

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ORAL KAVİTE VE OROFARİNGS SKUAMÖZ HÜCRELİ KANSERLERDE
P16 VE HPV DNA VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI, PD-L1 EKSPRESYON
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ, BU BİYOBELİRTEÇLERİN
BİRBİRLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN VE SAĞKALIM ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
DR. AĞAH YENİÇERİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. MEHMET DÜZLÜ

ANKARA
HAZİRAN 2020

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ORAL KAVİTE VE OROFARİNGS SKUAMÖZ HÜCRELİ KANSERLERDE
P16 VE HPV DNA VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI, PD-L1 EKSPRESYON
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ, BU BİYOBELİRTEÇLERİN
BİRBİRLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN VE SAĞKALIM ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
DR. AĞAH YENİÇERİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. MEHMET DÜZLÜ

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2019-46
proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
HAZİRAN 2020

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında bilgi ve tecrübesi ile bana her zaman destek olan, uzmanlık eğitimime ilgi ve deneyimleri ile büyük katkısı olan çok değerli tez danışmanım Doç. Dr. Mehmet DÜZLÜ'ye çok teşekkür ediyorum. Ayrıca tez çalışması sırasında bilgi ve tecrübesinden yararlandığım sayın Prof. Dr. İpek Işık GÖNÜL'e, yardımlarının esirgemeyen sayın Öğr. Gör. Dr. Mehmet Arda İNAN'a ve Dr. Ceren BİLKAN ÖGE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimimde bilgi ve tecrübeleri ile emekleri olan ve bundan sonraki meslek hayatım boyunca da benden desteklerini esirgemeyecek tüm değerli Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı hocalarıma teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Asistanlık hayatım boyunca kimi zaman ameliyathanede kimi zaman poliklinikte kimi zaman da nöbetlerde beraber mesai ve emek harcadığım, benden yardımlarını esirgemeyen değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma çok teşekkür ederim. Kulak Burun Boğaz servis, poliklinik ve ameliyathane hemşire ve personellerine çok teşekkür ederim.

Son olarak, beni yetiştirip büyüten, eğitim hayatım boyunca desteklerini hep yanımda hissettiğim, her türlü zorlukta yanımda olan başta babam Hacı Mehmet YENİÇERİ ve annem Güler YENİÇERİ olmak üzere tüm aileme teşekkür ederim. Bu zorlu süreç boyunca maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen, hep yanımda olan, benim için çok değerli Dr. İpek ERDOĞAN'a teşekkür ediyorum.

Dr. Ağah YENİÇERİ

Haziran 2020 / ANKARA

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
KISALTMALAR	vi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1 Oral Kavite ve Orofarenks Anatomisi	4
2.1.1 Oral kavite.....	4
2.1.2 Orofarenks Anatomisi.....	7
2.2 Oral Kavite ve Orofarinks Histolojisi	9
2.3 Boyun Lenf Nodu Grupları	11
2.4 Boyun Diseksiyonu Sınıflaması	13
2.4.1 Radikal Boyun Diseksiyonu	13
2.4.2 Modifiye Radikal Boyun Diseksiyonu	13
2.4.3 Selektif Boyun Diseksiyonu	14
2.4.4 Genişletilmiş Boyun Diseksiyonu	14
2.5 Oral Kavite ve Orofarinks Kanseri	15
2.5.1 Epidemiyoloji.....	15
2.5.2 Etiyoloji	16
2.5.3 Belirti ve Bulgular	21
2.6 Oral Kavite ve Orofarinks Kanseri Sınıflandırması.....	21
2.6.1 Dudak Kanseri	21
2.6.2 Dil Kanseri.....	23
2.6.3 Alveolar Ark Kanseri.....	24
2.6.4 Retromolar Trigon Kanseri.....	24
2.6.5 Ağız Tabanı Kanseri	25
2.6.6 Bukkal Mukoza Kanseri	25
2.6.7 Sert Damak Kanseri	26
2.6.8 Dil Kökü Kanseri	27
2.6.9 Tonsil Kanseri.....	27

2.6.10 Yumuşak Damak Kanseri	28
2.6.11 Oropharinks Duvarlarının Kanseri	28
2.7 Oral Kavite ve Oropharinks Kanseri TNM Evrelemesi.....	29
2.8 Oral Kavite ve Oropharinks Kanseri Grade ve Diferansiasyon.....	34
2.9 Oral Kavite ve Oropharinks Kanseri Tedavi Yaklaşımı	35
2.9.1 Oral Kavite Kanseri Tedavi	36
2.9.2 Oropharinks Kanseri Tedavi.....	45
2.10 Oral Kavite ve Oropharinks Kanseri Prognoz	49
2.11 Human Papillomavirüs, Kanseri ve Aşı	50
2.12 Programlanmış Ölüm Ligandı 1	53
3. GEREÇ VE YÖNTEM	55
3.1 Hasta Seçimi ve Yöntem	55
3.2 İmmünohistokimyasal Boyama	56
3.3 Kromojen İn Situ Hibridizasyon	60
3.4 Boyamaların Değerlendirilmesi	61
3.5 İstatistiksel Analiz	62
4. BULGULAR.....	63
5. TARTIŞMA	83
6. SONUÇ	97
7. ÖZET.....	100
8. SUMMARY	102
9. KAYNAKLAR	104
10. EKLER.....	115
10.1 Etik Kurul Onayı	115
11. ÖZ GEÇMİŞ	117
12. KABUL ve ONAY.....	119

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Oral Kavite ve HPV (-) Oropharinks Kanserlerinin Evreleme Grupları.....	33
Tablo 2: HPV İlişkili Oropharinks Kanserlerinin Klinik Evreleme Grupları.....	34
Tablo 3: HPV İlişkili Oropharinks Kanserlerinin Patolojik Evreleme Grupları	34
Tablo 4: Grade ve Diferansiasyon.....	35
Tablo 5: 2018 NCCN Uygulama Kılavuzuna Göre OCSCC Adjuvan Tedavi Endikasyonları.....	36
Tablo 6: Hastaların Genel özellikleri	63
Tablo 7: Hastalık Lokalizasyonu	64
Tablo 8: Hastalık Tarafı	64
Tablo 9: Oral Kavite ve Oropharinks Kanseri Hastalarının Genel özellikleri.....	66
Tablo 10: Cinsiyetler Arası Sigara ve Alkol Kullanımı.....	66
Tablo 11: Tedavi Yöntemleri ve Evreleme Özellikleri.....	67
Tablo 12: Sağkalım, Nüks ve Metastaz Özellikleri	68
Tablo 13: Oral Kavite ve Oropharinks Arasında p16 Ekspresyon Karşılaştırılması.....	69
Tablo 14: <i>Cinsiyetler Arası p16 Ekspresyonu</i>	69
Tablo 15: P16 Ekspresyonu, Boyun ve Uzak Metastaz Arasındaki İlişki	70
Tablo 16: p16 Ekspresyonu ve Erken/ileri Evre İlişkisi	71
Tablo 17: Oral kavite ve Oropharinks Arasında HPV DNA Karşılaştırılması.....	72
Tablo 18: p16 ve HPV DNA İlişkisi	72
Tablo 19: PD-L1 Boyanma Yüzdeleri	73
Tablo 20: Eşik Değerlerine Göre TH PD-L1 Ekspresyonu ve Sağkalım.....	74
Tablo 21: Lokalizasyona Göre TH PD-L1 Ekspresyonları ve Sağkalım Analizi	75
Tablo 22: PD-L1 İmmün Hücre Ekspresyonları ve Sağkalım Analizi	76
Tablo 23: P16 ve PD-L1 İlişkisi.....	77
Tablo 24: Klinik Özelliklerin Sağkalım Üzerinde Bağımsız Prognostik Değeri	82

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: p16 İmmünohistokimyasal Boyama	59
Şekil 2: PD-L1 İmmünohistokimyasal Boyama	59
Şekil 3: HPV kromojen in situ hibridizasyon boyama.....	61
Şekil 4: Oral Kavite Alt Bölge Lokalizasyonları	65
Şekil 5: Oral Kavite Alt Bölge Lokalizasyonu ve p16 Ekspresyonu	71
Şekil 6: Genel Sağkalım.....	77
Şekil 7: p16 Genel sağkalım ilişkisi	79
Şekil 8: HPV DNA Genel Sağkalım ilişkisi	79
Şekil 9: p16 Hastalısız Sağkalım ilişkisi.....	80
Şekil 10: PD-L1 Genel Sağkalım.....	81

KISALTMALAR

AJCC	: American Joint Committee on Cancer
CISH	: Kromojen İn Situ Hibridizasyon
DOI	: İnvazyon Derinliği
END	: Elektif Boyun Diseksiyonu
ENE	: Ekstranodal Yayılım
HNSCC	: Baş Boyun Skuamöz Hücreli Karsinomu
HPV	: Human Papillomavirüs
IHC	: İmmünohistokimya
IJV	: İnternal Jugular Ven
NCCN	: National Comprehensive Cancer Network
OCSCC	: Oral Kavite Skuamöz Hücreli Karsinomu
OPSCC	: Orofarinks Skuamöz Hücreli Karsinomu
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PD-L1	: Programlı Ölüm Ligandı-1
SAN	: Spinal Aksesuar Sinir
SCC	: Skuamöz Hücreli Karsinom
SCM	: Sternokleidomastoid

1.GİRİŞ

Baş ve boyun kanserleri tüm kanserler içinde en yaygın altıncı malignitedir ve yıllık insidansı yaklaşık 600.000 vakadır (1). Bu kanserlerin yaklaşık %90'ını histolojik olarak skuamöz hücreli karsinomlar oluşturmaktadır (2). Tarihsel olarak baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomları (HNSCC), tütün kullanımı, alkol tüketimi ve betel quid çiğneme dahil olmak üzere çeşitli değiştirilebilir risk faktörleriyle ilişkilendirilmiştir (3). Bu risk faktörlerinin neden olduğu HNSCC vakalarındaki azalmaya rağmen, Human papilloma virüsünün (HPV) neden olduğu özellikle orofaringeal kanserlere bağlı olarak genel yaygınlık hala artmaktadır (4). Ne yazık ki, HNSCC'li hastaların %66'sına kadar ileri evrelerde (III veya IV) teşhis edilirken, tanı anında hastaların yaklaşık %10'unda uzak metastazlar görülür (5). Bu hastalar çoğu zaman, kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi kombinasyonları arasında oluşan agresif modlu tedavi rejimine ihtiyaç duyarlar (3).

Amerika Birleşik Devletleri'nde, HNSCC'lerin yaklaşık %40-80'ine HPV neden olmaktadır ve altta yatan mekanizmanın karsinogeneze yol açan kronik kalıcı enfeksiyon olduğuna inanılmaktadır (6). Sigara ve/veya alkol ile ilişkili HNSCC ile karşılaştırıldığında, HPV ilişkili HNSCC hastaları daha genç, daha yüksek sosyoekonomik duruma sahiptir ve tedaviye daha iyi yanıt vermektedir (7).

Tümörler potansiyel olarak immünojenik olduğundan kanser ve bağışıklık sistemi birbiriyle ilişkilidir. Tümör mikroçevresindeki kanser hücreleri ve konakçı immün hücreler arasındaki etkileşimler, tümör büyümesini destekleyen ve tümörü immün ataktan koruyan bir immünosüpresif ağ oluşturur (8). Solid tümörlerin agresif doğası, kısmi olarak bağışıklık yanıtından kaçınma yeteneklerine bağlanabilir. Bunu

başarmak için kullanılan en önemli mekanizmalardan biride, PD-1/PD-L1 etkileşimidir (9). Programlı Ölüm Reseptörü 1 (PD-1), aktif T-hücrelerinin, B-hücrelerinin ve makrofajların yüzeyinde ifade edilen geniş T-hücresi regülatörleri ailesinin üyelerinden biridir. Ligandı, Programlı Ölüm Reseptörü Ligand 1 (PD-L1), kanser hücreleri, makrofajlar, T hücreleri ve diğer dokularda eksprese edilen bir hücre yüzeyi proteini. PD1 ve PD-L1'in etkileşimi, sitotoksik CD8 T hücresi aracılı bağışıklık yanıtını baskılayabilir (10). Klinik çalışmalar, PD-1 veya PD-L1'e özgü antikorlarla etkileşimin inhibisyonunun, melanom, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, HNSCC ve çeşitli maligniteleri olan hastalarda umut verici antitümör etkinliğine sahip olduğunu göstermişlerdir (11). 2016 yılında pembrolizumab ve nivolumab, platin bazlı kemoterapi sırasında veya sonrasında rekürren veya metastatik HNSCC hastalarında kullanım için ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır. FDA'nın pembrolizumab için verdiği onaya göre, HNSCC tümörleri PD-L1 eksprese eden bireyler pembrolizumab monoterapisi alabilirken, ancak ekspresyonu olmayan bireyler diğer standart ajanlarla kombinasyon halinde pembrolizumab alabilirler (12).

PD - L1 ekspresyonunun bir öngörücü biyobelirteç olarak faydası, çeşitli farklı kanserlerde klinisyenler tarafından geniş çapta tartışılmıştır. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri ve melanom hastaları üzerinde yapılan çalışmalar, PD-L1 ekspresyonu olan hastaların genellikle PD-L1 negatif kohortlara karşı daha iyi sağkalım gösterdiği tespit edilmiş (13, 14). Bazı yazarlar, PD-L1 pozitif hastaların PD-L1 negatif hastalara göre pembrolizumab ve nivolumab gibi immünoterapiklere daha zengin bir yanıt oluşturduğu sonucuna varmışlardır (3). Başka bir çalışmada, tümör hücrelerinde daha yüksek PD-L1 ekspresyonunun ilerlemiş hastalık ile ilişkili olduğunu ve aynı zamanda kötü sağkalım ile korelasyon gösterdiğini bildirmiştir

(15). Bu farklı görüşlerden dolayı, PD-L1 ekspresyonunun prognostik değeri daha fazla araştırılmalıdır.

Oral kavite ve orofarinks kanserlerinde, HPV'nin prognoz ve tedavi sürecine olan etkisi konusunda genel yazarlar arasında bir fikir birliği oluşmasına rağmen, PD-L1'in etkileri üzerinde tam bir fikir birliği yoktur. Özellikle ülkemiz açısından baktığımızda HPV ve PD-L1'in oral kavite (OCSCC) ve orofarinks (OPSCC) skuamöz hücreli karsinomla olan ilişkisi konusundan bilgi açığı bulunmaktadır. Bizde mevcut çalışmamızda oral kavite ve orofarinks skuamöz hücreli kanserlerde HPV DNA ve p16 varlığının araştırılması, PD-L1 ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi, bu biyobelirteçlerin birbirleri arasındaki korelasyonunun tespiti ve prognoza etkisinin araştırılmasını amaçlamaktayız.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Oral Kavite ve Orofarenks Anatomisi

2.1.1 Oral kavite

Oral kavite, önde dudak vermilyon kenarından posterosüperiorda sert damak ve yumuşak damak birleşim yerine, inferiorda sirkumvallat papillalara (linea terminalis) ve lateralde anterior tonsiller plikalara kadar uzanır. Yedi alt spesifik bölgeye ayrılır. Bunlar; dudak, dentoalveolar arklar, oral dil, retromolar trigon, ağız tabanı, yanak mukozası ve sert damaktır.

Oral kavitenin kanlanması external karotid arterin çeşitli dalları aracılığıyla olur. Lingual arter, oral dil ve dil tabanının kanlanmasının büyük çoğunluğunu sağlar. Sert damağın kanlanması majör palatin ve süperior alveolar arterden sağlanır. Süperior alveolar arterler maksiller jinjiva ve alveollerin kanlanmasını sağlar. Mandibula ve alt dişlerin kanlanması, inferior alveolar arterlerden sağlanır. Asenden faringeal ve minör palatin damarlar, ağız tabanının arka kısmını ve retromolar trigonu besler (16).

2.1.1.1 Dudaklar

Dudaklar, dış deriden vermilyon sınırında oluşan iç mukoza zarına geçişi temsil eder. Fasiyal sinir tarafından innerve edilen orbicularis oris'in altta yatan kas sistemi, ağzın sfinkter benzeri bir işleve sahip olmasını sağlayan çevresel bir halka oluşturur. Üst dudak hissi infraorbital sinir (kranial sinir [CN] VII) tarafından sağlanırken, alt dudak hissi mental sinir (CN VIII) tarafından sağlanır. Hem üst hem de alt dudaklardaki lenfatikler öncelikle submandibular lenf düğümlerine drene olur, ancak orta hat alt dudak lezyonları submental lenfatik yayılım ile ortaya çıkabilir. Ek

olarak, üst dudak preauriküler, infraparotid ve perifasiyal lenf düğümlerine drene olabilir (16).

2.1.1.2 Alveolar Ark

Her bir alveoler arkın lateral yüzü, dokunun bukkal mukozasına geçiş sağlayan mukozal sulkustan oluşur. Medial kenar alt alveollerde ağız tabanına geçişi, üst maksiller alveolusta sert damağa geçişi belirginleştirir. Alt alveolusun posterior sınırını mandibula ramusunun asenden parçası oluştururken üst alveollerde bunu pterygopalatin arkın süperior yüzü yapar. Mukozanın altta yatan kemiğe yakın yaklaşımı, bu bölgedeki malign tümörler için erken kortikal invazyona yardımcı olur (16).

2.1.1.3 Oral Dil

Dilin ağız boşluğu kısmı, linea terminalisin ön kısmı olarak tanımlanır. Dil, orta hatta medyan fibröz lingual septum ile ayrılmış dört intrinsik ve dört ekstrinsik kastan oluşur. Ekstrinsik kaslar, dil dışından köken alır ve genioglossus, hyoglossus, styloglossus ve palatoglossus'u içerir. Bunlardan, dili öne ve aşağı çeken genioglossus, dilin kabarıklığının çoğunluğunu sağlar. Dilin çift olan intrinsik kasları (superior-inferior boyuna, enine ve dikey) genioglossus için yüzeyseldir ve dilin genel şeklini değiştirme işlevi görür. Bu kaslar dilde üç farklı yönde uzanırlar. Dilin tüm kasları, vagus sinirin bir faringeal dalı tarafından innerve olan palatoglossus kası hariç, hipoglossal sinir tarafından innerve olur. Dilin ön üçte ikisinin genel duyuşal işlevi, lingual sinir tarafından sağlanır. Oral dilin tat duyusu ise, chorda tympani sinir (CN VII) aracılığıyla lingual sinir ile dilin ön kısmına taşınır. Dil kökünde ise bunun tersine her iki fonksiyonda glossofaringeal sinir tarafından sağlanır (16).

Oral dilin lenfatik drenajı, dilin bölgelerine göre değişir. Uç kısım öncelikli olarak submental lenf bezlerine, lateral kısım ise seviye I ve II'ye drene olur. Bununla birlikte, lateral dil lezyonlarının doğrudan seviye III/IV nodal grubuna lenfatik metastazının, seviye I/II yayılımı olmadan ortaya çıkabileceğini belirtmek önemlidir. Dilin kökü üst servikal lenfatiklere drene olur (16).

2.1.1.4 Retromolar Trigon

Bu bölge, mandibula'nın koronoid çıkıntıya doğru yükselen ramusunun üstünü örten mukoza ile temsil edilir. Lateralde bukkal mukoza ve medialde ise ön tonsiller plika ile devam eder. Üst sınır maksiller kabarıklık ve ön sınır ise ikinci mandibular molar dişin arka yüzüdür. Alveolar lezyonlar olduğu gibi alttaki mandibula ile mukoza yakın ilişkisi vardır. Alt dudak parestezisi, mandibular foramen seviyesindeki lezyonların perinöral invazyonun bir göstergesi olabilir. Bu bölgenin duyusu, minör palatin sinir ve glossofaringeal sinirin dalları tarafından sağlanır. CN IX'ın tutulduğu bu bölge lezyonu olan hastalarda otalji görülebilir. Bu bölge için primer lenfatik drenaj üst servikal-jugulodigastrik lenf düğümü grubunadır (16).

2.1.1.5 Ağız Tabanı

Ağzın tabanı, lateral ve anteriorda inferior alveoler kenar medialde ise dille ile sınırlı mukozal bir yüzeydir. Posterior sınır, ön tonsillar plikadır ve lingual frenulum bölgeyi iki oval alana böler. Mylohyoid ve hyoglossus kasları, alanın içeriği için yapısal destek sağlar. Oral kavitenin bu bölgesindeki lezyonlarda hipoglossal veya lingual sinir disfonksiyonu meydana gelebilir. Lingual sinirin bir dalı, ağız tabanı duyusunu sağlar. Bu boşluğun ön tarafının lenfatik drenajı,

kontralateral submental-submandibular düğümlere geçebilir. Posterior kısmın lenfatikleri ise ipsilateral üst servikal lenf bezlerine drene olur (16).

2.1.1.6 Bukkal Mukoza

Bukkal yüzey, dudağın arka kenarından medial alveoler kenarlara ve posteriordaki pterygomandibular raphe'ye uzanır. Parotis kanalı deliği, parotisten çıkıp buksinator kasını deldikten sonra üst ikinci molar diş hizasında bukkal mukozada bulunur. Duyu, trigeminal sinirin dalları tarafından sağlanır (CN VII ve CN VIII). Bu bölgenin lenfatikleri öncelikli olarak submental ve submandibular lenf düğümlerine akar (16).

2.1.1.7 Sert Damak

Sert damak sınırları ön ve lateral kenarlar olarak maksiller alveoler çıkıntılar ve arka sınır olarak yumuşak damaktan oluşur. Sert damak yoluyla invazyon, tümörün burun boşluğuna veya maksiller sinüse geçmesine neden olur. İnvaziv lezyonlar için infrastrüktür maksillektomi sıklıkla gereklidir ve oral yeterliliği yeniden sağlamak ve hipernasal konuşmayı önlemek için protez veya flep rekonstrüksiyonu gereklidir. Nazopalatin sinir (CN VII) bölgenin duyusunu sağlar. Bu bölgeden lenfatik drenajın çoğu üst servikal lenfatiklere veya lateral retrofaringeal düğümlere drene olur (16).

2.1.2 Orofarenks Anatomisi

Orofarenksin yapısı karmaşıktır ve anatomik olarak dört farklı bölgeden oluşur. Bunlar; yumuşak damak, tonsiller fossa, dil kökü ve posterior orofaringeal duvar olarak sıralanır. Yukarıda yumuşak damak üst yüzeyinden, aşağıda hyoid kemik üst yüzünden çizilen horizontal çizgiler orofarenksin vertikal sınırını

oluşturur. Orofarenksin ön sınırını, yumuşak damak ve uvula, ön tonsiller plikaların ön kenarı ve dil kökünün sirkumvallat papillaları yapar (17).

2.1.2.1 Yumuşak Damak

Yumuşak damak nazofarenks ve ağız boşluğunu orofarenksden tamamen ayırır. Palatofaringeal ark ve uvula tarafından oluşturulur ve damakta levator ve tensör kasını, uvular kası ve lateralde palatofaringeal ve konstrüktör kasları içerir. Yumuşak damak dokusunda minör tükürük bezleri bulunur ve kan akışı fasiyal arterin asenden palatine dalından sağlanır. Aksesuar sinirin kraniyal lifleri, mandibular sinir tarafından uyarılan tensör veli palatini hariç, vagus sinirin faringeal dalı yoluyla yumuşak damak kas sistemine motor innervasyonu sağlar. Yumuşak damağa duyu innervasyonu, glossoparingeal sinir ve lesser palatin siniri yoluyla olur (17).

2.1.2.2 Tonsiller Fossa

Tonsiller bölge, lateral faringeal duvarda bulunan palatine tonsilin lenfoid dokusunu içerir. Palatin tonsiller, sırasıyla palatoglossus ve palatofaringeal kas tarafından oluşturulan ön ve arka plikalar arasındaki fossaya yerleşir. Bademcikler vasküler kaynaklarını asenden faringeal arter, fasiyal arterin dalları, lingual arterin posterior dalları ve internal maksiller arterin palatin dalları ile alırlar. Maksiller sinirin lesser palatin dalları ve glossofaringeal sinir dalları nöral innervasyon sağlar (17).

2.1.2.3 Dil Kökü

Dil kökü, sirkumvallat papilladan vallekula ve lateral olarak glossopalatin sulkusa uzanır. Dil kökü lenfatik açıdan zengindir ve lingual bademcikler Waldeyer

halkasının bir parçasını oluşturur. Kan akımı, esas olarak dorsal lingual dal olmak üzere lingual arterler tarafından sağlanır. Dil kas sisteminin motor innervasyonu hipoglossal sinir tarafından sağlanır. Vagus sinirin internal laringeal dalından innervasyon alan Glossofaringeal sinir, en posteroinferior kısım hariç, duyu ve tat duyu innervasyonunu sağlar (17).

2.1.2.4 Posterior Faringeal Duvar

Orofarenksin arka faringeal duvarı, yumuşak damak bölgesinden epiglottise uzanır ve tonsil fossaları ve piriform sinüslerin lateral duvarı lateral sınırını oluşturur. Duvar, süperior konstriktör kas ve faringeal mukoza tarafından kapsanan bukkofaringeal ve faringobasiler fasyadan oluşur (17).

2.2 Oral Kavite ve Orofarinks Histolojisi

Oral mukoza, fonksiyon ve sürtünmeye dayanma kabiliyetindeki farklılıkları yansıtacak şekilde bölgesel olarak modifiye olur ve üç tipte sınıflandırılır. Astar (lining) mukoza, dudakların, yanakların, yumuşak damak, ağız tabanı ve dilin iç yüzeyini oluşturur. Altta destekleyici lamina proprianın bulunduğu non-keratinize çok katlı yassı epitelden oluşur. Mastikatör mukoza, hafif keratinize olan çok katlı skuamöz epitelyumdan oluşur (stratum corneumdaki hücreler çekirdeği tutar). Dilin dorsal kısmı, sert damak ve diş etlerinde bulunur. Dilin dorsal yüzeyindeki spesiyel mukoza ise birçok tat tomurcuğu ve papilla içerir. Yanak histolojik özellikleri dudağa benzer ve non-keratinize çok katlı yassı epitel içerir. Kısa papilla ve çok sayıda elastik liflere sahip lamina propria, buksinatörün kas liflerine aralıklarla bağlanır. Bu lifler minör tükürük bezleri (bukkal) ile karışan fasiküller halinde düzenlenir. Sekretuar bezlerden yoksun bir mukoza membranı olan gingiva, maksilla

ve mandibula alveolar prosesin dış ve iç yüzeylerini kaplar ve herbir dişi çevreler. Kalın, fibrötik bir lamina propria üzerinde bulunan çok katlı yassı epitel az keratinize olur ve stratum granülozum içermez. Lamina propria, altta bulunan kemiğin periostuna sıkıca tutunmuştur ve epitelyum tabanına derin papiller çıkıntılarla uzanır. Oral kavitenin diğer alanlarında olduğu gibi, papillalar geniş bir kapiller ağ içerir. Epitel ayrıca hafif keratinize olabilir. Çiğneme sırasında aşınma meydana gelebilir (18).

Orofarenksin yumuşak damak ve arka duvarı, altta yatan bir lamina propria ve kas tabakası tarafından desteklenen keratinize olmayan çok katlı yassı epitel ile kaplanmıştır. Palatin ve lingual tonsil bölgelerinde, epitel altında bulunan ayrı lenfoid doku nodülleri vardır. Yapısal destek öncelikle tip III kollajenden oluşan retiküler lifler tarafından sağlanır. Bu lifler yoğunlaşır ve tonsil parankimini parçalayan septalar oluşturmak için elastin lifleri ile birleşir. Bazı alanlar epitelyumu lenfatik nodüllerden ayıran iyi tanımlanmış bir bağ dokusu tabakası gösterirken, diğer alanlar dendritik hücreler ve lenfositler tarafından o kadar yoğun bir şekilde infiltre edilir ki epitel tabakası zar zor fark edilebilir (19).

Waldeyer halkasının bileşenleri arasındaki palatin tonsiller, tonsil başına 10-30 dallı kripta ile en ayrıntılı olanlardır. Palatin tonsillerdeki lenfoid nodüllerin birçoğu, merkezinde prolifere B hücreleri ve periferde yüksek yoğunlukta inaktif B ve T hücrelerinden oluşan germinal merkezleri içerir. Lenfoid nodüller ayrıca yoğun antijenik stimülasyon zamanlarında sayısı artan makrofajlar içerir. Makrofajlar komşu lenfositlerden daha az bazofiliktir ve nodül içinde kümelenme eğilimi gösterir ve buna “yıldızlı gece” paterni denir. Retiküler lenfoepitelyum tipik çok katlı

skuamöz epitelde bulunan düzenli laminer yapıdan yoksundur. Epitelyal ve lenfoid hücrelerin bir arada bulunması ile karakterizedir (19).

2.3 Boyun Lenf Nodu Grupları

Seviye I: Submental ve submandibuler olmak üzere iki önemli lenf nodu grubu bulunur. *Submental grup (Level IA)*; digastrik kasların ön karnı ve hyoid kemiğin oluşturduğu üçgen sınırı içindeki lenf düğümleri; bu düğümler, ağız tabanından, anterior oral dilden, anterior mandibular alveoler ridge ve alt dudaktan kaynaklanan kanserlerden metastaz bulundurma riski taşır. *Submandibuler grup (Level IB)*; preglandüler ve postglandüler ve prevasküler ve postvasküler düğümler dahil olmak üzere, digastrik kasın ön karnı, stylohyoid kas ve mandibula korpusu sınırları içindeki lenf düğümleridir. Bu üçgenin içindeki lenf düğümleri çıkarıldığında submandibular bez numuneye dahil edilir. Bu düğümler, oral kavite, anterior nazal kavite, submandibular bez ve orta yüzün yumuşak doku yapılarından kaynaklanan kanserlerin metastazları için büyük risk altındadır (20, 21).

Seviye II (üst juguler): İnternal juguler ven (IJV) ve spinal aksesuar sinirin (SAN) üst üçte biri etrafında yer alan, süperiorda kafatası tabanı seviyesinden inferiorda hyoid kemiğin alt sınır seviyesine kadar uzanan lenf düğümleridir. Anterior (medial) sınır stylohyoid kas, posterior (lateral) sınır sternokleidomastoid (SCM) kasın posterior sınırındadır. Spinal aksesuar sinir tarafından Level IIA ve IIB'ye ayrılır. *Level IIA* düğümleri, spinal aksesuar sinir tarafından tanımlanan dikey düzleme anterior (medial) yerleşir. *Level IIB* düğümleri, spinal aksesuar sinir tarafından tanımlanan dikey düzleme posterior (lateral) olarak yerleşir. Üst juguler lenf düğümlerine, oral kavite, nazal kavite, nazofarenks, orofarenks,

hipofarenks, larinks ve parotis bezinden kaynaklanan kanserler metastaz yapabilir (20, 21).

Seviye III (orta juguler): Süperiorda hyoid kemiğin alt sınırından inferiorda krikoid kıkırdağın alt kenarına kadar uzanan, internal juguler venin orta üçte birinin etrafında yer alan lenf düğümleridir. Ön (medial) sınır sternohyoid kasın lateral sınırı ve arka (lateral) sınır SCM kasın arka sınırıdır. Bu lenf düğümlerine, oral kavite, nazofarenks, orofarenks, hipofarenks ve larinksten kaynaklanan kanserler metastaz yapabilir (20, 21).

Seviye IV (alt juguler): Lenf düğümleri, internal juguler venin alt üçte biri etrafında yer alır ve süperiorda krikoid kıkırdağın alt sınırından inferiorda klavikulaya kadar uzanır. Ön (medial) sınır sternohyoid kasın lateral sınırıdır ve arka (lateral) sınır SCM kasın arka sınırıdır. Bu düğümler, hipofarenks, tiroid, servikal özofagus ve larinks kaynaklı kanserlerden metastaz bulundurma riski taşır (20, 21).

Seviye V (posterior üçgen): Bu lenf nodu grubu ağırlıklı olarak spinal aksesuar sinirin ve transvers servikal arterin alt yarısında bulunan lenf düğümlerinden oluşur. Supraklaviküler düğümler ayrıca posterior üçgen grubuna dahil edilir. Üst sınır, SCM ve trapezius kaslarının kesişmesinden oluşan tepe noktasıdır; alt sınır klavikula, ön (medial) sınır SCM kasın arka sınırı ve arka (yan) sınır trapezius kasının ön sınırıdır. Krikoid kıkırdağın alt sınırına karşılık gelen yatay düzlem kullanılarak seviye V, VA ve VB olmak üzere iki alt seviyeye ayrılır. *Level VA*, spinal aksesuar sinir boyunca yer alan lenf nodlarını, *Level VB* ise, transvers servikal damarlar boyunca bulunan lenf nodlarını ve supraklaviküler lenf nodlarını (seviye IV'te bulunan Virchow düğümü hariç) içerir. Nazofarenks, orofarenks ve

posterior kafa derisi ve boynun kutanöz yapılarından kaynaklanan kanserler posterior üçgen lenf düğümlerine metastaz yapabilir (20, 21).

Seviye VI (anterior kompartman): Bu kompartmandaki lenf düğümleri arasında pretrakeal ve paratrakeal düğümler, prekrikoid (Delphian) düğüm ve rekürren laringeal sinirler boyunca seyreden lenf düğümleri dahil olmak üzere peritiroidal düğümler bulunur. Üst sınır hyoid kemik, alt sınır suprasternal çentiktir ve lateral sınırlar common karotid arterlerdir. Bu düğümler, tiroid bezi, glottik ve subglottik larinks, piriform sinüsün apeksi ve servikal özofagusdan kaynaklanan kanserler tarafından metastaza uğrayabilir (20, 21).

2.4 Boyun Diseksiyonu Sınıflaması

2.4.1 Radikal Boyun Diseksiyonu

Radikal boyun diseksiyonu, mandibulanın alt sınırından klavikulaya, sternohyoid kasın, hyoid kemiğin ve kontralateral digastrik kas ön karnın medialinden trapezius kasının ön sınırına uzanan tüm ipsilateral servikal lenf nodu gruplarının çıkarılmasını ifade eder. Seviye I ile V arasındaki tüm lenf düğümleri dahildir. Spinal aksesuar sinir, internal juguler ven ve SCM de çıkarılır. Radikal boyun diseksiyonu, suboksipital, periparotid (submandibular üçgenin arka tarafında bulunan intraparotid düğümler hariç), buksinatör, retrofaringeal ve orta hat visseral lenf düğümlerinin çıkarılmasını içermez (21, 22).

2.4.2 Modifiye Radikal Boyun Diseksiyonu

Modifiye radikal boyun diseksiyonu, bir veya daha fazla lenfatik olmayan yapının (yani SAN, internal juguler ven ve SCM'nin) korunmasıyla radikal boyun

diseksiyonu ile rutin olarak çıkarılan tüm lenf düğümlerinin eksizyonunu ifade eder. Korunan yapılar özel olarak adlandırılmalıdır (örn. SAN'ın korunması ile modifiye radikal boyun diseksiyonu). Bu diseksiyonun ana amacı, SAN çıkarıldığında karşılaşılan morbidite ile ilgilidir. SCM ve IJV'nin çıkarılması için morbidite derecesi daha az olsa da, bilateral boyun diseksiyonu gerektiğinde bu konu çok daha önemli hale gelir. Her iki IJV'nin eşzamanlı feda edilmesi, kafa içi basıncının artmasıyla yüzün şiddetli şişmesine neden olabilir (21, 22).

2.4.3 Selektif Boyun Diseksiyonu

Selektif boyun diseksiyonu, radikal boyun diseksiyonunda rutin olarak çıkarılan bir veya daha fazla lenf nodu grubunun korunduğu bir servikal lenfadenektomi anlamına gelir. Hastalığın primer bölgesine göre metastatik kanseri barındırma riski taşıyan bir veya daha fazla lenf nodu grubunun blok halinde çıkarılmasından oluşur. Oral kavite kanserleri için en yüksek risk altındaki lenf düğümleri I, II ve III seviyelerinde bulunur. Orofaringeal, hipofaringeal ve laringeal kanserler için en büyük risk altındaki lenf düğümleri II, III ve IV seviyelerinde bulunurken, tiroid kanseri için VI'daki lenf düğümleri en büyük risk altındadır (21, 22).

2.4.4 Genişletilmiş Boyun Diseksiyonu

Genişletilmiş boyun diseksiyonu, radikal boyun diseksiyonundaki bölgelere ek olarak bir veya daha fazla ilave lenf nodu grubunun veya lenfatik olmayan yapıların veya her ikisinin çıkarılmasını ifade eder. Bu gibi lenf nodu gruplarının örnekleri arasında parafaringeal (retrofaringeal), üst mediastinal, perifasiyal (büksinatör) ve paratrakeal lenf nodları bulunur. Lenfatik olmayan yapılar içerisinde

karotid arter, hipoglossal sinir, vagus siniri ve paraspinal kaslar bulunur. Çıkarılacak tüm ilave lenfatik ve/veya lenfatik olmayan yapı(lar) parantez içinde tanımlanmalıdır (21, 22).

2.5 Oral Kavite ve Orofarinks Kanseri

Oral kavite kanseri (OCC) ve orofarinks kanseri (OPC), baş boyun bölgesinin en yaygın maligniteleridir (23, 24). Bunların yaklaşık %90'ını skuamöz hücreli karsinom oluşturmaktadır. Bunun dışında sırasıyla adenokarsinom, lenfoma ve sarkom görülen diğer malignitelerdir. Lokal invazyon ve metastaza yatkın olması nedeniyle karmaşık ve kötü prognozlu tümörlerdir (24, 25).

2.5.1 Epidemiyoloji

OPC ve OCC, dünyada en yaygın altıncı kanserdir. Dünya genelinde yılda 400.000 veya üzerinde yeni vaka görülmektedir. Avrupa Birliği ve Doğu Avrupa ülkelerinde en sık görülen yedinci kanserdir. Avrupa ülkeleri arasında en yüksek insidans oranları Fransa ve Macaristan'da, en düşük oranlar ise Yunanistan ve Kıbrıs'ta bulunmaktadır (1, 26).

Oral kanser insidansı tütün kullanımındaki düşüşle tutarlı olarak son yıllarda azalırken, orofarinks kanser insidansı özellikle son 20 yılda artış göstermiştir. Artan OPC insidansı, hem erkekler hem de kadınlar ve daha genç bireylerde (<60 yaş) bazı gelişmiş ülkelerde daha belirgindir (27). Dünya sağlık örgütü GLOBOCAN verilerine göre oral kavite kanserlerinin insidansı %2.1, orofarinks insidansı %1 olmakla birlikte erkeklerde daha sık görülmektedirler. Oral kavite kanserlerinin erkeklerde görülme oranı %2.7, kadınlarda %1.5 olarak bildirilmiştir. Orofarinks kanserlerinde ise sırasıyla %1.5 ve %0.4 olarak bildirilmiştir. Oral kavite kanseri

dünyada en yüksek 100.000'de 5.4 ile Güney-Doğu Asya'da görülmekte. Onu 100.000'de 4.6 ile Avrupa takip etmektedir (1). Orofarenks kanserlerinde, özellikle Kuzey Amerika, Avustralya ve Avrupa'nın bazı bölgelerinde HPV pozitif tümörler nedeniyle genç yetişkinler arasında insidansın arttığı gösterilmiştir (24, 27). Amerika SEER veritabanı bilgilerine göre HPV enfeksiyonu ile ilişkili bölgelere (tonsil ve dil kökü) ait kanser insidansı yıllık %3 artarken, oral kavite ve orofarinksin diğer bölgelerinde azalma gözlenmiştir (28). Dünyada daha az gelişmiş bölgelerde insidans gelişmiş bölgelere göre daha az olmakla birlikte mortalite oranı daha yüksektir (1). Daha düşük gelir düzeyine sahip olanlarda kanserin görülme ihtimali daha düşüktür (9). Oral kavite kanserlerinde mortalite %1.8 iken bu oran orofarinkste %1.2'dir (1). SEER'e göre 1992-2007 döneminde mortalite 100.000 kişide erkeklerde 5.1'den 3.8'e ve kadınlarda 2'den 1.4'e düşmüştür (28).

2.5.2 Etiyoloji

Tütün: Tütün kullanımı, hem kadınlar hem erkekler için OCC ve OPC'nin en önemli risk faktörlerinden biridir. Ağır tütün tüketenler, OCC ve OPC açısından 5 ila 25 kat arasında bir risk artışına sahiptir (28). İnsanlarda yeterli kanserojenlik kanıtına dayanarak, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tütün içimini hem oral kavite hem de farinks için grup 1 kanserojen olarak sınıflandırır. Sigarayı bırakan hastalar için OCC ve OPC riski zaman içinde azalır ve 10 veya daha fazla yıl bırakıldıktan sonra sigara içmeyen kişilere yaklaşabilir (23). Sigarayı bırakmak 1-4 yıl içinde, OPC riskini %35 oranında azaltır (29). Bazı çalışmalar, pipo veya puro içenler arasında baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom (HNSCC) için göreceli riskin sigara içenlere göre daha yüksek olduğunu göstermektedir (23). Sigara içmek genellikle tütün kullanımının en yaygın şeklidir, ancak bazı bölgelerde yerel tütün

ürünleri tütülenir veya çiğnenir (30). Hindistan'da bidis veya chutta, Kuzey Afrika'da water pipe ve Endonezya'da kreteksleri (karanfil aromalı sigaralar) örnek verilebilir (28, 30). Dumansız tütün, başlıca kanserojen nitrozamin kaynağı ve areca nut çiğneme de bir risk faktörüdür. Bazı Batılı ülkelerde, esas olarak ABD ve Kuzey Avrupa'da dumansız tütün, sigara içme kısıtlılığı olan yerlerde kullanılmaktadır. Güney ve Orta Asya'da tütün çiğneme OCC ve OPC için önemli bir risk faktörüdür. Ayrıca Hindistan'da (Trivandrum) tütün çiğnemesinin en güçlü risk faktörü olduğu doğrulanmıştır. Çiğnemek için birçok areca nut ve tütün formu mevcuttur ve insanlar için kanserojen olarak sınıflandırılmıştır. Tembul quid, bunlardan biridir ve güçlü bir risk faktörüdür. Çiğneme için mevcut olan tüm areca nut formları, premalign bir lezyon olan oral submuköz fibrozun ana nedenidir (28). Erkekler arasında çiğneme tütüne bağlı kanser OCC ve OPC vakalarının Kanada'da %1.6, ABD'de %6.6, Hindistan'da %52.5 ve Sudan'da %68.2 olduğu tahmin edilmektedir (30).

Alkol: Alkol IARC tarafından insanlar için kanserojen bir madde olarak sınıflandırılır ve oral dokularda kanserojenlerin penetrasyonunu arttıran bir çözücü olarak işlev görebilir ve oral kavite ve orofaringeal kanserler için bir risk faktörü olarak doğrulanır. Alkol alımı, oral mukozadaki çok katlı yassı epitelin geçirgenlik bariyerini değiştirerek karsinojenlerin epitelin daha derin katmanlarına ulaşmasını kolaylaştırır (28).

Tütün ve Alkol Etkileşimi: Özellikle, kombine sigara ve alkol tüketimi sinerjik bir etki gösterir ve her iki ürünün ağır kullanıcıları arasında HNSCC için 15 kat veya daha fazla risk oluşturur (23, 30). Tütün kanserojen miktarını arttırıp, alkol de epitel geçirgenlik bariyerini bozarak sinerjik etkide bulunurlar (28). Günde 2 veya daha fazla paket sigara ve 4'ten fazla alkollü içecek tüketen bireylerin OPC

geliştirme riski 35 kat artar (31). Tütün içiminin ortadan kaldırılması ve alkol tüketiminin azaltılmasıyla OPC'lerin tahmini %75'i önlenabilir (32).

Human Papillomavirüs (HPV): Serviks kanseri, Human papillomavirüsü (HPV) ile ilişkili en yaygın görülen malignitedir. Son zamanlarda, epidemiyolojik ve moleküler veriler HPV'nin, özellikle tip 16'nın HNSCC'nin gelişiminde bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermiştir (33). Daha çok orofarinkste, dil kökü ve tonsillerde ortaya çıkmaktadır. OPSCC'li hastaların yaklaşık %50'sinde HPV-16 DNA pozitifdir. Bu bulgunun aksine, OCSCC'ler tipik olarak HPV varlığı ile ilişkili değildir, oral kavite epitel dokusunun orofarinks yapılarındakinden farklıdır ve OCSCC'li bireylerin sadece %20'sinin HPV-16 DNA pozitifdir (34).

İlginç bir şekilde, orofaringeal ve oral kanserlerde yüksek riskli HPV DNA prevalansının coğrafi bölgeye göre değiştiği görülmektedir. OPSCC için, yaygınlığın Kuzey Amerika'da en yüksek (yaklaşık %60), Asya, Okyanusya ve Avrupa'da (yaklaşık %36 ila %45), Güney ve Orta Amerika'da en düşük (yaklaşık %15) olduğu rapor edilmiştir (35). Buna karşılık, OCSCC için, yüksek riskli HPV DNA prevalansının Asya'da en yüksek (HPV-16 için %25) olduğu bildirilmiştir (36). Özellikle gelişmiş ülkelerde, HPV ile ilişkili orofaringeal kanser insidansında son zamanlarda meydana gelen dramatik artış, ortaya çıkan bir kanser salgınıyla ilgili endişeleri artırmıştır. Dikkat çekici bir şekilde, Amerika Birleşik Devletleri'nde, HPV'nin 1980'lerin başında OPSCC'lerin yaklaşık %16'sını, daha yakın tarihli çalışmalarda vakaların %60 ve fazlasından sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (37). Daha çok erkeklerde görülmekle birlikte, HPV pozitif tümörlerin beyaz ırk, daha genç ve sosyoekonomik durumu daha yüksek olan hastalarda ortaya çıkma olasılığı daha yüksektir (38). Çok sayıda yaşam boyu vajinal veya oral cinsel partner, genç

yaşıta cinsel aktivitenin başlangıcı, erkeklerde anogenital siğil öyküsü, oral mukozanın viral kolonizasyonunun potansiyel bir kaynağı olabilir (39). HPV negatif tümörler ile karşılaştırıldığında, HPV pozitif tümörlerin esrar kullanımı öyküsü olan kişilerde ortaya çıkma olasılığı daha yüksektir ve ağır tütün ve alkol maruziyeti olan kişilerde ortaya çıkma olasılığı daha düşüktür (38). HPV ile ilişkili HNSCC'nin neden orofarinkte ve burada da dil kökü ve palatin tonsiller geliştiği tam olarak açık olmamakla birlikte bazı teoriler mevcuttur. Bunlar; 1) tonsil kriptalarının derin invajinasyonları HPV ve diğer patojenler için bir rezervuar olarak işlev görebilir, 2) bu bölgelerdeki ağsı epitel, sürekli olmayan bir bazal membran ile zayıflatılır ve 3) bu lenfoid doku içindeki derin kriptalar, kalıcı HPV enfeksiyonunu destekleyen ve tümörlerin bağışıklık gözetiminden kaçmasına izin veren bölgeleridir (40). HPV pozitif HNSCC genellikle, HPV negatif HNSCC ile karşılaştırıldığında kemoterapi, radyoterapi ve prognoz açısından daha iyi sonuçlara sahiptir (41). HPV pozitif tümörler, HPV negatif tümörlerden daha iyi bir prognoza sahiptir (34).

İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV): Geleneksel olarak, HIV enfeksiyonu olan hastalarda en sık görülen baş ve boyun kanseri türü Kaposi sarkomu ve Hodgkin dışı lenfomadır. Bununla birlikte, HNSCC bu HIV pozitif popülasyonda sıklıkla görülebilir (42). Bu hastalarda tütün ve alkol maruziyeti dışında kanserojenez için olası risk faktörleri arasında immünosupresyon, fırsatçı enfeksiyonlar ve yüksek riskli HPV alt tipleri bulunur (43). ABD'de AIDS tanısı olan 499.230 kişide yapılan araştırmada, AIDS'li bireyler arasında HPV ile ilişkili orofaringeal kanser açısından istatistiksel olarak anlamlı bir yüksek risk gözlenmiştir. AIDS ile ilişkili immünsupresyon şiddeti ile orofaringeal kanser riskindeki artışın tutarlı olduğu belirtilmiştir (44).

Kalıtım ve Genetik Faktörler: Özellikle gençlik döneminde, kabul edilmiş risk faktörü olmayan hastalarda kanser gelişimi için genetik bir yatkınlık olduğu görülmektedir. 30 yaşından küçük hastaların mutajen maruziyetini takiben yaşlı hastalara kıyasla belirgin şekilde artmış bir kromozom kırılabilirliği sergilediği gösterilmiştir (45). Kalıtsal bir faktör, henüz tam olarak anlaşılamamasına rağmen, bazı bireyleri oral kanser geliştirmeye daha duyarlı hale getirir ve ailede baş ve boyun kanseri öyküsü vaka kontrol çalışmalarında gösterildiği gibi bir risk faktörüdür. OCSCC ve OPSCC için kalıtsal bir temel tanımlanmamasına rağmen, sigaradan kaynaklanan GSTP1, GSTT1 genlerindeki genetik değişiklikler oral malignite riskini etkileyebilir (28). Fanconi anemisi, diskeratoz konjenita ve Bloom sendromu gibi nadir görülen kalıtsal durumları olan hastalarda OCSCC ve OPSCC riski artar (46).

Beslenme: Beslenme faktörleri çoğunlukla koruyucu olarak rapor edilir. Sebzeler, meyveler ve karotenoidler açısından zengin bir diyet, oral kavite ve orofaringeal kanser riskinde azalma ile ilişkilidir (47). Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar, meyve ve sebzeler açısından zengin ve hayvansal ürünlerden fakir bir diyetin, oral kavite ve orofaringeal kanserler için azalmış bir risk ile ilişkili olduğunu belirtmiştir (48). Bitkisel gıdaların koruyucu etkileri, karotenoidler, C ve E vitaminleri, folat, flavonoidler, lif ve likopen gibi çeşitli maddelere bağlı olarak gelişebilir. Ek olarak, demir eksikliği olan hastalar arasında, özellikle tedavi edilmemiş Plummer - Vinson sendromu olanlar arasında SCC riski artar (49). Bazı araştırmacılar oral ve orofaringeal kanserli hastalarda yüksek oranda D vitamini eksikliği olduğunu kaydetmişlerdir (50).

2.5.3 Belirti ve Bulgular

Boğaz ağrısı, odinofaji, disfaji şikayeti olan bireylerde premalign orofaringeal neoplastik lezyonlar tespit edilebilir, ancak sıklıkla asemptomatiktir (51). Çoğu oral ve orofarinks kanseri, keratinize olmayan mukozadan kaynaklanır. Semptomlar erken evre hastalıkta genellikle yoktur, ancak ileri lokal invazyon ile sık görülmeye başlar. Hastalık daha da ilerlediği zaman ağrı, yutma güçlüğü, otit, kilo kaybı ve trismus görülebilir. Travma öyküsü olmadığında parestezi ve anestezi bulguları, invaziv bir maligniteyi kuvvetle göstermektedir. Metastatik yayılım submandibular, servikal ve jugular lenfatikler yoluyla gerçekleşir ve uzak metastazlar en sık akciğeri hedef alır (52).

2.6 Oral Kavite ve Oropharinks Kanseri Sınıflandırması

2.6.1 Dudak Kanseri

Dudak karsinomu, deriden sonra, baş ve boyundaki en yaygın kanserdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde dudak kanseri yılda 100.000'de 12.7 oranında görülmektedir (53). Siyah ırk ve Asyalılar arasında nadirdir ve oral kavitedeki tüm karsinomların yaklaşık %25'ini oluşturur. Dudak kanseri en sık 50-70 yaş erkeklerde görülmektedir. İnsidans oranları dünya genelinde erkekler arasında stabil veya azalma eğilimindeyken, birçok kadın popülasyonunda artmaktadır (54). Güneş ışığına kronik maruziyet, açık tenli olma, immünsupresyon, tütün kullanımı ve virüsler başlıca risk faktörleridir (16).

Bu bölgeyi etkileyen kanserlerin çoğu alt dudağı (%88-95) tutarken, üst dudak (%2-7) ve komissürde (%1) az görülür. Alt dudakta skuamöz hücreli karsinom sık görülürken, üst dudakta bazal hücreli karsinom daha sık görülür. Bazal hücreli

karsinom ve skuamöz hücreli karsinoma ek olarak, keratoakantom, minör tükürük bezi tümörleri, malign melanom ve mezenkimal tümörler (malign fibröz histiyositoma, leiomyosarkom, fibrosarkom, anjiyosarkom ve rabdomiyosarkom) ayırıcı tanı olarak akılda tutulmalıdır (16).

Dudak kanserinde klinik bulgular genellikle vermilyonda veya deri yüzeyinde veya daha az sıklıkla mukozal yüzeyde ülser lezyonlar olarak görülebilir. Hastaların çoğu erken evrede, boyun metastazı olmadan gelir (16). Minör tükürük bezi tümörleri, alt dudakın iç yüzeyinde submukozal bir nodül olarak bulunur. Lezyona bitişik alanda parestezilerin veya disestezilerin varlığı, olası mental sinir tutulumunu gösterir (55).

Dudak karsinomu lokalize yayılma eğilimindedir. Genellikle çevredeki yumuşak doku, deri ve kemiğin doğrudan infiltrasyonu ile yayılır ve nadiren bölgesel lenf nodlarına metastaz yapar (56). Boyun metastazı, alt dudak SCC'lerde nadir görülen bir bulgudur ve vakaların sadece %10'unda görülür. Alt dudak lezyonları, lenfatiklerin karşıya geçişleri nedeniyle bilateral metastaz yapabilir. Bölgesel metastaz riski komissür ve üst dudak kanserlerinde artar. Prognoza olumsuz etki yapan durumlar arasında perinöral invazyon, kemik tutulumu, üst dudak veya komissürde ortaya çıkan kanser, bölgesel lenfatik metastaz ve başlangıcın 40 yaşından küçük olması bulunur (57).

Alt dudak karsinomunda lenf nodu metastazı en sık ipsilateral prevasküler submandibular lenf bezlerine olur. Alt dudak orta hat yakınında ortaya çıkan karsinom genellikle submental lenf nodlarına metastaz yapar. Üst dudak karsinomu doğrudan üst servikal, preauriküler veya submandibular düğümlere metastaz yapabilir (16). Dudak karsinomundan uzak metastaz oldukça nadirdir.

2.6.2 Dil Kanserleri

Dil karsinomları, ağız boşluğunun en yaygın ikinci malignitesidir. Erkeklerde kadınlardan daha yaygındır. En fazla 5. ve 7. dekatlarda görülür. Genellikle kötü ağız hijyeni, alkolizm ve ağır tütün kullanımı ile ilişkilidir (58). Ülkemizde yapılan bir çalışmada oral kavite kanserlerinde anatomik lokalizasyon en sık %41.4 ile oral dil olarak tespit edilmiş (59). En sık başvuru nedeni ağrılı veya ağrısız ülser ve ekzofitik kitledir. Dil kanserleri içinde en sık orta derece iyi diferansiye skuamöz hücreli karsinom görülür. Bunlardan yaklaşık %75'i dilin posterolateral kısmında ortaya çıkar. İkinci en yaygın bölge (lezyonların %20'si) dilin anterolateral ventral yüzeyidir (16).

Hastalık ilerledikçe, lingual sinir tutulumu, hipersalivasyon, disfaji ve ipsilateral otaljiden şikayet edebilir. Dilin aşırı derecede büyümesi durumunda, yutma ve konuşma zorlaşabilir (58). Lingual ve hipoglossal sinirler doğrudan tümörler tarafından istila edilebilir ve tutulumları dorsal dil yüzeyinde duyu kaybına ve dilin protrüde olmasına, fasikülasyonlar ve atrofiye neden olabilir (16).

Dil SCC'ler genellikle lokal invaziv olarak ağız tabanına, ön tonsiller plikaya, dil köküne ve mandibulaya yayılır. Hastaların yaklaşık %30 ile %40'ında başvuru sırasında servikal lenf nodu metastazı vardır. Lezyonun kalınlığı yani T evresi, lenf nodu tutulumu insidansı ile doğrudan ilişkilidir (60). Subdigastrik düğümler en sık tutulur. Submandibular ve midjugular lenf düğümleri ve submental, alt jugular ve posterior servikal düğümler nadiren tutulur. Uzak metastaz nadir görülür. Akciğerler, karaciğer ve kemikler en yaygın uzak metastatik bölgelerdir (61).

2.6.3 Alveolar Ark Kanserleri

Mandibular ve maksiller alveolar ark SCC'si, tüm oral kavite kanserlerinin yaklaşık %10'unu oluşturur. Alt alveolar ark karsinomları üst alveolar ark lezyonlarından daha sık görülür. Alt alveolar ark karsinomu olan 155 hastanın incelendiği bir çalışmada ortalama başvuru yaşı 66.7 idi. Bu grupta tümörlerin %63'ü mandibula korpusunda, %25'i simfizde olduğu görüldü. Hastaların çoğunda (%67) lezyonların erken evrede (T1/T2) olduğu kaydedildi (62). Üst alveolar ark tümörleri jugulodigastrik lenf düğümlerine metastaz yapma eğilimindeyken, alt alveolar ark tümörleri submandibular lenfatiklere yayılım gösterir (62). 5 yıllık sağkalım, metastatik yayılımı olmayan hastalar için %85 (T1/T2) ile %65 (T3/T4) arasında değişmektedir. Önemli prognostik faktörler arasında ileri T evresi (T3/T4), marj durumu, mandibular invazyon ve bölgesel metastazların varlığı yer almaktadır. Mandibular rezeksiyonun derecesi, primer bölgeye yakın dış müdahaleleri, perinöral invazyon ve tümörün histolojik derecesinin lokal kontrol ve survi açısından etkisi yoktur (63).

2.6.4 Retromolar Trigon Kanserleri

Retromolar trigonun karsinomları nadir görülür ve oral kavite kanserlerinin %15'ini oluşturur (64). Genellikle orta derece diferansiye skuamöz hücreli karsinomlardır. Retromolar trigon karsinomlu hastaların çoğunda başvuru sırasında ileri evre hastalık mevcuttur. Tanı anından %50'den fazlasında bölgesel metastaz vardır. Bu tümörleri ramustan ayıran ince yumuşak doku göz önüne alınırsa mandibula tutulumu sık izlenir. Medial pterigoid kaslar tutulursa trismus meydana gelebilir. Lokal yayılım sonucu orofaringeal ark, ön tonsil plikası, tonsiller fossa, bukkal mukoza ve dil kökü tutulabilir. Bu bölgede SCC ayırıcı tanısında, minör

tükürük bezi tümörleri, osteosarkom ve yumuşak doku sarkomlarını düşünülebilir (1).

2.6.5 Ağız Tabanı Kanseri

Ağız tabanı karsinomu, oral kavite karsinomlarının yaklaşık %15'ini oluşturur. Ağız tabanı karsinomu genellikle tütün içmek, ağır alkol tüketimi ve kötü ağız hijyeni ile ilişkilidir. Erkeklerde kadınlardan daha yaygındır. Erkek/kız oranı yaklaşık 2,5: 1'dir (44). Tipik olarak 60'lı yaşlarda erkek hastalarda görülür. Sıklıkla ağız tabanı ön kısmında yerleşir. Bu hastaların yaklaşık %35'i tanı anında ileri T evresi (T3/T4) tümör ile gelirler (65). Ağız tabanı, hastalığın yayılmasına bir bariyer görevi gören genioglossus, mylohyoid ve hyoglossus kaslarından oluşur. Bu kaslara invazyon dil hipomobilitesine ve disfajiye yol açabilir (1). Ağız tabanı karsinomlu hastaların yaklaşık %50'sinde servikal metastaz görülür. Submandibular lenf düğümleri (Ib seviyesi) en sık tutulur ve bilateral metastazlar ağzın ön tabanındaki lezyonlarda yaygındır. Ağız tabanındaki karsinomlu hastalar için 5 yıllık sağkalım evre I için %90, evre II için %80, evre III için %65 ve evre IV hastalık için %30'dur (66).

2.6.6 Bukkal Mukoza Kanseri

Bukkal kanserler, tüm oral kanserlerin yaklaşık %10'unu oluşturur (67). Genellikle yaşamın altıncı ve yedinci dekatında görülür ve erkeklerde kadınlardan daha yaygındır. Hindistan, Malezya ve Tayvan gibi Uzak Doğu ülkelerinde oral kavitenin en yaygın karsinomlarından biridir. Bunun nedeni, tütün ve betel nut çiğnenmesidir (68). Bukkal mukoza karsinomları genellikle önceden var olan lökoplaki ile ilişkili olarak ortaya çıkar ve birden fazla primer bölgeye nüksetme

eğilimindedir. Oral lökoplaki eksizyonu, daha sonra karsinom gelişimini azaltabilir (69).

Klinik olarak üç farklı tip vardır: ekzofitik, ülseratif ve verrüköz. Verrüköz karsinom genellikle bukkal mukozada ortaya çıkar ve düşük dereceli malignite olarak kabul edilir. Kötü ağız hijyeni, tütün kullanımı ve viral enfeksiyon, potansiyel etiyoloji olarak önerilmiştir. Bölgesel metastaz olasılığının düşük olması nedeniyle elektif boyun diseksiyonu gerekli değildir (70). Sıklıkla gingivobukkal sulkusa, üst ve alt alveoler arka, sert damak, maksilla ve mandibulaya doğrudan invazyon yapabilir. Lenf nodu metastazi, hastalığın seyri sırasında hastaların yaklaşık %9 ile %31'inde görülür (71). Öndeki lezyonlar submandibuler lenf nodlarına, arkadaki lezyonlar jugulodigastrik lenf nodlarına metastaz yapar.

2.6.7 Sert Damak Kanseri

Sert damakta en sık görülen malignite skuamöz hücreli karsinomdur. Adenoid kistik karsinom, mukoeypidermoid karsinom, adenokarsinom ve polimorf düşük dereceli adenokarsinom ikinci en sık görülen minör tükrük bezi tümörleridir (72). Mukozal malign melanom en sık sert damak ve maksiller gingivada, non-ülser pigment lezyonlar olarak ortaya çıkar ve prognozu kötüdür. Kaposi sarkomu da oral kavitede en sık sert damağa yerleşir (1).

Sert damak kanserleri nadirdir ama özellikle tersten sigara içilen Güney Asya bölgelerindeki yaşlı hastalarda daha sık görülmektedir (73). Lenfatik metastaz yaklaşık %12-29 civarında görülmektedir. Daha çok submandibuler lenf nodlarına ve üst juguler lenf nodlarına yayılım olmaktadır (74). Beş yıllık sağ kalım skuamöz hücreli karsinom için %48 iken minör tükrük bezi tümörleri için %63'dür (75).

2.6.8 Dil Kökü Kanseri

Tüm dil kanserlerinin üçte birini oluştururlar. Histolojik olarak %95'i skuamöz hücreli karsinomdur. Yüzeyde herhangi bir ülserasyon oluşturmamaları, semptomların tipik olmaması, geç ortaya çıkması, muayene zorluğu ve uzun süren antibiyotik tedavileri gibi olumsuz faktörlerle bu tümörler geç teşhis edilen, bilateral boyun metastazı yapan, kötü prognozlu tümörlerdir. Bu nedenle primeri bilinmeyen metastatik lenf nodu varsa mutlaka dil kökü tuşe ile değerlendirilmelidir (76, 77).

Dil kökü tümörleri, en sık 60 yaş civarında ve %80'i erkeklerde görülen bir tümördür. Hastalar sıklıkla boğazda devam eden ağrı şikayeti ile gelirler (78). Hastalar ilk tanı anında %60 T1 ve T2 tümör olsa bile lenfatik metastaz olabilir. Neredeyse %20 oranında bilateral boyun metastazı vardır.

Tonsili içine alan, büyük boyutlu ve dil kökünü tutan tümörler dil kökü tümörü olarak kabul edilir ve tedavileri dil kökü tümörü olarak verilir. Yaklaşık %20 civarında bir sağkalım oranı vardır. Bunun nedeni, tümörün kendini gizlemesi ve çok büyükken geç semptom vermesidir (79).

2.6.9 Tonsil Kanserleri

Orofarinksin en sık görülen kanseridir. Orofarinks kanserleri içerisinde %60-75 oranında görülür. Baş ve boyun kanserlerinin ise %6.7'sini oluşturur. Tanı anında yüksek oranda servikal metastaz yapabilirler (80). En sık metastaz jugulodigastrik bölgede görülmek üzere submandibuler bölge ve arka üçgen lenf nodları da tutulabilir. Histopatolojik olarak %90'nı skuamöz hücreli karsinomdur (77). Tonsil kanserleri geç dönemde bulgu verir. Hastaların bir kısmında boğazda takılma hissi,

disfaji ve yutma güçlüğü olabilir. Hastaların yaklaşık %10-38 kadarı hiçbir şikayet olmadan sadece boyunda kitle ile başvururlar (81).

Tonsil kanserleri yüzeysel yayılır. Posterior faringeal duvar genellikle tutulmaz. Daha derine yayılırsa, inferior alveolar sinir, lingual sinir, glossofaringeal sinir ve mandibula tutulabilir. Bunun sonucunda ciddi ağrılar oluşabilir. İlerleyen dönemlerde pterigoid kaslar ve parafaringeal bölge tutulabilir (82).

2.6.10 Yumuşak Damak Kanseri

Yumuşak damak kanseri nadir görülen baş boyun kanserlerindendir. Her yıl ABD’de 100.000’de 0.34-0.4 yeni damak vakası görülmektedir. Bunların 2/3’ü yumuşak damak ve uvuladır. Yumuşak damak kanserlerinin %80 epidermoid karsinomdur. Sigara ve alkol kullanan, erkeklerde daha sık görülmektedir. Genellikle iyi diferansiye tümörlerdir. Klinik olarak %20-45 arası boyun metastazı görülebilir. Bilateral boyun metastaz oranı ise %18’dir (81).

2.6.11 Orofarinks Duvarlarının Kanseri

Orofarinks duvarları lenfatik açıdan zengin değildir. Agresif ve çabuk büyüyen tümörler olsa da boyun metastaz yapma oranları düşüktür. Hastaların çoğunluğu 50 ve üzeri yaşlarda, sigara ve alkol kullanım öyküleri mevcuttur. Erkeklerde daha fazla görülmektedir. Tanı konduğunda genellikle lezyon boyutu 5 cm’nin üzerindedir. Yutma güçlüğü, disfaji, kilo kaybı, boyunda ağrı ve ses kısıklığı görülebilir. Hastaların yaklaşık %20’sinde şikayet boyunda kitle olabilir. İlk başvuru sırasında hastaların yaklaşık %5’de uzak metastaz bulunabilir (83).

2.7 Oral Kavite ve Orofarinks Kanseri TNM Evrelemesi

Evreleme sistemi, tümörün yaygınlığının tariflenmesi, tedavi protokollerinin belirlenmesi, takibi ve hastalığın prognozunun anlaşılması için doktorlar arasında oluşturulan ortak bir dildir. En yaygın kullanılan evreleme sistemi TNM evrelemesidir. **T** tümörün yaygınlığını, **N** lenf nodu yayılımını, **M** ise metastaz varlığını göstermektedir. TNM evrelemesi, The American Joint Committee on Cancer (AJCC) ve International Union Against Cancer (UICC) tarafından oluşturulmuştur. TNM evrelemesinin AJCC Cancer Staging Manual'ın 8.baskısının yayınlanması ile en güncel halini almıştır (84).

Bu güncel TNM evrelemesi 2010 yılında yayınlanan 7.baskıya göre çeşitli değişiklikler içermekte. Yeni baskıdaki en belirgin değişiklik olarak orofarinks kanseri HPV ile ilişkili ve HPV den bağımsız olarak iki kategoriye ayrılarak değerlendirildi. Bu değişiklik ile HPV + orofarinks kanserlerinin radyoterapiye daha iyi cevap vermesi ve prognozunun daha iyi olması durumu evrelemeye yansımıştır. Diğer bir değişiklik ise, özellikle adjuvan kemoradyoterapi kararı verirken, hastalık prognoz ve nüksleri değerlendirirken göz önünde bulundurulmuş ektranodal yayılım (ENE) nodal evreleme kategorisine eklenmiştir. Oral kavite kanserlerinin T evrelemesine invazyon derinliği eklenmiştir. İnvazyon derinliği değerlendirilirken tümör kalınlığı ile karıştırılmamalıdır (84-86). International Consortium for Outcome Research (ICOR) grubu yaptığı bir çalışmada, prognoz açısından invazyon derinliğinin tümör boyutundan daha önemli olduğunu belirtmişlerdir (87).

Oral Kavite Primer Tümör T Evrelemesi

TX: Primer tümör değerlendirilemiyor.

Tis: Karsinoma in situ

T1: Tümör boyutu ≤ 2 cm ve invazyon derinliği ≤ 5 mm

T2: Tümör boyutu ≤ 2 cm ve invazyon derinliği 5-10 mm arası veya tümör >2 cm- <4 cm ve invazyon derinliği <1 cm

T3: Tümör >4 cm veya invazyon derinliği >10 mm

T4a: (Dudak) Tümör kortikal kemik, inferior alveoler sinir, ağız tabanı ve çene veya burun derisine invaze

T4a: (oral kavite) Tümör sadece çevre dokulara (maksilla veya mandibulada kortikal kemiğe, maksiller sinüse veya yüz derisine) invaze

T4b: Tümör mastikatör boşluk, pterygoid plate veya kafa tabanına invaze ve/veya internal karotid arteri çevrelemiş.

Orofarinks HPV (-) Primer Tümör T Evrelemesi

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor.

Tis: Karsinoma in situ

T1: Tümör boyutu ≤ 2 cm

T2: Tümör boyutu >2 cm ve ≤ 4 cm

T3: Tümör boyutu >4 cm veya epiglottisin lingual yüzüne uzanım göstermesi

T4a: Tümör larenks, ekstrinsek dil kaslarına, medial pterigoid, sert damak ve mandibulaya invaze

T4b: Tümör lateral pterigoid kas, pterigoid plate, lateral nazofarenks veya kafa tabanına invaze veya karotis arterini sarılmış

Orofarinks HPV (+) Primer Tümör T Evrelemesi

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor.

Tis: Karsinoma in situ

T1: Tümör boyutu ≤ 2 cm

T2: Tümör boyutu >2 cm ve ≤ 4 cm

T3: Tümör boyutu >4 cm veya epiglottisin lingual yüzüne uzanım göstermesi

T4: Tümör larinks, ekstrensik dil kaslarına, medial pterigoid kas, sert damak, mandibulaya, lateral pterigoid kas, pterigoid plate, lateral nazofarinks ve kafa tabanı invaze veya karotisi sarmış

Oral Kavite ve HPV (-) Orofarinks Klinik Nodal Evreleme

cN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

cN1: Tek, ipsilateral, ≤ 3 cm ve ENE (-) lenf nodu metastazı

cN2a: Tek, ipsilateral, >3 cm ve ≤ 6 cm ve ENE (-) lenf nodu metastazı

cN2b: İpsilateral, ≤ 6 cm olan birden fazla lenf nodu ve ENE (-)

cN2c: Bilateral veya kontralateral, ≤ 6 cm olan lenf nodu metastazları, ENE (-)

cN3a: Boyutu > 6 cm lenf nodu metastazı ve ENE (-)

cN3b: ENE (+) herhangi bir lenf nodu metastazı

Oral Kavite ve HPV (-) Orofarinks Patolojik Nodal Evreleme

pN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

pN1: Tek, ipsilateral, ≤ 3 cm ve ENE (-) lenf nodu metastazı

pN2a: Tek, ipsilateral, ≤ 3 cm ve ENE (+) veya Tek, ipsilateral, >3 cm ve ≤ 6 cm ve ENE (-)

pN2b: İpsilateral, ≤ 6 cm olan birden fazla lenf nodu ve ENE (-)

pN2c: Bilateral veya kontralateral, ≤ 6 cm olan lenf nodu metastazları, ENE(-)

pN3a: Boyutu >6 cm lenf nodu metastazı ve ENE (-)

pN3b: Tek, ipsilateral, >3 cm ve ENE (+) veya birçok ipsilateral, kontralateral veya bilateral ENE (+) lenf nodu metastazları veya tek, kontralateral, herhangi bir boyutta ENE (+) lenf nodu metastazı

HPV (+) Orofarinks Kanseri Klinik Nodal Evrelemesi

cN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

cN1: Bir veya ipsilateral birden fazla ≤ 6 cm olan lenf nodu metastazları

cN2: kontralateral veya bilateral ≤ 6 cm olan lenf nodu metastazları

cN3: >6 cm lenf nodu metastazları

HPV (+) Oropharinks Kanseri Patolojik Nodal Evrelemesi

pN0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

pN1: 4 veya daha az sayıda lenf nodu metastazı

pN2: 5 ve üzeri lenf nodu metastazı

Oral Kavite ve Oropharinks Uzak Metastaz

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var

Tablo 1: Oral Kavite ve HPV (-) Oropharinks Kanserlerinin Evreleme Grupları

EVRE	T Kategorisi	N Kategorisi	M Kategorisi
Evre I	T1	N0	M0
Evre II	T2	N0	M0
Evre III	T3	N0	M0
	T1, T2, T3	N1	M0
Evre IVA	T4a	N0, N1	M0
	T1, T2, T3, T4a	N2	M0
Evre IVB	Herhangi T	N3	M0
	T4b	Herhangi N	M0
Evre IVC	Herhangi T	Herhangi N	M1

Tablo 2: HPV İlişkili Oropharinks Kanserlerinin Klinik Evreleme Grupları

EVRE	T Kategorisi	N Kategorisi	M Kategorisi
Evre I	T0, T1 veya T2	N0 veya N1	M0
Evre II	T0, T1 veya T2	N2	M0
	T3	N0, N1 veya N2	M0
Evre III	T0, T1, T2, T3 veya T4	N3	M0
	T4	N0, N1, N2 veya N3	M0
Evre IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

Tablo 3: HPV İlişkili Oropharinks Kanserlerinin Patolojik Evreleme Grupları

EVRE	T Kategorisi	N Kategorisi	M Kategorisi
Evre I	T0, T1 veya T2	N0 veya N1	M0
Evre II	T0, T1 veya T2	N2	M0
	T3 veya T4	N0 veya N1	M0
Evre III	T3 veya T4	N2	M0
Evre IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

2.8 Oral Kavite ve Oropharinks Kanserleri Grade ve Diferansiasyon

Grade: mikroskop altında bakıldığında kanser hücrelerinin sağlıklı hücrelere ne kadar benzediği açıklayan bir tanımdır. Tümörün büyüme ve yayılma olasılığının bir göstergesidir. Normal dokuya olan benzerlik miktarına göre dört gruba ayrılır (88, 89).

Grade 1 (low grade): Tümör hücreleri normal dokuya daha çok benziyorlar.

Grade 2 (intermediate grade): Tümör hücreleri normal dokudan hafif derecede farklılaşmışlar.

Grade 3 (high grade): Tümör hücreleri normal dokudan farklılaşmışlar ve pek benzemezler.

Grade 4 (anaplazi): Tümör hücreleri tamamen farklılaşmış ve normal dokuya hiç benzemezler.

Diferansiasyon: Tümör hücrelerinin hem morfolojik hem de fonksiyonel olarak parankimal kökenli hücrelerine ne ölçüde benzediğini ifade eder; diferansiasyon kaybı anaplazi olarak tanımlanır (89).

Tablo 4: Grade ve Diferansiasyon

Grade 1	low grade	İyi diferansiye
Grade 2	intermediate grade	Orta diferansiye
Grade 3	high grade	Az diferansiye
Grade 4	anaplazi	undiferansiye

2.9 Oral Kavite ve Orofarinks Kanserlerinde Tedavi Yaklaşımı

Baş ve boyun kanserleri için tedavi algoritması sunan NCCN (National Comprehensive Cancer Network) Klinik Uygulama Kılavuzları 2018 yılının güncellenmiştir (90). Oral kavite ve orofarinks kanserleri tedavi yaklaşımlarına bu kılavuz eşliğinde değineceğiz.

2.9.1 Oral Kavite Kanserlerinde Tedavi

Oral kavite kanserleri için tercih edilen primer tedavi cerrahidir. Büyük ölçüde tüm erken evre ve çoğu ileri evre OCSCC'ler cerrahi rezeksiyona uygundur. Erken evre hastalık için, sadece cerrahi OCSCC'nin yeterli başlangıç tedavisi olabilir ve adjuvan radyoterapinin oluşturduğu uzun süreli sekeller ve morbiditeden koruyabilir. Bununla birlikte, orta ve ileri evre hastalığı olan çoğu hasta için, sadece adjuvan radyoterapi (RT) veya kemoradyoterapinin (KRT) lokal ve bölgesel nüks risklerini azalttığı gösterilmiştir (91).

Adjuvan tedavinin rolü, primer tümörün rezeksiyonu ve metastaz riski altındaki boyun lenf nodlarının diseksiyonu sonrası patolojik T evrelemesi ve N evrelemesine göre belirlenir. Tek başına veya kemoterapi (KT) ile kombine RT, ileri evre hastalık için, advers patolojik özelliklerin varlığı ve patolojik olarak tanımlanmış bölgesel nodal metastaz için adjuvan tedavi olarak endikedir (90). Adjuvan tedavi endikasyonları, NCCN uygulama kılavuzunda belirtilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5: 2018 NCCN Uygulama Kılavuzuna Göre OCSCC Adjuvan Tedavi Endikasyonları

RT	N1 nodal hastalık ile birlikte pT1 – pT2 evresi
KRT	• Herhangi bir ENE + • Pozitif cerrahi sınır ile birlikte pT1-pT2, N1-3 • Pozitif cerrahi sınır ile birlikte pT3-pT4a
RT veya KRT	• pT1 yada pT2, pozitif cerrahi sınır ve re-rezeksiyonun mümkün olmadığı N0 • pT3-pT4a • N2-N3 düğüm hastalığı • Boyun IV veya V düzeylerinde nodal hastalık • Perinöral invazyon • Lenfovasküler invazyon

2.9.1.1 N0 Boyun Tedavi Yönetimi

Oral kavite kanserleri için, özellikle bölgesel hastalık bulgusu olmayan hastalar arasında boynun en uygun şekilde nasıl yönetileceği konusunda tartışmalar devam etmektedir. Bölgesel metastatik hastalığın varlığı prognozun en önemli göstergesidir ve baş ve boyun kanseri için sağkalım oranlarını %50 oranında azaltır. Klinik N0 (cN0) hastaların yaklaşık %30'u, rutin klinik ve radyografik inceleme ile saptanamayan gizli nodal metastazlar barındırabilir (92). CN0 evreli hastalar için elektif boyun diseksiyonu (END) önerisi, tümör anatomik alt bölge, tümör biyobelirteçleri, radyolojik bulgular ve genel tümör boyutları gibi klinikopatolojik parametreler göz önüne alındığında, gizli nodal metastaz riskinin %20'yi aşması durumunda önerilmektedir (93). Bununla birlikte, artan kanıtlar, primer tümörün invazyon derinliğinin (DOI), gizli nodal metastaz ve agresif biyolojik davranış riskini belirlemede oldukça öngörücü olduğunu desteklemektedir (94). Bu nedenle DOI hem evreleme hem de tedavi kılavuzlarına girmiştir (84, 90). NCCN, erken evre cT1-T2 N0 kanserlerde END için çeşitli önerilerde bulunur;

- DOI 4 mm'den büyük — RT önceden planlanmamışsa END önerilir
- DOI 2 mm'den az — END yalnızca seçici durumlarda belirtilir
- DOI 2 ila 4 mm- Uygunluğu belirlemek için klinik karar kullanılmalıdır
- Son randomize çalışmalar, 3 mm'den yüksek DOI'si olan hastalarda END'nin etkinliğini desteklemektedir.

Her ne kadar mevcut NCCN Kılavuzları, cT1-T2 N0 OCSCC'de primer tümörün DOI'sini temel alan END'i önersede, primer tümörün oral kavite alt bölgelerine dayanan spesifik bir öneri yapılmamaktadır. Primer tümörün DOI'sı ile nodal metastazı öngörmeye oral kavitenin alt bölgeleri arasındaki değişkenlik

OCSCC için tanınmıştır (95). Bu nedenle, bazı araştırmacılar boynun yönetimini, oral kavite içindeki primer tümör alt bölgelerine özgü benzersiz DOI eşiklerine dayandırmaktadır (94). DOI ölçümleri cerrahlara cN0 hastalığı için END hakkında karar vermeleri için objektif kriterler sağlasada, DOI'ye dayalı oral kavitenin belirli alt bölgelerindeki gizli metastazı tahmin etmek için hiçbir öneri kabul edilmemektedir (91).

CN0 hastalığı için END'den önce DOI'nin doğru değerlendirilmesi büyük ölçüde cerraha ve ilgili kurumdaki mevcut kaynaklara bağlıdır. AJCC ve NCCN, boynun cerrahi olarak sorgulanmasından önce DOI'yi değerlendirme zamanlaması veya metodolojisi hakkında şart koşmamaktadır (91).

2.9.1.2 N+ Boyun Tedavi Yönetimi

Klinik olarak veya radyografik olarak saptanan bölgesel hastalığın tedavisi, N0 boyunun tedavisini belirlemekten çok daha açıktır. OCSCC'de, potansiyel olarak metastatik hastalığı barındıran risk altındaki lenf nodu seviyerleri boyunun I ile III seviyelerini içerdiğinden, NCCN Kılavuzları buna göre cN0 OCSCC için bu seviyelerin selektif boyun diseksiyonunu önermektedir (90, 96). Primer tümörün cT1-T2 N0 evreleri için selektif boyun diseksiyonu kararı primer tümörün sentinel lenf nodu biyopsisi (SNB) veya DOI değerlendirmesine dayanmasına rağmen, daha ileri T evresi ve yüksek gizli nodal metastaz riski göz önüne alındığında, 2018 NCCN Yönergeleri, DOI veya SNB durumundan bağımsız olarak cT3-T4 N0 evre OCSCC için selektif boyun diseksiyonunu önerir. Benzer şekilde klinik T evresinden bağımsız olarak herhangi bir N+ hastalık için terapötik boyun diseksiyonu önerilir. Bununla birlikte, ameliyat öncesi klinik evreleme ve cerrahın kararı temelinde

selektif veya kapsamlı boyun diseksiyonunun derecesinin belirlenmesini önermektedir (90).

- cN1, cN2a, cN2b, cN2c — cerrahın kararına bağılı olarak selektif boyun diseksiyonu veya kapsamlı boyun diseksiyonu
- cN3 — kapsamlı boyun diseksiyonu

Selektif terapötik boyun diseksiyonuna hangi boynun dahil edileceğı, primer tümörün anatomik alt bölgesi ve preoperatif klinik ve radyolojik değerlendirmede gross nodal tutulumun yeri ile belirlenir. Bununla birlikte, klinik olarak nod pozitif hastalığı olan hastaların tedavisi için uygulanan selektif boyun diseksiyonu, tanı anında daha ileri N evreleri olan hastalarda selektif diseksiyonun ötesinde seviyelerde tedavi edilmeden kalan gizli metastaz olasılığı riskini ortaya çıkarır. Bu nedenle, klinik olarak nod pozitif hastalık için kapsamlı boyun diseksiyonu, risk altındaki tüm bölgesel lenf nodlarından metastatik hastalığı tamamen ortadan kaldırma şansı verir. Terapötik boyun diseksiyonunun ana amacı boyundan metastatik nodal hastalığı çıkarmak olsa da, ilave bir kritik rol adjuvan tedavinin rolünü belirlemek için patolojik evrelemedir (91).

2.9.1.3 Dudak Kanseri Tedavisi

Dudak kanserlerinde primer tedavi, kozmetik ve fonksiyonel prensipler göz önüne alınarak yapılacak, metastatik bölgesel lenf bezlerini de kapsayacak şekilde cerrahi veya radyoterapidir.

Cerrahi, en sık tercih edilen tedavi yöntemidir. Cerrah, dudak kanseri olan bir hasta için rezeksiyon ve rekonstrüksiyon planlarken çeşitli faktörleri göz önünde bulundurmalıdır. Tipik dudak uzunluğu 6 ile 8 cm'dir ve rekonstrüktif algoritmalar

rezeke edilen dudağın oranına dayanır. Küçük lezyonlarda (dudak uzunluğunun üçte birine kadar olan) birincil kapanma ile basit eksizyon mümkündür. Lezyonlar bir dudak uzunluğunun üçte biri ile üçte ikisine kadar rezeksiyon gerektirdiğinde, rekonstrüktif seçenekler arasında Abbe veya Estlander prosedürü bulunur. Dudağın üçte ikisinden fazlasının rezeksiyonu gereken tümörler için, rekonstrüktif seçenekler arasında Gilles fan flebi, bilateral ilerletme flepleri, Karapandzik flep veya palmaris longus tendonu ile serbest radyal önkol flebi vardır. Büyük defektler için, bukkal ilerletmeli lateral nazolabial fleplerin kullanıldığı Webster veya Bernard prosedürleri tanımlanmıştır (16, 97). Agresif ve ileri evre lezyonlar için hemimandibulektomi gerekebilir. Tümörün tam eksize edilebilmesi, histopatolojik olarak cerrahi sınır ve boyunun daha iyi değerlendirilmesine olanak sağlaması, hızlı tedavi ve iyileşme imkanı vermesi ve RT yan etkilerinin olmaması RT ile karşılaştırıldığında cerrahinin avantajlarıdır (97).

Cerrahi ile karşılaştırıldığında erken evre T1-T2 tümörlerde RT etkinlikleri benzerdir. Cerrahi kabul etmeyen veya cerrahiye uygun olmayan hastalarda, yüzeysel fakat dudağın 1/3'ten fazlasını tutan tümörlerde ve komissür tutulumunda primer olarak RT tercih edilebilir (97). Dezavantaj olarak mandibulada osteoradyonekroz gelişebilir.

2.9.1.4 Dil Kanseri Tedavi

Dil kanserlerinin primer tedavisi, tek başına veya adjuvan RT veya kemo-RT ile yapılan cerrahi tedavidir. Boyun metastaz insidansı yüksek olduğu için primer lezyon ve boyun tedavisi mutlaka birlikte düşünülmelidir. Dil rezeksiyonu sonrası rekonstrüktif seçenekler büyük ölçüde eksizyon sonrası defektin büyüklüğüne, hastanın genel fonksiyonel durumuna, adjuvan tedavi modalitelerine beklenen

ihtiyaç, konuşma ve çiğneme gibi dilin işlevlerini koruma umutlarına bağlıdır. Dilde oluşan küçük defektler primer olarak kapanabilir. Büyük parsiyel glossektomiler, hemiglossektomiler ve subtotal veya total glossektomiler en ideal olarak lokorejyonel flepler (fasiyal arter myomukozal flep ve submental ada flep), serbest doku flepleri (radiyal önkol flebi, anterolateral uyluk flebi vb.) ile kapatılabilir (91).

CN0 dilin erken evre T1-T2 kanserlerinde gizli nodal metastaz göz önüne alınınca, birçok cerrah erken T evreli dil kanserleri için selektif boyun diseksiyonunu önermektedir (91, 98). END sonrası patolojilerin %20-30 kadarı pozitif çıkmaktadır (16). Byers ve arkadaşları, END yapılan dil karsinomlu hastalarının %15.8'inin seviye III veya IV metastatik hastalık ile başvurduğunu ve bundan dolayı, hastaların bölgesel lenfatiklerinin kontrolü için elektif supraomohyoid boyun diseksiyonunun yetersiz olduğu ve bu durumda IV ile IV seviyelerinin de boyun diseksiyonuna eklenmesi gerektiğini belirtmişler (99).

2.9.1.5 Ağız Tabanı Kanser Tedavisi

Ağız tabanı kanserlerinin, diğer anatomik yapılara yakınlığı, cerrahi erişimdeki sınırlamalar, pozitif cerrahi sınırlar için bir eğilim ve bilateral servikal metastaz riski nedeniyle tedavisi zordur (100). Ağız tabanı karsinomlarının rezeksiyonu, primer tümör çevresinde yeterli bir onkolojik sınır elde etmek için genellikle dil, mandibula, alveoler ark ve sublingual bez gibi bitişik anatomik yapıları içerebilir. Bu nedenlerden dolayı rekonstrüktif seçenekler, tümörün çıkarılmasının yumuşak doku eksizyonu veya kemik dahil daha karmaşık kompozit doku rezeksiyonu gerektirip gerektirmediğine bağlı olarak değişir. Küçük defektler primer kapanabilirken, daha büyük defektler deri flepleri, lokorejyonel flepler ve serbest doku flepleri gerektirebilir (91).

Ağız tabanı tümörleri erken evre tek taraflı primer tümörlerde bile yüksek bilateral servikal lenf nodu metastazı riski taşır (95). Bunda dolayı birçok cerrah hem ağız tabanı hem de orta hat cN0 dil tümörlerinde bilateral SND önermektedir (93).

2.9.1.6 Alveolar Ark Kanseri Tedavisi

Alveolar mukoza alttaki periosta yapışık olduğu için kemik erozyonu veya invazyonu erken dönemde görülebilir. Bu durumda ameliyat öncesi radyografik değerlendirme özellikle BT, tedavi planlamasına önemli ölçüde yardımcı olabilir. Marjinal ve segmental mandibulektomi gibi tedavi seçenekleri, tümörün periost, kortikal veya medüller kemiğe invazyonuna bağlı olarak değişir (16). İntramedüller kemik invazyonu, oral kavite tümörlerini primer tümörün boyutundan bağımsız olarak T4a aşamasına yükselten kritik bir klinikopatolojik faktördür (91). Tümörler periosteuma yaklaştığında, ancak periostu invaze etmediğinde, transoral rezeksiyon ve primer kapanma veya deri greft rekonstrüksiyonu ile mandibular korumalı subperiosteal rezeksiyon mümkündür. Periosteum invaze olup kortikal kemik tutulumu yoksa, marjinal mandibulektomi endikedir. Tümör kemik invazyonu veya dış yuvasından medüller kemiği invaze etmişse segmenter mandibulektomi gerekir (16). Üst alveolar ark tümörleri nadirdir ve tedavileri sert damak kanserleri ile benzer şekilde yapılır.

2.9.1.7 Sert Damak Kanseri Tedavisi

Sert damak ve üst alveolar ark, yakın anatomik ilişkileri ve bu bölgelerden kaynaklanan tümörlerin benzer klinikopatolojik davranışı nedeniyle birlikte tek bir anatomik alt bölge olarak kabul edilebilir (101). Üst alveolar ark ve sert damak tümörleri, gizli nodal metastaz için düşük riskli bölgeler olarak kategorize edilmiştir

ve tümör büyüklüğü veya derinliğine bakılmaksızın cN0 boyunlar için END sıklıkla gerek görülmemiştir. Her ne kadar bazı araştırmacılar T2 veya daha ileri evre tümör için END önermiş olsada, mevcut literatür END'i sadece T3 ve T4 primer tümörleri olan hastalar için desteklemektedir (102, 103).

Sert damaktaki skuamöz hücreli karsinom cerrahi olarak tedavi edilir ve küçük lezyonlar transoral geniş lokal eksizyonla çıkarılabilir. Palatal kemik periosteumun tutulumu kemik damağının bir kısmının çıkarılmasını gerektirir ve daha büyük lezyonlar ve maksiller antrumu içerenler için kısmi veya subtotal maksillektomi gerekir. Major palatin siniri boyunca uzanan maligniteler için, bu sinirin biyopsisi nörotropik yayılmayı tanımlamak için önemlidir. Küçük ve orta büyüklükteki defektler, lokal ilerleme flepleri veya bukkal yağ yastığı flebi yardımıyla rekonstrükte edilebilir. Damaktaki oronazal postreseksiyon fistülleri, konuşma ve yutma rehabilitasyonu için dental protez gerektirebilir. Adjuvan radyasyon, ileri evre tümörler, perinöral invazyon ve pozitif sınırlar için endikedir (16).

2.9.1.8 Retromolar Trigon Kanser Tedavisi

Cerrahi, retromolar trigon (RMT) kanserlerinin tedavisi için kesin yöntem olarak tercih edilmektedir. Mukozanın alttaki madibula ramusuna yakınlığı göz önüne alındığında, erken evre retromolar trigon lezyonlarının cerrahi rezeksiyonu, mandibulanın bir kısmının rezeksiyonunu gerektirebilir. Tedavi seçenekleri arasında L-şeklinde koronal marjinal mandibulektomi, segmental mandibulektomi ve hemimandibulektomi bulunur (16).

Yakın tarihli retrospektif kohort çalışmaları, cN0 RMT karsinomu için %8.3-%63.6 arasında gizli nodal metastaz oranları göstermiştir (104). Buna göre, primer

tümörün DOI'sini kullanan yeni kılavuzların kullanılması ve OCSCC'nin SNB ile evrelendirilmesi, RMT'den kaynaklanan OCSSC'nin bölgesel metastaz yönetimini daha iyi standardize edebilir (91).

2.9.1.9 Bukkal Kanser Tedavisi

Küçük, erken evre bukkal mukozal tümörler genellikle basit lokal rezeksiyona uygundur, ancak daha büyük ileri evre tümörler, muhtemelen yüz cildi, mandibular veya maksiller ark veya orofarinks içeren karmaşık kompozit rezeksiyon gerektirir. Primer kapanma veya bukkal yağ yastığı ilerletme flebi gibi lokal doku flepleri, bukkal mukozanın küçük kusurlarının rekonstrüksiyonu için uygundur. Kompozit veya tam kat defektler, yeterli fonksiyonel ve kozmetik sonuçlar için bölgesel veya serbest doku transferini (Submental ada flebi veya supraklaviküler flep) gerektirir (91). Yapılan bir araştırmada, bukkal kanserlerin gizli metastaz riski %26 olarak belirlenmiş ve N0 boyunlar için supraomohyoid boyun diseksiyonu önerilmiş (105).

2.9.1.10 Radyoterapi

Evre III/IV baş ve boyun kanseri için tek başına cerrahi rezeksiyon sonrası lokorejyonel rekürrens sık görülür. Cerrahi rezeksiyonu takiben, olumsuz patolojik özellikler adjuvan radyoterapi tedavisine duyulan ihtiyacı belirler. Yüksek riskli patolojik özellikler, ektranodal tümör yayılımını ve ilgili cerrahi sınırları içerir. Diğer olumsuz patolojik özellikler arasında T3/T4 tümörleri, perinöral invazyon, lenfovasküler boşluk invazyonu, boyun alt seviyede adenopati (seviye IV) ve tümörle ilişkili çoklu servikal lenf nodları (N2b/N2c) bulunur (106). Oral kavite karsinomu nedeniyle ameliyat edilen hastaların cerrahi sınırlarını inceleyen sistematik bir derlemede, 4 mm veya daha az bir sınır “yakın” olarak kabul edildi

(107). Radyoterapinin oral kavitedeki en sık komplikasyonu kserostomidir. Daha az yaygın ancak daha ciddi bir komplikasyon osteoradionekrozdur.

2.9.1.11 Kemoterapi

Postoperatif kemoradyoterapi, çoklu randomize çalışmalarda yüksek riskli hastalar için postoperatif radyoterapiye kıyasla daha üstün lokorejyonel kontrol, daha iyi progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım sağlar. Bazı çalışmalar postoperatif eşzamanlı kemoradyoterapinin, cerrahi sınırlar ve ektranodal tümör yayılımı olanlar için genel sağkalımı iyileştirdiğini göstermektedir (106). Rezeksiyon büyüklüğünü azaltmak için indüksiyon kemoterapisi önerilmiştir, ancak, bu yaklaşımı destekleyen klinik çalışmalar bulunmamaktadır. İndüksiyon (neoadjuvan) kemoterapi şu anda standart tedavi olarak kabul edilmemektedir ve potansiyel olarak kesin terapötik prosedürü geciktirmektedir (16).

2.9.2 Orofarinks Kanserlerinde Tedavi

Orofarinks kanser evrelemesinde, AJCC Cancer Staging Manual'ın 8.baskısı ile birlikte HPV ilişkisine bağlı olarak meydana gelen değişiklikler, OPSCC tedavisinde de köklü değişiklikler meydana getirmiştir. NCCN klinik uygulama kılavuzunda, OPSCC tedavisi, HPV varlığına veya yokluğunu ve klinik evresine göre değişmiştir. Bizde OPSCC tedavisine bu kılavuz eşliğinde değineceğiz (108).

2.9.2.1 HPV (-) Orofarinks Kanserleri

Mutlaka OPSCC hastaları değerlendirilirken immünohistokimyasal olarak p16 çalışılıp HPV varlığı ortaya konulmalıdır. p16 negatif, T1-2 ve N0-1 tümörler için çeşitli tedavi seçenekleri vardı;

Küratif RT: Tedavi seçeneği olarak küratif RT tercih edersek, hastayı yakın takip edip RT sonrası 3. Ay civarında PET/BT veya MR ile değerlendirir eğer cevap varsa takip ederiz, cevap yoksa cerrahi tedavi uygulayabiliriz.

Cerrahi ± BD: Eğer cerrahi tercih edilirse transoral veya açık cerrahi şeklinde yapılabilir ve cerrahiye boyun diseksiyonu eklenebilir. Cerrahi sonrası patolojide olumsuz bir şey yoksa hasta takibe alınır. Eğer ENE±pozitif cerrahi sınır varsa RT ve KT tedaviye eklenir. Sadece pozitif cerrahi sınır mevcutsa önerilen mümkünse re-rezeksiyondur. Bunun dışında RT ve/veya KT verilebilir.

RT+sistemik tedavi: Sadece T1-2, N1 tümörler için geçerlidir. RT'ye haftalık sisplatin veya karboplatin/paklitaksel eklenebilir. Cevaba göre takip veya cerrahi uygulanabilir.

p16 negatif T3-4a, N0-1 tümörler için tedavi seçenekleri;

Eş zamanlı KT+RT: Hastalara eş zamanlı KT ve RT verilip tedavi yanıtına göre ya takip edilir ya da cerrahi tercih edilir.

Cerrahi+BD: Primer tümör transoral veya açık cerrahi teknik ile eksize edilir ve boyun diseksiyonu yapılır. Patolojide olumsuz bir sonuç yoksa RT tedaviye eklenir. Eğer ENE + ve/veya pozitif cerrahi sınır varsa KRT ve pT3-4 tümör, seviye 4-5 tutulumu, N2-3 nodal hastalık ve perinöral tutulum varlığında RT ya da KRT verilir.

İndüksiyon KT+RT veya KRT: Tümörün tedavisine indüksiyon KT ile başlanıp devamında RT veya KRT verilebilir. Tedavi yanıtına göre takip veya cerrahi uygulanabilir.

p16 negatif herhangi T, N2-3 tümörlerde tedavi seçenekleri;

KRT veya İndüksiyon KT+RT veya KRT: Eş zamanlı olarak KT ve RT ya da indüksiyon KT'yi takiben RT veya KRT verilebilir. Tedavi yanıtına göre cerrahi ve takip etmeye karar verilir.

Cerrahi+BD: Transoral veya açık teknik cerrahi kararı alınan hastalarda, N2a-b ve N3 boyunlarda ipsilateral veya bilateral boyun diseksiyonu cerrahiye eklenir. N2c boyunlarda mutlaka bilateral boyun diseksiyonu yapılmalıdır. Patoloji sonucunda olumsuz özellik yoksa hasta takibe alınır. ENE+ ve/veya pozitif cerrahi sınır varsa KRT tedaviye eklenir. pT3-4 tümör, seviye 4-5 tutulumu, N2-3 nodal hastalık ve perinöral tutulum varlığında RT ya da KRT verilir.

Tüm tedavilere rağmen persiste eden veya nüks eden p16 negatif tümörlerde eğer cerrahi yapılabiliyorsa cerrahi ve RT veya KRT, tümör veya hasta cerrahiye uygun değilse RT veya KRT ile birlikte hastaya destek tedavisi uygulanır.

2.9.2.2 HPV (+) Orofarinks Kanserleri

p16 pozitif cT1-2 ve cN0-1 (tek LAP $\leq$ 3 cm) tümörlerde tedavi seçenekleri;

Küratif RT: Eğer tedavi olarak küratif RT seçilirse 3. Ay civarı PET/BT ve MR ile hasta tedavi yanıtı değerlendirilir. Yanıtın durumuna göre cerrahi veya takip uygulanabilir.

Cerrahi±ipsilateral/bilateral BD: Primer tümörün transoral veya açık cerrahisi planlanıyorsa, ipsilateral veya bilateral boyun diseksiyonu da yapılabilir. Patoloji sonucunda ENE + ve/veya pozitif cerrahi sınır varsa KRT veya RT (kategori 2b) uygulanabilir. Sadece pozitif cerrahi sınır varsa önerilen re-rezeksiyon, eğer mümkün değilse KRT veya RT (kategori 2b) tedaviye eklenebilir. pT3-4 tümör,

seviye 4-5 tutulumu, N2-3 nodal hastalık ve perinöral tutulum varlığında RT (kategori 2b) ya da KRT verilir.

RT+sistemik tedavi: sadece T2 tümörler LAP ≤ 3 cm ise verilir. RT'ye haftalık sisplatin veya karboplatin/paklitaksel eklenebilir. Cevaba göre takip veya cerrahi uygulanabilir.

p16 pozitif cT3-4, cN0-1 (tek LAP ≤ 3 cm) tümörlerde tedavi seçenekleri;

KRT: Hastalara eş zamanlı KT ve RT verilip tedavi yanıtına göre ya takip edilir ya da cerrahi tercih edilir.

Cerrahi+BD: Transoral veya açık teknik cerrahi kararı alınan hastalarda, mutlaka boyun diseksiyonu da yapılmalıdır. Patolojide olumsuz bir sonuç yoksa RT tedaviye eklenir. Eğer ENE + ve/veya pozitif cerrahi sınır varsa KRT ve pT3-4 tümör, seviye 4-5 tutulumu, N2-3 nodal hastalık ve perinöral tutulum varlığında RT ya da KRT verilir.

İndüksiyon KT+RT veya KRT: Tümörün tedavisine indüksiyon KT ile başlanıp devamında tedaviye RT veya KRT eklenebilir. Tedavi yanıtına göre takip veya cerrahi uygulanabilir.

p16 pozitif herhangi bir T, cN1 (tek LAP > 3 cm ya da 2 veya daha fazla ipsilateral ≤ 6 cm), cN2-3 tümörlerde tedavi seçenekleri;

KRT veya İndüksiyon KT+RT veya KRT: Eş zamanlı olarak KT ve RT ya da indüksiyon KT'yi takiben RT veya KRT verilebilir. Tedavi yanıtına göre cerrahi ve takip etmeye karar verilir.

Cerrahi+BD: Transoral veya açık teknik cerrahi kararı alınan hastalarda, tek taraflı cN1-3 boyun tutulumunda cerrahiye boyun diseksiyonu da eklenir. Eğer

bilateral cN2-3 boyun tutulumu varsa bilateral boyun disesksiyonu yapılmalıdır. Patoloji sonucunda olumsuz özellik yoksa hasta takibe alınır. ENE+ ve/veya pozitif cerrahi sınır varsa KRT tedaviye eklenir. pT3-4 tümör, seviye 4-5 tutulumu, N2-3 nodal hastalık ve perinöral tutulum varlığında RT ya da KRT verilir.

Tüm tedavilere rağmen persiste eden veya nüks eden p16 pozitif tümörlerde eğer cerrahi yapılabiliriyorsa cerrahi ve RT veya KRT, tümör için cerrahi mümkün değilse RT veya KRT ile birlikte hastaya destek tedavisi uygulanabilir.

2.10 Oral Kavite ve Orofarinks Kanserlerinde Prognoz

Oral kavite kanserlerinde, lenf nodu metastazı en önemli prognostik faktördür. Metastaz varlığı sağkalımı yarı yarıya düşürmekte ve rekürrens riskini arttırmaktadır (109). Boyun tutulumu olmayan N0 tümörlerde sağkalım oranı %72.2 iken, boyun metastazı olan N+ tümörlerde sağkalım %41'e düşmektedir (110). Ayrıca boyun tutulumunun olduğu bölgede çok önemli olmakla beraber, alt boyun seviyelerinde (seviye IV/V) prognoz daha kötüdür (111). Bir çalışmada invazyon derinliğinin, lenf nodu metastaz oranı ve 5 yıllık sağkalım üzerine etkisi araştırılmış. İnvazyon derinliği 2 mm'den az olan lezyonlar için bölgesel metastaz riski %13 ve 5 yıllık sağkalım %95 olarak saptandı. İnvazyon derinliği 2-9 mm olan lezyonlar için bölgesel metastaz riski %46 ve 5 yıllık sağkalım oranı %85 olarak belirtildi. İnvazyon derinliği 9 mm'den daha fazla arttığında, lenf nodu metastazı riski %65'e yükseldi ve 5 yıllık sağkalım oranı %65'e düştü (65).

Perinöral invazyon, kemik invazyonu ve pozitif cerrahi sınırdaki prognostik etki eden diğer faktörlerdir (112, 113). Memorial Sloan-Kettering Kanseri Merkezi'nde yakın zamanda analiz edilen bir hasta grubundaki 5 yıllık genel sağkalım oranı

%63'tür. Tek tek evrelere baktığımız zaman, evre I için %78.5, evre II için %68.4, evre III için %64.5 ve evre IV için %34.5 sağkalım oranları bildirilmiştir (110).

Orofarinks kanserlerinde TNM evrelemesi, genel performans ve cinsiyet prognoz için önemli faktörlerdir (114). Bu tümörlerde HPV prevalansındaki son artışla birlikte, p16 pozitifliği, primer tedavi yöntemine bakılmaksızın, orofaringeal karsinom için en kritik prognostik faktörlerden biri olarak ortaya çıkmıştır (115). HPV DNA ve p16 durumunun varlığı mükemmel bir korelasyona sahip olmasına rağmen, p16-pozitif hastaların az bir kısmı HPV negatif olabilir. Bununla birlikte, p16 pozitif/HPV negatif OPSCC için sonuçların p16-pozitif/HPV-pozitif tümörlerden önemli ölçüde farklı olmadığı bulunmuştur; bu nedenle, p16 tek başına güvenilir bir risk faktörü olarak kabul edilir (116). Ang ve arkadaşlarının OPSCC hastalarında yaptığı retrospektif bir analizde, p16 pozitifliği, relaps veya ölüm riskinde %58'lik bir azalma ile ilişkilendirilmiştir (117).

2.11 Human Papillomavirüs, Kanser ve Aşı

Human papillomavirüsü (HPV), *Polyomavirüs* ile birlikte, *Papillomaviridae* ailesinde yer almaktadır. Alfa, beta, gamma, mu ve nu cinsleri ile bunların dışında kalan ve hayvan papilloma virüsleri oluşturan yedi cinsi ile birlikte toplam 12 cins bu aile içerisinde yer almaktadır (118). Günümüzde 200'den fazla HPV tipi tanımlanmıştır. Papilloma virüslerin tiplerinin, alt tiplerinin ve varyantlarının taksonomik sınıflandırılmasında ise major viral protein L1 gen bölgesinin homolojisi göz önünde bulundurulmuştur (119). HPV tipleri klinik olarak kanser açısından düşük riskli HPV'ler (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55 ve 62), olası yüksek riskli HPV'ler (26,53 ve 66) ve yüksek riskli HPV'ler (16 başta olmak üzere 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 59, 68, 73 ve 82) olarak üç kategoriye ayrılmaktadır (118).

Papilloma virüsler ikozahedral simetrlili ve zarfsız DNA virüsleri olup, virüsün dış protein kılıfı, majör ve minör olmak üzere iki protein içermektedir. Virüsün genetik bilgisi ise yaklaşık 8.000 baz çifti içeren halkasal, çift zincirli bir DNA molekülünde kodlanmaktadır (119). Bu virüsler fonksiyonel olarak erken bölge (early: E), geç bölge (late: L) ve uzun kontrol bölgesi (long control region: LCR) olmak üzere üç bölgeye ayrılırlar. Erken proteinler E1, E2, E4, E5, E6 ve E7 olup, viral replikasyon ve hücre transformasyonunda rol alır. Geç gen bölgesinde ise L1 ve L2 kodlanmaktadır. L1 geni major kapsid proteini, L2 geni minör kapsid proteinini kodlar. HPV tiplerinin yüksek risk taşıması, tümör supressör proteini p53 ve retinoblastoma (Rb) ile ilişkili olan E6 ve E7 proteinlerine sahip olmasından kaynaklanmaktadır (118). Malign dönüşüm yaygın olarak hücresel proliferasyonu destekleyen ve apoptozu önleyen E6 ve E7 proteinlerinin aktivitesi ile ilişkilidir. E6 proteini, tümör supressör p53 proteininin parçalanmasını uyararak hücre proliferasyonuna teşvik eder. E6 ile aktive edilen parçalanma sonucunda apoptoz gerçekleşmez ve tümör hücre sayısında artış meydana gelir (120). E7 proteini HPV 16 ve HPV 18 gibi yüksek riskli HPV tipleri tarafından kodlanır ve Rb'ye yüksek affiniteyle bağlanır. E7 proteini, bir tümör supressör protein olan Rb'nin fonksiyonunu ortadan kaldırarak tümör hücrelerinin çoğalmasını sağlar (120).

Bazı yazarlar, oral HPV varlığının oral kavite veya orofaringeal kanser için bir risk faktörü olduğunu göstermiştir. Smith ve ark. HPV'nin OCSCC ve OPSCC için alkol ve tütün maruziyetinden bağımsız olarak bir risk faktörü olduğunu bildirmiştir (121). Oral HPV enfeksiyonu erkeklerde kadınlardan en az iki kat daha yaygındır (122). OPSCC'lerin çoğunluğundan sorumlu olan oral HPV 16 enfeksiyonu, ABD nüfusunun %1'inde mevcuttur ve en sık saptanan oral HPV enfeksiyonu türüdür. HPV ile ilişkili orofaringeal yassı epitel hücre kanseri (HPV-

OPSCC), Amerika Birleşik Devletleri'ndeki HNSCC'lerin yaklaşık %30'unu oluşturur (123). Tütün ve sigara kaynaklı HNSCC oranında azalma olmasına rağmen, OPSCC insidansı önemli ölçüde artmıştır. Bunun özellikle son dönemde HPV ilişkili OPSCC insidansındaki %225'lik artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir (124). Özellikle erken yaş cinsel ilişki başlangıcı, oral cinsel ilişki ve birden fazla partner oral HPV enfeksiyonu riskini arttırmaktadır (122).

HPV ile ilişkili baş ve boyun kanserleri en yaygın olarak orofarinksten, özellikle dil kökü ve tonsillerden kaynaklanır (125). OPSCC'de HPV pozitif tümörlerin prevalansı Amerika Birleşik Devletleri'nde %60'ın üzerindedir ve artmaktadır (124). Daha çok erken yaşlarda ve beyaz ırkta daha fazla görülür (123). Baş ve boyun bölgesindeki HPV pozitif tümörlerin HPV negatif olanlara göre daha iyi prognoza sahip olduğunu doğrulanmıştır. Lassen ve arkadaşlarının bir makalesinde, p16 pozitif hastalarda toplam 5 yıllık sağkalım oranı %62 iken, p16 negatif hastalarda 5 yıllık sağkalım %26 olarak bildirilmiş (126).

Şu anda, HPV ile ilişkili hastalıkların önlenmesi için üç aşı geliştirilmiştir. Profilaktik bivalan Cervarix[®] (HPV 16/18), kuadrivalan Gardasil[®] (HPV 6/11/16/18) ve Gardasil 9[®] (HPV 6/11/16/18/31/33/45/52/58) aşıları ciddi yan etkileri olmaksızın HPV enfeksiyonuna karşı yüksek oranda etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir (127, 128). Bu aşılardan temel amacı, enfeksiyonun olduğu bölgede etkin bir immün cevap oluşturarak, oluşabilecek enfeksiyonu ve reenfeksiyonu önlemektir (118). Kuadrivalan aşı, kadınlarda genital siğiller, vajinal intraepitelyal neoplazi, vulvar intraepitelyal neoplazi, in situ adenokarsinoma ve servikal kanseri önlenmesi için üretilmiştir. Kuadrivalan aşıya, Amerikan Gıda ve İlaç Teşkilatı (FDA) 2006 yılında, adölesan dönemden itibaren (9-26 yaş) kullanılması için onay

vermiştir. Bu aşı, 2007 yılı itibariyle ülkemizde de kullanılmaya başlanmıştır. Gardasil 9, 2014 yılında FDA onayı almıştır (128). Bivalan aşı ise özellikle servikal kanser ve prekürsör lezyonları engellemeye yöneliktir ve 2009 yılında FDA onayı almıştır (118). Aşıların, servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) ve infiltratif servikal karsinomlara karşı çok etkili olduğu gösterilmiştir. Ancak HPV ile ilişkili HNSCC'nin önlenmesindeki etkinliği şu anda bilinmemektedir (129) ve gelecekte OPSCC'nin artışını kontrol etmede büyük umut vaat ettiği düşünülmektedir.

2.12 Programlanmış Ölüm Ligandı 1

Programlanmış hücre ölüm reseptörü-1 (PD-1), aktive edilmiş monositler, B hücreleri, T hücreleri, dendritik hücreler ve NK hücreleri üzerinde eksprese edilen immün kontrol noktası reseptörüdür (130). PD-L1 ve PD-L2 olmak üzere PD-1'in iki adet ligandı bulunur. PD-L1 bir tip I transmembran proteinidir (131). T hücreleri, B hücreleri, miyeloid dendritik hücreler (DC) ile akciğer, böbrek, karaciğer, kalp ve plasentadaki doku makrofajlarında çok düşük seviyelerde eksprese edilebilir. PD-L1'in normal dokudaki sınırlı ekspresyonuna rağmen, birçok solid ve hematolojik malignitede hem indüklenebilir hem de yapısal olarak daha çok sayıda eksprese edilir (132). Tümör mikro ortamında tümör ve/veya bağışıklık hücreleri üzerinde eksprese edilen programlanmış ölüm ligandı 1 (PD-L1), tümör infiltrasyonu olan lenfositler üzerinde PD-1 ile etkileşir, efektör T hücresi yanıtlarını hafifletir ve tümörlerin immün yanıtı kaçımasına izin verir (133). PD-1 ve PD-L1 arasındaki etkileşimin antikörlerle bloke edilmesi, kanser hücrelerine karşı bağışıklık yanıtı artırır. PD-1/PD-L1 yolunu hedefleyen immün kontrol noktası inhibitörleri, melanom, renal hücreli karsinom, küçük hücreli akciğer kanseri ve mesane kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde belirgin klinik cevaplara neden olmuştur (134).

Baş ve boyunda tekrarlayan veya metastatik yassı epitel hücreli karsinomu olan hastalar kötü prognoza (6 ay veya daha az ortalama sağkalım) ve az sayıda tedavi seçeneğine sahiptir. Neyse ki, anti-PD-1 ve anti-PD-L1 ajanları baş ve boyun kanseri tedavisinde yeni bir umut olmuştur. Bugüne kadar, üç PD-1 inhibitörü (pembrolizumab, nivolumab, cemiplimab) ve üç PD-L1 inhibitörü (atezolizumab, durvalumab, avelumab) ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır (135). Yapılan bir çalışmada, PD-L1 inhibitörleri, nüks veya metastatik baş ve boyun kanseri hastalarında standart tedavi (RTve/veya KT) ile karşılaştırıldığında genel sağkalımı belirgin uzattığı görülmüş. Human papillomavirüsü pozitif hastalar, PD-1/PD-L1 inhibitörlerinin tedavisinden HPV negatif hastalardan daha fazla fayda görmüş (136).

Bazı çalışmalar, PD-L1 aşırı eksprese eden (PD-L1+) tümörlerin PD-L1 negatif (PD-L1-) tümörlerden daha kötü prognoza sahip olabileceği ve aynı zamanda anti-PD-L1 immünoterapik ajanlarla tedaviye daha duyarlı olabileceğini söylemektedir (137). Şu an HNSCC için sadece PD-L1, klinik uygulamada immünoterapik tedavi seçimini yönlendirmek için kullanılan onaylanmış bir biyobelirteçtir (138). OPSCC hastaları üzerinde yapılan başka bir çalışmada, HPV+ tümörlerde daha yüksek PD-L1 ekspresyonuna rastlanmıştır ve PD-L1 ekspresyonu ile hastalık spesifik mortalite ve genel sağkalım üzerine bir prognostik etkisi bulunamamıştır (139). Başka bir çalışmada, OCSCC hastaları değerlendirilmiş ve PD-L1 ekspresyonu, klinikopatolojik özellikler ve genel sağkalım arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmiştir (140). Görüldüğü üzere PD-L1 ekspresyonunun prognostik açıdan anlamlı olup olmadığı hala bir tartışma konusudur ve bu konuyu netleştirmek açısından daha ileri düzey çalışmalara ihtiyaç vardır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hasta Seçimi ve Yöntem

Araştırmamız, Gazi Üniversitesi Ölçme Değerlendirme Etik Alt Çalışma Grubu'nun 28.05.2019 tarihli 06 toplantı numaralı izni ile Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca 01/2019-46 proje no'lu mevcut çalışmamız, HPV DNA, p16 ve PD-L1 biyomarkerlerinin tespitinde kullanılacak boyama materyalleri için Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir.

Çalışmamıza 2010-2019 yılları arası Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'na başvuran, biyopsi işlemi ve/veya cerrahi tedavisi yapılarak patolojik doku materyali Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından arşivlenmiş, yeterli doku materyali olan, 18 yaş üzerinde ve düzenli takiplerine gelen 73 tane oral kavite ve orofarinks skuamöz hücreli karsinom tanılı hasta dahil edilmiştir. Bu hastalardan 60 tanesi oral kavite, 13 tanesi orofarinks skuamöz hücreli karsinom hastalarıdır. Oral kavite SCC'ler 17 dil, 13 dudak, 9 bukkal, 10 alveolar ark, 5 ağız tabanı, 3 sert damak ve 3 tane retromolar trigon hastalarından oluşmaktadır. Orofarinks SCC'lerde ise 7 tonsil ve 6 dil kökü karsinomlu hasta bulunmaktadır. Skuamöz hücreli karsinom dışı histopatolojiler, 18 yaş altındaki hastalar, patoloji arşivinde yeterli ve/veya hiç doku spesmeni bulunmayan ve takipten çıkmış hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Retrospektif kohort türünde olan çalışmamızda hasta bilgilerine hastane medulla sisteminden ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz

Anabilim Dalı yazılı arşivinden ulaşılmıştır. Hastaların demografik bilgileri, sigara/alkol kullanımları, takip ve nüks süreleri, sağkalım durumu (ex veya hayatta), ameliyat notları, görüntülemeleri, patoloji raporları, TNM evrelemeleri ve tedavi yöntemleri incelenmiş ve kayıt altına alınmıştır. Hastalarımız tedavi olarak sadece cerrahi tedavi, cerrahi + RT ve/veya KT ve yalnızca RT ve/veya KT almıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastaların patoloji arşivindeki parafine gömülü doku blokları yeniden değerlendirme için doku bloklarından 4 mikrometre kalınlığında kesitler hazırlandı. P16 ve PD-L1 tespiti için immünohistokimyasal (IHC), yüksek riskli HPV DNA için kromojen in situ hibridizasyon (CISH) yöntemi ile boyama yapıldı. HPV DNA ve p16 boyanma durumuna göre değerlendirilerek negatif ve pozitif olarak kaydedildi. PD-L1 değerlendirmesi ise tümöral ve immün hücrelerin boyanma yüzdeleri incelendi. Tümöral hücrelerin boyanma yüzdelerine göre değerlendirilerek negatif ve pozitif olarak kaydedildi.

Elde edilen klinik ve patolojik bilgilerin istatistiksel analizi yapıldı. Biyobelirteçlerin durumu, birbirleri arasındaki kolerasyonu, sağkalım esas alınarak belirlenen prognoz üzerine etkileri değerlendirildi.

3.2 İmmünohistokimyasal Boyama

2010-2019 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Bölümü tarafından biyopsisi alınan ve/veya cerrahisi yapılan 73 adet OSCC ve OPSCC hastalarının, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda bulunan ve %10'luk formaldehit içerisinde fikse edilmiş, rutin doku takibi uygulanarak parafine gömülmüş, Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyanmış arşiv

preperatları yeniden incelendi. En uygun doku spesmenleri immünohistokimyasal (IHC) ve kromojen in situ hibridizasyon (CISH) incelemeleri için seçildi.

Seçilen her doku bloğundan 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınmış, p16 ve PD-L1 ekspresyonu belirlemek için IHC boyama prosedürü, yüksek riskli HPV DNA ekspresyon tespiti için CISH prosedürü uygulanmıştır.

- Mouse monoclonal anti-p16 antibody clone E6H4

%10'luk formaldehit ile tespit edilen dokulara ait 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler pozitif şarjlı lambalara alınmıştır. Primer antikor olarak The CINtec® E6H4 p16 clone kullanılmış olup, streptavidin-biyotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak, otomatik immünohistokimya (IHC) boyama yöntemi ile Ventana Benchmark XT kapalı cihazında boyama yapılmıştır. Biyotinlenmiş bağlayıcı (sekonder) antikorun, streptavidin-biyotin kompleksinin ve kromojen olarak kullanılan 3,3'-diaminobenzidinin (DAB) ticari olarak kullanıma hazır kitleri kullanılmıştır.

Pozitif kontrol olarak yüksek dereceli servikal intraepitelyal neoplazi içeren serviks dokusu kullanılmıştır. Uygulanan IHC boyama yönteminin basamakları şöyledir:

1. Pozitif şarjlı lambalara 4 mikrometrelilik kesitler alınmıştır.
2. Ventana cihazına yerleştirilmiştir.
3. Antijen retrieval için p16 EDTA buffer (pH:8.0) içinde 30 dakika bekletilmiştir.
4. Primer antikor inkübasyonu için p16 cihazda 20 dakika bekletilmiştir.

5. Renk vererek görüntüyü sağlaması için “*Ultraview universal DAB detection kit*” kullanılmıştır.
6. Ventana marka hemotoksilen I ile zıt boyama tamamlanmıştır.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanmış, sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutulmuştur.
8. Entellan kullanılarak lamlar kapatılmıştır.

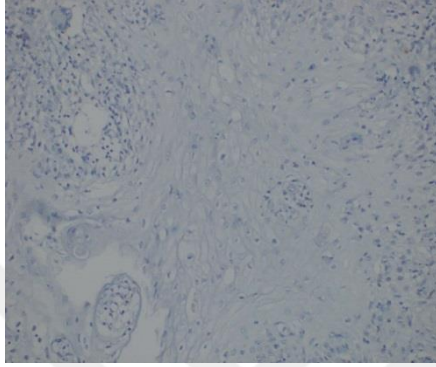
- Rabbit monoclonal anti-PD-L1 clone SP142

%10’luk formaldehit ile tespit edilen dokulara ait 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler pozitif şarjlı lambalara alınmıştır. Primer antikor olarak VENTANA PD-L1 Rabbit monoclonal (SP142) clonu kullanılmış olup, OptiView DAB IHC Detection Kit ile biyotinsiz indirekt yöntemi kullanılarak, otomatik immünohistokimya (IHC) boyama yöntemi ile Ventana Benchmark XT kapalı cihazında boyama yapılmıştır.

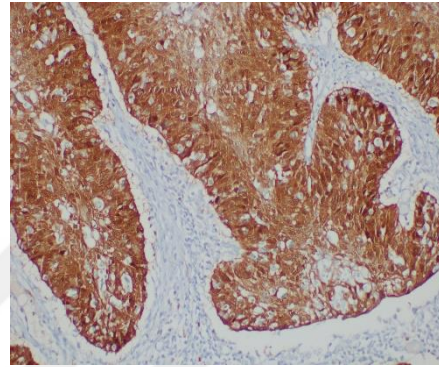
Pozitif kontrol olarak normal tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan IHC boyama yönteminin basamakları şöyledir:

1. Pozitif şarjlı lambalara 4 mikrometrelik kesitler alınmıştır.
2. Ventana cihazına yerleştirilmiştir.
3. Antijen retrieval için PD-L1 EDTA buffer (pH:8.0) içinde 64 dakika bekletilmiştir.
4. Primer antikor inkübasyonu için PD-L1 cihazda 32 dakika bekletilmiştir.
5. Renk vererek görüntüyü sağlaması için “*OptiView DAB detection kit*” kullanılmıştır.
6. Ventana marka hemotoksilen I ile zıt boyama tamamlanmıştır.

7. Lamlar çeşme suyunda yıkanmış, sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutulmuştur.
8. Entellan kullanılarak lamlar kapatılmıştır.
- 9.

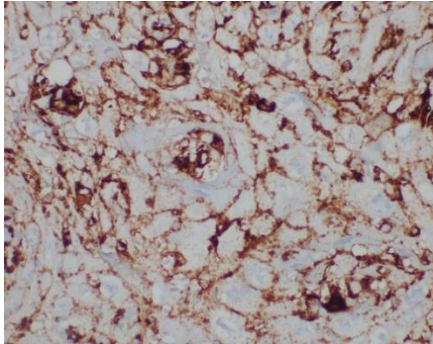


A: tümörde p16 negatifliği

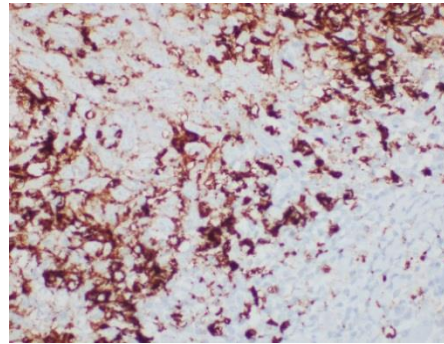


B: tümörde p16 pozitifliği

Şekil 1: p16 İmmünohistokimyasal Boyama



A: PD-L1 tümöral yoğun boyanma



B: PD-L1 immün hücre yoğun boyanma

Şekil 2: PD-L1 İmmünohistokimyasal Boyama

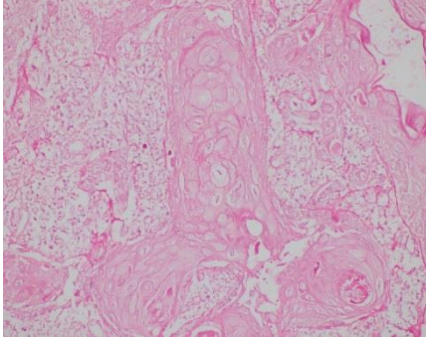
3.3 Kromojen İn Situ Hibridizasyon

- INFORM HPV III Family 16 Probe

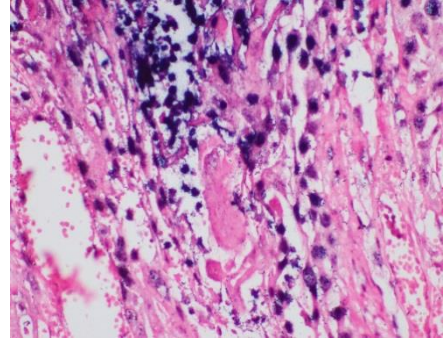
%10'luk formaldehit ile tespit edilen dokulara ait 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler pozitif şarjlı lambalara alınmıştır. INFORM HPV III Family 16 Probe ekspresyonunu belirlemek için, ISH iVIEW Blue Plus Detection Kit ile indirekt streptavidin-biyotin yöntemi kullanılarak, otomatik kromojenik in situ hibridizasyon (CISH) yöntemi ile Ventana Benchmark XT kapalı cihazında boyama yapılmıştır.

Pozitif kontrol olarak HPV ile enfekte serviks dokusu kullanılmıştır. Uygulanan CISH boyama yönteminin basamakları şöyledir:

1. Pozitif şarjlı lambalara 4 mikrometrelilik kesitler alınmıştır.
2. Ventana cihazına yerleştirilmiştir.
3. Antijen retrieval için 1 saat cihazda bekletilmiştir.
4. ISH Proteaz 3 ile 16 dakika inkübasyon yapılmış, INFORM HPV III Family 16 Probe kullanılmıştır.
5. Renk vererek görüntüyü sağlaması için “*ISH iVIEW Blue Plus detection kit*” kullanılmıştır.
6. Ventana marka Red Stain II ile zıt boyama tamamlanmıştır.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanmış, sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutulmuştur.
8. Entellan kullanılarak lamlar kapatılmıştır.



A: tümörde HPV negatifliği



B: tümörde HPV pozitifliği

Şekil 3: HPV kromojen in situ hibridizasyon boyama

3.4 Boyamaların Değerlendirilmesi

Kesitler ışık mikroskopunda (Olympus Bx50), x12,5, x40, x100, x200, x400 (objektif lens x 10x oküler lens) büyütmelerde incelenmiştir.

P16 için nükleer ve/veya sitoplazmik boyanma pozitif veya negatif olarak incelenmiştir. Skuamöz hücrelerden boyanmanın %10'undan azında görülmesi veya hiç boyanmanın olmaması negatif, %10 ile %100 arasındaki boyanma pozitif şeklinde not edilmiştir.

Ekspresyonu membranöz olan PD-L1, tümörü infiltre eden immün hücrelerin kaçta kaçında boyandığına göre yüzde verilmiştir. Sonrasında tümöral hücrelerin kaçta kaçında boyandığına göre yüzde verilmiştir. Boyanma yüzdeleri vaka başına not edilmiştir. PD-L1 pozitifliği tümöral hücre $\geq$ %5 membranöz boyama olması şeklinde tanımlandı. Karşılaştırma yapabilmek için PD-L1 tümöral hücre membranöz boyanması $\geq$ %1 ve PD-L1 immün hücre $\geq$ %5 membranöz boyanma pozitif kabul edilerek ayrıca not edildi.

HPV DNA için kuvvetli nükleer boyanma pozitif veya negatif olarak incelenmiştir. Skuamöz hücrelerden boyanmanın %1'inden azında görülmesi veya hiç boyanmanın olmaması negatif, %1 ile %100 arasındaki boyanma pozitif şeklinde not edilmiştir.

3.5 İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS programı 22.Versiyonu (IBM Corp. Armork NY USA) kullanılarak gerçekleştirildi. Sayısal değişkenler için verilerin normal dağılımı, uyup uymadığı, Shapiro Wilk Testi ve Histogram ile değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler, birim sayısı (n), yüzde (%), ortalama $\pm$ standart sapma ($\bar{x} \pm ss$), en küçük değer, en büyük değer ve persentil değerler olarak verildi. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Fisher Exact Test ve Pearson Ki Kare Testi kullanıldı. Parametrik verilerin karşılaştırılmasında Independent Samples T testi kullanıldı. Nonparametrik verilerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Multivaryant analizi için Binary Logistic Regresyon testi kullanıldı. Sağkalım analizinde Kaplan-Meier (%95 güven aralığı ile) -LogRank (Mantel-Cox) testi kullanıldı. Bağımsız değişkenlerin sağkalıma etkisi Cox Regresyon analizi ile değerlendirildi. Tüm karşılaştırmalarda $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamıza 2010-2019 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'na oral kavite ve orofarinks skuamöz hücreli karsinom nedeniyle başvuran 73 hasta dahil edilmiştir. Hastaların 41'i (%56.2) erkek, 32'si (%43.8) kadın hastaydı. Hastaların yaş dağılımı 27-93 yaş arasındaydı (ortalama 63.89 ± 11.44). Hastaların takip süresi en az 2 en çok 105 aydı (ortalama 37.24 ± 22.4). OCSCC hastalarının takip süresi en az 6 en çok 105 aydı (ortalama 39.7 ± 21.8). OPSCC hastalarının takip süresi en az 2 en çok 88 aydı (ortalama 25.7 ± 22.4). Hastalardan 26 tanesi (%35.6) sigara kullanırken, 47 hastada (%64.4) sigara kullanım öyküsü yoktu. Hastaların 13 tanesinde (%17.8) alkol kullanımı mevcuttu (Tablo 6).

Tablo 6: Hastaların Genel özellikleri

Özellikler		Hasta Sayısı (n)	Yüzde (%)
Cinsiyet	Erkek	41	%52,2
	Kadın	32	%43,8
Yaş	<65 yaş	37	%50,7
	≥65 yaş	36	%49,3
Sigara	Var	26	%35,6
	Yok	47	%64,4
Alkol	Var	13	%17,8
	Yok	60	%82,2

Mevcut hastalık durumu 60 hastada (%82,2) oral kavitede, 13 hastada (%17,8) orofarinkste lokalizeydi (Tablo 7). Hastaların 30 (%41,1) tanesinde sağ taraf, 40 hastada (%54,8) sol taraf ve 3 hastada (%4,1) orta hat tutulumu mevcuttu (tablo 8).

Tablo 7: Hastalık Lokalizasyonu

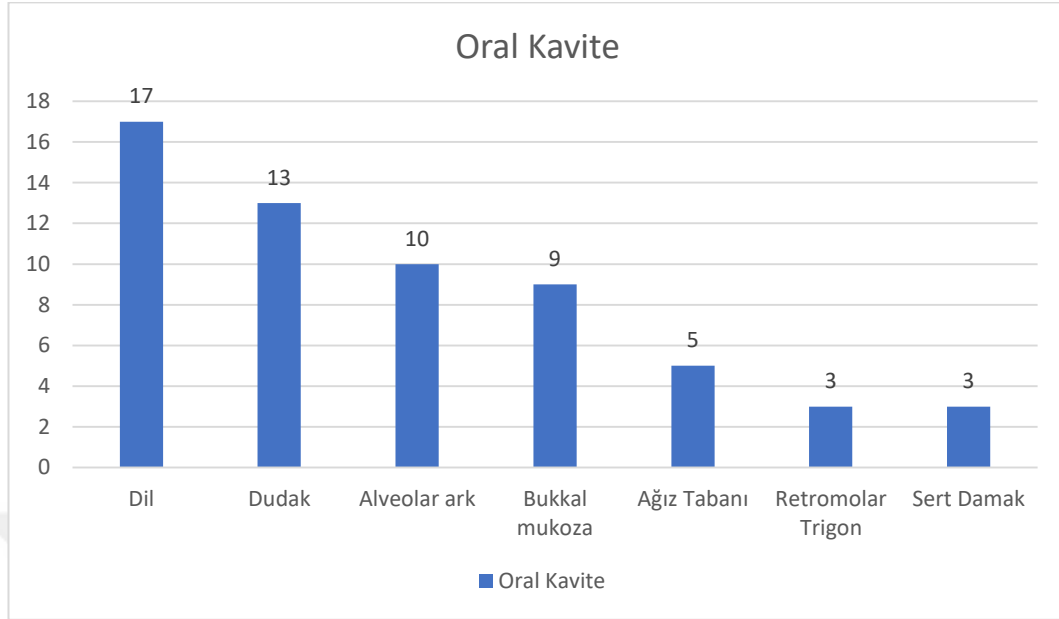
	Sayı (n)	Yüzde (%)	Valid Percent
Valid Oral kavite	60	82,2	82,2
Orofarinks	13	17,8	17,8
Total	73	100,0	100,0

Tablo 8: Hastalık Tarafı

Taraf	Hasta Sayısı (n)	Yüzde (%)
Sağ	30	41,1
Sol	40	54,8
Orta	3	4,1
Toplam	73	100,0

Oral kavite tutulumu olan hastalarda en sık 17 hasta (%23,3) ile dil kanseri, 13 hastada (%17,8) dudak kanseri, 10 hastada (%13,7) alveolar ark kanseri ve 9 hastada (%12,3) bukkal mukoza bölge kanseri şeklinde alt bölge lokalizasyonu mevcuttu (Şekil 4). Tonsiller bölgeyi tutan 7 hasta (%53,84), dil kökünü tutan 6 hasta (%46,16) olmak üzere toplam 13 orofarinks tutulumu mevcuttu.

Şekil 4: Oral Kavite Alt Bölge Lokalizasyonları



Oral kavite kanserlerinde hastaların 31'i (%51.7) erkek, 29 tanesi (%48.3) kadın hastaydı. 31 hasta (%51.7) erken yaş, 29 hasta (%48.3) ileri yaşa sahipti. 21 hasta (%35) sigara kullanırken 39 hastada (%65) sigara kullanım öyküsü yoktu. 12 hastada (%20) alkol tüketimi varken, 38 hastada (%80) alkol tüketim öyküsü yoktu (Tablo 9).

Orofarinks kanserlerinde hastaların 10'u (%77) erkek, 3 tanesi (%23) kadın hastaydı. 6 hasta (%46) erken yaş, 7 hasta (%54) ileri yaşa sahipti. 5 hasta (%38.5) sigara kullanırken 8 hastada (%61.5) sigara kullanım öyküsü yoktu. 1 hastada (%8) alkol tüketimi varken, 12 hastada (%92) alkol tüketim öyküsü yoktu (Tablo 9).

Tablo 9: Oral Kavite ve Orofarinks Kanseri Hastalarının Genel özellikleri

Özellikler		Oral Kavite		Orofarinks		P
		Sayı (n)	Yüzde (%)	Sayı (n)	Yüzde (%)	Değeri
Cinsiyet	Erkek	31	%51.7	10	%77	0.096*
	Kadın	29	%48.3	3	%23	
Yaş	<65 yaş	31	%51.7	6	%46	0.071*
	≥65 yaş	29	%48.3	7	%54	
Sigara	Var	21	%35	5	%38.5	0.081*
	Yok	39	%65	8	%61.5	
Alkol	Var	12	%20	1	%8	0.3*
	Yok	38	%80	12	%92	

*Pearson Ki Kare Testi

Erkek hastaların %48,8’inde sigara ve %29,3’inde alkol kullanımı mevcuttu. Kadın hastalarda %18,8 oranında sigara ve %3,1 oranında alkol kullanımı mevcuttu. Erkek hastalarda kadın hastalara göre anlamlı derecede sigara (p=0,008) ve alkol (p=0,004) kullanımı yüksekti (Tablo 10).

Tablo 10: Cinsiyetler Arası Sigara ve Alkol Kullanımı

	Cinsiyet		Toplam	P Değeri
	Erkek	Kadın		
Sigara	20	6	26	0,008*
	%48,8	%18,8	%35,6	
Alkol	12	1	13	0,004*
	%29,3	%3,1	%17,8	

*Pearson Ki Kare Testi

Hastalarımızdan 26'sı (%35,6) sadece cerrahi, 9 hasta (%12,3) sadece RT/KRT, 36 hasta (%49,3) ise cerrahi+RT/KRT tedavisi almıştır. Bir hasta tedavi reddi nedeniyle, bir hastada tedavisi tamamlanmadan kaybedilmesinden dolayı tedavisiz takip edilmiştir. Çalışmamızda 31 hastaya (%42,5) tek taraflı, 25 hastaya (%34,2) bilateral boyun diseksiyonu yapılmıştır. Yapılan AJCC TNM evrelemesi sonrasında 44 hastada (%60,3) erken (Evre I-II), 29 hastada (%39,7) ileri (Evre III-IV) evre hastalık bulunmaktaydı (Tablo 11).

Tablo 11: Tedavi Yöntemleri ve Evreleme Özellikleri

Özellikler		Hasta Sayısı (n)	Yüzde (%)
Tedavi yöntemleri	Cerrahi	26	%35,6
	RT/KRT	9	%12,3
	Cerrahi+RT/KRT	36	%49,3
	Tedavisiz	2	%2,7
T evrelemesi	T1	23	%31,5
	T2	30	%41,1
	T3	11	%15,1
	T4	9	%12,3
N evrelemesi	N0	50	%68,5
	N1	14	%19,7
	N2	7	%9,6
	N3	2	%2,7
AJCC Evrelemesi	I	24	%32,9
	II	20	%27,4
	III	14	%19,2
	IV	15	%20,5
Erken evre	I-II	44	%60,3
İleri evre	III-IV	19	%39,7

Takipleri sırasında en erken 6. en geç 36. ay (ortalama 13.64 ± 8.04) olmak üzere 14 hastada lokorejyonel nüks gelişti. İlk başvuru sırasında 23 hastada (%31,5) boyun metastazı, 3 hastada (%4,1) uzak organ metastazı vardı. Hastalarımızdan 21 tanesi (%28,8) ex, 52 hasta (%71,2) hayattaydı. Ex hastalardan 6 hasta mevcut maligniteye bağlı, geri kalan 15 hasta malignite dışı diğer nedenlerle kaybedildi (Tablo 12).

Tablo 12: Sağkalım, Nüks ve Metastaz Özellikleri

Özellikler		Hasta Sayısı (n)	Yüzde (%)
Sağkalım	<i>Hayatta</i>	52	%71,2
	<i>Ex</i>	21	%28,8
Nüks	<i>Var</i>	14	%19,1
	<i>Yok</i>	59	%80,9
Boyun metastazı	<i>Var</i>	23	%31,5
	<i>Yok</i>	50	%68,5
Uzak metastaz	<i>Var</i>	3	%4,1
	<i>Yok</i>	70	%95,9

Çalışmaya dahil edilen 45 hastada (%61,6) p16 pozitif, 28 hastada (%38,4) p16 ekspresyonu negatifti. Oral kavite kanseri hastalarından 36 tanesinde (%60) p16 pozitif, 24 tanesinde (%40) p16 ekspresyonu negatif izlendi. Oropharinks kanseri hastalarından 9 hastada (%69,2) p16 pozitif, 4 hastada (%30,8) p16 ekspresyonu negatifti (Tablo 13). Oral kavite ve orofarink arasında p16 ekspresyonu açısından anlamlı fark yoktu ($P=0.535$).

Tablo 13: Oral Kavite ve Orofariks Arasında p16 Ekspresyon Karşılaştırılması

P16	Oral kavite	Orofariks	Total	P Değeri
Pozitif (n)	36	9	45	0.535*
(%)	%60	%69,2	%61,6	
Negatif (n)	24	4	28	
(%)	%40	%30,8	%38,4	
Toplam	60	13	73	

**Pearson Ki Kare Testi*

Yapılan multivaryant analizinde, cinsiyet, yaş dağılımı (<65->65), tümör lokalizasyonu (OC-OF), sigara, alkol ve evre (erken-ileri) arasından p16 pozitifliğini en iyi öngören değişken cinsiyetti (Odds Ratio (OR), 3.79; %95 Confidence İnterval (CI), 1.159-12.45: p=0.028). Cinsiyetler arası p16 ekspresyonlarına baktığımızda (Tablo 14) istatistiksel olarak anlamlı derecede kadınlarda erkeklere göre daha fazla oranda p16 pozitifliği vardı (p=0.038).

Tablo 14: Cinsiyetler Arası p16 Ekspresyonu

P16	Cinsiyet		Total	P Değeri
	Erkek (n:41)	Kadın (n:32)		
Pozitif (n)	21	24	45	0.038*
(%)	%51,2	%75	%61,6	
Negatif (n)	20	8	28	
(%)	%48,8	%25	%38,4	

**Pearson Ki Kare Testi*

P16 pozitif hastaların yaş ortalaması 62.8 (ortalama 62.8 ± 9.08), p16 negatif hastaların yaş ortalaması 65.6'ydı (ortalama 65.6 ± 14.4). Yaş ortalamaları arasında anlamlı bir ilişki yoktu (p=0.305).

Erken yaş (<65) 24 hastada (%64,9) p16 pozitif, 13 hastada (%35,1) negatifti. İleri yaş (>65) 21 hastada (%58,3) pozitif, 15 hastada (%41,7) negatifti. Yaş dağılımları ve p16 arasında anlamlı bir ilişki yoktu (p=0.566).

Yirmi üç hastada (%31,5) boyun metastazı (n+) bulunurken, sadece 3 hastada (%4,1) uzak organ metastazı bulunmaktaydı. P16 negatif ve pozitif gruplar karşılaştırıldığında boyun metastazı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0.67). Uzak organ metastazı (m+) açısından istatistiksel bir fark vardı ama anlamlı değildi (p=0.053) (Tablo 15).

Tablo 15: P16 Ekspresyonu, Boyun ve Uzak Metastaz Arasındaki İlişki

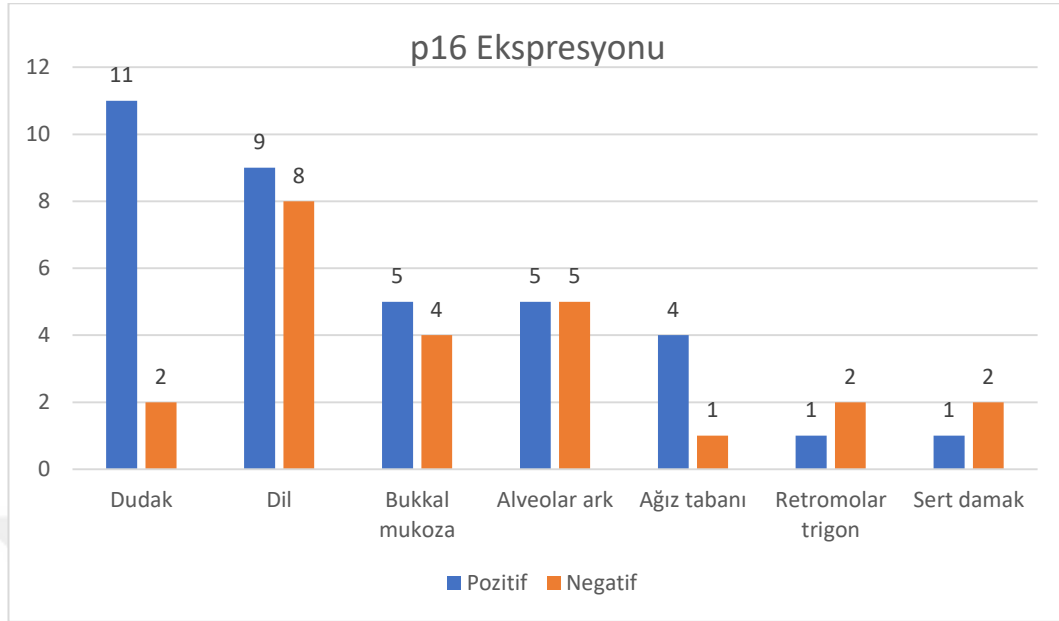
		P16		Total	P Değeri
		Pozitif	Negatif		
Boyun metastazı (N+)	Var (n)	15	8	23	0.67*
	(%)	%65,2	%34,8	%31,5	
	Yok (n)	30	20	50	
	(%)	%60	%40	%68,5	
Uzak metastaz (M+)	Var (n)	0	3	3	0.053**
	(%)	0	%100	%4,1	
	Yok (n)	45	25	70	
	(%)	%64,3	%35,7	%95,9	

*Pearson Ki Kare Testi

**Fisher Exact Testi

Oral kavite alt bölgelerine göre dudak karsinomlu 11 hastada, oral dil karsinomlu 9 hastada, bukkal mukoza karsinomu ve alveolar ark karsinomu olan 5'er hastada p16 pozitif (Şekil 5). Oral kavite alt bölge lokalizasyonlarına göre p16 ekspresyonu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (P=0.346).

Şekil 5: Oral Kavite Alt Bölge Lokalizasyonu ve p16 Ekspresyonu



Erken evre hastalıkta 28 hastada p16 pozitifken, ileri evre hastalıkta 17 hastada p16 pozitif (Tablo 16). Evre ve p16 ekspresyonu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($P=0.66$).

Tablo 16: p16 Ekspresyonu ve Erken/ileri Evre İlişkisi

Evre	P16 pozitif	P16 negatif	Total	P Değeri
Erken evre	28	16	44	0.66*
	%63,6	%36,4	%60,3	
İleri evre	17	12	29	
	%58,6	%41,4	%39,7	

*Pearson Ki Kare Testi

İn situ hibridizasyon ile yapılan HPV DNA boyama sonrası 12 hastada (%16,4) HPV DNA pozitif, 61 hastada (%83,6) HPV DNA negatif olarak sonuçlandı. Oral kavite karsinomlu 9 hastada (%15) HPV DNA pozitif, 51 hastada (%85) HPV DNA

negatifti. Orofarinks skuamöz hücreli karsinomlu sadece 3 hasta (%23,1) HPV DNA pozitifken, 10 hastada (%76,9) HPV DNA negatif olarak sonuçlandı (Tablo 17). Oral kavite ve orofarinks skuamöz hücreli karsinom arasından HPV DNA boyanması açısından anlamlı bir fark yoktu ($P=0.47$).

Tablo 17: Oral kavite ve Orofarinks Arasında HPV DNA Karşılaştırılması

HPV DNA	Oral kavite	Orofarinks	Total	P Değeri
				0.47*
Pozitif	9	3	12	
	%15	%23,1	%16,4	
Negatif	51	10	61	
	%85	%76,9	%83,6	
Toplam	60	13	73	

*Pearson Ki Kare Testi

Spearman's Rho korelasyon testi ile yapılan analizde HPV DNA ve p16 ekspresyonları arasında anlamlı bir korelasyon yoktu ($R:0.3$, $P=0.8$). Sadece 7 hastada p16 pozitif/HPV DNA pozitifken, 38 hastada p16 pozitif/HPV DNA negatifti (Tablo 18).

Tablo 18: p16 ve HPV DNA İlişkisi

		p16		Total
		pozitif	negatif	
HPV.DNA	pozitif	7	5	12
	negatif	38	23	61
Total		45	28	73

HPV tespitinde p16 ekspresyonunu altın standart boyama kabul ettiğimizde HPV DNA'nın sensitivitesi %15,56 (%95 GA %6,49-%29,46) ve spesifitesi %82,14 (%95 GA %63,11-%93,94) olarak saptandı. Pozitif prediktif değer %58,33 (%95 GA %32,97-%79,94), negatif prediktif değer %37,7 (%95 GA %32,84-%42,83) olarak tespit edildi. Yani OCSCC ve OPSCC'de HPV enfeksiyon tespitinde HPV DNA bulgularımıza göre yeterince etkili bir yöntem değildi. Bu nedenle HPV pozitif ve negatifliği p16 ekspresyonuna göre belirlendi.

Ekspresyonu membranöz olan PD-L1, boyanan tümöral hücre (TH) ve immün hücre (IH) yüzdeleri not edildi (Tablo 19).

Tablo 19: PD-L1 Boyanma Yüzdeleri

Boyanma Yüzdeleri	<%1	≥%1-<%5	≥%5-<%50	>%50
PD-L1 Tümöral Hüc.	38 (%52,05)	13 (%17,8)	13 (%17,8)	9 (%12,32)
PD-L1 İmmün Hüc.	4 (%5,47)	24 (%32,87)	44 (%60,27)	1 (%1,35)

Tümör hücreleri PD-L1 ekspresyon yüzdeleri, oral kavite kanserlerinde ortalama %22.16 (ortalama 22.16 ± 25.6), orofarinks kanserinde ortalama %4'tü (ortalama 4 ± 5.19). İmmün hücreleri PD-L1 ekspresyon yüzdeleri, oral kavite kanserlerinde ortalama %12.3 (ortalama 12.3 ± 11.67), orofarinks kanserinde ortalama %10.18'di (ortalama 10.18 ± 14.47). Tümör hücre ve immün hücre PD-L1 ekspresyon yüzdeleri açısından oral kavite ve orofarinks kanserleri arasında anlamlı bir fark yoktu (TH p=0.18, IH p=0.08).

Tümör hücreleri PD-L1 ekspresyon yüzdeleri, p16 pozitif kanserlerde ortalama %16.36 (ortalama 16.36 ± 23.27), p16 negatif kanserlerde ortalama %28.25'ti (ortalama 28.25 ± 27.22). İmmün hücreleri PD-L1 ekspresyon yüzdeleri, p16 pozitif kanserlerde ortalama %13.95 (ortalama 13.95 ± 13.28), p16 negatif kanserlerde ortalama %8.9'du (ortalama 8.9 ± 9.3). Tümör hücre ve immün hücre PD-L1 ekspresyon yüzdeleri açısından p16 pozitif ve negatif kanserler arasında anlamlı bir fark yoktu (TH $p=0.14$, IH $p=0.36$).

PD-L1 değerlendirilmesi tümöral hücre boyanmalarına göre yapıldı. Eşik değer (cut off) %1 ve %5 alınarak pozitif ve negatif olarak ayrı ayrı kategorize edildi. İstatistiksel analizler, eşik değer (cut off) %5 alınarak ($<\%5$ negatif ve $\geq\%5$ pozitif) değerlendirme yapıldı. Hastalardan 52 tanesinde (%71,23) PD-L1 negatif, 21 hastada (%28,77) PD-L1 pozitif. Her iki eşik değeri (%1 ve %5) ayrı ayrı incelendiğinde genel sağkalım ile anlamlı bir ilişkileri yoktu ($p=0.921$ ve $p=0.686$) (Tablo 20).

Tablo 20: Eşik Değerlerine Göre TH PD-L1 Ekspresyonu ve Sağkalım

		Eşik Değer %1	Eşik Değer %5
PD-L1	Negatif	39 (%53,42)	52(%71,23)
	Pozitif	34 (%46,58)	21(%28,77)
Genel Sağkalım	P Değeri	0.686	0.921

Tümör lokalizyonu (oral kavite-orofarinks) ile PD-L1 arasında anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0.064$). Oral kavitede PD-L1 tümör hücre ekspresyonu 40 hastada (%66,67) negatif, 20 hastada (%33,3) pozitif. Orofarinkste 12 hastada (%92,3)

negatif, 1 hastada (%7,7) pozitif. Oral kavite kanseri ve PD-L1 tümör hücre ekspresyonları ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki yoktu (sırasıyla $p=0.94$, $p=0.7$). Orofarinks kanseri ve PD-L1 tümör hücre ekspresyonları ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki yoktu (sırasıyla $p=0.40$, $p=0.40$) (Tablo 21).

Tablo 21: Lokalizasyona Göre TH PD-L1 Ekspresyonları ve Sağkalım Analizi

		PD-L1		Genel Sağkalım (P)	Hastalıksız Sağkalım (P)
		Negatif (<%5)	Pozitif (≥%5)		
Oral Kavite	(n)	40	20	0.948	0.70
	(%)	66,67	33,3		
Orofarinks	(n)	12	1	0.40	0.40
	(%)	92,3	7,7		

Oral kavite alt bölge lokalizasyonları ile PD-L1 ekspresyonu arasında da anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0.092$).

Hastalardan 33 erkek hastada (%80,5) PD-L1 negatif, 8 hastada (%19,5) pozitif. Kadınlardan 19 hastada (%59,4) PD-L1 negatif, 13 hastada (%40,6) pozitif. PD-L1 ve yaş, cinsiyet, sigara, alkol, tümör lokalizasyonu (OC ve OF) korelasyonları karşılaştırıldığında sadece cinsiyet ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttu ($P=0.048$).

Ayrıca PD-L1 immün hücre (IH) ekspresyonunu değerlendirdiğimizde, %38,4 hastada negatif (<%5), %61,6 hastada pozitif (≥%5). Genel sağkalım ($p=0.43$) ve hastalıksız sağkalım ($p=0.39$) ile anlamlı ilişki yoktu. Oral kavitede PD-L1 immün hücre 21 hastada (%35) negatif, 39 hastada (%65) pozitif. Orofarinkste 7

hastada (%53,84) negatif, 6 hastada (%46,16) pozitif. Oral kavite kanseri ve PD-L1 immün hücre ekspresyonları arasında hem genel sağkalım hem de hastalıksız sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu (sırasıyla $p=0.46$, $p=0.49$). Oropharyngeal kanseri ve PD-L1 immün hücre ekspresyonları arasında hem genel sağkalım hem de hastalıksız sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu (sırasıyla $p=0.5$, $p=0.5$) (Tablo 22).

Tablo 22: PD-L1 İmmün Hücre Ekspresyonları ve Sağkalım Analizi

		PD-L1		Genel Sağkalım (P)	Hastalıksız Sağkalım (P)
		Negatif (<5%)	Pozitif (≥5%)		
Genel	(n)	28	45	0.43	0.39
	(%)	38,4	61,6		
Oral Kavite	(n)	21	39	0.46	0.49
	(%)	35	65		
Oropharyngeal	(n)	7	6	0.50	0.50
	(%)	53,84	46,16		

PD-L1 TH ve IH aralarında negatif korelasyon gösterdi ($R=0.501$ $p<0.0001$). Oral kavitede PD-L1 tümöral ve immün hücre ekspresyonları istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon gösterdi ($R=0.519$ $p<0.0001$). Fakat orofaryngealde anlamlı bir korelasyon yoktu ($R=0.312$ $p=0.3$).

P16 ve PD-L1 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ($p=0.62$) ve korelasyon ($R: 0.059$) yoktu (Tablo 23).

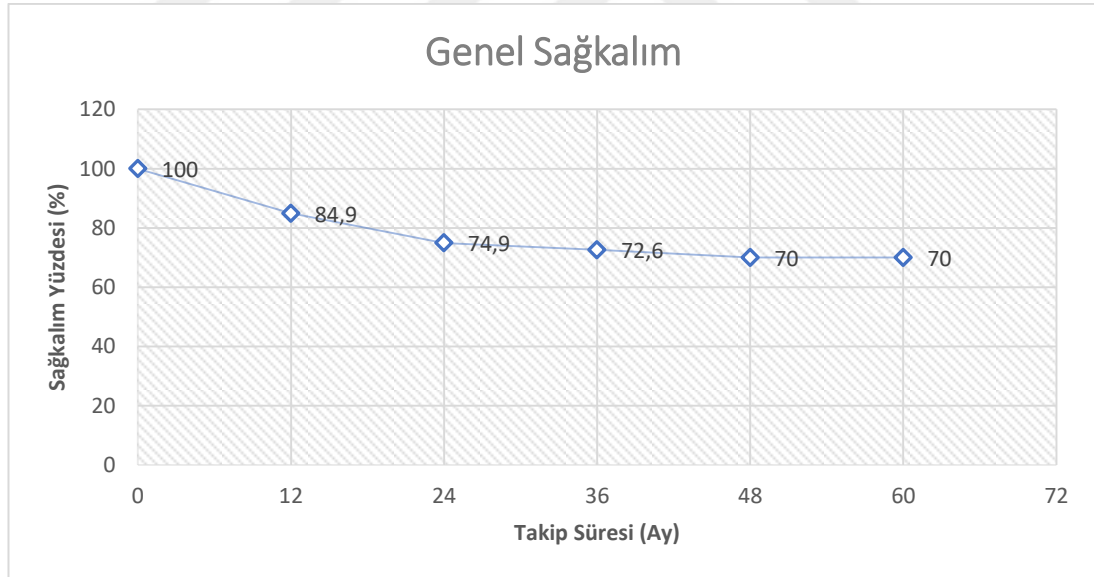
Tablo 23: P16 ve PD-L1 İlişkisi

P16			PD-L1		Toplam
			Pozitif	Negatif	
P16	Pozitif	Sayı (n)	12	33	45
		Yüzde (%)	%26,7	%73,3	%61,6
	Negatif	Sayı (n)	9	19	28
		Yüzde (%)	%32,1	%67,9	%38,4

(P=0.62 R:0.059)

Hastaların genel sağkalımını değerlendirdiğimizde 1.yılda %84.9, 2. Yılda %74.9, 3. yılda %72.6 ve 4. yılda %70'di (Şekil 6).

Şekil 6: Genel Sağkalım



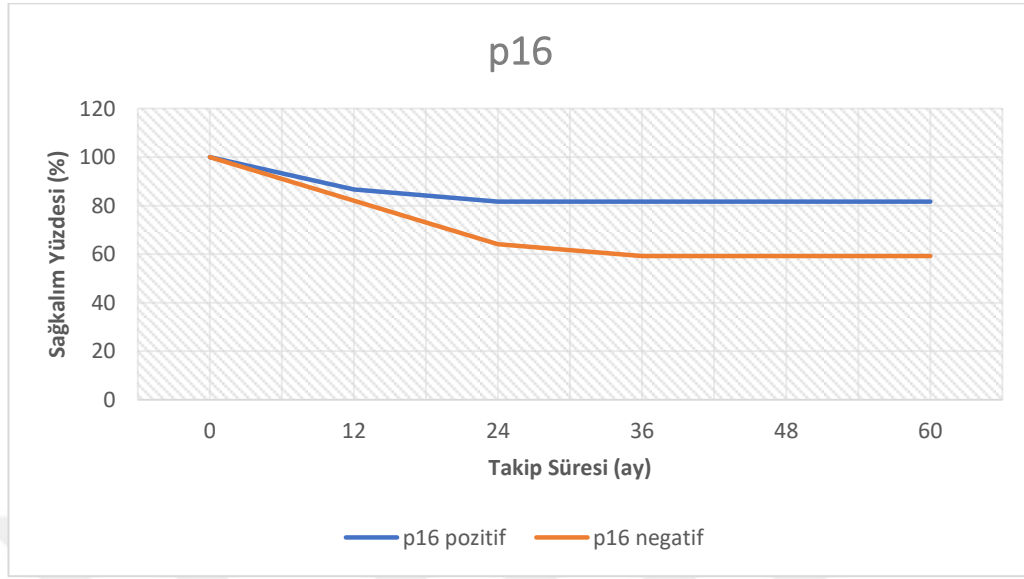
Sağkalım analizleri oral kavite ve orofarinks kanserleri için ayrı ayrı da değerlendirilmiştir. Oral kavite kanserlerinde genel sağkalım 1.yılda %88, 2. Yılda %78, 3. yılda %75 ve 4. yılda %72'di. Hastalısız sağkalım ise 1.yılda %80, 2.yılda %70, 3.yılda %65'di. Orofarinks kanserlerinde genel sağkalım ve hastalısız sağkalım 1.yılda %69, 2.yılda %61 olarak saptandı.

Klinikopatolojik özelliklerden yaş ($p=0.249$), cinsiyet ($p=0.569$) ve lokalizasyon (OC-OF) ($p=0.169$) ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki yoktu. Erken yaş (<65) ve oral kavitede sağkalım daha iyiydi ama anlamlı değildi. Evre ($p<0.0001$), uzak metastaz ($p<0.0001$), lokorejyonel nüks ($p=0.002$) ve boyun metastazı ($p=0.004$) ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı. 3 yıllık sağkalım lokorejyonel nüksü olan hastalarda %32'ydi. Erken evre hastalarda 3 yıllık sağkalım %86 iken, ileri evre hastalarda %46 olarak saptandı. Boyun metastazı olmayanlarda 2 yıllık sağkalım %85, olanlarda %51'di. Uzak metastazı olan 3 hastanın 1. yılda sağkalımı %33'dü. 13. ayda uzak metastazı olan hastaların hepsi ex olmuştu.

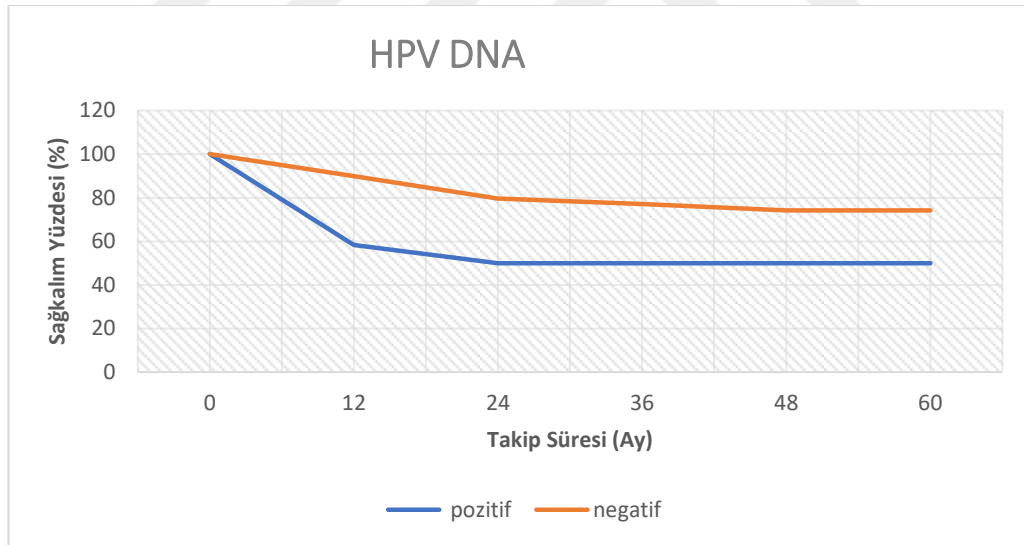
Genel sağkalım ile p16 arasında anlamlı bir ilişki vardı ($p=0.039$). P16 pozitif olan hastalarda 3 yıllık genel sağkalım %81, negatif hastalarda %59 olarak saptandı. (Şekil 7). Genel sağkalım ve HPV DNA'yı karşılaştırdığımızda anlamlı bir genel sağkalım ilişkisi vardı ($p=0.019$). HPV DNA negatif olan hastaların sağkalımı daha iyiydi ve 3 yıllık genel sağkalım %77'ydi. HPV pozitif hastalarda 3 yıllık genel sağkalım %50'ydi (Şekil 8).

P16 pozitif/HPV DNA pozitif olan hasta grubu ($n:7$) ile genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı ($p=0.014$) ve genel sağkalım daha iyiydi.

Şekil 7: p16 Genel sağkalım ilişkisi

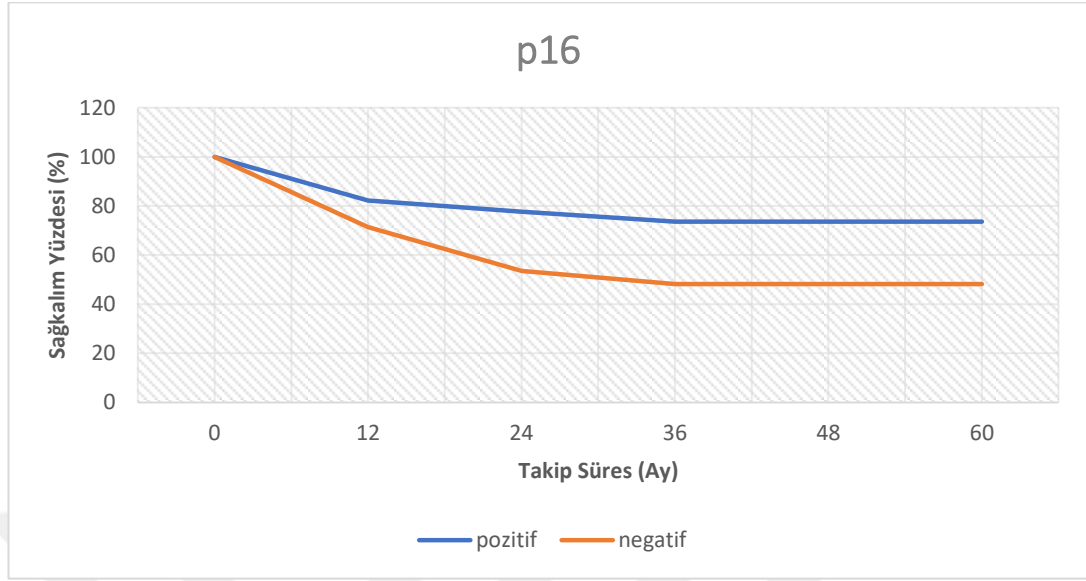


Şekil 8: HPV DNA Genel Sağkalım ilişkisi



Takip edilen tüm hastaların p16 ve hastalıksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki vardı ($p=0.039$) ve p16 pozitif olanlarda 3 yıllık hastalıksız sağkalım %73, p16 negatif olanlarda %48'di (Şekil 9). Fakat p16 ile hastalık spesifik sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0.139$).

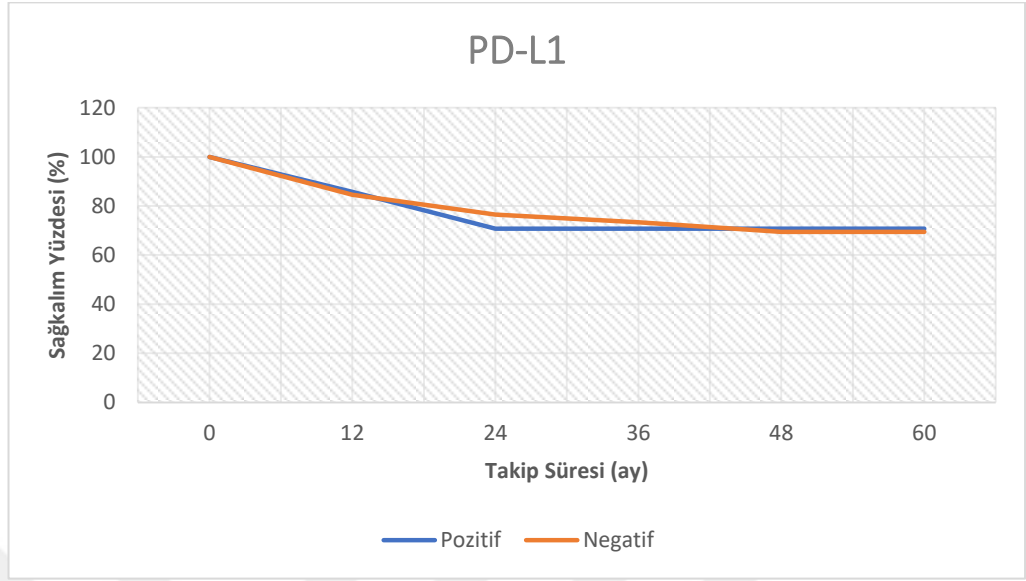
Şekil 9: p16 Hastalıksız Sağkalım İlişkisi



Oral kavitede, p16 ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı ve p16 pozitif hastalarda sağkalım daha iyiydi (sırasıyla $p=0.022$, $p=0.025$). P16 pozitif hastalarda 3 yıllık genel sağkalım %85, hastalıksız sağkalım %76'ydı. P16 negatif hastalarda 3 yıllık genel sağkalım %61, hastalıksız sağkalım %48'di. Fakat orofarinks hastalarında p16 ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0.805$).

Genel sağkalım ve PD-L1 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0.921$) (Şekil 10). PD-L1 pozitif hastalarda 3 yıllık genel sağkalım %70, negatif hastalarda %73'tü. PD-L1 ile hastalıksız sağkalım ve hastalık spesifik sağkalım arasında da anlamlı bir ilişki yoktu (sırasıyla $p=0.624$, $p=0.264$). PD-L1 pozitif hastalarda 3 yıllık hastalıksız sağkalım %61, negatif hastalarda %64'tü.

Şekil 10: PD-L1 Genel Sağkalım



Oral kavite kanseri, PD-L1 ve genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0.948$). Oral kavite kanseri PD-L1 negatif hastalarda 3 yıllık sağkalım %76, pozitif hastalarda %74'tü. Orofarinks kanserinde, PD-L1 ve genel sağkalım arasında anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0.406$).

P16 pozitif/PD-L1 pozitif olan hasta grubunda ($n:12$) genel sağkalım daha iyiydi. Fakat genel sağkalım ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0.13$).

Genel sağkalımı etkileyen bağımsız faktörlerin prognostik değerini belirlemek için Cox Regresyon analizi yapıldı. İleri evre (Hazard Ratio (HR), 0.198; %95 Confidence İnterval (CI), 0.057-0.687; $p=0.011$) genel sağkalım için kötü prognozla ilişkili bağımsız faktördü. Fakat HPV 16 ve PD-L1 bağımsız olarak genel sağkalımı etkilemedi (Tablo 24).

Tablo 24: Klinik Özelliklerin Sağkalım Üzerinde Bağımsız Prognostik Değeri

Klinik özellikler	HR (%95 CI)	P Değeri
Cinsiyet (erkek ve kadın)	1.337 (0.364-4.911)	0.662
Yaş (<65 ve ≥65)	0.597 (0.219-1,623)	0.312
Sigara (var ve yok)	2.36 (0.881-6.325)	0.088
Alkol (var ve yok)	0.705 (0.201-2.473)	0.585
Lokalizasyon (OC ve OF)	1.029 (0.266-3.985)	0.967
HPV p16 (Pozitif ve negatif)	0.42 (0.144-1.231)	0.114
PD-L1 (Pozitif ve negatif)	0.634 (0.206-1.954)	0.428
Boyun metastazı (var ve yok)	0.519 (0.138-1.946)	0.330
Uzak metastaz (var ve yok)	1.628 (0.290-9.126)	0.580
Evre (erken ve ileri)	0.198 (0.057-0.687)	0.011

HR: Hazard Ratio, CI: Confidence Interval

5. TARTIŞMA

Baş boyun kanserleri dünyada en sık görülen 6. malignitedir. Bunların %90'ını skuamöz hücreli karsinom oluşturmaktadır. (141). Ülkemizde yapılan bir çalışmada oral kavite kanserli hastalarda %84.3 oranında histopatolojik olarak skuamöz hücreli karsinom tespit edilmiş (59). Sigara ve alkol kullanımı HNSCC için sinerjistik etki gösterebilen en önemli risk faktörleridir. Bu faktörlere bağlı gelişen tümörler son birkaç dekatta %50 oranında bir azalma göstermiştir (37). Bu azalmaya rağmen özellikle OPSCC başta olmak üzere genç popülasyonda (<60 yaş), erkek ve beyaz ırkta insidans artışı mevcuttur. Eş zamanlı olarak sağkalımda iyileşmiştir. Artan insidans ve hayatta kalma eğiliminin HPV kaynaklı OPSCC'lerden kaynaklandığı varsayılmaktadır (34).

HPV ilişkili oral tümörler, sigara ve alkol tüketimi gibi geleneksel risk faktörleriyle ilişkili olan baş ve boyun tümörlerinden farklı bir klinik durumdur ve en son baş ve boyun kanseri evreleme kılavuzlarına da girmiştir. Orofaringeal karsinomlarda p16 ekspresyon durumuna göre evreleme yeniden düzenlenmiştir (142).

İlk olarak 1983 yılında HPV'nin oral SCC için etiyolojik bir faktör olarak tümör olasılığını artırdığı bildirilmiştir (143). Gillison ve ark. polimeraz zincir reaksiyonu bazlı analizler ve in situ hibridizasyon kullanarak, orofaringeal kanserli 253 hastanın %25'inde HPV'yi tespit edebildiler ve HPV'nin alkol ve sigara ile ters bir ilişkide olduğunu, HPV ile ilişkili hastalarda hastalığa özgü sağkalımın iyileştiğini bildirdiler (144).

Özellikle gelişmiş ülkelerde, HPV ile ilişkili orofaringeal kanser insidansında son zamanlarda meydana gelen dramatik artış, ortaya çıkan bir kanser salgınıyla ilgili

endişeleri artırmıştır. İlginç bir şekilde, orofaringeal ve oral kanserlerde yüksek riskli HPV DNA prevalansının coğrafi bölgeye göre değiştiği görülmektedir. OPSCC için, yaygınlığın Kuzey Amerika'da en yüksek (yaklaşık %60), Asya, Okyanusya ve Avrupa'da (yaklaşık %36 ila %45), Güney ve Orta Amerika'da en düşük (yaklaşık %15) olduğu rapor edilmiştir (35). Buna karşılık, OCSCC için, yüksek riskli HPV DNA prevalansının Asya'da en yüksek (HPV-16 için %25) olduğu bildirilmiştir (36). Amerika Birleşik Devletleri'nde 1984-2004 yılları arasında HPV pozitif OPSCC prevalansında %225 oranında artış bildirilmiştir (34). Hong ve arkadaşları, son yirmi yılda HPV pozitif OPSCC yüzdesinde üç kattan fazla artış olduğunu (%63) bildirmişlerdir (145).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda Kanyılmaz ve ark HNSCC'li hastalarda %44 oranında HPV tespit ederken, Tural ve ark OPSCC hastalarında %52 oranında HPV tespit ettiklerini bildirdiler (146, 147). Başka bir çalışmada, 1996-2003 yılları ile 2004-2011 yılları arasındaki OPSCC hastalarında HPV pozitiflik oranında anlamlı bir artış olduğunu bildirdiler (%38'e karşı %64 $p=0.012$) (148). Bozdayı ve ark. larinks ve hipofarinks kanserli hastalarda %41.5 oranında HPV 16 tespit etmişler (149). Bizim çalışmamızda da %61 gibi batılı ülkelere benzer oranda HPV pozitifliği saptadık.

Toplumda değişen cinsel davranışların HPV ile ilişkili HNSCC insidansının artmasına katkıda bulunduğu varsayılmaktadır. HPV ile ilişkili tümörü olan hastaların, genç yaşta cinsel hayata başlama, oral seks ve artan sayıda oral seks partneri, artan sayıda yaşam boyu cinsel partnere sahip oldukları bulunmuştur (38). Emmett ve ark. cinsel davranışlar ile HPV prevalansı arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında, oral seks ($P=0.0007$) ve yaşam boyu artan oral seks partnerlerine

sahip olmanın ($P=0.0015$), hem HPV DNA hem de p16 pozitif olan bir tümöre sahip olmakla anlamlı derecede ilişkili olduğunu bulmuşlardır (150).

Karsinogeneizde en sık rastlanılan yüksek riskli HPV 16 ve 18 alt tipleridir. OCSCC'de tahmini HPV16 alt tipi prevalansı %14,9 iken OPSCC'de %40,6'dır. Öte yandan, HPV18 alt tipi için tahminler OCSCC'de %5,9 ve OPSCC'de %0,2'dir (151). Genel olarak bakacak olursak, oral kavite ve orofarinksin yüksek riskli HPV enfeksiyonu için erkek cinsiyet, beyaz ırk, 40 yaşından büyük ancak 60 yaşından küçük olmak, oral seks ve artan sayıda yaşam boyu seks partnerine sahip olmak en önemli risk göstergeleridir (152).

Bizim çalışmamızda, multivaryant analizde p16 pozitifliğini en iyi öngören değişken cinsiyetti ($P=0.026$). Fakat literatürden farklı olarak anlamlı derecede kadınlarda (%75) erkeklere (%51,2) göre daha fazla oranda p16 pozitifliği vardı ($p=0.038$) (153). Ayrıca yaş dağılımı olarak 65 yaş altı ve üzeri hastalarımızda benzer oranda p16 ekspresyonu vardı (<65 yaş %64, >65 yaş %58). Literatürden farklı olarak yaş ile p16 arasında anlamlı bir ilişki yoktu ($p=0.566$) (152). OCSCC'de %60 p16 pozitifliği varken, bu oran OPSCC'de %69'du. Oropharyngeal kanserinde daha yüksek oranda p16 pozitifliği görülmesine rağmen aralarında anlamlı fark çıkmadı ($p=0.535$). Oral kavite alt bölge lokalizasyonlarına göre de p16 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0.346$).

Viral E6 ve E7 mRNA genlerinin tespiti HPV enfeksiyonunun onkojenik olduğunu düşündürür. Bu genlerin konakçı hücre DNA'sına entegrasyonu sonucunda onkoproteinler üretilir (154). P16 tümör baskılayıcı gen ürününün sikline bağlı kinazlar 4 ve 6 ile bağlanması, D-tipi siklinlerle etkileşimini bloke eder, retinoblastom (Rb) genini E2F transkripsiyon faktörünü bağlayan hipofosforile bir durumda tutar ve hücre döngüsü ilerlemesini önler. E6 onkoproteini p53 tümör

baskılayıcı proteinini bozar, E7 ise retinoblastom (Rb) tümör baskılayıcı proteinini inaktive eder. Rb inaktive edildikten sonra, S faz ilerlemesi ile ilgili genlerin transkripsiyonunu güçlendiren E2F'yi serbest bırakır ve HPV ile enfekte tümör hücrelerinde sitoplazmik ve nükleer p16 aşırı ifadenmesine yol açar. Ayrıca E6 ve E7 telomerazın anormal ekspresyonunu sağlar, böylece hücrelerin replikasyon kapasitesini sınırlar ve ölümsüzleşmeye yol açar (155, 156). Bu şekilde HPV onkojenik etki göstermiş olur.

Malign hastalık durumunda HPV varlığını belirlemek için çeşitli tespit yöntemleri olmasına rağmen onaylanmış ve evrensel olarak kabul edilmiş bir tespit yöntemi yoktur. Bu yöntemler HPV DNA, viral E6 ve/veya E7 mRNA'nın transkripsiyonu, viral onkoproteinler E6 ve E7 veya p16 proteininin aşırı ekspresyonunu tespit etmeyi hedefler. E6 ve E7 viral onkoproteinlerinin transkripsiyonel aktivasyonunun belirlenmesi genellikle klinik olarak anlamlı HPV'nin altın standart yöntemi olarak kabul edilir (157).

HPV tespiti için en iyi yöntemin ne olduğu hala tartışmalıdır. Yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile HPV DNA-RNA tespiti, in situ hibridizasyon (ISH) ile HPV DNA-RNA ve immünohistokimya (IHC) ile p16 tespiti bulunur. Sıkça önerilen bir strateji, yüksek riskli HPV için p16 IHC ve ardından ISH'nin bir kombinasyonunun kullanılmasıdır (158).

Richard C. ve ark. 249 OPSCC hastası üzerinde yaptığı araştırmada, hastaların %70,2'sinde (%95 GA 64.3-76.1) p16 IHC-pozitif, %60,9'unda (%95 CI 54.6-67.1) HPV16 DNA ISH pozitif bulmuşlar. PCR altın standart kabul edildiğinde P16 IHC %96,6 ile yüksek duyarlılık ve %72,1 ile nispeten daha düşük bir özgüllüğe sahip olduğunu, HPV 16 DNA ISH'ın %93,2 ve %92 ile yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu bildirmişlerdir (159).

Schlecht F. ve ark. HNSCC'de PCR altın standart kabul ederek p16 ve ISH'ı karşılaştırmışlar. P16 IHC duyarlılığı %52 (%95 CI %32-%71), özgüllüğü %93 (%95 CI %84-%98) olarak, HPV DNA ISH duyarlılığını %59 (%95 CI %39-%78), özgüllüğünü %58 (%95 CI %45-%71) olarak tespit etmişler. Bu çalışmada özellikle HPV DNA ISH duyarlılığı ve özgüllüğü düşük olarak bildirilmiştir (160).

Bazı araştırmacılar p16 IHC'nin HPV'den bağımsız bir prognostik faktör olabileceğini bildirmişlerdir. Lewis ve ark p16 pozitif olan hastaları, a-HPV DNA ISH pozitif, b- HPV DNA ISH negatif ve c- HPV DNA ISH ve PCR negatif olarak üç farklı gruba ayırmışlardır. Her üç grup içinde genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım anlamlı olarak p16 negatif hastalara göre daha iyiymiş ($p<0.05$). Sadece p16 IHC testinin, tümörlerin tedavi sınıflandırması için yeterli olduğunu ve HPV'ye özgü testlerin gereksiz olabileceğini bildirmişlerdir (161).

Literatürde tek başına p16 IHC veya HPV DNA ISH'nin, tümörlerin yaklaşık %17-19'unun yanlış sınıflandırılmasına neden olabileceği, her test için çoğunlukla sırasıyla yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabileceği bildirilmiştir. Klinik araştırma uygunluğu için kullanılırsa, tek başına p16 IHC testi, HPV ile ilişkili kanserin gerçek tanısı olmadan hastaların kaydını kolaylaştıracaktır (159).

Çeşitli çalışmalarda HPV pozitif tümörlerde görülen, RB1 gen kaybı benzeri sonuçlar ortaya çıkaran p16 ekspresyonu ile ilgili benzer mutasyonlar HPV negatif tümörlerde de görülebileceği, bu yüzden p16'nın HPV ile ilişkili tümörlere spesifik olmadığı, HPV negatif tümörlerde de %5-%8 oranında p16 ekspresyonu meydana gelebileceği bildirilmiş (162, 163). Yanısıra OPSCC'de, HPV'nin bir göstergesi olarak p16 için gerçek pozitiflik oranının yüksek ve çok iyi bir prognostik biyobelirteç olduğu bildirilmiştir (159, 164).

Bizim çalışmamızda p16 yüksek oranda pozitifken (45 hasta %61,6) HPV DNA ISH düşük pozitiflik (12 hasta %16,4) gösterdi. HPV DNA ISH ve p16 ekspresyonları arasında anlamlı bir korelasyon yoktu ($R:0.3$, $P=0.8$). HPV DNA ISH duyarlılık %15,56 (%95 GA %6,49-%29,46) ve özgüllüğü %82,14 (%95 GA %63,11-%93,94)'di. Pozitif prediktif değer (PPD) %58,33 (%95 GA %32,97-%79,94), negatif prediktif değer (NPD) %37,7 (%95 GA %32,84-%42,83) olarak tespit edildi. Literatüre göre bakıldığında HPV DNA ISH'ın özellikle duyarlılık olmak üzere, PPD ve NPD belirgin düşük çıkmıştır (159).

Baş boyun kanserlerinde HPV enfeksiyonu belirlenirken en sık p16 pozitif/HPV DNA ISH negatif olmak üzere yaklaşık %15 oranında uyumsuz test sonucu olduğu bildirilmiştir. Bu sonucun yüksek duyarlılığa ve düşük özgüllüğe sahip p16 IHC'nin, tip 16 dışındaki HPV tiplerini tespitine bağlı olduğu düşünülmektedir (164, 165). Bizim çalışmamızda da yüksek miktarda (38 hasta) p16 pozitif/ HPV DNA ISH negatif şeklinde uyumsuz test sonucu olan hasta grubu vardı. Bu uyumsuzluğun p16'nın yüksek riskli onkojenik HPV özgüllüğünün düşük olmasına (yanlış pozitifliğe) ve ISH'nın HPV duyarlılığının düşük olmasına (yanlış negatifliğe) bağlıyoruz.

Baş boyun tümörlerinde HPV araştırmasında kullanılan altın standart test, HPV DNA veya RNA'yı tespit etmek için tasarlanmış PCR bazlı yöntemlerdir (160). Miller ve ark. HPV DNA tespiti için sadece ISH ve PCR ile birlikte ISH yöntemini kullanmışlar. ISH ile hiç HPV DNA tespit edemezken PCR-ISH kombinasyonu ile %66,7 oranında HPV DNA tespit etmişler. PCR-ISH'ın anlamlı derece ($p<0.0001$) HPV DNA tespitinde duyarlı olduğunu belirtmişler (153).

Ukpo ve ark. 211 OPSCC hastasında %78,1 HPV RNA ISH, %79 p16 ve %62,4 HPV DNA ISH pozitifliği tespit ettiler. RNA ve p16 arasında (%96,4), DNA

ve p16 ya göre (%78,7) daha yüksek bir uyum olduğunu, RNA ISH'ın OPSCC'de HPV'nin saptanmasında DNA ISH'den daha duyarlı ve p16 ile güçlü bir korelasyon gösterdiğini bildirdiler (166).

Başka bir çalışmada tek değişkenli analizde, RNA ve DNA ISH ile p16 daha iyi genel sağkalım (OS), hastalığa özgü sağkalım (DSS) ve hastalıksız sağkalım (DFS) ile koreleydi (tümü $P < 0.001$). Çok değişkenli analizde OS, RNA ISH (HR=0.39, $P=0.001$), DNA ISH (HR=0.53, $P=0.03$) ve p16 (HR=0.30, $P < 0.001$) ile önemli ölçüde ilişkiliydi, ancak DSS ve DFS sadece p16 ile ilişkiliydi (DSS: 0.36, $P=0.006$; DFS: 0.42, $P=0.016$) (166).

Günümüzde artık HPV pozitif tümörlerde HPV negatif tümörlere göre sağkalımın ve tedaviye verilen cevabın daha iyi olduğu bilinmektedir (11, 115-117). Bizim çalışmamızda da HPV pozitif hastalarda negatif hastalara göre anlamlı olarak genel sağkalım ($p=0.039$) ve hastalıksız sağkalım ($p=0.039$) daha iyiydi. Fakat hastalık spesifik sağkalım ile HPV arasında ilişki yoktu ($p=0.139$).

Hastaların HPV DNA ISH sonuçları ile genel sağkalım arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki vardı ($p=0.019$). Fakat literatürle uyumlu olmayacak şekilde HPV DNA ISH negatif olan hastaların sağkalımı daha iyiydi. Bunu ISH'ın duyarlılığı düşük bir HPV tespit yöntemi olmasına ve hasta sayımızın yeterli düzeyde yüksek olmamasına bağlıyoruz.

Belirgin bir primer tümör yokluğunda boyun metastazı olan hastalar için, lenf nodu metastazlarının HPV değerlendirmesi, orofarinks kaynaklı primerin yerini tespit etmek için etkili bir stratejidir. Begum S. ve ark. 77 primeri bilinmeyen metastatik SCC'li hastanın ince iğne aspirasyon spesmenlerini incelemişler. Orofarinks karsinomlu 19 hastanın 10 tanesinde (%53) HPV 16 tespit ederken, diğer bölge metastazlarının hiçbirinde HPV saptamamışlar (%53'e %0; $P < 0.0001$) (165).

Tümörler potansiyel olarak immünojenik olduğundan kanser ve bağışıklık sistemi temel olarak ilişkilidir. Tümör mikroçevresindeki kanser hücreleri ve konakçı immün hücreler arasındaki etkileşimler, tümör büyümesini destekleyen ve tümörü immün ataktan koruyan bir immünosüpresif ağ oluşturur (167).

Tümör immünolojisinde en önemli hücreler olan CD8+ T lenfositleri, tümör hücrelerini tanıyarak ve öldürerek bir anti-tümör etkisi gösterirler. Bu nedenle HNSCC'de CD8+ T hücrelerinin pozitif prognostik rolünün altı çizilmektedir (168). CD8+ T hücrelerinin anti-tümör etkileri, tümör ve bağışıklık hücreleri üzerinde bulunan PD-L1 transmembran proteinleri tarafından inhibe edilmektedir. PD-L1'in aşırı ekspresyonu, bağışıklık hücrelerinin yüzeyinde ifade edilen bir bağışıklık kontrol noktası olan programlanmış ölüm proteini 1 (PD-1) ile etkileşime girerek T hücresi anerjisini ve apoptozunu indükleyebilir (169).

Genel olarak PD-L1, tümör infiltrate lenfositler (TIL) ve tümör hücreleri arasındaki dinamik ilişkiyi düzenlemede bir immün checkpoint olarak hizmet eder. Özofagus kanseri, renal hücreli karsinom ve akciğer adenokarsinomunda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile prognoz arasında güçlü bir korelasyon gözlenmiştir (170-172). Bu da PD-L1'in bize HNSCC'de sağkalım açısından potansiyel bir prognostik rolü olabileceğini düşündürmüştür.

Hastalarda PD-L1 ekspresyonunu tanımlarken, üzerinde hala uzlaşa sağlanmamış iki önemli faktör karşımıza çıkmaktadır; birincisi PD-L1 ekspresyon skorlaması yaparken eşik değerinin kaç alınması gerektiği, ikincisi immün hücre ekspresyon oranlarının değerlendirmeye dahil edilip edilmeyeceğidir.

İmmünohistokimyasal olarak PD-L1 ekspresyonunu skorlamak için onaylanmış ve evrensel olarak kabul görmüş bir eşik değeri yoktur. Literatür gözden

geçirildiğinde %1'den %50'e kadar çeşitli kabul görmüş değerler mevcuttur (11, 173-175).

Biz çalışmamızda PD-L1 pozitif ve negatifliğini değerlendirirken eşik değeri %5 olarak kabul ettik. Hastaların %28,77 tanesinde PD-L1 pozitif. Eğer eşik değeri %1 olarak alsaydık %46,58 hastada PD-L1 pozitif olacaktı. Literatürde bu farklı eşik değerlerinin PD-L1'in prognostik veya prediktif bir biyobelirteç olarak değerlendirilmesinde etkili olabileceği belirtilmiştir (175). Fakat çalışmamızda %1 ve %5 eşik değerleri ile yapılan analizde, her iki değerde de sağkalım açısından anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Tümörlerde PD-L1 değerlendirmesini karmaşıktırان diğer bir faktör, PD-L1 pozitifliğinin sadece tümör hücrelerindeki (TH) ekspresyonu ile tanımlanıp tanımlanmayacağı veya tümör mikroçevresindeki immün hücrelerindeki (IH) PD-L1 ekspresyonunun da pozitif kabul edilip edilmeyeceğidir.

Daha önceki çalışmaların çoğu sadece tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunu değerlendirmiştir, ancak literatürdeki güncel çalışmalar tümör mikroçevresindeki immün hücre ekspresyonlarının aynı derecede ya da daha önemli olarak kabul etmiştir (173, 174). Farklı klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde immün hücre ekspresyonlarının dahil edilip edilmemesi konusunda büyük bir tutarsızlık mevcuttur.

Biz çalışmamızda tümöral ve immün hücre ekspresyon yüzdelerini ayrı ayrı not ettik. Fakat hem tümör hücre hem de immün hücre PD-L1 ekspresyonları ile sağkalım arasında prognostik açıdan anlamlı bir ilişki tespit edemedik ($p>0.05$).

Ferris ve ark. sadece tümör hücre ekspresyonlarını değerlendirirken (176), Seiwert ve ark. tümör ve immün hücre ekspresyonlarını ortak bir skor olarak

değerlendirmiştir (177). Chow ve ark. ise “tümör hücre” ve “tümör + immün hücre” ekspresyonlarını ayrı ayrı değerlendirmiştir (173).

Melanom ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) için pembrolizumab çalışmalarında, tümör hücrelerinde yüksek PD-L1 pozitifliğinin tümör yanıtı ve sağkalım ile güçlü korelasyon gösterdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (178, 179).

Kim ve ark. hem tümöral hem immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonunu değerlendirdiği çalışmasında, tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonu ile genel sağkalım ($p=0.317$) ve hastalıksız sağkalım ($p=0.206$) arasında anlamlı bir ilişki olmadığını, immün hücrelerdeki PD-L1 değerlendirmesi ile hastalıksız sağkalım ($p=0.005$) ve genel sağkalım ($p=0.003$) arasında anlamlı bir ilişki ve PD-L1 pozitif hastalarda sağkalımın daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. PD-L1 ekspresyonunun uygun bir prognostik biyobelirteç olduğunu, değerlendirilmesinin tümöral hücreler ile değil immün hücreler ile yapılması gerektiğini belirtmişler (174).

Bizim çalışmamızda tümör ve immün hücre PD-L1 ekspresyonları arasında negatif bir korelasyon mevcuttu. TH PD-L1 ekspresyonunda yüksek oranda ($n:52$ %71,2) negatif hasta sayısı varken, IH PD-L1 ekspresyonunda daha çok ($n:45$ %61,6) pozitif hasta tespit ettik. Özellikle OCSCC hastaları tümör ve immün hücre ekspresyonları konusunda istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon gösterdi ($R=0.519$ $p<0.001$).

Hem TH PD-L1 hem de IH PD-L1 ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalımı değerlendirdiğimizde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamadık ($p>0.05$).

Başka bir çalışmada ise PD-L1 ekspresyon analizleri sadece tümör hücreleriyle sınırlı olduğunda, PD-L1 pozitif ve negatif tümörlü hastalar için genel yanıt hızında (ORR) istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamıştır ($p=0.348$). Fakat

immün hücreleri skorlama sistemine dahil edildiğinde, pozitif ve negatif hastalar için ORR’de istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendiği bildirilmiş ($p=0.021$)(173). Literatür verileri göz önüne alındığında, PD-L1 değerlendirilirken tümör hücre ekspresyonunun ve immün hücre ekspresyonunun ayrı ayrı değerlendirilmesi ve kaydedilmesi önerilmektedir (173-175) .

Lin Y. ve ark. OCSCC hastalarında PD-L1 ekspresyonunu değerlendirdikleri bir çalışmada, PD-L1 düzeyinin klinikopatolojik özelliklerden sadece cinsiyet ($p:0.0062$) ve uzak metastaz ($p:0,0103$) ile istatistiksel olarak anlamlı olduğunu, PD-L1 düzeyinin (HR:1.209 %95 CI 0.890-1.643 $P:0.2254$) genel sağkalım ile anlamlı derecede ilişkili olmadığını bildirdiler (167). Aynı çalışmada yüksek PD-L1 ekspresyonu olan hastaların klinik sonuçlarının kötü olduğunu ve prognozlarını iyileştirmek için PD-L1 hedefli immünoterapi gerektirebileceği belirtmişlerdir (167).

Bizim çalışmamızda PD-L1 ve klinikopatolojik özelliklerden yaş, cinsiyet, sigara, alkol, tümör lokalizasyonu (OC ve OF), OC alt lokalizasyonları değerlendirildiğinde sadece cinsiyet ($p=0.048$) ile anlamlı bir ilişki vardı. Kadın hastalarda (%40,6) erkek hastalara (%19,5) göre daha yüksek oranda PD-L1 pozitifliği. Genel sağkalım ($p=0.921$), hastalıksız sağkalım ($p=0.624$) ve hastalık spesifik sağkalım ($p=0.264$) ile PD-L1 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu.

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar PD-L1 ekspresyonunda dinamik değişiklikler olabileceğini düşündürmektedir. Kakavand ve ark kemoterapi rejimlerinden bağımsız olarak, başlangıçta PD-L1 pozitifliği olan tümörler hastalık ilerlemesinde PD-L1 ekspresyonunda anlamlı bir azalma gösterirken, başlangıçta PD-L1 negatifliği olan tümörler, hastalığın ilerlemesinde PD-L1 ekspresyonunda önemli bir artış gösterdiğini bildirmişler (180).

Güncel literatür, PD-1: PD-L1 yolunun HPV-HNSCC patogeneziyle yüksek oranda ilişkili olduğunu düşündürmektedir (181, 182). Bununla birlikte, PD-L1'in HPV-pozitif HNSCC'de HPV-negatif HNSCC ile karşılaştırıldığında daha büyük bir rol oynayıp oynamadığı belirsizdir. Çalışmamızda HPV ve PD-L1 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ($p=0.62$) ve korelasyon ($R: 0.059$) saptamadık.

OPSCC hastaları üzerinde yapılan bir değerlendirmede, p16 ve PD-L1 arasında anlamlı bir ilişki ve korelasyon olmadığı ($p=0.274$), PD-L1 pozitif ve negatif hastalar arasında genel ve hastalıksız sağkalımda, p16 negatif ve pozitif hastalarda PD-L1 durumuna göre genel ve hastalıksız sağkalımda anlamlı bir fark görülmediği şeklinde bizim çalışmamız ile benzer sonuçlar bildirdiler (11).

Başka bir çalışmada PD-L1'in p16'dan bağımsız bir prognostik faktör olduğunu belirttiler. PD-L1 ekspresyonu yüksek olanlarda daha iyi genel sağkalım olduğunu, en iyi sağkalımın p16 pozitif/PD-L1 pozitif grupta ($p<0.001$) tespit edildiğini bildirdiler (183). Birtalan ve ark HPV negatif HNSCC'de ve laringeal skuamöz hücreli karsinomda PD-L1 ekspresyonunun daha iyi sağkalımla ilişkili olduğunu, hipofarinks tümörlerinde PD-L1'nin prognostik bir rolü olmadığını bildirdiler (184).

Wang ve ark PD-L1 ekspresyonunun prognostik önemine ilişkin bir meta-analizde, solid tümörlü hastalarda PD-L1 aşırı ekspresyonu ile daha kötü genel sağkalım arasında bir korelasyon olduğunu düşünse de, bu korelasyonun tümör tipine göre farklılık gösterdiğini bildirdi (185).

PD-L1 ekspresyonu, anti-PD-1 veya anti-PD-L1 terapilerinin etkinliğini tahmin etmek açısından en çok çalışılan biyobelirteçtir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, tümörlerde PD-L1 ekspresyonunun, immün kontrol noktası inhibitörü antikorlarının (nivolumab, pembrolizumab vb.) etkinliğinin artması ile korelasyon

gösterdiği, PD-L1 ekspresyonu yüksek olan hastalarda immünoterapi ajanlarına yanıtın daha yüksek olduğu bildirilmiştir (173, 176, 186).

Değişik eşik değerlere sahip farklı çalışmalara göre aşırı PD-L1 ekspresyonu olan hastalar, immünoterapik tedaviye daha güçlü yanıtlar verme eğilimindedir. Örneğin, yüksek PD-L1 eksprese eden melanomlu hastalar, anti-PD-1 antikor tedavisine % 44-51 oranında yanıt verirken, PD-L1 negatif melanom hastaları %6-17 yanıt oranına sahiptir (187, 188). Diğer bir hasta grubu, küçük hücre dışı akciğer karsinomlu (KHDAK) yüksek PD-L1 eksprese eden hastalar, anti-PD-1 antikor tedavisine % 67-100 oranında yanıt verirken, PD-L1 negatif KHDAK hastaları %0-15 yanıt oranına sahiptir (188, 189).

Rekürren veya metastatik nazofaringeal karsinomlarda yapılan çalışmalarda PD-L1 pozitif tümörleri olan hastaların büyük çoğunluğunda pembrolizumaba karşı yanıt oluşmadığı, başka bir çalışmada ise yüksek PD-L1 ekspresyonu gösteren hastaların nivolumabdan fayda görebileceği bildirilmiş (190, 191). Ferris ve ark rekürren ve metastatik baş boyun skuamöz hücreli karsinom hastalarında nivolumab tedavisinin PD-L1 pozitif ve negatif hasta grubunda benzer yanıt oluşturduğunu bildirmiştir (192). Literatürdeki bu farklı görüşler nedeniyle immünoterapi tedavisi alan HNSCC hastalarında PD-L1'in prediktif rolünün daha fazla araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Kanser tedavisinde yeni bir gelecek vaadeden immünoterapi konusunda şu anda en fazla veri melanom ve KHDAK'de olmak üzere, HNSCC hastalarında da son yıllarda ciddi gelişmeler mevcuttur. Bizimde çalışmamızda yüksek PD-L1 ekspresyonu gösteren hastalarımız vardır. Bu hastaların immünoterapi adayı olabileceğini düşünmekteyiz.

Genel olarak literatürle benzer bir şekilde HPV pozitif hastalarımız daha iyi bir prognoz ve yüksek sağkalım oranları gösterdi. PD-L1 ekspresyonu sağkalım açısından iyi bir prognostik ve prediktif biyobelirteç değildi ve HPV durumu ile anlamlı bir ilişki ve korelasyon göstermedi. Çalışmamızın bazı kısıtlamaları vardı. Yeterli tümöral doku olmadığı için 6 hastayı çalışma dışı bıraktık. Özellikle orofarinks olmak üzere hasta sayımız azdı. Çalışmamız 2010-2019 yılları arasındaki hastaları içerdiğinden dolayı, çalışmaya dahil edilen bazı hastalarımızın tanıları yakın tarihli olduğundan takip süreleri kısaydı. Bu bazı gerçek ilişkileri tespit edememiş olduğumuz anlamına gelebilir. Hasta sayısının yeterli olmaması ve bazı takip sürelerimizin kısa olması, sağkalımların ve biyobelirteçlerin ekspresyon ve prognostik rollerini belirlemek için çalışmanın gücünü sınırlayabilir. Bu çalışmanın bir başka kısıtlılığı, HPV DNA tespiti için PCR değil ISH kullanmamızdı. Bu nedenle, gerçek HPV pozitif vakaların yüzdesi rapor edilen rakamlardan biraz farklı olabilir.

6. SONUÇ

Özellikle Amerika ve Batılı ülkelerde sigara ve alkole bağlı HNSCC insidansı azalırken, yıllık HNSCC insidansında artış ve sağkalımda iyileşme görülmektedir. Bu durumun, başta orofarinks olmak üzere HPV varlığı gösteren baş boyun tümörleri kaynaklı olduğu kanıtlanmıştır. Çalışmamızdaki tüm hastalar değerlendirildiğinde %61 gibi yüksek oranda HPV 16 pozitifliği saptandı. Oral kavite kanserinde %60, orofarinks kanserinde %69 oranında HPV 16 pozitifliği vardı. Oral kavite ve orofarinks skuamöz hücreli karsinomlar arasında p16 pozitifliği açısından anlamlı bir fark yoktu.

Literatür göz önüne alındığında HPV ilişkili kanserler genç yaşta (<60) ve daha çok erkek hastalarda görülmektedir. Bizim çalışmamızda p16 pozitifliği daha çok kadın hastalarda görülürken, heterojen bir yaş dağılımı gösterdi. Literatürle uyumlu olarak, genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım ile p16 arasında anlamlı bir ilişki vardır. P16 pozitif hastalarda sağkalım daha iyiydi. Bu sonuç bize p16'nın sağkalım açısından prognostik bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Orofarinks hastalarında prognoz ile p16 arasında bir ilişki yoktu. Bunu OPSCC hasta sayımızın az olmasına bağlıyoruz.

Hastalarımız %83 gibi yüksek bir oranda HPV DNA negatifti. Sağkalım ile HPV DNA arasında olarak anlamlı bir ilişki vardı. Fakat HPV DNA negatif olan hastalarda sağkalım daha iyiydi. HPV DNA ve p16 arasında korelasyon yoktu. Bu sonucun HPV DNA tespitinde kullandığımız ISH yönteminin yetersizliğine bağlıyoruz.

Kanserlerde HPV virüsünün tespiti için kullanılacak tespit yöntemleri tartışma konusudur. Bu yöntemlerden en çok öne çıkanı ve altın standart olarak görülen RNA ve DNA tespiti yapabilen polimeraz zincir reaksiyonudur. Kullandığımız yöntemlerden p16'da yanlış pozitiflik görülebilirken, in situ hibridizasyonun duyarlılığı düşüktür. Literatürde önerilen kombine olarak PCR ve p16'yı beraber kullanmaktır. Çalışmamızda PCR yerine ISH yöntemini tercih etmemiz çalışmamızın kısıtlılıklarından biridir.

Kanser immünolojisi son yıllarda onkoloji alanında önemli bir araştırma konusu olmuştur. Özellikle PD-1: PD-L1 immün kontrol noktası inhibitörlerinin ortaya çıkmasıyla bu konudaki çalışmalar hız kazanmıştır. Fakat konuyla ilgili yayınlanan çalışmaların sonuçları önemli farklılıklar göstermiştir.

Literatürde PD-L1 ile ilgili bu tutarsız sonuçlar, IHC boyamada gözlemciler arası değişkenliğe, PD-L1 ekspresyonu tespiti için standartlaşmış bir antikor olmamasına, tümör ve immün hücre ekspresyon farklılıkları ve ekspresyonu tanımlarken evrensel olarak kabul edilmiş veya konsensüs oluşmuş bir eşik değeri olmamasından kaynaklanabilir.

Bizim çalışmamızda OCSCC ve OPSCC hastalarında tümör ve immün hücre ekspresyonları ve eşik değer %1 ile %5 alındığında farklı oranlarda ve istatistiksel olarak anlamlı olmayan PD-L1 ekspresyonları elde edilmiştir. Genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım ile PD-L1 arasında anlamlı bir ilişki yoktu. Tüm literatür ve mevcut çalışmamız değerlendirildiğinde PD-L1 ekspresyon seviyelerinin sağkalım açısından prognostik ve prediktif bir biyobelirteç olup olamayacağı belirsizdir.

Yüksek PD-L1 ekspresyonu gösteren hastalarımız, literatür göz önüne alındığında immünoterapi tedavisi için aday olabilirlerdi. İmmünoterapi, rekürren ve metastatik baş boyun kanserleri için 2016 yılında FDA (Food and Drug Administration) tarafından onay almış yeni bir tedavi seçeneğidir. Bu yüzden Türkiye’de henüz yeterli sayıda immünoterapi tedavisi almış hasta bulunmamaktadır. Eğer immünoterapi tedavisi almış hastalar çalışmamıza dahil edilebilseydi, çalışmamız daha değerli bir hale gelirdi.

Sonuç olarak OCSCC ve OPSCC hastalarını değerlendirdiğimiz çalışmamızda p16, HPV DNA ve PD-L1 biyobelirteçleri arasında anlamlı bir korelasyon yoktu. Sadece p16 ekspresyonu literatürle benzer olarak prognoz ile anlamlı ilişki gösterdi ve p16 pozitif hastalarda sağkalım daha iyiydi. HPV pozitif ve negatif tümörler arasında PD-L1 ekspresyonları açısından ilişki saptanmadı. Yüksek veya düşük PD-L1 ekspresyonu ile sağkalım ilişkisi belirsizliğini sürdürmeye devam etmektedir. Bu nedenle PD-L1 ekspresyonunu ve HPV durumu ile PD-L1 ilişkisini araştırmak için daha geniş kapsamlı, çok merkezli ve prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca bizim bilgimize göre, baş boyun kanserlerinde PD-L1 ekspresyonu ve prognoza etkisinin araştırıldığı ülkemiz genelindeki ilk çalışma olması, çalışmamızın önemini ortaya koymaktadır.

7. ÖZET

Başta orofarinks kanserleri olmak üzere Human Papilloma Virüs (HPV) ilişkili baş boyun skuamöz hücreli karsinomları (HNSCC) özellikle batılı ülkelerde giderek artış göstermektedir. HPV pozitif HNSCC'li hastalar farklı klinik özelliklere sahiptir ve genellikle HPV negatif HNSCC'den daha iyi bir sağkalım gösterir. HNSCC immünosupresif bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Tümör hücrelerinin, immün sistemden kaçışı için PD1:PD-L1 immün kontrol noktası yolağı gibi çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Bizim çalışmamızda, oral kavite ve orofarinks skuamöz hücreli karsinom hastalarında p16, HPV DNA ve PD-L1 ekspresyon düzeylerini, bu biyobelirteçlerin birbirleri arasındaki korelasyonunu ve sağkalım üzerindeki prognostik değerlerini araştırdık.

Oral kavite ve orofarinks skuamöz hücreli karsinom tanılı 73 hasta çalışmaya dahil edildi. İmmünhistokimya (IHC) ile p16 ve PD-L1 ekspresyonu, kromojen in situ hibridizasyon (CISH) ile HPV 16 DNA ekspresyonları değerlendirildi. Formaldehit içerisinde fikse edilmiş parafine gömülmüş tümör dokularında, Mouse monoclonal antikor (clone E6H4) ile p16, Rabbit monoclonal antikor (clone SP142) ile PD-L1 ve INFORM HPV III Family 16 Probe ile HPV DNA boyaması yapıldı. P16 pozitifliği skuamöz hücrelerin $\geq 10\%$ sitoplazmik veya nükleer boyanma olması, HPV DNA pozitifliği skuamöz hücrelerin $\geq 1\%$ nükleer boyanma olması ve PD-L1 pozitifliği tümöral hücre (TH) $\geq 5\%$ membranöz boyanma olması şeklinde tanımlandı. Karşılaştırma yapabilmek için PD-L1 tümöral hücre membranöz boyanması $\geq 1\%$ ve PD-L1 immün hücre (IH) $\geq 5\%$ membranöz boyanma pozitif kabul edilerek ayrıca not edildi.

Ortalama takip süremiz 37,2 aydı. Hastaların 45'inde (%61,6) p16 pozitif, 12 hastada (%16,4) HPV DNA pozitif ve 21 hastada (%28,7) PD-L1 pozitif. p16 pozitifliğini en iyi öngören değişken cinsiyetti ($p=0.026$). HPV DNA ve p16 ekspresyonları arasında anlamlı bir korelasyon yoktu ($R:0.3$, $P=0.8$). Eşik değer %1 ve %5 olduğunda sırasıyla %46,5 ve %28,7 oranında TH PD-L1 pozitifliği vardı. 45 hastada (%61,6) IH PD-L1 pozitifliği vardı. P16 (-) ve p16 (+) tümörler arasında PD-L1 ekspresyonunda anlamlı bir fark gözlenmedi (%32'e karşı %26 $p = 0.62$). İleri evre, genel sağkalım için kötü prognozla ilişkili tek bağımsız faktördü (HR, 0.198; %95 Confidence Interval (CI), 0.057-0.687: $p=0.011$). Genel sağkalım (OS) ve hastalıksız sağkalım (DFS), p16 pozitif olanlarda daha iyiydi ($p=0.039$). HPV DNA negatif hastalarda genel sağkalım anlamlı derecede daha iyiydi ($p=0.019$). Tümör ve immün hücre PD-L1 oranları ile genel ve hastalıksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki yoktu (Tümör hücre OS $p=0.921$, DFS $p=0.624$ ve Immün hücre OS $p=0.430$, DFS $p=0.398$).

Oral kavite ve orofarinks skuamöz hücreli karsinom hastalarında, p16 ekspresyonu, sağkalım için güçlü bir prognostik biyobelirteç. HPV DNA'nın prognostik değerini belirlemek için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır. HPV DNA, p16 ve PD-L1 ekspresyonları arasında korelasyon bulunmamaktadır. Hastaların çoğunda PD-L1 ekspresyonu gözlenmesine rağmen, PD-L1'in sağkalım için prognostik bir değeri yoktur. Literatür ve çalışmamızdaki veriler incelendiğinde PD-L1 ekspresyonunun prognostik veya prediktif bir biyobelirteç olarak rolünü belirlemek için daha geniş kapsamlı ve ileriye dönük prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Human Papillomavirüs, p16, Programlı Ölüm Ligandı-1

8. SUMMARY

Human Papilloma Virus (HPV) related head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC), especially oropharyngeal cancers, are increasing in western countries. Patients with HPV positive HNSCC have different clinical features and generally show better survival than HPV negative HNSCC. HNSCC is considered an immunosuppressive disease. Various mechanisms have been proposed, such as PD1: PD-L1 immune control point pathway, for tumor cells to escape from the immune system. In our study, we investigated p16, HPV DNA and PD-L1 expression levels, correlation between these biomarkers and prognostic values on survival in patients with oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma.

73 patients with oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma were included in the study. P16 and PD-L1 expression by immunohistochemistry (IHC), HPV 16 DNA expressions by chromogen in situ hybridization (CISH) were evaluated. Paraffin-embedded tumor tissues fixed in formaldehyde were stained p16 with Mouse monoclonal antibody (clone E6H4), PD-L1 with Rabbit monoclonal antibody (clone SP142) and HPV DNA with INFORM HPV III Family 16 Probe. P16 positivity was defined as squamous cell $\geq 10\%$ cytoplasmic or nuclear staining, HPV DNA positivity was squamous cell $\geq 1\%$ nuclear staining and PD-L1 positivity was a tumoral cell (TH) $\geq 5\%$ membranous staining. For comparison, PD-L1 tumor cell membranous staining $\geq 1\%$ and PD-L1 immune cell (IH) $\geq 5\%$ membranous staining were considered positive, and were also noted.

Our average follow-up was 37.2 months. P16 was positive in 45 (61.6%) patients, HPV DNA positive in 12 patients (16.4%) and PD-L1 positive in 21 patients (28.7%). The best predictor of p16 positivity was gender ($p = 0.026$). There

was no significant correlation between HPV DNA and p16 expressions ($R: 0.3$, $P = 0.8$). When the cut-off value was 1% and 5%, there was 46.5% and 28.7% TH PD-L1 positivity, respectively. 45 patients (61.6%) had IH PD-L1 positivity. No significant difference in expression of PD-L1 was observed between p16 (-) and p16 (+) tumors (32% vs. 26% $p = 0.62$). Advanced stage was the only independent factor associated with poor prognosis for overall survival (HR, 0.198; 95% Confidence Interval (CI), 0.057-0.687: $p = 0.011$). Overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) were better in those positive for p16 ($p = 0.039$). Overall survival was significantly better in HPV DNA negative patients ($p = 0.019$). There was no significant relationship between tumor and immune cell PD-L1 ratios and overall and disease-free survival (Tumor cell OS $p = 0.921$, DFS $p = 0.624$ and Immune cell OS $p = 0.430$, DFS $p = 0.398$).

In oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma patients, p16 expression is a strong prognostic biomarker for survival. More extensive studies are needed to determine the prognostic value of HPV DNA. There is no correlation between HPV DNA, p16 and PD-L1 expressions. Although PD-L1 expression is observed in the majority of patients, PD-L1 has no prognostic value for survival. When the data in the literature and our study are examined, more comprehensive and prospective studies are needed to determine the role of PD-L1 expression as a prognostic or predictive biomarker.

Keywords: Human Papillomavirus, p16, Programmed Death Ligand-1

9. KAYNAKLAR

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
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. Patel JJ, Levy DA, Nguyen SA, Knochelmann HM, Day TA. Impact of PD-L1 expression and human papillomavirus status in anti-PD1/PDL1 immunotherapy for head and neck squamous cell carcinoma-Systematic review and meta-analysis. *Head Neck*. 2020;42(4):774-86.
4. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *New England Journal of Medicine*. 2007;356(19):1944-56.
5. Cohen N, Fedewa S, Chen AY. Epidemiology and demographics of the head and neck cancer population. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics*. 2018;30(4):381-95.
6. Marur S, D'Souza G, Westra WH, Forastiere AA. HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *Lancet Oncol*. 2010;11(8):781-9.
7. Richards L. Human papillomavirus-a powerful predictor of survival in patients with oropharyngeal cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010;7(9):481.
8. Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nat Rev Cancer*. 2005;5(4):263-74.
9. Lyford-Pike S, Peng S, Young GD, Taube JM, Westra WH, Akpeng B, et al. Evidence for a role of the PD-1: PD-L1 pathway in immune resistance of HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer research*. 2013;73(6):1733-41.
10. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:677-704.
11. Kim HS, Lee JY, Lim SH, Park K, Sun JM, Ko YH, et al. Association Between PD-L1 and HPV Status and the Prognostic Value of PD-L1 in Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Res Treat*. 2016;48(2):527-36.
12. Rischin D, Harrington KJ, Greil R, Soulieres D, Tahara M, de Castro G, et al. Protocol-specified final analysis of the phase 3 KEYNOTE-048 trial of pembrolizumab (pembro) as first-line therapy for recurrent/metastatic head and neck squamous cell carcinoma (R/M HNSCC). *American Society of Clinical Oncology*; 2019.
13. Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, De Angelis F, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(22):2078-92.
14. Eggermont AM, Blank CU, Mandala M, Long GV, Atkinson V, Dalle S, et al. Adjuvant pembrolizumab versus placebo in resected stage III melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(19):1789-801.
15. Bhandari M, Siva S. Re: Radical nephrectomy for pT1a renal masses may be associated with decreased overall survival compared with partial nephrectomy R. H. Thompson, S. A. Boorjian, C. M. Lohse, B. C. Leibovich, E. D. Kwon, J. C. Cheville and M. L. Blute *J Urol* 2008; 179: 468-473. *J Urol*. 2008;180(4):1568-9; author reply 9.
16. Richard O. Wein RSW. *Malignant Neoplasms of the Oral Cavity*. Cummings Otolaryngology. 6 ed 2015. p. 1359-87.
17. Parul Sinha UH. *Malignant Neoplasms of the Oropharynx*. Cummings Otolaryngology. 6 ed 2015. p. 1432-53.

18. William K. Ovalle PCN. UPPER DIGESTIVE SYSTEM Netter's Essential Histology. 2 ed2013. p. 263-83.
19. Fossum CC, Chintakuntlawar AV, Price DL, Garcia JJ. Characterization of the oropharynx: anatomy, histology, immunology, squamous cell carcinoma and surgical resection. *Histopathology*. 2017;70(7):1021-9.
20. Shah JP, Strong E, Spiro RH, Vikram B. Surgical grand rounds. Neck dissection: current status and future possibilities. *Clin Bull*. 1981;11(1):25-33.
21. Robbins KT, Clayman G, Levine PA, Medina J, Sessions R, Shaha A, et al. Neck dissection classification update: revisions proposed by the American Head and Neck Society and the American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2002;128(7):751-8.
22. Robbins KT, Medina JE, Wolfe GT, Levine PA, Sessions RB, Pruet CW. Standardizing neck dissection terminology: official report of the Academy's Committee for Head and Neck Surgery and Oncology. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1991;117(6):601-5.
23. Chi AC, Day TA, Neville BW. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma—an update. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2015;65(5):401-21.
24. Cooper JS, Porter K, Mallin K, Hoffman HT, Weber RS, Ang KK, et al. National Cancer Database report on cancer of the head and neck: 10-year update. *Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck*. 2009;31(6):748-58.
25. Huber MA, Tantiwongkosi B. Oral and oropharyngeal cancer. *Medical Clinics*. 2014;98(6):1299-321.
26. Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncol*. 2009;45(4-5):309-16.
27. Chaturvedi AK, Anderson WF, Lortet-Tieulent J, Curado MP, Ferlay J, Franceschi S, et al. Worldwide trends in incidence rates for oral cavity and oropharyngeal cancers. *J Clin Oncol*. 2013;31(36):4550-9.
28. Lambert R, Sauvaget C, de Camargo Cancela M, Sankaranarayanan R. Epidemiology of cancer from the oral cavity and oropharynx. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2011;23(8):633-41.
29. Marron M, Boffetta P, Zhang Z-F, Zaridze D, Wünsch-Filho V, Winn DM, et al. Cessation of alcohol drinking, tobacco smoking and the reversal of head and neck cancer risk. *International journal of epidemiology*. 2010;39(1):182-96.
30. Hashibe M, Sturgis EM. Epidemiology of oral-cavity and oropharyngeal carcinomas: controlling a tobacco epidemic while a human papillomavirus epidemic emerges. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2013;46(4):507-20.
31. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S, et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer research*. 1988;48(11):3282-7.
32. Warnakulasuriya S. Living with oral cancer: epidemiology with particular reference to prevalence and life-style changes that influence survival. *Oral oncology*. 2010;46(6):407-10.
33. Licitra L, Zigon G, Gatta G, Sanchez MJ, Berrino F. Human papillomavirus in HNSCC: a European epidemiologic perspective. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2008;22(6):1143-53, vii-viii.
34. Chaturvedi AK, Engels EA, Anderson WF, Gillison ML. Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J Clin Oncol*. 2008;26(4):612-9.
35. de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, Forman D, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol*. 2012;13(6):607-15.

36. Ndiaye C, Mena M, Alemany L, Arbyn M, Castellsague X, Laporte L, et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):1319-31.
37. Benson E, Li R, Eisele D, Fakhry C. The clinical impact of HPV tumor status upon head and neck squamous cell carcinomas. *Oral Oncol.* 2014;50(6):565-74.
38. Gillison ML, D'Souza G, Westra W, Sugar E, Xiao W, Begum S, et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100(6):407-20.
39. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2007;356(19):1944-56.
40. Mirghani H, Amen F, Moreau F, Lacau St Guily J. Do high-risk human papillomaviruses cause oral cavity squamous cell carcinoma? *Oral Oncol.* 2015;51(3):229-36.
41. Majchrzak E, Szybiak B, Wegner A, Pienkowski P, Pazdrowski J, Luczewski L, et al. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma in young adults: a review of the literature. *Radiol Oncol.* 2014;48(1):1-10.
42. Frisch M, Biggar RJ, Engels EA, Goedert JJ. Association of cancer with AIDS-related immunosuppression in adults. *Jama.* 2001;285(13):1736-45.
43. Singh B, Sabin S, Rofim O, Shaha A, Har-El G, Lucente FE. Alterations in head and neck cancer occurring in HIV-infected patients--results of a pilot, longitudinal, prospective study. *Acta Oncol.* 1999;38(8):1047-50.
44. Chaturvedi AK, Madeleine MM, Biggar RJ, Engels EA. Risk of human papillomavirus-associated cancers among persons with AIDS. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute.* 2009;101(16):1120-30.
45. Kostrzewska-Poczekaj M, Gawecki W, Illmer J, Rydzanicz M, Gajecka M, Szyfter W, et al. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck in young adults. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2013;270(1):271-6.
46. Alter BP, Giri N, Savage SA, Quint WG, De Koning MN, Schiffman M. Squamous cell carcinomas in patients with Fanconi anemia and dyskeratosis congenita: a search for human papillomavirus. *International journal of cancer.* 2013;133(6):1513-5.
47. Lucenteforte E, Garavello W, Bosetti C, La Vecchia C. Dietary factors and oral and pharyngeal cancer risk. *Oral oncology.* 2009;45(6):461-7.
48. Edefonti V, Hashibe M, Ambrogi F, Parpinel M, Bravi F, Talamini R, et al. Nutrient-based dietary patterns and the risk of head and neck cancer: a pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology consortium. *Annals of oncology.* 2012;23(7):1869-80.
49. Richie JP, Jr., Kleinman W, Marina P, Abraham P, Wynder EL, Muscat JE. Blood iron, glutathione, and micronutrient levels and the risk of oral cancer. *Nutr Cancer.* 2008;60(4):474-82.
50. Grimm M, Cetindis M, Biegner T, Lehman M, Munz A, Teriete P, et al. Serum vitamin D levels of patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC) and expression of vitamin D receptor in oral precancerous lesions and OSCC. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal.* 2015;20(2):e188.
51. Baykul T, Yilmaz H, Aydin Ü, Aydin M, Aksoy M, Yildirim D. Early diagnosis of oral cancer. *Journal of International Medical Research.* 2010;38(3):737-49.
52. Cleveland JL, Junger ML, Saraiya M, Markowitz LE, Dunne EF, Epstein JB. The connection between human papillomavirus and oropharyngeal squamous cell carcinomas in the United States: implications for dentistry. *The Journal of the American Dental Association.* 2011;142(8):915-24.
53. Moore SR, Johnson N, Pierce AM, Wilson DF. The epidemiology of lip cancer: a review of global incidence and aetiology. *Oral diseases.* 1999;5(3):185-95.

54. Yako-Suketomo H, Marugame T. Comparison of Time Trends in Lip Cancer Incidence (1973–97) in East Asia, Europe and USA, from Cancer Incidence in Five Continents, Vols IV–VIII. *Japanese journal of clinical oncology*. 2008;38(6):456-7.
55. Weber RS, Guillaumondegui OM, Byers RM, Palmer JM, El-Naggar A, Mcneese MD. Minor salivary gland tumors of the lip and buccal mucosa. *The Laryngoscope*. 1989;99(1):6-9.
56. Cross JE, Guralnick E, Daland EM. Carcinoma of the lip; a review of 563 case records of carcinoma of the lip at the Pondville Hospital. *Surgery, gynecology & obstetrics*. 1948;87(2):153-62.
57. Raskob GE, Zitsch III RP, Park CW, Renner GJ, Rea JR JL. Outcome analysis for lip carcinoma. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 1995;113(5):589-96.
58. Daniel R. Gomez MD MJKM, A. Dimitrios Colevas MD, Nancy Lee MD. Cancer of the Oral Cavity. *Leibel and Phillips Textbook of Radiation Oncology*. 3th ed 2010. p. 588-612.
59. Düzlü M, Karamert R, Bakkal FK, Cevizci R, Tutar H, Zorlu ME, et al. The demographics and histopathological features of oral cavity cancers in Turkey. *Turkish journal of medical sciences*. 2016;46(6):1672-6.
60. Yamazaki H, Inoue T, Teshima T, Tanaka E, Koizumi M, Kagawa K, et al. Tongue cancer treated with brachytherapy: is thickness of tongue cancer a prognostic factor for regional control? *Anticancer research*. 1998;18(2B):1261.
61. Lindberg R. Distribution of cervical lymph node metastases from squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. *Cancer*. 1972;29(6):1446-9.
62. Eicher SA, Overholt SM, El-Naggar AK, Byers RM, Weber RS. Lower gingival carcinoma: clinical and pathologic determinants of regional metastases. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 1996;122(6):634-8.
63. Overholt SM, Eicher SA, Wolf P, Weber RS. Prognostic factors affecting outcome in lower gingival carcinoma. *The Laryngoscope*. 1996;106(11):1335-9.
64. Funk GF, Karnell LH, Robinson RA, Zhen WK, Trask DK, Hoffman HT. Presentation, treatment, and outcome of oral cavity cancer: a National Cancer Data Base report. *Head & neck*. 2002;24(2):165-80.
65. Shaha AR, Spiro RH, Shah JP, Strong EW. Squamous carcinoma of the floor of the mouth. *The American journal of surgery*. 1984;148(4):455-9.
66. Rodgers Jr LW, Stringer SP, Mendenhall WM, Parsons JT, Cassisi NJ, Million RR. Management of squamous cell carcinoma of the floor of mouth. *Head & neck*. 1993;15(1):16-9.
67. McDowell JD. An overview of epidemiology and common risk factors for oral squamous cell carcinoma. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2006;39(2):277-94.
68. Zain RB, Ikeda N, Gupta PC, Warnakulasuriya S, van Wyk CW, Shrestha P, et al. Oral mucosal lesions associated with betel quid, areca nut and tobacco chewing habits: consensus from a workshop held in Kuala Lumpur, Malaysia, November 25-27, 1996. *Journal of oral pathology & medicine*. 1999;28(1):1-4.
69. Saito T, Sugiura C, Hirai A, Notani K-I, Totsuka Y, Shindoh M, et al. Development of squamous cell carcinoma from pre-existent oral leukoplakia: with respect to treatment modality. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2001;30(1):49-53.
70. Medina JE, Dichtel W, Luna MA. Verrucous-squamous carcinomas of the oral cavity: a clinicopathologic study of 104 cases. *Archives of Otolaryngology*. 1984;110(7):437-40.
71. Bloom ND, Spiro RH. Carcinoma of the cheek mucosa: A retrospective analysis. *The american journal of surgery*. 1980;140(4):556-9.

72. Beckhardt RN, Weber RS, Zane R, Wolf P, Garden AS, Carrillo R, et al. Minor salivary gland tumors of the palate: clinical and pathologic correlates of outcome. *The Laryngoscope*. 1995;105(11):1155-60.
73. Reddy C. Carcinoma of hard palate in India in relation to reverse smoking of chuttas. *Journal of the National Cancer Institute*. 1974;53(3):615-9.
74. Simental Jr AA, Johnson JT, Myers EN. Cervical metastasis from squamous cell carcinoma of the maxillary alveolus and hard palate. *The Laryngoscope*. 2006;116(9):1682-4.
75. Yorozu A, Sykes AJ, Slevin NJ. Carcinoma of the hard palate treated with radiotherapy: a retrospective review of 31 cases. *Oral oncology*. 2001;37(6):493-7.
76. Thawley SE, Panje WR. Comprehensive management of head and neck tumors, volume 1. 1987.
77. Muharrem G. GK. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. In: Gerçeker M, editor. *orofarenks tümörleri*2014. p. 657-63.
78. MAK-KREGAR S, SCHOUWENBURG PF, BARIS G, HILGERS FJ, HART AA. Staging and prognostic factors in carcinoma of the base of the tongue. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences*. 1992;17(2):107-12.
79. Weber P, Myers E, Johnson J. Squamous cell carcinoma of the base of tongue. *European archives of oto-rhino-laryngology*. 1993;250(2):63-8.
80. Boring CC, Squires TS, Tong T. Cancer statistics, 1993. *CA: a cancer journal for clinicians*. 1993;43(1):7-26.
81. Civantos Fj GW. Cancer of The Oropharynx. In: Myers E, Suen J, editors. *Cancer of the head and neck Ed 3 Philadelphia: WB Saunders Company*; 1996. p. 361-80.
82. Genden E, Thawley S, O'Leary M. Malignant neoplasms of the oropharynx. Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, editors *Otolaryngology-Head and Neck Surgery 3rd ed St Louis: Mosby Year Book*. 1998:1463-511.
83. Cunningham MP, Catlin D. Cancer of the pharyngeal wall. *Cancer*. 1967;20(11):1859-66.
84. Amin MB , Edge SB, Cancer AJCo. *AJCC Cancer Staging Manual*. New York: Springer; 2017.
85. Edge SB, Cancer AJCo. *AJCC Cancer Staging Manual*. . New York: Springer; 2010.
86. Gress DM, Edge SB, Greene FL, Washington MK, Asare EA, Brierley JD, et al. Principles of cancer staging. *AJCC Cancer Staging Manual 8th Ed New York: Springer-Verlag*. 2017:3-30.
87. Ebrahimi A, Gil Z, Amit M, Yen T, Liao C, Chaturvedi P, et al. International Consortium for Outcome Research (ICOR) in Head and Neck Cancer. Primary tumor staging for oral cancer and a proposed modification incorporating depth of invasion: an international multicenter retrospective study. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014;140(12):1138-48.
88. Greene FL, Balch CM, Fleming ID, Fritz A, Haller DG, Morrow M, et al. *AJCC cancer staging manual*. 6th ed. New York: Springer 2002.
89. Vinay Kumar MBBS M, FRCPATH, Abul K. Abbas MBBS, Jon C. Aster MD, PhD. Neoplasia. *Robbins Basic Pathology*. 10th ed: Elsevier; 2018. p. 189-242.
90. National Comprehensive Cancer Network. Head and neck cancers (Version 1. 2018).NCCN clinical practice guidelines in oncology. [Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/headand-neck.pdf.
91. Ettinger KS, Ganry L, Fernandes RP. Oral Cavity Cancer. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2019;31(1):13-29.

92. Gourin CG, Conger BT, Porubsky ES, Sheils WC, Bilodeau PA, Coleman TA. The effect of occult nodal metastases on survival and regional control in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *The Laryngoscope*. 2008;118(7):1191-4.
93. Cheng A, Schmidt BL. Management of the N0 neck in oral squamous cell carcinoma. *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America*. 2008;20(3):477-97.
94. Brockhoff HC, 2nd, Kim RY, Braun TM, Skouteris C, Helman JI, Ward BB. Correlating the depth of invasion at specific anatomic locations with the risk for regional metastatic disease to lymph nodes in the neck for oral squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2017;39(5):974-9.
95. Kowalski LP, Bagietto R, Lara JR, Santos RL, Tagawa EK, Santos IR. Factors influencing contralateral lymph node metastasis from oral carcinoma. *Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck*. 1999;21(2):104-10.
96. Wang Y, Ow TJ, Myers JN. Pathways for cervical metastasis in malignant neoplasms of the head and neck region. *Clinical Anatomy*. 2012;25(1):54-71.
97. Renner GJ, Zitsch R. Cancer of the Lip. In: In Myers EN, JS, editors. *Cancer of the Head and Neck*. Philadelphia 1996. p. 294-320.
98. Bello IO, Soini Y, Salo T. Prognostic evaluation of oral tongue cancer: means, markers and perspectives (II). *Oral oncology*. 2010;46(9):636-43.
99. Byers RM, Weber RS, Andrews T, McGill D, Kare R, Wolf P. Frequency and therapeutic implications of "skip metastases" in the neck from squamous carcinoma of the oral tongue. *Head & neck*. 1997;19(1):14-9.
100. Saggi S, Badran KW, Han AY, Kuan EC, St. John MA. Clinicopathologic characteristics and survival outcomes in floor of mouth squamous cell carcinoma: a population-based study. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 2018;159(1):51-8.
101. Mourouzis C, Pratt C, Brennan PA. Squamous cell carcinoma of the maxillary gingiva, alveolus, and hard palate: is there a need for elective neck dissection? *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2010;48(5):345-8.
102. Givi B, Eskander A, Awad MI, Kong Q, Montero PH, Palmer FL, et al. Impact of elective neck dissection on the outcome of oral squamous cell carcinomas arising in the maxillary alveolus and hard palate. *Head & neck*. 2016;38(S1):E1688-E94.
103. Beltramini GA, Massarelli O, Demarchi M, Copelli C, Cassoni A, Valentini V, et al. Is neck dissection needed in squamous-cell carcinoma of the maxillary gingiva, alveolus, and hard palate? A multicentre Italian study of 65 cases and literature review. *Oral oncology*. 2012;48(2):97-101.
104. Ayad T, Guertin L, Soulieres D, Belair M, Temam S, Nguyen-Tân PF. Controversies in the management of retromolar trigone carcinoma. *Head & neck*. 2009;31(3):398-405.
105. Diaz Jr EM, Holsinger FC, Zuniga ER, Roberts DB, Sorensen DM. Squamous cell carcinoma of the buccal mucosa: one institution's experience with 119 previously untreated patients. *Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck*. 2003;25(4):267-73.
106. Salama JK, Saba N, Quon H, Garg MK, Lawson J, McDonald MW, et al. ACR appropriateness criteria® adjuvant therapy for resected squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oral oncology*. 2011;47(7):554-9.
107. Alicandri-Ciuffelli M, Bonali M, Piccinini A, Marra L, Ghidini A, Cunsolo EM, et al. Surgical margins in head and neck squamous cell carcinoma: what is 'close'? *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2013;270(10):2603-9.
108. NCCN. Clinical practice guidelines in oncology version 2.2018. June 20,2018.
109. Ho AS, Kim S, Tighiouart M, Gudino C, Mita A, Scher KS, et al. Metastatic lymph node burden and survival in oral cavity cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2017;35(31):3601.

110. Montero PH, Patel SG. Cancer of the oral cavity. *Surg Oncol Clin N Am*. 2015;24(3):491-508.
111. Hasegawa T, Shibuya Y, Takeda D, Iwata E, Saito I, Kakei Y, et al. Prognosis of oral squamous cell carcinoma patients with level IV/V metastasis: an observational study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2017;45(1):145-9.
112. Sutton D, Brown J, Rogers SN, Vaughan E, Woolgar J. The prognostic implications of the surgical margin in oral squamous cell carcinoma. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2003;32(1):30-4.
113. Matsushita Y, Yanamoto S, Takahashi H, Yamada S, Naruse T, Sakamoto Y, et al. A clinicopathological study of perineural invasion and vascular invasion in oral tongue squamous cell carcinoma. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2015;44(5):543-8.
114. Johansen LV, Grau C, Overgaard J. Squamous cell carcinoma of the oropharynx-an analysis of treatment results in 289 consecutive patients. *Acta Oncologica*. 2000;39(8):985-94.
115. Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H, et al. Improved survival of patients with human papillomavirus–positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *Journal of the National Cancer Institute*. 2008;100(4):261-9.
116. Lewis Jr JS, Thorstad WL, Chernock RD, Haughey BH, Yip JH, Zhang Q, et al. p16 positive oropharyngeal squamous cell carcinoma: an entity with a favorable prognosis regardless of tumor HPV status. *The American journal of surgical pathology*. 2010;34(8).
117. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tân PF, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *New England Journal of Medicine*. 2010;363(1):24-35.
118. Avci G, Gülemdam B. Human papillomavirus. *Kafkas J Med Sci*. 2013;3(3):136-44.
119. De Villiers E-M, Fauquet C, Broker TR, Bernard H-U, Zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004;324(1):17-27.
120. Yim E-K, Park J-S. The role of HPV E6 and E7 oncoproteins in HPV-associated cervical carcinogenesis. *Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association*. 2005;37(6):319.
121. Schwartz SM, Daling JR, Madeleine MM, Doody DR, Fitzgibbons ED, Wipf GC, et al. Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *Journal of the National Cancer Institute*. 1998;90(21):1626-36.
122. Beachler DC, Weber KM, Margolick JB, Strickler HD, Cranston RD, Burk RD, et al. Risk factors for oral HPV infection among a high prevalence population of HIV-positive and at-risk HIV-negative adults. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2012;21(1):122-33.
123. Carole Fakhry, Gourin CG. Human Papillomavirus and the Epidemiology of Head and Neck Cancer *Cummings Otolaryngology* 2015. p. 1083-7.
124. Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, Hernandez BY, Xiao W, Kim E, et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *Journal of clinical oncology*. 2011;29(32):4294.
125. Gillison ML, D'Souza G, Westra W, Sugar E, Xiao W, Begum S, et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16–positive and human papillomavirus type 16–negative head and neck cancers. *Journal of the National Cancer Institute*. 2008;100(6):407-20.
126. Lassen P, Eriksen JG, Hamilton-Dutoit S, Tramm T, Alsner J, Overgaard J. Effect of HPV-associated p16INK4A expression on response to radiotherapy and survival in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol*. 2009;27(12):1992-8.

127. Kobayashi A, Greenblatt RM, Anastos K, Minkoff H, Massad LS, Young M, et al. Functional attributes of mucosal immunity in cervical intraepithelial neoplasia and effects of HIV infection. *Cancer research*. 2004;64(18):6766-74.
128. Toh ZQ, Kosasih J, Russell FM, Garland SM, Mulholland EK, Licciardi PV. Recombinant human papillomavirus nonavalent vaccine in the prevention of cancers caused by human papillomavirus. *Infection and drug resistance*. 2019;12:1951.
129. Lajer CB, BUCHWALD CV. The role of human papillomavirus in head and neck cancer. *Apmis*. 2010;118(6-7):510-9.
130. 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.
131. Nallasamy P, Chava S, Verma SS, Mishra S, Gorantla S, Coulter DW, et al., editors. PD-L1, inflammation, non-coding RNAs, and neuroblastoma: Immuno-oncology perspective. *Seminars in cancer biology*; 2018: Elsevier.
132. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:677-704.
133. Topalian SL, Weiner GJ, Pardoll DM. Cancer immunotherapy comes of age. *J Clin Oncol*. 2011;29(36):4828-36.
134. Zhang X, Wang C, Wang J, Hu Q, Langworthy B, Ye Y, et al. PD-1 Blockade Cellular Vesicles for Cancer Immunotherapy. *Advanced Materials*. 2018;30(22):1707112.
135. Seidel JA, Otsuka A, Kabashima K. Anti-PD-1 and anti-CTLA-4 therapies in cancer: mechanisms of action, efficacy, and limitations. *Frontiers in oncology*. 2018;8:86.
136. Wang BC, Cao RB, Li PD, Fu C. The effects and safety of PD-1/PD-L1 inhibitors on head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Med*. 2019;8(13):5969-78.
137. Wu P, Wu D, Li L, Chai Y, Huang J. PD-L1 and survival in solid tumors: a meta-analysis. *PloS one*. 2015;10(6).
138. Gavrielatou N, Doulas S, Economopoulou P, Foukas PG, Psyrri A. Biomarkers for immunotherapy response in head and neck cancer. *Cancer Treat Rev*. 2020;84:101977.
139. Lilja-Fischer JK, Eriksen JG, Georgsen JB, Vo TT, Larsen SR, Cheng J, et al. Prognostic impact of PD-L1 in oropharyngeal cancer after primary curative radiotherapy and relation to HPV and tobacco smoking. *Acta Oncol*. 2020:1-7.
140. Cho Y-A, Yoon H-J, Lee J-I, Hong S-P, Hong S-D. Relationship between the expressions of PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes in oral squamous cell carcinoma. *Oral oncology*. 2011;47(12):1148-53.
141. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin*. 2015;65(1):5-29.
142. Lydiatt WM, Patel SG, O'Sullivan B, Brandwein MS, Ridge JA, Migliacci JC, et al. Head and neck cancers—major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2017;67(2):122-37.
143. Syrjänen K, Syrjänen S, Lamberg M, Pyrhönen S, Nuutinen J. Morphological and immunohistochemical evidence suggesting human papillomavirus (HPV) involvement in oral squamous cell carcinogenesis. *International journal of oral surgery*. 1983;12(6):418-24.
144. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wu L, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(9):709-20.
145. Hong A, Lee CS, Jones D, Veillard AS, Zhang M, Zhang X, et al. Rising prevalence of human papillomavirus-related oropharyngeal cancer in Australia over the last 2 decades. *Head & neck*. 2016;38(5):743-50.

146. Kanyilmaz G, Ekinci O, Muge A, Celik S, Ozturk F. HPV-associated p16 INK4A expression and response to therapy and survival in selected head and neck cancers. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(1):253-8.
147. Tural D, Eliçin O, Batur S, Arslan D, Öz B, Serdengeçti S, et al. Human papillomavirus is independent prognostic factor on outcome of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Tumour Biol.* 2013;34(6):3363-9.
148. Tural D, Eliçin O, Batur S, Arslan D, Oz B, Serdengeçti S, et al. Increase in the rate of HPV positive oropharyngeal cancers during 1996-2011 in a case study in Turkey. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(10):6065-8.
149. Bozdayi G, Kemaloglu Y, Ekinci O, Dogan B, Ilhan MN, Aydil U, et al. Role of human papillomavirus in the clinical and histopathologic features of laryngeal and hypopharyngeal cancers. *Journal of Otolaryngology--Head & Neck Surgery.* 2009;38(1).
150. Emmett S, Boros S, Whiteman DC, Porceddu SV, Panizza BJ, Antonsson A. Sexual behaviour, HPV status and p16(INK4a) expression in oropharyngeal and oral cavity squamous cell carcinomas: a case-case comparison study. *J Gen Virol.* 2018;99(6):783-9.
151. Ndiaye C, Mena M, Alemany L, Arbyn M, Castellsagué X, Laporte L, et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):1319-31.
152. Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, Klussmann JP, Lee JH, Wang D, et al. Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int J Cancer.* 2004;108(5):766-72.
153. Miller CS, Zeuss MS, White DK. Detection of HPV DNA in oral carcinoma using polymerase chain reaction together with in situ hybridization. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology.* 1994;77(5):480-6.
154. Bishop JA, Lewis JS, Jr., Rocco JW, Faquin WC. HPV-related squamous cell carcinoma of the head and neck: An update on testing in routine pathology practice. *Semin Diagn Pathol.* 2015;32(5):344-51.
155. Münger K, Baldwin A, Edwards KM, Hayakawa H, Nguyen CL, Owens M, et al. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. *Journal of virology.* 2004;78(21):11451-60.
156. Rautava J, Syrjänen S. Biology of human papillomavirus infections in head and neck carcinogenesis. *Head Neck Pathol.* 2012;6 Suppl 1(Suppl 1):S3-15.
157. Westra WH. Detection of human papillomavirus (HPV) in clinical samples: evolving methods and strategies for the accurate determination of HPV status of head and neck carcinomas. *Oral Oncol.* 2014;50(9):771-9.
158. Adelstein DJ, Ridge JA, Gillison ML, Chaturvedi AK, D'Souza G, Gravitt PE, et al. Head and neck squamous cell cancer and the human papillomavirus: summary of a National Cancer Institute State of the Science Meeting, November 9-10, 2008, Washington, D.C. *Head Neck.* 2009;31(11):1393-422.
159. Jordan RC, Lingen MW, Perez-Ordóñez B, He X, Pickard R, Koluder M, et al. Validation of methods for oropharyngeal cancer HPV status determination in US cooperative group trials. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(7):945-54.
160. Schlecht NF, Brandwein-Gensler M, Nuovo GJ, Li M, Dunne A, Kawachi N, et al. A comparison of clinically utilized human papillomavirus detection methods in head and neck cancer. *Mod Pathol.* 2011;24(10):1295-305.
161. Lewis JS, Jr., Thorstad WL, Chernock RD, Haughey BH, Yip JH, Zhang Q, et al. p16 positive oropharyngeal squamous cell carcinoma: an entity with a favorable prognosis regardless of tumor HPV status. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(8):1088-96.

162. Liang C, Marsit CJ, McClean MD, Nelson HH, Christensen BC, Haddad RI, et al. Biomarkers of HPV in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 2012;72(19):5004-13.
163. Vokes EE, Agrawal N, Seiwert TY. HPV-Associated Head and Neck Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2015;107(12):djv344.
164. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tân PF, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2010;363(1):24-35.
165. Begum S, Gillison ML, Nicol TL, Westra WH. Detection of human papillomavirus-16 in fine-needle aspirates to determine tumor origin in patients with metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res.* 2007;13(4):1186-91.
166. Ukpo OC, Flanagan JJ, Ma XJ, Luo Y, Thorstad WL, Lewis JS, Jr. High-risk human papillomavirus E6/E7 mRNA detection by a novel in situ hybridization assay strongly correlates with p16 expression and patient outcomes in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2011;35(9):1343-50.
167. Lin YM, Sung WW, Hsieh MJ, Tsai SC, Lai HW, Yang SM, et al. High PD-L1 Expression Correlates with Metastasis and Poor Prognosis in Oral Squamous Cell Carcinoma. *PLoS One.* 2015;10(11):e0142656.
168. de Ruiter EJ, Ooft ML, Devriese LA, Willems SM. The prognostic role of tumor infiltrating T-lymphocytes in squamous cell carcinoma of the head and neck: a systematic review and meta-analysis. *Oncoimmunology.* 2017;6(11):e1356148.
169. Concha-Benavente F, Srivastava RM, Trivedi S, Lei Y, Chandran U, Seethala RR, et al. Identification of the cell-intrinsic and-extrinsic pathways downstream of EGFR and IFN γ that induce PD-L1 expression in head and neck cancer. *Cancer research.* 2016;76(5):1031-43.
170. Ohigashi Y, Sho M, Yamada Y, Tsurui Y, Hamada K, Ikeda N, 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):2947-53.
171. Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC, Lohse CM, Dong H, Webster WS, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(49):17174-9.
172. Yang CY, Lin MW, Chang YL, Wu CT, Yang PC. Programmed cell death-ligand 1 expression in surgically resected stage I pulmonary adenocarcinoma and its correlation with driver mutations and clinical outcomes. *Eur J Cancer.* 2014;50(7):1361-9.
173. Chow LQM, Haddad R, Gupta S, Mahipal A, Mehra R, Tahara M, et al. Antitumor Activity of Pembrolizumab in Biomarker-Unselected Patients With Recurrent and/or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Results From the Phase Ib KEYNOTE-012 Expansion Cohort. *J Clin Oncol.* 2016;34(32):3838-45.
174. Kim HR, Ha SJ, Hong MH, Heo SJ, Koh YW, Choi EC, et al. PD-L1 expression on immune cells, but not on tumor cells, is a favorable prognostic factor for head and neck cancer patients. *Sci Rep.* 2016;6:36956.
175. Scognamiglio T, Chen YT. Beyond the Percentages of PD-L1-Positive Tumor Cells: Induced Versus Constitutive PD-L1 Expression in Primary and Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Head Neck Pathol.* 2018;12(2):221-9.
176. Ferris RL, Blumenschein G, Jr., Fayette J, Guigay J, Colevas AD, Licitra L, et al. Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *N Engl J Med.* 2016;375(19):1856-67.
177. Seiwert TY, Burtneess B, Mehra R, Weiss J, Berger R, Eder JP, et al. Safety and clinical activity of pembrolizumab for treatment of recurrent or metastatic squamous cell

- carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-012): an open-label, multicentre, phase 1b trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(7):956-65.
178. Daud AI, Wolchok JD, Robert C, Hwu W-J, Weber JS, Ribas A, et al. Programmed death-ligand 1 expression and response to the anti-programmed death 1 antibody Pembrolizumab in melanoma. *Journal of Clinical Oncology.* 2016;34(34):4102.
 179. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine.* 2015;372(21):2018-28.
 180. Kakavand H, Wilmott JS, Menzies AM, Vilain R, Haydu LE, Yearley JH, et al. PD-L1 Expression and Tumor-Infiltrating Lymphocytes Define Different Subsets of MAPK Inhibitor-Treated Melanoma Patients. *Clin Cancer Res.* 2015;21(14):3140-8.
 181. Lyford-Pike S, Peng S, Young GD, Taube JM, Westra WH, Akpeng B, et al. Evidence for a role of the PD-1:PD-L1 pathway in immune resistance of HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 2013;73(6):1733-41.
 182. Gildener-Leapman N, Ferris RL, Bauman JE. Promising systemic immunotherapies in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2013;49(12):1089-96.
 183. Sato F, Ono T, Kawahara A, Kawaguchi T, Tanaka H, Shimamatsu K, et al. Prognostic impact of p16 and PD-L1 expression in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma receiving a definitive treatment. *J Clin Pathol.* 2019;72(8):542-9.
 184. Birtalan E, Danos K, Gurbi B, Brauswetter D, Halasz J, Kalocsane Piurko V, et al. Expression of PD-L1 on Immune Cells Shows Better Prognosis in Laryngeal, Oropharyngeal, and Hypopharyngeal Cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2018;26(7):e79-e85.
 185. Wang Q, Liu F, Liu L. Prognostic significance of PD-L1 in solid tumor: An updated meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(18):e6369.
 186. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2015;372(21):2018-28.
 187. Grosso J, Horak CE, Inzunza D, Cardona DM, Simon JS, Gupta AK, et al. Association of tumor PD-L1 expression and immune biomarkers with clinical activity in patients (pts) with advanced solid tumors treated with nivolumab (anti-PD-1; BMS-936558; ONO-4538). *American Society of Clinical Oncology;* 2013.
 188. Kefford R, Ribas A, Hamid O, Robert C, Daud A, Wolchok JD, et al. Clinical efficacy and correlation with tumor PD-L1 expression in patients (pts) with melanoma (MEL) treated with the anti-PD-1 monoclonal antibody MK-3475. *American Society of Clinical Oncology;* 2014.
 189. Gettinger SN, Shepherd FA, Antonia SJ, Brahmer JR, Chow LQM, Jurgens RA, et al. First-line nivolumab (anti-PD-1; BMS-936558, ONO-4538) monotherapy in advanced NSCLC: Safety, efficacy, and correlation of outcomes with PD-L1 status. *American Society of Clinical Oncology;* 2014.
 190. Hsu C, Lee SH, Ejadi S, Even C, Cohen RB, Le Tourneau C, et al. Safety and Antitumor Activity of Pembrolizumab in Patients With Programmed Death-Ligand 1-Positive Nasopharyngeal Carcinoma: Results of the KEYNOTE-028 Study. *J Clin Oncol.* 2017;35(36):4050-6.
 191. Ma BB, Goh BC, Lim WT, Lo KW, Hui EP, Riess JW, et al. Abstract CT076: multicenter phase II study of nivolumab in previously treated patients with recurrent and metastatic non-keratinizing nasopharyngeal carcinoma-mayo clinic phase 2 consortium P2C-MN026, NCI9742, NCT02339558. *AACR;* 2017.
 192. Ferris RL, Blumenschein G, Jr., Fayette J, Guigay J, Colevas AD, Licitra L, et al. Nivolumab vs investigator's choice in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: 2-year long-term survival update of CheckMate 141 with analyses by tumor PD-L1 expression. *Oral Oncol.* 2018;81:45-51.

10. EKLER

10.1 Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 12/06/2019-E.72153



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Ölçme Değerlendirme Etik Alt Çalışma Grubu



Sayı : 91610558-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Doç. Dr. Mehmet DÜZLÜ
Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Tez danışmanı olduğunuz, araştırmacı grubu Mehmet DÜZLÜ, İpek IŞIK GÖNÜL, Ağah YENİÇERİ ve Ceren BİLKAN ÖGE'den oluşan, Üniversitemiz Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Arş.Gör.Dr. Ağah YENİÇERİ'nin uzmanlık tez çalışması olan "*Orofaryngeal ve Oral Kavite Skuamöz Hücreli Karsinom Hastalarında HPV/p16 ve PD-L1 Ekspresyon Düzeylerinin Araştırılması, Birbirleri Arasındaki Korelasyonu ve Bu Düzeylerin Hastalık Prognozu Üzerine Etkisi*" başlıklı tez çalışması ile ilgili araştırma önerisi Kurulumuzun 28.05.2019 tarih ve 06 sayılı toplantısında görüşülmüş olup,

Çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmadığına oybirliği ile karar verilmiş ve karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzadır
Doç. Dr. İsmail KARAKAYA
Kurul Başkanı V.

Araştırma Kod No: 2019-177

Ek: 1 Liste

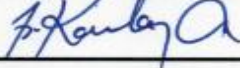
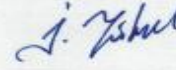
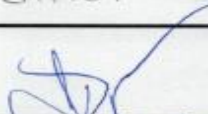
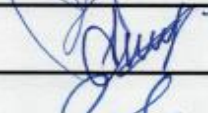
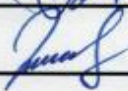
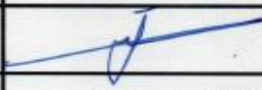


Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
İnternet Adresi : <http://etikkomisyon.gazi.edu.tr/>

Bilgi için :Burak Çitrak
Birim Evrak Sorumlusu
Telefon No:0312 229 78 00

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
ÖLÇME DEĞERLENDİRME ETİK ALT ÇALIŞMA GRUBU
KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 28/05/2019		TOPLANTI SAYISI : 06	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof. Dr. Mehtap ÇAKAN Başkan			
Doç.Dr.İsmail KARAKAYA Başkan Yrd.			
Prof.Dr.Galip YÜKSEL		KATILAMADI	
Prof.Dr.İsmet YÜKSEL			
Prof.Dr.Seçil ÖZKAN			
Prof.Dr.Cevriye TEMEL GENCER			
Prof.Dr. C. Haluk BODUR		KATILAMADI	
Prof.Dr.İbrahim DOĞAN			
Prof.Dr.Aymelek GÖNENÇ			
Doç.Dr.Zehra GÖÇMEN BAYKARA			
Doç.Dr.Nihan KAFA		KATILAMADI	
Doç.Dr.İlyas OKUR			
Doç.Dr.Necdet KARASU		KATILAMADI	

11. ÖZ GEÇMİŞ

Adı: Ağah

Soyadı: YENİÇERİ

Doğum Yeri ve Tarihi: Elbistan, 05.07.1990

Eğitimi:

- 2015-2020 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi
- 2008-2014 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
- 2004-2008 Elbistan Anadolu Lisesi

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Kuruluşlar: Türk Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Derneği

Bilimsel Etkinlikleri:

- Karamert R, Duzlu M, Tutar H, Ugur MB, Cebeci S, **Yeniceri A** et al. Surgical Management of Peripheral Facial Paralysis due to Temporal Bone Fractures. Gazi Medical Journal 2020; 31: 104-108
- **Yeniceri A**, Yılmaz M, Sahin MM, Tarlan B. Fonksiyonel Endoskopik Sinüs Cerrahisi Sonrası Pseudomonas Sinüzitine Bağlı Orbital Apeks Sendromu Olgu Sunumu. 41. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz Ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi. Antalya, 13-17 Kasım 2019
- Duzlu M, Karamert R, Tutar H, **Yeniceri A**, Eravcı FC, Ugur MB. Travmatik Periferik Fasiyal Paralizde Fasiyal Sinir Dekompresyon Sonuçlarımız. 9.

Koklear İmplantasyon Otoloji-Nörootoloji Odyoloji Kongresi. Antalya, 7-10 Aralık 2017

- Songur E, Önen Ç, Gökdoğan Ç, **Yeniceri A**, Yılmaz M. Disfonili Olgularda Ses Terapisinin Yaşam Kalitesine Etkisi. 10. Ulusal Larengoloji Kongresi. Ankara, Mayıs 2018
- 12. Uluslararası Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi. Ankara, Nisan 2016
- 3. Türk Rinoloji Kongresi ve 5. Ulusal Otoloji-Nörootoloji Kongresi ve 1. Ulusal Baş Boyun Cerrahisi Kongresi. Antalya, Mayıs 2017
- 39. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi. Antalya, Kasım 2017
- 13. Uluslararası Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi. Ankara, Nisan 2018
- 41. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi. Antalya, Kasım 2019

12. KABUL ve ONAY

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Sınav Tutanağı

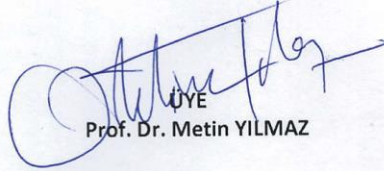
Adı ve Soyadı	Ağah YENİÇERİ
Baba Adı	Hacı MEHMET
Doğum Yeri/Tarihi	Elbistan 05/07/1990
Diploma Tarihi / Diploma No	30.06.2014-851
Mezun Olduğu Fakülte	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	Yıl: 5 Ay: 0
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

Uzmanlık tezinin adı: Oral kavite ve orofarinks skuamöz hücreli kanserlerde p16 ve hpv dna varlığının araştırılması, pd-l1 ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi, bu biyobelirteçlerin birbirleri arasındaki ilişkinin tespiti ve sağ kalım üzerine etkilerinin araştırılması.

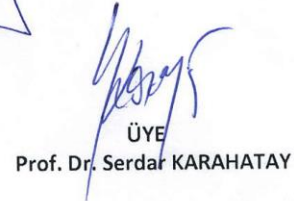
JÜRİ KARARI: Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir. Uzmanlık Sınavına girmeyi hak kazanmıştır.

JÜRİ ÜYELERİ;

BAŞKAN
Doç. Dr. Mehmet DÜZLÜ



ÜYE
Prof. Dr. Metin YILMAZ



ÜYE
Prof. Dr. Serdar KARAHATAY