve 3 C olarak 3 ayrı alt gruba ayrılır. Erken evrede rezeksiyon tercih edilen lokal tedavi yöntemidir. Lokal ileri hastalık dediğimiz Evre 3 grubunda, uluslararası kabul görmüş klavuzlara göre tedavi önerilerine baktığımızda, alt gruplara göre farklı tedaviler önerilmektedir. Evre 3A için tedavi planı direk cerrahi veya neoadjuvan kemoterapi veya kemoradyoterapi sonrası cerrahi ve adjuvan tedavidir. Bunun yanında, Evre 3B ve 3C için definitif kemoradyoterapi sonrasında adjuvan durvalumab tedavisi önerilmektedir (5) . Evre 3 hastalarda cerrahi kararı alınırken mutlaka neoadjuvan tedavi sonrası kontrol görüntüleme yöntemi ile beraber multidisipliner bir yaklaşım gerekmektedir. Uluslararası kılavuzlarda, aynı lobda (T3, N0-1) veya ipsilateral primer olmayan lobda (T4, N0-1) pulmoner nodülleri olan hastalara cerrahi önerilmektedir. Evre III hastalardan pozitif mediastinal nodları (T1-3, N2) olan ve ilk tedaviden sonra hastalık progresyonu göstermeyen hastalar için önerilen tedavi radyoterapi ile (veya olmadan) cerrahiye içermektedir (5).

Neoadjuvan tedavinin hedefleri TNM evresini azaltmak, R0 rezeksiyon oranını artırmak, mikrometastazları kontrol etmek, progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalımı uzatmaktır (6) . Neoadjuvan tedavi modalitelerine bakıldığında; National Comprehensive Cancer Network (NCCN) üye kurumların % 50'sinde neoadjuvan kemoradyoterapi, diğer % 50'sinde ise neoadjuvan kemoterapi kullanılmaktadır. Preoperatif olarak verilmeyen radyoterapi postoperatif olarak uygulandığında, genel sağ kalım benzer olarak değerlendirilmiştir. Neoadjuvan kemoradyoterapi, daha yüksek patolojik tam yanıt oranları ve negatif mediastinal

lenf nodu tutulumu ile ilişkilidir, ancak bu durum, daha yüksek toksisite ve maliyete de neden olmaktadır(5) .

KHDAK hastalarının yaklaşık %27.9'u lokal ileri evrede tanı almaktadır ve bu hastaların 5 yıllık sağ kalım oranları oldukça düşüktür. Bu nedenle lokal ileri hastalıkta sağ kalımı arttıracak yeni tedavilere gereksinim vardır. Son yıllarda kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi tedaviye ek olarak immün kontrol noktası inhibitörleri de KHDAK hastalarının tedavisinde başvurulan ajanlar olmaya başlamıştır(7, 8) .

Programlanmış hücre ölümü 1'i (PD - 1) veya ligandını (PD - L1) hedefleyen immün kontrol noktası inhibitörlerinin (ICI) ortaya çıkması, lokal ileri ve ileri evre KHDAK tedavisini önemli ölçüde değiştirmiştir. Bununla birlikte, çoğu tümörde T hücresi infiltrasyonu ve bağışıklık genlerinin aktif ekspresyonu yoktur, bu nedenle ileri evre KHDAK'li hastaların sadece %20'si tedaviden yararlanırken, farklı çalışmalarda farklı oranlarda hastaların bir kısmında tedaviyle ilişkili advers olaylar görülmüştür. İlacın yüksek maliyeti, bundan faydalanan sınırlı hasta sayısı ve nadir de olsa ciddi yan etki potansiyeli göz önüne alındığında, ICI tedavisinden yararlanabilecek KHDAK hastalarını seçmek için etkin biyobelirteçlere ihtiyaç vardır (7) . Onkoloji pratiğinde en çok kullanılan biyobelirteç, tümör mikro ortamında PD-L1 protein ekspresyonudur. PD-L1 için immünohistokimyasal testler, anti-PD-1/ PD-L1 tedavisine yanıtın belirleyicileri olarak kullanılır ve şu anda bu ajan sınıfı için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

(FDA) onaylı yardımcı veya tamamlayıcı tek biyobelirteçtir (9). PD-L1 bir biyobelirteçten beklenen özellikleri tam anlamıyla karşılamasa da immünohistokimya ile boyanarak PD-L1 seviyesinin tespit edilebilmesi özelliği nedeniyle şuan klinik pratikte immunoterapi yanıtını öngörmek için kullanılabilen FDA tarafından onaylanan ve klinik pratikte en çok tercih edilen belirteçtir. Yeni biyobelirteç geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

KHDAK hastalarının tedavisinde tek bir tedavi yöntemi sıklıkla yeterli olmamakta, sağ kalımı arttırmak için tedavi yöntemlerinin beraber ve tekrarlayan uygulamalarına gereksinim olmaktadır. Ardışık tedavilerin birbirlerine olan etkileri gündeme gelmiş ve son dönemde sıkça araştırılmıştır. İmmunoterapi, akciğer kanserinde en çok umut vadeden tedavi ajanı olarak öne çıkmakta olup, tedavi sırasında nereye konumlanacağı merak konusudur. Bu ajanlardan, tüm hasta grubunun fayda görebilmesi için, tümör dokusunun farklı tedavi modaliteleri ile immün aktif hale getirilmesi öne sürülmüştür (10) . Bunun yanında, yeni immün checkpoint noktaları ve bunlara yönelik tedaviler araştırılmaktadır. Son dönemde sıkça araştırılan immün checkpoint noktası reseptörlerinden bir tanesi de V-domain immunoglobulin suppressor of T cell activation (VISTA) reseptörüdür. VISTA tümör infiltrasyon yapan lenfositler (TIL), makrofajlar ve T hücreleri dahil çeşitli immün hücrelerde eksprese edilen bir immün kontrol noktası reseptörüdür (11). Hernandez-Martinez ve ark., VISTA'nın KHDAK'inde immünomodülatör bir rol oynadığını ve temel bir terapötik hedef olarak potansiyeli olduğunu doğrulamıştır (12) . Benzer şekilde Brcic ve ark., akciğer adenokarsinomu ve

skvamöz hücreli karsinomu örneklerinde lenfositlerde yüksek sayıda düzenleyici T hücresi ve VISTA ekspresyonu saptamışlardır (13) .

Radyasyonun tümör antijen salınımını indükleyici ve PD-L1 ekspresyonunu arttırıcı etkisi, radyoterapi ve kontrol noktası inhibitörlerinin kombine kullanımını birçok çalışmanın odak noktası haline getirmiştir (7) . Neoadjuvan kemoterapi veya neoadjuvan kemoradyoterapi alan hastalarda tümör immunojenitesinin arttığı bilinmektedir. Radyasyona ya da kemoterapiye maruz kalmış tümör hücresinde oluşan nekroz ve inflamasyon sonucu tümörde lokal küçülmenin yanı sıra malign dokulardan tümör antijenleri de salınmaktadır. Dolaşıma karışan bu antijenler, tümör antijeni spesifik T hücrelerinin oluşturulmasını ve proliferasyonunu sağlamaktadır. Bu nedenle kanserlerdeki tümör antijeni sunumunu ve dolaşımını arttıran radyoterapi, Anti CTLA4 ve Anti PD-1 gibi kontrol noktası immün modülatörlerinin etkilerini arttırabilir (14). Pre-klinik modellerde yapılan bir çalışmada; programlanmış hücre ölümü ligand-1'in (PD-L1) ekspresyonu, KHK ve diğer tümörlerin RT'ye yanıt olarak yukarı yönde regüle edildiğini göstermiştir (10, 15). Bu nedenle bu çalışmada, Evre 3 Küçük Hücreli Dışı Akciğer kanseri hastalarında neoadjuvan tedavi sonrasında, PD-L1 ve homoloğu olan VISTA ekspresyonundaki değişimin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Neoadjuvan tedavinin etkisiyle tümör immunojenitesinin artması ile PD-L1 ve VISTA düzeylerinde artış olabileceği, bu artışın immunoterapi yanıtını arttırabileceği düşünülmüştür. Akciğer kanserinde

artmış PD-L1 düzeyi ile özellikle de PD-L1'in düzeyinin %50 üstüne çıkmasıyla, immunoterapi yanıtının arttığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir(16) .

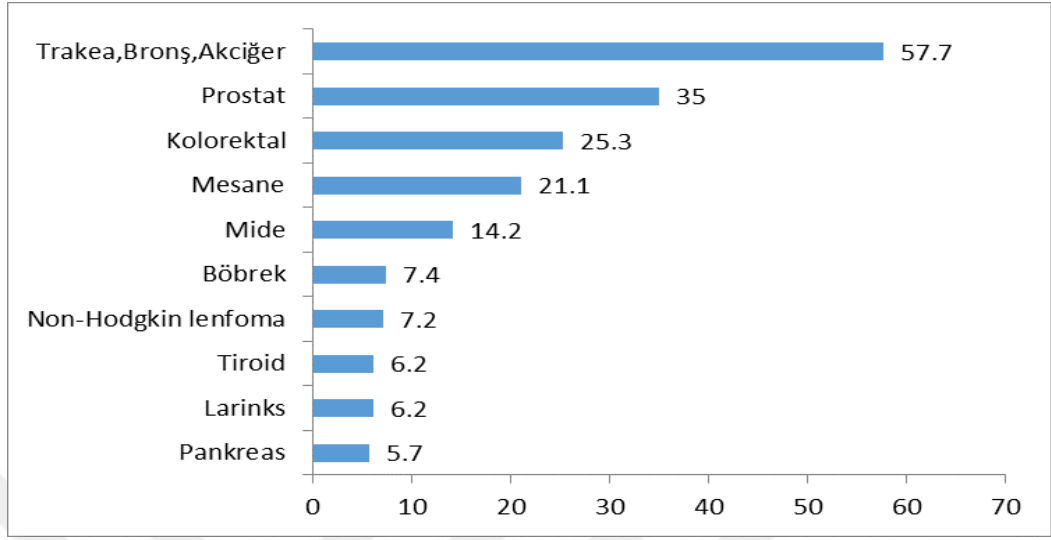
Neoadjuvan tedavi etkisiyle VISTA ve PDL-1 düzeylerindeki değişimin gösterilmesi, immunoterapi tedavi yanıtını öngörmeye önemli olacaktır. Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde neoadjuvan tedavi alan ve opere edilen Evre 3 KHDAK tanılı hastalarda; tanı anındaki biyopsi ve neoadjuvan tedavisi sonrası yapılan cerrahi ile çıkarılan doku örneklerinde PD-L1 ve VISTA düzeylerinin incelenmesi planlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

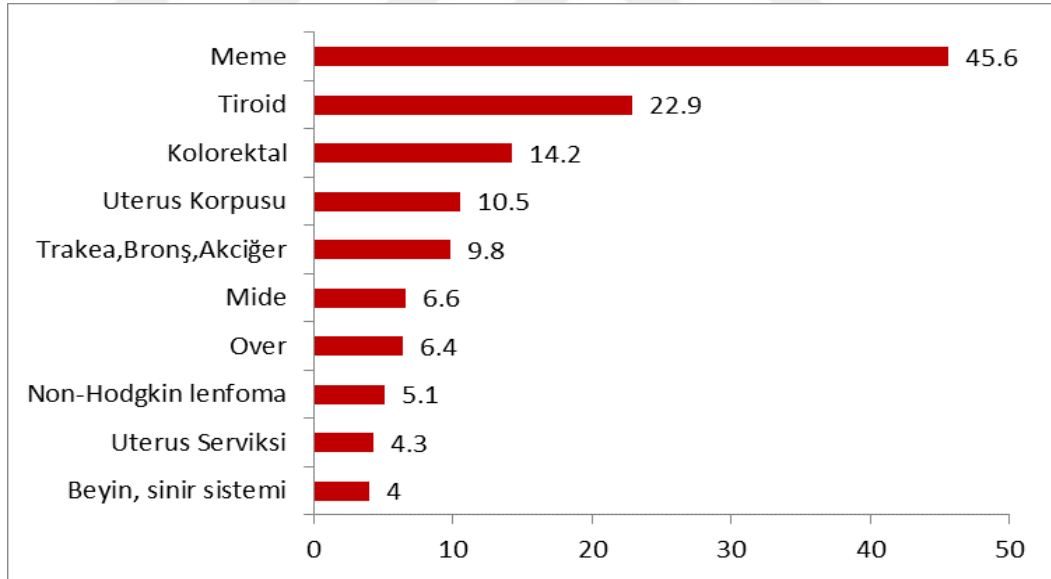
### 2.1. Epidemiyoloji

T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu tarafından yayınlanan 2016 yılı Türkiye Kanser İstatistikleri'ne göre; akciğer kanseri erkeklerde en sık görülen kanser olup, kadınlarda görülen kanserler içerisinde ise 5. sırada yer almaktadır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan Globocan 2018 verilerine göre Dünya'da yaşa göre standardize edilmiş hız; erkeklerde yüz binde 218,6, kadınlarda yüz binde 182,6 olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada; her iki cinsiyette toplam akciğer kanseri 2.093.876 yeni tanı ile tüm kanser tanılarının %11,6'sından sorumlu olduğu saptanmıştır. 1.761.007 ölümden sorumlu olan akciğer kanseri, tüm kanser ölümlerinin %18,4'lük kısmında etiyolojik neden olup, en fazla ölüme neden olan kanser türü olarak saptanmıştır(2, 4) .

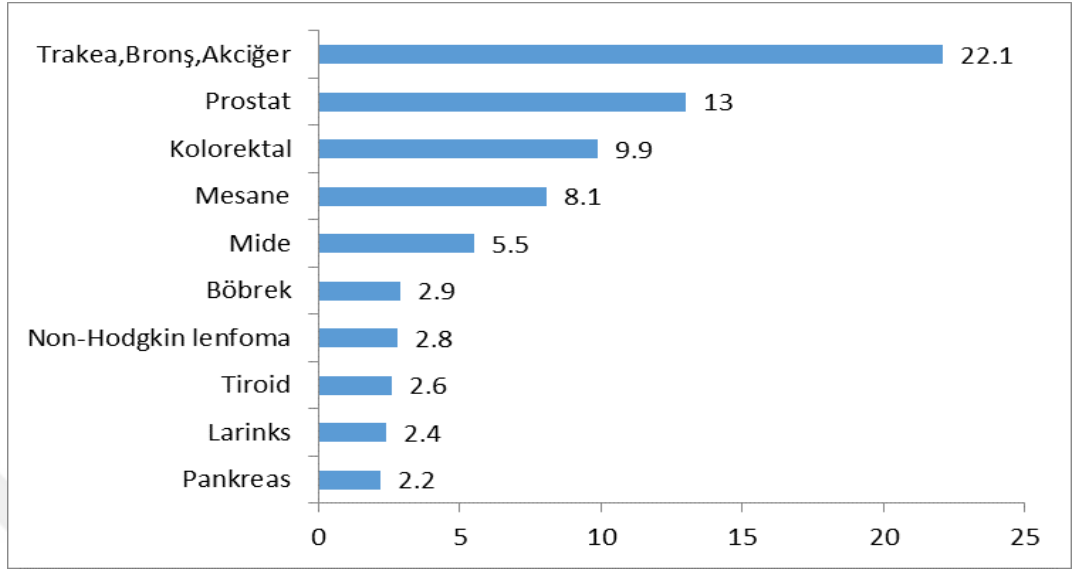
Türkiye'de 2016 yılı verilerine göre; standardize edilmiş kanser hızı erkeklerde yüz binde 259,9, kadınlarda ise yüz binde 183,2 olarak tespit edilmiştir. Tüm kanserler içerisinde akciğer kanserinin oranına bakıldığında; erkek hastalarda %22,1 ile ilk sırada, kadın hastalarda %5,4 ile 5. sırada yer almaktadır. En sık görülen 10 kanserin yaşa göre standardize edilmiş hızları erkek (Şekil 1) ve kadın cinsiyet (Şekil 2) için şekil 1 ve şekil 2'de gösterilmiştir(4) .



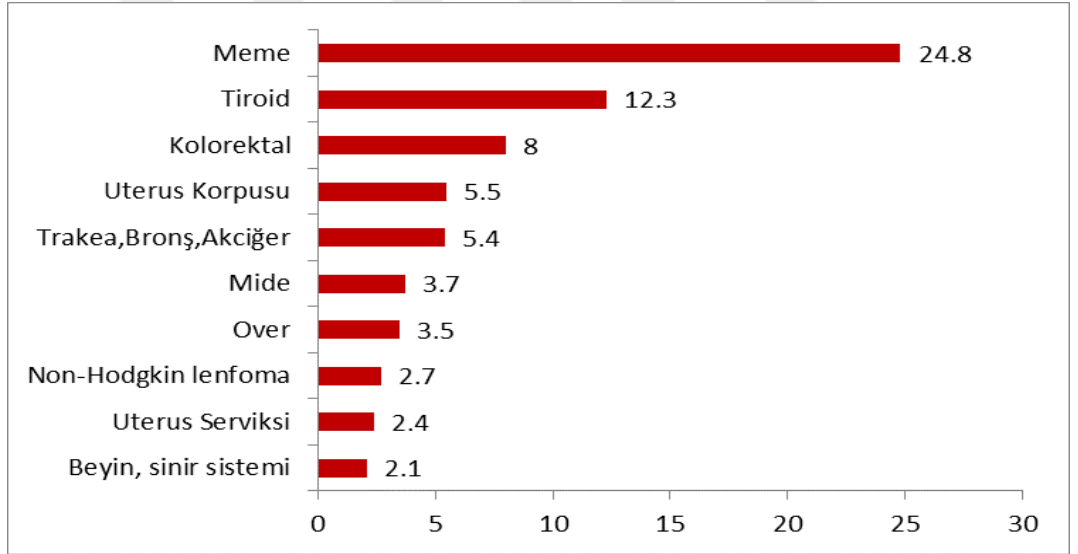
**Şekil 1:** Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide)



**Şekil 2:** Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide)



**Şekil 3:** Tüm Yaş Gruplarındaki Erkeklerde En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016)



**Şekil 4:** Tüm Yaş Gruplarındaki Kadınlarda En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2016)

## **2.2. Etiyoloji**

Akciğer kanseri etiolojisinde en önemli faktör sigara kullanımı olmakla beraber; hava kirliliği, radon gazı ve asbest maruziyeti, viral enfeksiyonlar, geçirilmiş akciğer hastalıkları, çeşitli mesleki toksin maruziyetleri, genetik ve immünolojik durumlar gibi pek çok faktör etiolojide önemli rol oynamaktadır. Akciğer kanseri tespit edilen hastaların %80'i aktif olarak sigara içen veya önceden sigara içmiş bireylerdir. Sigara kullananların akciğer kanserine yakalanma riski, sigara kullanmayanlara göre yaklaşık 20 kat daha fazladır. Kanser riski artışındaki en önemli faktör, sigara kullanım süresi ve kullanılan tütünün türüdür (17, 18) .

Sigaranın içindeki en önemli karsinojen maddeler; polisiklik aromatik hidrokarbonlar, N-nitrozaminler, aromatik aminler ve heterosiklik aminlerdir. Sigara tüm akciğer kanseri tipleri ile ilişkili olmakla beraber, santral yerleşimli olan skuamöz hücreli karsinom ve küçük hücreli karsinom ile daha yüksek oranda ilişkilidir (19) .

## **2.3. Akciğer Kanseri Histopatolojik Sınıflama**

Dünya Sağlık Örgütü akciğer kanserlerini hücre tiplerine göre 4 gruba ayırır. Bunlar; küçük hücreli akciğer kanseri, adenokarsinom, yassı hücreli akciğer karsinomu ve büyük hücreli akciğer karsinomudur. Adenokarsinom, yassı hücreli akciğer karsinomu ve büyük hücreli akciğer karsinomunun oluşturduğu gruba da küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) ismi verilmektedir(20-22) .

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ilk olarak 1967 yılında akciğer tümörlerindeki sınıflamasını yayınlamıştır. Klinik ve genetik bilgilerdeki gelişmelere bağlı olarak 1981, 1999, 2004 ve 2015 yıllarında bu sınıflama revize edilmiştir. İlk sınıflamalar sadece patoloğlara yönelik iken 2004 sınıflaması ile beraber klinik ve genetik bilgiler de içeriğe eklenmiştir. İlk DSÖ sınıflamalarında akciğer kanseri tanısı büyük ölçüde hematoksilen eozin boyalı kesitlerin ışık mikroskobu altında incelemesine dayalıydı. 1999 sınıflaması ile immünohistokimyasal boyamalar da yer almaya başladı. 2004 DSÖ sınıflamasında immünohistokimyasal boyama teknikleri kullanımı; metastatik karsinomların primer akciğer malignitelerinden ayrımında, özellikle de Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom, Sarkomatoid Karsinom ve Malign Mezotelyoma ile ayrımında kullanılmıştır. 2015 DSÖ sınıflamasında immünohistokimyanın önemi artmış ve bu sınıflama ile beraber immünohistokimyasal değerlendirmenin bütün materyallerde kullanımı önerilmiştir (20) .

**Tablo 1:** Akciğer tümörleri sınıflaması (DSÖ, 2015)

<b>1-Epitelyal Tümörler</b>		
<b>A-Adenokarsinom</b>		
	*Lepidik adenokarsinom	*Enterik adenokarsinom
	*Asiner adenokarsinom	*Minimal invaziv adenokarsinom
	*Papiller adenokarsinom	-Non müsinöz
	*Mikropapiller adenokarsinom	-Müsinöz
	*Solid adenokarsinom	*Preinvaziv lezyonlar
	*İnvaziv müsinöz adenokarsinom	-Atipik adenomatöz hiperplazi
	-Mikst müsinöz invaziv	-Adenokarsinoma in situ
	-Non-müsinöz	*Non müsinöz
	*Kolloid adenokarsinom	*Müsinöz
<b>B-Skuamöz hücreli karsinom</b>		
	*Keratinize skuamöz hücreli	*Preinvaziv lezyonlar
	*Non keratinize skuamöz	*Skuamöz hücreli karsinoma in situ
	*Bazaloid skuamöz hücreli	
<b>C-Nöroendokrin Tümörler</b>		
	*Küçük hücreli karsinom	*Karsinoid Tümörler
	*Büyük hücreli nöroendokrin	
<b>D-Büyük Hücreli Karsinom</b>		
<b>E-Adenoskuamöz Karsinom</b>		
<b>F-Diğer Adenokarsinom Alt Tipleri</b>		
<b>2-Mezenkimal T.</b>	<b>3-Lenfohistiositik T.</b>	<b>4-Ektopik Orjinli T.</b>
<b>5- Metastatik Tümörler</b>		

## 2.4. Evreleme

İlk olarak 1942 yılında geliştirilen Tumor-Nod-Metastaz (TNM) evreleme sistemi, günümüzde bütün organ malignitelerinin yayılım durumunun belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bu sistem ile malign hastaların; hastalık evresi, yayılımı, tedavi planı ve hastalık prognozu gibi birçok konuda uluslararası ortak akademik dil kullanılabilmesine olanak sağlanmaktadır.

Günümüzde evrensel olarak akademik düzende kullanımı kabul görmüş olan TNM evreleme sistemi, malign tümörleri 3 bileşen açısından tanımlar. T parametresi tümör boyutu, lokal yayılımı ve ek bir tümör nodülü mevcut olduğunda, onun birincil tümöre göre konumu ile belirlenir. N parametresi lenf nodlarına yayılımını, M parametresi ise tümörün metastaz durumunu belirtmektedir.

Akciğer kanseri tanısı alan bir hastanın fizik muayene ve görüntüleme yöntemleri (kontrastlı toraks BT, tüm vücut PET BT, kranial MR, bronkoskopi, EBUS vb.) ile yapılan tedavi öncesi klinik sınıflamaya cTNM denilmektedir.

cTNM evresine göre cerrahi tedavi planlanan hastaların ameliyat materyallerinin patolojik incelemesi ile yapılan evrelemeye pTNM denilmektedir. cTNM görüntüleme yöntemlerine dayanan tahmini bir evreleme olarak kabul edilirken, pTNM ise, patoloji ile onaylanmış kesin bir evredir(23-25) .

**Tablo 2.** TNM Gruplarına Göre Evreleme

	N0	N1	N2	N3	M1a	M1b	M1c
T1a	IA1	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T1b	IA2	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T1c	IA3	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVA	IVB
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVA	IVB

## 2.5. İmmün Sistem

Tümör ile vücudun savunma sistem arasındaki ilişki “immün düzenleme” olarak adlandırılmaktadır. İmmün düzenleme; eliminasyon, denge (equilibrium) ve kaçış (escape) olmak üzere 3 basamaktan oluşmaktadır. Eliminasyon olarak adlandırılan dönem tümör hücrelerinin vücutta immün sistem ile ilk teması olup; doğal ve edinsel immün sistem hücrelerinin, tümör hücrelerini ortadan kaldırılmaya çalıştığı süreçtir. Denge (equilibrium); tümörün daha fazla büyümediği ancak tam olarak da ortadan kaldırılamadığı dönemi ifade etmektedir. Kaçış dönemi ise, tümör hücrelerinin immün sistemin etkisinden kurtularak çoğalmaya devam ettiği, ayrıca lokal ve uzak metastazların izlendiği dönem olarak adlandırılmaktadır (26, 27) .

Tümörler; genetik ve epigenetik modifikasyonlar gibi immün sistemden kaçış mekanizmalarını kullanır. Kanser hücreleri; Major doku uygunluk kompleksi (MHC) class 1 ve class 2 moleküllerini aşağı yönde düzenleyerek tümör antijen sunumunu azaltmak, Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF beta) gibi immünsüpresif sitokin salınımını arttırmak, Regülatuar T hücreler (T-reg hücre) veya Myeloid Derived Supresor Hücreler (MDSC) gibi immünsüpresif hücreleri arttırmak ve konağın tümöre karşı savunmasını inhibe eden PD-1 gibi belli ligandların daha fazla ekspresyonunu sağlamak gibi birçok mekanizma ile immün sistemden kaçmaya çalışırlar (28). T hücresi aktivitesini baskılayan inhibitör sinyallere, CD28 / sitotoksik T-lenfosit antijeni 4 (CTLA-4) eksenini ve

PD-L1 dahil olmak üzere immün kontrol noktası molekülleri (inhibitör ligandlar ve bunların reseptörleri) aracılık eder(29) .

İmmün kontrol noktaları; T hücre aracılı toleransa da katkı sağlar. Fizyolojik durumlarda self toleransı ve immün homeostazi korumada önemli görevlere sahiptirler. Böylece immün sistem patojeni temizlerken dokuları da gereksiz hasardan korumuş olur (30) .

## **2.6. İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri**

2011 yılında bir monoklonal antikor olan CTLA-4 inhibitörü ipilimumabın metastatik melanomlarda FDA tarafından onaylanmasından sonra; başta KHADK olmak üzere, gastrik, metastatik kolorektal, meme karsinomları ile renal hücreli ve Merkel hücreli karsinomlar, melanomlar, Hodgkin lenfoma gibi çok sayıda malignitede inhibe edici kontrol noktalarını hedefleyen tedaviler FDA tarafından onaylanmıştır (31).

Nivolumab ve pembrolizumab, aktive edilmiş T hücrelerinde PD-1 reseptörlerini bağlayan ve bloke eden anti-PD-1 antikorlarıdır; durvalumab, atezolizumab ve avelumab ise tümör hücrelerinde PD-L1'i bağlayan ve bloke eden anti-PD-L1 antikorlarıdır. PD-1 / PD-L1 yolunun blokajı, T hücrelerinin tümör hücrelerini tanımasını ve yok etmesini sağlar (32) .

Bugüne kadar, PD-1 blokerleri pembrolizumab, nivolumab ve PD-L1 bloker atezolizumab, avelumab metastatik KHDAK'nin tedavisi için FDA onay

almıştır (33-35). KHDAK’inde konsolidasyon tedavisi olarak anti-PD-L1 antikoru durvalumab’ı plasebo ile karşılaştıran faz III PACIFIC çalışmasında Durvalumab alan grupta; progresyonsuz sağkalım, genel sağ kalım süresi plaseboya göre anlamlı oranda yüksek saptanmıştır (7). Pacific Çalışmasının ardından Durvalumab, eşzamanlı platin bazlı kemoradyoterapiyi takiben, hastalığı ilerlemeyen, rezeke edilemeyen evre III KHDAK hastalarının tedavisi için FDA tarafından onaylanmıştır (36).

**Tablo 3.** PD-1/PD-L1 İnhibitörleri

HEDEF	ANTİKOR	HEDEF	ANTİKOR
PD-1	Nivolumab	PD-L1	Durvalumab
	Pembrolizumab		Atezolizumab
	Pidilizumab		Avelumab
	Cemiplimab		

## **2.7. Programlanmış Ölüm 1 (Pd1)/ Programlanmış Ölüm Ligandı 1-2 (PDL 1-2) Yolağı**

PD-1 (CD279), B7-CD28 süperaillesine ait inhibitör bir transmembran reseptör olup, PDCD1 geni tarafından kodlanmaktadır (37, 38). PD-1, B ve T lenfositlerde, monositlerde, natural killer hücrelerinde, dentritik hücrelerde bulunmaktadır. PD-1'in PD-L1 (B7- H1; CD274) ve PD-L2 (B7- DC; CD273) olmak üzere B7 ailesine ait 2 ligandı bulunmaktadır (39, 40).

PD-L2 sadece makrofaj ve dendritik hücreler gibi antijen sunan hücrelerde bulunurken; PD-L1 hem T hücre, B hücre, makrofaj ve dendritik hücre gibi immünite ilişkili hücrelerde hem de endotelyal hücreler ve pankreatik hücreler gibi immünite ilişkisiz hücrelerde bulunmaktadır (41).

PD-1 ve ligandları diğer CD28 aile üyelerine göre daha yaygın olarak bulunmakta ve PD1/PDL1-2 sinyal yolağı, santral ve periferel toleransın düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. PD1/PDL1-2 yolağı ile T hücre aracılı immun cevap baskılanarak, T hücre proliferasyonu engellenmekte ve immuntolerans sağlanmaktadır. Tümör hücreleri tarafından üretilen PD-L1, T hücrelerinin yüzeyindeki PD-1'e bağlanarak, interlökin 2 (IL-2), tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) gibi mediatörlerin salınımını bloke etmekte, sonuç olarak konağın immun aracılı cevabını engellemekte ve tümör immun sistemden kaçabilmektedir (39, 42). Ayrıca, PD-1 ve PD-L1 arasında etkileşim immun yanıtı negatif yönde etkileyerek sitokin üretimini azaltıp, T

hücrelerde enerji ve apoptoza neden olmaktadır. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu, T hücrelerinde fonksiyonel bir inaktivasyona yol açarak immun sistemden kaçmasına yardımcı olmaktadır. Birçok akciğer kanseri hücresi, T-hücresi yanıtını baskılama mekanizması olarak PD-L1'i aşırı eksprese eder (29). PD-L1 malign tümör hücrelerinde ve IFN gama stimülasyonuna cevap olarak makrofajlarda baskın olarak sentezlenmektedir. Kanser hastalarında artmış PD-L1 seviyesi değişken sıklıkta bulunmuştur ve bu yolağın blokajı belirgin, uzun süren anti tümör cevabı oluşturmuştur. Bu durum PD-1 yolağının anti tümör immun cevapta temel rol oynadığını desteklemektedir (43). İn vivo olarak da gösterilmiştir ki; PD-L1 in artması tümör gelişimini ve tümör invazyonunu arttırmaktadır (44).

FDA malign melanom, KHDAK, mesane karsinomu, hepatosellüler kanser, böbrek tümörü, klasik Hodgkin lenfoma, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom ve Merkel hücresinin tedavisi için anti-PD-1 / PD-L1 ajanlarını onaylamıştır. Bu ajanlara yanıt veya direnç tahmini için en iyi incelenen biyobelirteç, tümör mikro ortamında PD-L1 protein ekspresyonudur (9).

## **2.8. VISTA (V-domain immunoglobulin suppressor of T cell activation)**

VISTA, tek bir N-terminal immünoglobulin (Ig) V-alanı, yaklaşık 30 amino asitlik bir sap, bir transmembran alanı ve 95 aminoasitlik bir sitoplazmik kuyruktan oluşan tip I transmembran proteinidir (45).

PD-1H, VSIR ve c10orf54 olarak da bilinen VISTA, 2011 yılında keşfedilen, tümör infiltrasyon yapan lenfositler (TIL), makrofajlar ve T hücreleri dahil çeşitli immün hücrelerde eksprese edilen bir immün kontrol noktası reseptörüdür. VISTA, T hücresi aktivasyonunun, proliferasyonunun ve sitokin üretiminin baskılanmasını desteklemektedir (11). VISTA'nın IgV alanının analizi, bu bölgenin programlanmış ölüm ligandı 1 (PD-L1) ile en büyük homolojiye sahip olduğunu göstermektedir (46).

PD-L1 ve VISTA inhibisyonu, prelinik modellerde tümör büyümesini bastırılmış, ayrıca bir faz I çalışmasında bu inhibisyonun T hücre aktivasyonunu teşvik ettiği gösterilmiştir (47). VISTA; prostat kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK) ve kolorektal karsinom gibi birçok insan kanserinde bağışıklıktan kaçınma ve hayatta kalma için T hücresi ile ilişkili yanıtı baskılayan bir V-set reseptörü olarak tanımlanmıştır (43, 48). Hernandez-Martinez ve ark., VISTA'nın KHDAK'inde immünomodülatör bir rol oynadığını ve temel bir terapötik hedef olarak potansiyeli olduğunu doğrulamıştır (12). Brcic ve ark., hem akciğer adenokarsinomu hem de skuamöz hücreli akciğer karsinomu örneklerinde lenfositlerde yüksek sayıda düzenleyici T hücresi ve VISTA ekspresyonu saptamışlardır (13). Bir diğer çalışmada ise, VISTA ekspresyonu  $\geq$  % 10 olan vakalarda, VISTA'nın immünosupresif hücreler üzerindeki potansiyel etkisini gösteren, önemli ölçüde daha yüksek sayıda Treg hücresi saptanmıştır. Bu çalışmalar, VISTA'nın KHDAK'nde inhibe edici bir bağışıklık kontrol noktası olarak rolünü doğrulamaktadır (46).

## 2.9. Radyasyon ve kemoterapinin etkisi

Tedavide kullanılan ICI'nin T hücre supresyonunu engelleyebilmesi için; T hücre aktivasyonunun sağlanması ve antijen-reseptör ilişkisinin kurulması gerekmektedir. Radyasyon ve kemoterapi tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunu, TGF beta sekresyonunu, CD4 T-Reg hücrelerinin artmasını sağlamaktadır. Radyasyona ya da kemoterapiye maruz kalmış tümör hücresinde oluşan nekroz ve inflamasyon sonucu tümörde lokal küçülmenin yanı sıra malign dokulardan tümör antijenleri de salınır. Dolaşıma karışan bu antijenler, antijen sunan hücreler tarafından yakalanır. Lenf nodunda MHC Class 1 molekülünde sunulur, böylece ko-stimulasyon ile tümör antijeni spesifik T hücrelerinin oluşturulması ve proliferasyonu sağlanır. Bu nedenle kanserlerdeki tümör antijeni sunumunu ve dolaşımını arttıran radyoterapi tedavisi, Anti CTLA4 ve Anti PD-1 gibi kontrol noktası immün modülatörlerinin etkilerini arttırabilmektedir. Radyoterapi ve Anti PD-L1 kontrol noktası blokajının kombine kullanımı, sinerjistik etki ederek MDSC'leri azaltabileceği yeni çalışmalarla gösterilmiştir (14).

Apiskopal etki; radyasyonun uygulandığı bölgedeki antitümör etkisinin yanı sıra radyasyona direk maruz kalmayan lezyonlarda da tümör gerilemesinin görülmesi fenomenidir (49). Radyoterapi, konağın immün sistemini modüle ederek tümör hücrelerini T hücre aracılı saldırıya daha duyarlı hale getirebilmektedir. Radyoterapi ile ölmekte olan tümör hücrelerinden antijen salınması artar, MHC sınıf 1 ekspresyonu artar, kemokinler ve diğer immünmodülatörler upregüle olarak antitümör immün tepkiyi arttırmaktadır.

Tümör hücreleri tarafından bağışıklık sisteminden kaçmak için aktive edilen bir kontrol noktası olan programlanmış hücre ölümü ligand-1'in (PD-L1) ekspresyonu, KHDAK ve diğer tümörlerin prelinik modellerinde radyoterapiye yanıt olarak up-regüle edilmiştir (10, 15).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Olguların Seçilmesi ve Verilerin Toplanması

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalı'nda son 10 yıl içerisinde takip edilen 18 yaş ve üzeri, akciğer kanseri tanılı tüm hastaların dosyaları incelendi. İncelenen hastalar içerisinde; patolojik tanısı Küçük Hücreli Dışı Akciğer kanseri, tümör evresi Evre 3a, 3b ve 3c olan, neoadjuvan kemoterapi ya da kemoradyoterapi sonrasında opere edilmiş hastalar seçildi. Hastaların hem tanı anındaki biyopsisi hem de neoadjuvan tedavi sonrası cerrahi materyali hastanemiz patoloji bölümü arşivinde mevcut olan hastalar çalışmaya kabul edildi. Çalışmada hastaların tedavi öncesi ve sonrası doku biyopsileri arasındaki PD-L1 ve VISTA ekspresyon düzeyi immunohistokimyasal olarak değerlendirildi. Bu çalışmada Evre 3 Küçük Hücreli Dışı Akciğer kanseri tanılı; neoadjuvan kemoterapi ya da kemoradyoterapi sonrası opere edilen hastaların; ilk tanı biyopsisi ve neoadjuvan kemoterapi ya da kemoradyoterapi sonrasında alınan doku örneklerinde PD-L1 ve VISTA düzeylerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Hastaların demografik özellikleri, özgeçmişleri, onkolojik geçmişleriyle ilgili bilgiler Onkoloji Bilim Dalı arşivindeki hasta dosyaları incelenerek toplanmıştır. Hastaların dosyalarından tanı tarihi, tanı anında performansı (ECOG), uygulanan cerrahi yöntem, sırasıyla verilen tedaviler, nüks tarihi, nüks bölgesi, alınan patolojik örneklerdeki histolojik tanı değerlendirilerek uygun veri tabanına kaydedildi. Hastaların tanı anı evreleri ve cerrahi sonrası patolojik

evreleri, küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde TNM sınıflamasının 8. Baskı kriterlerine göre hesaplanmıştır.

Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'dan 13 Temmuz 2020 tarihinde onay alınmıştır. (Sayı 25901600-604.01.01-18 Karar No : 466 )

### **3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem**

Seçilen hastaların tedavi öncesi ve sonrasında alınan dokularından hazırlanan hematoksilin & eozin boyalı preparatlar arşivden çıkarılarak tekrar incelenmiş, tümör hücrelerinin en yoğun ve nekrozun en az olduğu tümör dokusu içeren tümör blokları seçilmiştir. Formalin ile fikse, parafine gömülü dokulara ait 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler pozitif şarjlı lamlara alınmıştır. VISTA ve PD-L1 ekspresyonlarını belirlemek için, streptavidin-biyotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak, otomatik immünohistokimyasal boyama yöntemi ile Ventana Benchmark XT cihazında boyanma yapılmıştır. Anti-PD-L1 (klon SP263, kullanıma hazır, Ventana) rabbit monoklonal antikor için Optiview DAB Detection Kit, VISTA (klon D5L5T, Cell Signaling) rabbit monoklonal antikor için Ultraview Universal DAB Detection Kit kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu seçilmiştir.

İmmünohistokimyasal yöntem uygulanan preparatlar, olgular hakkında klinik bilgisi olmayan bağımsız patolog tarafından değerlendirilmiştir. PD-L1 değerlendirilirken sadece tümör hücrelerindeki membranöz boyanma dikkate alınmış, yapılan skorlama tablo 5'te gösterilmiştir. Vista değerlendirilirken tümör

alanındaki inflamatuvar hücrelerdeki boyanma dikkate alınmış, yapılan değerlendirme tablo 6’da gösterilmiştir.

**Tablo 4.** PD-L1 ekspresyonunun değerlendirilmesi

Tümör Hücre Skoru	PD-L1 eksprese eden tümör hücresi oranı
0	Negatif ya da <% 1
1	≥%1 ve <%5
2	≥%5 ve <%50
3	≥%50

**Tablo 5.** VISTA ekspresyonunun değerlendirilmesi

İmmün Hücre Skoru	VISTA eksprese eden tümör çevresi immün hücresi oranı
0	Negatif ya da <% 1
1	≥%1 ve <%5
2	≥%5 ve <%10
3	≥%10

### 3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve tabloların oluşturulması amacıyla IBM SPSS Statistics 22 (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanılmıştır. Çalışmamızda sürekli değişkenler (nicel değişkenler), ortalama ve standart sapma değerleri ile kategorik değişkenler (nitel değişkenler) ise frekans ve yüzde değerleri ile sunulmuştur. Kategorik değişkenlerin değerlendirilmesinde Chi-Square testi ve gerekli olduğu durumlarda Fisher exact test kullanılmıştır. Nicel değişkenlerin istatistiksel

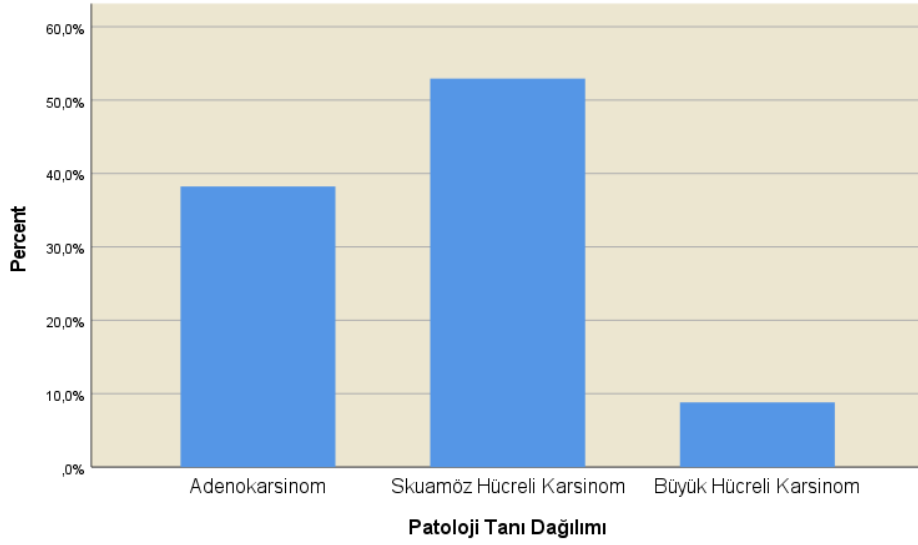
değerlendirmesinde ilk olarak parametrik test koşullarının sağlanıp sağlanmadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile araştırılmıştır. Bağımlı gruplar arasındaki ilişki incelenmesinde Parametrik test koşullarını sağlayan gruplarda Paired T testi, parametrik test koşullarını sağlamayanlarda Wilcoxon testi kullanılmıştır. İki grubun karşılaştırılması amacıyla parametrik test koşullarının sağlandığı nicel değişkenler için Student's t testi, parametrik test koşullarının sağlanmadığı durumlarda ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Sağkalım analizleri Kaplan Meier Survival Analysis yöntemi ile hesaplanmıştır. Bütün istatistiksel analizlerde  $p < 0,05$  olması istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Temmuz 2010 ile Ocak 2020 yılları arasında evre 3 KHDAK kanseri tanısı ile izlenen 127 hastanın verileri tarandı. Bu hastalar içerisinde tanı anı biyopsi materyali veya cerrahi materyali hastanemizde olmayan 61 hasta çalışma dışı bırakıldı. Geriye kalan 66 hasta içerisinde, 26 hasta yeterli klinik bilgi olmaması, düzensiz takip nedeniyle çalışmaya dahil edilmedi. 40 hastanın değerlendirilen patoloji preparatları içerisinde, 6 hastanın neoadjuvan sonrası operasyon materyalinde immünohistokimyasal boyama için uygun tümör dokusu olmadığı görüldü ve bu hastalar da çalışma dışı bırakıldı. Çalışmada 27'si erkek, 7'si kadın olmak üzere toplam 34 hasta değerlendirildi.

Yaş ortalaması 60 olarak saptanan hasta grubunun; en genç üyesi 38 yaşında, en yaşlı üyesi ise 75 yaşında idi. Hastaların dosyaları incelendiğinde çalışmada değerlendirilen hastalardan 15 kişinin hayatta, 19 kişinin exitus olduğu görüldü sağkalım oranı %44'tü. Hastaların medyan sağkalımı 31,2 aydır. (%95 CI 28,5 -33,9)

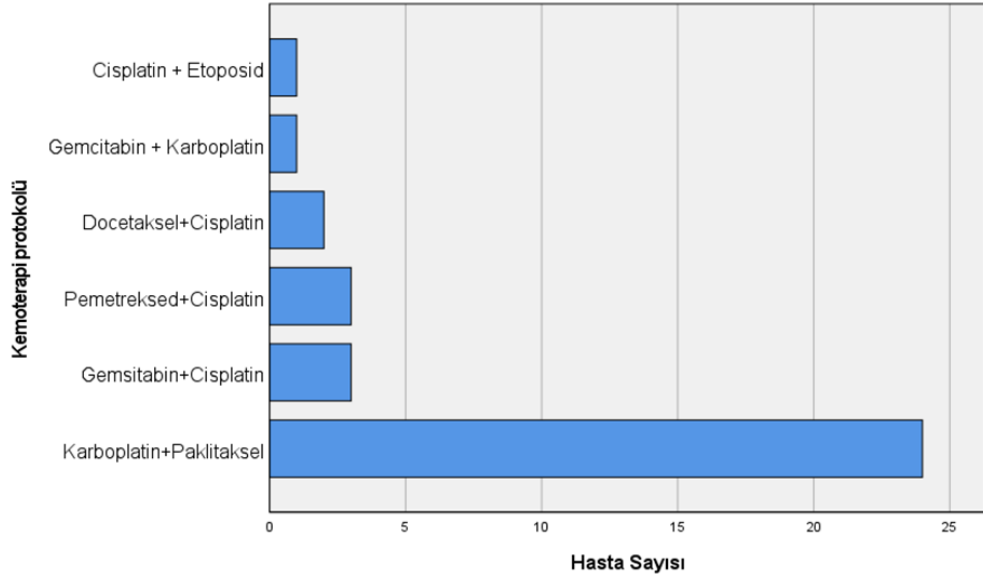
Hastalarımızın tanı anı biyopsilerinde KHDAK alt tiplerinin dağılımına baktığımızda; 18 hasta skuamöz hücreli karsinom, 15 hasta adenokarsinom ve 1 hasta NOS olarak tanımlanmıştır. Cerrahi tedavi sonrası patoloji sonuçlarında ise 18 hasta skuamöz hücreli karsinom, 13 hasta adenokarsinom ve 3 hasta büyük hücreli karsinom olarak saptanmıştır (Şekil 5).



**Şekil 5:** Patolojik Tanı Dağılımı

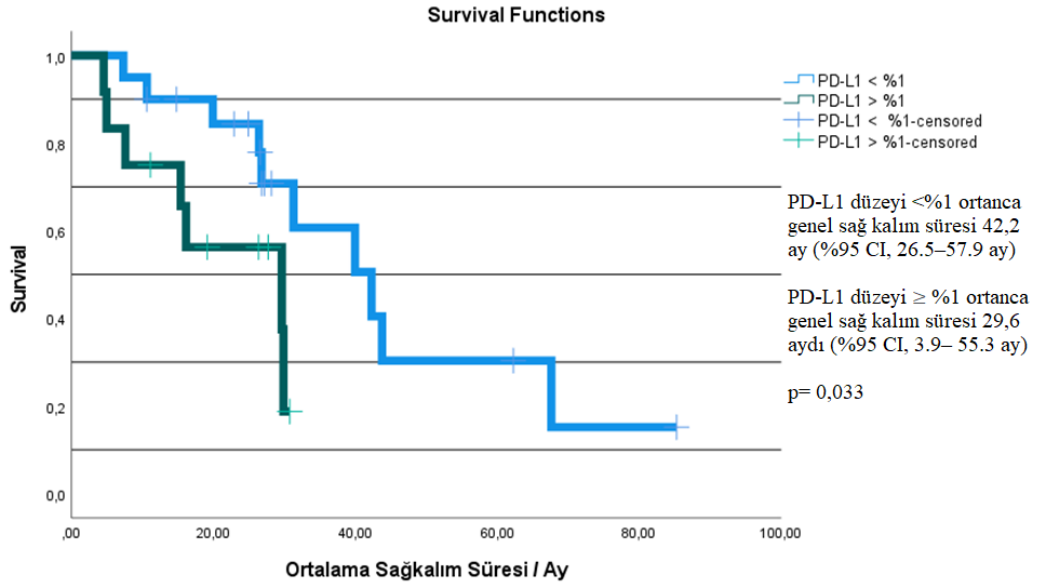
Hastalarımızın tanı anı TNM evreleme sisteminden T parametrelerini değerlendirdiğimizde; 3 hasta T1, 15 hasta T2, 8 hasta T3 ve 8 hasta T4 olarak görüldü. Lenf nodu değerlendirmesinde 4 hasta N0, 8 hasta N1, 14 hasta N2, 8 hasta ise N3 olarak tespit edildi.

Neoadjuvan tedavi olarak sadece kemoterapi alan 21 hasta olduğu görüldü, 13 hastanın ise kemoterapi ile eşzamanlı radyoterapi tedavisi aldığı saptandı. Hastaların aldığı tedavi rejimlerine bakıldığında; 24 hasta karboplatin ve paklitaksel, 3 hasta gempitabin ve cisplatin, 3 hasta pemetreksed ve cisplatin, 2 hasta docetaksel ve cisplatin, 1 hasta karboplatin ve gempitabin ve 1 hasta cisplatin ve etoposid kemoterapisini neoadjuvan kemoterapi protokolü olarak almıştır (Şekil 6).



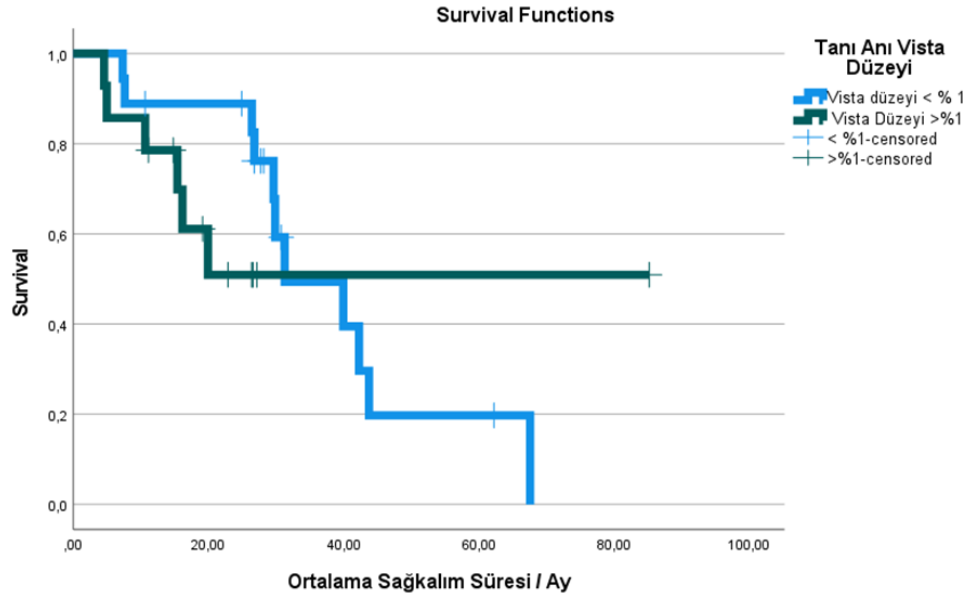
**Şekil 6:** Neoadjuvan Kemoterapi Protokolü Dağılımı

Tanı anı patoloji preparatlarının, immünohistokimyasal değerlendirmesi yapıldığında; 22 hastanın tanı anı PD-L1 düzeyi  $< 1\%$ , 12 hastanın ise tanı anı PD-L1 düzeyi  $\geq 1\%$  olarak saptandı. İki grup arasında ortanca genel sağ kalım süresi açısından değerlendirildiğinde; tanı anında PD-L1 düzeyi  $< 1\%$  olarak tespit edilen 20 hastanın ortanca genel sağ kalım süresi 42,2 ay (%95 CI, 26.5–57.9ay.) iken tanı anı PD-L1 düzeyi  $\geq 1\%$  olarak saptanan 12 hastanın ortanca genel sağ kalım süresi 29,6 aydı (%95 CI, 3.9– 55.3ay) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p= 0,033$ ). Neoadjuvan tedavi sonrası gerçekleştirilen cerrahi operasyon ilişkili komplikasyon nedeniyle postoperatif erken dönemde exitus olan 2 hasta, yeterli takip süresi oluşmadığı için sağ kalım değerlendirmesine katılmadı.



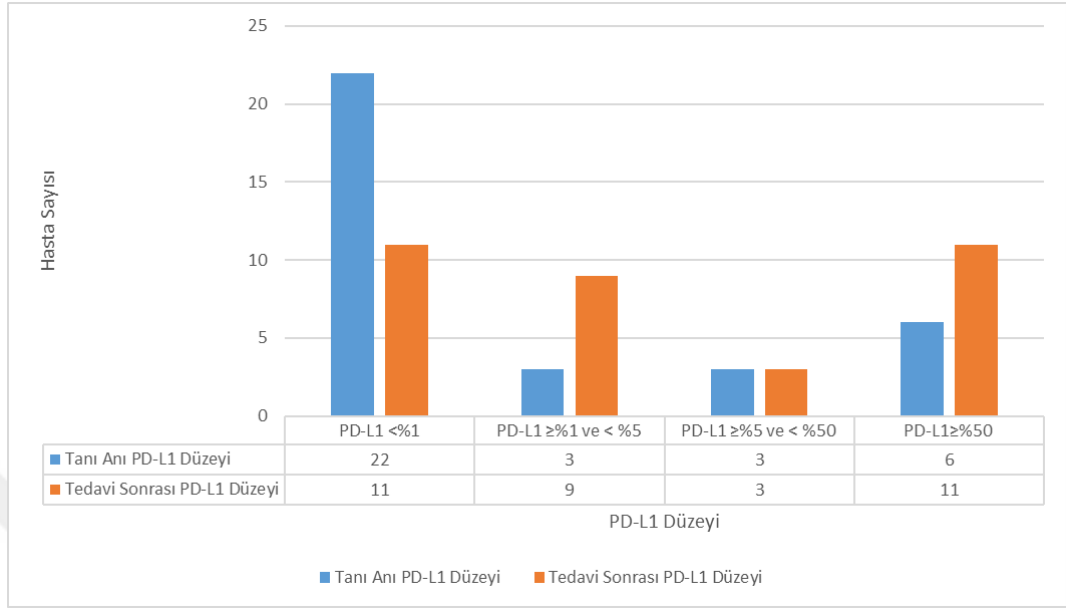
**Şekil 7:** Tanı anı PD-L1 düzeyi düşük ve yüksek olan gruplar arası sağkalım değerlendirmesi

Tanı anı patoloji preperatlarının VİSTA için immünohistokimyasal değerlendirmesi yapıldığında; 20 hastanın Vista düzeyi < %1 ve 14 hastanın tanı anı VİSTA düzeyi ≥ %1 olarak saptandı. Tanı anı Vista düzeyi ile ortalama sağ kalım süresi arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p = 0.534).

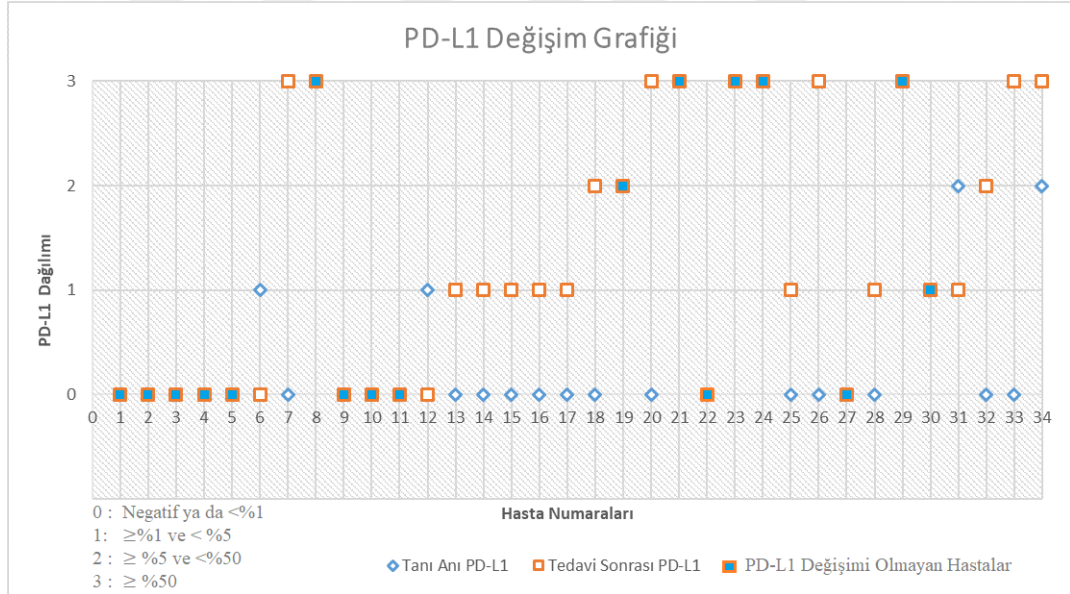


**Şekil 8:** Vista düzeyi düşük ve yüksek olan gruplar arası sağkalım değerlendirmesi

Hastaların tanı anı patoloji preparatları ile neoadjuvan tedavi sonrası cerrahi preparatları değerlendirildiğinde; neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası gruplar arasında PD-L1 ve VİSTA düzeylerinde anlamlı artış ( $p < 0.05$ ) olduğu saptandı. Hastaların neoadjuvan tedavi öncesi ve sonrası düzeyleri karşılaştırıldığında PD-L1 için p değeri 0.004, VİSTA düzeyi için p değeri 0.025 olarak anlamlı saptandı. Çalışmamızın ana hipotezi olan neoadjuvan kemoterapi veya kemoradyoterapi ile PD-L1 ve VİSTA düzeylerinde anlamlı artış olduğu gösterildi.



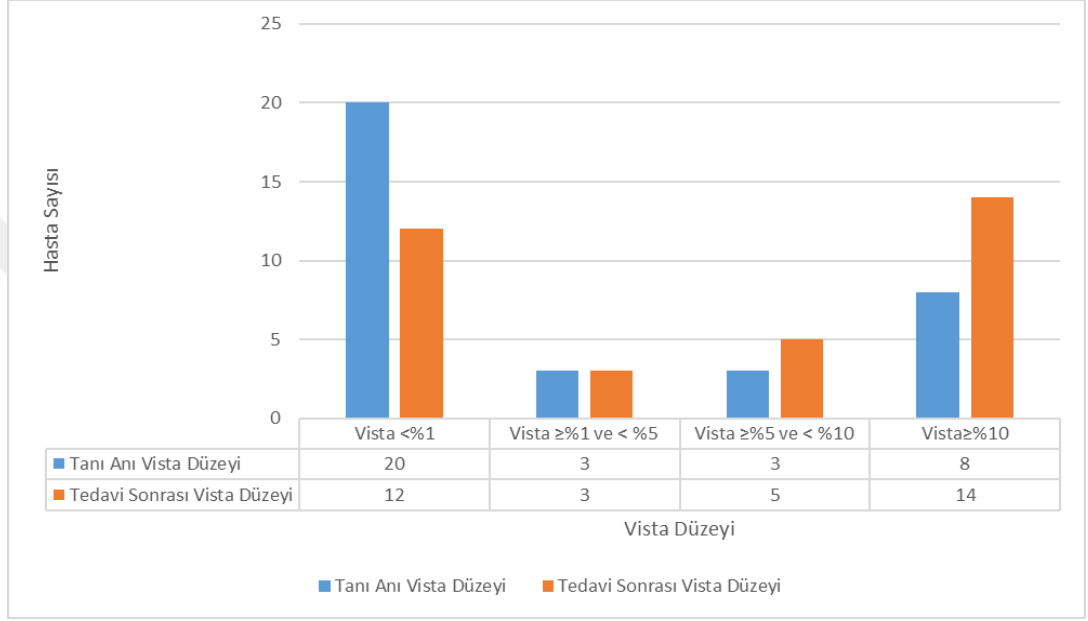
**Şekil 9:** Tanı Anı ve Tedavi Sonrası PD-L1 Grup Dağılımları



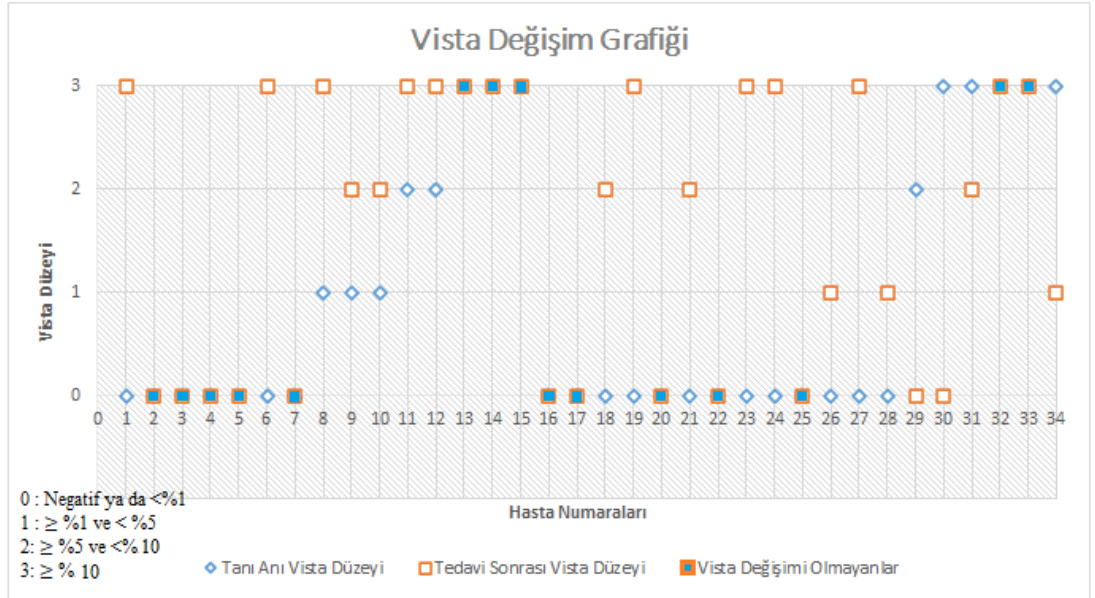
**Şekil 10:** Hastaların Tedavi Öncesi ve Sonrası PD-L1 düzeyleri

Tedavi öncesi ve sonrası PD-L1 ekspresyon düzeyi değişimlerine baktığımızda; 14 hastanın tedavi ile birlikte PD-L1 düzeyinin arttığını, 3 hastanın

tedavi sonrasında PD-L1 ekspresyon düzeyinin azaldığını ve 17 hastada ise tedavi ilişkili bir değişim olmadığını saptandı.

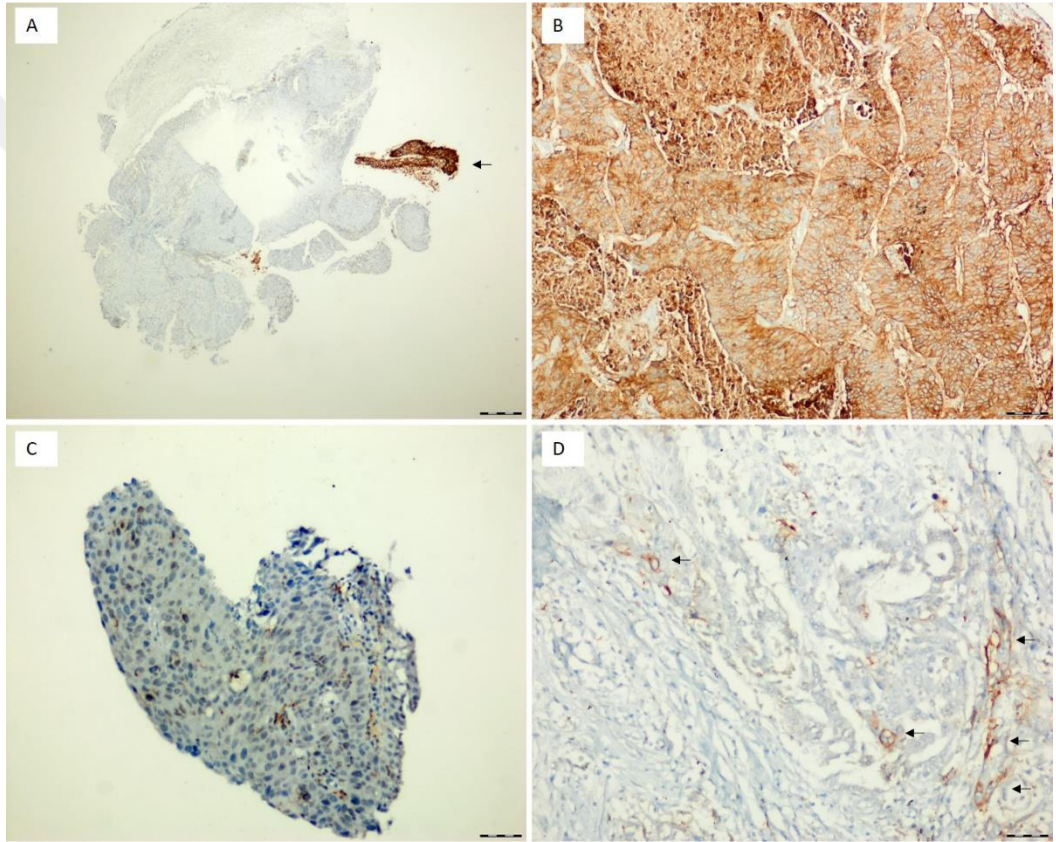


**Şekil 11:** Tanı Anı ve Tedavi Sonrası Vista Grup Dağılımları



**Şekil 12:** Hastaların Tedavi Öncesi ve Sonrası Vista düzeyleri

Tedavi öncesi ve sonrası Vista ekspresyon düzeyi değişimlerine baktığımızda; 15 hastanın tedavi ile birlikte Vista düzeyinin arttığını, 4 hastanın tedavi sonrasında Vista ekspresyon düzeyinin azaldığını ve 15 hastada ise tedavi ilişkili bir değişim olmadığını gördük.



**Şekil 13:** Tedavi Öncesi ve Sonrası PD-L1 ekspresyon Değişiminin Mikroskopik Görünümü

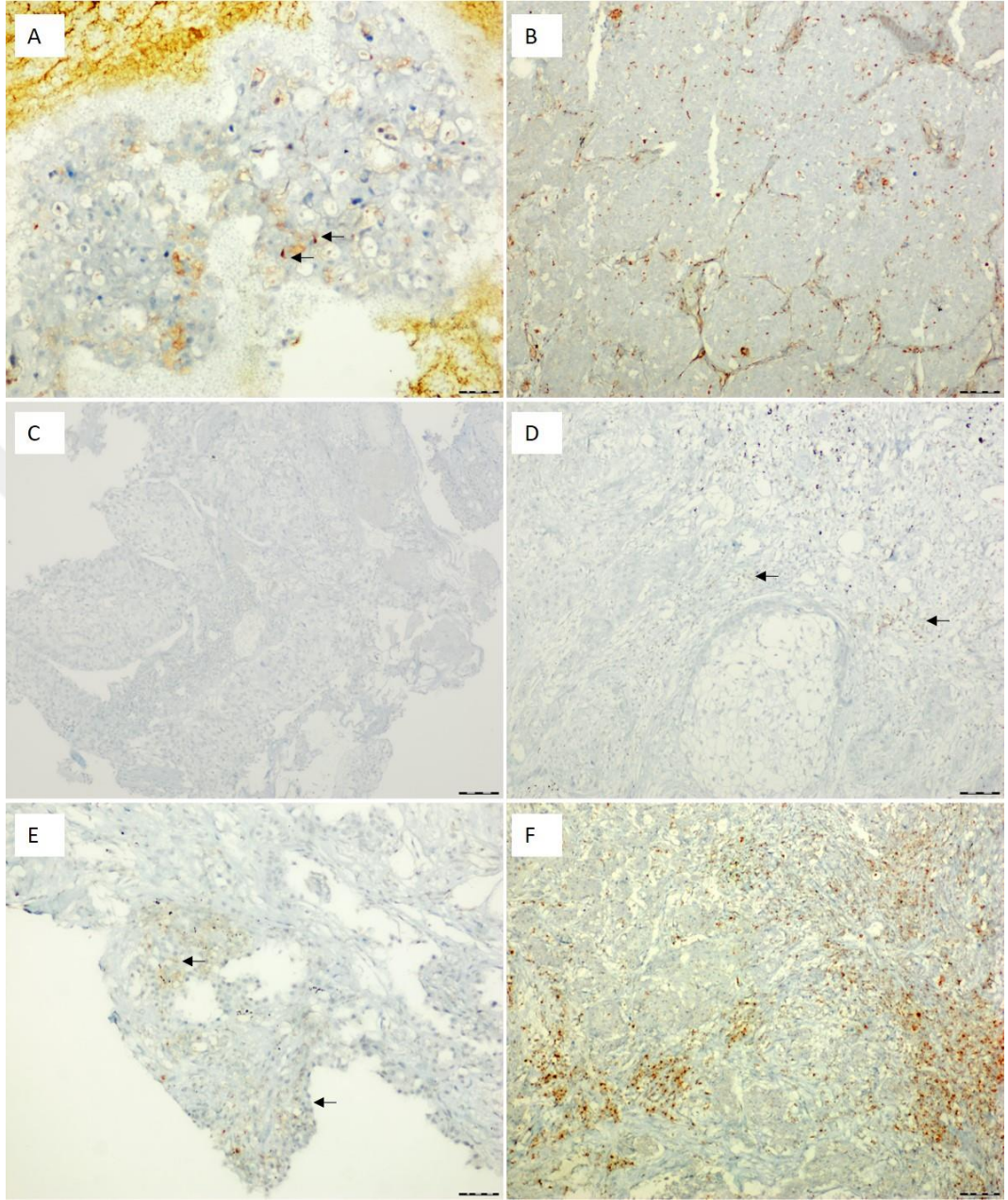
*PD-L1 ekspresyonu. A, C. Hastaların Neoadjuvan tedavi öncesi, B, D. Aynı Hastaların Neoadjuvan tedavi sonrası.*

**A.** PD-L1 skoru: 2, tümör hücrelerinin çoğu negatif olup %50'den az tümör hücresinde membranöz ekspresyon görüldü (ok).

**B.** PD-L1 skoru: 3, Tümör hücrelerinin tümünde membranöz ekspresyon izlendi.

**C.** PD-L1 skoru: 0, tümör hücrelerinde ekspresyon mevcut değildir.

**D.** PD-L1 skoru: 1. Tümör hücrelerinde %5'ten az oranda membranöz ekspresyon görüldü (ok).



**Şekil 14:** Tedavi Öncesi ve Sonrası Vista ekspresyon Değişiminin Mikroskopik Görünümü

VISTA ekspresyonu. A, C, E. Hastaların neoadjuvan tedavi öncesi biyopsileri, B, D, F. Hastaların neoadjuvan tedavi sonrası eksizyonel biyopsileri.

**A.** VISTA skoru: 1, seyrek lenfositte (ok ile işaretli) VISTA ekspresyonu izlendi.

**B.** VISTA skoru: 2, Tümör çevresi inflamatuvar hücrelerde %10'dan az oranda ekspresyon izlendi.

- C.** VISTA skoru: 0, inflamatuvar hücrelerde ekspresyon mevcut değildir.
- D.** VISTA skoru: 1. Tümör çevresi inflamatuvar hücrelerde %5'ten az oranda ekspresyon görüldü (ok).
- E.** VISTA skoru: 2 (ok),
- F.** VISTA skoru: 3'tür.

Neoadjuvan tedavi olarak sadece kemoterapi alan 21 hastada; PD-L1 artışı değerlendirildiğinde, p değeri 0.007, VISTA artışı değerlendirildiğinde p değeri 0.028 olarak anlamlı saptanmıştır. Hasta sayısının alt grup analizi için yetersiz olması nedeniyle kemoterapi protokollerine yönelik alt grup analizi yapılamamıştır.

## 5. TARTIŞMA

Akciğer kanseri ülkemizde ve dünyada en sık görülen kanserlerin başında gelmekle beraber mortalitesi de en yüksek olan kanserdir. Erken evrede tespit edilen ve cerrahi ile kür şansı olan hastaların düşük oranda olması nedeniyle neoadjuvan/adjuvan tedavi araştırmaları özellikle de immunoterapi araştırmaları her geçen gün artmakta ve önem kazanmaktadır. İmmünoterapi ajanların etkinliği, prognostik göstergelerin gelişmesi, direnç gelişim mekanizmalarının bilinmesi, tedavinin yarar zarar durumu ve hasta seçimi konusunda klinisyenlerin yeni verilere ihtiyacı vardır.

Lokal olarak ilerlemiş KHDAK, büyük tümör hacmi, geniş lenf nodu tutulumu, tümörle ilişkili atelektazi ve torasik duvar, mediasten ve omurga infiltrasyonunu içeren heterojen bir hastalığı temsil eder. Bu hastalarda multimodal yaklaşımlar tedavinin temel taşı olarak kabul edilir. Tarihsel olarak, platin bazlı kemoterapinin radyoterapiye eşzamanlı olarak uygulanması, tek başına radyoterapiye kıyasla lokal kontrol, metastazsız ve genel sağ kalımda mütevazı iyileşmeler sağlamıştır. Son yıllarda, lokal ileri ve ileri evre KHDAK'nin multimodal tedavisinde immün kontrol noktası inhibitörlerinin (ICI) rolü kanıtlanmıştır. Kemoterapiye pembrolizumab eklenmesi, KEYNOTE-021 çalışmasının faz 2 kohortunda tek başına kemoterapiye göre anlamlı ölçüde daha yüksek yanıt oranları ve daha uzun progresyonsuz sağ kalım ile sonuçlanmıştır. PACIFIC çalışmasının bir sonucu olarak ameliyat edilemeyen evre III

KHDAK'de platin bazlı eşzamanlı kemoradyoterapinin başarılı bir şekilde tamamlanmasının ardından PD-L1 inhibitörü durvalumab ile idame tedavisi progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalım süresinde anlamlı uzama olduğu bildirilmiştir ve onkoloji pratiğinde standart tedavi haline gelmiştir (50). Bunun yanında immunoterapiler farklı toksisiteyi olan ve yüksek maliyetli tedavilerdir. Bu nedenle, idame durvalumab tedavisinden fayda görece hastaların doğru seçilmesi gerekmekte ve bu seçimin sağlanabilmesi için daha sensitif biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmalar PD-L1 ekspresyonunun; cerrahi, radyoterapi ve kontrol noktası inhibisyonunu içeren KHDAK tedavisinin etkinliğini ve hastaların prognozunu göstermek için potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini göstermiştir. Gennen ve arkadaşlarının yaptığı 31 hastalık bir çalışmada; tümör hücresi PD-L1 ekspresyonunun, eş zamanlı kemoradyoterapi ile tedavi edilen KHDAK için prognostik bir faktör olabileceği ifadesini doğrulamaktadır. Vrankar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, eş zamanlı kemoradyoterapi ile tedavi edilen Evre III KHDAK'li 102 hastanın tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunun yüksek olmasının olumsuz bir progresyonsuz sağkalım ve ortalama sağkalım ile sonuçlandığı görülmüştür (50). Literatürdeki PD-L1 ekspresyonu yüksek olan hastaların olumsuz ortalama sağ kalım verilerine benzer olarak bizim çalışmamızda da tanı anı PD-L1 düzeyi %1'in üstünde olan hastalar, PD-L1 düzeyi %1'in altında olan hastalara oranla anlamlı oranda daha düşük ortalama sağ kalım süresine sahip olarak değerlendirildi. Çalışmamız literatürdeki ile

benzer şekilde PD-L1 düzeyinin sağ kalım üzerine olumsuz prognostik gösterge olarak kabul edilmesi gerektiği görüşünü destekleyecek sonuçlar bulunmuştur.

PD-L1 yüzdesi KHDAK hastalarında tanı anında prognostik bir biyobelirteç olarak kullanılmasının yanı sıra gelişen immün kontrol noktası tedavileri ile beraber tedaviye yanıt ve immunoterapi etkinliği açısından da önem taşımaktadır. KHDAK ile takip edilen hastalarda Anti-PD-1 / PD-L1 ajanları nivolumab, durvalumab, pembrolizumab, atezolizumab ve avelumab ile ilgili bazı bireysel klinik çalışmalardan elde edilen kanıtlar, PD-L1 yüzdesi yüksek tümörü olan hastaların PD-L1 yüzdesi düşük tümürlü hastalara göre daha iyi sağkalım süreleri elde edilmiştir (51).

Literatürde radyoterapinin ve kullanılan farklı kemoterapötik ajanların PD-L1 ekspresyonunu arttırdığı, böylece sistemik tedavide direnç oluşumuna sebep olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (52). Peng ve arkadaşlarının over kanserleri ile ilgili yaptığı çalışmada, kemoterapinin nükleer faktör- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) aracılığı ile PD-L1 ekspresyonunu arttırdığı ve tedaviye kemoterapinin yanında immunoterapinin eklenmesinin antitümöral cevabı arttırabileceği ileri sürülmüştür (53). Radyoterapi ile beraber immünoterapinin etkinliğinin arttığını gösteren bir diğer çalışmada ise; melanom fare modelinin kullanılmış, CTLA-4 blokajından önce veya eşzamanlı olarak verilen radyoterapinin, tek başına anti-CTLA-4 tedavisi ile tedavi edilen farelere kıyasla tümör büyümesini geciktirdiği ve sağ kalımı arttırdığı gösterilmiştir (54) .

Kemoradyoterapiden sonra PD-L1 ekspresyonundaki değişikliklerle ilgili çelişkili veriler vardır. Lokal olarak ilerlemiş KHDAK'de 15 hasta ile yapılan küçük bir retrospektif analizde, neoadjuvan kemoradyoterapinin PD-L1 ekspresyonunda bir azalmaya yol açtığını (55), diğer tümör tiplerine sahip hastalarda geriye dönük analizlerde ise neoadjuvan kemoradyoterapinin PD-L1 ekspresyonunu artırdığını bulunmuştur (56, 57) . Bu verilerin az sayıda hasta ile yapılan çalışmalar olması nedeniyle çelişkili olduğu ve bu konuda geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu bu çalışmaların sonuçlarında da vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda KHDAK için neoadjuvan tedavi alan 34 hastanın değerlendirmesi sonucunda PD-L1 düzeyinde tedavi ile ilişkili anlamlı artış olduğu saptanmıştır. PD-L1 artışının hastalarda immün sistemden kaçış ve kemoterapi tedavisine direnç gelişimi gibi olumsuz prognostik durumlar ile ilişkisi olmasının yanı sıra, artan PD-L1 düzeyi bize immunoterapi ile tedavi yanıtı ve bu tedavi ile direnç gelişiminin önlenmesi için immunoterapi açısından değerlendirilme konusunda da fikir sağlamaktadır. Tanı anında PD-L1 düzeyi ne olursa olsun sistemik tedavi sonrasında PD-L1 düzeyinin izlemi, immunoterapi ve hastalık prognozu açısından önem taşımaktadır.

PD-L1 ve VISTA inhibisyonu prelinik modellerde tümör büyümesini engellediği gösterilmiştir. Ayrıca bir faz I çalışmasında bu inhibisyonun T hücre aktivasyonunu stimüle ettiği gösterilmiştir (47). Bununla birlikte VISTA ve kanser prognozu hakkında belirgin veri yoktur. Çalışmamız, VISTA'nın KHDAK hastalarında ortalama sağ kalım üzerine etkisini değerlendiren ilk çalışmalardan

biri olup, tanı anı VİSTA düzeyi ile sağ kalım arasında doğrudan bir ilişki kurulamamıştır.

Hernandez-Martinez ve ark., VİSTA'nın insan KHDAK'inde immünomodülatör bir rol oynadığını ve temel bir terapötik hedef olarak potansiyeli olduğunu doğrulamıştır (12). Brcic ve ark., hem akciğer adenokarsinomu hem de skuamöz hücreli akciğer karsinomu örneklerinde lenfositlerde yüksek sayıda düzenleyici T hücresi ve VİSTA ekspresyonu saptamışlardır (13). Çalışmalarda terapötik hedef olarak belirtilen VİSTA seviyesinin, bizim çalışmamızda neoadjuvan tedavi ile değişimi incelenmiş; VİSTA düzeyinin neoadjuvan kemoterapi ile artış gösterdiğini saptanmıştır.

İmmünoterapinin, VİSTA ekspresyonu üzerine olan etkisi net olarak ortaya koyulamamıştır. İpilimumab (anti-CTLA-4 antikoru) ile tedavi edilen prostat kanseri hastalarında, VİSTA'nın up-regülasyonu gözlenmiştir, bu durum tedaviden sonra bir direnç mekanizması olarak gelişen bir inhibitör yolağını düşündürmektedir. Gastrointestinal sistem ve over kanseri hastalarından oluşan 39 hastalık bir çalışmada; anti-PD-1 / PD-L1 bazlı tedavilerden sonra VİSTA'nın ekspresyonunda artış saptanmış ve VİSTA ekspresyonunun daha kısa progresyonsuz sağ kalım (PFS) ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu durum VİSTA'nın anti-PD-1 / PD-L1 tabanlı immünoterapi için direnç belirteci olarak yer aldığı görüşünü desteklemekte ve seçilmiş hastalarda daha iyi bir klinik sonuç elde etmek için PD-1/PD-L1 tedavisi ile beraber VİSTA'nın da hedeflenmesini

önermektedir (58). PD-L1 ve Vista'nın beraber hedeflenmesini inceleyen bir fare çalışmasında, yabancı antijenlerle temas sonrası T hücresi yanıtları karşılaştırıldığında; PD-1/VİSTA'dan herhangi biri devre dışı bırakılmış farelerle kıyasla PD-1 / VİSTA beraber devre dışı bırakılmışlarda T hücre yanıtı sinerjistik olarak artmış saptanmıştır(59). Bu durum PD-1/PD-L1 yolağı ile beraber VİSTA'nın da tedavi hedefi olarak alınmasının tedavi başarısını arttırabileceği konusunda fikir vermektedir. Neoadjuvan tedavi ile beraber VİSTA ve PD-L1 düzeylerinin artışı gösterdiğimiz çalışmamızdan çıkarabileceğimiz bir diğer sonucumuz da verdiğimiz tedavilerin immün kontrol noktası reseptörlerini arttırarak tedavi direncini güçlendirebileceğidir. Neoadjuvan tedavi sonrası sadece PD-L1 ile tedavi edilen hastalarda artmış Vista düzeyinin direnç gelişimine neden olabileceği gözönüne alınarak; Vista ve PD-L1 ilişkisi üzerine daha çok çalışma yapılmasının yanı sıra Vista reseptörünü hedefleyen tedavi çalışmalarına da gereksinim vardır.

Çalışmamızın belirli bazı sınırlılıkları vardır. Birincisi, bu çalışma, az sayıda hastanın retrospektif, tek merkezli bir çalışmasıdır. Hastaların hepsinin, tek merkezde radyoterapi almamış olması hastalar arasında heterojeniteye yol açmış olabilir. Radyoterapinin etkinlik ve doz farklılıkları detaylı şekilde incelenememiş olup, bu durum hem radyoterapinin sağ kalım üzerine etkisini, hem de PD-L1 ve VİSTA seviyesi üzerine olan etkisinde heterojenliğe yol açmış olabilir. Tüm hastaların, platin bazlı kemoterapi alması ise neoadjuvan kemoterapiler açısından bir standart oluşturmuştur.

Sonuç olarak, çalışmamız bildiğimiz kadarıyla lokal ileri akciğer kanserinde, neoadjuvan kemoterapi/kemoradyoterapi ile PD-L1 ve VISTA seviyelerinin arttığının gösterildiği ilk çalışmadır. Buna ek olarak, tanı anındaki PD-L1 seviyesinin, daha kısa sağ kalım ile ilişkisi olduğu ortaya koyulmuştur. Günümüzde akciğer kanseri tedavisinin temelini oluşturan immunoterapi ajanlarının, etkinliğini predikte eden belirteçlere ihtiyaç vardır. Çalışmamız bu belirteçlerden PD-L1 ve VISTA ekspresyonundaki değişimleri literatüre sunmuş, tedavi planlanmasında ekspresyon seviyelerindeki ardışık ölçümlerin fikir verebileceğini göstermiştir.

## KAYNAKLAR

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin D, Piñeros M, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International journal of cancer*. 2019;144(8):1941-53.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018;68(6):394-424.
3. OMS. International Agency for Research on Cancer. [Sitio Web] GLOBOCAN 2020; Cáncer Today. Lyon France: IARC, 2018; [2018; consultado en Agosto 2020]. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/>. [
4. Türkiye Birleşik Veri Tabanı,2016 Türkiye Kanser İstatistikleri. Sağlık Bakanlığı,Türkiye Halk Sağlığı Kurumu.
5. NCCN Guidelines Version 2.2021 , Non-Small Cell Lung Cancer [Available from: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/nscl.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf).
6. Bai R, Li L, Chen X, Chen N, Song W, Cui J. Neoadjuvant and Adjuvant Immunotherapy: Opening New Horizons for Patients With Early-Stage Non-small Cell Lung Cancer. *Frontiers in Oncology*. 2020;10:2048.
7. Tabchi S, Kassouf E, El Rassy E, Kourie HR, Martin J, Campeau M-P, et al., editors. Management of stage III non–small cell lung cancer. *Seminars in oncology*; 2017: Elsevier.
8. Aredo J, Hellyer J, Neal J, Padda S, McCoach C, Riess J, et al. MO01. 01 Durvalumab for Patients with Stage III EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer Receiving Definitive Chemoradiotherapy. *Journal of Thoracic Oncology*. 2021;16(1):S15.

9. Taube JM, Galon J, Sholl LM, Rodig SJ, Cottrell TR, Giraldo NA, et al. Implications of the tumor immune microenvironment for staging and therapeutics. *Modern Pathology*. 2018;31(2):214-34.
10. Daly ME, Monjazeb AM, Kelly K. Clinical trials integrating immunotherapy and radiation for non–small-cell lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2015;10(12):1685-93.
11. Wang L, Rubinstein R, Lines JL, Wasiuk A, Ahonen C, Guo Y, et al. VISTA, a novel mouse Ig superfamily ligand that negatively regulates T cell responses. *Journal of Experimental Medicine*. 2011;208(3):577-92.
12. Hernandez-Martinez J-M, Vergara E, Zatarain-Barrón ZL, Barrón-Barrón F, Arrieta O. VISTA/PD-1H: a potential target for non-small cell lung cancer immunotherapy. *Journal of thoracic disease*. 2018;10(12):6378.
13. Brcic L, Stanzer S, Krenbek D, Gruber-Moesenbacher U, Absenger G, Quehenberger F, et al. Immune cell landscape in therapy-naïve squamous cell and adenocarcinomas of the lung. *Virchows Archiv*. 2018;472(4):589-98.
14. Tang C, Wang X, Soh H, Seyedin S, Cortez MA, Krishnan S, et al. Combining radiation and immunotherapy: a new systemic therapy for solid tumors? *Cancer immunology research*. 2014;2(9):831-8.
15. Hodge JW, Guha C, Neefjes J, Gulley JL. Synergizing radiation therapy and immunotherapy for curing incurable cancers: opportunities and challenges. *Oncology (Williston Park, NY)*. 2008;22(9):1064.
16. Herbst RS, Baas P, Kim D-W, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han J-Y, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2016;387(10027):1540-50.
17. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book: Elsevier health sciences; 2014.

18. TOCKMAN MS, ANTHONISEN NR, WRIGHT EC, DONITHAN MG. Airways obstruction and the risk for lung cancer. *Annals of internal medicine*. 1987;106(4):512-8.
19. Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *Chemical carcinogenesis: Springer*; 2011. p. 53-74.
20. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JH, Beasley MB, et al. The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. *Journal of thoracic oncology*. 2015;10(9):1243-60.
21. Travis W. The 2015 WHO classification of lung tumors. *Der Pathologe*. 2014;35(2):188-.
22. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Geisinger K, Beer D, Powell CA, et al. The new IASLC/ATS/ERS international multidisciplinary lung adenocarcinoma classification. *Journal of Thoracic Oncology*. 2009;4(9):S86-S9.
23. Detterbeck FC, Boffa DJ, Kim AW, Tanoue LT. The eighth edition lung cancer stage classification. *Chest*. 2017;151(1):193-203.
24. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, Rami-Porta R, Asamura H, Eberhardt WE, et al. The IASLC lung cancer staging project: proposals for revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (eighth) edition of the TNM classification for lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2016;11(1):39-51.
25. Turna A, Ak G, Kömürcüoğlu BE, Yurt S, Yılmaz Ü. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde sekizinci evreleme ve uygulamadaki etkileri. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*. 2017;25(3):484-98.
26. Jelinek T, Mihalyova J, Kascak M, Duras J, Hajek R. PD-1/PD-L1 inhibitors in haematological malignancies: update 2017. *Immunology*. 2017;152(3):357-71.
27. Oiseth SJ, Aziz MS. Cancer immunotherapy: a brief review of the history, possibilities, and challenges ahead. *J Cancer Metastasis Treat*. 2017;3(10):250-61.

28. Tang C, Wang X, Soh H, Seyedin S, Cortez M, Krishnan S, et al. Combining radiation and immunotherapy: a new systemic therapy for solid tumors? *Cancer Immunol Res.* 2014; 2: 831–8. doi: 10.1158/2326-6066. CIR-14-0069.[Europe PMC free article][Abstract][CrossRef][Google Scholar].
29. Jain P, Jain C, Velcheti V. Role of immune-checkpoint inhibitors in lung cancer. *Therapeutic advances in respiratory disease.* 2018;12:1753465817750075.
30. Jung K, Choi I. Emerging co-signaling networks in T cell immune regulation. *Immune network.* 2013;13(5):184-93.
31. Wu Y, Chen W, Xu ZPG, Gu W. PD-L1 distribution and perspective for cancer immunotherapy—blockade, knockdown, or inhibition. *Frontiers in Immunology.* 2019;10:2022.
32. Anagnostou VK, Brahmer JR. Cancer immunotherapy: a future paradigm shift in the treatment of non–small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research.* 2015;21(5):976-84.
33. Kwok G, Yau TC, Chiu JW, Tse E, Kwong Y-L. *Pembrolizumab (Keytruda).* Taylor & Francis; 2016.
34. Keating GM. Nivolumab: a review in advanced squamous non-small cell lung cancer. *Drugs.* 2015;75(16):1925-34.
35. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, Stroyakovskiy D, Nogami N, et al. Atezolizumab for first-line treatment of metastatic nonsquamous NSCLC. *New England Journal of Medicine.* 2018;378(24):2288-301.
36. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, Vicente D, Murakami S, Hui R, et al. Overall survival with durvalumab after chemoradiotherapy in stage III NSCLC. *New England Journal of Medicine.* 2018;379(24):2342-50.
37. Jin H-T, Ahmed R, Okazaki T. Role of PD-1 in regulating T-cell immunity. *Negative co-receptors and ligands:* Springer; 2010. p. 17-37.

38. Song M-K, Park B-B, Uhm J. Understanding immune evasion and therapeutic targeting associated with PD-1/PD-L1 pathway in diffuse large B-cell lymphoma. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(6):1326.
39. Riella LV, Paterson AM, Sharpe AH, Chandraker A. Role of the PD-1 pathway in the immune response. *American Journal of Transplantation*. 2012;12(10):2575-87.
40. Mahoney KM, Shukla SA, Patsoukis N, Chaudhri A, Browne EP, Arazi A, et al. A secreted PD-L1 splice variant that covalently dimerizes and mediates immunosuppression. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2019;68(3):421-32.
41. Soliman H, Khalil F, Antonia S. PD-L1 expression is increased in a subset of basal type breast cancer cells. *PLoS One*. 2014;9(2):e88557.
42. Salmaninejad A, Valilou SF, Shabgah AG, Aslani S, Alimardani M, Pasdar A, et al. PD-1/PD-L1 pathway: Basic biology and role in cancer immunotherapy. *Journal of cellular physiology*. 2019;234(10):16824-37.
43. Villarroel-Espindola F, Yu X, Datar I, Mani N, Sanmamed M, Velcheti V, et al. Spatially resolved and quantitative analysis of VISTA/PD-1H as a novel immunotherapy target in human non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research*. 2018;24(7):1562-73.
44. Schütz F, Stefanovic S, Mayer L, von Au A, Domschke C, Sohn C. PD-1/PD-L1 pathway in breast cancer. *Oncology research and treatment*. 2017;40(5):294-7.
45. Flies DB, Wang S, Xu H, Chen L. Cutting edge: A monoclonal antibody specific for the programmed death-1 homolog prevents graft-versus-host disease in mouse models. *The Journal of Immunology*. 2011;187(4):1537-41.
46. Huang X, Zhang X, Li E, Zhang G, Wang X, Tang T, et al. VISTA: an immune regulatory protein checking tumor and immune cells in cancer immunotherapy. *Journal of Hematology & Oncology*. 2020;13(1):1-13.
47. Powderly J, Patel M, Lee J, Brody J, Meric-Bernstam F, Hamilton E, et al. CA-170, a first in class oral small molecule dual inhibitor of immune checkpoints PD-L1 and

VISTA, demonstrates tumor growth inhibition in pre-clinical models and promotes T cell activation in Phase 1 study. *Annals of Oncology*. 2017;28:v405-v6.

48. Xie S, Huang J, Qiao Q, Zang W, Hong S, Tan H, et al. Expression of the inhibitory B7 family molecule VISTA in human colorectal carcinoma tumors. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2018;67(11):1685-94.
49. Grass GD, Krishna N, Kim S. The immune mechanisms of abscopal effect in radiation therapy. *Current problems in cancer*. 2016;40(1):10-24.
50. Gennen K, Käsmann L, Taugner J, Eze C, Karin M, Roengvoraphoj O, et al. Prognostic value of PD-L1 expression on tumor cells combined with CD8+ TIL density in patients with locally advanced non-small cell lung cancer treated with concurrent chemoradiotherapy. *Radiation Oncology*. 2020;15(1):5.
51. Rebelatto MC, Midha A, Mistry A, Sabalos C, Schechter N, Li X, et al. Development of a programmed cell death ligand-1 immunohistochemical assay validated for analysis of non-small cell lung cancer and head and neck squamous cell carcinoma. *Diagnostic pathology*. 2016;11(1):95.
52. Skinner HD, Giri U, Yang LP, Kumar M, Liu Y, Story MD, et al. Integrative analysis identifies a novel AXL–PI3 Kinase–PD-L1 signaling axis associated with radiation resistance in head and neck cancer. *Clinical Cancer Research*. 2017;23(11):2713-22.
53. Peng J, Hamanishi J, Matsumura N, Abiko K, Murat K, Baba T, et al. Chemotherapy induces programmed cell death-ligand 1 overexpression via the nuclear factor- $\kappa$ B to foster an immunosuppressive tumor microenvironment in ovarian cancer. *Cancer research*. 2015;75(23):5034-45.
54. Twyman-Saint Victor C, Rech AJ, Maity A, Rengan R, Pauken KE, Stelekati E, et al. Radiation and dual checkpoint blockade activate non-redundant immune mechanisms in cancer. *Nature*. 2015;520(7547):373-7.

55. Fujimoto D, Uehara K, Sato Y, Sakanoue I, Ito M, Teraoka S, et al. Alteration of PD-L1 expression and its prognostic impact after concurrent chemoradiation therapy in non-small cell lung cancer patients. *Scientific reports*. 2017;7(1):1-10.
56. Hecht M, Büttner-Herold M, Erlenbach-Wünsch K, Haderlein M, Croner R, Grützmann R, et al. PD-L1 is upregulated by radiochemotherapy in rectal adenocarcinoma patients and associated with a favourable prognosis. *European journal of cancer*. 2016;65:52-60.
57. Lim S, Hong M, Ahn S, Choi Y-L, Kim K-M, Oh D, et al. Changes in tumour expression of programmed death-ligand 1 after neoadjuvant concurrent chemoradiotherapy in patients with squamous oesophageal cancer. *European journal of cancer*. 2016;52:1-9.
58. Kato S, Okamura R, Kumaki Y, Ikeda S, Nikanjam M, Eskander R, et al. Expression of TIM3/VISTA checkpoints and the CD68 macrophage-associated marker correlates with anti-PD1/PDL1 resistance: implications of immunogram heterogeneity. *Oncoimmunology*. 2020;9(1):1708065.
59. Wang C, Feng H, Cheng X, Liu K, Cai D, Zhao R. Potential Therapeutic Targets of B7 Family in Colorectal Cancer. *Frontiers in Immunology*. 2020;11:681.