



**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI  
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
HAMİDİYE ULUSLARARASI TIP FAKÜLTESİ  
KARTAL DR. LÜTFİ KIRDAR ŞEHİR HASTANESİ**

**TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ**

**TİMOMA VE TİMİK KARSİNOM VAKALARINDA PD-L1 VE  
SOX-2 EKSPRESYONUNUN KLİNİKOPATOLOJİK  
BULGULARLA İLİŞKİSİ**

**Dr. Hakan Öztürkçü**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**İSTANBUL 2023**





**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI  
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
HAMİDİYE ULUSLARARASI TIP FAKÜLTESİ  
KARTAL DR. LÜTFİ KIRDAR ŞEHİR HASTANESİ**

**TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ**

**TİMOMA VE TİMİK KARSİNOM VAKALARINDA PD-L1 VE  
SOX-2 EKSPRESYONUNUN KLİNİKOPATOLOJİK  
BULGULARLA İLİŞKİSİ**

**Dr. Hakan Öztürkçü**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aylin Ege Gül**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**İSTANBUL 2023**

## TEŞEKKÜR

*Patoloji eğitimimde hem bilgisi hem tecrübesi hem de yönlendiriciliğiyle her zaman yanımda olan, iyi birer patolog olabilmemiz için eğitim vurgusunu her zaman ön planda tutan, asistanlarına nitelikli eğitim verebilmek için koşulları olabildiğince zorlayan değerli Hocam Prof. Dr. Nagehan Özdemir Barışık'a,*

*Eğitimim süresince birlikte çalışmaktan her zaman memnun kaldığım, gerek mesleki bilgisi ve donanımı gerekse her zaman için hayata olumlu bakışının kendim için ders niteliğinde olduğunu düşündüğüm, tez sürecimde desteğini hep yanımda hissettiğim tez danışmanım ve değerli Hocam Prof. Dr. Aylin Ege Gül'e,*

*Gözden kaçabilecek küçük ama önemli ayrıntıların ne kadar da yanı başımızda olduğu vurgusunun bana uzmanlık eğitimimde hep yardımcı olacağını düşündüğüm, iyi bir insan, iyi bir eğitimci, saygıdeğer Hocam Doç. Dr. Sevinç Hallaç Keser'e,*

*Patoloji eğitimime başladığım ilk günden itibaren kendilerinden çok şey öğrendiğim, bilgi birikiminin çoğuna sebep olan, her birisi alanında kendisini geliştirmiş, öğrenme ve öğretme hevesi taşıyan tüm uzmanlarıma,*

*4 sene boyunca birlikte vakit geçirdiğimiz, kimi zaman beraber üzüldüğümüz çoğu zaman beraber güldüğümüz, birbirimize çok şey kattığımızı düşündüğüm sevgili asistan arkadaşlarıma,*

*Sekreterlikten, arşive kadar Patolojinin arka planında büyük sorumluluk üstlenen, doğru tanıya gitmede yol arkadaşlarımıza,*

*Her zorluk karşısında yanımda olan, varlık sebeplerim, hayatta en kıymetli hazinelerim olan Anne ve Babam'a ve zorlu geçen zamanlarımda destekçisi, motivasyon kaynağım sevgili Eşim'e ve biricik oğlum Salih'e*

*Teşekkürlerimle...*

***Dr. Hakan Öztürkçü***

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	iii
TABLO LİSTESİ .....	vi
ŞEKİL LİSTESİ .....	vii
ÖZET .....	ix
ABSTRACT .....	xii
GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
GENEL BİLGİLER .....	3
GEREÇ VE YÖNTEMLER .....	27
BULGULAR .....	32
TARTIŞMA .....	46
SONUÇLAR .....	53
KAYNAKLAR .....	54
EK.....	63

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>BMP4</b>	: Bone morphogenetic protein 4
<b>BT</b>	: Bilgisayarlı Tomografi
<b>CAIX</b>	: Carbonic anhydrase IX
<b>CD117</b>	: Cluster of differentiation 117
<b>CD205</b>	: Cluster of differentiation 205
<b>CD279</b>	: Cluster of differentiation 279
<b>CD34</b>	: Cluster of differentiation 34
<b>CD5</b>	: Cluster of differentiation 5
<b>CD8</b>	: Cluster of differentiation 8
<b>CK</b>	: Cytokeratin
<b>EMA</b>	: Epithelial membrane antigen
<b>EZH2</b>	: Enhancer of zeste homolog 2
<b>FDG</b>	: F-fluorodeoxyglucose
<b>FOXP1</b>	: Forkhead box N1
<b>FOX-O1</b>	: Forkhead box protein O1
<b>GLUT-1</b>	: Glucose transporter 1
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen & Eosin
<b>HIV</b>	: Human Immundeficiency Virus
<b>HMG</b>	: High mobility group
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	: Interferon gama
<b>Ig</b>	: Immunglobulin
<b>IL-3</b>	: Interleukin-3
<b>IRF9</b>	: Interferon regulatory factor 9
<b>ITMIG</b>	: International Thymic Malignancy Interest Group

<b>Kda</b>	: kilodalton
<b>KIT</b>	: Proto-oncogene c-KIT
<b>KT</b>	: Kemoterapi
<b>MEN</b>	: Multiple endocrine neoplasia
<b>NET</b>	: Nöroendokrin tümör
<b>NFAT</b>	: Nuclear factor of activated T-cells
<b>NK</b>	: Natural killer
<b>NOTCH</b>	: Neurogenic locus notch homolog protein 1
<b>NUT</b>	: Nuclear protein in testis
<b>P21</b>	: phosphorylation 21
<b>P27</b>	: phosphorylation 27
<b>P63</b>	: Tumor protein 63
<b>Pax-8</b>	: paired box gene 8
<b>PD-1</b>	: Programmed Death-1
<b>PD-L1</b>	: Programmed Death Ligand-1
<b>PET-CT</b>	: Positron Emission Tomography and Computed Tomography
<b>RT</b>	: Radyoterapi
<b>SCC</b>	: Squamous cell carcinoma
<b>SOX-2</b>	: SRY-Box Transcription Factor 2
<b>STAT6</b>	: Signal transducer and activator of transcription 6
<b>tdT</b>	: Terminal deoxynucleotidyl transferase
<b>TET</b>	: Timik epitelyal tümör
<b>Th1</b>	: T helper 1
<b>TNET</b>	: Timik Nöroendokrin tümör
<b>TNM</b>	: Tumor-Node-Metastasis
<b>TP53</b>	: Transformation-related protein 53

**WHO** : World Health Organisation



## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo-1:</b> Hastaların sosyodemografik özellikleri .....	32
<b>Tablo-2:</b> Hastaların klinik ve patolojik özellikleri .....	33
<b>Tablo-3:</b> Hastaların takip süreleri .....	34
<b>Tablo-4:</b> Hastaların mortalite durumları .....	34
<b>Tablo-5:</b> Hastaların tümör tiplerine göre PD-L1 skorlarının değerlendirilmesi .....	34
<b>Tablo-6:</b> Hastaların gruplanmış tümör tiplerine göre PD-L1 skorlarının değerlendirilmesi .....	35
<b>Tablo-7:</b> Hastaların sosyodemografik, klinik ve patolojik özellikleri ile PD-L1 ekspresyonunun karşılaştırılması .....	36
<b>Tablo-8:</b> Hastaların sosyodemografik, klinik ve patolojik özellikleri ile PD-L1 skorunun karşılaştırılması .....	37
<b>Tablo-9:</b> Hastaların Myastenia Gravis tanısıyla tümör özelliklerinin karşılaştırılması .....	39
<b>Tablo-10:</b> Hastaların sosyodemografik, klinik ve patolojik özellikleri ile tümör hücrelerinde SOX-2 ekspresyonunun karşılaştırılması .....	40
<b>Tablo-11:</b> Tümörlerin histolojik tipiyle Masaoka-Koga evresinin karşılaştırılması ...	41
<b>Tablo-12:</b> Hastaların aylara göre genel sağ kalım oranları .....	42
<b>Tablo-13:</b> Timomali hastalarda tek ve çok değişkenli analizlerle klinik ve moleküler patolojik faktörlerin sağ kalıma etkilerinin değerlendirilmesi .....	45

## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil-1:</b> Masaoka-Koga Evreleme Sistemi .....	6
<b>Şekil-2:</b> İğsi hücre morfolojisinde tip A timoma olgusu (H&E, x100) .....	9
<b>Şekil-3:</b> Fasikülleşen demetler içeren tip A timoma olgusu (H&E, x200) .....	10
<b>Şekil-4:</b> Tip A timoma olgusunda Hemanjioperistomatöz damar paterni (H&E, x40) .....	10
<b>Şekil-5:</b> Tip AB timoma olgusunda resmin sol üst köşesinde A komponenti sağ alt köşesinde B komponenti (H&E, x40) .....	12
<b>Şekil-6:</b> Tip B1 Timoma'da lenfositten yoğun zeminde kümeleşme yapmayan tek tek dağılım gösteren epitelyal tümör hücreleri (H&E, x200) .....	14
<b>Şekil-7:</b> Tip B2 Timoma olgusunda zeminde immatür lenfositler ve tabakalanma yapmış tümör hücreleri (H&E, x200) .....	16
<b>Şekil-8:</b> Tip B2 Timoma olgusu (H&E, x200) .....	16
<b>Şekil-9:</b> Tip B3 Timoma olgusunda zeminde tek tük immatür lenfosit ve tabakalanma yapan epitelyal tümör kümelenmeleri (H&Ex40) .....	19
<b>Şekil-10:</b> Çevre dokuya infiltratif yayılım gösteren timik karsinom olgusu (H&E, x100) .....	20
<b>Şekil-11:</b> Timik karsinom olgusunda düzensiz şekilli infiltratif epitelyal tümör adaları (H&E, x40) .....	21
<b>Şekil-12:</b> Tümör hücresi ve T lenfosit hücresinde PD-1/PD-L1 etkileşimi ve inhibisyonu .....	25
<b>Şekil-13:</b> Tip B2 Timoma vakasında inkomplet orta şiddette PD-L1 boyanması (İHK x400) .....	29
<b>Şekil-14:</b> Tip B3 Timoma vakasında komplet kuvvetli şiddette PD-L1 boyanması (İHK x100) .....	29

<b>Şekil-15:</b> Tip B3 timoma vakası PD-L1’de komplet membranöz boyanma (İHKx400) .....	29
<b>Şekil-16:</b> Solda endotel hücrelerinde, sağda ise tümör hücrelerinde orta şiddette nükleer SOX-2 boyanması (İHK x200) .....	30
<b>Şekil-17:</b> Hastaların yaş grubu ile PD-L1 skorunun karşılaştırılması .....	38
<b>Şekil-18:</b> Hastaların Myastenia Gravis tanısı ile PD-L1 skorunun karşılaştırılması .....	38
<b>Şekil-19:</b> Timoma tanısından itibaren genel sağ kalım grafiği .....	41
<b>Şekil-20:</b> PD-L1 ekspresyon durumuna göre Kaplan-Meier sağ kalım eğrisi .....	42
<b>Şekil-21:</b> Tümör hücresinde SOX-2 boyanması durumuna göre Kaplan-Meier sağ kalım eğrisi .....	43
<b>Şekil-22:</b> Tümör boyutuna göre Kaplan-Meier sağ kalım eğrisi .....	43
<b>Şekil-23:</b> Myastenia Gravis tanısına göre Kaplan-Meier sağ kalım eğrisi .....	44
<b>Şekil-24:</b> Masaoka-Koga evresine göre Kaplan-Meier sağ kalım eğrisi .....	44

## ÖZET

**Amaç:** Tümör hücreleri, tümör büyümesini ve progresyonunu desteklemek için konak dokularında önemli moleküler, hücresel ve fiziksel değişiklikleri uyarır. Bu ise tümör mikroçevresi olarak adlandırılmaktadır. Tümör mikroçevresi; hedefe yönelik tedaviyi belirlemede, tedavi etkinliği ve prognoz tayininde son dönemlerde üzerinde sıkça çalışma yapılmakta olan bir alandır. Yapılan son çalışmalarda; immünojenik kontrol eksikliğinin, karsinogenezde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. PD-1 ve ligandı olan PD-L1, tümörün immün yanıtta kaçışında ve tümör mikroçevresinin oluşumunda önemli bir rol oynamaktadırlar. PD-1/PD-L1 yolağının inhibe edilmesiyle endojen anti-tümör immün cevabının artırılabilirliği tespit edilmiştir. PD-L1'in başta küçük hücreli dışı akciğer karsinomları olmak üzere birçok kanser türünde etkinliği araştırılmaktadır. Timoma ve timik karsinomlardaki PD-L1 ekspresyon düzeyinin klinikopatolojik parametrelerle ilişkisinin belirlenmesi, tedavi alabilecek uygun hasta popülasyonunu tayin etmede ileriye dönük klinik ve patolojik çalışmalar için yönlendirici olacağını düşünmekteyiz

Kanser kök hücreleri; tümör başlatma yeteneği, kendini yenileme ve farklılaşma özelliklerine sahip küçük bir hücre popülasyonudur. SOX2 ise, gelişim süreçlerinde embriyonik kök hücre pluripotensinin korunmasında yer alan bir transkripsiyon faktörüdür. Akciğer, meme ve kolorektal kanser gibi bazı kötü farklılaşmış kanser alt tiplerinde aşırı eksprese edildiği tespit edilmiştir. SOX2'nin bu kanserlerde sadece bir prognostik gösterge olmadığı aynı zamanda T hücreleri ile etkileşiminin T hücre bazlı immünoterapi için bir aday olduğu yönünde çalışmalar mevcuttur. Timoma ve timik karsinomlarda SOX2 ekspresyonunun agresif klinik gidişle ilişkili olabileceği ancak

bu yönde çalışmalara ihtiyaç olduğu vurgulanmaktadır. Çalışmamızda aynı zamanda timoma ve timik karsinom olgularındaki SOX2 ekspresyon düzeyinin prognostik faktör olup olmadığını değerlendirmeyi amaçladık.

**Materyal ve Metod:** Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi'nde 2013-2022 yılları arasında timoma ve timik karsinom tanısı almış 63 olguya ait seçilmiş parafin bloklardan hazırlanan kesitlere immünohistokimyasal yöntem ile SOX2 ve PD-L1 antikoru uygulanmıştır. SOX2 ve PD-L1 ekspresyonu ile sağ kalım, myastenia gravis olup olmadığı gibi klinik parametreler, demografik özellikler (yaş, cinsiyet) ve histopatolojik bulgular (histolojik tip, kapsül ve kapsül dışı invazyon, enkapsülasyon varlığı, tümör boyutu, cerrahi sınır) arasındaki ilişki araştırılmıştır. Klinikopatolojik bulguların değerlendirilmesinde ki kare veya fisher-2 doğruluk testi, survi analizi için Kaplan-Meier yöntemi kullanılacaktır. P değeri<0.05 istatistiksel olarak anlamlılık düzeyi olarak kabul edilecektir.

**Bulgular:** Tümör tipleri değerlendirildiğinde en sık saptananlar sırasıyla %26,98 (n=17) Tip B2, %25,40 (n=16) Tip B1, %22,22 (n=14) Tip B3'tür. Hastaların tümör tiplerine göre PD-L1 skorları değerlendirildiğinde; en yüksek skora sahip tümör tipleri sırasıyla Tip B3 (3,07±2,43), Tip B2 (2,90±2,08) olarak saptandı. Araştırmada 50 yaş altındakilerin, RT ya da KT alanların ve Myastenia Gravis tanısı olanların PD-L1 skoru istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Çok değişkenli analizde ise RT ya da KT almış olmak ve Myastenia tanısının sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olumlu etki ettiği gösterildi. Hastaların sosyodemografik, klinik ve patolojik özellikleri ile SOX-2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

**Sonuçlar:** Yüksek PD-L1 ekspresyonunun agresif tümör histolojisi ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Anti-PD-L1 immünoterapilerin Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırmasına göre ileri histolojili vakalarda cerrahi ve neoadjuvan kemoradyoterapiye ek olarak tedavi modalitelerine eklenebileceği düşünülmektedir. Anti-PD-L1 tedaviye aday olabilecek hastaların seçiminde yaş ve myastenia gravis varlığının tedaviye yanıtı öngörmede bir kriter olabileceği saptanmıştır. SOX-2'nin prognoz tayininde ve tümör agresifliğini göstermede uygun bir immünohistokimyasal belirteç olduğu düşünülmemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Timoma, Timik Epitelyal Tümörler, PD-L1, SOX-2, Sağ Kalım

## **ABSTRACT**

**Aim:** Tumor cells induce important molecular, cellular and physical changes in host tissues to support tumor growth and progression This is called the tumor

microenvironment. Tumor microenvironment is an area that has been frequently studied in determining targeted therapy, treatment efficiency and prognosis. In recent studies, lack of immunological control has been shown to play an important role in carcinogenesis. PD-1 and its ligand PD-L1 play an important role in the escape of tumor from the immuno response and in the formation of tumor microenvironment. It has been determined that the endogenous anti-tumor response can be increased by inhibiting the PD-1/PD-L1 pathway. The efficacy of PD-L1 in many cancer types, especially in non-small cell lung cancer, is being investigated. We think that determining the relationship of PD-L1 expression in thymic epithelial tumors with clinicopathological parameters will be a guide for prospective clinical and pathological studies to determine the appropriate patient population that can receive targeted therapy.

Cancer stem cells is a cell population having tumor initiating ability, self-renewal and differentiation capacity. Sox-2 is a transcription factor involved in the maintenance of embryonic stem cell pluripotency during developmental processes. It has been found to be overexpressed in some poorly differentiated cancer subtypes such as lung, breast and colorectal cancer. There are some studies that SOX2 is not only a prognostic indicator in these cancers, but also its interaction with T cells is a candidate for T cell-based immunotherapy. It is emphasized that Sox-2 expression in thymic epithelial tumors may be associated with aggressive clinical course, but studies in this direction are needed. In our study, we also aimed to evaluate whether Sox-2 expression level in thymoma and thymic carcinoma cases is a prognostic factor or not.

**Material and Methods:** Totally 63 thymoma and thymic carcinoma cases diagnosed in University of Health Sciences Dr. Lutfi Kırdar City Hospital between 2013-2022 years were recruited. Sox-2 and PD-L1 antibodies were applied to the selected preparations by immunohistochemical method. The relationship between Sox-2 and PD-L1 and clinical parameters such as survival, presence of myasthenia gravis, demographic characteristics (age, gender) and histopathological findings (tumor subtype, presence of encapsulation, capsule and extracapsular invasion, tumor size and surgical margin) were investigated.

**Results:** When evaluating, the most common tumor types were 26.98% (n=17) Type B2, 25.40% (n=16) Type B1, 22.22% (n=14) Type B3. When PD-L1 scores of the patients were evaluated according to tumor types; The tumor types with the highest scores were determined as Type B3( $3.07 \pm 2.43$ ) and Type B2( $2.90 \pm 2.08$ ) respectively. In the study, the level of PD-L1 found to be high in people aged lower than 50 years, those with receiving RT or KT treatment, and those with Myasthenia Gravis. In multivariate analysis, on the other hand, it is seen that receiving RT or KT and presence of Myasthenia gravis had an effect on overall survival. No comprehensive correlation was found between the sociodemographic, clinical and pathological characteristics of the patients and immunohistochemical expression of Sox-2

**Conclusion:** High PD-L1 expression was found to be associated with aggressive tumor histology. It is thought that anti-PD-L1 immunotherapies can be applied together with surgical treatment in cases with advanced histology according to the World Health Organization classification. It is thought that age and the presence of myasthenia gravis can be considered in the selection of patients who can be candidates for anti-PD-L1 therapy. Sox-2 is not thought to be a suitable immunohistochemical marker for determining prognosis and demonstrating tumor aggressiveness.

**Keywords:** Thymoma, Thymic Epithelial Tumors, PD-L1, SOX-2, Survival

## GİRİŞ VE AMAÇ

Timik epitelyal neoplaziler nadir bir tümör grubu olmakla birlikte ön mediasten yerleşimli tümörlerin çoğunluğunu oluşturmaktadır. İnsidansı 0.13-0.26/100000'dir(1). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2020 Toraks tümörleri sınıflandırmasına göre histolojik olarak timomalar ve timik karsinomlar olmak üzere iki ana başlık altında değerlendirilmektedir. Timomalar morfolojik özellikleri birbirinden farklı olan Tip A, Tip AB, Tip B1, Tip B2 ve Tip B3 timomalar ve daha nadir görülen birkaç subtipden oluşmaktadırlar. Timik karsinom ise çoğunluğunu skuamöz hücreli karsinomun oluşturduğu ve daha nadir görülen subtipler içeren, timomalara göre insidansı daha düşük olan tümörlerdir.

Timik epitelyal tümörlerin (TET) tedavisi total eksizyondur. İleri evre hastalıkta adjuvan veya neoadjuvan radyoterapi/kemoterapi tercih edilebilmektedir(2). İleri evre timoma ve timik karsinom olgularında subtotal eksizyona veya lokal/uzak metastaza bağlı nüksler görülebilmektedir(3). Bu olgularda standart cerrahi + neoadjuvan tedaviye rağmen sağ kalım oranları düşüktür. Bu nedenle yeni terapi olanaklarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Standart tedavi yöntemlerine ek olarak birçok kanser türünde yeni tedavi modaliteleri denenmektedir. Tümör mikroçevresi ise bu araştırmaların odak noktasını oluşturmaktadır(4). PD-1/PD-L1 mekanizması tümörlerin konak bağışıklık yanıtından kaçmasında anahtar bir rol oynamaktadır(5). PD-1/PD-L1 yolağının inaktivasyonu başta küçük hücreli dışı akciğer karsinomu olmak üzere, malign melanom, böbrek kanserleri gibi tümörlerde tedavi seçenekleri arasında yer almaktadır(6). Yapılan klinik çalışmalar bu hastalarda PD-L1 inhibitör ajanlarının kullanımı durumunda olumlu sonuçlar alındığını göstermektedir(7). Çalışmamızda timoma subtipleri ve timik karsinom olgularının PD-L1 inhibitörleriyle tedaviye yanıtını öngörmemize olanak sağlayacak şekilde bu olguların PD-L1 ekspresyon düzeylerini ve klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini incelemeyi ve literatürde bu yönde yapılan çalışmalara(8) hem katkı sağlamak hem de birbirinden farklı sonuç veren histolojik tiplere göre PD-L1 ekspresyon düzeyi, PD-L1 ekspresyonu ile genel sağ kalım arasındaki ilişki gibi parametrelere dair bir açıklama getirmeyi amaçladık.

Tümör mikroçevresi gibi kanser kök hücresi kavramı ve bununla ilişkili süreçler de son zamanlarda üzerinde sıklıkla çalışma yapılan bir alandır(9). SOX2 ise, gelişim süreçlerinde embriyonik kök hücre pluripotensinin korunmasında yer alan bir transkripsiyon faktörüdür. Akciğer, meme ve kolorektal kanser gibi bazı kötü farklılaşmış kanser alt tiplerinde aşırı eksprese edildiği tespit edilmiştir(10). SOX2'nin bu kanserlerde sadece bir prognostik gösterge olmadığı aynı zamanda T hücreleri ile etkileşiminin T hücre bazlı immünoterapi için bir aday olduğu yönünde çalışmalar mevcuttur(11). TET'lerde ise SOX-2 ekspresyonunun prognostik önemi açısından yapılan kısıtlı sayıda çalışma vardır(12). Literatür taramasında ülkemizde bu alanda yapılan çalışma yoktur. Bu nedenle çalışmamızda TET vakalarında SOX-2 ekspresyon düzeyinin klinikopatolojik verilerle korelasyonunu saptamaya, geliştirilecek immünomodülatör tedavilere destek sağlayabilecek verilerin tespitine çalıştık.

## GENEL BİLGİLER

### Timusun Histolojisi

Timus bezi, bağ dokusu trabeküllerinden kaynaklanan fibröz kapsülle çevrelenmiş lobüle yapıda lenfoid bir organdır. Trabeküller timus içerisine uzanır ve çok sayıda inkomplet lobulus oluşturur. Her lobül hematoksilen- eozin kesitlerde koyu renkli görünen bir dış korteks ve daha açık renkli görünen bir iç medulladan oluşur. Kan damarları bağ doku kapsülü aracılığıyla timus bezine geçer. Her lobülün korteksi lenf nodülleri oluşturmayan yoğun şekilde paketlenmiş lenfositler içerir. Buna karşılık medullada daha az lenfosit daha fazla epitelyal retiküler hücre bulunur. Medulla ayrıca timus bezini karakterize eden çok sayıda Hassall korpüskülü içerir.

Timus bezinin histolojisi bireyin yaşına göre değişir. Timus en belirgin gelişimini doğumdan kısa bir süre sonra elde eder. Ergenlik döneminde, timus involusyon göstermeye başlar. Sonuç olarak, lenfosit üretimi azalır ve timik (Hassall) korpüskülleri daha belirgin hale gelir, timüs parankimi yerini yavaş yavaş gevşek bağ dokusu ile değişir.

### Timusun Fizyolojisi

Timus erken çocukluk döneminde bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynar. Esas görevi antijenlere karşı yanıt veren çeşitli T hücre gruplarının üretimidir. Andiferansiye lenfositler kemik iliğinden kan yoluyla timusa taşınır. Timik kortekste epitelyal retiküler hücreler lenfositleri çevreler ve lenfositlerin differansiasyon, proliferasyon ve maturasyonunu tetikler. Burada, lenfositler immünkompetant T hücrelerine (sitotoksik T hücreleri, yardımcı T hücreleri) matüre olup antijen tanımada görevli yüzey reseptörlerini edinirler. Yeni oluşan lenfositlerin; makrofajlar, endotel hücreleri, epitelyal retiküler hücreler tarafından oluşturulan fiziksel bir kan-timus bariyeri ile kan yoluyla taşınan antijenlere maruz kalması engellenir. Kapiller dışında yerleşim gösteren makrofajlar, kan damarlarında taşınan maddelerin kortekste gelişen T hücreleri ile etkileşime girmemesini ve vücudun kendi hücrelerine veya dokularına karşı bir otoimmün tepki oluşturmamasını sağlar. Matürasyondan sonra, T hücreleri

kan dolaşımı yoluyla timusu terk eder ve lenf nodlarını, dalağı ve diğerk timusa bağımlı lenfatik dokuları doldurur.

T hücrelerinin maturasyon ve seçimi, T hücrelerinin pozitif ve negatif seçimini içeren çok karmaşık bir süreçtir. Timusta üretilen lenfositlerin yalnızca küçük bir kısmı tam maturasyona ulaşır. Kortekste maturasyon ilerledikçe antijen sunan hücrelerce (APC) self ve yabancı antijenler T lenfositlere sunulur. Self-antijenleri tanıyan T lenfositler makrofajlar tarafından elimine edilirler (negatif seleksiyon). Seleksiyona uğrayan bu tip T lenfositler toplam popülasyonun %95'ini oluşturur. Yabancı antijenleri tanıyan T lenfositler yaşar (pozitif seleksiyon), matüre olur, korteksten medullaya ve daha sonra kan dolaşımına katılır.

Kan-timus bariyerini oluşturmaya ek olarak, epitelyal retiküler hücreler, T hücrelerinin çoğalması, farklılaşması ve olgunlaşması ve yüzey belirteçlerinin ekspresyonu için gerekli olan medyatörleri salgılar. Timulin, timopoetin, timosin, timik humoral faktör, interlökinler ve interferonlar bu medyatörlerdendir. Ayrıca epitelyal retiküler hücreler timusu tanımlamada karakteristik yapılar olan belirgin girdapsı yapılar olan timik (Hassall) korpüskülleri oluştururlar.

Puberteden sonra timüs involusyona uğrar, adipoz dokuyla yer değiştirir ve sonuç olarak T hücre üretimi azalır. Bu aşamada, T lenfosit oluşumu sağlandığı için immünite yeni T- lenfosit üretimi olmaksızın sürdürülebilmektedir. Yenidoğanda timüs agenezisi; lenfoid organlar immun-kompetan T hücreleri alamayacağı ve kişi patojenlerle savaşacak immunolojik yeterliliğe sahip olamayacağı için ölümle sonuçlanır.

### **Timomalar**

Timik epitelyal tümörler; timomalar, timik karsinomlar ve timik nöroendokrin tümörleri içermektedir. Timomalar; mediastinal ya da ektopik timustan kaynaklanan, timus benzeri organoid differansiasyon gösteren, lobüler büyüme paterni, perivasküler boşluk ve intratümöral infiltrasyon yapan immatür T lenfositleri ile karakterize tümörlerdir.

## **Epidemiyoloji**

Timomalar yıllık yaklaşık 100.000'de 0.13-0.26 vaka insidansına sahiptir (13). En sık 5. ve 6. dekada görülürler. Çocuklarda oldukça nadirdir. Kadınlarda hafifçe erkeklerden daha fazla oranda görülür. Yetişkinlerde timik epitelyal tümörler mediastinal tümörlerin %25-30'unu oluştururlar. Timik epitelyal tümörlerin %75-85'i timomalar, %14-22'si timik karsinomlar, %5'inden azını ise timik nöroendokrin tümörler oluşturur(14,15). Çocuklarda, timik epitelyal tümörler torasik tümörlerin %1'inden azını oluşturur ve timomalar timik karsinomlardan hafifçe daha fazla görülür (16).

## **Etiyoloji ve Patogenez**

Timoma oluşumunu tetikleyen bilinen herhangi bir çevresel faktör yoktur(17). Timik karsinoma benzer şekilde, timomalar nadiren timik kist duvarından orijin alabilirler(18). Radyasyon, transplantasyon ve HIV enfeksiyonu sonrası timoma gelişimi muhtemelen yalnızca bir denk gelmedir(19). Familial timoma kümelenmesi ya da kanser duyarlılık sendromları (Lynch Sendromu, MEN tip 1 vb.) nadir görülür(20). Timomalı hastalarda, kontrollere kıyasla, senkron veya metakron ikinci solid veya hematopoyetik malignite geliştirme riski 3-4 kat daha fazladır. Bu kanser duyarlılığının genetik mi yoksa immün yetmezlikle ilgili bir temeli mi olduğu bilinmemektedir(21). B3 tipi timomalar ve timik skuamöz hücreli karsinom arasındaki genetik örtüşme, birincinin ikincisine evrimleşebileceğini düşündürür(22).

## **Klinik Davranış**

Timoma hastaları çoğunlukla asemptomatiktir veya kitle lezyonuna, otoimmün hastalıklara veya timoma ile ilişkili immün yetmezliklerin komplikasyonlarına atfedilebilen semptomlarla başvurur. Timoma kaynaklı otoreaktif efektör T hücreleri(23) ve kusurlu düzenleyici T hücreleri(24) nedeniyle, timoma hastalarının %30-50'sinde ameliyat öncesi veya sonrası otoimmün hastalıklar gelişir, ancak timik karsinomlarda nadiren görülür. Myastenia gravis, timoma hastalarında en sık görülen otoimmün hastalıktır ve en sık timopoetik olarak aktif tip AB, B1 ve B2 timomalarda (%25-40) ortaya çıkar(25). Diğer organa özgü ve sistemik otoimmün hastalıklar, myastenia gravis ile birlikte veya onsuz ortaya çıkabilir(26). Bunlar;

otoimmün B ve T-hücreli lenfopenileri, hipogamaglobulinemi (Good sendromu), anti-sitokin otoantikoları ve timoma kaynaklı işlevsiz T hücrelerinden kaynaklanan immün-yetmezlik durumları olup sıklıkla yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara yol açarlar. Çocuklarda otoimmün hastalıklar yetişkinlere göre daha nadirdir, ancak spektrum benzerdir(27).

### **Görüntüleme**

Timomalar genellikle iyi sınırlı, yuvarlak veya lobüle ve homojendir, ancak heterojenite, kalsifikasyonlar ve kistik değişiklikler görülebilir. BT, çevredeki organlara ve uzak metastazlara invazyonu saptayabilir, ancak WHO'nun timoma alt tiplerini güvenilir bir şekilde ayırt edemez. FDG PET-CT, timik epitelyal tümörler için rutin olarak kullanılmaz, çünkü bazı timomalar yüksek FDG alımı sergilemez. Bununla birlikte, tip B3 timomalar ve timik karsinomlarda çok daha yüksek FDG tutulumu görülür(28).

### **Evreleme**

Tüm timik epitelyal tümörler, Uluslararası Kanser Kontrol Birliği (UICC)/Amerikan Ortak Kanser Komitesi (AJCC) tarafından yakın zamanda onaylanan TNM sistemine göre evrelendirilmelidir(29). İsteğe bağlı olarak, Masaoka-Koga sistemi paralel olarak kullanılabilir(30) (Şekil 1).

Masaoka-Koga Evreleme Sistemi	
Evre I	Kapsül içinde
Evre IIa	Kapsüle mikroskobik invazyon
Evre IIb	Mediastinel yağlı dokuya makroskopik invazyon
Evre III	Perikard, büyük damar, akciğer invazyonu
Evre IVa	Plevral/perikardiyal diseminasyon
Evre IVb	Lenfatik/hematojen metastaz

**Şekil 1:** Masaoka-Koga Evreleme Sistemi

**Tanı yaklaşımları: İmmünohistokimya ve Moleküler Çalışmalar**

Timik epitelyal tümörlerin çoğu tanı için immünohistokimyasal veya moleküler çalışmalar gerektirmez. Ancak Tip A timomaların diğer iğsi hücreli tümörlerden ayrımı için yardımcı testler gerekebilir. Tip B1 timoma ve lenfoblastik lenfoma arasında ayırım için; veya atipik tip A timomaları iğsi hücre morfolojisi içeren Tip B3 timomadan, timik skuamöz hücreli karsinomdan ve timik NET'lerden ayırımda yardımcı testler kullanılabilir. Bazı AB tipi timomaları A tipi timomalardan ayırt etmek için tümördeki immatür T hücrelerinin miktarını belirlemek için immün boyama gerekli olabilir.

### **Prognoz ve Prediktif Belirteçler**

İnvazyon ve metastaz potansiyelleri nedeniyle, tüm timoma tipleri potansiyel olarak malign olarak kabul edilir. 10 yıllık genel sağkalım oranları, tip A, AB ve B1 timomalarda %80-100, tip B2 ve B3 timomalarda %60-80(31), timik karsinomlarda ve TNET'lerde %40'a kadar değişmektedir(14).

Çoğu çalışma, Masaoka-Koga evresinin timomalarda(32) ve timik karsinomlarda(30) genel sağkalım için en önemli prognostik faktör olduğunu, ancak TNET'lerde(15) olmadığını göstermiştir. TNM temelli patolojik evreleme de önemli prognostik değere sahipken(33), tümör boyutu ile prognoz arasında ilişki saptanmamıştır(33). Çok değişkenli analizde, WHO timoma tipinin, nüksüz sağkalım için bağımsız bir prognostik belirteç olduğu(34) fakat tüm sağ kalım için olmadığı saptanmıştır(32).

Moleküler belirteçlerle ilgili olarak; GTF2I p.L424H mutasyonu varlığı, hastalısız ve genel sağ-kalım ile ilişkili bulunmuştur(35). Yüksek tümör mutasyon yükü, kromozomal instabilite ve TP53 mutasyonlarının varlığı, olumsuz prognozla ilişkilidir(35). Timik epitelyal tümörler için değerlendirilmekte olan diğer prognostik biyobelirteçler arasında SOX2 ve CAIX (CA9) ekspresyonu da yer alır(36). Timomalı hastalarda sağkalımı tahmin etmek ve metastaz geliştirme riskini belirlemek için gen imzası tespitine yönelik girişimlerde bulunulmuştur(37).

Tedaviye bağlı faktörler açısından, timomalarda(31,32), timik karsinomlarda(15) ve TNET'lerde(14) tam rezeksiyon prognostik açıdan önemlidir. Adjuvan radyoterapi, ileri evre timomalarda(32) ve timik karsinomlarda(15) olumlu bir prognostik faktördür. Diğer paraneoplastik otoimmün hastalıkların aksine,

myastenia gravis olumsuz bir prognostik değere sahip değildir veya muhtemelen daha erken tümör tespiti nedeniyle olumlu bir prognostik değere sahip olabilir(26).

Hedefe yönelik tedavilere rehberlik edecek doku bazlı öngörücü belirteçler, timik karsinomlarda KIT inhibitörlerine yanıtları öngören nadir görülen KIT mutasyonlarının olası istisnası dışında, timik epitelyal tümörlerde tanımlanmamıştır (38). PD-L1 ve PD-1, timik karsinom olgularında görece daha az, çoğu timoma olgusunda güçlü bir şekilde eksprese edilmesine rağmen(8,39) immün kontrol noktası inhibitörlerine verilecek yanıtı tahmin etmede yetersiz kalmaktadırlar (40).

### **Tip A Timoma**

Tip A timoma, az sayıda veya hiç immatür lenfosit içermeyen, genellikle iğsi/oval tümör hücrelerinden oluşan, değişken büyüme paternli bir timik epitelyal neoplazmdir.

### **Klinik Özellikler**

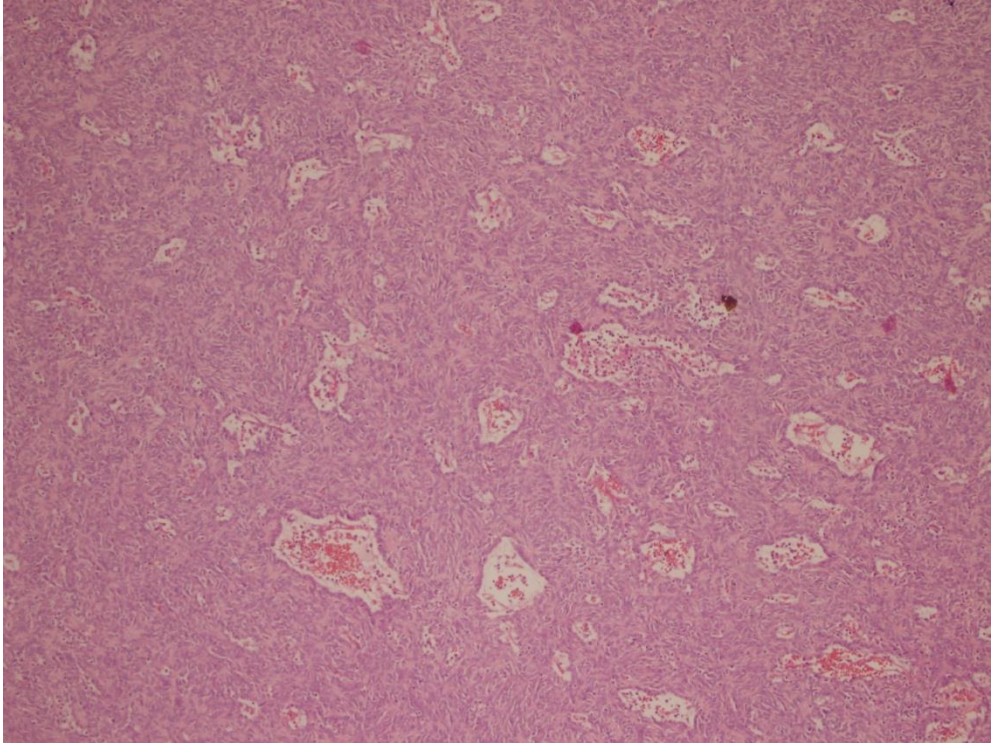
Tip A timomalı vakaların yaklaşık %17-26'sı myastenia gravis ile prezente olurlar. Geri kalanı kitle semptomları veya görüntülemeye insidental olarak saptanırlar(41). Tip A Timoma vakalarına sınırlı olmasa da pür kırmızı hücre aplazisi ile de birliktelik gösterirler(42).

### **Epidemiyoloji**

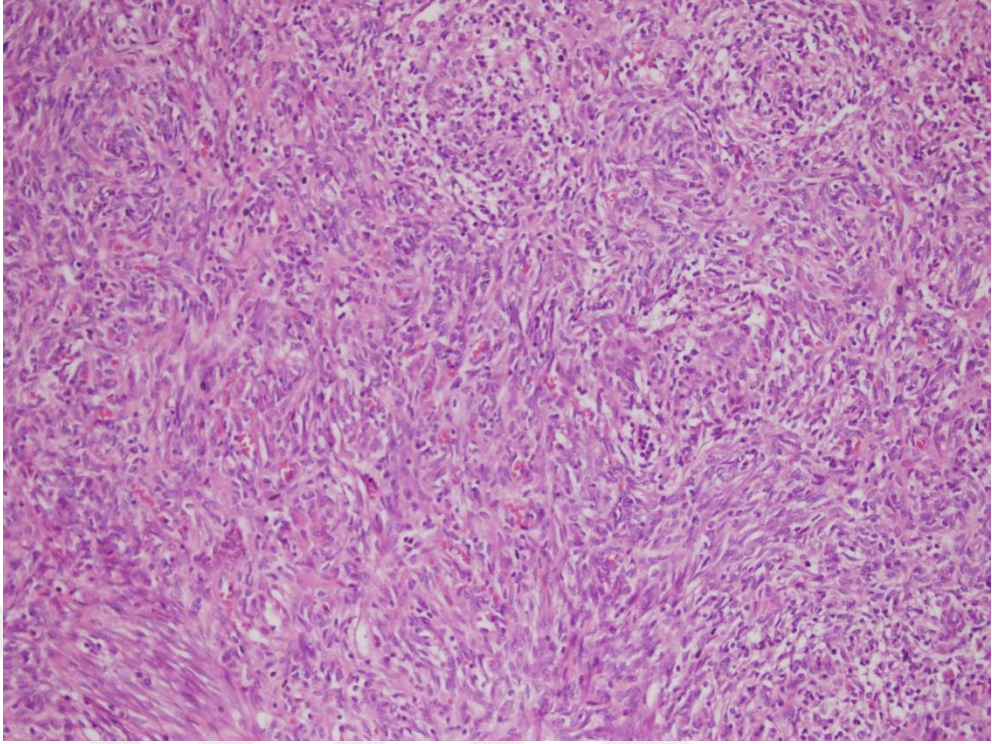
Tip A timoma 2400'den fazla timoma vakasının değerlendirildiği geniş katımlı uluslararası bir çalışmaya göre timoma vakalarının nadir bir subtipini temsil etmektedir(43). Hastalar 8-88 yaş aralığında tespit edilmiştir (Diğer timoma subtiplerine kıyasla daha ileri yaş prezentasyonu). Hafif bir kadın cinsiyet baskınlığı saptanmıştır(41).

### **Histopatoloji**

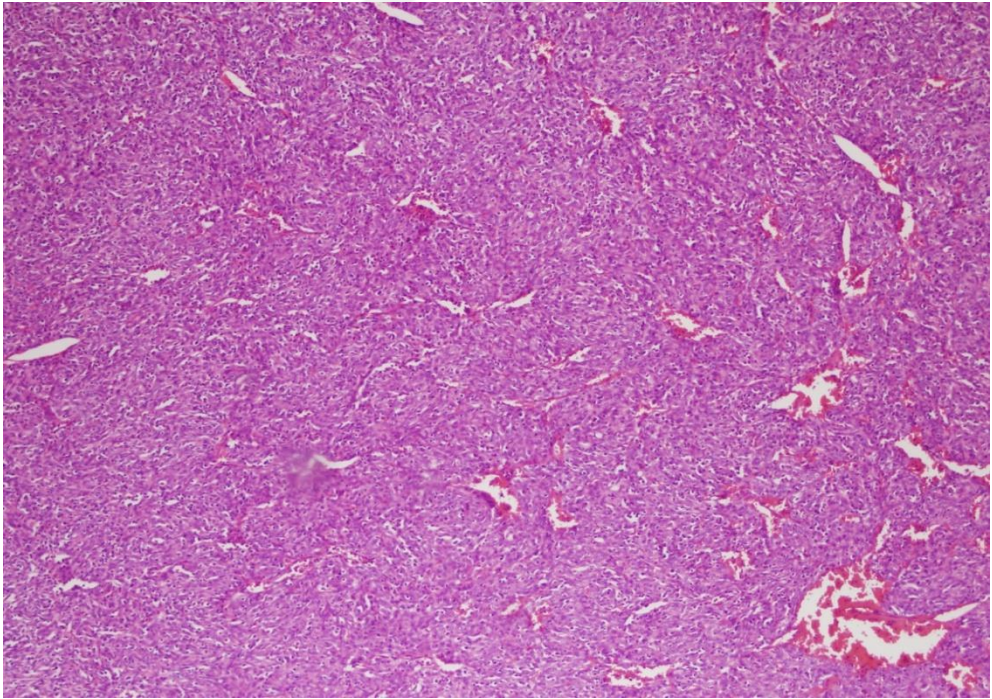
Tümörler tipik olarak komplet ya da inkomplet fibröz kapsül ile çevrilidir. Kapsülden tümör içerisine uzanan kalın bantlar ile lobüllere ayrılmışlardır. Mikrokistik değişiklikler subkapsüler alanda daha belirgin olmak üzere saptanabilir. Tümör sıklıkla fasiküler, hemanjioperistomatöz (Şekil 4) ya da storiform büyüme paterni sergiler (Şekil 3). Diğer karakteristik büyüme paternleri; santral lümen içeren içermeyen rozet formasyonları, glandüler veya glomerüloid yapılar, meningiom benzeri girdapsı yapılarıdır. Bu paternlerin birden fazlası aynı tümörde görülebilir. Perivasküler boşluklar diğer tip timomalara göre daha az sıklıkla bulunur. Hassall korpüskülleri bulunmaz. Tümör hücreleri iğsi ve/veya oval şekilli, dağınık kromatinli, nükleol belirginliği göstermeyen hücrelerdir (Şekil 2). Mitotik aktivite düşüktür (sıklıkla  $< 4$  mitoz/  $2\text{mm}^2$ ). Tümör hücreleri arasında hemen hemen hiç veya çok az immatür lenfosit olmalıdır. Eğer Tip A'ya benzer tümör morfolojisi gösteren bir vakada herhangi bir lenfosit yoğun alan (tek tek sayılamayacak kadar) veya %10'dan daha fazla tdT pozitif immatür T hücresi bulunursa Tip AB timoma tanısı verilir.



**Şekil 2:** İğsi hücre morfolojisinde tip A timoma olgusu (H&E, x100)



**Şekil 3:** Fasikülleşen demetler içeren tip A timoma olgusu (H&E x200)



**Şekil 4:** Tip A timoma olgusunda hemanjioperistomatöz damar paterni (H&Ex40)

### **Ayırıcı Tanı**

İnce iğne biyopsilerinde Tip A timomanın ayırıcı tanısı zorluk oluşturabilir. Mediasten yerleşimli iğsi hücreli bir tümör olarak; ayırıcı tanısına soliter fibröz tümör(CK -, STAT6+, CD34+) ve sinovyal sarkom (CK -/+, SS18-SSX+) girer.

### **Prognoz**

Tip A timomalı hastaların yaklaşık %20'si Masaoka sınıflandırmasına göre evre II ve III tümöre sahip olmalarına rağmen 5 ve 10 yıllık sağ kalımları %100'e yakındır (44). Tümörün total eksizyonunda lokal nüks ihtimali oldukça düşüktür(45). Yine de lokal nüks veya metastaz gösteren olgular bildirilmiştir(46).

### **Tip AB Timoma**

Tip AB timoma; değişen oranlarda lenfositten fakir iğsi hücre (Tip A) komponenti ve çok sayıda immatür T hücrelerinden oluşan lenfositten zengin (Tip B benzeri) komponent içeren timik epitelyal neoplazidir.

### **Klinik Özellikler**

Diğer timoma tipleri gibi sıklıkla paraneoplastik otoimmün hastalıklarla beraberlik gösterir. (Bu hastalık grubu içerisinde en sık myastenia gravis olmak üzere) Tip AB vakalarının %18-25'ine myastenia gravis eşlik etmektedir. Paraneoplastik pür kırmızı hücre aplazisi de eşlik edebilmektedir(31). Diğer hastalar kitle bulgusu veya görüntüleme insidental olarak saptanmaktadır.

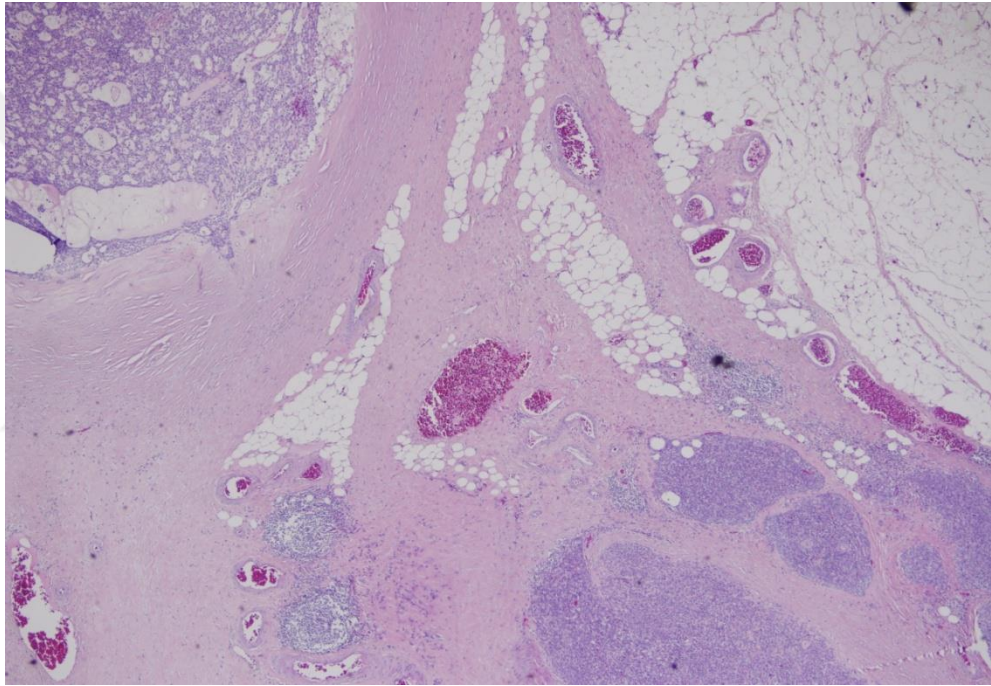
### **Epidemiyoloji**

Tip AB timoma, tüm timoma vakalarının %25'ini oluşturan en sık görülen subtiplerden biridir. Hastalığın başlangıç yaşı ortalama 57'dir (11-89 yaş). Hafif kadın predominansı mevcuttur(41).

### **Histopatoloji**

Tip AB timomalar sıklıkla iyi sınırlı ve kapsüle tümörlerdir. Lobüle büyüme paterni gösterir ve değişen oranlarda lenfositten fakir Tip A ve lenfositten zengin tip B alanları içerir (Şekil 5). Bu bileşenler ya birbirlerinden ayrık alanlar olarak ya da iç

içe geçmiş olarak bulunurlar. Tip A'nın farklı tüm histolojik görünümüleri Tip A komponentinde bulunabilir. Ek olarak, Tip A komponenti lenfositten zengin nodüller (Tip B alanları) etrafında iğsi hücreli fasiküller oluşturabilir. Tip B komponenti Tip B1, B2 ve B3'den farklı görünüm arz eder. Tümör hücreleri küçük ve oval, iğsi şekilli, dağınık kromatin içeren soluk nükleuslu ve belli belirsiz nükleol içeren hücrelerdir. Tip B2 timomaların karakteristik hücreleri olan geniş, veziküler nükleuslu ve nükleol belirginliği olan hücreler nadir olarak görülebilir. Medüller adalar nadirdir, Hassall cisimcikleri genelde görülmez.



**Şekil 5:** Tip AB timoma olgusunda resmin sol üst köşesinde A komponenti sağ alt köşesinde B komponenti (H&E x40)

### **Ayrıcı Tanı**

Tip A timoma, lenfositten zengin alan içermeyerek Tip AB timomadan ayrılır. Lenfoid Hiperplazili Mikronodüler Timoma ise birbirinden ayrılan lenfositten fakir epitelyal nodüller ve epitel içermeyen lenfositten zengin stroma içermektedir.

### **Prognoz**

Beş ve on yıllık tüm sağ kalım sırasıyla %100 ve %80'dir(44). Çoğu vakada radikal cerrahi ile kür sağlanır(45). Rekürrens ve metastaz nadir görülür fakat görüldüğü vakalar mevcuttur(47). Myastenia gravis'in eşlik edip etmemesinin prognoz üzerinde belirgin bir etkisi yoktur(48). İlerlemiş hastalığı olan ve adjuvan tedavi gereksinimi olan sınırlı sayıda hastada platin bazlı kemoterapilerin ve radyoterapinin etkinliğiyle ilgili veri kısıtlıdır.

### **Tip B1 Timoma**

Tip B1 timoma, medüller farklılaşma bölgelerinin eşlik ettiği involusyona gitmemiş normal timus korteksinin sito-artiktürel yapısını taklit eden timik epitelyal neoplazidir.

### **Klinik**

Myastenia gravis hastaların %40'ında ilk prezentasyondur. %5 hastada ise pür kırmızı hücre aplazisi, hipogammaglobulinemi ve diğer otoimmün hastalıklar tek başlarına veya myastenia gravisle kombine şekilde prezente olurlar(41). Kitle semptomu ile prezentasyon yaygın değildir. Hastaların üçte biri asemptomatiktir (39). Görüntüleme özellikleri diğer timoma tipleriyle benzerdir(50).

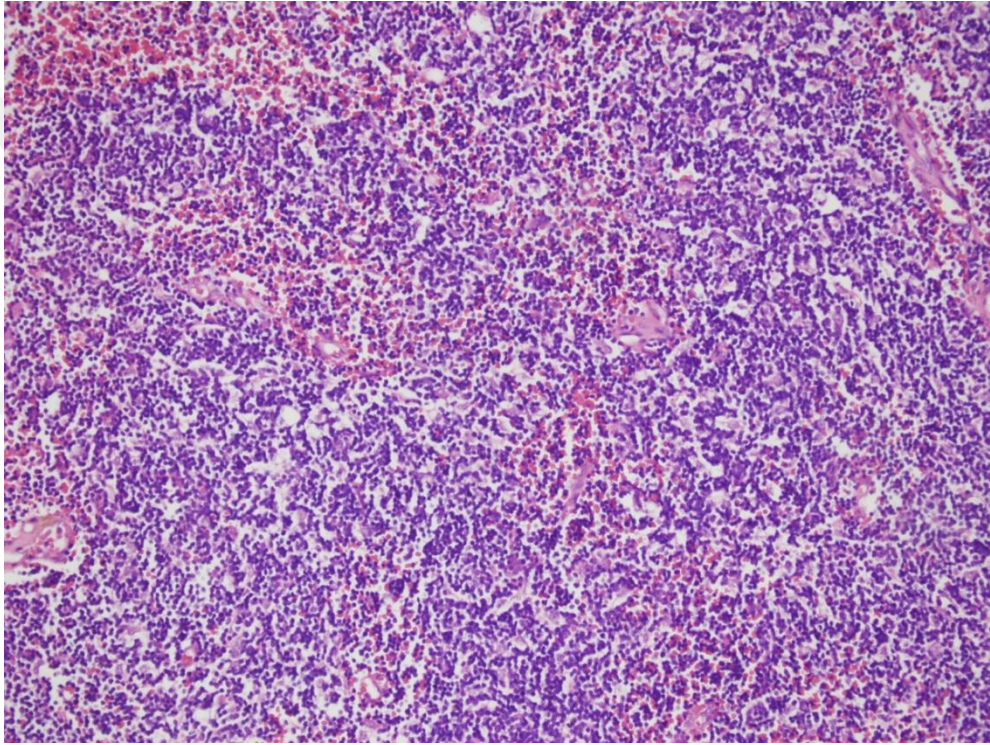
### **Epidemiyoloji**

ITMIG kohortuna ve bir meta analize(31) göre timomaların %17'sini Tip B1 timoma oluşturur. Çocuklarda en yaygın olan timoma tipidir(51). Ortalama yaş 53'dür. Hafif bir kadın baskınlığı söz konusudur(31).

### **Histopatoloji**

Tip B1 timomalar, timusun lobuluslarından daha geniş lobüller içeren normal timusu taklit eden bir mimariye sahiptir. Bu lobüller ince, kollajenöz bir septa ile ayrılır ve timik korteks benzeri alanlar baskın bileşeni oluşturur. Neoplastik hücreler yoğun paketlenmiş küçük lenfositler arasında tek tek dağılımlı olup, küçük büyütmeye zorla seçilebilmektedirler (Şekil 6). Normal timik korteksin içerdiğinden daha fazla epitelyal hücre içeren veya epitel hücre kümesi (>3 yanyana epitel hücresi) Tip B2 timoma tanısını akla getirmelidir. Tümör hücreleri soluk sitoplazmalı, açık kromatinli,

değişen oranda belli belirsiz nükleol içermektedirler. İğsi hücreler olmamalıdır. Böyle bir durumda tip AB timoma düşünülmelidir. Medüller differansiasyonu temsil eden açık görünümlü nodüler alanlar tanı için zorunludur. Bu nodüler alanlar Tip B1 için spesifik değildir, nadir de olsa Tip AB ve B2 timomalarda da görülmektedir. Hassall cisimcikleri ve myoid hücreler bulunabilir ama olmazsa olmaz değildir. Perivasküler boşluklar sıklıkla mevcuttur. Tip B1 timoma Tip B2 timoma ile %20 oranında kombinasyon gösterirken, Tip B3 timoma kombinasyonu oldukça nadirdir.



**Şekil 6:** Tip B1 timoma'da lenfositten yoğun zeminde kümeleşme yapmayan tek tek dağılım gösteren epitelyal tümör hücreleri (H&E x200)

#### **Ayrııcı Tanı**

Lenfositten zengin Tip AB timoma'nın sıklıkla daha belirgin olan epitelyal hücre ve iğsi hücre bileşeni mevcuttur.

T lenfoblastik lenfoma normal kortiko-medüller yapıyı ortadan kaldırır, septa ve mediastinal yağlı dokuyu infiltre eder. Tümör hücreleri daha monoton, daha atipik, timositlerden daha büyüktürler. Çok sayıda mitoz ve apoptotik cisim içerirler.

Normal timus; fibröz septalardan ziyade adipoz doku hücrelerinin ayırdığı belirgin lobüllerden oluşur. Küçük biyopsilerde ikisi arasındaki ayrım ileri derecede zorlayıcı olabilmektedir.

### **Prognoz**

Beş ve on yıllık tüm sağkalım sırasıyla %100 ve %80 civarındadır(44). Çoğu tip B1 Timoma radikal cerrahi ile kür olabilmektedir(45). 10 yıllık takip sonrası TNM evre I hastalarının %10'unda rekürrens görülebilmektedir(31). Myastenia gravis'in eşlik etmesinin prognoz üzerinde majör bir etkisi bulunmamaktadır(52).

### **Tip B2 Timoma**

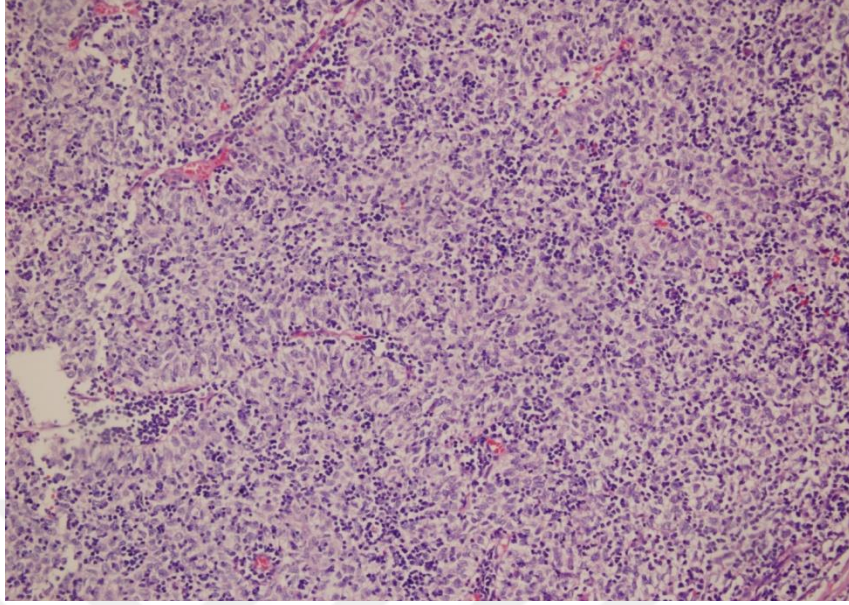
Tip B2 timoma çok sayıda immatür T lenfositlerin eşlik ettiği poligonal tümör hücrelerinden oluşan timoma subtipidir. Tümör hücreleri normal timustan ve Tip B1 timomadan daha yoğun olarak izlenmektedir.

### **Klinik**

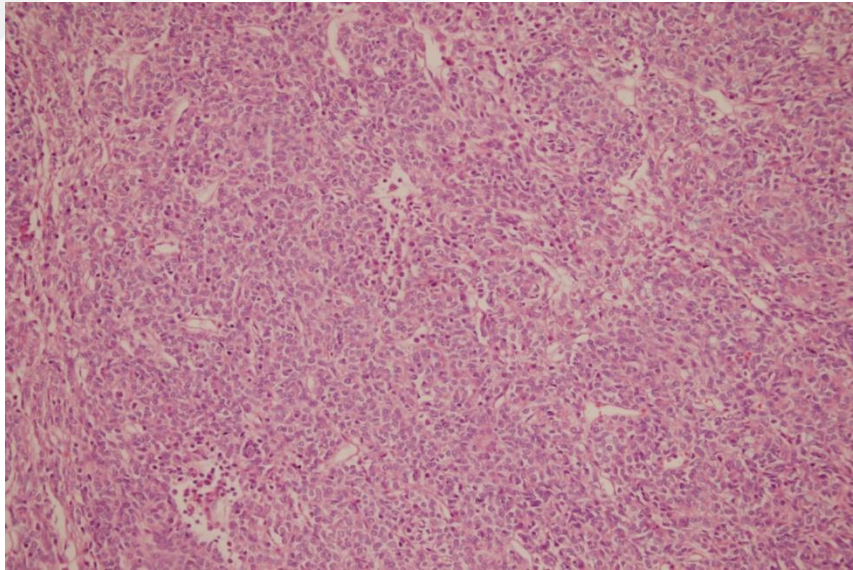
ITMIG Grubu ve bağımsız uluslararası bir meta analize göre hastaların %50'sinde myastenia gravis ilk başvuru nedenidir(31). Hipogamaglobulinemi, pür kırmızı hücre aplazisi ve diğer otoimmün hastalıklar myastenia gravisle birlikte veya tek başına hastaların %5'inden daha azında izlenmektedir(53). Hastaların üçte biri asemptomatiktir. Görüntüleme özellikleri diğer timoma tipleriyle benzerdir.

### **Histopatoloji**

Küçük büyütmede, Tip B2 timoma H&E kesitlerde bol lenfosit içeriğinden ötürü mavi görünmektedir. Fibröz septayla ayrılmış değişken boyutlarda lobüller mevcuttur. Poligonal/oval epitelyal hücreler lenfositler arasında tek hücreler veya en az 3 hücre kümesi olarak bulunurlar (Şekil 7). Tümör hücreleri yuvarlak nükleuslu, veziküler kromatinli, küçük belli belirsiz nükleole sahip olup hafif eozinofilik sitoplazmalıdır (Şekil 8). Hassall cisimciği barındıran medüller adalar bazı vakalarda görülebilir. Fibröz septalarda germinal merkezler bulunabilir. Myastenia gravisli hastalarda perivasküler boşluklar izlenebilmektedir. Kortikosteroid tedavisi, kemoterapi bu vakalarda histiyositik infiltrasyonu arttırabilir, lenfositik yanıtı azaltabilir ve nekroza yol açabilir. Tip B3 ve Tip B1 vakalarıyla sırasıyla %43 ve %4 birliktelik gösterir.



**Şekil 7:** Tip B2 timoma olgusunda zeminde immatür lenfositler ve tabakalanma yapmış tümör hücreleri (H&Ex200)



**Şekil 8:** Tip B2 timoma olgusu (H&Ex200)

### **Ayırıcı Tanı**

Tip B1 timoma daha az epitelyal hücre içerir. Epitelyal hücre kümeleri barındırmaz. Çoğunlukla belirgin medüller adalar bulundurulur. Perivasküler boşluklar genellikle daha az belirgindir.

Tip B3 timoma lenfositten fakir bir tümör olup tümör hücre tabakalarından oluşmaktadır. Bu yüzden Tip B3 timoma vakaları H&E kesitlerde maviden ziyade pembe renkli görülürler.

Anaplazi içeren Tip B2 timoma; tipik lobüler büyüme paterni, perivasküler boşluklar ve TdT (+) T lenfosit içermesi ve CD5/CD117 ekspresyonu içermemesi ile timik karsinomdan ayrılırlar.

### **Prognoz**

Beş yıllık tüm sağkalım %70-100 arasında iken, 10 yıllık sağkalım %45-82 arasında değişmektedir(54). Vakaların %70-90'ında komplet rezeksiyon yapılabilmektedir(44). Çoğu hasta radikal cerrahi ile kür olabilmektedir(45). ITMIG kohortuna göre R0 rezeksiyon yapılmış TNM evre I hastalarda 5 ve 10 yıllık rekürrens oranları sırasıyla %14 ve %32'dir(31). İleri evre (Masaoka-Koga evre III ve IV) tümör ilişkili ölüm için kötü prognostik faktördür(55). Myastenia gravis'in prognoz üzerinde etkisi yoktur(52).

### **Tip B3 Timoma**

Az sayıda non-neoplastik immatür T lenfositin eşlik ettiği orta-ileri derecede atipik poligonal tümör hücrelerinden oluşan timik epitelyal neoplazidir.

### **Klinik Özellikler**

Hastaların üçte biri asemptomatiktir. Diğerleri göğüs ağrısı, öksürük, dispne veya superior vena kava sendromu gibi semptomlarla başvururlar. ITMIG kohortu(31) ve bağımsız bir meta analizde myastenia gravis ve diğer otoimmün hastalıklarla birliktelik sırasıyla %40-50 ile %5 oranındadır(48).

### **Epidemiyoloji**

ITMIG kohortu ve bağımsız bir meta analize göre tip B3 timoma, tüm timomaların %16-21'ini oluşturur(31). Bu çalışmalarda, medyan ve ortalama yaş sırasıyla 56 ve 52 bulunmuştur. (8-87 yaş arası). Hafif bir erkek cinsiyet baskınlığı mevcuttur. Çocuklarda oldukça nadirdir(51)

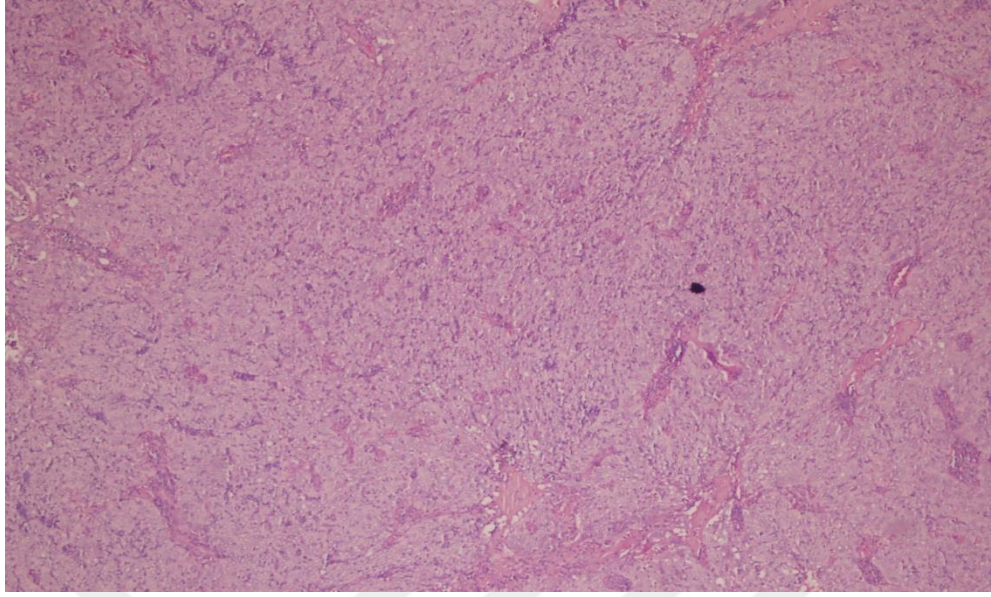
### **Histopatoloji**

Tip B3 Timoma değişken boyutlarda ve şekillerde lobüllerden oluşan, çevre dokuya hafif invazyon görünümü veren timik epitelyal bir neoplazidir. Küçük büyütmede H&E kesitlerde poligonal tümör hücreleri nedenli pembe görünüm dikkati çeker(Şekil 9). Nadir görülen Hassall cisimcikleri ve skuamöz eddiler dışında inter-sellüler köprüleşme izlenmez. Orta-ileri derecede atipik, yuvarlak veya elonge, bazen çentiklenme ve kuru üzüm görünümü veren nükleus içeren tümör hücreleri Tip B2 timoma hücrelerinden daha küçük veya daha büyük olabilmektedirler. Nükleol belli belirsiz veya belirgin olabilmektedir. Epitelyal palizatlanma gösteren perivasküler boşluklar belirgindir. Zeminde az sayıda immatür T lenfosit bulunur. Myastenia gravis'li olgularda perivasküler boşluklarla ilişkili lenfoid folliküller yaygındır.

Tip B2 ve Tip B3 timomaların kombinasyonu sık görülmektedir (%2-16). Tip B2 ve B3 timoma kombinasyonu gösteren olgular pür Tip B3 olgularından daha sık görülebilmektedir. Timik karsinomla kombinasyon gösteren Tip B3 timoma vakaları nadirdir (%0.2-1)(55).

### **Prognoz**

Beş, on ve yirmi yıllık tüm sağkalım oranları sırasıyla %60-86, %50-70 ve %25-36'dır(54). ITMIG Kohortunda R0 rezeke edilmiş Tip B3 vakalarında tüm sağkalım oranları 5 ve 10 yıl için sırasıyla %89 ve %81 bulunmuştur. Komplet rezeksiyon oranları %53 ila %92 arasında değişmektedir (55). R0 rezeksiyon sonrası tüm evrelerdeki vakalarda rekürrensler 5 ve 10 yıl için sırasıyla %23 ve %29 bulunmuştur (31). İleri Masaoka-Koga evresi (III/IV) tümör ilişkili ölüm açısından kötü prognostik faktördür(55). Cinsiyet, yaş ve myastenia gravis'in prognoz üzerinde etkisi yoktur(56). Yüksek PD-L1 ekspresyonu bazı çalışmalarda daha iyi tüm sağkalımla ilişkili bulunmuştur(57). Fakat bazı çalışmalarda benzer sonuç gösterilememiştir(58,59). PD-L1 ekspresyon seviyesi immün kontrol noktası inhibitör tedavilerine cevap açısından zayıf bir prediktif göstergedir(60).



**Şekil 9:** Tip B3 timoma olgusunda zeminde tek tük immatür lenfosit ve tabakalanma yapan epitelyal tümör kümelenmeleri (H&Ex40)

### **Timik Karsinom**

Timik karsinom vakaları timomalardan çok daha az sayıdadır. Timik epitelyal neoplazilerin %14-22'sini temsil eder. Timik karsinomlu hastalar sıklıkla semptomatik olup mediastende kitle semptomlarıyla gelir. Timomalara eşlik eden paraneoplastik semptomlar timik karsinomda daha seyrek görülür.

Görüntüleme çalışmalarında timik karsinomlar anterior mediasten yerleşimli kitleler olup, timomalardan daha sık olarak düzensiz sınırlı, nekrotik ve kistik alanlar içeren heterojen kitle imajı verir. Lenfadenopatiler ve plevral effüzyonlar kitleye eşlik edebilir.

### **Timus'un Skuamoz Hücreli Karsinomu**

Timik skuamoz hücreli karsinom, diğer organlarda görülen SCC'nin morfolojik olarak analogudur.

### **Klinik**

En sık görülen semptomlar mediastinal basıya bağlı olarak göğüs ağrısı, öksürük ve nefes darlığıdır(61). Daha az görülen semptomlar; ateş, superior vena kava sendromu ve hemoptizidir(62). Üçte bir hastada insidental olarak tümör tespit edilir(61). Hastaların %5'inden azına myastenia gravis eşlik eder(63). Myastenia

gravis'in olduğu hastaların bir kısmında eşlik eden timoma vakaları mevcuttur(64). Yaklaşık %12 hastada ekstrasitimatik karsinom hikayesi vardır(15).

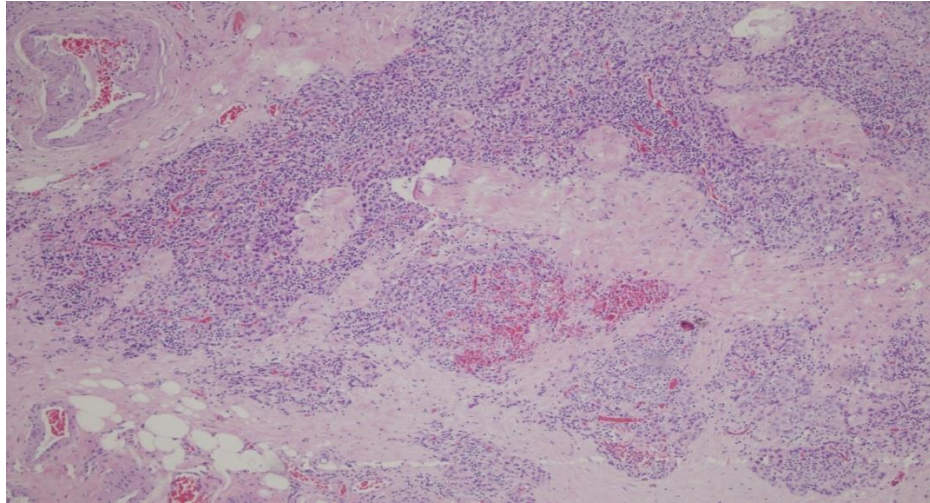
### **Histopatoloji**

Timik SCC'ler; geniş desmoplastik ve sklero-hyalinize stroma içerisinde inflamatuvar hücrelerin eşlik ettiği infiltratif adalar ve poligonal hücrelerden oluşan tümörlerdir (Şekil 10,11). Non-timik orjinli SCC'lerden farklı olarak tümör adaları düzgün sınırlı invazyon oluşturmaya eğilimlidir. Tümör adaları boyunca sıklıkla ince kan damarları uzanım gösterir.

Poligonal tümör hücreleri geniş veziküler ve hiperkromatik nükleuslu ve belirgin nükleollüdür. Sitoplazmaları eozinofilik olup, interselüler köprüleşmeler kimi zaman belirgin olabilmektedir. Keratinizasyon bazı durumlarda görülebilir, keratinize whorl yapıları Hassall cisimciklerini taklit eder. Mitoz sayıları vakadan vakaya değişiklik gösterir, koagülatif nekroz odakları yaygındır.

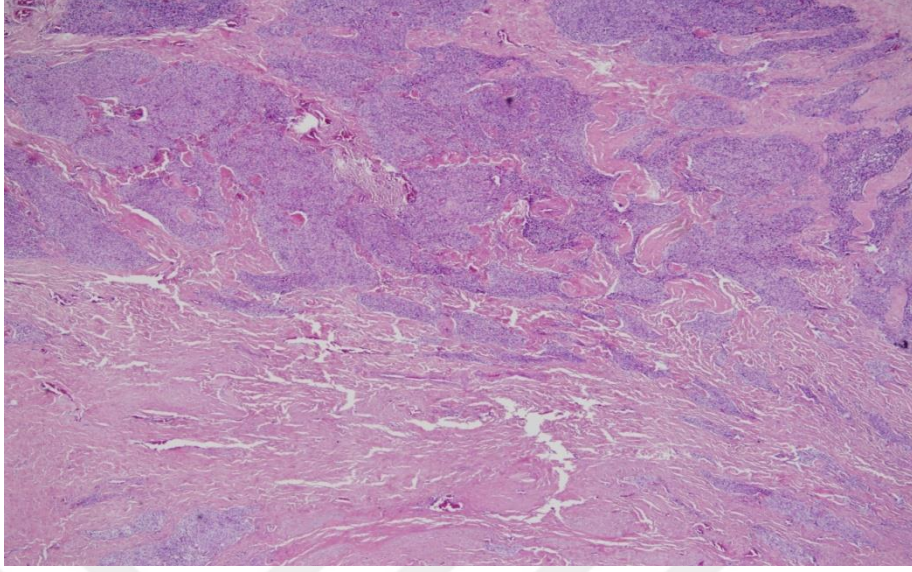
Nükleer pleomorfizm, skuamöz hücre farklılaşması ve keratinizasyon yapmasına göre timik SCC'ler iyi, orta, kötü differansiye olabilmektedir.

İyi differansiye kistik patern; değişken derecede atipi içeren skuamöz epitelle döşeli belirgin kist yapıları ile karakterizedir. Araya giren fibröz stroma karsinom trabekülleriyle infiltre edilir. Fokal keratinizasyon bulunabilir. Bu varyant konvansiyonel timik SCC'den daha iyi prognoza sahiptir.



**Şekil 10:** Çevre dokuya infiltratif yayılım gösteren timik karsinom olgusu (H&E

x100)



**Şekil 11:** Timik karsinom olgusunda düzensiz şekilli infiltratif epitelyal tümör adaları (H&Ex40)

### **Subtipler**

Lenfoid Hiperplazili Mikronodüler Timik Karsinom morfolojik olarak lenfoid hiperplazili mikronodüler timoma ile ileri derecede benzerlik gösteren subtiptir. Küçük tümör nodülleri, reaktif lenfoid follikül içeren bol lenfoid stroma ile birbirinden ayırır. Sitolojik olarak atipik hücreler; oval-iğsi görünümde, veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü olup mitotik aktiftirler. Fokal keratinizasyon sıklıkla mevcuttur. Mikronodüler timomadan ayrı olarak, tümör hücreleri CD5, CD117 eksprese ederler ve tümör adalarını çevreleyen tdT (+) immatür T lenfositler bulunmaz.

### **İmmünohistokimya**

Timik SCC'ler pansitokeratinler ile immünreaktivite gösterir ve büyük bir çoğunluğu p63/p40 (+)'dirler. Poliklonal antikor kullanıldığında Pax-8 vakaların %75'inde pozitifdir(65). Fakat Pax-8 spesifik monoklonal antikor kullanılır ise vakalar negatiftir(66).

CD5, CD117, EMA(MUC1) ve EZH2 sıklıkla eksprese edilir (vakaların %75-85'i). Fakat timoma vakalarında bu markırlarla boyanma saptanmaz (< %5 ) Bu sebeple bu markırlar ayırıcı tanı güçlüğü yaşanan olgularda kullanılabilir(67).

GLUT-1 timik SCC vakalarının büyük bir kısmında eksprese edilir, Tip B3 vakaları ve Tip A timomalarda ekspresyon görülmez(68).

Proteazom subuniti beta5t timik karsinomlarda boyanmazken, tip B timomalarda universal olarak boyanmaktadır(69).

FOXN1 ve CD205 tüm timoma tiplerinde ve timik karsinomda sırasıyla %68-76 ve %10-59 oranında eksprese edilmektedir(67). Bu belirteçler non-timik orjinli tümörlerde nadir olarak eksprese edildiklerinden, karsinomun timik orjinini tespit etmekte faydalıdır(67).

PD-L1 yaygın olarak eksprese edilir, tedavide immün kontrol noktası inhibitörlerine tümör yanıtı açısından yapılmış çalışmalar artmaktadır(70).

### **Ayırıcı Tanı**

Mediastene invazyon ve metastaz gösteren pulmoner SCC'leri timik SCC'lerden ayırmak oldukça zor olabilir. Klinik ve radyolojik değerlendirme ayırım için zorunludur. Non-timik SCC'lerde ekspresyon hemen hemen hiç görülmediğinden CD5, CD117, FOXN1 ve CD205 ayırımında yardımcı olabilmektedir(65) . EMA ise ayırımında yardımcı olmamaktadır.

Timik SCC'ler sıklıkla nöroendokrin tümör benzeri damarlanma ve fokal nöroendokrin markır eksprese ettikleri için atipik karsinoid ve büyük hücreli nöroendokrin karsinom ayırıcı tanıda yer alır. Bununla birlikte atipik karsinoid tümör daha belirgin bir vaskülarite ve tümör hücrelerinin %50'sinden fazlasında nöroendokrin belirteçlerle immünreaktivite göstermektedir.

Lenfoepitelyal karsinom, bazaloid karsinom, NUT karsinomu ve sarkomatoid karsinom gibi diğer timik karsinom türleri de fokal skuamoz differansiasyon ve keratinizasyon gösterebilir fakat bu tümörler skuamoz differansiye alanlar dışında kendi türlerinin karakteristik özelliklerini yansıtır.

### **Evreleme**

Timik SCC, TNM sistemine göre evrelendirilir, tercihen Masaoka-Koga sistemine göre de evrelendirilebilir. Masaoka-Koga sistemine göre tanı anında vakalar; %20 Evre I/II, %50 Evre III, %15 Evre IVa ve %20 Evre IVb'dir(61).

## **Prognoz**

5 yıllık tüm sağ kalım %57.6-%67.1 arasındadır. Geniş vaka serilerinde tümör evresi ve sürvi arasında önemli bir korelasyon saptanmıştır(15). Çok değişkenli analizde evre, R0 rezeksiyon ve postoperatif kemo/radyoterapi bağımsız prognostik faktör iken, cinsiyet değildir(15). KIT mutasyonu timik karsinom vakalarının %11'inde saptanmıştır (71). KIT(+) vakalarda tirozin kinaz inhibitörlerine karşı dramatik yanıt alınmıştır(72).

## **PD-1/PD-L1 Yolağı**

Bir tümör dokusu; konak hücreleri, salgılanan immünomodülatörler ve ekstraselüler matriksin heterojen bir toplamıdır. Tümör hücreleri, tümör büyümesini ve progresyonunu desteklemek için konak dokularında önemli moleküler, hücresel ve fiziksel değişiklikleri uyarır. Bu ise tümör mikroçevresi olarak adlandırılmaktadır. Tümör mikroçevresi; hedefe yönelik tedaviyi belirlemede, tedavi etkinliği ve prognoz tayininde son dönemlerde üzerinde sıkça çalışma yapılmakta olan bir alandır (63). Yapılan son çalışmalarda; immünolojik kontrol eksikliğinin, karsinogenezde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. PD-1 ve ligandı olan PD-L1, tümörün immün yanıtta kaçışında ve tümör mikroçevresinin oluşumunda önemli bir rol oynamaktadırlar. PD-1/PD-L1 yolağının inhibe edilmesiyle endojen anti-tümör immün cevabının artırılabilirliği tespit edilmiştir(74) (Şekil 12). PD-L1'i hedefleyen immünoterapilerin başta küçük hücreli dışı akciğer karsinomları olmak üzere birçok kanser türünde etkinliği tanımlanmıştır(5).

## **PD-1**

PD-1, diğer bir ismiyle CD279, ilk olarak 1992 yılında IL-3'den yoksun LyD9 (fare hematopoetik hücreleri) ve 2B4-11 (fare T-hücre hibridoması) hücre dizilerinde keşfedilmiştir(75). PD-1; bir ekstraselüler N-terminal bölgesi, bir transmembran bölge ve bir sitoplazmik kuyruk içeren 3 bölüm içeren 288 aminoasitten oluşan 55-kDA ağırlığa sahip bir proteindir (76).

PD-1 hem edinsel hem doğuştan immün cevabın inhibitörüdür. Aktive T hücrelerinde, NK hücrelerinde, B lenfositlerde, makrofajlarda, dendritik hücrelerde ve

monositlerde eksprese edilir(77). Bir diğler önemli nokta; PD-1 tümör spesifik T hücrelerinde yüksek miktarda eksprese edilir(77). NFAT, NOTCH, FOX-O1 ve IRF-9 gibi transkripsiyon faktörleri PD-1'in transkripsiyonunu tetikler(78).

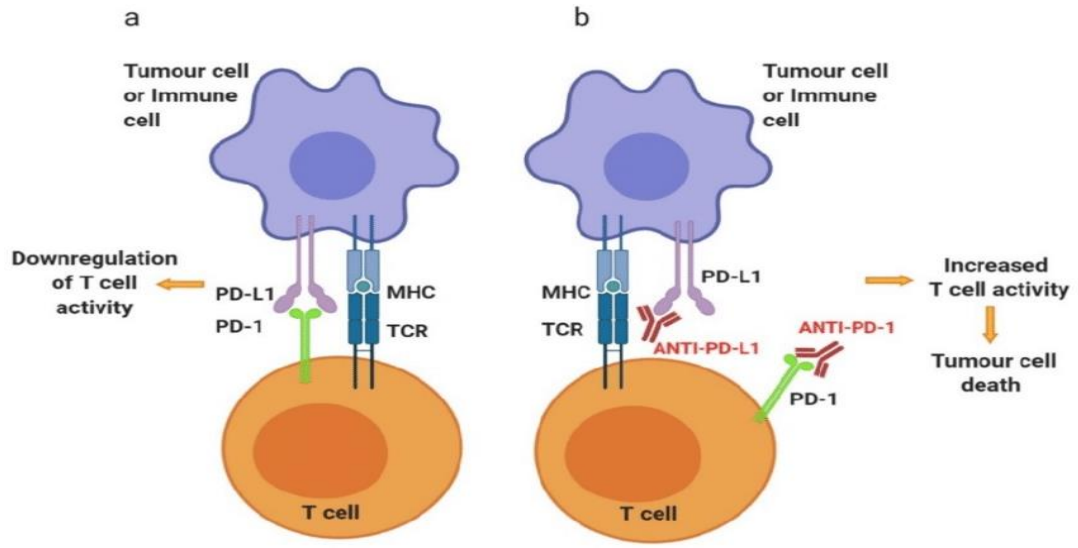
PD-1 hem yararlı hem zararlı olabilecek birbine zıt iki işlev göstermektedir. İnefektif ve zararlı immün cevabın regülasyonunu düzenleyerek olumlu işlev üstlenirken, koruyucu immün cevaba müdahale ederek malign hücrelerin çoğalmasına yol açmaktadır(79).

### **PD-L1**

PD-1 ligandı (diğler ismiyle CD279 veya B7-H1) 290 aminoasitten oluşan B7 serisine ait 33-kDA ağırlığa sahip transmembran bir glikoproteindir(80).

PD-L1; makrofajlar, bazı aktive B ve T hücreleri, dendritik hücreler ve özellikle inflamatuvar koşullarda epitelyal hücrelerce eksprese edilir(81). Ek olarak, tümör hücrelerince anti-tümör cevaptan kaçınmak için eksprese edilirler (82). PD-L1, CD8 T hücrelerinden zengin immün çevreyle, Th1 hücrelerinden salınan sitokinler ve interferonlar ile ilişkilidir (83). IFN- $\gamma$ 'nın ovaryan tümör hücrelerinde PD-L1 up-regülasyonuna neden olduğu, bu durumun tümör progresyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte Akut Myeloid Lösemili fare deneklerinde MEK/ERK ve MYD88/TRAF6 yolaklarında IFN- $\gamma$  reseptör 1'in inhibisyonu ile PD-L1 ekspresyonu azaltılabılmıştır(84). IFN- $\gamma$  PD-L1'in regülasyonunda etkili olan protein kinaz D izoform 2 (PKD2)'ye etki eder. PKD2 aktivitesinin inhibisyonu, PD-L1'in ekspresyonunu inhibe eder ve güçlü bir antitümör immün yanıtı tetikler(85). NK ve T hücreleri IFN- $\gamma$  sekresyonu yaparak tümör hücrelerinin yüzeyinde PD-L1 ekspresyonunu artırır(86).

PD-L1 kanser hücrelerinde kendi reseptörüne bağlanarak pro-tumorijenik faktör olarak etki eder ve proliferatif ileti yollarını aktive eder(87). Bu bulgu tümör progresyonunda PD-L1'in rolünü göstermiştir. Ek olarak PD-L1'in farklı tümör tiplerinde non-immün proliferatif etki gösterdiği saptanmıştır. Örneğin; renal tümör hücrelerinde PD-L1'in tetiklediği epitelyal-mezenkimal geçiş ve kök hücre benzeri fenotip PD-L1'in böbrek kanseri progresyonunda etkili olduğunu göstermiştir(88).



**Şekil 12:** Tümör hücresi ve T lenfosit hücresinde PD-1/PD-L1 etkileşimi ve inhibisyonu

### SOX-2

SOX ailesi; gelişimsel ve kök hücre biyolojisi üzerinde etkisi olan birbiriyle bağlantılı transkripsiyon faktörleridir. 1990'da, öncül bir araştırma ile memeli testis-belirleyici faktör ve Sry adında bir gen (Sex-determining region on the Y chromosome) keşfedildi (89). Sry; DNA tanıma ve bağlanmasına olanak sağlayan özellikli yüksek mobilite gup (HMG) alanı içermektedir. Sry'nin HMG alanının içerdiği aminoasitlere %50'den daha fazla benzerlik içeren proteinler SOX(Sry-related HMG box) olarak adlandırıldı. Bu proteinlerin bilinen fonksiyonları; embriyonik gelişimin düzenlenmesi ve yetişkin dokularda kök hücre homeostazının devamlılığıdır. Şimdiye kadar HMG-box homolojilerine göre 6 gruba ayrılan 20'den fazla SOX geni tanımlanmıştır(90).

1994'de SOX ailesi üyesi olan SOX-2 geni keşfedildi ve insanlarda karakterize edildi. SOX-2 geni 3q26.3-q27 kromozomunda lokalize ve SOXB1 grubuna ait olup 317 aminoasitten oluşan bir protein kodlamaktadır. Ağırlıklı SOX-2'nin kök hücre devamlılığı, somatik hücrelere tekrardan pluripotans kazandırma özelliği vb. nitelikleri üzerine araştırmalar yapılmıştır. SOX-2'de heterozigot

mutasyon varlığında anoftalmia-özefajiyal-genital sendrom gibi endodermal ve ektodermal dokularda defektlerle giden gelişimsel bozukluklara neden olduğu saptanmıştır(91).

Gelişimsel hastalıklar yanında, SOX-2'nin karsinogenez üzerindeki etkisi de ayrı bir çalışma alanıdır. SOX-2'nin birçok kanser türüyle ilişkisi saptanmıştır. Buna onkojenik ileti ve kanser kök hücre devamlılığı sağlayarak yol açmaktadır. Örneğin; SOX-2 3q26.3 lokusundaki amplifikasyon ile glioblastom, küçük hücreli akciğer kanseri, skuamoz hücreli karsinomun birçok varyantında rol almaktadır. Bir başka yolla ise; SOX-2 başka genlerle ko-amplifiye olarak karsinogeneze yol açabilmektedir. PRKC1 ve SOX-2 ko-amplifikasyonu akciğer SCC'sinde görülen kök hücre fenotipinden sorumlu olmaktadır(92).

Hücrel proliferasyon birçok kanser türünde SOX-2 ile sıkıca regüle edilmektedir. Pankreatik tümör hücrelerinde SOX-2 inaktivasyonu p21 ve p27'de transkripsiyonel indükleme ile hücre siklusunda arreste neden olarak kanser inhibisyonuna yol açmaktadır. SOX-2 overeksprese edildiğinde, hücre çoğalması siklin D3'de transkripsiyonel indükleme ile artırılmakta ve hücrenin S fazına geçişine yol açmaktadır(93). Ek olarak Fang ve ark.'ları akciğer SCC'lerinde SOX-2'nin sessizleştirilmesiyle hücrel çoğalmanın BMP4 upregülasyonu vasıtasıyla inhibe edildiğini göstermişlerdir(94).

SOX-2 aynı zamanda apoptotik sinyallerden kaçışta önemli rol almaktadır. DU145 SOX-2 overeksprese eden hücrelerle yapılan fare deneyinde prostat kanserinde SOX-2'nin ORAI1 ekspresyonunu baskılayarak hücre içi Ca<sup>2+</sup> depolarında azalma ile apoptotik direnç gelişimine yol açtığı saptanmıştır(95).

Son olarak Sox-2'nin hücre invazyonu, migrasyon ve metastaz üzerinde düzenleyici rol oynadığı yönünde yapılan araştırmalar bulunmaktadır(96,97).

Timomalı vakalarda ve bu vakaların normal timus hücrelerinde SOX-2 immünreaktif hücrelerin varlığı yapılan çalışmalarla desteklenmiştir(90). SOX-2'nin timus organogenezinde ve timik epitelyal neoplazi gelişiminde rolü her iki komponentten hücrelerce ekspresyon görülmesi nedeniyle ileri sürülmüştür(90). Fakat bu hipotez daha geniş vaka serileri ve farklı çalışmalarla desteklenmeye ihtiyaç duymaktadır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### Araştırmanın Örneklemi

Çalışmaya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi'nde 2013-2022 yılları arasında timoma ve timik karsinom tanısı almış 63 olgu alındı. Olgulara ait H&E boyalı kesitler, formalin ile fikse edilmiş ve parafine gömülmüş bloklar arşivden çıkarılarak incelendi. Her olgu için yeterli miktarda tümör dokusu içeren birer blok seçildi. Kesiti eksik olan olgular için bloklardan yeni kesit yapılarak H&E boyası uygulandı. Klinik bulgulara hastane bilgi işletim sistemi ve patoloji raporlarından ulaşılmıştır.

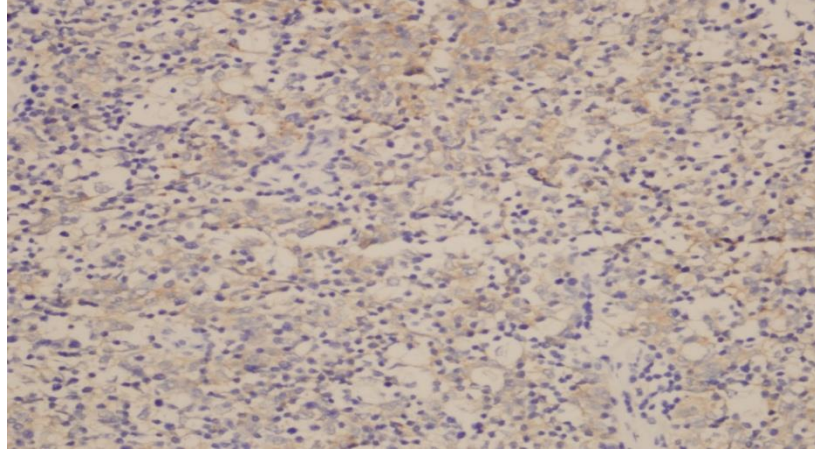
### Yöntem

İmmünohistokimyasal boyama işlemi Ventana Medical System-Benchmark Ultra/ISH Staining ile gerçekleştirildi. Ultraview Universal DAB Detection Kit kullanılarak şu prosedürler uygulandı:

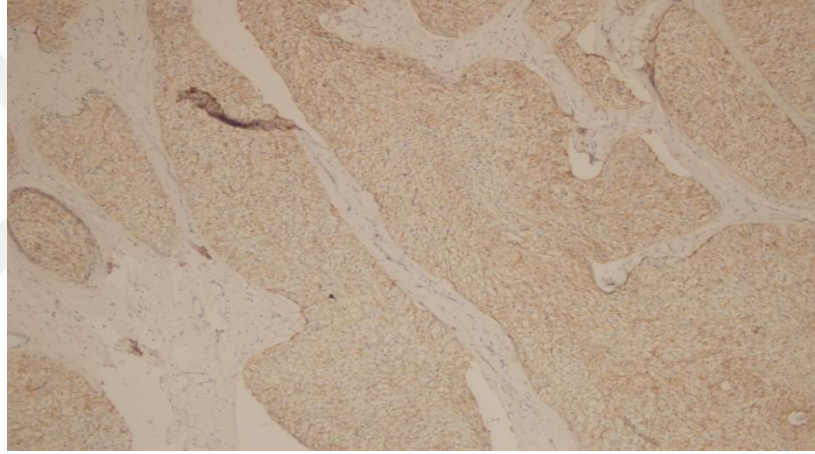
1. Parafin bloklardan 2 mikron kalınlığındaki kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı.
2. 70°C'lik etüvde 1 saat bekletildi.
3. Lamlar Benchmark Ventana Ultra marka immünohistokimya cihazına alındı.
4. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) ile pH:8'de (CC1) antijen geri kazanımı yapıldı.
5. Antikor enkübasyonu: SOX-2 için; CELL MARQUE Rocklin, CA – USA firmasından tedarik edilen; kullanıma hazır standart dilüsyon oranıyla 72 dakika, PD-L1 için; CELL SIGNALING Danvers, MA – USA firmasından tedarik edilen; CST 13684S PD-L1 (E1L3N) antikoruna ile 1:200 dilüsyon oranında 90 dakika antikor inkübasyonu uygulandı.
6. Arka plan boyama için Harris Hematoksilen (Ventana Medical Systems) 16 dakika uygulandı.
7. Bluing Reagent (mavileştirme solüsyonu) (Ventana Medical Systems) 4 dakika uygulandı.

8. Lamlar deterjanlı suyla yıkandı.
9. Lamlar absölü alkolde 2 kez çalkalandı.
10. Lamlar kurutulup ksilol bazlı kapatıcıyla kapatıldı.

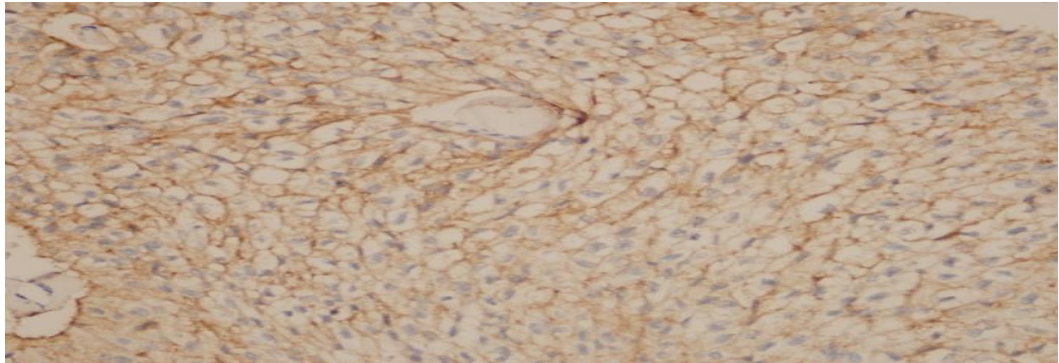
İmmünohistokimyasal yöntem sonrası tüm lamlar ışık mikroskopunda değerlendirildi. PD-L1 boyanması; epitelyal tümör hücreleri boyanma yoğunluğu, tümör hücrelerinin boyanma paterni ve PD-L1 eksprese eden tümör hücrelerinin tüm tümör hücrelerine oranına göre yüzdelenerek 3 başlık altında değerlendirildi. Membranöz boyanma pozitif boyanma olarak kabul edilmiş, sitoplazmik ve nükleer boyanmalar negatif olarak değerlendirilmiştir. PD-L1 boyanma yoğunluğu 1+/3+ arasında değişen değerler olarak 3 kategoride, PD-L1 boyanma paterni komplet/inkomplet olarak 2 kategoride, PD-L1 boyanma yüzdesi ise boyanan tüm tümör hücrelerinin toplam epitelyal tümör hücrelerine oranı olarak <%1, %1-5, %6-10, %11-25, %26-50, >%50 olarak 6 grupta değerlendirilmiştir. Bu 3 kategoride elde edilen skorlar birbirleriyle çarpılarak bir puanlama yapılmış, buna göre skor 1-5 arası +, skor 6-11 arası ++, skor 12-17 arası +++, skor 18-23 arası +++, skor 24-29 arası +++, skor 30-36 arası +++++ olarak raporlanmıştır. SOX-2'nin tümör hücrelerinde veya tümör dışı alanda (endotel hücreleri) herhangi bir oranda ve yoğunlukta nükleer boyanması pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif dış kontrol olarak PD-L1 için tonsil dokusu, SOX-2 için ise oligodendrogliom tanımlı vaka bloğu kullanılmıştır.



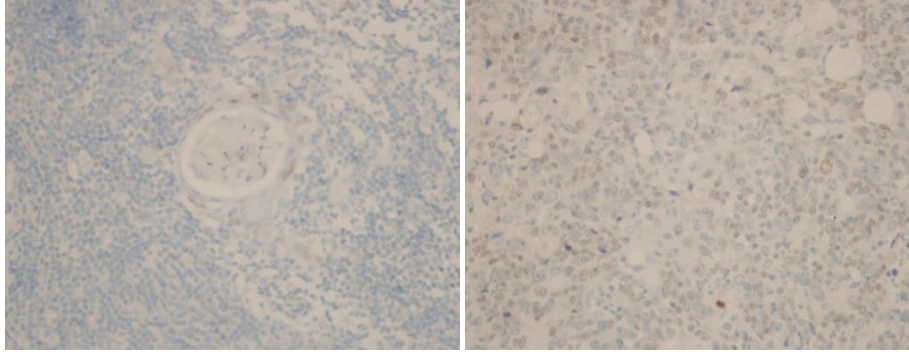
**Şekil 13:** Tip B2 Timoma vakasında inkomplet orta şiddette PD-L1 boyanması (İHK x400)



**Şekil 14:** Tip B3 Timoma vakasında komplet kuvvetli şiddette PD-L1 boyanması (İHK x100)



**Şekil 15:** Tip B3 timoma vakası PD-L1'de komplet membranöz boyanma (İHKx400)



**Şekil 16:** Solda endotel hücrelerinde, sağda ise tümör hücrelerinde orta şiddette nükleer SOX-2 boyanması (İHK x200)

### **İstatistiksel Analiz**

Araştırmamızda elde edilen bulgular değerlendirilirken SPSS 25 (Statistical Package for the Social Sciences, version 25) istatistik programı kullanıldı. Normal dağılımı Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler sayısal değişkenler için minimum, maksimum, ortalama, ortanca, standart sapma; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde olarak verildi. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında iki bağımsız grupta Mann Whitney U ve ikiden fazla bağımsız grupta Kruskal Wallis testi, niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki Kare, Fisher's Exact testi kullanıldı. Kaplan Meier metoduyla oluşturulan sağkalım eğrileri arasındaki ilişki Log Rank testi kullanılarak analiz edildi. Hastaların sosyodemografik, klinik ve patolojik özelliklerinin sağkalım üzerine etkileri tek değişkenli ve çok değişkenli analizlerle değerlendirilirken Cox Regresyon analizinden yararlandı.  $p < 0,05$  değeri anlamlı kabul edildi.

### **Araştırmanın Etik Yönü**

Çalışmanın yürütülebilmesi için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'na başvuruldu. 28.01.2022 tarihinde 2022/514/218/30 karar numarasıyla onaylandı (bkz. EK-2).

## **Özgünlük**

Çalışmanın özgünlük açısından değerlendirilmesi için “Turnitin” intihal analiz programı kullanılmış olup “Kaynaklar” bölümü hariç %9 benzerlik oranı tespit edilmiştir (bkz. EK-3).



## BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hastaların %57,14'ü (n=36) kadın, %63,49'u (n=40) 50 yaş ve üzerindeydi (Tablo 1).

**Tablo 1.** Hastaların sosyodemografik özellikleri

		N	%
Cinsiyet	Kadın	36	57,14
	Erkek	27	42,86
Yaş grubu	50 yaş altı	23	36,51
	50 yaş ve üzeri	40	63,49

Tümör tipleri değerlendirildiğinde en sık saptananlar sırasıyla %26,98 (n=17) Tip B2, %25,40 (n=16) Tip B1, %22,22 (n=14) Tip B3'tü. %61,9'unun (n=39) tümör boyutlarından en az biri 5 cm ve üzerindeydi. Hastaların %60,32'sinde (n=38) adjuvan KT ve/veya RT öyküsü vardı. %42,86'sında (n=27) myastenia gravis tanısı olduğu belirlendi. SOX-2 tümöral alanda vasküler endotel hücrelerinde vakaların %15,87'sinde (n=10), tümör hücrelerinin %9,52'sinde (n=6), PD-L1 ise tümör hücrelerinin %65,08'inde (n=41) pozitif saptandı (Tablo 2).

**Tablo 2.** Hastaların klinik ve patolojik özellikleri

		N	%
Tümör Tipi	Mikronodüler Timoma	1	1,59
	Timik karsinom	5	7,94
	Tip A	2	3,17
	Tip AB	8	12,70
	Tip B1	16	25,40
	Tip B2	17	26,98
	Tip B3	14	22,22
	Tümör boyutu	5 cm altı	24
	5 cm ve üzeri	39	61,90
RT/KT	Yok	25	39,68
	Var	38	60,32
Myastenia Gravis	Negatif	36	57,14
	Pozitif	27	42,86
SOX-2 Non-tümöral endotel	Negatif	53	84,13
	Pozitif	10	15,87
SOX-2- Tümör hücresi	Negatif	57	90,48
	Pozitif	6	9,52
PD-L1 +/-	Negatif	22	34,92
	Pozitif	41	65,08
PDL skoru	+	14	22,22
	++	8	12,70
	+++	4	6,35
	++++	3	4,76
	+++++	5	7,94
	++++++	7	11,11
	0	22	34,92
	Masaoka-Koga Evresi	1	15
	2a	9	14,29
	2b	26	41,27
	3	5	7,94
	4a	5	7,94
	4b	3	4,76

Çalışmada hastaların izlem süresi  $43,83 \pm 29,90$  ay olarak hesaplandı (Tablo 3).

**Tablo 3.** Hastaların takip süreleri

	Min.	Maks	Medyan	Ort.	Std. Sapma
Süre (Ay)	2	114	38	43,83	29,90

Çalışmada takip süresinde hastaların %26,98'inde (n=17) mortalite saptandı (Tablo 4).

**Tablo 4.** Hastaların mortalite durumları

		N	%
Mortalite	Sansürlü	46	73,02
	Var	17	26,98

Hastaların tümör tiplerine göre PD-L1 skorları değerlendirildiğinde; en yüksek skora sahip tümör tipleri sırasıyla Tip B3 ( $3,07 \pm 2,43$ ), Tip B2 ( $2,90 \pm 2,08$ ) ve Tip A ( $2,00 \pm 1,41$ ) idi (Tablo 5).

**Tablo 5.** Hastaların tümör tiplerine göre PD-L1 skorlarının değerlendirilmesi

		PD-L1 Skoru					Std. Sapma
		N	Min.	Mak s.	Medya n	Ort.	
Tümör Tipi	Mikronodüler timoma	1	0	0	0	,00	.
	Timik karsinom	5	0	3	1	1,40	1,52
	Tip A	2	1	3	2	2,00	1,41
	Tip AB	8	0	0	0	,00	,00
	Tip B1	16	0	5	1	1,06	1,53
	Tip B2	17	0	6	2	2,94	2,08
	Tip B3	14	0	6	2	3,07	2,43

Hastaların tümör tipleri Tip B3 + Timik Karsinom ve diğerleri olarak iki gruba ayrıldığında gruplar arasında PD-L1 skorlarına göre istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 6).

**Tablo 6.** Hastaların gruplanmış tümör tiplerine göre PD-L1 skorlarının değerlendirilmesi

		PD-L1 Skoru						p
		N	Min.	Ma ks.	Medy an	Ort.	Std. Sapma	
Tümör tipi	Tip B3+Karsinom	19	0	6	2	2,63	2,31	*0,068
	Diğerleri	44	0	6	1	1,61	1,96	

\*Mann Whitney U Test

Çalışmaya dahil edilenlerden 50 yaş altında olanlarda PD-L1 pozitifliği %91,30 iken 50 yaş ve üzeri olanlarda %50,00 olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttu ( $p<0,01$ ) (Tablo 7).

Hastaların histolojik alt tipleri iki gruba ayrıldı. Tümör tipleri ile PD-L1 ekspresyon durumu arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 7).

**Tablo 7.** Hastaların sosyodemografik, klinik ve patolojik özellikleri ile PD-L1 ekspresyonunun karşılaştırılması

		PD-L1 +/-				p
		Negatif		Pozitif		
		N	%	N	%	
Yaş grubu	50 yaş altı	2	8,70	21	91,30	<b><sup>b</sup>0,001**</b>
	50 yaş ve üzeri	20	50,00	20	50,00	
Cinsiyet	Kadın	13	36,11	23	63,89	0,819
	Erkek	9	33,33	18	66,67	
Histoloji	Tip B3+Karsinom	4	21,05%	15	78,95%	<sup>a</sup> 0,129
	Diğerleri	18	40,91%	26	59,09%	
Tümör boyutu	5 cm altı	8	33,33	16	66,67	<sup>a</sup> 0,836
	5 cm ve üzeri	14	35,90	25	64,10	
Enkapsülasyon	Negatif	7	31,82	15	68,18	<sup>a</sup> 0,705
	Pozitif	15	36,59	26	63,41	
Kapsül İnvazyonu	Negatif	11	44,00	14	56,00	<sup>a</sup> 0,220
	Pozitif	11	28,95	27	71,05	
Cerrahi Sınır	Negatif	14	37,84	23	62,16	<sup>a</sup> 0,562
	Pozitif	8	30,77	18	69,23	
Myastenia Gravis	Negatif	16	44,44	20	55,56	<sup>a</sup> 0,067
	Pozitif	6	22,22	21	77,78	
SOX-2 Non-tümöral endotel	Negatif	16	30,19	37	69,81	<sup>b</sup> 0,084
	Pozitif	6	60,00	4	40,00	
SOX-2- Tümör hücresi	Negatif	18	31,58	39	68,42	<sup>b</sup> 0,171
	Pozitif	4	66,67	2	33,33	
Masaoka-Koga Evresi	Evre 1-2	20	40,00	30	60,00	<sup>b</sup> 0,116
	Evre 3-4	2	15,38	11	84,62	

<sup>a</sup>Pearson Ki Kare Test \* $p < 0,05$  \*\* $p < 0,01$

<sup>b</sup>Fisher's Exact Test

Çalışmadaki veriler ışığında elde edilen PD-L1 skoru ile hastaların sosyodemografik, klinik ve patolojik özellikleri karşılaştırılmıştır (Tablo 8).

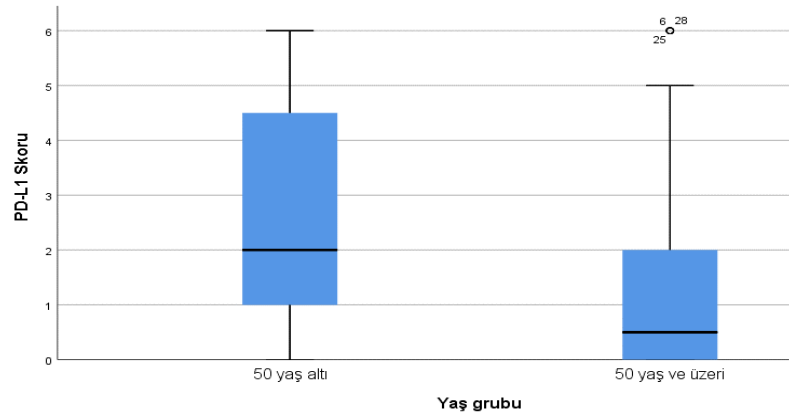
Araştırmada 50 yaş altındakilerin ve Myastenia Gravis tanısı olanların PD-L1 skoru istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek saptandı (Tablo 8).

**Tablo 8.** Hastaların sosyodemografik, klinik ve patolojik özellikleri ile PD-L1 skorunun karşılaştırılması

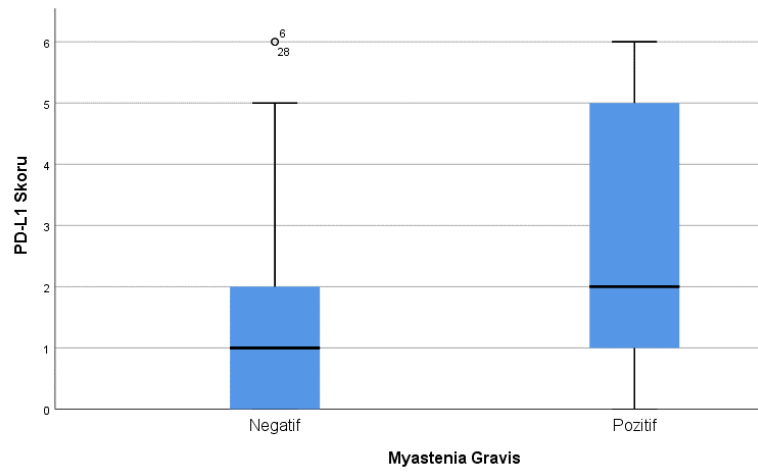
		PD-L1 Skoru			P
		N	Medyan	Std. Sapma	
Yaş grubu	50 yaş altı	23	2	2,70	<sup>a</sup> 0,004**
	50 yaş ve üzeri	40	1	1,48	
Cinsiyet	Kadın	36	1	1,83	<sup>a</sup> 0,747
	Erkek	27	1	2,04	
Histoloji	Tip B3 + Karsinom	19	2	2,63	<sup>b</sup> 0,068
	Diğerleri	43	1	1,61	
Tümör boyutu	5 cm altı	24	1	2,25	<sup>a</sup> 0,489
	5 cm ve üzeri	39	1	1,72	
Myastenia Gravis	Negatif	36	1	1,28	<sup>a</sup> 0,009**
	Pozitif	27	2	2,78	
SOX-2 Non-tümöral endotel	Negatif	53	1	2,08	<sup>a</sup> 0,154
	Pozitif	10	0	1,10	
SOX-2- Tümör hücresi	Negatif	57	1	2,05	<sup>a</sup> 0,105
	Pozitif	6	0	,67	
Masaoka-Koga Evresi	Evre 1-2	50	1	1,86	<sup>a</sup> 0,431
	Evre 3-4	13	1	2,15	

<sup>a</sup>Mann Whitney U Test \* $p < 0,05$  \*\* $p < 0,01$

<sup>b</sup>Kruskal Wallis Test



Şekil 17. Hastaların yaş grubu ile PD-L1 skorunun karşılaştırılması (p=0,004).



Şekil 18. Hastaların Myasthenia Gravis tanısı ile PD-L1 skorunun karşılaştırılması (p=0,009)

Hastaların Myastenia Gravis tanıları ile tümör tipi grubu ve tümör boyutu arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 9).

**Tablo 9.** Hastaların Myastenia Gravis tanısıyla tümör özelliklerinin karşılaştırılması

		Myastenia Gravis*				p
		Negatif		Pozitif		
		N	%	N	%	
Tümör tipi	TipB3+ karsinom	10	27,78	9	33,33	*0,634
	Diğerleri	26	72,22	18	66,67	
Tümör boyutu	5 cm altı	13	36,11	11	40,74	*0,708
	5 cm ve üzeri	23	63,89	16	59,26	

<sup>a</sup>Pearson Ki Kare Test \*Sütun yüzdesi verilmiştir

Hastaların sosyodemografik, klinik ve patolojik özellikleri ile SOX-2 tümör hücre durumları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı (Tablo 10).

**Tablo 10.** Hastaların sosyodemografik, klinik ve patolojik özellikleri ile Tümör hücresinde SOX-2 boyanmasının karşılaştırılması

		SOX-2- Tümör hücresi				P
		Negatif		Pozitif		
		N	%	N	%	
Yaş grubu	50 yaş altı	23	100,0	0	0,00	<sup>a</sup> 0,078
			0			
	50 yaş ve üzeri	34	85,00	6	15,00	
Cinsiyet	Kadın	33	91,67	3	8,33	<sup>a</sup> 1
	Erkek	24	88,89	3	11,11	
Tümör tipi	Tip B3+Karsinom	16	84,21	3	15,79	<sup>a</sup> 0,355
	Diğerleri	41	93,18	3	6,82	
Tümör boyutu	5 cm altı	20	83,33	4	16,67	<sup>a</sup> 0,190
	5 cm ve üzeri	37	94,87	2	5,13	
Enkapsülasyon	Negatif	20	90,91	2	9,09	<sup>a</sup> 1
	Pozitif	37	90,24	4	9,76	
Kapsül İnvazyonu	Negatif	22	88,00	3	12,00	<sup>a</sup> 0,674
	Pozitif	35	92,11	3	7,89	
Cerrahi Sınır	Negatif	32	86,49	5	13,51	<sup>a</sup> 0,387
	Pozitif	25	96,15	1	3,85	
Myastenia Gravis	Negatif	31	86,11	5	13,89	<sup>a</sup> 0,226
	Pozitif	26	96,30	1	3,70	
SOX-2 Non-tümöral endotel	Negatif	47	88,68	6	11,32	<sup>a</sup> 0,578
	Pozitif	10	100,0	0	0,00	
			0			
Masaoka-Koga Evresi	Evre1-2	45	90,00	5	10,00	<sup>a</sup> 1,00
	Evre 3-4	12	92,31	1	7,69	

<sup>a</sup>Fisher's Exact Test

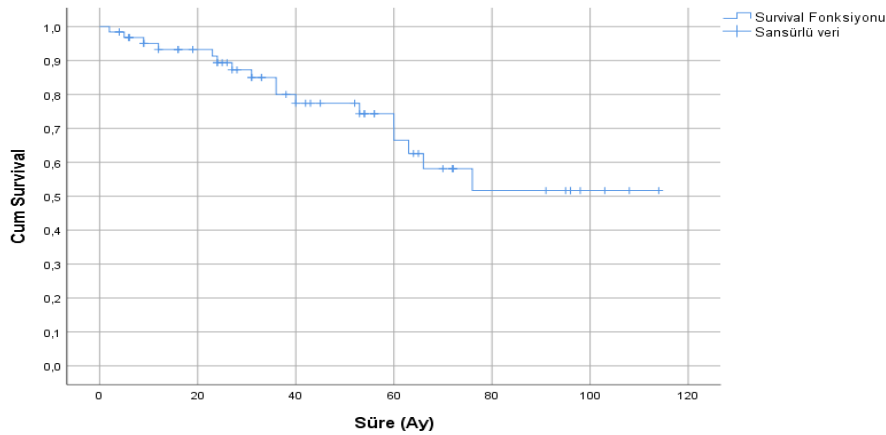
Hastaların tümör tipleriyle Masaoka-Koga evresi arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 11).

**Tablo 11.** Hastaların histolojik tipiyle Masaoka-Koga evresinin karşılaştırılması

		Masaoka-Koga Evresi*				p
		Evre1-2		Evre 3-4		
		N	%	N	%	
Histoloji	Diğerleri	36	72,00	8	61,54	<sup>a</sup> 0,508
	Tip B3 + Karsinom	14	28,00	5	38,46	

<sup>a</sup>Fisher's Exact Test \*Sütun yüzdesi verilmiştir

Çalışmaya katılanların %27'sinde (n=17) mortalitenin gerçekleştiği saptandı. Genel sağkalım grafiği değerlendirildiğinde hastaların %75 sağ kalım oranına  $53\pm 11,793$  (Ort.  $\pm$ Std. Err.) ayda ulaştığı gözlemlendi (Şekil 19).



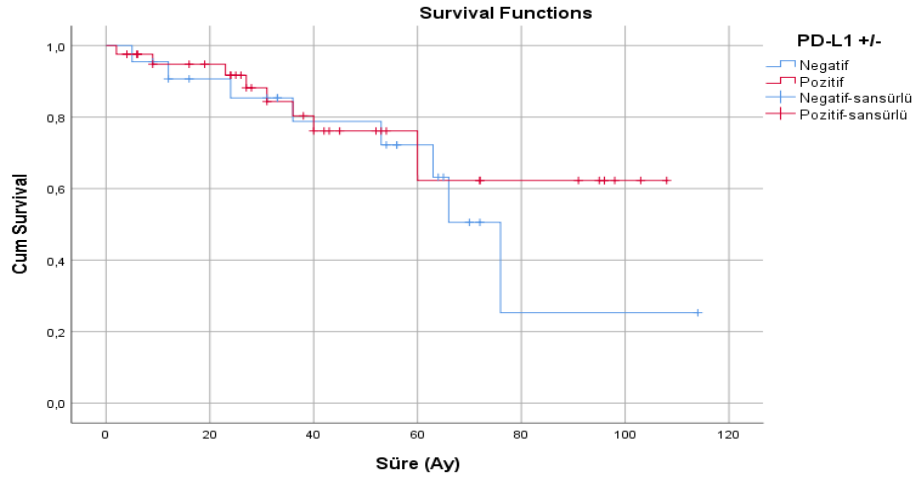
**Şekil 19.** Timoma tanısından itibaren genel sağkalım grafiği

Hastaların aylara göre genel sağkalım oranları tabloda gösterilmiştir.

**Tablo 12.** Hastaların aylara göre genel sağkalım oranları

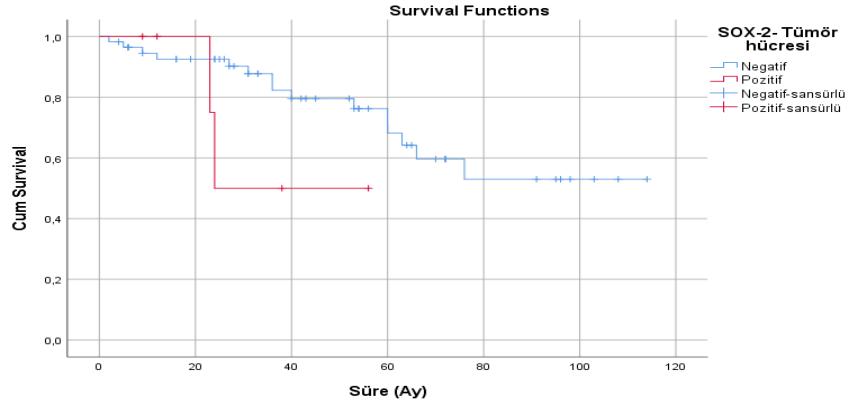
N	%
12. ay	93,2
24. ay	89,4
36. ay	80,0
48. ay	77,4
60. ay	75,3
72. ay	58,1

Çalışmaya dahil edilen hastalardan PD-L1 negatif olan hastalar %75 sağkalım oranına  $53 \pm 19,049$  ayda ulaşırken, bu değer PD-L1 pozitif hastalarda  $60 \pm 14,693$  ay olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p=0,449$ ) (Şekil 20).



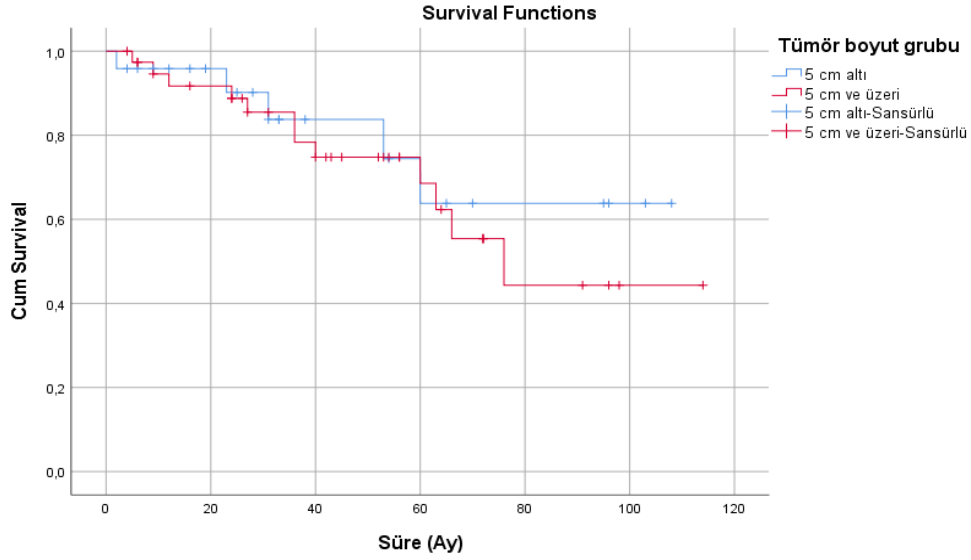
**Şekil 20.** PD-L1 ekspresyon durumuna göre Kaplan-Meier sağ kalım eğrisi

Çalışmaya dahil edilen hastalardan tümör hücrelerinde SOX-2 negatif olan hastalar %75 sağkalım oranına  $60 \pm 13,824$  ayda ulaşırken, bu değer tümör hücrelerinde SOX-2 pozitif olanlarda 23 ay olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p=0,201$ ) (Şekil 21).



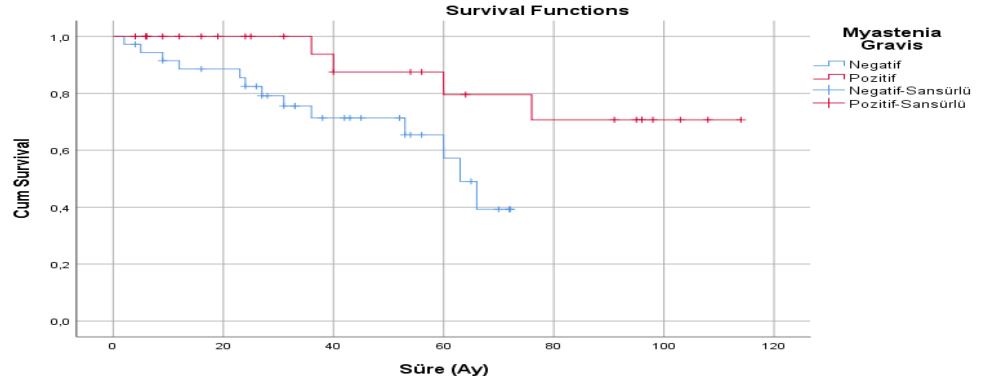
**Şekil 21.** Tümör hücresinde SOX-2 boyanması durumuna göre Kaplan-Meier sağ kalım eğrisi

Çalışmaya dahil edilen hastalardan tümör boyutu 5 cm altında olan hastalar %75 sağkalım oranına  $53 \pm 17,074$  ayda ulaşırken, bu değer 5 cm ve üzerinde olan hastalarda  $40 \pm 15,267$  ay olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p=0,595$ ) (Şekil 22).



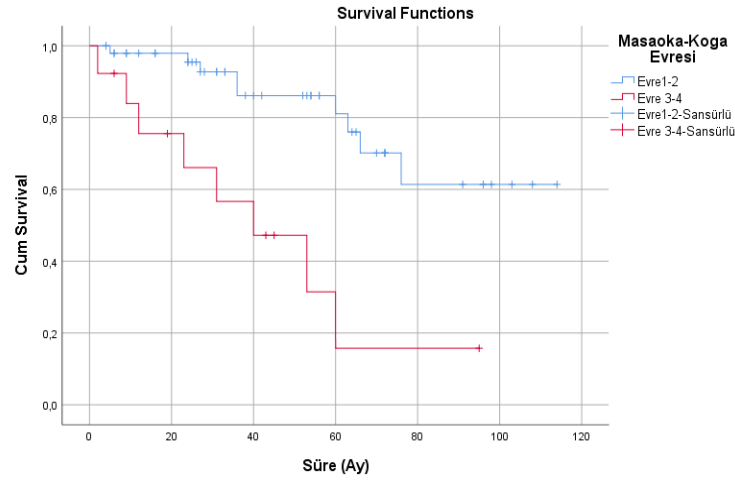
**Şekil 22.** Tümör boyutuna göre Kaplan-Meier sağ kalım eğrisi

Çalışmaya dahil edilen hastalardan Myastenia Gravis tanısı olmayan hastalar %75 sağkalım oranına  $36 \pm 14,037$  ayda ulaşırken, bu değer Myastenia Gravis tanısı olan hastalarda  $76 \pm 0,00$  ay olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark mevcuttu ( $p=0,018$ ) (Şekil 23).



**Şekil 23.** Myasthenia Gravis tanısına göre Kaplan-Meier sağ kalım eğrisi

Çalışmaya dahil edilen hastalardan Masaoka-Koga evresi 1-2 olanlar %75 sağkalım oranına  $66 \pm 7,846$  ayda ulaşırken, bu değer Masaoka-Koga evresi 3-4 olan hastada  $23 \pm 10,941$  ay olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark mevcuttu ( $p=0,000$ ) (Şekil 24).



**Şekil 24.** Masaoka-Koga evresine göre Kaplan-Meier sağ kalım eğrisi

Çalışmada tek değişkenli ve çok değişkenli analizlerle hastaların sosyodemografik, klinik ve patolojik özelliklerinin sağ kalım üzerine etkileri incelendi. Tek değişkenli analizlerde yaş grubu, cinsiyet, tümör özellikleri, RT ya da KT almış olmak, SOX-2 Non-tümöral endotel pozitifliği, SOX-2 tümör hücresi ve PD-L1 pozitifliğinin istatistiksel anlamlı düzeyde bir etkisi saptanmadı. Myasthenia Gravis tanısı ve Masaoka-Koga Evresi ile sağ kalım

arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki mevcuttu (hazard ratio [HR] 0,244, p=0,029; HR 5,221, p=0,001) (Tablo 13).

Çok değişkenli analizde ise tümör histolojisi, Myastenia Gravis ve Masaoka-Koga evresinin sağkalım üzerine istatistiksel anlamlı düzeyde etki ettiği gösterildi (HR 0,192 p=0,026; HR:0,233, p=0,049; HR 8,814, p=0,003) (Tablo 13).

**Tablo 13.** Timomalı hastalarda tek ve çok değişkenli analizlerle klinik ve moleküler patolojik faktörlerin sağ kalıma etkilerinin değerlendirilmesi

		N	Mortalite N (%)	Univariate		Multivariate	
				HR (%95 CI)	p	HR (%95 CI)	p
Yaş grubu	50 yaş altı	23	4 (17,39)	1,00	0,44	1,00	0,613
	50 yaş ve üzeri	40	13 (32,50)	1,544 (0,501- 4,754)	9	0,0,681 (0,153- 3,023)	
Cinsiyet	Kadın	36	9 (25,00)	1,00	0,69		
	Erkek	27	8 (29,63)	0,896 (0,317- 2,155)	6		
Histoloji	Diğerleri	44	14 (31,82)	1,00		1,00	<b>0,026*</b>
	Tip B3 + Karsinom	19	3 (15,79)	0,484 (0,137- 1,707)	0,25 9	0,192 (0,045- 0,824)	
RT/KT	Yok	25	5 (20,00)	1,00	0,22	1,00	0,087
	Var	38	12 (31,58)	1,929 (0,675- 5,508)	0	3,126 (0,848- 11,529)	
Myastenia gravis	Negatif	36	13 (36,11)	1,00	<b>0,02</b>	1,00	<b>0,049*</b>
	Pozitif	27	4 (14,81)	0,244 (0,069- 0,864)	<b>9*</b>	0,233 (0,054- 0,996)	
SOX-2 Non- tümöral endotel	Negatif	53	16 (30,19)	1,00	0,31		
	Pozitif	10	1 (10,00)	2,721 (0,57- 12,611)	9	1,00	0,071
SOX-2- Tümör hücresi	Negatif	57	15 (26,32)	1,00	0,20	5,804 (0,860- 39,163)	
	Pozitif	6	2 (33,33)	0,357 (0,047- 2,705)	1		
PD-L1 +/-	Negatif	22	8 (36,36)	1,00	0,45	1,00	0,241
	Pozitif	41	9 (21,95)	0,693 (0,266- 0,1,808)	3	0,465 (0,129- 1,674)	
Masaoka- Koga Evresi	Evre 1/2	50	9 (18,00)	1,00	<b>0,00</b>	1,00	<b>0,003**</b>
	Evre 3/4	13	8 (61,54)	5,221 (1,976- 13,793)	<b>1**</b>	8,814 (2,084- 37,282)	

CI = confidence interval; HR = hazard ratio; PD-L1 = programmed death ligand 1

\*p<0,05 \*\*p<0,05

## TARTIŞMA

Timik epitelyal neoplaziler nadir bir tümör grubu olmakla birlikte ön mediasten yerleşimli en sık görülen tümör tipidir. Türkiye birleşik veri tabanı istatistiklerinde timomaların insidans/prevelansı hakkında bilgi bulunamamıştır. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre tüm timik epitelyal neoplazilerin %75-85'i timomalar iken, %14-22'si timik karsinomlar, <%5 ise timik nöroendokrin tümörlerdir(14,15). Çalışmamızda timik karsinomlar %7.94, timomalar (tip A, AB, B1, B2, B3) %92.06 oranında saptanmıştır. Timik karsinom vakalarının tamamı skuamöz hücreli karsinom subtipindeydi.

Standart tedavi yöntemlerine ek olarak birçok kanser türünde yeni tedavi modaliteleri denenmektedir. Tümör mikroçevresi ve hücre çalışmaları kök bu araştırmaların odak noktasını oluşturmaktadır(3). PD-L1 kanser hücrelerinde kendi reseptörüne bağlanarak pro-tumorijenik faktör olarak etki eder ve proliferatif ileti yollarını aktive eder(87). PD-1/PD-L1 yolağının inaktivasyonu birçok kanser türünde tedavi seçenekleri arasında yer almaktadır(6). Çalışmamızda timik epitelyal neoplazilerde PD-L1 ve SOX2 ekspresyon düzeyinin klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini araştırdık.

Timomalar en sık 5. ve 6. dekatta görülürler(14). Olgularımızın çoğu literatürdeki gibi 50 yaşın üzerindedir. Literatürde TET'lerde PD-L1 ekspresyonunun yaş ile ilişkisini değerlendiren çalışmalarda anlamlı ilişki saptanmamıştır(58,98,99). Çalışmamızda ise <50 yaş olan hasta grubunun PD-L1 ekspresyon düzeyi >50 yaş olan gruptan anlamlı düzeyde yüksek tespit edilmiş ve yaş, PD-L1 ekspresyonu açısından bağımsız bir prognostik parametre olarak bulunmuştur (p=0.004). Bu bulgu, yapılacak ek çalışmaların da desteklemesi durumunda, ülkemizde hedefe yönelik tedaviye aday hasta grubunun belirlenmesinde önemli bir veri sunmaktadır.

Literatürde timomaların cinsiyet baskınlığı konusunda farklı bulgular mevcuttur. Katsuya ve ark.'ları(58), Yokoyoma ve ark.'nın çalışmaları(100). erkek baskınlığı söz konusu iken [0.6:1, 0.6:1] Guleria ve ark.'ları(101), Weissferdt ve ark.'ları(102) Arbour ve ark.'larının(103) çalışmaları(103) kadın baskınlığı tespit edilmiş ve bu oran sırasıyla 1.5:1, 1.3:1, 1.3:1 olarak bulunmuştur Bizim çalışmamızda

da hafif kadın baskınlığı (1.3:1) tespit edilmiş olup dünya sağlık örgütü verileriyle uyumludur. PD-L1 ekspresyonu ile cinsiyet arasında ise ilişki bulunmamıştır.

Çalışmamızda  $>1\%$  membranöz PD-L1 boyanması pozitif boyanma olarak kabul edilmiştir. Bu kesme değeri son rehberlerde belirtilen kesme değerini referans olarak uygulanmıştır(104). Hakiri ve ark.'ları ile Higuchi ve ark.'nın daha yakın zamanlı çalışmalarında da aynı kesme değeri uygulanmıştır(59,105). Hakiri ve ark.'nın çalışmasında 81 adet yalnızca timoma vakası değerlendirilmeye alınmış, PD-L1 pozitifliği  $\%27$  vakada saptanmıştır. Higuchi ve ark.'nın çalışmasında ise 31 timoma, 8 timik karsinomdan oluşan toplam 39 vakada, timomaların  $\%51,6$ 'sı, timik karsinomların  $\%62,5$ 'inde pozitiflik saptanmıştır(105). Öte yandan M skoru  $>25$ 'in üzerinde olan vakaların pozitif kabul edildiği 84 timoma vakasından oluşan Guleria ve ark.'nın çalışmasında  $\%82$  pozitif boyanma saptanmıştır(101).  $>5$ 'in üzerinde membranöz boyanmayı pozitif kabul eden 50 timoma ve 20 timik karsinom olgusunun değerlendirildiği Chen ve ark.'nın çalışmasında ise timoma vakalarının  $\%48$ 'inde, timik karsinom vakalarının ise  $\%70$ 'inde pozitif boyanma saptanmıştır(98). Yine  $\%25$ 'in üzerinde membranöz boyanmayı pozitif kabul eden Arbour ve ark.'larının çalışmasında 12 timoma, 11 timik karsinom olgusu değerlendirilmiş; timomaların  $\%92$ 'si, timik karsinomların ise  $\%36$ 'sında pozitif boyanma saptanmıştır(103). Sonuç olarak timoma ve timik karsinomda PD-L1 ekspresyon durumunu değerlendiren 14 farklı çalışmada pozitiflik oranları timomalar için  $\%18-92$ , timik karsinomlar için ise  $\%36-88$  aralığında saptanmıştır(101). Çalışmamızda ise 57 timoma vakasının  $\%66$ 'sı, 5 timik karsinom vakasının ise  $\%60$ 'ı pozitif boyanma göstermiştir. Bu bulgular aynı kesme değerini referans alan Higuchi ve ark.'nın sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur(105). Çalışmalardaki farklı sonuçları açıklayacak bir neden; bu çalışmaların birçoğunun boyanan alanın tespitinde, boyanma paterni ve yoğunluğunda farklılıklara neden olacak farklı antikor klonlarıyla yapılmış olmasıyla açıklanabilir. Yine çalışmaların kesme değerlerinin farklı olması, örneklem sayılarının farklılığı ve birden fazla komponent içeren tümörlerde (Tip AB, kombine timomalar vb.) temsiliyet problemi bu farklı sonuçlara neden olmuş olabilir.

Vurgulanması gereken bir diğer nokta çalışmamızda tip AB olgularını değerlendirirken hem A hem de B komponentlerinde PD-L1 boyanmasının benzer

olduğu yönündeydi. 8 adet tip AB olgusunun hiç birisinde PD-L1 pozitif boyanma saptanmadı. Bu durum her iki komponentte de benzerdi. Higuchi ve ark.'nın çalışmasında 6 adet Tip AB olgusunun hiç birisinde A komponentinde boyanma olmazken, 2'sinde B komponentinde boyanma saptanmıştır(105). Bu çelişkili durum klonalite çalışmaları, tümör heterojenitesi açısından araştırmaya açık bir alandır.

Çalışmamızda Cologna skorlaması kullanılarak membranöz boyanma gösteren tümör hücrelerinin boyanmayan tümör hücrelerine oranına göre 6 basamaklı, tümör hücrelerinin boyanma yoğunluğu ve boyanma paternine göre ise sırasıyla 3 ve 2 kategori oluşturulmuş toplamda PD-L1 değerlendirmemizi rafinize edecek 3 farklı parametrenin çarpımlarından oluşan bir skorlama sistemi meydana getirilmiştir. Bu skorlama sistemine göre hastaların tümör tiplerine göre PD-L1 skorları değerlendirildiğinde; en yüksek skora sahip tümör tipleri sırasıyla Tip B3 ve Tip B2 bulunmuştur. Bu sonuç Yokoyama ve ark.'ları(100)., Marchevsky ve ark.'ları (106), Arbour ve ark.'ları(103), Hakiri ve ark.'ları(59) ve Higuchi ve ark.'nın(105) sonuçlarıyla uyumlu saptanmıştır. Literatürdeki çalışmaların önemli bir kısmıyla uyumlu olması nedeniyle değerlendirme yönteminin çalışmamızın sonuçlarını daha güvenilir kıldığını düşünmekteyiz.

Güncel NCCN rehberinde biyopsi ile tanısı konulmuş unrezaktabl TET'li vakalarda neoadjuvan kemoradyoterapi seçeneği mevcuttur(107). Weissferdt ve ark.'nın çalışmasında neoadjuvan tedavi görmüş timoma vakalarında (timik karsinomlarda değil) PD-L1 pozitifliği daha yüksek saptanmıştır(102). Hecht ve ark. rektal adenokarsinom tanısı olan hastalarda neoadjuvan tedavinin PD-L1(+) tümör hücresi yoğunluğunu arttırdığını, bu hastalarda kemoradyoterapi ve PD-1/PD-L1 kombinasyon tedavisinin uygulanabileceğini belirtmektedirler(108). Öte yandan Katsuya ve ark. TET'lerde neoadjuvan tedavinin PD-L1 ekspresyonu üzerinde etkisi olmadığı sonucuna varmıştır(58). Çalışmamıza dahil edilen hastalardan kemoradyoterapi almış olanların tümüne adjuvan tedavi uygulanmıştır. Dolayısıyla bu hastaların cerrahi spesmen materyalinde PD-L1 ekspresyon yüksekliğini açıklayacak bağıntı uygulanmış olan kemoradyoterapi ile kurulamaz. Bu korelasyonu saptamaya yönelik yapılan çalışmaların, ileri evre unrezaktabl TET'li vakalarda neoadjuvan tedaviye ek olarak anti-PD-L1 immünoterapisinden fayda görüp görmeyeceğini

saptamak için hem kemoradyoterapinin PD-L1 ekspresyonu üzerindeki etkisini araştıracak biyomoleküler çalışmalara hem de daha geniş vaka sayısıyla yapılan araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Iwasa ve ark.'nın çalışmasında Myastenia Gravis tanısı olan hastaların kas biyopsilerinde PD-L1 ekspresyonunun myopatisi olmayan hastalara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır(109). Çalışmamız bu bilgiyi teyit eder niteliktedir. Yine Iwasa ve ark.'nın çalışmasında PD-L1 ekspresyon düzeyi semptomların şiddeti ile korele saptanmıştır. Literatürde TET'li hastalarda myastenia gravis ile PD-L1 ekspresyonunun anlamlı sonuç verdiği ilk çalışma bizim alışmamızdır. Anti- PD-L1 immnoterapisine uygun hasta seçimini belirlemede bu durum göz önünde bulundurulabilir. Bagir ve ark.'nın çalışmasında myastenia gravis'i olan TET'li hastalarda yaş ( $p=0.017$ ) ve tümör boyutu ( $p=0.031$ ) myastenia gravis'i olmayan hastalara göre daha kk bulunmuştur(99). Bu da myastenia gravis'i olan hastaların bu duruma bağlı semptomlardan ötürü daha erken hastane başvurusundan kaynaklanabilir şeklinde yorumlanmıştır. Çalışmamızda ise myastenia gravis ile tümör boyutu arasında korelasyon saptanmamıştır. Fakat alışmamızda Myastenia gravis tanılı hastaların sağ kalımı, myastenia gravis tanısı olmayan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. Bu durum ise erken hastane başvurusuna bağlı olarak gelişmiş olabilir.

Yokoyama ve ark.'ları (100), Hakiri ve ark.'ları(59), Padda ve ark.'nın(110) Masaoka Koga evresi ve PD-L1 pozitifliği ilişkisini içeren çalışmalarında ileri Masaoka Koga evresi ile PD-L1 ekspresyon durumu korele iken, Higuchi ve ark. (105) ile Weissferdt ve ark.'nın(102) alışmalarında PD-L1 pozitifliği ve ileri Masaoka Koga evresi arasında korelasyon saptanmamıştır. Çalışmamızda da mikroskopik parametreler olan ''enkapsülasyon, kapsül invazyonu, cerrahi sınırdaki tümör varlığı'' kriterleri ve gönderilen ek materyaller olan ''plevra, mediastinel yağlı doku, akciğer wedge rezeksiyonu'' gibi rezeksiyonlardaki tümör varlığı ile klinikoradyolojik parametreler değerlendirilerek Masaoka-Koga evresi verilmiştir Masaoka-Koga evresi ile PD-L1 ekspresyonu arasında korelasyon saptanmamıştır.

PD-L1 ve sağkalım ilişkisini çeşitli tümörlerde değerlendiren çalışmalar mevcuttur. Velcheti ve ark.'ları kk hücreli dışı akciğer kanseri olgularında

yaptıkları çalışmada PD-L1 ekspresyonu gösteren olguların daha iyi sağkalıma sahip olduğunu göstermişlerdir(111). Arbour ve ark.'nın ise TET'lerdeki çalışmasında PD-L1 pozitif olan olgularının PD-L1 negatif olan olgulara göre daha iyi sağkalıma sahip olduğu sonucu elde edilmiştir(103). Arbour ve ark.'ları nispeten az sayıda hasta örneğinde çalışma yapmışlardır. Literatür taramasında TET'li olgularda PD-L1 pozitif olguların daha iyi prognozla ilişkili olduğunu gösteren başka bir çalışma saptanmamıştır. Çalışmamızda da PD-L1 pozitif olan olguların, PD-L1 negatif olan olgulara göre daha uzun sağ kalıma sahip olduğu saptanmıştır ve mevcut çalışmayı destekler niteliktedir. Multivariete analizinde sağkalım ile evre, histolojik tip ve PDL1 ekspresyon durumu değerlendirildiğinde PDL1 ekspresyonu gösteren tümörlerin sağkalım sürelerinin daha uzun olduğu saptanmış ve PDL1 ekspresyonunun sağkalımda bağımsız prognostik faktör olduğu tespit edilmiştir.

Literatürde timus tümörlerinde SOX2 ekspresyonunu değerlendiren az sayıda çalışma mevcuttur. Cimpean ve ark.'nın timus ve timoma olgularındaki SOX-2 ekspresyonunu değerlendiren çalışmasında sadece tip B3 timoma olgularında tümör hücrelerinde ve intratümöral damar endotel hücrelerinde pozitif nükleer boyanma saptanmıştır(90). Çalışmada her iki komponentin boyanması kök hücrelerin hem normal endotel hücrelere hem de tümöral hücrelere differansiye olduğu yönünde yoruma neden olmuştur. Çalışmamızda endotel ve/veya tümör hücresinde ekspresyon gösteren toplam 16 olgunun tamamında iki komponentten yalnızca birisinde nükleer boyanma saptanmıştır. Vakaların dağınık histolojik tipleri ve boyanan komponentler arasında ilişki saptayamamız nedeniyle SOX-2'nin timoma karsinogenezindeki rolü üzerine yorum yapılamayacağını düşünmekteyiz.

TET'lerde SOX-2 ekspresyonunu değerlendiren diğer çalışma Lee ve ark.'nın çalışmasıdır(112). Burada SOX-2 ekspresyonu timik karsinom olgularında timomalara göre daha fazla bulunmuştur. Çalışmamızda ise kontrol dokusu pozitif boyanma gösterirken, tümör olgularımızın çok az kısmında ekspresyon saptanmıştır. Buna bağlı olarak timoma ve timik karsinom arasındaki ekspresyon farklılığı değerlendirilememiştir. SOX-2 ekspresyonu gösteren tüm olguların 2018 sonrası tanı almış olgulara ait olması immünohistokimyasal ekspresyon düşüklüğünün antijen ekstraksiyon probleminden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. Lee ve ark.'nın

çalışmasıyla kıyaslandığında olgumuzun daha az sayıda olması ve farklı klonlar ile çalışılmış olması (Lee ve ark.'ları: Cell signaling, çalışmamız: CellMarque, EP103 klonu) sonuçlardaki farklılığın sebebi olabilir. TET'lerde SOX-2 ekspresyonunu değerlendirmek için uzun süre beklememiş preparatlara ve örneklem sayısı daha fazla olan farklı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. SOX-2 ekspresyonu ile tüm sağ kalım arasında ilişkiyi değerlendiren Lee ve ark.'ları(112) SOX2 ekspresyonu ile sağkalım arasında ilişki saptamışlardır. Çalışmamızda ise sağkalım ile SOX2 ekspresyonu arasında ilişki bulamadık.

Literatürde PD-L1 gen ekspresyonunun SOX-2 tarafından transkripsiyonel olarak aktive edildiği ve bu mekanizma ile tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonunun intrinsik olarak indüklendiği yönünde çalışmalar mevcuttur(113). Çalışmamızda ise PD-L1 ve SOX-2 ekspresyonu arasında ilişki bulunamamıştır. Her iki immün belirtecin değerlendirildiği ek moleküler ve immünohistokimyasal çalışmalar bu mekanizmanın daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızın nispeten az sayıda vaka içermesi, hastaliksız sağ kalımı değerlendirmeyişi, antijenite kaybına neden olabilecek bir kısmı uzun süre beklemiş preparatların çalışılmış olması araştırmamızın kısıtlılıklarındandır. SOX-2 durumu için yalnızca immünohistokimyasal değerlendirme yapılmış olmasının TET'lerin karsinogenezinde kanser kök hücrelerinin olası rolünü tam olarak açığa çıkaramadığımızı düşünmekteyiz. Literatür taramasında çeşitli kanser türlerinde bu rolü açığa çıkarmak için yapılmış çok sayıda moleküler çalışma ileri evre hastalık, nüks, daha kötü histolojik alt tip, ilaç direnci vb. faktörlerle ilişkili olduğunu göstermiştir(114).

Sonuç olarak; PD-L1 immünoterapisi birçok kanser türünde tedavi modalitelerine eklenmiş, etkinliği kanıtlanmış bir seçenektir(115). TET'li hastalarda PD-L1'i hedefleyen prelinik ilaç araştırmaları uygun hasta profilini saptamaya ihtiyaç duymaktadır(116). Timusun T lenfosit matürasyonunu sağlayan ana organ olması nedeniyle TET'lere eşlik eden otoimmün hastalık profili geniş olup, immün kontrol noktası inhibitörlerine karşı yan etki gelişimi de siktir(117). Bu sebeple hasta seçimi ve patolojik değerlendirme sürecinin titizlikle yapılmasına ihtiyaç duymaktadır. Çalışmamızda yüksek grade histolojik tipe sahip, 50 yaşının altında olan, Myastenia gravis tanılı olan hastaların PD-L1 ekspresyonları daha yüksek saptanmıştır. Bu

bulgular çalışmamızda referans aldığımız 3 kategorili değerlendirme sistemiyle PD-L1 ekspresyonu saptanan, yukarıda belirtilen özelliklere sahip hasta gruplarında immünoterapinin faydalı olabileceğini öngörmektedir.

SOX-2 ise onkojenik ileti ve ilaç direnç gelişiminde suçlanan kanser kök hücre belirteçidir(92). Karsinogenezin birçok aşamasında rol oynayan SOX-2'nin TET'lerde kötü gidişle ilişkili olduğu ve PD-L1 ekspresyonu artırarak immün kaçışta etkili olduğu öne sürülmüştür(113). Çalışmamızda PD-L1 ekspresyonu ile SOX-2 ekspresyonu arasında ve SOX-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler arasında korelasyon saptanmaması nedeniyle, uygun materyal seçimi ve ekspresyon düzeyini belirleyecek uygun yöntem ile bu alanda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

## SONUÇLAR

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda yaptığımız çalışmada, 2013-2022 yılları arasında timoma ve timik karsinom tanısı almış olgularda PD-L1 ve SOX-2 ekspresyonu ile olguların yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri ile tümör tipi, tümör boyutu, mikroskopik invazyon derecesi, radyo/kemoterapi, myastenia gravis gibi klinikopatolojik parametreler ve sağ kalım arasındaki ilişki araştırılmış olup şu sonuçlara ulaşılmıştır:

1. Çalışmamızda Dünya Sağlık Örgütü istatistiklerine göre timoma prevalansı daha yüksek saptanırken, timik karsinom prevalansı daha düşük bulunmuştur.
2. Olgularımızı oluşturan 1.3/1 kadın/erkek oranı literatürle uyumlu saptanmıştır.
3. Araştırmada 50 yaş altındakilerin ve myastenia gravis tanısı olanların PD-L1 skoru istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek saptandı.
4. PD-L1 ekspresyonu tip B3 ve B2 gibi yüksek gradeli timoma alt tiplerinde daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç literatür sonuçlarıyla uyumlu saptanmıştır.
5. RT ya da KT almış olmak ve myastenia gravis tanısının sağ kalım üzerine istatistiksel anlamlı düzeyde etki ettiği gösterilmiştir. Timik epitelyal tümör tanılı hastalarda neoadjuvan/adjuvan tedavinin sağ kalım üzerindeki olumlu etkisi desteklenmiştir.
6. Çalışmamızda myastenia gravis tanısı olmayan hastaların myastenia gravis tanısı olan hastalara göre daha kısa sağ kalıma sahip olduğu saptanmıştır. Bu durumun myastenia gravis tanılı hastaların daha erken hastane başvurusundan kaynaklandığını düşünmekteyiz.
7. SOX-2 ekspresyonu ile klinikopatolojik parametreler ve sağ kalım arasında ilişki saptanmamıştır. Bu durumun çalışmamızda nispeten az sayıda olgu olmasından ve uzun zamandır saklanan preparatlardan antijen ekstraksiyonu problemlerinden kaynaklanabileceği sonucuna bağlanmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Filosso PL, Yao X, Ruffini E, Ahmad U, Antonicelli A, Huang J, Guerrera F, Venuta F, van Raemdonck D, Travis W, Lucchi M, Rimmer A, Thomas P, Weder W, Rocco G, Detterbeck F, Korst R. Comparison of outcomes between neuroendocrine thymic tumours and other subtypes of thymic carcinomas: a joint analysis of the European Society of Thoracic Surgeons and the International Thymic Malignancy Interest Group. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2016 Oct;50(4):766-771.
2. Falkson CB, Bezjak A, Darling G, Gregg R, Malthaner R, Maziak DE, Yu E, Smith CA, McNair S, Ung YC, Evans WK; Lung Cancer Disease Site Group of Cancer Care Ontario's Program in Evidence-Based Care. The management of thymoma: a systematic review and practice guideline. *J Thorac Oncol*. 2009 Jul;4(7):911-9.
3. Roma-Rodrigues C, Mendes R, Baptista PV, Fernandes AR. Targeting Tumor Microenvironment for Cancer Therapy. *Int J Mol Sci*. 2019 Feb 15;20(4):840
4. Girard N, Mornex F, Van Houtte P, Cordier JF, van Schil P. Thymoma: a focus on current therapeutic management. *J Thorac Oncol*. 2009 Jan;4(1):119-26.
5. Noguchi T, Ward JP, Gubin MM, Arthur CD, Lee SH, Hundal J, Selby MJ, Graziano RF, Mardis ER, Korman AJ, Schreiber RD. Temporally Distinct PD-L1 Expression by Tumor and Host Cells Contributes to Immune Escape. *Cancer Immunol Res*. 2017 Feb;5(2):106-117.
6. Miyazawa T, Marushima H, Saji H, Kojima K, Hoshikawa M, Takagi M, Nakamura H. PD-L1 Expression in Non-Small-Cell Lung Cancer Including Various Adenocarcinoma Subtypes. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2019 Feb 20;25(1):1-9.
7. Jakopovic M, Bitar L, Seiwert F, Marusic A, Krpina K, Samarzija M. Immunotherapy for thymoma. *J Thorac Dis*. 2020 Dec;12(12):7635-7641
8. Weissferdt A, Fujimoto J, Kalhor N, Rodriguez J, Bassett R, Wistuba II, Moran CA. Expression of PD-1 and PD-L1 in thymic epithelial neoplasms. *Mod Pathol*. 2017 Jun;30(6):826-833. doi: 10.1038/modpathol.2017.6. Epub 2017 Mar 10. PMID: 28281549.
9. Dragu DL, Necula LG, Bleotu C, Diaconu CC, Chivu-Economescu M. Therapies targeting cancer stem cells: Current trends and future challenges. *World J Stem Cells*. 2015 Oct 26;7(9):1185-201.
10. Weina K, Utikal J. SOX2 and cancer: current research and its implications in the clinic. *Clin Transl Med*. 2014 Jul 4;3:19.
11. Schmitz M, Temme A, Senner V, Ebner R, Schwind S, Stevanovic S, Wehner R, Schackert G, Schackert HK, Fussel M, Bachmann M, Rieber EP, Weigle B. Identification of SOX2 as a novel glioma-associated antigen and potential target for T cell-based immunotherapy. *Br J Cancer*. 2007 Apr 23;96(8):1293-301
12. Sui J, Wu X, Wang C, Wang G, Li C, Zhao J, Zhang Y, Xiang J, Xu Y, Nian W, Cao F, Yu G, Lou Z, Hao L, Liu L, Li B, Zhang Z, Cai S, Liu H, Lan P, Zhang W. Discovery and validation of methylation signatures in blood-based circulating tumor cell-free DNA in early detection of colorectal carcinoma: a case-control study. *Clin Epigenetics*. 2021 Feb 3;13(1):26

13. Hsu CH, Chan JK, Yin CH, Lee CC, Chern CU, Liao CI. Trends in the incidence of thymoma, thymic carcinoma, and thymic neuroendocrine tumor in the United States. *PLoS One*. 2019 Dec 31;14(12):e0227197.
14. Filosso PL, Yao X, Ruffini E, Ahmad U, Antonicelli A, Huang J, Guerrera F, Venuta F, van Raemdonck D, Travis W, Lucchi M, Rimmer A, Thomas P, Weder W, Rocco G, Detterbeck F, Korst R. Comparison of outcomes between neuroendocrine thymic tumours and other subtypes of thymic carcinomas: a joint analysis of the European Society of Thoracic Surgeons and the International Thymic Malignancy Interest Group. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2016 Oct;50(4):766-771.
15. Ahmad U, Yao X, Detterbeck F, Huang J, Antonicelli A, Filosso PL, Ruffini E, Travis W, Jones DR, Zhan Y, Lucchi M, Rimmer A. Thymic carcinoma outcomes and prognosis: results of an international analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2015 Jan;149(1):95-100, 101.e1-2.
16. Rothstein DH, Voss SD, Isakoff M, Puder M. Thymoma in a child: case report and review of the literature. *Pediatr Surg Int*. 2005 Jul;21(7):548-51
17. Radovich M, Pickering CR, Felau I, Ha G, Zhang H, Jo H, Hoadley KA, Anur P, Zhang J, McLellan M, Bowlby R, Matthew T, Danilova L, Hegde AM, Kim J, Leiserson MDM, Sethi G, Lu C, Ryan M, Su X, Cherniack AD, Robertson G, Akbani R, Spellman P, Weinstein JN, Hayes DN, Raphael B, Lichtenberg T, Leraas K, Zenklusen JC; Cancer Genome Atlas Network; Fujimoto J, Scapulatempo-Neto C, Moreira AL, Hwang D, Huang J, Marino M, Korst R, Giaccone G, Gokmen-Polar Y, Badve S, Rajan A, Ströbel P, Girard N, Tsao MS, Marx A, Tsao AS, Loehrer PJ. The Integrated Genomic Landscape of Thymic Epithelial Tumors. *Cancer Cell*. 2018 Feb 12;33(2):244-258.e10
18. Schweigert M, Kaiser J, Fuchs T, Stein HJ. Thymoma within a giant congenital thymic cyst. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2011 Oct;13(4):442-3.
19. Leathers CA, Azar MM, Badve SS, Roth TD, Loehrer PJ, Nelson RP Jr. Opportunistic infections in a patient with HIV and thymoma. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2013 Jul-Aug;1(4):413-5.
20. Miller BS, Rusinko RY, Fowler L. Synchronous thymoma and thymic carcinoid in a woman with multiple endocrine neoplasia type 1: case report and review. *Endocr Pract*. 2008 Sep;14(6):713-6
21. Rajan A, Zhao C. Deciphering the biology of thymic epithelial tumors. *Mediastinum*. 2019 Sep;3:36.
22. Ströbel, P., Marx, A., Zettl, A. *et al*. Thymoma and Thymic Carcinoma: An Update of the WHO Classification 2004. *Surg Today* **35**, 805–811 (2005).
23. Ströbel P, Helmreich M, Menioudakis G, Lewin SR, Rüdiger T, Bauer A, Hoffacker V, Gold R, Nix W, Schalke B, Elert O, Semik M, Müller-Hermelink HK, Marx A. Paraneoplastic myasthenia gravis correlates with generation of mature naive CD4(+) T cells in thymomas. *Blood*. 2002 Jul 1;100(1):159-66.
24. Ströbel P, Rosenwald A, Beyersdorf N, Kerkau T, Elert O, Murumägi A, Sillanpää N, Peterson P, Hummel V, Rieckmann P, Burek C, Schalke B, Nix W, Kiefer R, Müller-Hermelink HK, Marx A. Selective loss of regulatory T cells in thymomas. *Ann Neurol*. 2004 Dec;56(6):901-4.
25. Marx A, Willcox N, Leite MI, Chuang WY, Schalke B, Nix W, Ströbel P. Thymoma and paraneoplastic myasthenia gravis. *Autoimmunity*. 2010 Aug;43(5-6):413-27.
26. Zhao J, Bhatnagar V, Ding L, Atay SM, David EA, McFadden PM, Starnes S, Lechholz-Zey E, Wightman SC, Detterbeck FC, Kim AW. A systematic review of paraneoplastic syndromes associated

with thymoma: Treatment modalities, recurrence, and outcomes in resected cases. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2020 Jul;160(1):306-314.e14.

27. Fonseca AL, Ozgediz DE, Christison-Lagay ER, Detterbeck FC, Caty MG. Pediatric thymomas: report of two cases and comprehensive review of the literature. *Pediatr Surg Int.* 2014 Mar;30(3):275-86

28. Carter BW, Benveniste MF, Truong MT, Marom EM. State of the Art: MR Imaging of Thymoma. *Magn Reson Imaging Clin N Am.* 2015 May;23(2):165-77.

29. O'Sullivan B, Brierley J, Byrd D, Bosman F, Kehoe S, Kossary C, Piñeros M, Van Eycken E, Weir HK, Gospodarowicz M. The TNM classification of malignant tumours-towards common understanding and reasonable expectations. *Lancet Oncol.* 2017

30. Detterbeck FC, Nicholson AG, Kondo K, Van Schil P, Moran C. The Masaoka-Koga stage classification for thymic malignancies: clarification and definition of terms. *J Thorac Oncol.* 2011 Jul;6(7 Suppl 3):S1710-6.

31. Weis CA, Yao X, Deng Y, Detterbeck FC, Marino M, Nicholson AG, Huang J, Ströbel P, Antonicelli A, Marx A; Contributors to the ITMIG Retrospective Database. The impact of thymoma histotype on prognosis in a worldwide database. *J Thorac Oncol.* 2015 Feb;10(2):367-72

32. Jackson MW, Palma DA, Camidge DR, Jones BL, Robin TP, Sher DJ, Koshy M, Kavanagh BD, Gaspar LE, Rusthoven CG. The Impact of Postoperative Radiotherapy for Thymoma and Thymic Carcinoma. *J Thorac Oncol.* 2017 Apr;12(4):734-744

33. Detterbeck FC, Stratton K, Giroux D, Asamura H, Crowley J, Falkson C, Filosso PL, Frazier AA, Giaccone G, Huang J, Kim J, Kondo K, Lucchi M, Marino M, Marom EM, Nicholson AG, Okumura M, Ruffini E, Van Schil P; Staging and Prognostic Factors Committee; Members of the Advisory Boards; Participating Institutions of the Thymic Domain. The IASLC/ITMIG Thymic Epithelial Tumors Staging Project: proposal for an evidence-based stage classification system for the forthcoming (8th) edition of the TNM classification of malignant tumors. *J Thorac Oncol.* 2014 Sep;9(9 Suppl 2): S 65-72.

34. Okumura M, Yoshino I, Yano M, Watanabe SI, Tsuboi M, Yoshida K, Date H, Yokoi K, Nakajima J, Toyooka SI, Asamura H, Miyaoka E. Tumour size determines both recurrence-free survival and disease-specific survival after surgical treatment for thymoma. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2019 Jul 1;56(1):174- 178

35. Lee HS, Jang HJ, Shah R, Yoon D, Hamaji M, Wald O, Lee JS, Sugarbaker DJ, Burt BM. Genomic Analysis of Thymic Epithelial Tumors Identifies Novel Subtypes Associated with Distinct Clinical Features. *Clin Cancer Res.* 2017 Aug 15;23(16):4855-4864.

36. Lee GJ, Lee H, Woo IS, Kim T, An HJ, Choi HJ, Lee YS, Lee KY, Lee J, Kang JH. High expression level of SOX2 is significantly associated with shorter survival in patients with thymic epithelial tumors. *Lung Cancer.* 2019 Jun;132:9-16.

37. Li Q, Su YL, Shen WX. A novel prognostic signature of seven genes for the prediction in patients with thymoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2019 Jan;145(1):109-116.

38. Schirosi L, Nannini N, Nicoli D, Cavazza A, Valli R, Buti S, Garagnani L, Sartori G, Calabrese F, Marchetti A, Buttitta F, Felicioni L, Migaldi M, Rea F, Di Chiara F, Mengoli MC, Rossi G. Activating

c-KIT mutations in a subset of thymic carcinoma and response to different c-KIT inhibitors. *Ann Oncol*. 2012 Sep;23(9):2409-2414.

39. Owen D, Chu B, Lehman AM, Annamalai L, Yearley JH, Shilo K, Otterson GA. Expression Patterns, Prognostic Value, and Intratumoral Heterogeneity of PD-L1 and PD-1 in Thymoma and Thymic Carcinoma. *J Thorac Oncol*. 2018 Aug;13(8):1204-1212.

40. Rajan A, Heery CR, Thomas A, Mammen AL, Perry S, O'Sullivan Coyne G, Guha U, Berman A, Szabo E, Madan RA, Ballester LY, Pittaluga S, Donahue RN, Tsai YT, Lepone LM, Chin K, Ginty F, Sood A, Hewitt SM, Schlom J, Hassan R, Gulley JL. Efficacy and tolerability of anti-programmed death-ligand 1 (PD-L1) antibody (Avelumab) treatment in advanced thymoma. *J Immunother Cancer*. 2019 Oct 21;7(1):269

41. Detterbeck FC. Clinical value of the WHO classification system of thymoma. *Ann Thorac Surg*. 2006 Jun;81(6):2328-34.

42. Kuo TT, Chan JK. Thymic carcinoma arising in thymoma is associated with alterations in immunohistochemical profile. *Am J Surg Pathol*. 1998 Dec;22(12):1474-81

43. Marchevsky AM, McKenna RJ Jr, Gupta R. Thymic epithelial neoplasms: a review of current concepts using an evidence-based pathology approach. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2008 Jun;22(3):543-62.

44. Okumura M, Ohta M, Tateyama H, Nakagawa K, Matsumura A, Maeda H, Tada H, Eimoto T, Matsuda H, Masaoka A. The World Health Organization histologic classification system reflects the oncologic behavior of thymoma: a clinical study of 273 patients. *Cancer*. 2002 Feb 1;94(3):624-32

45. Kuo TT, Lo SK. Thymoma: a study of the pathologic classification of 71 cases with evaluation of the Muller-Hermelink system. *Hum Pathol*. 1993 Jul;24(7):766-71

46. Koga K, Matsuno Y, Noguchi M, Mukai K, Asamura H, Goya T, Shimosato Y. A review of 79 thymomas: modification of staging system and reappraisal of conventional division into invasive and non-invasive thymoma. *Pathol Int*. 1994 May;44(5):359-67.

47. Jain RK, Mehta RJ, Henley JD, Kesler KA, Loehrer PJ, Badve S. WHO types A and AB thymomas: not always benign. *Mod Pathol*. 2010 Dec;23(12):1641-9

48. Chalabreysse, Lara M.D.; Roy, Pascal M.D., Ph.D.; Cordier, Jean-François M.D.; Loire, Robert M.D.; Gamondes, Jean-Paul M.D.; Thivolet-Bejui, Françoise M.D., Ph.D.. Correlation of the WHO Schema for the Classification of Thymic Epithelial Neoplasms With Prognosis: A Retrospective Study of 90 Tumors. *The American Journal of Surgical Pathology* 26(12):p 1605-1611, December 2002.

49. Detterbeck FC, Parsons AM. Thymic tumors. *Ann Thorac Surg*. 2004 May;77(5):1860-9.

50. Rosado-de-Christenson ML, Strollo DC, Marom EM. Imaging of thymic epithelial neoplasms. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2008 Jun;22(3):409-31.

51. Stachowicz-Stencel T, Synakiewicz A, Cornet M, Ferrari A, Garassino M, Masip JR, Julien R, Virgone C, Schneider DT, Brecht IB, Ben-Ami T, Bien E, Reguerre Y, Godzinski J, Bisogno G, Orbach D, Sarnacki S. Thymoma and thymic carcinoma in children and adolescents: The EXPeRT/PARTNER diagnostic and therapeutic recommendations. *Pediatr Blood Cancer*. 2021 Jun;68 Suppl 4:e29042

52. Padda SK, Yao X, Antonicelli A, Riess JW, Shang Y, Shrager JB, Korst R, Detterbeck F, Huang J, Burt BM, Wakelee HA, Badve SS. Paraneoplastic Syndromes and Thymic Malignancies: An

Examination of the International Thymic Malignancy Interest Group Retrospective Database. *J Thorac Oncol.* 2018 Mar;13(3):436-446.

53. Quintanilla-Martinez L, Wilkins EW Jr, Choi N, Efird J, Hug E, Harris NL. Thymoma. Histologic subclassification is an independent prognostic factor. *Cancer.* 1994 Jul 15;74(2):606-17.

54. Chen G, Marx A, Chen WH, Yong J, Puppe B, Stroebel P, Mueller-Hermelink HK. New WHO histologic classification predicts prognosis of thymic epithelial tumors: a clinicopathologic study of 200 thymoma cases from China. *Cancer.* 2002 Jul 15;95(2):420-9

55. Ströbel P, Bauer A, Puppe B, Kraushaar T, Krein A, Toyka K, Gold R, Semik M, Kiefer R, Nix W, Schalke B, Müller-Hermelink HK, Marx A. Tumor recurrence and survival in patients treated for thymomas and thymic squamous cell carcinomas: a retrospective analysis. *J Clin Oncol.* 2004 Apr 15;22(8):1501-9

56. Park MS, Chung KY, Kim KD, Yang WI, Chung JH, Kim YS, Chang J, Kim JH, Kim SK, Kim SK. Prognosis of thymic epithelial tumors according to the new World Health Organization histologic classification. *Ann Thorac Surg.* 2004 Sep;78(3):992-7; discussion 997-8.

57. Rouquette I, Taranchon-Clermont E, Gilhodes J, Bluthgen MV, Perallon R, Chalabreysse L, De Muret A, Hofman V, Marx A, Parrens M, Secq V, Thomas de Montpreville V, Galateau-Salle F, Brousset P, Milia J, Girard N, Besse B, Molina TJ, Mazières J. Immune biomarkers in thymic epithelial tumors: expression patterns, prognostic value and comparison of diagnostic tests for PD-L1. *Biomark Res.* 2019 Dec 4;7:28

58. Katsuya Y, Fujita Y, Horinouchi H, Ohe Y, Watanabe S, Tsuta K. Immunohistochemical status of PD-L1 in thymoma and thymic carcinoma. *Lung Cancer.* 2015 May;88(2):154-9.

59. Hakiri S, Fukui T, Mori S, Kawaguchi K, Nakamura S, Ozeki N, Kato T, Goto M, Yatabe Y, Yokoi K. Clinicopathologic Features of Thymoma With the Expression of Programmed Death Ligand 1. *Ann Thorac Surg.* 2019 Feb;107(2):418-424.

60. Zhao C, Rajan A. Immune checkpoint inhibitors for treatment of thymic epithelial tumors: how to maximize benefit and optimize risk? *Mediastinum.* 2019 Sep;3:35.

61. Weissferdt A, Moran CA. Thymic carcinoma, part 1: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 65 cases. *Am J Clin Pathol.* 2012 Jul;138(1):103-14.

62. Ogawa K, Toita T, Uno T, Fuwa N, Kakinohana Y, Kamata M, Koja K, Kinjo T, Adachi G, Murayama S. Treatment and prognosis of thymic carcinoma: a retrospective analysis of 40 cases. *Cancer.* 2002 Jun 15;94(12):3115-9.

63. Zhao Y, Zhao H, Hu D, Fan L, Shi J, Fang W. Surgical treatment and prognosis of thymic squamous cell carcinoma: a retrospective analysis of 105 cases. *Ann Thorac Surg.* 2013 Sep;96(3):1019-24.

64. Suster S, Rosai J. Thymic carcinoma. A clinicopathologic study of 60 cases. *Cancer.* 1991 Feb 15;67(4):1025-32.

65. Asirvatham JR, Esposito MJ, Bhuiya TA. Role of PAX-8, CD5, and CD117 in distinguishing thymic carcinoma from poorly differentiated lung carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014 May-Jun;22(5):372-6.

66. Suzuki A, Hirokawa M, Takada N, Higuchi M, Tanaka A, Hayashi T, Kuma S, Miyauchi A. Utility of monoclonal PAX8 antibody for distinguishing intrathyroid thymic carcinoma from follicular cell-derived thyroid carcinoma. *Endocr J.* 2018 Dec 28;65(12):1171-1175.
67. Nonaka D, Henley JD, Chiriboga L, Yee H. Diagnostic utility of thymic epithelial markers CD205 (DEC205) and Foxn1 in thymic epithelial neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2007 Jul;31(7):1038-44.
68. Masakazu Kojika, Genichiro Ishii, Junji Yoshida, Mituyo Nishimura, Tomoyuki Hishida, Shu-ji Ota, Yukinori Murata, Kanji Nagai, Atsushi Ochiai. Immunohistochemical differential diagnosis between thymic carcinoma and type B3 thymoma: diagnostic utility of hypoxic marker, GLUT-1, in thymic epithelial neoplasms, *Modern Pathology*, Volume 22, Issue 10,2009,Pages 1341-1350,
69. Weissferdt A, Hernandez JC, Kalhor N, Moran CA. Spindle cell thymomas: an immunohistochemical study of 30 cases. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2011 Jul;19(4):329-35.
70. Marchevsky AM, Walts AE. PD-L1, PD-1, CD4, and CD8 expression in neoplastic and nonneoplastic thymus. *Hum Pathol.* 2017 Feb;60:16-23
71. Yoh K, Nishiwaki Y, Ishii G, Goto K, Kubota K, Ohmatsu H, Niho S, Nagai K, Saijo N. Mutational status of EGFR and KIT in thymoma and thymic carcinoma. *Lung Cancer.* 2008 Dec;62(3):316-20.
72. Ströbel P, Hartmann M, Jakob A, Mikesch K, Brink I, Dirnhofer S, Marx A. Thymic carcinoma with overexpression of mutated KIT and the response to imatinib. *N Engl J Med.* 2004 Jun 17;350(25):2625-6.
73. Zhao YJ, Zhang J, Shi F, Hu ZP, Wu JP, Wu GJ, Wang RB, Zhou Q, Chang H, Li YN, Song QK. Expression of PD-1 on CD4<sup>+</sup> Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Tumor Microenvironment Associated with Pathological Characteristics of Breast Cancer. *J Immunol Res.* 2018 Jul 4;2018:5690258.
74. Messenheimer DJ, Jensen SM, Afentoulis ME, Wegmann KW, Feng Z, Friedman DJ, Gough MJ, Urba WJ, Fox BA. Timing of PD-1 Blockade Is Critical to Effective Combination Immunotherapy with Anti-OX40. *Clin Cancer Res.* 2017 Oct 15;23(20):6165-6177
75. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J.* 1992;11:3887-3895
76. Neel BG, Gu H, Pao L. The 'Shp'ing news: SH2 domain-containing tyrosine phosphatases in cell signaling. *Trends Biochem Sci.* 2003;28:284-293.
77. Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, Rosenberg SA. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood.* 2009;114:1537-1544.
78. Staron MM, Gray SM, Marshall HD, Parish IA, Chen JH, Perry CJ, Cui G, Li MO, Kaech SM. The transcription factor FoxO1 sustains expression of the inhibitory receptor PD-1 and survival of antiviral CD8<sup>+</sup> T cells during chronic infection. *Immunity.* 2014;41:802-814.
79. Salmaninejad A, Khoramshahi V, Azani A, Soltaninejad E, Aslani S, Zamani MR, Zal M, Nesaei A, Hosseini SM. PD-1 and cancer: molecular mechanisms and polymorphisms. *Immunogenetics.* 2018;70:73-86
80. Sanmamed MF, Chen L. Inducible expression of B7-H1 (PD-L1) and its selective role in tumor site immune modulation. *Cancer J.* 2014;20:256-261.

81. Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, Freeman GJ. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat Immunol.* 2007;8:239–245.
82. Ohaegbulam KC, Assal A, Lazar-Molnar E, Yao Y, Zang X. Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway. *Trends Mol Med.* 2015;21:24–33.
83. Ji M, Liu Y, Li Q, Li XD, Zhao WQ, Zhang H, Zhang X, Jiang JT, Wu CP. PD-1/PD-L1 pathway in non-small-cell lung cancer and its relation with EGFR mutation. *J Transl Med.* 2015;13:5.
84. Abiko K, Matsumura N, Hamanishi J, Horikawa N, Murakami R, Yamaguchi K, Yoshioka Y, Baba T, Konishi I, Mandai M. IFN- $\gamma$  from lymphocytes induces PD-L1 expression and promotes progression of ovarian cancer. *Br J Cancer.* 2015;112:1501–1509.
85. Bellucci R, Martin A, Bommarito D, Wang K, Hansen SH, Freeman GJ, Ritz J. Interferon- $\gamma$ -induced activation of JAK1 and JAK2 suppresses tumor cell susceptibility to NK cells through upregulation of PD-L1 expression. *Oncoimmunology.* 2015;4:e1008824.
86. Garcia-Diaz A, Shin DS, Moreno BH, Saco J, Escuin-Ordinas H, Rodriguez GA, Zaretsky JM, Sun L, Hugo W, Wang X, Parisi G, Saus CP, Torrejon DY, Graeber TG, Comin-Anduix B, Hu-Lieskovan S, Damoiseaux R, Lo RS, Ribas A. Interferon receptor signaling pathways regulating PD-L1 and PD-L2 expression. *Cell Rep.* 2017;19:1189–1201
87. Dong P, Xiong Y, Yue J, Hanley SJB, Watari H. Tumor-intrinsic PD-L1 signaling in cancer initiation, development and treatment: beyond immune evasion. *Front Oncol.* 2018;8:386.
88. Nunes-Xavier CE, Angulo JC, Pulido R, López JI. A critical insight into the clinical translation of PD-1/PD-L1 blockade therapy in clear cell renal cell carcinoma. *Curr Urol Rep.* 2019;20:1.
89. Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ, Foster JW, Frischauf AM, Lovell-Badge R, Goodfellow PN. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature.* 1990 Jul 19;346(6281):240-4.
90. Cimpean AM, Encica S, Raica M, Ribatti D. SOX2 gene expression in normal human thymus and thymoma. *Clin Exp Med.* 2011 Dec;11(4):251-4.
91. Williamson KA, Hever AM, Rainger J, Rogers RC, Magee A, Fiedler Z, Keng WT, Sharkey FH, McGill N, Hill CJ, Schneider A, Messina M, Turnpenny PD, Rantes JA, van Heyningen V, FitzPatrick DR. Mutations in SOX2 cause anophthalmia-esophageal-genital (AEG) syndrome. *Hum Mol Genet.* 2006;3:1413–1422.
92. Justilien V, Walsh MP, Ali SA, Thompson EA, Murray NR, Fields AP. The PRKCI and SOX2 oncogenes are coamplified and cooperate to activate Hedgehog signaling in lung squamous cell carcinoma. *Cancer Cell.* 2014 Feb 10;25(2):139-51.
93. Hütz K, Mejías-Luque R, Farkasova K, Ogris M, Krebs S, Anton M, Vieth M, Schüller U, Schneider MR, Blum H, Wagner E, Jung A, Gerhard M. The stem cell factor SOX2 regulates the tumorigenic potential in human gastric cancer cells. *Carcinogenesis.* 2014;3(4):942–950.
94. Fang W-T, Fan C-C, Li S-M, Jang T-H, Lin H-P, Shih N-Y, Chen C-H, Wang T-Y, Huang S-F, Lee AY-L, Liu Y-L, Tsai F-Y, Huang C-T, Yang SJ, Yen L-J, Chuu C-P, Chen C-Y, Hsiung CA, Chang J-Y, Wang L-H, Chang I-S, Jiang SS. Downregulation of a putative tumor suppressor BMP4 by SOX2 promotes growth of lung squamous cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2014;3(4):809–819.

95. Jia X, Li X, Xu Y, Zhang S, Mou W, Liu Y, Liu Y, Lv D, Liu CH, Tan X, Xiang R, Li N. SOX2 promotes tumorigenesis and increases the anti-apoptotic property of human prostate cancer cell. *J Mol Cell Biol.* 2011 Aug;3(4):230-8.
96. Han X, Fang X, Lou X, Hua D, Ding W, Foltz G, Hood L, Yuan Y, Lin B. Silencing SOX2 induced mesenchymal-epithelial transition and its expression predicts liver and lymph node metastasis of CRC patients. *PLoS One.* 2012;7(8):e41335.
97. Yang N, Hui L, Wang Y, Yang H, Jiang X. SOX2 promotes the migration and invasion of laryngeal cancer cells by induction of MMP-2 via the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Oncol Rep.* 2014;3:2651–2659.
98. Chen Y, Zhang Y, Chai X, Gao J, Chen G, Zhang W, Zhang Y. Correlation between the Expression of PD-L1 and Clinicopathological Features in Patients with Thymic Epithelial Tumors. *Biomed Res Int.* 2018 Apr 23;2018:5830547.
99. Bagir EK, Acikalin A, Avci A, Gumurdulu D, Paydas S. PD-1 and PD-L1 expression in thymic epithelial tumours and non-neoplastic thymus. *J Clin Pathol.* 2018 Jul;71(7):637-641
100. Yokoyama S, Miyoshi H. Comparison of PD-L1 immunohistochemical assays and the significance of PD-L1 expression in thymoma. *J Thorac Dis.* 2020 Dec;12(12):7553-7560
101. Guleria P, Husain N, Shukla S, et al. PD-L1 immuno-expression assay in thymomas: study of 84 cases and review of literature. *Ann Diagn Pathol* 2018;34:135-41. 10.1016/j.anndiagpath.2018.03.012
102. Weissferdt A, Fujimoto J, Kalhor N, Rodriguez J, Bassett R, Wistuba II, Moran CA. Expression of PD-1 and PD-L1 in thymic epithelial neoplasms. *Mod Pathol.* 2017 Jun;30(6):826-833
103. Arbour KC, Naidoo J, Steele KE, Ni A, Moreira AL, Rekhman N, Robbins PB, Karakunnel J, Rimner A, Huang J, Riely GJ, Hellmann MD. Expression of PD-L1 and other immunotherapeutic targets in thymic epithelial tumors. *PLoS One.* 2017 Aug 3;12(8):e0182665.
104. Tsao MS, Kerr KM, Dacic SA, Yatabe YA, Hirsch FR. IASLC atlas of PD-L1 immunohistochemistry testing in lung cancer. *Aurora: International Association for the Study of Lung Cancer;* 2017
105. Higuchi R, Goto T, Hirotsu Y, Nakagomi T, Yokoyama Y, Otake S, Amemiya K, Oyama T, Omata M. PD-L1 Expression and Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Thymic Epithelial Neoplasms. *J Clin Med.* 2019 Nov 1;8(11):1833.
106. Marchevsky AM, Walts AE. PD-L1, PD-1, CD4, and CD8 expression in neoplastic and nonneoplastic thymus. *Hum Pathol.* 2017 Feb;60:16-23
107. <http://www.nccn.ir/Guidelines/Summary/thymic.html#pf3>
108. Hecht M, Büttner-Herold M, Erlenbach-Wünsch K, Haderlein M, Croner R, Grützmann R, Hartmann A, Fietkau R, Distel LV. PD-L1 is upregulated by radiochemotherapy in rectal adenocarcinoma patients and associated with a favourable prognosis. *Eur J Cancer.* 2016 Sep;65:52-60.
109. Iwasa K, Yoshikawa H, Furukawa Y, Yamada M. Programmed cell death ligand 1 expression is upregulated in the skeletal muscle of patients with myasthenia gravis. *J Neuroimmunol.* 2018 Dec 15;325:74-78.
110. Padda SK, Riess JW, Schwartz EJ, Tian L, Kohrt HE, Neal JW, West RB, Wakelee HA. Diffuse high intensity PD-L1 staining in thymic epithelial tumors. *J Thorac Oncol.* 2015 Mar;10(3):500-8.

111. Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, Anagnostou VK, Syrigos KN, Sznol M, Herbst RS, Gettinger SN, Chen L, Rimm DL. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. *Lab Invest.* 2014 Jan;94(1):107-16
112. Lee GJ, Lee H, Woo IS, Kim T, An HJ, Choi HJ, Lee YS, Lee KY, Lee J, Kang JH. High expression level of SOX2 is significantly associated with shorter survival in patients with thymic epithelial tumors. *Lung Cancer.* 2019 Jun;132:9-16.
113. Zhong F, Cheng X, Sun S, Zhou J. Transcriptional activation of PD-L1 by Sox2 contributes to the proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *Oncol Rep.* 2017 May;37(5):3061-3067
114. Wuebben EL, Rizzino A. The dark side of SOX2: cancer - a comprehensive overview. *Oncotarget.* 2017 Jul 4;8(27):44917-44943.
115. Xiang Z, Li J, Zhang Z, Cen C, Chen W, Jiang B, Meng Y, Wang Y, Berglund B, Zhai G, Wu J. Comprehensive Evaluation of Anti-PD-1, Anti-PD-L1, Anti-CTLA-4 and Their Combined Immunotherapy in Clinical Trials: A Systematic Review and Meta-analysis. *Front Pharmacol.* 2022 May 25;13:883655.
116. Kaira K, Imai H, Kagamu H. Perspective of Immune Checkpoint Inhibitors in Thymic Carcinoma. *Cancers (Basel).* 2021 Mar 3;13(5):1065
117. Konstantina T, Konstantinos R, Anastasios K, Anastasia M, Eleni L, Ioannis S, Sofia A, Dimitris M. Fatal adverse events in two thymoma patients treated with anti-PD-1 immune check point inhibitor and literature review. *Lung Cancer.* 2019 Sep;135:29-32

EK



## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Hakan Öztürkçü  
Ödev başlığı: hakan öztürkçü tez  
Gönderi Başlığı: HAKAN TEZ  
Dosya adı: Hakan\_Son\_son.5.docx  
Dosya boyutu: 9.26M  
Sayfa sayısı: 80  
Kelime sayısı: 12,806  
Karakter sayısı: 86,462  
Gönderim Tarihi: 22-Oca-2023 07:31ÖS (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 1996955702



T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI  
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
RAMİZE ULUSLARARASI TIP FAKÜLTESİ  
KARTAL DR. LÜTFİ KIRBAK ŞİŞİE HASTANESİ

TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ

TİMMOMA VE TİDİK KARSİNOM VAKALARINDA PD-L1 VE  
SOS-1 EKSPRESYONUNUN KLİNİKOPATOLOJİK  
BULGULARLA İLİŞKESİ

Dr. Hakan Öztürkçü

ORTA ÜNİVERSİTE TEZİ

1996955702

Copyright 2023 Turnitin. Tüm hakları saklıdır.

