

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TÜKRÜK BEZİ MALİGN TÜMÖRLERİNDE PD-1, PD-L1
EKSPRESYONU**

**UZMANLIK TEZİ
DR. HAYRİYE CANİK YAŞAR**

**DANIŞMAN
PROF. DR. FERDA BİR**

**Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi'nin 27.02.2017 tarih ve 2017TPF013 nolu kararı
ile desteklenmiştir.**

DENİZLİ - 2018

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

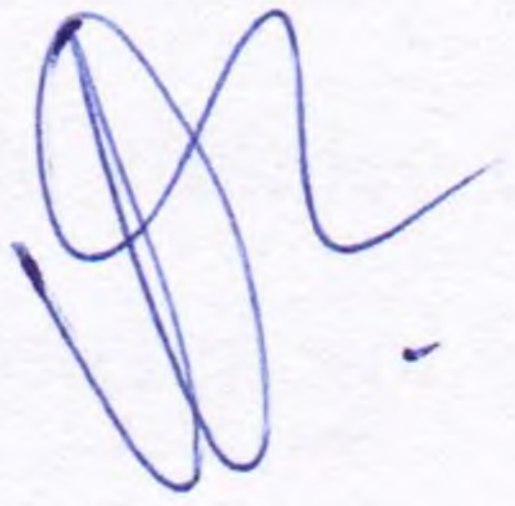
**TÜKRÜK BEZİ MALİGN TÜMÖRLERİNDE PD-1, PD-L1
EKSPRESYONU**

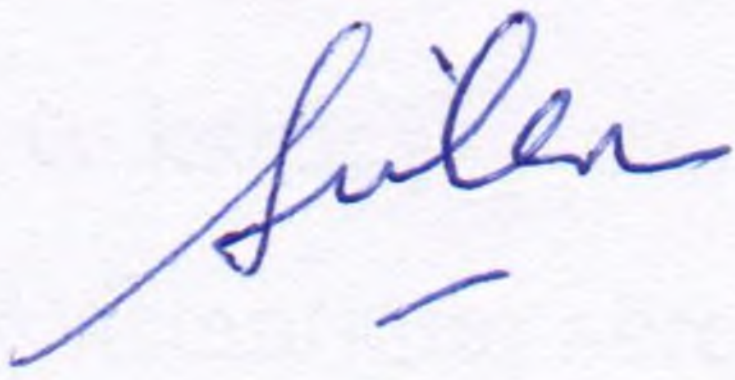
**UZMANLIK TEZİ
DR. HAYRİYE CANİK YAŞAR**

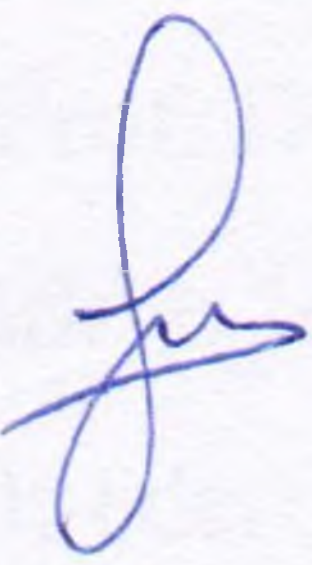
**DANIŞMAN
PROF. DR. FERDA BİR**

DENİZLİ - 2018

Prof. Dr. Ferda BİR danışmanlığında Dr. Hayriye CANİK YAŞAR tarafından yapılan “Tükrük Bezi Malign Tümörlerinde PD-1, PD-L1 Ekspresyonu” başlıklı tez çalışması 08/08/2018 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Patoloji Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN  Prof. Dr. Neşe DEMİRKAN

ÜYE  Prof. Dr. Selen SARIOĞLU

ÜYE  Prof. Dr. Ferda BİR

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

08./08./2018

Prof. Dr.....
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ
Dekan

TEŞEKKÜR

Bu uzun ve yorucu dönemde yorgunluğumu unutturan, sevgileriyle bana sınımsız sarılan, dayanma gücü veren, yaşama sevincim, mutluluk kaynağım olan çocuklarım Ahmet Tarık ve Betül Duru'ya; her koşulda yanımda olan, düştüğümde elimden tutup beni kaldıran, bana güvenen, sonsuz anlayış, özveri ve sabır gösteren yol arkadaşım, sevgili eşim Dr. Adem YAŞAR'a; zorlu eğitim hayatım boyunca sevgilerini ve desteklerini hep yanımda hissettiğim annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Asistanlığım süresince bilgi ve tecrübeleri ile yetişmemde büyük katkıları bulunan değerli hocalarım başta tez danışmanım Prof. Dr. Ferda Bir olmak üzere, Prof. Dr. Neşe Çallı Demirkan, Prof. Dr. Nagihan Yalçın, Doç. Dr. Nilay Şen Türk'e, tezimin istatistiksel analizinde katkılarından dolayı Hande Şenol'a teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan zevk duyduğum tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma, özellikle her zaman arkamda olan, destekleyen, bana güç veren sevgili arkadaşım değerli dostum Dr.Hatice ER'e, gülen yüzümüz, pozitif enerjimiz, aramıza yeni katılan sevgili Dr. Duygu Akça'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin teknik kısmında yardımcı olan, benden desteklerini sevgilerini hiç esirgemeyen tüm laboratuvar personeline ve sekreter arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Dr. Hayriye CANİK YAŞAR

Denizli, 2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY SAYFASI	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	X
ÖZET	XIII
İNGİLİZCE ÖZET	XV
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
TÜKRÜK BEZİ EMBRİYOLOJİSİ.....	3
TÜKRÜK BEZİ ANATOMİSİ.....	4
Parotis Bezi.....	4
Submandibuler Bez.....	4
Sublingual Bez.....	4
Minör Tükürük Bezleri.....	5
TÜKRÜK BEZİ HİSTOLOJİSİ.....	5
Parotis Bezi.....	6
Submandibuler Bez.....	7
Sublingual Bez.....	7
TÜKRÜK BEZLERİNİN NEOPLASTİK LEZYONLARI.....	8
GENEL ÖZELLİKLER.....	8
Mukoepidermoid Karsinom.....	11
Adenoid Kistik Karsinom.....	14
TÜMÖRDE İMMÜN DÜZENLEME.....	20
Tümör Mikroçevresi Ve İmmün Modülasyon.....	24
İmmün Kontrol Noktaları.....	27
PD-1 ve PD-L1/PD-L2.....	29

GEREÇ VE YÖNTEM	32
BULGULAR	42
TARTIŞMA	80
SONUÇLAR	94
KAYNAKLAR	96

SİMGELER ve KISALTMALAR

- AKK:** Adenoid kistik karsinom
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
KT: Kemoterapi
MEK: Mukoepidermoid karsinom
NK : Doğal öldürücü hücreler
NKT: Doğal öldürücü T hücreleri
PNİ : Perinöral invazyon
RT : Radyoterapi
SCC : Skuamöz hücreli karsinom
TİL : Tümörü infiltre eden lenfosit
Treg: Regülatör T lenfosit

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No	
Şekil 1	Kanser immün düzenleme sürecinin üç aşaması	23
Şekil 2	Düşük dereceli mukoepidermoid karsinom (H&Ex200)	34
Şekil 3	Orta dereceli mukoepidermoid karsinom (H&Ex200)	34
Şekil 4	Yüksek dereceli mukoepidermoid karsinom (H&Ex200)	35
Şekil 5	Kribriform patern adenoid kistik karsinom (H&Ex200)	35
Şekil 6	Tübüler patern adenoid kistik karsinom (H&Ex200)	36
Şekil 7	Solid patern adenoid kistik karsinom (H&Ex200)	36
Şekil 8	Olguların histolojik tipe göre dağılımı	42
Şekil 9	Berrak hücreli varyant mukoepidermoid karsinom (H&Ex200)	43
Şekil 10	Onkositik hücreli varyant mukoepidermoid karsinom (H&Ex200)	43
Şekil 11	Sklerotik varyant mukoepidermoid karsinom (H&Ex200)	44
Şekil 12	Tüm olgularda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu	51
Şekil 13	Mukoepidermoid karsinomda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu (H&Ex200)	57
Şekil 14	Adenoid kistik karsinomda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu (H&Ex200)	57
Şekil 15	PD-L1 pozitif kontrol için plesenta dokusu (H&Ex200)	58
Şekil 16	Tüm olguların tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma şiddetine göre dağılımı	58
Şekil 17	Tüm olgularda tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu	59
Şekil 18	Mukoepidermoid karsinomda tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu (H&Ex200)	65
Şekil 19	Adenoid kistik karsinomda tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu (H&Ex200)	65
Şekil 20	Tüm olguların tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 boyanma şiddetine göre dağılımı	66
Şekil 21	Tüm olgularda tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu	67

Şekil 22	Mukoepidermoid karsinomda tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu (H&Ex200)	72
Şekil 23	Adenoid kistik karsinomda tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu (H&Ex200)	72
Şekil 24	PD-1 için pozitif kontrol tonsil dokusu (H&Ex100)	73
Şekil 25	Tüm olguların PD-1 tümörü infiltre eden lenfositlerde boyanma şiddetine göre dağılımı	73
Şekil 26	Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu %1 ve üzeri pozitif kabul edilen olgular ve genel sağkalım	75
Şekil 27	Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu skora göre değerlendirilen olgular ve genel sağkalım	75
Şekil 28	Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu %1 ve üzeri pozitif kabul edilen olgular ve genel sağkalım	76
Şekil 29	Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu skora göre değerlendirilen olgular ve genel sağkalım	76
Şekil 30	Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu %1 ve üzeri pozitif kabul edilen olgular ve genel sağkalım	77
Şekil 31	Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu skora göre değerlendirilen olgular ve genel sağkalım	77
Şekil 32	Tümörün histolojik tipi ile genel sağkalım süresi arasındaki ilişki	78
Şekil 33	Evre ile genel sağkalım süresi arasındaki ilişki	78
Şekil 34	Tedavi yöntemi ile genel sağkalım arasındaki ilişki	79

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa No	
Tablo 1	Tükürük Bezi Tümörlerinde DSÖ (2017) Histolojik Sınıflaması	33
Tablo 2	Majör Tükürük Bezi Malignitelerinin 2010 AJCC Evrelemesi	37
Tablo 3	Majör Tükürük Bezi Malignitelerinin 2010 AJCC Evre Gruplaması	38
Tablo 4	Çalışmamızda Kullandığımız İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Özellikleri	39
Tablo 5	Tümör Hücrelerinde PD-L1 Ekspresyonu	40
Tablo 6	TİL'lerde PD-1 ve PD-L1 Ekspresyonu	40
Tablo 7	Olguların Klinikopatolojik Özelliklerine Göre Dağılımı	45
Tablo 8	Olguların Patolojik Evreye Göre Dağılımı	46
Tablo 9	Histolojik Tipe Göre Tedavi Yöntemleri	47
Tablo 10	Olguların Klinikopatolojik Özelliklerine Göre Dağılımı	48
Tablo 11	Adenoid Kistik Karsinom Olgularının Cinsiyete Göre Dağılımı	49
Tablo 12	Mukoepidermoid Karsinom Olgularının Cinsiyete Göre Dağılımı	49
Tablo 13	Histolojik Tipe Göre Tümör Hücrelerinde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu	52
Tablo 14	Histolojik Tipe Göre Tümör Hücrelerinde Skorum Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu	52
Tablo 15	Tümör Hücrelerinde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu ve Cinsiyet Dağılımı	53
Tablo 16	Tümör Hücrelerinde Skorum Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu ve Cinsiyet Dağılımı	53
Tablo 17	T Evresine Göre Tümör Hücrelerinde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu	54
Tablo 18	T Evresine Göre Tümör Hücrelerinde Skorum Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu	54
Tablo 19	Mukoepidermoid Karsinomda Tümör Derecesine Göre Tümör Hücrelerinde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu	55
Tablo 20	Mukoepidermoid Karsinomda Tümör Derecesine Göre Tümör Hücrelerinde Skorum Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu	55

Tablo 21	Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre Tümör Hücrelerinde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu	56
Tablo 22	Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre Tümör Hücrelerinde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu	56
Tablo 23	Tüm Olguların Histolojik Tipe Göre Tümör Hücrelerinde PD-L1 Boyanma Şiddeti	59
Tablo 24	Histolojik Tipe Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu	60
Tablo 25	Histolojik Tipe Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu	60
Tablo 26	Cinsiyete Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu	61
Tablo 27	Cinsiyete Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu	61
Tablo 28	Mukoepidermoid Karsinomda Tümör Derecesine Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu	62
Tablo 29	Mukoepidermoid Karsinomda Tümör Derecesine Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu	62
Tablo 30	Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu	62
Tablo 31	Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu	63
Tablo 32	T Evresine Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu	63
Tablo 33	T Evresine Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu	64
Tablo 34	Histolojik Tipe Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-1 Ekspresyonu	66
Tablo 35	Histolojik Tipe Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-1 Ekspresyonu	68
Tablo 36	Histolojik Tipe Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-1 Ekspresyonu	68
Tablo 37	Cinsiyete Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-1 Ekspresyonu	68
Tablo 38	Cinsiyete Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-1 Ekspresyonu	69
Tablo 39	Mukoepidermoid Karsinomda Tümör Derecesine Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-1 Ekspresyonu	69

Tablo 40	Mukoepidermoid Karsinomda Tümör Derecesine Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-1 Ekspresyonu	69
Tablo 41	Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-1 Ekspresyonu	70
Tablo 42	Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-1 Ekspresyonu	70
Tablo 43	T Evresine Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-1 Ekspresyonu	71
Tablo 44	T Evresine Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-1 Ekspresyonu	71
Tablo 45	Tüm Olguların Tümör Tipine Göre TİL PD-1 Boyanma Şiddeti	74

ÖZET

Tükrük bezi malign tümörlerinde PD-1, PD-L1 ekspresyonu

Dr. Hayriye CANİK YAŞAR

Tükrük bezi tümörleri benign ve malign neoplazmları içeren oldukça heterojen bir gruptur. Malign tükrük bezi neoplazmları 100000'de 0,4-2,6 arasında görülmektedir. Tükrük bezlerinde en sık görülen malign tümörler mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinom'dur. Tükrük bezi kanserlerinin standart tedavisi cerrahi işlemdir. Bununla birlikte ileri evre tümörlerde tedavi genellikle karmaşık multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Tükrük bezi tümörlerinin alt tiplerinin düşük prevalansı nedeniyle, sağkalım için prediktif ve prognostik klinikopatolojik faktörlere ilişkin mevcut bilgiler yetersizdir. Çeşitli kanserlerde kapsamlı çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, tükrük bezi tümörlerinde PD-1/PD-L1 gibi bağışıklık kontrol noktaları ile ilgili belirteçler hakkında veriler oldukça azdır. Bu çalışmada PD-1/PD-L1 ekspresyonunun mukoepidermoid karsinom ve adenoid kistik karsinom'da sağkalıma etkisi, klinik öneminin belirlenmesi ve klinikopatolojik faktörler ile ilişkisi araştırılmıştır.

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında 1997 ile 2017 yılları arasında tanı almış 23 mukoepidermoid karsinom ve 18 adenoid kistik karsinom olmak üzere toplam 41 malign tükrük bezi olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. İmmunohistokimyasal olarak PD-1/PD-L1 antikoru kullanılarak tam doku kesitlerinde 23 mukoepidermoid karsinom ve 18 adenoid kistik karsinom olgusu incelenmiştir. Çalışmaya alınan 41 hastanın yaşları 12-92 arasındadır. Ortalama yaş 49.68 ± 20.29 olarak saptanmıştır. Tüm hastaların %51.2'si erkek, %48.8'i kadındır. Adenoid kistik karsinom olgularımız en sık minör tükrük bezinde (%77.8), mukoepidermoid karsinom olgularımız ise parotis bezinde (%43.5) görülmüştür.

Tüm olguların klinik izlem verilerine ulaşılmıştır. Hastaların takip süreleri 1-216 ay arasında değişmektedir. Hastaların 29'u (%70.7) izlem sonunda hayattadır. Ortalama genel sağ kalım süresi 59.73 ± 55.98 aydır. Mukoepidermoid karsinom grubundaki hastalarda ortalama genel sağkalım süresi $45,88 \pm 39.36$, adenoid kistik karsinom grubundaki hastalarda ise ortalama genel sağkalım süresi 77.77 ± 69.11 aydır.

Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu mukoepidermoid karsinom grubunda %78.3, adenoid kistik karsinom grubunda %27.8 oranında pozitif saptanmıştır. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.001$). PD-L1 ekspresyonu erkeklerde kadınlara göre daha fazla görülmüştür. İstatistiksel olarak tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile cinsiyet arasında anlamlı fark tespit edilmiştir ($p=0.04$). PD-L1 ekspresyonu gösteren olguların çoğu T1'dir. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile T evreleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p= 0.029$).

Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu mukoepidermoid karsinom olgularının %65.2'sinde, adenoid kistik karsinom olgularının %38.9'unda pozitif tespit edilmiştir. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.09$).

Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu mukoepidermoid karsinom grubunda %91.3, adenoid kistik karsinom grubunda %33.3 oranında pozitif saptanmıştır. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p= 0.001$).

Korelasyon analizi sonucunda tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği ile sağkalım arasında negatif ilişki görülmüştür ($p=0.049$) ($r=-0.328$). Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu ile sağkalım arasında pozitif ilişki saptanmıştır ($p=0.047$) ($r=0.312$). Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu ile sağkalım arasında pozitif ilişki görülmüştür ($p=0.032$) ($r=0.335$).

Bulgularımız PD-L1 ekspresyonu saptanan hastalarda daha kısa yaşam süresi gözlemlendiğini göstermektedir. Bu durum PD-L1 ekspresyonu gösteren olguların kötü prognoz açısından yakın takibe alınması gerektiğini düşündürmekte; mukoepidermoid karsinom olgularında hem tümör hücrelerinde hem de tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonunun saptanması ileri evre hastaların immünoterapiden potansiyel olarak fayda görebileceğini desteklemektedir. Bu amaçla geniş serilerde yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Mukoepidermoid karsinom, adenoid kistik karsinom, PD-1, PD-L1.

SUMMARY

PD-1, PD-L1 expression in malignant tumors of salivary gland

Dr. Hayriye CANIK YAŞAR

Salivary gland tumors are a very heterogeneous group of benign and malignant neoplasms. Malignant salivary gland neoplasms seen between 0.4 to 2.6 per 100,000 persons. The most common malign tumors in salivary glands are mucoepidermoid carcinoma and adenoid cystic carcinoma. The most common malign tumors in salivary glands are mucoepidermoid carcinoma (MEK) and adenoid cystic carcinoma (AKK). The standard treatment for salivary gland cancers is surgery. However, treatment for advanced stage tumors usually requires a complex multidisciplinary approach. Despite extensive studies in various cancers, little is known about the markers of immune control points such as PD-1 / PD-L1 in salivary gland tumors. In this study, we investigated the effects of PD-1 / PD-L1 expression on mucoepidermoid carcinoma and adenoid cystic carcinoma, clinical relevance, and clinicopathologic factors.

A total of 41 cases of malignant salivary gland including 23 mucoepidermoid carcinomas and 18 adenoid cystic carcinomas diagnosed between 1997 and 2017 were included in the study in Pathology Department of Pamukkale University Medical Faculty. Immunohistochemically, 23 mucoepidermoid carcinomas and 18 adenoid cystic carcinomas were investigated in whole tissue sections using PD-1 / PD-L1 antibodies. The ages of the 41 patients studied were between 12 and 92 years. The mean age was 49.68 ± 20.29 years. 51.2% of all patients were male and 48.8% were female. Minor salivary gland (77.8%) was the most common adenoid cystic carcinoma group and parotid gland (43.5%) was located in the mucoepidermoid carcinoma group.

Clinical follow-up data of all cases have been reached. The follow up time of the patients varied between 1-216 months. Twenty-nine of the patients (70.7%) were alive at the end of the follow-up. The mean survival time was 59.73 ± 55.98 . The mean overall survival time in patients with mucoepidermoid carcinoma group was 45.88 ± 39.36 months. The mean overall survival time in patients with adenoid cystic carcinoma group was 77.77 ± 69.11 months.

Expression of PD-L1 in tumor cells was positive in 78.3% of mucoepidermoid carcinoma group and 27.8% in adenoid cystic carcinoma group. A statistically significant difference was found between these two groups. ($P = 0.001$). PD-L1 expression is more common in male patients than in women. Statistically significant difference in sex with PD-L1 expression in tumor cells was found ($p = 0.04$). Most cases of PD-L1 expression were T1. The difference between PD-L1 expression in tumor cells and T stages was statistically significant ($p = 0.029$).

Tumor-infiltrating lymphocytes in 65.2% of PD-L1 expression in mucoepidermoid carcinoma, adenoid cystic carcinoma in 38.9% of cases were positive. There was no statistically significant difference between the two groups ($p = 0.009$). Tumor infiltrating lymphocytes PD-1 expression in the group 91.3%, mucoepidermoid carcinoma, adenoid cystic carcinoma group was positive in 33.3%. There was a statistically significant difference between the two groups ($p = 0.001$).

Correlation analysis revealed a negative correlation between PD-L1 positivity and survival in tumor cells ($p = 0.049$) ($r = -0.328$). There was a positive correlation between PD-L1 expression and survival in tumor-infiltrating lymphocytes ($p = 0.047$) ($r = 0.312$). There was a positive correlation between PD-1 expression and survival in tumor-infiltrating lymphocytes ($p = 0.032$) ($r = 0.335$).

In conclusion, shorter survival time in patients with PD-L1 expression indicates that PD-L1 expression should be followed closely in terms of poor prognosis. Detection of PD-L1 expression in both tumor cells and TILs in MEK cases suggests that patients may potentially benefit from immunotherapy. For this purpose there is a need for studies to be conducted in large series.

Key words: Mucoepidermoid carcinoma, adenoid cystic carcinoma, PD-1, PD-L1.

GİRİŞ

Tükrük bezi tümörleri benign ve malign neoplazmaları içeren oldukça heterojen bir gruptur (1). Malign tükrük bezi neoplazmaları 100000'de 0,4-2,6 arasında görülmektedir (1, 2). Tükrük bezlerinde en sık görülen benign tümör pleomorfik adenom, en sık görülen malign tümörler ise mukoepidermoid karsinom (MEK) ve adenoid kistik karsinom (AKK)'dur (3, 4).

Tükrük bezi kanserlerinin standart tedavisi cerrahi işlemdir çünkü genellikle kemoterapi (KT) ve radyoterapiye (RT) direnç gösterir; bununla birlikte ileri evre tümörlerde tedavi genellikle karmaşık multidisipliner bir yaklaşım gerektirir (5,6).

Tükrük bezi tümörlerinin alt tiplerinin düşük prevalansı nedeniyle, sağkalım için prediktif ve prognostik klinikopatolojik faktörlere ilişkin mevcut bilgiler yetersizdir. Ancak kötü prognozlu alt tipler göz önüne alındığında potansiyel biyobelirteçlerin araştırılması önemlidir (7).

Çeşitli kanserlerde kapsamlı çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, tükrük bezi tümörlerinde PD-1/PD-L1 gibi bağışıklık kontrol noktaları ile ilgili belirteçler hakkında bilgi hala azdır (7).

PD-1, immünolojik aktivasyonu sınırlandıran ve inhibe eden protein yapısında bir transmembran reseptörüdür. PD-1, T hücreleri, regülatör T lenfositler (Treg), B hücreleri, aktive edilmiş monositler, dendritik hücreler, doğal öldürücü hücreler ve doğal öldürücü T hücrelerinde eksprese olur. PD-1'e bağlanarak inhibisyonun gerçekleşmesini sağlayan PD-L1 ve PD-L2 şeklinde iki ligandı mevcuttur (8, 9).

PD-L1, 9. kromozomda yer alan CD274 geni tarafından kodlanan bir transmembran yüzey glikoproteinidir. Aktive B ve T hücrelerinde, antijen sunan hücreler ile timüs, plasenta, kalp, karaciğer, endotel hücreleri ve pankreas dahil olmak üzere çoğu nonhematolojik normal dokuda geniş bir yelpazede ekspresyonu gösterilmiştir (10). PD-L1 ligandı olan tümör hücreleri, aktive T hücrelerdeki PD-1'e bağlanarak tümör mikroçevresindeki immün sistemi inhibe eder (11).

İleri evre tükruk bezi karsinomlarının kötü prognozlu olması ve etkili terapötik ajanların bulunmaması nedeniyle yeni ajanların araştırılmasına acilen ihtiyaç duyulmaktadır. Şu anda, PD-1 reseptörü ve onun ligandını içeren bağışıklık kontrol noktaları onkolojide küresel bir odak haline gelmiştir (12). Son zamanlarda diğer kanserlerin tedavisinde büyük başarı gösteren bu immünoterapotik ajanlar malign tükruk bezi tümörleri tedavisinde de etkili olabilir.

Bu çalışmada, PD-1/PD-L1 ekspresyonunun tükruk bezi malign karsinomlarında sağkalıma etkisi, klinik öneminin belirlenmesi ve klinikopatolojik faktörler arasındaki ilişkinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

TÜKRÜK BEZİ EMBRİYOLOJİSİ

Tükrük bezleri embriyonik dönemin 6-8. haftaları arasında oral kavite epitelinden gelişir. Oral kaviteyi döşeyen epitelin proliferasyonu sonucu oluşan solid hücre kümeleri mezenkim içine doğru yönelerek bez taslağını oluşturur.

Embriyonel dönemde tükrük bezi gelişiminin üç evre geçirdiği savunulmaktadır. İlk evrede primordium oluşur. İkinci evrede ise lobüllerin ve kanalların oluşumu izlenir. Bu evre yedinci ayın sonuna kadar devam eder ve fonksiyonel birimlerin oluşumu sağlanır (13). Sekizinci ay ile başlayan üçüncü evrede ise asiner hücreler ve ara kanallar belirginleşmeye başlar. Çizgili kanallar ise doğuma kadar belirginleşmez. Doğumdan itibaren beslenmenin de etkisi ile tükrük sekresyonu oluşmaya başlar (14). Asinüslerin ve kanalların distal segmentlerinin etrafını saran myoepitelial hücreler, organın gelişim safhalarında giderek azalır. Doğumdan sonra bu hücrelerin mitozları ile tekrar myoepitelial hücreler oluşur (15,16).

İlk parotis taslağı 7. Haftada (16), primitif oral epitelin solid hücre kümelerinin kordon şeklinde yanağın iç kısmından arka ve üst tarafa doğru ilerlemesiyle, ektodermal tabakadan meydana gelir. Taslağı oluşturan kordonlardan duktus ve asiniler gelişir (17). Bez çevresindeki mezenkim dokusu parotis bezi içine septalar göndererek bezi lobüllere ayırır ve kapsülün gelişmesini destekler. Submandibuler bez parotis bezinden farklı olarak intrauterin 6. haftada ağız tabanındaki endodermal tabakanın epitel tomurcuğundan meydana gelir (18). Sublingual bez embriyonel hayatın 8. haftasında bağımsız ve ayrı duktusları olan küçük sıralar halinde dizilen endodermal epitel tomurcuklarından gelişir. Ağız mukozasında dağılmış olan minör tükürük bezleri de primitif ağız epitelinden gelişip, kendi kanalcıkları ile ağız boşluğuna açılır (17).

TÜKRÜK BEZİ ANATOMİSİ

Parotis Bezi

Parotis bezi tükürük bezlerinin en büyüğüdür. Ortalama ağırlığı 14-28 gr'dır. Parotis bezi retromandibuler fossada, tepesi yukarıda bir üçgen konumundadır. İrregüler, lobüle, sarımsı bir kitle şeklindedir. Parotis kanalı (Ductus parotideus, Stensen kanalı, Stenon kanalı), ikinci üst molar diş karşısında bukkal mukozadaki papilla salivaris bukkalise açılarak sonlanır (19). Parotis bezinin yüzeysel ve derin olmak üzere iki fasyası vardır. Derin ve yüzeysel parça parotis loju yukarısında birleşmez. Fasiyal sinir parotis bezi fasyası ile yakından ilişkilidir. Bu yüzden fasiyal sinir yaralanması sonucu oluşan hemifasiyal paralizi, parotis bezi tümör rezeksiyonunda karşılaşılabilecek önemli bir komplikasyondur (20). Mandibula ramusu bezin ön parçası ile temas halindedir. Asendan ramusun posterior kenarı bezde lateral ve medial lobülasyon yapan derin bir çukurluk oluşturur. Bu sıkı ilişki nedeniyle parotis malignitelerinde bu kemik erkenden tutulabilir (21).

Submandibuler Bez

Mandibula angulusu altında trigonum submandibularede (digastrik üçgen) yerleşmiştir. İkinci büyük tükürük bezi olup, yaklaşık 10-15 gr ağırlığındadır. Submandibuler bez duktusu (Wharton kanalı, Ductus submandibularis) ortalama 5-7 cm.uzunluktadır. Wharton kanalı dil kökündeki karünkula sublingualis ile dışarı açılır (21).

Sublingual Bez

Sublingual bez ağız tabanında frenulum linguae'nın iki yanında yer alır. Ortalama 3-4 cm. uzunluğunda ve yaklaşık 2 gr ağırlığındadır. Bezin üst yüzeyinden 8-20 duktus ayrılır ve bunlar ağız tabanındaki sublingual plika boyunca dışarı açılır. Bunların bir kısmı da direkt olarak Wharton kanalına boşalır (19).

Minör Tükrük Bezleri

Minör bezler çok küçük olup ağız mukozasının içinde veya altında yer alır. Sayıları 600-1000 olan bu müköz bezler kendi küçük duktusları ile doğrudan ağız boşluğuna açılır (22). Oral kavitede tonsil üst kutbunda (Weber glandı), tonsil plikalarında ve yaygın olarak yanak, dudak, damak ve dilde; farengal, molar veya retromolar (Carmalt glandları) bölgelerde bulunur (23).

Minör tükrük bezleri 4 grupta toplanır:

A. Glandulae labiales (Labial bezler): Dudak mukozası ve dudak kasları arasında bulunur.

B. Glandulae buccales (Bukkal bezler): Yanak mukozasında yer alır.

C. Glandulae palatinae (Palatin bezler): Sert ve yumuşak damak mukozası altındadır.

D. Glandulae linguales, (Lingual bezler): Dil papillalarında, dil ucu ve dil kökünde yerleşmiştir.

TÜKRÜK BEZİ HİSTOLOJİSİ

Tükrük bezinin histolojik yapısı, luminal hücreler (asiner ve duktal hücreler) ve ablüminal hücrelerden (miyoepitelyal ve bazal hücreler) oluşan iki katmanlı bir organizasyondur (24).

Asinuslar olarak adlandırılan hücresel salgı birimlerinden ve çok sayıda duktus sisteminden oluşur. Salgı birimlerini oluşturan hücreler seröz ve müköz hücreler olmak üzere iki tiptir. Seröz hücreler piramid şeklindedir ve yuvarlak nükleusları, hücrenin apikal bölümünde yığılmış olan salgı granülleri tarafından bazale itilir. Müköz hücreler ise seröz hücrelere benzer; ancak mukus ile dolu sitoplazmadaki nükleus yassılaştırmış ve bazale doğru itilmiştir. Myoepitelyal hücreler hem seröz hem müköz asinusları çevreleyen kasılabilir hücrelerdir (18).

Tükrük bezleri sekretuar birimlerin baskınlığına göre seröz, müköz ve mikst olarak üç kategoride sınıflandırılır. Seröz bezler amilaz, müköz bezler sialomüsin içerir (18).

Duktus sistemi; interkalar, çizgili kanallar, intralobuler ve interlobüler kısımlardan oluşur (25). Duktus interkalaris asinüs lümeni ile bağlantılı, tek katlı yassı veya kübik epitel ile döşeli bir kanaldır. Lobül içinde bulunduğu intralobüler kanal olarak isimlendirilir. Çizgili kanalları döşeyen tek katlı kübik veya prizmatik epitel sitoplazmalarındaki çok sayıda mitokondri nedeniyle asidofil boyanır. Bu kanal da duktus interkalaris gibi lobül içinde bulunduğu intralobüler kanal olarak isimlendirilir. İnterlobüler kanallar başlangıçta tek katlı prizmatik, daha sonra çok katlı prizmatik ve yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir (26).

Parotis Bezi

Parotis bezi esas olarak seröz tip salgı üretir. Neonatal dönemde parotis bezinde müköz asiniler de bulunmaktadır (25). Seröz asiniler belirgin bir bazal membran ile çevrili piramid şekilli epitelyal hücre gruplarından oluşur. Hücrelerin bazal sitoplazmaları iyi gelişmiş granüler endoplazmik retikulum ve bol serbest ribozom nedeniyle bazofil; apikal sitoplazmaları protein yapısında seröz salgı ürünü içeren granülleri (zimojen granül) nedeni ile asidofil boyanır (26). Asiner hücrelerin sitoplazmasındaki zimojen granüllerde amilaz (ptyalin), lizozim ve laktoferrin gibi diğer enzimler de bulunur (27, 28).

Bütün tükrük bezlerinde asinüs hücreleri ile bazal lamina arasında; kanalların başlangıç bölümünde ise kanal hücreleri ile bazal lamina arasında myoepitelyal hücreler yer alır. Bu hücreler içerdikleri kontraktıl elemanlar sayesinde salgı ürününün atılmasını sağlar (26).

Submandibuler Bez

Submandibuler bez esas olarak seröz asini (%90), daha az oranda müköz asinuslardan oluşan miks bir bezdir. Seröz hücreler oksifilik granüllü (PAS pozitif) hücrelere sahiptir. Seröz hücreler; müköz hücrelerin dışında yarım ay şeklinde dizilmişlerdir. Buna ” Giazzuzi Yarımayı” denir. Hematoksilen-eozin boyasında müköz asinuslar soluk mavi renkte, seröz asinuslar ise bunların etrafında koyu pembe yarım ay şeklinde görülür. Yağ dokusu, parotiste olduğu gibi, parankimin önemli bir komponentini oluşturmamaktadır. Wharton kanalı iki sıralı yüksek prizmatik, distalde ise çok katlı yassı epitelle örtülüdür (18).

Sublingual Bez

Sublingual bez mikst bir bezdir. Diğer tükürük bezlerinden daha değişik bir yapıdadır. Müköz asinileri serözlerden daha fazladır. Sekretuar tübülleri mikst veya saf müközdür. Saf seröz asini nadir veya yoktur (18).

TÜKRÜK BEZLERİNİN NEOPLASTİK LEZYONLARI

GENEL ÖZELLİKLER

Tükrük bezi tümörleri benign ve malign neoplazmaları içeren oldukça heterojen bir gruptur. Epidemiyolojik çalışmalar tüm baş-boyun tümörlerinin yaklaşık %5'ini tükrük bezi tümörlerinin oluşturduğunu göstermektedir (29, 30). Tüm dünyadaki yıllık insidansının 100000'de 0,4-13,5 arasında olduğu tahmin edilmektedir (24, 31, 32). Malign tükrük bezi neoplazmaları 100000'de 0,4-2,6 aralığındadır (1, 2, 33, 34).

Tükrük bezi tümörlerinin çoğunluğu parotis bezinin yüzeysel lobundadır (%64-80). Submandibular bezde %7-11, minör bezlerde %9-23 ve sublingual bezde %1'den az ortaya çıkmaktadır. Benign tümörler %54-79 oranında iken; malign tümörler %21-46 oranında bulunmaktadır. Malign tümörler, parotis bezi tümörlerinin %15-32'sini, submandibular bez tümörlerinin %41-45'ini, sublingual bez tümörlerinin %70-90'ını ve minör bez tümörlerinin %50'sini oluşturmaktadır (35).

En yaygın tümör tipi pleomorfik adenomdur ve tüm tükrük bezi tümörlerinin yaklaşık % 50'sini oluşturur (35). Geniş popülasyona dayalı çalışmalarda, MEK ve AKK, tükrük bezi malign tümörlerinin en sık görülen alt tipleri olarak bildirilmiştir (4, 36, 37).

Kadın cinsiyet daha fazla etkilenmektedir ancak tümör türüne göre cinsiyet farklılığı görülebilmektedir. Benign ve malign tükrük bezi tümörlerinde ortalama yaş sırasıyla 46 ve 47'dir. Ancak spesifik tiplerin çoğunda pik insidans 6 ve 7. dekatlardır (35). Genel olarak, tükrük bezi tümörleri çocuklarda ve ergenlerde nadirdir. Yetişkinlerde olduğu gibi çocuklarda da benign tümörler daha fazladır. En sık görülen tümör pleomorfik adenomdur. Genellikle 11-18 yaşları arasındaki çocukları etkiler. En sık saptanan lokalizasyon parotis bezi, submandibular bez ve minör tükrük bezleridir (38). Çocuklarda tükrük bezi malign tümörleri çok daha nadir görülür. En sık 14 yaş dolayında saptanır (39). Kız çocuklar erkeklerden daha fazla etkilenmektedir. Yerleşim yeri parotis bezi olma eğilimindedir (38). Prensipten olarak, çocuklarda Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflandırmasının tüm malign tümörleri görülebilir. Düşük dereceli veya orta dereceli MEK çocuklukta en sık

tanımlanan malign tümördür. Bunu asinik hücreli karsinom ve AKK izler. Çocuklarda ve ergenlerde bu üç kanser türü, malign tükrük bezi tümörlerinin %80-90'ını oluşturur. Tükrük bezinin adenokarsinomları, bazal hücreli karsinomları ve skuamöz hücreli karsinomları (SCC) daha seyrek görülür (40).

Türkiye’de tükrük bezi tümörleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Bunlardan Gök ve ark.nın çalışmasında 112 tükrük bezi kitlesinin % 60'ının parotis bezinden, %45'inin submandibular bezden, %7'sinin minör tükrük bezlerinden kaynaklandığı; parotis bezindeki kitlelerin % 83,3'ünün benign, % 16,6'sının malign, submandibular bez kitlelerinin %86,6'sının benign, %13,3'ünün malign, minör tükrük bezi kitlelerinin ise % 42,2'sinin benign, % 57,1'inin malign karakterde olduğu bildirilmiştir. Malign tümörler içinde en sık MEK ve AKK; benign tümörler içinde ise en sık pleomorfik adenom saptanmıştır (41). Alper ve ark.nın 142 olgudan oluşan serisinde en sık görülen malign tükrük bezi tümörü AKK, en sık görülen benign tümör pleomorfik adenomdur. Tümörlerin %59,15'i parotis, %11,98' i submandibuler bezde, %2,81' i sublingual bezde ve % 26,06'sı minör tükrük bezlerinde lokalizedir (42). Lebe ve ark.ları toplam 130 olgunun %72,3'ünün benign, %27,7' sinin malign; en sık görülen benign tümörün pleomorfik adenom, en sık görülen malign tümörün ise AKK olduğunu bildirmiştir (43). Aydın ve ark.nın çalışmasında parotis cerrahisi uygulanan 52 hastanın 47'sinde benign, 5'inde malign tümör görülmüştür ve en sık malign tümör MEK; en sık benign tümör pleomorfik adenomdur (44). Atalay ve ark.nın çalışmasında 158 olgudan 14'ü malign, 123'ü benign ve 21'i nonneoplastiktir. En sık görülen malign tümör MEK; en sık görülen benign tümör ise pleomorfik adenomdur (45).

Tükrük bezi tümörlerinin etiyojisi hakkında çok az şey bilinmektedir. Olası bazı etkenler olarak enfeksiyonlar, obstrüktif veya travmatik nedenler, genetik faktörler, virüsler (EBV), iyonize radyasyon maruziyeti, mesleki maruziyet (lastik, metal endüstrisi, nikel maruziyeti, saç-güzellik işinde olanlar, vs.), yaşam stili, beslenme (A avitaminozu), hormonlar (östrojen) gösterilmiş ancak nadir görülen lenfoepitelyoma benzeri karsinom gelişimi hariç, diğer tümörlerde yüksek riskli gruplar tanımlanamamıştır (46). Dikkat çekici olarak, benign Warthin tümörleri için sigara içmek başlıca risk faktörüdür, ancak bu tükrük bezi neoplazmı asla

maligniteye dönüşmez (35). Çocukluk çağındaki RT sonrası pleomorfik adenom ve diğer tümör insidanslarının arttığını gösteren çalışmalar bulunmakta ancak RT kesin etken olarak gösterilememektedir (47, 48). Araştırmalar Hiroşima ve Nagasaki'deki atom bombası patlamalarının benign tümörler için 3.5 kat ve malign tükruk bezi neoplazileri için 11 kat risk artışı bildirmektedir. Risk doğrudan iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma düzeyi ile ilişkili bulunmuştur. Bu grupta hem MEK, hem de Warthin tümörü daha yüksek oranda görülmüştür (49).

Alt tiplerin çokluğu ve birçok tükruk bezi tümörünün nadir görülmesi histopatolojik tanıyı oldukça zorlaştırmaktadır. Tükruk bezi tümörlerinin morfolojik değişkenliği immünohistokimyasal profillere de yansıdığından tükruk bezi epitelyal neoplazmalarının rutin teşhisinde immünohistokimya da nadiren fayda sağlar. Bu yüzden tanı halen konvansiyonel histopatolojiye dayanmaktadır (35).

Rezektabl tümörler için cerrahi eksizyon başlıca tedavi yöntemidir. Ancak yüksek dereceli tümör, pozitif cerrahi sınır, perinöral veya vasküler invazyon, lenf nodu metastazı gibi risk faktörlerinin bulunması durumunda radyasyon gibi adjuvan terapiler tedaviye eklenmektedir (50). KT sadece metastatik hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. ACC'larda çoğu zaman platin bazlı KT'lerin uygulanabilirliği sorgulanmıştır (51). Adjuvan RT'ye KT ilavesi hala tartışmalıdır. Kemoradyoterapi, olumsuz risk faktörleri olan hastalarda mükemmel lokal kontrol oranları ile sonuçlanırken (52, 53) özellikle yaşlı hastalarda tek başına RT ile karşılaştırıldığında mortalite ve toksisiteyi artırabilmektedir (54). İleri evre olgularda, RT, proton ve karbon iyonu tedavisi dahil olmak üzere partikül tedavisi veya eş zamanlı kemoradyoterapi palyasyon veya lokal semptomatik kontrolü kolaylaştırabilir.

Boyun diseksiyonu tükruk bezi neoplazmalarının cerrahi tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. Lenf nodu tutulumunun preoperatif kanıtı durumunda her zaman bir boyun diseksiyonu planlanmalıdır; nodal tutulumu olmayan hastalarda >4 cm tümör, yüksek dereceli maligniteler, preoperatif yüz felci ve cilt infiltrasyonu gibi durumlar profilaktik boyun diseksiyonu gerektirir (55, 56).

Meme, akciğer ve gastrik kanserin aksine, tükürük bezi kanserlerinde, kişisel terapi için potansiyel hedeflerin değerlendirilmesi rutin bir panelin parçası değildir. Farklı cerrahi ve adjuvan tedavileri gerektiren bu tümörler patologlar ve klinisyenler için büyük bir zorluk teşkil etmektedir. Günümüzde sık görülen kanserlerden farklı olarak hedefe yönelik terapi nadir bulunan tükürük bezi kanserlerinde henüz standart tedavi seçeneği değildir (57).

Mukoepidermoid Karsinom

MEK en sık görülen tükürük bezi malignitesidir. Tüm tükürük bezi tümörlerinin yaklaşık % 5-15'ini ve tüm malign tükürük bezi tümörlerinin % 30-35'ini temsil eder (58-60). Geniş bir yaş dağılımı göstermektedir. Çocuk ve genç yetişkinlerde en yaygın tükürük bezi malignitesi olup, yaşamın ikinci dekadında pik insidansı yüksektir (61). Cinsiyet farkı belirtilmemiştir (62). En sık parotis bezinde görülmektedir. Bunu damak, submandibular bez ve diğer intraoral minor tükürük bezleri takip eder (63). Veriler radyasyona maruz kalmanın bir risk faktörü olduğuna işaret etmesine rağmen, MEK patogenezi tam olarak açığa kavuşmamıştır (64-66).

Klinik tablo, tümörün bulunduğu bölgeye, boyuta ve dereceye bağlı olarak değişir. Yüzeysel konumları nedeniyle, mukoseli veya vasküler tümörü taklit eden mavi-kırmızı renkte bir kitle olarak görülebilir (62, 67). Müsinöz MEK, kist rüptürü nedeniyle fluktuasyon verebilir ve müsin drene eden kutanöz fistül olarak ortaya çıkabilir. Elli beş olgudan oluşan bir seride, başvuru semptomları şişlik (% 93), ağrı (% 27), ülser (% 18), infiltrasyon (% 15), renk değişikliği (% 13), fluktuasyon (% 4) ve fasiyal parestezi (% 2)'dir (68). Sublingual yerleşimli MEK küçük boyutlu olsa bile ağrılı olabilir. Sublingual tümürlü hastalar genellikle daha erken klinik semptom göstermesi nedeniyle, parotis veya submandibular tümörlerden daha önce teşhis edilir (69).

MEK, tipik olarak kistik komponentle birlikte yumuşak-sert iyi sınırlı veya infiltratif kitle olarak görülür. Lokalizasyonuna bağlı olarak MEK'larda tümör boyutu

genellikle <1 ile 3 cm arasında değişmektedir. Gecikmiş tanı veya ihmal edilen vakaları yansıtan 12 cm'ye kadar boyutlar da bildirilmiştir (70).

Kistik ve solid büyüme paterni gösteren epidermoid, müsin üreten ve intermediate hücrelerin değişken oranları ile karakterize bir tümördür. Poligonal şekilli epidermoid hücreler, hücreler arası köprüler ile karakterizedir. Ancak keratin incileri, keratohyalin veya skuamöz adalar görülmez. Intermediate hücrelerin epidermoid ve müsinöz hücreler için progenitör hücreler olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. Bunlar genellikle sınırları belirsiz küçük, küboidal, nükleus/sitoplazma oranı yüksek, soluk eozinofilik sitoplazmalı, dağınık kromatinli, nükleölü belirgin olmayan hücrelerdir (71). Müsinöz hücreler ise büyük boyutlu; müsin proteinleri ile pozitif boyanan, soluk sitoplazmalı, periferik nükleuslu hücrelerdir. MEK'lar ayrıca skuamöz, onkositik, berrak, kolumnar ve diğer seyrek hücre türleri de dahil olmak üzere çeşitli hücre tipleri içerebilmektedir (72-76).

Onkositik, berrak hücreli ve sklerozan varyantlar da tanımlanmıştır. Nadir bulunan onkositik varyant, çoğunlukla, dağınık müsinöz olan poligonal/kolumnar onkositik hücrelerden ve az sayıda epidermoid hücreden oluşmaktadır (77). Sklerozan varyant dens hyalinize fibrozis ile karakterizedir (78).

MEK tanısı hem histolojik hem de sitogenetik anormalliklerin varlığına dayanmaktadır. Bu tümörler, kist oluşumunun miktarına, sitolojik atipi derecesine ve epidermoid, mukoid ve intermediate hücre tiplerinin oranına bağlı olarak derecelendirilmektedir.

Düşük dereceli tümörler, az miktarda sitolojik atipi içeren, mukoid hücre oranı fazla ve belirgin kist oluşturma eğiliminde olan tümörlerdir (79).

Yüksek dereceli MEK, aşağıdaki özelliklerden bir veya daha fazlasını gösterir: Nükleer anaplazi, nekroz, artmış mitotik oran ve perinöral, lenfovasküler veya kemik invazyonu. Tümörler genellikle düşük ya da intermediate MEK odakları içerir. Yüksek dereceli MEK tanısı için fokal intraselüler müsin pozitifliği gerekir. Keratin incisi varlığı, aşırı nükleer pleomorfizm veya cilt kanseri öyküsü varlığında teşhis tekrar düşünülmelidir (80).

MEK, çeşitli oranlarda MUC1, MUC4, MUC5AC ve MUC5B de dahil olmak üzere çeşitli mebrana bağlı müsinleri eksprese eder. Yüksek MUC1 ekspresyonu yüksek histolojik derece, sık rekürrens ve metastaz oranı, kısa hastaliksız yaşam süresi ile ilişkilidir. Tersine, tümör diferansiyasyonunun bir göstergesi olan MUC4 ekspresyonu, düşük derece, düşük rekürrens oranı ve uzun hastaliksız dönem ile ilişkilidir. MUC5AC için pozitif boyama, yüksek dereceli MEK'u SCC'dan ayırmada yararlıdır (73).

MEK'da, epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) overekspresyonu araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda EGFR ve HER2 overekspresyonu MEK'ların az bir kısmında tespit edilmiş ancak bu hastalarda daha sık metastaz ve daha kısa genel sağkalım saptanmıştır (81, 82).

Çoğu MEK, t(11; 19)(q21; p13) translokasyonu ve CRTC1-MAML2 gen füzyonu ile karakterizedir ve bir kısmında t(11; 15) (q21; q26) translokasyonu ve CRTC3-MAML2 gen füzyonunu görülür.(83). Pek çok çalışma CRTC-MAML2 translokasyonu varlığının prognostik ve diagnostik değeri olduğunu göstermiştir (84). Translokasyon ve gen füzyonlu tümörler düşük ile orta derece olma eğilimindedir ve genç hastalarda bildirilmiştir, ancak yüksek dereceli MEK'larda da füzyon pozitif olabilir. CRTC1-MAML2 eksprese eden tümörlü hastalar, füzyon negatif tümörler ile karşılaştırıldığında, daha fazla genel sağkalım ve daha düşük rekürrens ve metastaz riskine sahiptir (85, 86). Nadir olgularda t(6; 22) (p21; q12) translokasyonu ve EWSR1-POU5F1 gen füzyonu da bildirilmiştir. Bu füzyon bulguları doğrulanmış olsa da, tanı ve klinik sonuçlar için bu tümörlerin patolojik değerlendirmesinde belirsizlik devam etmektedir (80).

MEK'un klinik davranışı ve prognozunu tahmin etmede histolojik derecelendirme oldukça önemlidir. Düşük dereceli MEK, rekürrens riski olsa da mükemmel bir prognoza sahip olma eğilimindedir. Orta dereceli tümörlerin prognostik ilişkisi net değildir. Düşük ve orta dereceli MEK'larda genellikle cerrahi eksizyon ile kür sağlanabilir (80). 10 yıllık toplam sağ kalım süresi düşük dereceli,

orta dereceli ve yüksek dereceli MEK'larda sırasıyla yaklaşık %90, %70 ve %25'tir. MEK'da uzak tümör yayılımı nadirdir ve ancak tanıdan yıllarca sonra görülür (87).

AFİP / DSÖ derecelendirmesi kullanıldığında, submandibular bezin düşük dereceli MEK'ları, parotis bezinin veya minör tükrük bezinin düşük dereceli MEK'larından daha agresif olmaya meyillidir (69).

Anatomik olarak ulaşılabilen MEK'larda metastaz yoksa tercih edilen tedavi tam cerrahi rezeksiyondur. Lokal ilerlemiş/erişilemeyen tümörler, pozitif cerrahi sınırlar/tamamlanmamış rezeksiyon olasılığı, kemik/sinir invazyonu, nodal metastaz veya yüksek dereceli tümörlerin tedavisi için özel planlama gerekmektedir (88, 89). Adjuvan RT, pozitif cerrahi sınırlara sahip olgularda, yüksek dereceli MEK'ler için ve daha yüksek bir rekürrens riski (örneğin, perinöral invazyon, ileri evre vb.) gösteren hastalarda tavsiye edilmektedir (90, 91). Elektif boyun irradyasyonu, artmış nodal metastaz riski olan hastalar için uygun olabilir (92, 93). MEK'da KT'ye ilişkin çok az veri bulunmaktadır (94, 95). Palyatif ortamlarda KT genellikle sağkalım üzerinde düşük bir etkiye sahip tedavi edilemeyen metastatik hastalığı olan hastalar için kullanılmaktadır (29).

Adenoid Kistik Karsinom

AKK; tübüler, kribriiform ve solid formlar oluşturan epitelyal ve myoepitelyal neoplastik hücre komponentleri içeren, yavaş büyüyen bir tükrük bezi malignitesidir. Tüm baş ve boyun malignitelerinin yaklaşık %1'ini (96) ve tüm tükrük bezi tümörlerinin yaklaşık %10'unu oluşturur (97). Danimarka nüfusuna dayalı büyük bir araştırmada her yıl milyonda 3–4,5 vaka bildirilmiştir (36). Nova Scotia'da, yıllık insidansın 4,5/1,000,000 vakaya yükseldiği saptanmıştır (98). Bu insidans tahminlerinin, tükrük bezi tümörlerinin histolojik teşhisi konusundaki güçlüklerden kesinlikle etkilendiğini ve birkaç çalışmada yeniden sınıflandırma ile oranların %14 ile %29 arasında değiştiğini belirtmek gerekmektedir (36, 99, 100).

Tükrük bezi karsinomları arasındaki AKK oranı, primer tümörün bulunduğu bölgeye göre değişmektedir. Parotis bezi tümörleri ile ilgili Hollanda'da yapılan bir araştırmada AKK, her 6 parotis kanserinden 1'ini oluşturan en sık tümör tipi olarak gösterilmiştir (101). AKK olasılığı, tükrük bezi tümörlerinin %40'ından sorumlu olan submandibular bezde daha da fazladır (102, 103). AKK, minör tükrük bezlerinde oranı %32 ile %71 arasında değişen en yaygın kanser türüdür. Minör tükrük bezlerinde en sık damakta bulunur ve onu paranazal sinüsler (%14-17) ve ağız boşluğunun diğer yerleri izler (92, 104). Ayrıca oral kavite, sinonazal trakt, meme, prostat, akciğer, deri ve kadın genital bölgesinde de AKK görülmektedir (105).

Etnik bir eğilim yoktur. Kadın erkek oranı 1,5/1'dir. Tümör tüm yaş gruplarında meydana gelebilir ancak orta yaşlı ve yaşlı hastalarda daha yüksek sıklıkta görülür (106). En sık etkilenen 5. ve 6. dekadlardır (36, 107-109). Aynı risk faktörü tanımlanmamıştır ve sigaranın insidansı ne derecede etkilediği bilinmemektedir (110). MEK'dan sonra en sık karşılaşılan tükrük bezi malign tümörüdür. Sık tekrarlayan lokal nüksler, uzak metastazlar ve perinöral invazyon (PNİ) eğilimli bir tümör olan AKK ölümle sonuçlanabilir (30, 35, 111).

En sık görülen semptom, yavaş büyüyen bir kitle ve ardından PNİ nedeniyle oluşan ağrıdır. AKK'un semptomları, hastalığın bulunduğu bölgeye göre değişmektedir. Major tükrük bezlerinde tümör bir kitle oluşturur ve parotiste bulunduğu zaman fasyal sinir felci ortaya çıkabilir. Damakta görüldüğünde kitle yapar, ülserasyon veya oro-antral fistül oluşturabilir. Larinks dispnesi ilk ortaya çıkan semptom olabilir. Burun ve paranazal sinüs yerleşimli tümörlerde, burun tıkanıklığı, derin yüz ağrısı, burun kanaması ve göz belirtileri ön plandadır (92, 112, 113). Nascimento ve arkadaşları 61 AKK'dan oluşan çalışmalarında; (106) hastaların % 98'inde kitle, % 48'inde ağrı, % 30'u ülserasyon ve birinde fasyal sinir felci saptamış; bu semptomların 1 ay ile 4 yıl arasında mevcut olduğunu bildirmiştir.

AKK'un klinik davranışı da bir paradokstur: Birincisi, tümör büyümesi yavaş, ancak klinik seyri acımasız ve progresiftir. İkincisi, ameliyat müdahalesi genellikle uygulanabilir, ancak çoklu lokal nüksler kuraldır. Üçüncüsü, bölgesel lenf düğümlerine metastatik yayılım nadirdir, ancak akciğer ve kemik metastazı sıktır. Ve

dördüncü olarak, 5 yıllık sağkalım oranları iyimser olarak yüksek, ancak 10 ila 20 yıllık sağkalım oranları çok düşük düzeydedir (114).

AKK tipik olarak sert, grimsi-beyaz renkli, kapsülsüz ve değişik boyutlarda infiltratif kitle şeklindedir. Nadir bir bulgu olan nekroz ve/veya hemoraji varlığı yüksek dereceli bir tümörü işaret eder (80).

Elektron mikroskopik ve immünohistokimyasal çalışmalarda miyoepitelyal farklılaşmanın baskın olduğunu gösterse de AKK'un miyoepitelyal ve sekretuar glandüler elemanlar içeren bifazik diferansiyasyon gösterdiği unutulmamalıdır (115-117).

AKK, kribriform, tübüler ve solid olarak adlandırılan 3 ayrı büyüme paternini farklı oranlarda sergilemektedir (118). Tanı ve tümör derecesinin belirlenmesi, bu üç histolojik büyüme paterninden birinin baskınlığına dayanmaktadır. Kribriform patern, "İsviçre peyniri" benzeri görünüm veren sayısız yalancı kistlerden oluşmaktadır. Bu psödokistlerin çoğu çoğunlukla miyoepitelyal hücrelerden meydana gelmektedir. Bu paternde kistik boşluklarda bazofilik mukoid materyal bulunmaktadır. Tümör hücreleri küboid şekilli ve boyutları küçüktür. Tubuler patern, gerçek lümenli iki katmanlı tübüllerden oluşur. Bu tübüllerin içi hem bazal miyoepitelyal hücreler hem de lümenal duktal hücreler ile döşelidir. Solid büyüme paterni lümen formasyonu içermeyen tümör hücre tabakaları ile karakterizedir. Bu alanlarda daha fazla mitoz, nekroz ve hücrelilik vardır. Tübüler ve kribriform paternin baskınsa, daha az agresif progresyon ve genel olarak daha uzun sağkalım süresi mevcuttur (119-121). Solid paterndeki tümörler AKK'un en yüksek derecesi olarak düşünülür ve özellikle ilerlemiş evre ve uzak metastaz gelişimi gibi daha kötü bir prognoz ile ilişkilidir. PNI da istenmeyen bir prognostik faktördür ve uzak metastaz ile ilişkilidir (122).

İmmünohistokimya, AKK teşhisi için çoğunlukla gereklidir. İmmünohistokimyasal olarak, psödokistleri çevreleyen miyoepitelyal tümör hücreleri düz kas aktin, S100, vimentin ve düz kas myozin ağır zinciri (118) ve p63 (80) ile pozitif boyanmaktadır. Ayrıca AKK hücreleri, derece gözetmeksizin, c-KIT (CD117)

ve MYB için güçlü bir şekilde pozitifdir (118, 123, 124). C-KIT, vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-3 (VEGFR-3), Ki-67 ve p53 gibi biyobelirteçler, biyolojik saldırganlık ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (118). Beclin-1 gibi diğer genler p53 ve Bcl-2 ile etkileşime girebilir ve patogeneizde de rol oynayabilir (125). C-KIT, AKK'un %80-94'ünde tespit edilmiştir (126). Holst ve diğerleri, c-KIT ekspresyonu ile grade III veya solid pattern AKK arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiştir (127). Freier ve ark., 55 olgudan oluşan serisinde yalnızca kribriform ve tübüler patern sergileyen AKK' da yüksek seviyelerde c-kit ekspresyonu tanımlamıştır (128).

Tükruk bezi kanserlerinde anjiyojenezle ilişkili büyüme faktörü reseptörleri hakkındaki veriler genel olarak VEGFR-3 ekspresyonunun ileri evre ve daha kötü hastalıklı sağkalım ile ilişkili olduğunu göstermektedir (129). Özellikle AKK için, anjiyogenezde rol oynayan bir reseptör tirozin kinaz reseptörü olan EphA2'nin aşırı miktarda ekspresyonu ve bunun ligandı efrin A1 olduğu ileri sürülmüştür. EphA2'nin aşırı ekspresyonu, solid AKK'da tübüler ve kribriform tiplere göre anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur. Mikrodamar yoğunluğu, TNM evresi, perineural ve vasküler invazyon ile EphA2 ekspresyonu arasında korelasyon saptanmıştır (130).

İnsan EGFR ailesinden EGFR / HER-1 ileri evre AKK' lu hastaların % 82'sinde tespit edilmiştir. HER-1'i eksprese eden hastalarda, setuksimab tedavisi ile daha yüksek oranlarda stabilize hastalık bildirilmiştir (131). Yirmi dört AKK olgusu ile yapılan bir araştırmada, HER-1/CCND1/PIK3CA koamplifikasyonu en tutarlı olarak gözlemlenen paterndir (%29). Bu çalışmada HER-1 amplifikasyonu uzak metastaz ile korelasyon göstermiş ve HER-1/CCND1/PIK3CA koamplifikasyonu olan olgularda sağkalımda azalma eğilimi saptanmıştır (132). Bununla birlikte, gözlenen HER-1 ile ilişkili biyolojik saldırganlık Lee ve diğerleri tarafından doğrulanamamıştır (133). E-cadherin ekspresyon kaybı (promoter hipermetilasyona bağlı olarak) AKK'da sıklıkla bulunur ve kötü prognoz ile korelasyon göstermektedir (134).

Aynı zamanda, intersellüler adezyon molekülü-1'in (ICAM-1) azalmış ekspresyonu, AKK' de immün kaçış ve metastazı teşvik ederek kötü prognoza neden olabilmektedir (135). Membran-hücre iskeleti bağlayıcısı Ezrin'in ve partneri olan

CD44V6'nın artan ekspresyonu daha agresif bir davranışla da ilişkilendirilmiştir (136). Östrojen reseptörleri de, AKK'ların %17-92'sinde tanımlanmıştır ve bu durum da tamoksifen ile anti-östrojen tedavisi için önerilmektedir (137). Tamoksifen ile tedavi edilen bir hastada daha önce gözlemlenen kısmi remisyon ile tedavi olasılığı desteklenmektedir (138).

AKK için anahtar genomik değişiklikler, MYB/MYBL1 onkogeni ve transkripsiyon faktörü geni NFIB'yi içeren füzyonlarla sonuçlanan t(6;9) kromozomal translokasyonu veya daha nadiren görülen t(8;9) translokasyonudur. Gen füzyonu veya diğer mekanizmalara bağlı MYB/MYBL1 aktivasyonları AKK'nin >% 80'inde bulunur ve potansiyel terapötikler için hedef olabilir. 1p ve 6q kayıpları kötü prognoza sahip solid form tümörler ile ilişkiliyken, 14q kayıpları esasen tübüler ve kribriform paternli tümörlerde görülür. AKK'da sıklıkla aşırı eksprese olan KIT ve EGFR nadiren mutasyona uğramış veya amplifiye edilmiştir. DNA çift iplikçikli onarım genlerindeki germline BRCA mutasyonları ve genetik varyantlar ACC da dahil olmak üzere tükrük bezi kanseri riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir (80).

AKK'un tedavisi tümörün lokalizasyonu, tanı anındaki evre ve histolojik derece ile yansıtılan biyolojik davranıştan etkilenmektedir (139). Kapsamlı bir çalışma sonrası potansiyel olarak rezektabl kabul edilen AKK'lar için "altın standart" tedavi; radikal cerrahi rezeksiyon, temiz cerrahi sınır sağlama ve postoperatif RT'dir. 10 yıllık sağ kalım oranları %50-70 ve lokal rekürrens oranları değişkendir. Bildirilen prognoz raporlarının kalite ve takip süreleri farklı olduğu için büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Baş ve boyun AKK'u ile ilgili 2611 olguyu içeren oldukça geniş çaplı bir Avrupa araştırmasında, 10 yıllık sağkalım oranı % 65 olarak saptanmıştır (140). Van Weert ve arkadaşları çalışmasında 105 hastada 5, 10 ve 20 yıllık sağkalım oranlarını sırasıyla %68, %52 ve %28 olarak bildirmiştir (104).

Huang ve arkadaşlarının çalışmasında rekürrens ile sağkalım oranı %26.4 iken, üç yıllık genel ve rekürrenssiz sağkalım oranları sırasıyla %84.6 ve %58.2 olarak saptanmıştır. 15 yıl sonra genel sağkalım oranı %24.5, rekürrenssiz sağkalım oranı %22.6'dır (141).

AKK'da lenf nodu tutulumu sık görülmez, ancak solid varyantta daha sıktır. Uzak metastaz olguların %50'sinden fazlasında bildirilmiştir; en sık akciğerler sonra kemik, karaciğer ve beyin tutulumu görülür. Sağkalımı etkileyen faktörler arasında tümör evresi, lenf nodu durumu, hasta yaşı, tümör bölgesi, büyük sinir invazyonu ve cerrahi sınırlar bulunmaktadır. Genellikle tübüler ve kribriform büyüme paternleri olan tümörler, tümörlerin üçte birini oluşturan solid bileşene sahip olanlardan daha az agresif klinik seyir gösterir. Postoperatif radyasyon ile birlikte veya postoperatif radyasyon olmaksızın uygulanan radikal cerrahi eksizyon tercih edilen tedavi yöntemidir.

Son zamanlardaki genom hibridizasyonu, FISH, mikroarray teknolojisi ve metilasyon analizi gibi moleküler tekniklerin ortaya çıkması tükrük bezi karsinogenezi ile ilişkili genetik bilgilerin artışına neden olmuştur. Bu gelişmelerle birlikte literatürde yayınlanan bazı çalışmalarda EGFR, HER-2 ve c-KIT ile ilgili çeşitli sonuçlar ortaya çıkmıştır. Özellikle EGFR ve HER-2 hakkındaki bilgiler bazı tükrük bezi tümör tiplerinde hedefe yönelik tedaviyi gündeme getirmiştir. En yeni çabalar sitotoksik ve hedefe yönelik tedavileri bir araya getirir; EGFR'yi eksprese eden AKK olgularında, Cetuksimab artı sisplatin bazlı kemoradyoterapi (lokal olarak ilerlemiş tümörler için) veya KT (sistemik hastalık için) etkinliği cesaret vericidir ve yönetilebilir toksisite ile ilişkilendirilmiştir (142). Jensen ve arkadaşları Cetuximab ile eşzamanlı RT kombinasyonunun yüksek lokal kontrol ve tedaviye yanıt oranları ile sonuçlandığını bildirmiştir (143). Haddad ve arkadaşları, platin bazlı kemoradyoterapi ile tedavi edilen beş hasta üzerinde çalışmış; ortanca 36 aylık takipten sonra dört hastanın hastalık belirtisi göstermediğini ve bir hastada uzak metastaz geliştiğini göstermiştir (144). İleri/rekürren AKK hastalarında setuksimab ile RT kombinasyonu, kabul edilebilir toksisite ve lokal kontrol oranlarını bildiren iki çalışma umut vericiydi; ancak, toplam sağkalım oranı nispeten düşük kalmıştır (143, 145).

TÜMÖRDE İMMÜN DÜZENLEME

Kanser hücrelerinin, sürekli proliferasyon sinyali yayma, büyüme supresörlerinden kaçınma, hücre ölümü direnci, replikatif ölümsüzlüğü sağlama, anjiyogenezi indüklemeye, invazyon ve metastazı aktive etme gibi klasik özellikleri bulunmaktadır. Enerji metabolizmasının yeniden programlanması ve bağışıklık tahribatından kaçınmayı içeren iki özellik kansere karakteristik özelliğini vermektedir (146).

1909'da Ehrlich, ilk olarak, vücudumuzda sürekli yeni hücrelerin oluştuğunu ve bağışıklık sisteminin yeni gelişen bu hücreleri klinik olarak ortaya çıkmadan önce tarayıp ortadan kaldırdığı fikrini ortaya atmıştır. 1909'da Ehrlich'ten beri bağışıklık gözetimi tümör immünolojisinin zirvesinde yer alan tartışmalı bir konudur (147). 20. yüzyılın ortalarında, tümör transplantasyon modellerinden tümörlerin bağışıklık sistemi tarafından bastırılabilirliğinin deneysel kanıtları bulunmuştur. Bu modellerden elde edilen bulgular tümörle ilişkili antijenlerin varlığını kuvvetle ortaya çıkarmış; Burnet ve Thomas tarafından öne sürülen immün sürveyansın temeli oluşturulmuştur (148). Daha sonra T hücresi aktivasyonu için gereken çapraz bağlanmada antijen sunan hücrelerin fonksiyonel rolü gösterilmiş ve kanser immün sürveyans modeli geliştirilmiştir. B, T, doğal öldürücü hücreler (NK) ve doğal öldürücü T (NKT) hücreleri gibi immün efektör hücrelerinin; tip I ve II interferonlar ile perforinin merkezi rolleri, kanser immün sürveyansında açıklığa kavuşturulmuştur (149, 150).

Mevcut kanser kavramının bir parçası olarak immün-düzenleme için immün sürveyanstan immün kaçışa kadar giden üç temel aşama (Şekil 1) öne sürülmüştür: (149).

(1) Eliminasyon; (2) Denge; ve (3) Kaçış.

Eliminasyon: Klasik kanser immün sürveyans kavramını temsil eder. Hem doğuştan, hem de adaptif bağışıklık ile yeni oluşturulan kanser hücrelerinin ortadan kaldırmasıdır. Doğuştan gelen bağışık yanıt içinde büyüyen tümör hücreleri, makrofajlar ve tümör hücrelerini saran stromal hücreler tarafından salınan

inflatuar sitokinler NK, NKT ve $\gamma\delta$ T hücreleri gibi çeşitli efektör hücreleri aktive eder. Salgılanan sitokinler, IL-12 ve interferon-gama (IFN- γ) gibi diğer proinflatuar sitokinleri üreten immün hücreleri uyarır. NK hücreleri tarafından tümör hücrelerinin perforin, FasL ve TRAIL aracılı öldürülmesi, adaptif immün yanıtlara yol açan tümör antijenlerinin serbestleşmesine neden olur (151-153). NK, dendritik hücrelerin olgunlaşmasını ve bunların tümör drene eden lenf düğümlerine göçünü teşvik eder. Bu da sitotoksik T lenfositlerin klonal genişlemesi için naif T hücrelerine antijen sunumunun artmasına neden olur. Tümör antijenlerine özgü T lenfositleri primer tümör bölgesine alınır ve sitotoksik IFN- γ üretimi ile tümör hücrelerine doğrudan saldırır ve öldürür.

Eliminasyon süreci için aşağıdaki dört aşama önerilmiştir:

- (1) Tümör hücrelerinin doğuştan gelen bağışıklık hücreleri tarafından tanınması: Solid bir tümör 2–3 mm'den daha fazla büyüdüğünde tümör progresyonu için kan akımı ve uygun stromal modellemeye ihtiyaç duyar. Bu da NK, NKT, $\gamma\delta$ T hücreleri, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi doğal bağışıklık hücrelerini tümör bölgesine yönlendiren pro-enflatuar sitokinleri uyarır. Transforme hücreler, IFN- γ üreten NK, NKT ve $\gamma\delta$ T hücreleri gibi infiltre lenfositler tarafından tanınabilir.
- (2) Dendritik hücrelerin olgunlaşması ve göçü: IFN-gama, antiproliferatif ve anti-anjiyojenik etkilerle sınırlı bir sitotoksikite uygular ve apoptozu indükler. Nekrotik tümör hücreleri, dendritik hücreler tarafından fagosite edilir (154). NK hücreleri, dendritik hücrelerin matürasyonunu ve tümörü drene eden lenf nodlarına gitmesini sağlar (153).
- (3) Tümör antijeni-spesifik T hücrelerinin üretilmesi: Tümörü infiltre eden NK hücreleri ve makrofajlar, perforin, TRAIL ve reaktif oksijen gibi sitotoksik mekanizmaları aktive ederek daha fazla tümör hücrelerini öldüren IL-12 ve IFN- γ üretir. Tümörü drene eden lenf nodlarına göç etmiş dendritik hücreler, klonal genişlemeye yol açan tümör antijenine özgü CD8+ T hücrelerini

geliştiren CD4+ T hücrelerine farklılaşan naif CD4+ T hücrelerine tümör antijenlerini sunar.

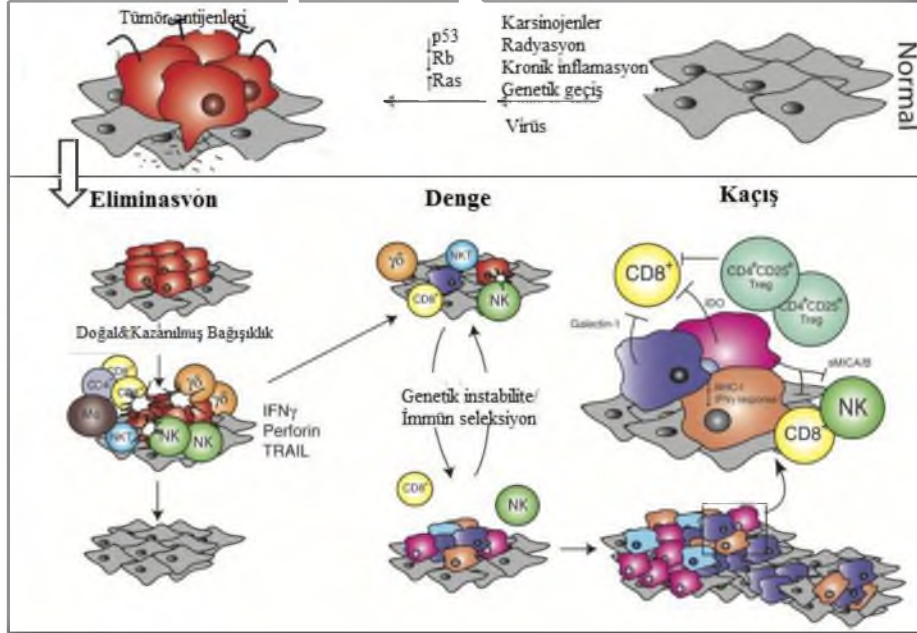
- (4) Tümör antijeni-spesifik T hücrelerinin tümör bölgesine gitmesi ve tümör hücrelerinin eliminasyonu: Tümör antijenine özgü CD4+ T ve CD8+ T hücreleri, tümör hücrelerinin elimine edildiği primer tümör bölgesine ev sahipliği yapar, bu durum da salgılanan IFN- γ tarafından arttırılır (155).

Denge: Elimine edilmeden kaçabilen kanser hücreleri, immün hücreler tarafından uykuda tutuldukları denge evresine girerler. Tümör mikroçevresinde üretilen IL10, PGE-2, TGF-beta vb. sitokinler aracılığıyla immün hücreleri bazı dönüşümlere (T helper 2, Treg, myeloid kökenli baskılayıcı hücreler, tümör ilişkili makrofajlar) zorlayarak immün yanıtı etkisizleştirmeye çalışır. Ama immün sistem durmaz, tümör hücrelerine karşı mücadele etmeye devam eder. Ancak immün sistem tümör progresyonunu kontrol etmek için yeterli olmadığında, kalan tümör hücreleri, dirençli bir hale gelip, anti-tümör immün cevabı azaltarak başarılı bir şekilde kaçış fazına geçer (154).

Kaçış: Tümör hücrelerinin konağın bağışıklık sisteminden nasıl kurtulduğuyla ilgili çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür:

- 1- Antijen negatif varyantların seçici olarak aşırı çoğalması: Tümör progresyonu sırasında güçlü immünojenik yanıtı yol açan klonlar ortadan kalkıyor olabilir.
- 2- MHC moleküllerinin kaybı veya azalmış ekspresyonu: Tümör hücrelerinde HLA sınıf 1 antijen normal düzeylerde değilse, bu hücreler sitotoksik T lenfositlerden kurtulabilir.
- 3- Antijen maskeleyme: Tümör hücreleri normal hücrelerden daha kalın olan ve siyalik asit-içeren mukopolisakkaritler gibi glikokaliks moleküllerinden oluşan bir dış kılıf üretebilir. Bu kalın kılıf sayesinde bağışıklık hücrelerinin antijen sunan hücrelere erişimi engellenerek antijenin tanınması ve hücrelerin öldürülmesi önlenir.
- 4- İmmün regülatuar yolların aktivasyonu: Tümör hücreleri immün regülasyonun kontrol noktası olarak görev yapan yollara girerek

immüniteyi inhibe edebilir. Tümör hücreleri çeşitli mekanizmalar vasıtasıyla tümöre spesifik T lenfositlerde uzun süreli yanıtızsılığa neden olabilir (156).



Şekil 1: Kanser immün düzenleme sürecinin üç aşaması (277).

Ayrıca birçok tümör tarafından salgılanan güçlü bir immünsupresör olan TGF-B yanısıra IL-10, PGE2 ile VEGF gibi birçok çözünebilir faktörün de konak bağışık yanıtını inhibe ettiğinden şüphelenilmektedir. Bazı çalışmalar tümör hücrelerinin, regülatör T lenfositlerin gelişimini destekleyen immün kaçışa katkıda bulunabilecek faktörler ürettiğini öne sürmektedir. Dolayısıyla tümör hücreleri konak immün sisteminden kurtulabilmek için gerekli olan pek çok mekanizmaya sahiptir (156).

Tümör Mikroçevresi Ve İmmün Modülasyon

Son zamanlarda, tümörlerin genellikle hastalık gelişimini ve ilerlemesini mümkün kılan özel immünoşüpresif mikro ortamlar içerdiği kabul edilmektedir.

Tümör mikroçevresi, tümör hücreleri dışında doğuştan gelen bağışıklık hücrelerini (makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri, miyeloid türevli baskılayıcı hücreler, dendritik hücreler ve NK dahil) ve adaptif bağışıklık hücrelerini (T ve B lenfositleri), fibroblastlar, endotelial hücreler, perisitler ve mezenkimal hücrelerden oluşan stromal elemanlarından oluşur (157). Bu farklı hücreler, birbirleriyle doğrudan temas veya sitokin ve kemokin üretimi yoluyla iletişim kurar. Tümör büyümesini kontrol etmek ve şekillendirmek için otokrin ve parakrin olarak etki eder. Çeşitli immün mediatörler ve modülatörlerinin yanı sıra tümör mikroçevresindeki farklı hücre tiplerinin bolluğu ve aktivasyon durumu antitümör bağışıklığı olup olmayacağını belirler (158, 159). Tümör mikroçevresindeki en fazla bulunan bağışıklık hücreleri, tümör ilişkili makrofajlar (TİM) ve T hücreleridir. TİM'lar çoğunlukla tümör büyümesini destekler (160) ve yüksek TİM içeriği genellikle kötü prognozla ilişkilidir (161). Olgun T hücreleri ekspres ettikleri T hücre reseptörlerine (TCR) göre 2 ana gruba ayrılır: $\gamma\delta$ ve $\alpha\beta$. $\alpha\beta$ T hücreleri efektör fonksiyonlarına göre CD8+ sitotoksik T hücreleri; Th1, Th2, Th17 ve T düzenleyici (Treg) hücreleri ile NKT hücreleri dahil CD4+ yardımcı T (Th) olarak bir daha sınıflandırılır. T hücreleri, hem baskılayıcı hem de destekleyici etkiler gösterebilir. IFN- γ üreten CD4+ Th1 hücreler, sitotoksik T hücreleri aktive edebilirken, IL-4 üreten CD4+ Th2 hücreler hümoral immüniteyi uyarabilir. Th1 aktivasyonu anti-tümör immünitinin oluşmasında Th2 aktivasyonuna göre daha etkilidir. Artan T hücre sayıları, özellikle aktif ve Th1 hücreleri, daha iyi sağkalım ile ilişkilidir (162-164). K hücreler, diğer immün hücrelerin diferansiasyonu, aktivasyonu ve migrasyonunu sağlayan sitokinleri üreterek tümör mikroçevresini şekillendirir (165).

Tipik olarak, tümör-bağışıklık döngüsü ölen tümör hücrelerinden serbestleşen tümör antijenlerinin dendritik hücreler gibi antijen sunucu hücreler (APC'ler) tarafından alınması ile başlatılır. Antijen alımını takiben, dendritik hücreler, ana doku-uyumluluk kompleksi sınıf I (MHC-I) molekülü içeren CD8+ T hücrelerine

işlenmiş tümör ilişkili peptitleri sunmak üzere drenaj yapan lenf noduna göç eder (166). Bu, yabancı antijenlere karşı hücrel sitotoksik bağışık yanıtı açar. Ancak kanser hücrelerindeki zayıf ve güçlü immünojenik antijenler, çok sayıda kaçınma stratejisi geliştirdiğinden bazen yeterli antitümör yanıt sağlamaz. Bunun tümör mikroçevresindeki modüle edici faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Önemli tümör immün modüle edici faktörler aşağıda tarif edilmiştir:

- T hücresi aktivasyonunun negatif bir düzenleyicisi olan sitotoksik T-lenfosit-ilişkili protein 4 (CTLA-4), immün reaksiyona yanıt olarak eksprese edilir (167) ve kontrolsüz bağışık yanıtı engeller. CTLA4; kronik otoimmün inflamasyon oluşumunu önler. Bu molekül dendritik hücreler ve diğer APC'ler üzerindeki B7 moleküllerini bağlar ve daha fazla uyarılmayı ve bağışık yanıtın genişlemesini engeller. Ancak antitümör yanıtta CTLA-4, endojen bağışık yanıtın gelişimi için önleyici bir faktör olur (168).
- T hücreleri, B hücreleri ve NK hücreler üzerinde eksprese edilen transmembran bir protein PD-1, PD-L1/PD-L2'ye bağlanır. PD-1 ligandına bağlandığında, direkt olarak tümör hücresi apoptozisini inhibe eder; periferik T-efektör hücrelerin tükenmesine neden olur ve T-efektör hücrelerinin düzenleyici T hücrelerine (Tregler) dönüşümünü teşvik eder (169). PD-L1-PD-1 etkileşimi, mikroçevrede bağışık yanıt için fren veya bir 'immünostat' olarak işlev görür.
- Tregler toleransı artırır, efektör T hücre fonksiyonunu bastırır ve tümörlerdeki Treg infiltrasyonu kötü prognoz ile korelasyon gösterir (170).
- Myeloid derive süpresör hücreler (MDSC), kanser ve inflamasyon da dahil olmak üzere çeşitli patolojik koşullar altında çoğalan miyeloid orijinli hücrelerdir. Reaktif oksijen ve azot türlerinin artan üretimi ile karakterizedir (171). Bu hücreler, efektör T hücresi yanıtlarını güçlü bir şekilde baskılayabilen ve Tregleri indükleyen heterojen bir hücre grubudur (171-173). Monositler kemik iliğinde gelişir ve dokuya girmeden önce

makrofajlara dönüşür. Doku makrofaj popülasyonları daha sonra proinflamatuvar (M1) veya anti-inflamatuvar (M2) alt tiplere farklılaşabilir (174).

- Nötrofiller dolaşımında en çok bulunan fagositlerdir. İnflamasyon bölgelerine ilk gelen hücrelerdir. Nötrofillerin bir alt kümesi inflamasyon sırasında konakçı doku hasarını sınırlayan makrofaj-1 antijen yoluyla T hücre yanıtlarını inhibe eder (175).

Bu sistemde yer alan CD8+ T hücreleri, Th1 hücreleri, NK hücreleri, M1 makrofajları, dendritik hücreler tümöre karşı konak savunmasını sağlarken; Treg'ler, M2 makrofajları, miyeloid türevli baskılayıcı hücreler, Th2 hücreleri ise konak savunmasını inhibe edip tümör büyümesini arttırmaktadır (176). Bağışık yanıtı arttırmak için genel strateji, spesifik hücrelerin ya da hücre tiplerinin inhibisyonu veya tükenmesi yoluyla oluşan baskılayıcı devreyi ortadan kaldırmaktır.

Son gelişmeler, PD-1/PD-L1 ve CTLA-4 gibi moleküllerin, kanser immün düzeninin denge ve kaçış evreleri için güçlü mediyatörler olarak işlev gördüğünü ortaya koymuştur. Bu immüno-inhibitör etkileşimleri hedeflemek ve bloke etmek için monoklonal antikorlar kullanma çabaları, kanser tedavisine yönelik yeni bir immünoterapi bazlı ajanlar çağına yol açmıştır (177-179)

İmmün Kontrol Noktaları

Yakın zamanda oluşan muazzam ilerlemeler sonucunda kanser tedavisinde immünoterapi heyecan verici bir yaklaşım haline gelmektedir. İmmün kontrol noktası inhibitörlerinin tedavi seçeneği olarak gelişimi, son birkaç yıldır kanser ilaç keşfi için en başarılı yaklaşımlardan birini temsil etmektedir (180). T hücrelerinin aracılık ettiği hücrel bağışıklık, birçok uyarıcı ve inhibe edici proteinler ile işlev gören kontrol/denge sistemi tarafından kontrol edilir. Bağışıklık kontrol noktaları olarak da adlandırılan inhibe edici reseptörler, bağışık yanıtın nihai bir sonucu olarak görülebilen doku hasarını en aza indirmek için sitotoksik T lenfositlerin aktivasyonunu ve efektör fonksiyonlarını düzenler (181).

T hücreleri üzerinde bulunan CTLA-4, T hücre yanıtlarının baskılanmasında rol oynadığı gösterilen ilk inhibitör reseptörlerden biridir. T hücreleri üzerindeki CD28 ile antijen sunan hücreler üzerindeki B7 reseptörü (CD80/CD86) arasındaki etkileşim, naif T hücrelerinin aktive edilmiş T hücrelerine diferansiasyonu için gerekli T hücresi başlatma işlemi olan ikinci "ko-stimulator sinyal" sağlar. Bu aktivasyon belli bir düzeye gelince inhibe edilip otoimmün olayların gelişiminin engellenmesi gerekir. CTLA-4, CD28'e kıyasla B7 reseptörü için daha yüksek bir afiniteye sahiptir. Sonuçta CTLA-4, antijen sunan hücrelerdeki CD80/86 moleküllerine bağlanarak immün sistemin aktivasyonunu inhibe eder (182-184).

Tümör mikro ortamında diğer bir kontrol noktası reseptörü olan PD-1 ve ligandı PD-L1 tümör progresyonunda hayati bir rol oynamaktadır. PD-1'in monositler, T hücreleri, B hücreleri, dendritik hücreler ve tümörü infiltre lenfositler (TIL'ler) gibi çeşitli bağışıklık hücrelerinde eksprese edildiği saptanmıştır. PDL-1 ise tümör hücrelerinde ve antijen sunan hücrelerde eksprese edilir. PDL1'in T hücresinde bulunan PD-1'yle etkileşimi sonucu T hücresi disfonksiyonu, tükenme, nötralizasyon ve tümör kitlesinde interlökin-10 üretimi meydana gelir (185). Dolayısıyla, PD-L1 overekspresyonu gösteren bir tümör, sitotoksik T hücresi (CD8+) aracılı hücre ölümünden korunmaktadır (186).

CD8+ T hücrelerinin tükenmesine bağlı olarak, tümör hücreleri çok agresif hale gelir; tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), interlökin-2 (IL-2) ve interferon gama

(IFN- γ) gibi birkaç pro-enflamatuar sitokin salgılar. Ayrıca T hücrelerinin bir başka alt tipi olan regülatör T hücreleri (CD4+ Foxp3+) yüzeyindeki PD-1 ekspresyonunu koruyarak yüksek derecede immünosüpresif bir tümör çevresi oluşturur (187). CD3 ve TGF- β varlığında, Treg hücrelerinin PD-1 reseptörü, naif CD4+ T hücrelerinin Treg hücrelerine de novo dönüşümünü artırır. Böylece, PD-1 ekspresyonunun varlığı sadece efektör T hücre fonksiyonunu baskılamakla kalmaz, aynı zamanda immünosüpresif Treg hücre popülasyonunun dönüşümünü de artırır (188).

Bu nedenle, PD-1 / PD-L1 ve CTLA-4 / B7 ekseninin kombine inhibisyonu, çeşitli maligniteleri olan hastalar için etkili bir anti-tümör tedavi stratejisi olarak belirlenmiştir (189).

PD-1 VE PD-L1/PD-L2

PD-1 (CD279), immünolojik aktivasyonu sınırlandıran ve inhibe eden immunoglobulin süper ailesine ait protein yapısında bir transmembran reseptörüdür. Ekstrasellüler bölgesi, transmembran bölgesi ve intrasellüler kuyruk bölgesi mevcuttur. PD-1, T hücreleri, Tregler, B hücreleri, aktive edilmiş monositler, dendritik hücreler, NK ve NKT hücrelerinde eksprese olur (8, 169, 190).

Normal reaktif lenfoid dokuda ise, PD-1 germinal merkez ilişkili T hücrelerinde eksprese edilir (190). Ayrıca PD-1 ekspresyonunun B hücresi farklılaşması sırasında yüksek oranda düzenlendiği fakat PD-1 seviyelerinin, pro-B hücrelerinde (olgun B hücresinin erken safhasında) önemsiz olduğu ve B hücre farklılaşması ile arttığı bulunmuştur (191). Bu nedenle, B hücreleri üzerindeki PD-1 inhibisyonu, antijen spesifik antikor tepkilerini arttırmaktadır. Böylece PD-1'in B hücresi aracılı T-hücresi aktivasyonunu bastırmada bir rol oynadığı gösterilmiştir (188).

Kronik viral enfeksiyonlar veya kanserde gözlemlendiği gibi kronik antijen maruziyeti, yüksek PD-1 ekspresyonuna yol açar ve daha sonra antijene özgü T

hücreleri arasında bir tükenme hali oluşturur (192). Gerçekten de, birçok farklı tümör tipinde TİL'lerin büyük bir kısmı yüksek seviyelerde PD-1 ifade eder (193, 194).

PD-1'e bağlanarak inhibisyonun gerçekleşmesini sağlayan iki ligandı mevcuttur. Programlı Ölüm Ligandı-1 (PD-L1, CD274 veya B7-H1), Programlı Ölüm Ligandı-2 (PD-L2, CD 273 veya B7-DC)'dir (9). Bu iki reseptör %37 oranında homolog dizilim gösterir (195-197).

PD-L1, 9. kromozomda yer alan CD274 geni tarafından kodlanan 290 aminoasitlik bir transmembran yüzey glikoproteinidir. Aktive B ve T hücrelerinde, antijen sunan hücreler ile timüs, plasenta, kalp, karaciğer, endotel hücreleri ve pankreas dahil olmak üzere çoğu nonhematolojik normal dokuda geniş bir yelpazede ekspresyonu gösterilmiştir (10, 190). Yaygın olarak normal dokularda eksprese edilen PD-L1'in, periferik dokuları inflamasyon ve otoimmün patolojilerden koruyan self tolerans ile ilgili olduğu düşünülmektedir (198).

PD-L1 ekspresyonu, IFN- γ , TNF-a, VEGF, GM-CSF (granülosit-makrofaj koloni uyarıcı) ve IL-10 gibi çeşitli pro-inflamatuar sitokinler tarafından indüklenir. PD-L1 ligandı olan tümör hücreleri, aktive T hücrelerdeki PD-1'e bağlanarak tümör mikroçevresindeki immün sistemi inhibe eder. İn vivo hayvan deneylerinde PD-L1 blokajı ile anti-tümör T hücre fonksiyonunun geri döndürebileceği gösterilmiştir (11).

PD-L1 ile karşılaştırıldığında, PD-L2'nin bazal ekspresyonu düşüktür (188). PD-L2 ekspresyonunun başlangıçta makrofajlar ve dendritik hücreler gibi antijen sunan hücrelerle sınırlı olduğu düşünülmüştür (196). Bununla birlikte, son yıllarda, birkaç grup, PD-L2 ekspresyonunun, mikro çevre uyarılarına bağlı olarak çok çeşitli başka immün hücreler ve immün olmayan hücreler üzerinde de indüklenebildiğini göstermiştir (199-204). Ayrıca insan kolonik fibroblastlarının, PD-L2'yi eksprese ettikleri gösterilmiştir, bu da bağırsak epitelyal mukozasında T hücre baskılanması ile sonuçlanır (205).

Bağıışıklık kontrol noktalarını bloke etmek, terapötik antitümör immüniteyi harekete geçirmek için en umut verici yaklaşımlardan birisidir. Günümüzde çeşitli

kanserlerde PD-1 ve PDL-1 ile ilgili kapsamlı çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, tükruk bezi tümörlerinde bu belirteçler hakkında bilgi yeterli değildir. Son zamanlarda, Harada ve arkadaşları malign tükruk bezi tümörleri olan hastalarda tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği ile ileri evre, nüks, metastaz ve kısa sağkalım arasında anlamlı ilişki olduğunu göstermiştir (206). Mukaigawa ve arkadaşlarının 219 primer tükruk bezi karsinomundan oluşan serisinde yüksek dereceli tükruk bezi tümörleri ile PD-L1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir. Aynı çalışmada PD-L1 pozitif tükruk bezi tümörlerinin PD-L1 negatif tümörlere göre daha kötü prognozlu olduğu bildirilmiştir (207). Ancak daha önce yayınlanan çalışmalarda PD-L1 pozitif küçük hücreli akciğer karsinomu (208) ve malign melanom (209) gibi bazı malign tümörlerin daha iyi prognoz gösterdiği saptanmıştır. Solid tümörlerin çoğunda tümör hücre membranından PD-L1 ekspresyonu kötü prognoz ve agresif klinikopatolojik özellikler ile korelasyon göstermektedir (210-215).

Oral skuamoz hücreli karsinomda düşük PD-L1 ekspresyonu kötü prognoz ile ilişkili bağımsız prognostik faktör olarak gösterilmiştir (216). Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu, renal hücreli karsinom ve malign melanomda PD-L1 ekspresyonu kötü prognostik faktör olarak bildirilmiştir (208). Başka bir çalışmada PD-L1 ekspresyonu kolorektal karsinomda iyi prognostik faktör olarak gösterilmiştir (217).

KHDAK'larında TİL'lerde artmış PD-1 ekspresyonu ve bununla birlikte immün sistem disfonksiyonu bildirilmiştir (218). PD-1 molekülüne karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikor olan nivolumabın etkisinin araştırıldığı 269 hastadan oluşan Faz I çalışmasında, 129 hasta daha önceden tedavi edilmiş KHDAK tanılı hastalardır. Bu Faz I çalışmada KHDAK olgularında %18'e varan yanıt oranları ve yanıt veren olgularda ortalama 9,6 ay sağ kalım süreleri elde edilmiştir (219). Anti-PDL-1 monoklonal antikorunu ile faz 3 klinik çalışmalar sonucu malign melanom, akciğer adenokarsinomu, non-Hodgkin lenfoma, renal hücreli karsinom ve triple negatif meme karsinomlarında ilk pozitif sonuçlar elde edilmiştir (219, 220).

Son çalışmalar, bağışıklık kontrol noktası inhibitörleri gibi immünoterapötik ajanlarla çeşitli kanserlerin tedavisinde büyük ilerlemeler kaydetmiştir. İleri evre

tükürük bezi karsinomlarının kötü prognozlu olması ve bu aşamada etkili terapötik ajanların bulunmaması nedeniyle yeni ajanların araştırılmasına acilen ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, bu kanserlerin biyolojisini daha iyi anlama ve ilgili hedeflere dayalı tedavi yaklaşımları geliştirme ihtiyacı vardır. Moleküler hedefe yönelik tedavinin ortaya çıkışıyla, bu tümörler araştırma ilaçlarının denemeleri için mükemmel adaylar haline gelmiştir (221).

Şu anda, PD-1 reseptörü ve onun ligandını içeren bağışıklık kontrol noktaları, PD-L1, onkolojide küresel bir odak haline gelmiştir. Son zamanlarda diğer kanserlerin tedavisinde büyük başarı gösteren bu immünoterapotik ajanlar malign tükürük bezi tümörleri tedavisinde de etkili olabilir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1997 ile 2017 yılları arasında tanı almış 23 MEK ve 18 AKK olmak üzere toplam 41 malign tükürük bezi olgusu retrospektif olarak incelenmiştir.

Çalışma için Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesinde 27 Şubat 2017 tarihinde 03 sayılı kurul toplantısında kurul kararı ile etik kurul onayı alınmıştır. Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2017TIPF013 No'lu proje kod numarası ile desteklenmiştir.

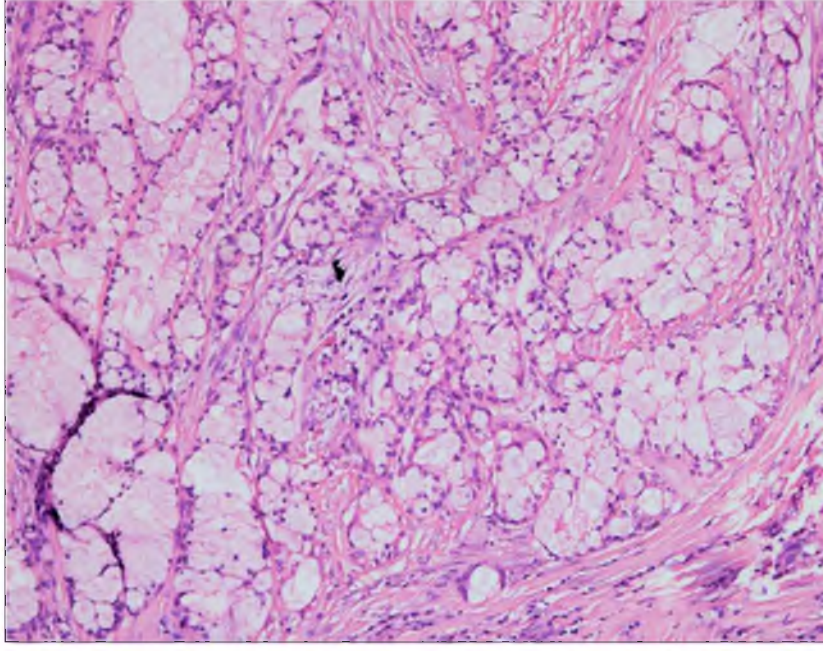
Olguların 26'sına eksizyonel biyopsi, 10'una radikal cerrahi ve 5'ine insizyonel biyopsi uygulanmıştır. Yaş, cinsiyet, tümör çapı, tümör lokalizasyonu olgulara ait patoloji raporlarındaki tanımlamalar kullanılarak kaydedilmiştir. Uzak organ metastazı, hastalığın klinik evresi, sağkalım bilgileri hastane otomasyon sistemi, Onkoloji ve Radyasyon Onkolojisi hasta takip dosyalarından elde edilmiştir. Her hastaya ait eksizyon materyallerinin kesitlerinde tümörlerin histolojik tipleri, anjiolenfatik invazyon veya PNI varlığı, tümör gelişim paterni; lenf nodu diseksiyon materyallerinde metastatik lenf nodu varlığı tekrar gözden geçirilerek değerlendirilmiştir.

Olgulara ait tümör içeren tüm H&E boyalı lamalar iki gözlemci tarafından tekrar değerlendirilerek, DSÖ 2017 sınıflamasına göre tümörlerin histolojik tipleri, anjiolenfatik invazyon veya PNI varlığı, tümör gelişim paterni yeniden kaydedilmiştir.

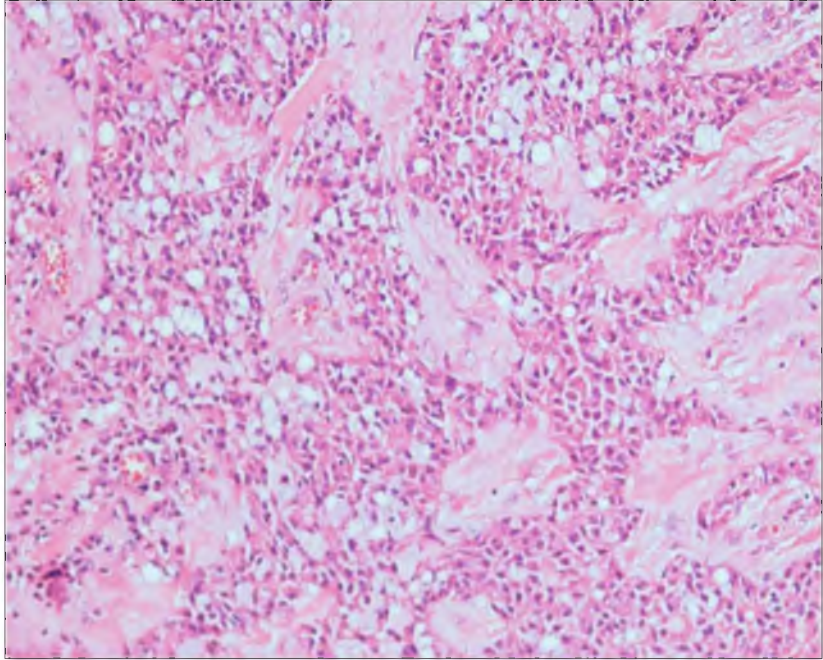
Histopatolojik incelemede tüm olgular DSÖ'nün 2017 sınıflamasına göre değerlendirilmiştir (Tablo 1). Olgularımızdan bazılarının farklı histomorfolojik paternlerine ilişkin hematoksilin-eozin kesitlerine ait resimler Şekil 2, 3, 4, 5, 6 ve 7'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Tükürük Bezi Tümörlerinde DSÖ (2017) Histolojik Sınıflaması:

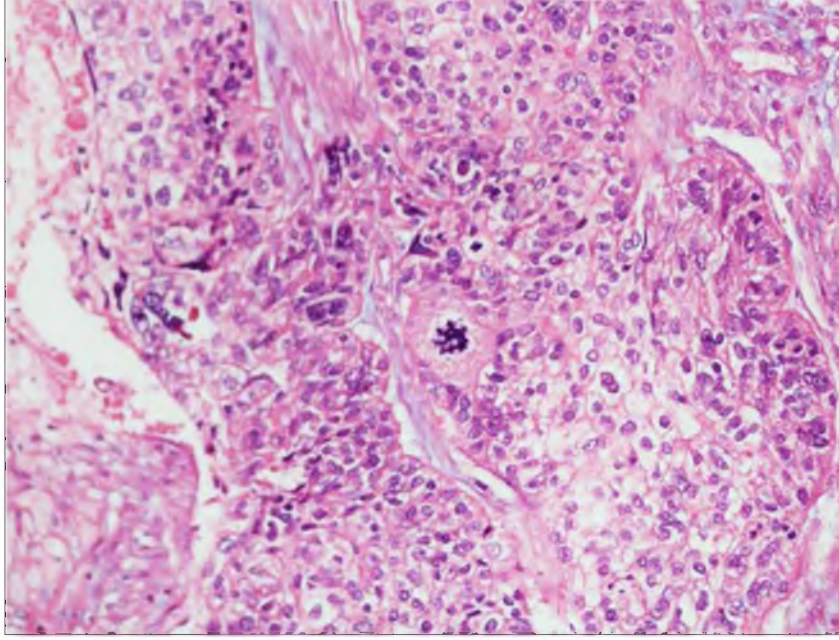
Malign Tümörler: 1- Mukoepidermoid karsinom 2- Adenoid kistik karsinom 3- Asinik hücreli karsinom 4- Polimorfik adenokarsinom 5- Şeffaf hücreli adenokarsinom 6- Bazal hücreli karsinom 7- İntraduktal karsinom 8-Adenokarsinom (NOS) 9-Tükürük kanalları karsinomu 10-Myoepitelyal karsinom 11-Epitelyal-myoepitelyal karsinom 12-Karsinoma ex pleomorfik adenoma 13-Sekretuar karsinom 14-Sebasöz adenokarsinom 15-Karsinosarkom 16-Az diferensiye karsinom -Andiferensiye karsinom -Büyük hücreli nöroendokrin karsinom -Küçük hücreli nöroendokrin karsinom 17-Lenfoepitelyal karsinom 18-Skuamöz hücreli karsinom 19-Onkositik karsinom 20-Malignite potansiyeli belirsiz	Benign epitelyal tümörler: 1- Pleomorfik adenom 2- Myoepitelyom 3- Bazal hücreli adenom 4-Warthin tümörü 5-Onkositom 6-Lenfadenom 7-Kistadenom 8-Sialadenoma papilliferum 9-Duktal papillom 10-Sebasöz adenom 11-Kanalikuler adenom ve diğer duktal adenom adenomlar Non-neoplastik epitelyal lezyonlar 1-Sklerozan polikistik adenozis 2-Nodüler onkositik hiperplazi 3-Lenfoepitelyal sialoadenit 4-İnterkalar duktus hiperplazisi Benign Yumuşak doku tümörleri: 1-Hemanjioma 2-Lipom/sialolipom 3-Nodüler fasiitis D-Hematolenfoid tümörler: -Lenfoid dokunun mukoza ilişkili
--	---



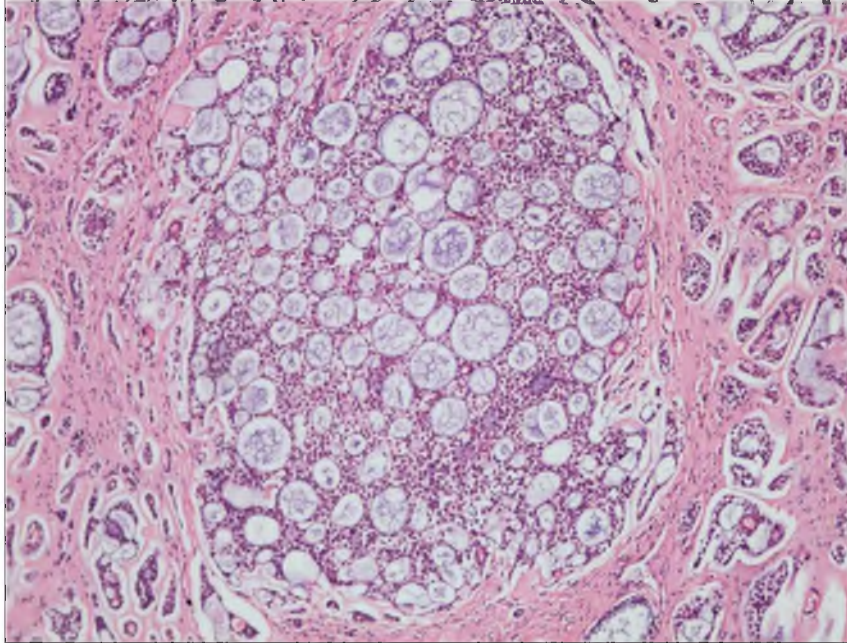
Şekil 2: Düşük dereceli mukoepidermoid karsinom (H&Ex200).



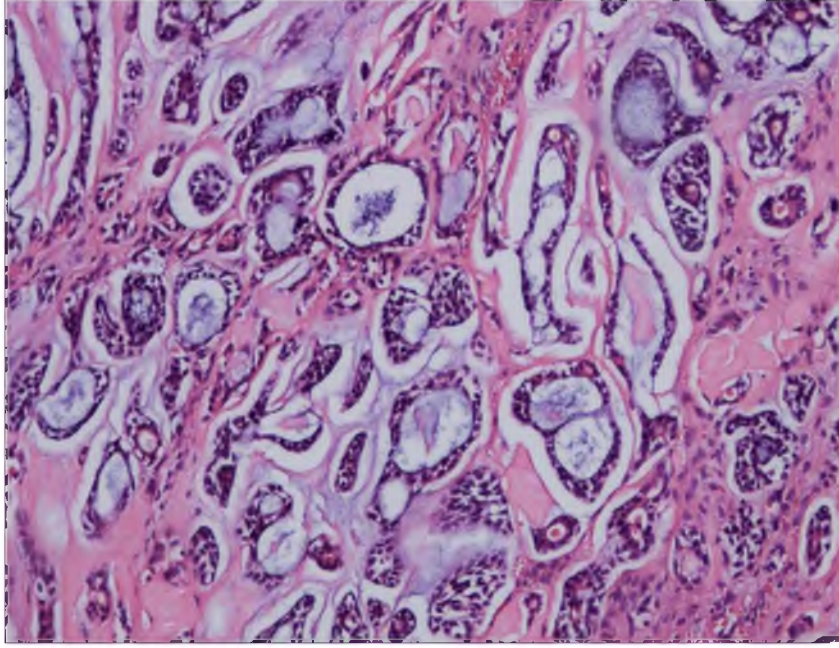
Şekil 3: Orta dereceli mukoepidermoid karsinom (H&Ex200).



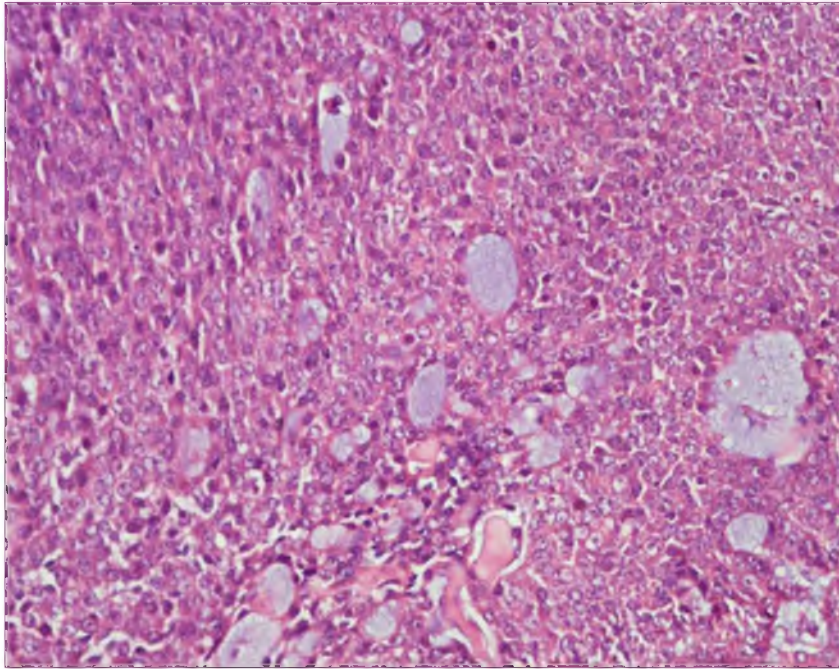
Şekil 4: Yüksek dereceli mukoeoid karsinom (H&Ex200).



Şekil 5: Kribriform patern adenoid kistik karsinom (H&Ex200).



Şekil 6: Tübüler patern adenoid kistik karsinom (H&Ex200).



Şekil 7: Solid patern adenoid kistik karsinom (H&Ex200).

Tümörün evrelemesi 2010 “American Joint Committee on Cancer, Seventh Edition ” (AJCC) kriterlerine göre yapılmıştır (80). (Tablo 2).

Tablo 2: Majör Tükürük Bezi Malignitelerinin 2010 AJCC Evrelemesi (7. Edisyon)

T: Primer tümör
Tx: Primer tümör tanımlanamıyor T0: Primer tümöre ait bulgu yok T1: Tümörün en büyük çapı 2 cm veya daha küçük, ekstraparankimal yayılım yok T2: Tümörün en büyük çapı 2 cm’den büyük, 4 cm’den küçük, ekstraparankimal yayılım yok T3: Tümörün en büyük çapı 4 cm’den büyük ve/veya ekstraparenkimal yayılım mevcut T4a: Cilt, mandibula, dış kulak yolu kanalı ve/veya fasiyal sinir tutulumu mevcut T4b: Kafa tabanı ve/veya pterigoid kemik invazyonu ve/veya karotid arter tutulumu mevcuttur
N: Bölgesel lenf nodları
Nx: Bölgesel lenf nodları metastazı tanımlanamıyor N0: Bölgesel lenf nodlarına metastaz yoktur N1: İpsilateral 3 cm veya daha küçük tek lenf nodunda metastaz N2a: İpsilateral 3-6 cm büyüklükte tek lenf nodunda metastaz N2b: İpsilateral 6 cm’den küçük multipl lenf nodlarında metastaz N2c: Bilateral veya kontrilateral 6 cm’den küçük lenf nodlarında metastaz N3: 6 cm’den büyük lenf nodunda metastaz
M: Uzak metastaz
Mx: Uzak metastaz tanımlanamıyor M0: Uzak metastaz yok M1: Uzak metastaz mevcut

Tablo 3: Majör Tükürük Bezi Malignitelerinin 2010 AJCC Evre Gruplaması

Evre	Primer Tümör	Bölgesel Lenf Nodları	Uzak Metastaz
EVRE I	T1	N0	M0
EVRE II	T2	N0	M0
	T3	N0	M0
EVRE III	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
EVRE IVA	T4A	N0	M0
	T4A	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
	T4A	N2	M0
EVRE IVB	T4B	Herhangi N	M0
	Herhangi T	N3	M0
EVRE IVC	Herhangi T	Herhangi N	M1

Olgulara ait tümör dokusunu en iyi yansıtan birer örnek belirlenmiştir. Seçilen parafin bloklardan pozitif yüklü lamlara her olgu için PD-1 ve PD-L1 antikorları çalışılmak üzere ikişer adet 3 mikronluk kesitler alınmıştır. Alınan doku örnekleri deparafinizasyon için 60°C’de bir gece etüvde bekletildikten sonra otomatik olarak VENTANA, Benchmark XT cihazı yardımı ile boyanmıştır. Otomatik boyama yapılan kesitlere, anti PD-1 antikor (NAT105, Cell Marque) ve anti PD-L1 (SP263, Ventana) predilüe hazır preparatlar kullanılarak hedeflenen proteinler görünür hale getirilmiştir. Antikorlar ile inkübasyon süresi PD-1 ve PD-L1 için 36 dakika uygulanmıştır. Sonra sırasıyla %70’lik alkolde 2 dakika, %80’lik alkolde 2 dakika, %95’lik alkolde 2 dakika ve absölü alkolde 2 dakika bekletilmiştir. Havada kurutulduktan sonra ksilolde 15 dakika bekletilen kesitler entellan ile kapatılmıştır.

Çalışmamızda kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerin özellikleri tablo 4’te gösterilmiştir.

Tablo 4: Çalışmamızda Kullandığımız İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Özellikleri.

İmmünohistokimyasal Belirteç	Klon	Marka	Dilüsyon	Pozitif Kontrol
PD-1	NAT 105 Fare Monoklonal	Cell Marque	Predilüe	Tonsil
PD-L1	SP 263 Tavşan monoklonal	Ventana	Predilüe	Plasenta

PD-L1 ile tümör hücrelerinde ve stromal lenfositler/immün hücrelerdeki boyanmalar ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Tümör hücrelerinde ve stromal lenfositler/immün hücrelerdeki PD-L1 pozitifliği değerlendirilirken, boyanan tümör hücrelerinin yüzdesi belirtilmiş ve 1-3 şeklinde (“zayıf”, “orta”, “kuvvetli”) boyanmanın şiddeti derecelendirilmiştir. Tümör hücrelerindeki ve stromal lenfositler/immün hücrelerdeki membranöz ve sitoplazmik boyanmalar dikkate alınmış, pozitif kontrolünde plasenta dokusu kullanılmıştır.

Tümör hücrelerindeki boyanma skoru değerlendirilirken; boyanma yoksa skor 0, %1-5’i boyanmışsa skor 1, %5-50’si boyanmışsa: skor 2, %50 ve üzeri boyanma skor 3 olarak değerlendirilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5: Tümör Hücrelerinde PD-L1 Ekspresyonu

Tümör hücreleri boyanma skoru	Boyanma yüzdesi %
Skor 0	<%1
Skor 1	≥%1 ve <%5
Skor 2	≥%5 ve <%50
Skor 3	≥%50

PD-1 ile stromal lenfositler/immün hücrelerdeki pozitiflik değerlendirilirken, boyanan hücrelerinin yüzdesi belirtilmiş ve 1-3 şeklinde (“zayıf”, “orta”, “kuvvetli”) boyanmanın şiddeti derecelendirilmiştir. PD-1 için sitoplazmik boyanma pozitif, bunun dışındaki boyanmalar negatif kabul edilerek değerlendirilmiştir. PD-1’in pozitif kontrolü için tonsil dokusu kullanılmıştır.

PD-L1 ve PD-1 ile inflamatuvar hücrelerdeki (TİL) boyanma skoru değerlendirilirken boyanma yoksa: skor 0, %1-5 boyanmışsa: skor 1, %5-10 boyanmışsa: skor 2, %10 ve üzeri boyanmışsa: skor 3 olarak değerlendirilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6: TİL’lerde PD-1 Ve PD-L1 Ekspresyonu

TİL boyanma skoru	Boyanma yüzdesi %
Skor 0	<%1
Skor 1	≥%1 ve <%5
Skor 2	≤%5 ve <%10
Skor 3	≥%10

Skor 2 ve skor 3 olan tümör hücreleri ve inflamatuvar hücreler PD-L1 ve PD-1 ekspresyonu pozitif tümör olarak kabul edilmiştir.

**Ayrıca skorlama sistemine ilave olarak stromal lenfositler/immün hücrelerdeki PD-1, tümör hücrelerindeki ve stromal lenfositler/immün hücrelerdeki PD-L1 boyanmaları yüzde olarak kaydedilmiş ve ≥ 1 boyanma oranı pozitif kabul edilmiştir (222).

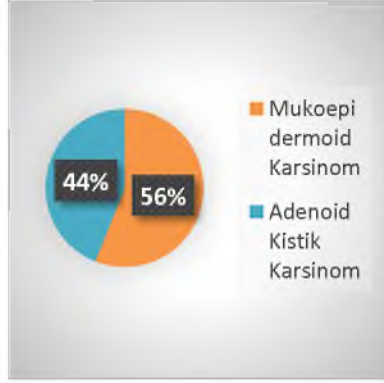
İstatiksal analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 21.0 (Windows) yazılımı kullanılmıştır. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar Mann Whitney U, Pearson Chi-Square ve Fisher's exact test kullanılarak yapılmıştır. Boyanma yüzdeleri, tümör boyutu gibi sürekli değişkenler arasındaki ilişkilerin belirlenebilmesi için Spearman korelasyon analizi, sağkalımla ilgili tek değişkenli analizlerin yapılması amacıyla da Kaplan-Meier testleri kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir.

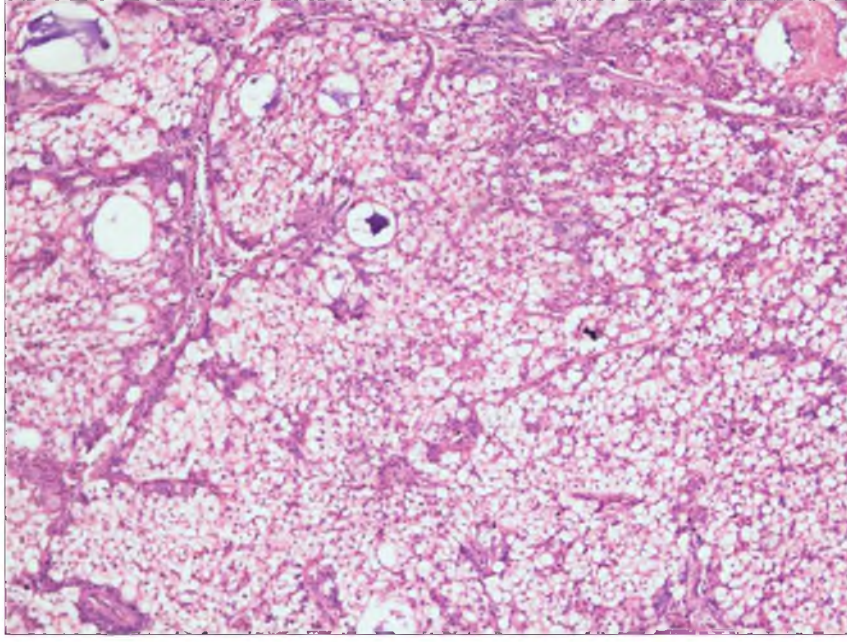
BULGULAR

KLİNİKOPATOLOJİK BULGULAR

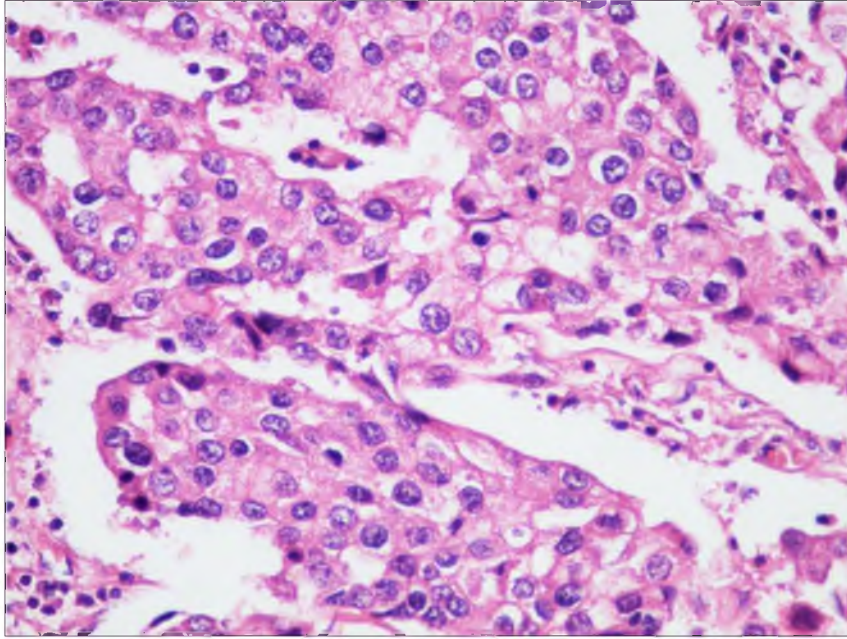
Çalışmaya 41 tükrük bezi tümörü olgusu dahil edildi. Histolojik olarak olguların 23'ü (%56.1) MEK, 18'i (%43.9) AKK morfolojisinde idi (Şekil 8). AKK tanı 18 olgunun 7'si (%38.9) kribriform, 7'si (%38.9) tübüler, 4'ü solid (%22.2) paternde idi. MEK tanı 23 olgunun 1'i berrak hücreli, 1'i onkositik ve 1'i sklerotik varyant idi (Şekil 9, Şekil 10, Şekil 11). MEK olgularının 9'unu (%39.1) orta derece, 8'ini (%34.8) düşük derece, 6'sını (%26.1) yüksek derece tümörler oluşturuyordu.



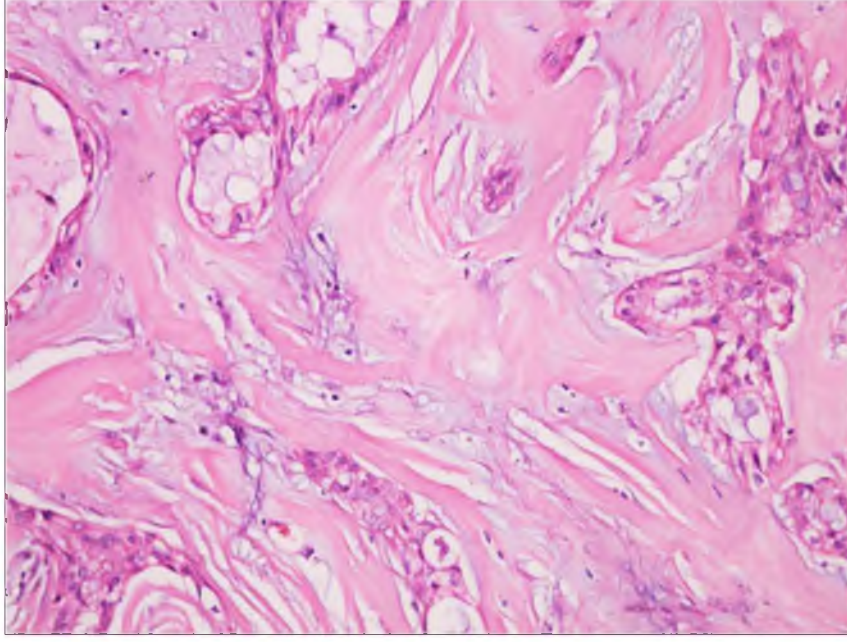
Şekil 8: Olguların Histolojik Tipe Göre Dağılımı



Şekil 9: Berrak hücreli varyant mukoepidermoid karsinom (H&Ex200).



Şekil 10: Onkositik varyant mukoepidermoid karsinom (H&Ex200).



Şekil 11: Sklerotik varyant mukoepidermoid karsinom (H&Ex200).

Çalışmaya alınan 41 hastanın yaşları 12-92 arasındaydı. Ortalama yaş 49.68 ± 20.29 olarak saptandı. MEK grubundaki 23 hastanın yaşları 12 ile 92 arasında ve ortalama 46.82 ± 22.59 idi. AKK grubundaki 18 hastanın yaşları ise 26 ile 75 arasında ve ortalama 53.33 ± 16.83 idi.

Tüm hastaların 21'i (%51.2) erkek, 20'si (%48.8) kadındı. MEK grubundaki hastaların 15'i erkek (%65.2), 8'i (%34.8) kadındı. AKK grubundaki hastaların 6'sı erkek (%33.3), 12'si (%66.7) kadındı (Tablo 7).

Tüm olguların 23'ünde (%56.1) minör tükürük bezlerinde, 12'sinde (%29.3) submandibular bezde, 6'sında (%14.6) parotis bezinde saptandı. AKK grubunda minör tükürük bezi yerleşimli 14 hasta (%77.8), submandibular bez yerleşimli 2 hasta (%11.1), parotis bezi yerleşimli 2 hasta (%11.1); MEK grubunda minör tükürük bezi yerleşimli 9 hasta (%39.1), submandibular bez yerleşimli 4 hasta (%17.4), parotis bezi yerleşimli 10 hasta (%43.5) tespit edildi (Tablo 7).

Tablo 7: Olguların Klinikopatolojik Özelliklerine Göre Dağılımı

Klinikopatolojik Özellikler	Hasta Sayısı (n) MEK	Hasta Sayısı (n) AKK	% (yüzde)
Yaş			
<65	18	12	73.2
≥65	5	6	26.8
Cinsiyet			
Kadın	8	12	48.8
Erkek	15	6	51.2
Lokalizasyon			
Parotis	10	2	29.3
Submandibular	4	2	14.6
Minör bezler	9	14	56.1
Uzak metastaz			
Var	1	7	19.5
Yok	22	11	80.5
Nüks			
Var	3	0	7.3
Yok	20	18	92.7
Hasta Sağkalımı			
Sağ	16	13	70.7
Ölü	7	5	29.3

Olguların 26'sına (%63.4) eksizyonel biyopsi, 10'una (%24.4) radikal cerrahi operasyonu, 5'ine (%12.2) insizyonel biyopsi ve ayrıca, 11'ine (%26.8) boyun diseksiyonu uygulanmıştı. Boyun diseksiyonu uygulanan hastaların 7'si (%30.4) AKK, 4'ü (%22.2) MEK grubunda idi.

2010 AJCC evreleme sistemine göre olguların evrelere göre dağılımı: MEK grubunda; Evre I, 10 hasta (%43.5); evre II, 4 hasta (%17.4); evre III, 6 hasta (%26.1); evre IVA, 2 hasta (%8.7); evre IVC, 1 hasta (%4.3) vardı. AKK grubunda; Evre I, 4 hasta (%22.2); evre II, 3 hasta (%16.7); evre III, 6 hasta (%33.3); evre IVC, 5 hasta (%27.8) mevcuttu (Tablo 8).

Tablo 8: Olguların Patolojik Evreye Göre Dağılımı

Evre	Hasta Sayısı (n) MEK	Hasta Sayısı(n) AKK	% Yüzde
Evre I	10	4	34.1
Evre II	4	3	17.1
Evre III	6	6	29.3
Evre IVA	2	0	4.9
Evreb IVB	0	0	0
Evre IVC	1	5	14.6

Olguların 13'üne (%31.7) cerrahi sonrası RT+KT, 8'ine (%19.5) cerrahi sonrası RT, 3'üne (%7.3) cerrahi sonrası KT ve 13'üne (%41.5) sadece cerrahi eksizyon tedavisi uygulandı. MEK grubundaki hastaların ise 5'i (%21.7) cerrahi sonrası RT+KT, 4'ü (%17.3) cerrahi sonrası RT, 1'i (%4.3) cerrahi sonrası KT tedavisi, 13'ü (%56.5) sadece cerrahi eksizyon; AKK grubundaki hastaların 8'i (%44.4) cerrahi sonrası RT+KT, 4'ü (%22.2) cerrahi sonrası RT, 2'si (%11.1) cerrahi sonrası KT, 4'ü (%22.2) sadece cerrahi eksizyon uygulandı (Tablo 9).

Tablo 9: Histolojik Tipe Göre Tedavi Yöntemleri

Tedavi	Hasta Sayısı (n)	Hasta Sayısı (n)	% Yüzde
	MEK	AKK	
Cerrahi ve KT	1	2	7.3
Cerrahi ve RT	4	4	19.5
Cerrahi ve KT+RT	5	8	31.7
Cerrahi	13	4	41.5

Tüm olguların klinik izlem bilgilerine ulaşıldı. Bu 41 olgunun klinik izlem süreleri minimum 1 ay, maksimum 216 ay olup, ortalama takip süresi 61.41 ± 56.23 aydı. Tüm olguların 3'ünde (% 13.0) nüks ve 8'inde (%19.5) uzak metastaz saptandı. İzlenen hastaların %70.7'sinin izlem süresi sonunda hayatta olduğu, %29.3'ünün kaybedildiği görüldü (Bkz. Tablo 7). Olguların genel sağkalım süreleri ise ortalama 59.73 ± 55.98 aydı (minumum 1 ay, maksimum 216 ay). MEK grubundaki hastalarda ortalama genel sağkalım süresi $45,88 \pm 39.36$ aydı (minumum 1 ay, maksimum 135 ay). AKK grubundaki hastalarda ise ortalama genel sağkalım süresi 77.77 ± 69.11 aydı (minumum 1 ay, maksimum 216 ay).

Sağkalım durumu değerlendirildiğinde 41 hastanın 29'u (%70.7) yaşıyordu, 12'si (%29.3) ölüydü. MEK grubundaki hastaların 16'sı (%69.6) yaşıyor, 7'si (%30.4) ölü; AKK grubundaki hastaların 13'ü (%72.2) yaşıyor, 5'i (%27.8) ölüydü. (Bkz. Tablo 7).

Tümör çapı olguların tümü göz önüne alındığında en küçük 0.8 cm, en büyük 8 cm; ortalama 2.91 ± 1.80 cm idi. Tümörlerin 11'inde (%26.8) anjiyolenfatik invazyon saptandı. Bu hastalardan 6'sı MEK grubunda, 5'i AKK grubundaydı. Tüm olguların 18'inde (%43.9) cerrahi sınırdaki tümör izlendi. Cerrahi sınır pozitif olguların 11'i AKK, 7'si MEK'du. PNI açısından değerlendirildiğinde, 41 hastanın 18'inde (%43.9) PNI mevcuttu. Bu olguların 12'si AKK, 6'sı MEK idi. Ekstraparankimal invazyon varlığı tüm hastaların 16'sında (%39.0) görüldü. Bunların 11'i AKK; 5'i

MEK grubunda idi. Tüm hastaların 6'sında (%14.6) metastatik lenf nodu tespit edildi. Bu hastaların 2'si AKK, 4'ü MEK idi (Tablo 10).

Tablo 10: Olguların Klinikopatolojik Özelliklerine Göre Dağılımı

Klinikopatolojik özellikler	Hasta Sayısı (n) MEK	Hasta Sayısı (n) AKK	% Yüzde
Tümör çapı			
<4 cm	15	12	65.8
≥4 cm	8	6	35.2
Lenf nodu metastazı			
Var	4	2	14.6
Yok	19	16	85.4
Anjiolenfatik			
Var	6	5	26.8
Yok	17	13	73.2
Cerrahi Sınır			
Pozitif	7	11	43.9
Negatif	6	6	56.1
Ekstraparankimal İnvazyon			
Var	5	11	39
Yok	18	7	61
PNI			
Var	6	12	43.9
Yok	17	6	56.1

MEK grubundaki hastaların 15'i erkek (%65.2), 8'i (%34.8) kadındı. AKK grubundaki hastaların 6'sı erkek (%33.3), 12'si (%66.7) kadındı. İstatistiksel olarak tümörün histolojik tipi ile cinsiyet arasındaki fark anlamlıydı ($p= 0.04$) (Bkz. Tablo 7).

AKK grubunda cinsiyet ile patern arasındaki ilişki olgu sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirilememekle birlikte; kadınlarda kribriform; erkeklerde tübüler paterndeki olgu sayısı daha fazla idi (Tablo 11).

Tablo 11: Adenoid Kistik Karsinom Olgularının Cinsiyete Göre Dağılımı.

Adenoid Kistik Karsinom	Hasta Sayısı (n)		% Yüzde
	Kadın	Erkek	
Kribriform	5	2	38.9
Tübüler	4	3	38.9
Solid	3	1	22.2

MEK grubunda cinsiyet ile tümör derecesi arasındaki ilişki olgu sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirilememekle birlikte; erkeklerde düşük dereceli tümörler, kadınlarda yüksek dereceli tümörler baskındı (Tablo 12).

Tablo 12: Mukoepidermoid Karsinom Olgularının Cinsiyete Göre Dağılımı.

Mukoepidermoid Karsinom	Hasta Sayısı (n)		% Yüzde
	Kadın	Erkek	
Düşük Derece	0	8	34.8
Orta Derece	3	6	39.1
Yüksek Derece	5	1	26.1

Tüm olguların 23'ünde (%56.1) minör tükruk bezlerinde, 12'sinde (%29.3) submandibular bezde, 6'sında (%14.6) parotis bezinde saptandı. AKK grubunda minör tükruk bezi yerleşimli 14 hasta (%77.8), submandibular bez yerleşimli 2 hasta (%11.1), parotis bezi yerleşimli 2 hasta (%11.1); MEK grubunda minör tükruk bezi yerleşimli 9 hasta (%39.1), submandibular bez yerleşimli 4 hasta (%17.4), parotis bezi yerleşimli 10 hasta (%43.5) tespit edildi. İstatistiksel olarak tümörün histolojik tipi ile tümör lokalizasyonu arasındaki fark anlamlıydı ($p= 0.03$) (Bkz. Tablo 7).

Cerrahi sınır pozitifliği tüm hastaların 18'inde (%43.9) görüldü. Cerrahi sınır pozitif olguların 11'i AKK, 7'si MEK'du. İstatistiksel olarak tümörün histolojik tipi ile cerrahi sınır pozitifliği arasındaki fark anlamlıydı ($p= 0.01$) (Tablo 10).

Ekstraparankimal invazyon varlığı tüm hastaların 16'sında (%39.0) görüldü. Bunların 11'i AKK; 5'i MEK grubunda idi. İstatistiksel olarak tümörün histolojik tipi ile ekstraparankimal invazyon varlığı arasındaki fark anlamlıydı ($p= 0.01$) (Tablo 10).

AKK grubundaki 12 hastada, MEK grubundaki 6 hastada PNI mevcuttu. İstatistiksel olarak tümörün histolojik tipi ile PNI arasındaki fark anlamlıydı ($p= 0.00$) (Tablo 10).

AKK grubunda 7 (%38.8) olguda, MEK grubunda 1 (%4.34) olguda uzak metastaz saptandı. İstatistiksel olarak tümörün histolojik tipi ile uzak metastaz varlığı arasındaki fark anlamlıydı ($p= 0.01$) (Bkz. Tablo 7).

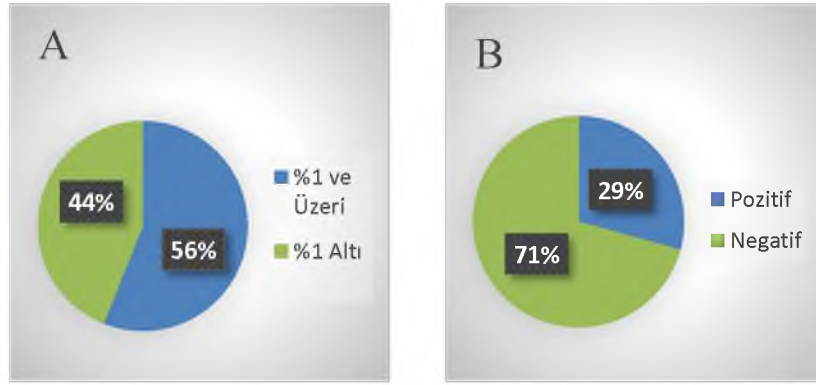
İstatistiksel olarak tümörün histolojik tipi ile anjiyolenfatik invazyon, tümör çapı, evre, nüks, metastatik lenf nodu varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p> 0.05$).

Her iki grupta da tümör çapı ile cinsiyet, sağkalım, anjiyolenfatik invazyon, uzak metastaz ve metastatik lenf nodu varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu

Tümör hücrelerinde, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde; PD-L1 ekspresyonu 23 olguda (%56.1) pozitif, 18 olguda (%43.9) negatifti (Şekil 12A). Tümör hücreleri skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde PD-L1 ekspresyonu 12 olguda (%29.3) pozitif, 29 olguda (%70.7) negatifti (Şekil 12B).



Şekil 12: Tüm olgularda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu.

A) %1 ve üzeri boyanma oranları pozitif kabul edilen olgular

B) Skorlama sistemine göre değerlendirilen olgular

Tümör hücrelerinde, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde; MEK grubundaki 23 olgunun 18'inde (%78.3), AKK grubundaki 18 olgunun 5'inde (%27.8) tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu saptandı. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.001$) (Tablo 13). Tümör hücreleri skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde; PD-L1 ekspresyonu MEK grubundaki 23 hastanın 11'inde (%47.8), AKK grubundaki 18 hastanın 1'inde (%5.6) pozitif saptandı. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($P=0.003$) (Tablo 14).

Tablo 13: Histolojik Tipe Göre Tümör Hücrelerinde %1'e göre PD-L1 Ekspresyonu

Histolojik Tip	PD-L1 <%1 (n)	PD-L1 ≥%1 (n)	p değeri
MEK	5 (%21.7)	18 (%78.3)	0.001
AKK	12 (%72.2)	5 (%27.8)	

Tablo 14: Histolojik Tipe Göre Tümör Hücrelerinde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu

Histolojik Tip	PD-L1 Skoru (n) (0 veya +1)	PD-L1 Skoru (n)(+2 veya +3)	p değeri
MEK	12 (%52.2)	11 (%47.8)	0.003
AKK	17 (%94.4)	1 (%5.6)	

Tümör hücrelerinde, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde; PD-L1 ekspresyonu gösteren 23 olgunun 15'i (%71.4) erkek, 8'i (%40.0) kadın idi. İstatistiksel olarak tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki fark anlamlıydı ($p=0.04$) (Tablo 15). Tümör hücreleri skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde; PD-L1 ekspresyonu gösteren 12 olgunun 10'u erkek, 2'si kadın idi. İstatistiksel olarak tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki fark anlamlıydı ($p= 0.00$) (Tablo 16).

Tablo 15: Tümör Hücrelerinde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu ve Cinsiyet Dağılımı

Cinsiyet	PD-L1 (n) <%1	PD-L1 (n) ≥%1	p değeri
Kadın	12 (%60.0)	8 (%40.0)	0.04
Erkek	6 (%28.6)	15 (%71.4)	

Tablo 16: Tümör Hücrelerinde skorlama sistemine göre PD-L1 Ekspresyonu ve Cinsiyet Dağılımı

Cinsiyet	PD-L1 Skoru (n) (0 veya +1)	PD-L1 Skoru (n) (+2 veya +3)	<i>p değeri</i>
Kadın	18 (%90.0)	2 (%10)	0.00
Erkek	11 (%52.4)	10 (%47.6)	

Uzak metastaz saptanan 8 (%19.5) olgunun 3'ünün (%37.5) metastatik odaklarına PD-L1 ve PD-1 uygulandığında olguların 2'sinde (%25) primer tümör ve metastatik odakta, hem PD-L1 hem de PD-1 negatifti. Geri kalan 1 (%12.5) olguda ise primer tümörde PD-L1 pozitif, PD-1 negatif; metastatik odakta PD-L1 pozitif, PD-1 negatifti.

Tümör hücrelerinde, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde; PD-L1 ekspresyonu gösteren 23 olgunun 12'si T1, 7'si T2, 4'ü T3 idi. PD-L1 ekspresyonu ile T evreleri arasındaki fark anlamlıydı ($p= 0.029$) (Tablo 17). Tümör hücreleri skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde PD-L1 ekspresyonu ile T evreleri arasında olgu sayısının az olması nedeniyle istatistiksel değerlendirme yapılamadı (Tablo 18). Ancak korelasyon analizinde tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif yönde zayıf düzeyde ilişki saptandı ($P=0.003$)($r=-0.296$).

Tablo 17: T Evresine Göre Tümör Hücrelerinde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu

T evresi	PD-L1	PD-L1	<i>P değeri</i>
	<%1	≥%1	
T1	4 (%25.0)	12 (%75.0)	0.02
T2	4 (%36.4)	7 (%63.6)	
T3	10 (%71.4)	4 (28.6)	

Tablo 18: T Evresine Göre Tümör Hücrelerinde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu

T evresi	PD-L1 Skoru	PD-L1 Skoru
	(0 veya +1)	(2 veya +3)
T1	10 (%62.5)	6 (%37.5)
T2	7 (%63.6)	4 (%36.4)
T3	12 (%85.7)	2 (%14.3)

Tümör hücrelerinde, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edilerek ve skorlama sistemine göre her iki şekilde değerlendirildiğinde; MEK grubunda tümör derecesi ile PD-L1 ekspresyonu arasındaki ilişki olgu sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirilemedi. Ancak düşük dereceli tümörlerde tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu gösteren olgu sayısı daha fazla idi (Tablo 19) (Tablo 20). Yapılan korelasyon analizinde MEK derece ile tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif yönde orta düzeyde ilişki saptandı ($P=0.003$)($r=-0.586$).

Tablo 19: Mukoepidermoid karsinomda Tümör Derecesine Göre Tümör Hücrelerinde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu

Mukoepidermoid Karsinom	PD-L1 (n) <%1	PD-L1 (n) ≥%1
Düşük Derece	0 (%0.0)	8 (%100.0)
Orta Derece	3 (%33.3)	6 (%66.7)
Yüksek Derece	2 (%33.3)	4 (%66.7)

Tablo 20: Mukoepidermoid karsinomda Tümör Derecesine Göre Tümör Hücrelerinde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu

Mukoepidermoid Karsinom	PD-L1 Skoru (n) (0 veya +1)	PD-L1 Skoru (n) (2 veya +3)
Düşük Derece	1 (%12.5)	7 (%87.5)
Orta Derece	6 (%66.7)	3 (%33.3)
Yüksek Derece	5 (%83.3)	1 (%16.7)

Tümör hücrelerinde, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde; AKK grubunda PD-L1 ekspresyonu ile histolojik patern arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirilemedi (Tablo 21). Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu gösteren olgular tübüler ve kribriform paternde idi. Tümör hücreleri skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde; AKK grubunda PD-L1 ekspresyonu ile patern arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirilememekle birlikte sadece kribriform paternde tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu izlendi (Tablo 22)

Tablo 21: Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre Tümör Hücrelerinde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu

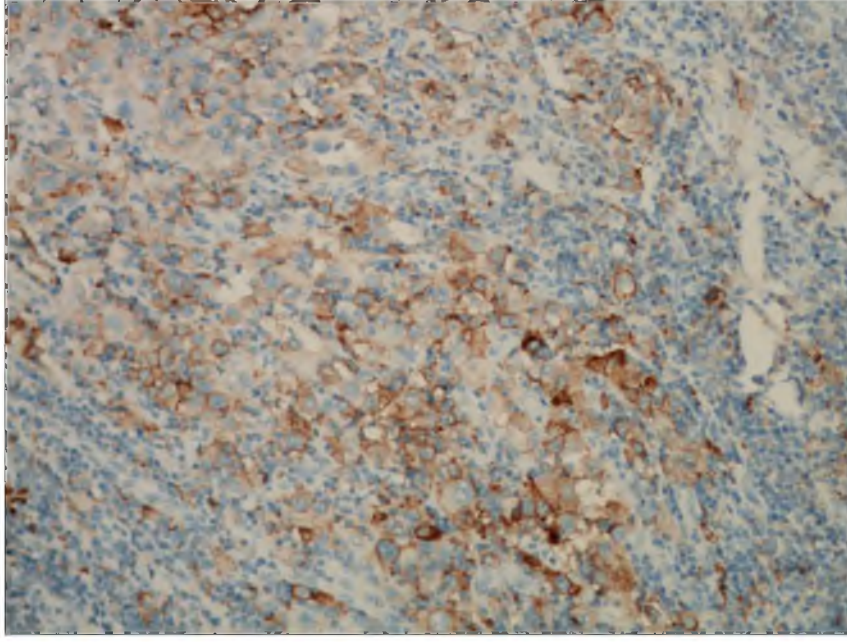
Adenoid Kistik Karsinom	PD-L1 (n) <%1	PD-L1 (n) ≥%1
Kribriform	6 (%85.7)	1 (%14.3)
Tübüler	3 (%42.9)	4 (%57.1)
Solid	4 (% 100.0)	0 (%0.0)

Tablo 22: Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre Tümör Hücrelerinde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu

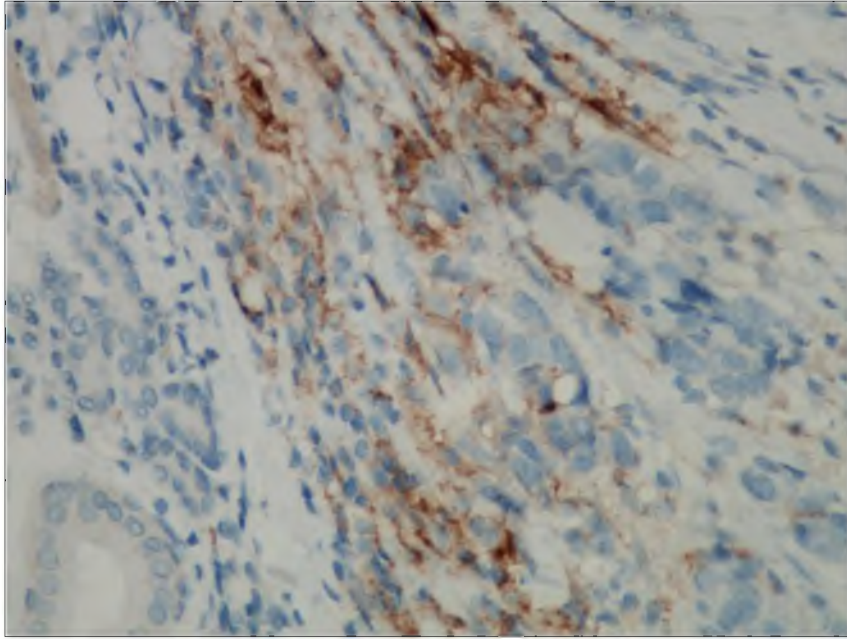
Adenoid Kistik Karsinom	PD-L1 Skoru (n) (0 veya +1)	PD-L1 Skoru (n) (2 veya +3)
Kribriform	6 (%85.7)	1 (%14.3)
Tübüler	7 (%100.0)	0 (%0.0)
Solid	4 (%100.0)	0 (%0.0)

Tümör hücrelerinde %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde PD-L1 ekspresyonu ile yaş, tümör lokalizasyonu, cerrahi sınır durumu, nüks, anjiyolenfatik invazyon, evre, ekstraparankimal invazyon ve metastatik lenf nodu durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$)

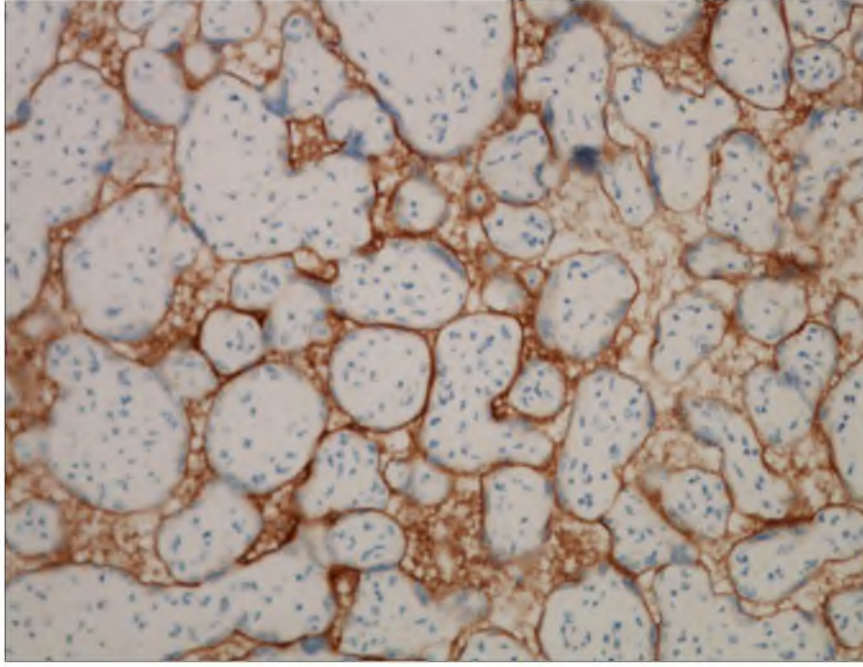
Tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonu skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde; PD-L1 ekspresyonu ile yaş, tümör lokalizasyonu, cerrahi sınır durumu, anjiyolenfatik invazyon, PNI, uzak metastaz, evre, ekstraparankimal invazyon ve metastatik lenf nodu durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).



Şekil 13: Mukoepidermoid karsinomda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu (H&Ex200).



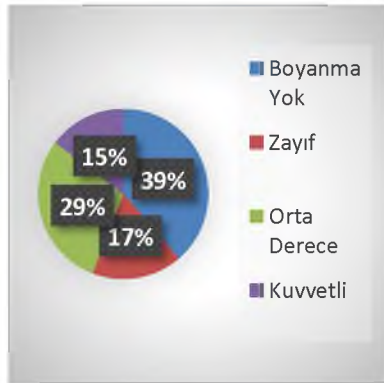
Şekil 14: Adenoid kistik karsinomda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu (H&Ex200).



Şekil 15: PD-L1 pozitif kontrol için plesenta dokusu (H&Ex200).

Tümör Hücrelerinde PD-L1 Boyanma Şiddeti

Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu gösteren olguların boyanma şiddeti değerlendirildiğinde olguların 12'sinde (%29.3) orta derecede boyanma, 7'sinde (%17.1) zayıf boyanma, 6'sında (%14.6) kuvvetli boyanma izlendi (Şekil 16).



Şekil 16: Tüm olguların tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma şiddetine göre dağılımı

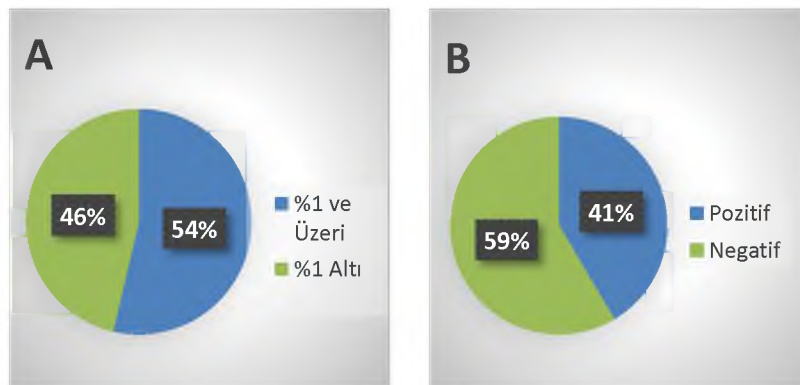
MEK ve AKK grupları ayrı ayrı incelendiğinde; MEK ile AKK arasında olgu sayısı azlığı nedeniyle istatistiksel değerlendirme yapılamadı ancak her iki grupta da orta derece boyanan olgu sayısı daha fazla idi (Tablo 23).

Tablo 23: Tüm Olguların Histolojik Tipe Göre Tümör Hücrelerinde PD-L1 Boyanma Şiddeti

Boyanma Şiddeti	Hasta Sayısı (n)		% Yüzde
	MEK	AKK	
Zayıf	6	1	17.1
Orta	9	3	29.3
Kuvvetli	5	1	14.6

Tümörü İnfiltrate Eden Lenfositlerde PD-L1 Ekspresyonu

TİL'ler, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edilerek değerlendirildiğinde, PD-L1 ekspresyonu 22 olguda (%53.7) pozitif, 19 olguda (%46.3) negatifti (Şekil 17A). TİL skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde PD-L1 ekspresyonu 17 olguda (%41.5) pozitif, 24 olguda (%58.5) negatifti (Şekil 17B).



Şekil 17: Tüm olgularda tümörü infiltrate eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu.

A) %1 ve üzeri boyanma oranları pozitif kabul edilen olgular

B) Skorlama sistemine göre değerlendirilen olgular

TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde; MEK grubundaki 15 (%65.2) olguda, AKK grubundaki 7 (%38.9) olguda PD-L1 ekspresyonu saptandı. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.09$) (Tablo 24). TİL skorum sistemine göre değerlendirildiğinde; MEK grubundaki 12 (%52.2) olguda, AKK grubundaki 5 (%27.8) olguda TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu saptandı. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.11$) (Tablo 25).

Tablo 24: Histolojik Tipe göre TİL'lerde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu

Histolojik Tip	PD-L1 (n)	PD-L1 (n)	<i>p değeri</i>
	<%1	≥%1	
MEK	8 (%34.8)	15 (%65.2)	0.09
AKK	11 (%61.1)	7 (%38.9)	

Tablo 25: Histolojik Tipe göre TİL'lerde Skorum Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu

Histolojik Tip	PD-L1 Skoru (n)	PD-L1 Skoru (n)	<i>P değeri</i>
	(0 veya +1)	(2 veya +3)	
MEK	11 (%47.8)	12 (%52.2)	0.11
AKK	13 (%72.2)	5 (%27.8)	

TİL %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde; PD-L1 ekspresyonu gösteren 22 olgunun 14'ü (%40) erkek, 8'i (%66.7) kadın idi. İstatistiksel olarak TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki fark anlamlı değildi ($p=0.08$) (Tablo 26). TİL skorum sistemine göre değerlendirildiğinde; PD-L1 ekspresyonu gösteren 17 olgunun 12'si (%57.1) erkek, 5'i (%25) kadın idi.

İstatistiksel olarak TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki fark anlamlıydı ($p= 0.03$) (Tablo 27).

Tablo 26: Cinsiyete Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu

Cinsiyet	PD-L1 (n)	PD-L1 (n)	<i>p değeri</i>
	<%1	≥%1	
Kadın	12 (%60.0)	8 (%40.0)	0.08
Erkek	7 (%33.3)	14 (%66.7)	

Tablo 27: Cinsiyete Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu

Cinsiyet	PD-L1 Skoru (n)	PD-L1 Skoru (n)	<i>p değeri</i>
	(0 veya +1)	(2 veya +3)	
Kadın	15 (%75.0)	5 (%25.0)	0.03
Erkek	9 (%42.9)	12 (%57.1)	

TİL, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde ve skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu; MEK grubunda tümör derecesine göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak değerlendirilememekle birlikte düşük dereceli tümörlerde TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu gösteren olgu sayısı daha fazla idi (Tablo 28) (Tablo 29).

Tablo 28: Mukoepidermoid Karsinomda Tümör Derecesine Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu

Mukoepidermoid Karsinom	PD-L1 <%1 (n)	PD-L1 ≥%1 (n)
Düşük Derece	0 (%0.0)	8 (%100.0)
Orta Derece	3 (%33.3)	6 (%66.7)
Yüksek Derece	2 (%33.3)	4 (%66.7)

Tablo 29: Mukoepidermoid Karsinomda Tümör Derecesine Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu

Mukoepidermoid Karsinom	PD-L1 Skoru (n) (0 veya +1)	PD-L1 Skoru (n) (2 veya +3)
Düşük Derece	2 (%25.0)	6 (%75.0)
Orta Derece	7 (%77.8)	2 (%22.2)
Yüksek Derece	2 (%33.3)	4 (%66.7)

TİL, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde ve skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu; AKK grubunda paterne göre istatistiksel olarak değerlendirilemedi. Sadece tübüler ve kribriform paternde TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu izlendi (Tablo 30) (Tablo 31).

Tablo 30: Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-L1 Ekspresyonu

Adenoid Kistik Karsinom	PD-L1 (n) <%1	PD-L1 (n) ≥%1
Kribriform	4 (%57.1)	3 (%42.9)
Tübüler	3 (% 42.9)	4 (%57.1)
Solid	4 (% 100.0)	0 (%0.0)

Tablo 31: Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre TİL’lerde Skorlama Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu

Adenoid Kistik Karsinom	PD-L1 Skoru (n) (0 veya +1)	PD-L1 Skoru (n) (2 veya +3)
Kribriform	5 (%71.4)	2 (%28.6)
Tübüler	4 (%57.1)	3 (%42.9)
Solid	4 (%100.0)	0 (%0.0)

TİL, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde ve skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu; T evresine göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen T1 tümörlerde TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu gösteren olgu sayısı daha fazla idi (Tablo 32) (Tablo 33). Yapılan korelasyon analizinde TİL’lerde PD-L1 ekspresyonu ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif yönde orta düzeyde ilişki saptandı ($P=0.003$)($r=-0.561$).

Tablo 32: T Evresine Göre TİL’lerde %1’e Göre PD-L1 Ekspresyonu

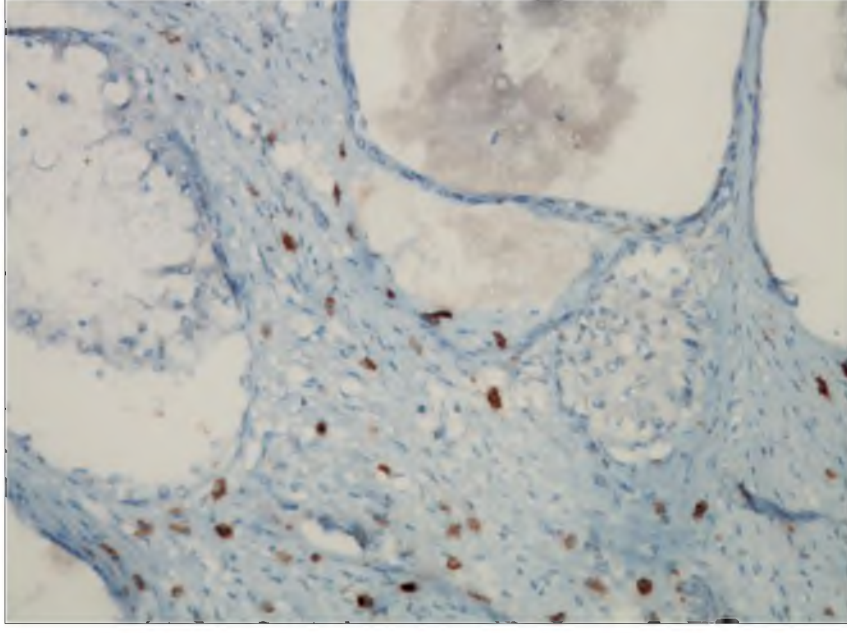
T evresi	PD-L1 (n) <%1	PD-L1 (n) ≥%1
T1	6 (%37.5)	10 (%62.5)
T2	5 (%45.5)	6 (%54.5)
T3	8 (%57.1)	6 (%42.9)

Tablo 33: T Evresine Göre TİL'lerde Skorum Sistemine Göre PD-L1 Ekspresyonu

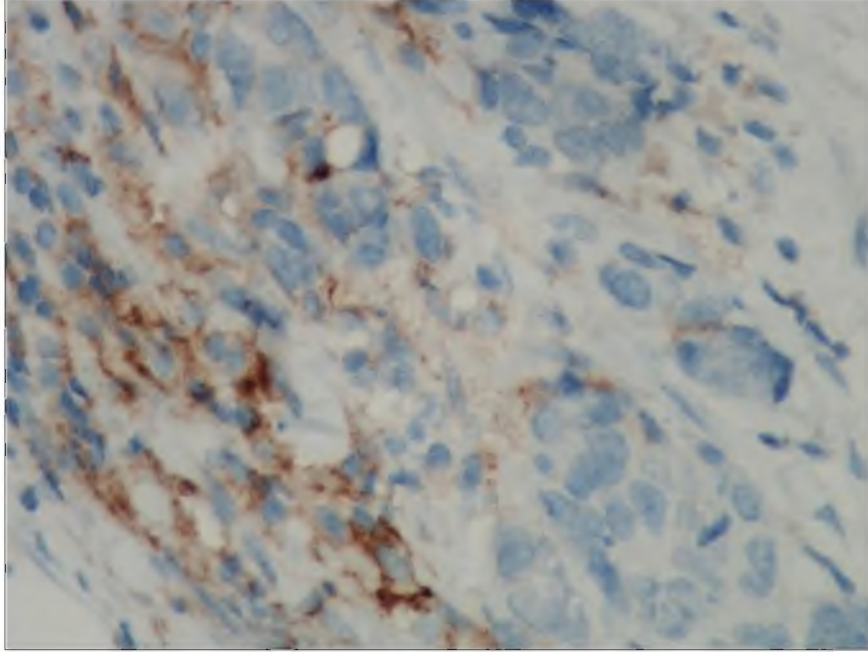
T evresi	PD-L1 Skoru (n) (0 veya +1)	PD-L1 Skoru (n) (2 veya +3)
T1	7 (%43.8)	9 (%56.3)
T2	8 (%72.7)	3 (%27.3)
T3	9 (%64.3)	5 (%35.7)

TİL, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, anjiyolenfatik invazyon, PNI, ekstraparankimal invazyon, nüks, uzak metastaz, evre, metastatik lenf nodu ve cerrahi sınır durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

TİL skorum sistemine göre değerlendirildiğinde TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile yaş, tümör lokalizasyonu, anjiyolenfatik invazyon, PNI, ekstraparankimal invazyon, nüks, uzak metastaz, evre, metastatik lenf nodu ve cerrahi sınır durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$)



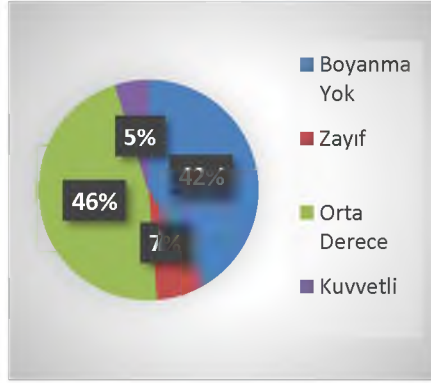
Şekil 18: Mukoepidermoid karsinomda tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu (H&Ex200).



Şekil 19: Adenoid kistik karsinomda tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu (H&Ex200).

Tümörü İnfiltrate Eden Lenfositlerde PD-L1 Boyanma Şiddeti

TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu gösteren olguların boyanma şiddeti değerlendirildiğinde olguların 19'unda orta derecede boyanma, 3'ünde zayıf boyanma, 2'sinde kuvvetli boyanma izlendi (Şekil 20).



Şekil 20: Tüm olgularda tümörü infiltrate eden lenfositlerde PD-L1 boyanma şiddetine göre dağılımı

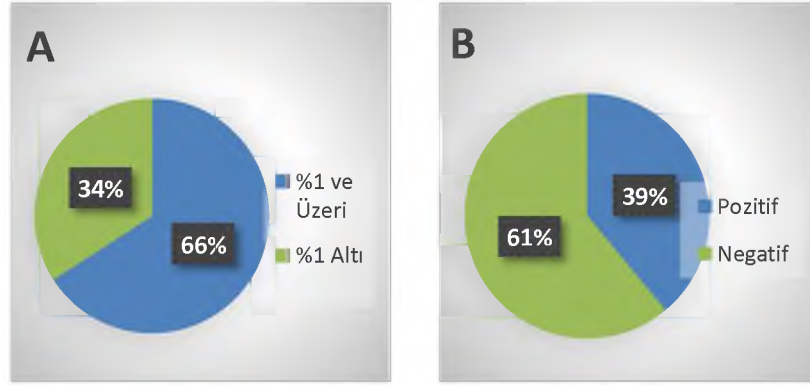
MEK ve AKK grupları ayrı ayrı incelendiğinde; MEK ile AKK arasında olgu sayısı azlığı nedeniyle istatistiksel değerlendirme yapılamadı ancak her iki grupta da orta derece boyanma fazla izlenirken, AKK grubunda hiçbir olguda kuvvetli boyanma görülmedi (Tablo 34).

Tablo 34: Tüm Olguların Histolojik Tipe Göre TİL PD-L1 Boyanma Şiddeti

PD-L1 Boyanma Şiddeti	TİL Hasta Sayısı (n) MEK	Hasta Sayısı (n) AKK	% Yüzde
Zayıf	2	1	7.3
Orta	13	6	46.3
Kuvvetli	2	0	4.9

Tümörü İnfiltrate Eden Lenfositlerde PD-1 Ekspresyonu

TİL'lerde, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde; TİL'lerde PD-1 ekspresyonu 27 olguda (%65.9) pozitif, 14 olguda (%34.1) negatifti (Şekil 21A). TİL'ler skorumla sistemine göre değerlendirildiğinde; TİL'lerde PD-1 ekspresyonu 16 olguda (%39.0) pozitif, 25 olguda (%61.0) negatifti (Şekil 21B).



Şekil 21: Tüm olgularda tümörü infiltrate eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu. **A)** %1 ve üzeri boyanma oranları pozitif kabul edilen olgular, **B)** Skorumla sistemine göre değerlendirilen olgular

TİL, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde MEK grubundaki 21 (%91.3) olguda, AKK grubundaki 6 (%33.3) olguda; TİL'lerde PD-1 ekspresyonu saptandı. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.001$) (Tablo 35). TİL skorumla sistemine göre değerlendirildiğinde MEK grubundaki 14 (%60.9) olguda, AKK grubundaki 2 (%11.1) olguda TİL'lerde PD-1 ekspresyonu saptandı. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.01$) (Tablo 36).

Tablo 35: Histolojik Tipe Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-1 Ekspresyonu

Histolojik Tip	PD-1 (n)	PD-1 (n)	<i>P değeri</i>
	<%1	≥%1	
MEK	2 (%8.7)	21 (%91.3)	0.001
AKK	12 (%66.7)	6 (%33.3)	

Tablo 36: Histolojik Tipe Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-1 Ekspresyonu

Histolojik Tip	PD-1 Skoru (n)	PD-1 Skoru (n)	<i>P değeri</i>
	(0 veya +1)	(2 veya +3)	
MEK	9 (%39.1)	14 (%60.9)	0.01
AKK	16 (%88.9)	2 (%11.1)	

TİL'lerde, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde; TİL'lerde PD-1 ekspresyonu gösteren 27 olgunun 17'si (%81) erkek, 10'u (%50) kadın idi. İstatistiksel olarak PD-1 ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki fark anlamlıydı ($p= 0.03$) (Tablo 37). TİL skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde PD-1 ekspresyonu gösteren 16 olgunun 8'i (%38.1) erkek, 8'i (%40) kadın idi. İstatistiksel olarak tümör PD-1 ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki fark anlamlı değildi ($p= 0.90$) (Tablo 38).

Tablo 37: Cinsiyete Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-1 Ekspresyonu

Histolojik Tip	PD-1 (n)	PD-1 (n)	<i>P değeri</i>
	<%1	≥%1	
Kadın	10 (%50.0)	10 (%50.0)	0.03
Erkek	4 (%19.0)	17 (%81.0)	

Tablo 38: Cinsiyete Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-1 Ekspresyonu

Cinsiyet	PD-1 Skoru (n) (0 veya +1)	PD-1 Skoru (n) (2 veya +3)	P değeri
Kadın	12 (%60.0)	8 (%40.0)	0.90
Erkek	13 (%61.9)	8 (%38.1)	

TİL, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde ve skorlama sistemine göre TİL'lerde PD-1 ekspresyonu; MEK grubunda tümör derecesine göre olgu sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirilemedi (Tablo 39). TİL'lerde PD-1 ekspresyonu gösteren olgular; tümör derecesine göre incelendiğinde benzer dağılımda idi (Tablo 40).

Tablo 39: Mukoepidermoid Karsinomda Tümör Derecesine Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-1 Ekspresyonu

Mukoepidermoid Karsinom	PD-1 (n) <%1	PD-1 (n) ≥%1
Düşük Derece	0 (%0.0)	8 (%100.0)
Orta Derece	2 (%22.2)	7 (%77.8)
Yüksek Derece	0 (%0.0)	6 (%100.0)

Tablo 40: Mukoepidermoid Karsinomda Tümör Derecesine Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-1 Ekspresyonu

Mukoepidermoid Karsinom	PD-1 Skoru (n) (0 veya +1)	PD-1 Skoru (n) (2 veya +3)
Düşük Derece	3 (%37.5)	5 (%62.5)
Orta Derece	5 (%55.6)	4 (%44.4)
Yüksek Derece	1 (%16.7)	5 (%83.3)

TİL, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde ve skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde TİL'lerde PD-1 ekspresyonu; AKK grubunda paterne göre istatistiksel olarak değerlendirilemedi. Ancak AKK grubunda TİL'lerde PD-1 ekspresyonu açısından negatif olgular baskın idi (Tablo 41) (Tablo 42).

Tablo 41: Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-1 Ekspresyonu

Adenoid Kistik Karsinom	PD-1 (n)	PD-1 (n)
	<%1	≥%1
Kribriform	6 (%85.7)	1 (%14.3)
Tübüler	4 (% 57.1)	3 (% 42.9)
Solid	2 (% 50.0)	2 (% 50.0)

Tablo 42: Adenoid Kistik Karsinomda Paterne Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-1 Ekspresyonu

Adenoid Kistik Karsinom	PD-1 Skoru (n)	PD-1 Skoru (n)
	(0 veya +1)	(2 veya +3)
Kribriform	6 (%85.7)	1 (%14.3)
Tübüler	6 (%85.7)	1 (%14.3)
Solid	4 (%100.0)	0 (%0.0)

TİL, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde ve skorlama sistemine göre her iki şekilde değerlendirildiğinde; TİL'lerdeki PD-1 ekspresyonu ile T evresi olgu sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirilememekle birlikte T1 tümörlerde TİL'lerde PD-1 pozitif olgu sayısı daha fazla iken T3 tümörlerde PD-1 negatif olgu sayısı fazla idi (Tablo 43) (Tablo 44). Korelasyon analizinde TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile tümör çapı arasında

istatistiksel olarak anlamlı negatif yönde orta düzeyde ilişki mevcuttu (P=0.000) (r=-0.669).

Tablo 43: T Evresine Göre TİL'lerde %1'e Göre PD-1 Ekspresyonu

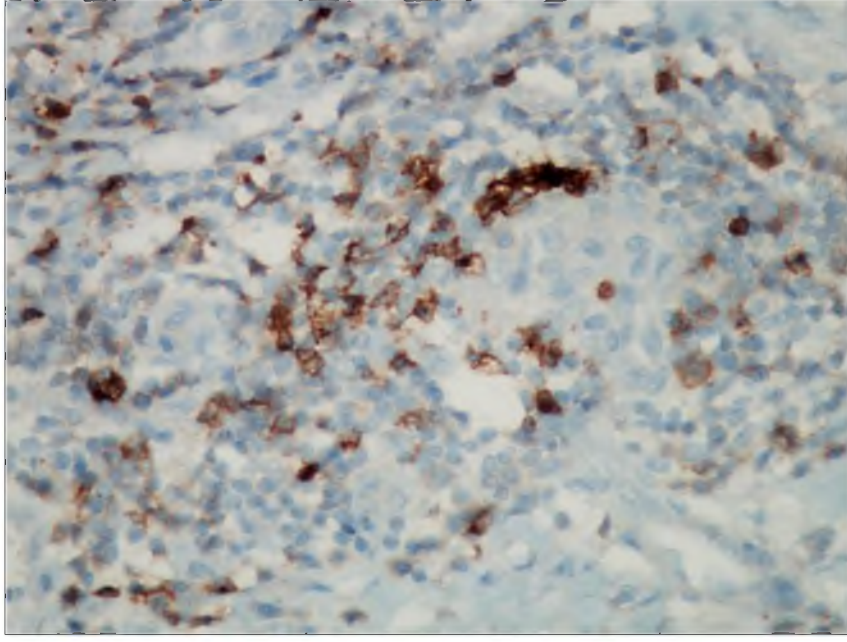
T evresi	PD-1 (n) <%1	PD-1 (n) ≥%1
T1	4 (%25.0)	12 (%75.0)
T2	2 (%18.2)	9 (%81.8)
T3	8 (%57.1)	6 (%42.9)

Tablo 44: T Evresine Göre TİL'lerde Skorlama Sistemine Göre PD-1 Ekspresyonu

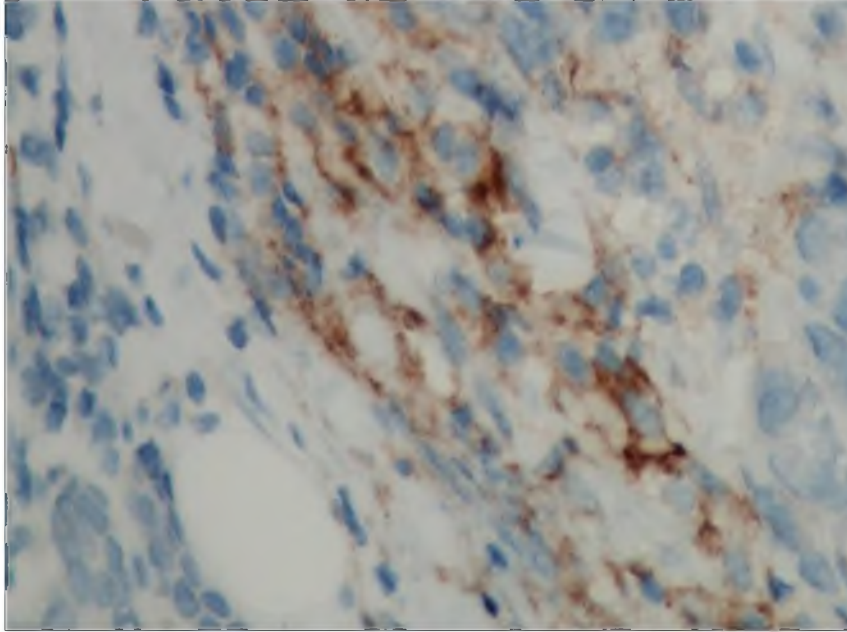
T evresi	PD-1 Skoru (n) (0 veya +1)	PD-1 Skoru (n) (2 veya +3)
T1	8 (%50)	8 (%50.0)
T2	6 (%54.5)	5 (%45.5)
T3	11 (%78.6)	3 (%21.4)

TİL, %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde PD-1 ekspresyonu gösteren TİL ile yaş, tümör lokalizasyonu, cerrahi sınır durumu, nüks, anjiyolenfatik invazyon, ekstraparankimal invazyon, evre ve metastatik lenf nodu durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05)

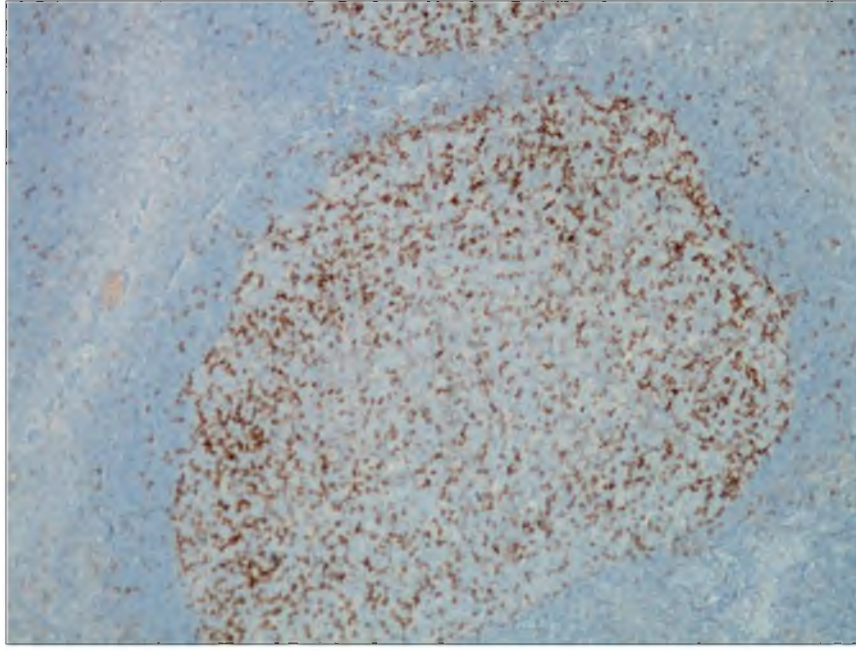
TİL skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde PD-1 ekspresyonu gösteren TİL ile yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, cerrahi sınır durumu, nüks, anjiyolenfatik invazyon, ekstraparankimal invazyon, evre ve metastatik lenf nodu durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05)



Şekil 22: Mukoepidermoid karsinomda tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu (H&Ex200).



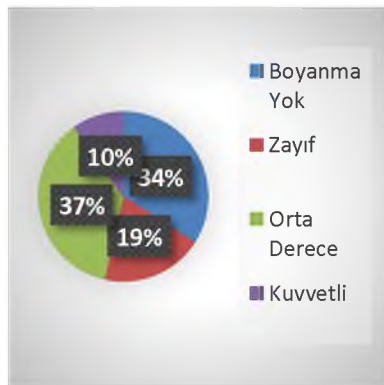
Şekil 23: Adenoid kistik karsinomda tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu (H&Ex200).



Şekil 24: PD-1 için pozitif kontrol tonsil dokusu (H&Ex100).

Tümörü İnfiltrate Eden Lenfositlerde PD-1 Boyanma Şiddeti

TİL'lerde PD-1 ekspresyonu gösteren olguların boyanma şiddeti değerlendirildiğinde olguların 15'inde (%36.6) orta derecede boyanma, 8'inde (%19.5) zayıf boyanma, 4'ünde (%9.8) kuvvetli boyanma izlendi (Şekil 25).



Şekil 25: Tüm olgularda tümörü infiltrate eden lenfositlerde PD-1 boyanma şiddetine göre dağılımı

MEK ve AKK grupları ayrı ayrı incelendiğinde; MEK ile AKK arasında olgu sayısı azlığı nedeniyle istatistiksel değerlendirme yapılamadı ancak her iki grupta da orta derece boyanma fazla izlenirken AKK grubunda kuvvetli boyanma görülmedi (Tablo 45).

Tablo 45: Tüm Olguların Tümör Tipine Göre TİL PD-1 Boyanma Şiddeti

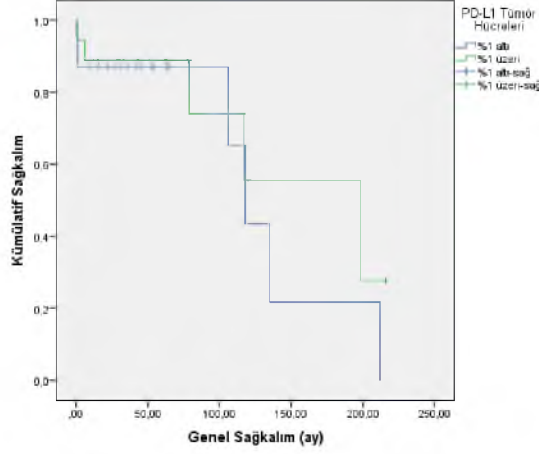
PD-1 TİL Boyanma Şiddeti	Hasta Sayısı (n) MEK	Hasta Sayısı (n) AKK	% Yüzde
Zayıf	5	3	19.5
Orta	12	3	36.6
Kuvvetli	4	0	9.8

Sağkalım Analizi

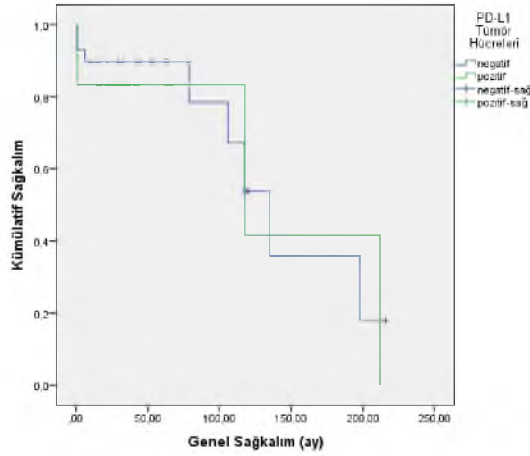
Tüm olguların klinik izlem bilgilerine ulaşıldı. Bu 41 olgunun klinik izlem süreleri minimum 1 ay, maksimum 216 ay olup, ortalama takip süresi 61.41 ± 56.23 aydı. Hastaların 29'u izlem sonunda hayattaydı. Ortalama sağ kalım süresi 59.73 ± 55.98 aydı. Hastaların 3'ünde (%7.3) hastalığın nüks ettiği, 8'inde uzak metastaz geliştiği; 41 olgudan 12'sinin (%29.3) tümör ile ilişkili nedenlerle ve 1-212 ay arasında değişen sürelerde kaybedildiği saptandı. Nüks saptanan hastaların tümü izlem sonunda hayattaydı ve bu olguların tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu mevcutken; TİL'lerde PD-L1 ve PD-1 ekspresyonu izlenmedi. Ancak olgu sayısının azlığı nedeniyle PD-1/PD-L1 ekspresyonu ile hastaliksiz ve progresyonsuz sağkalım arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirilemedi.

Kaplan Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonu; skorlama sistemi ve %1 ve üzeri pozitif kabul edilerek değerlendirildiğinde tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonu ile genel sağkalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$)

(Şekil 26, 27). Ancak korelasyon analizinde tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği ile sağkalım arasında negatif yönde orta düzeyde ilişki görüldü ($p=0.049$) ($r=-0.328$).



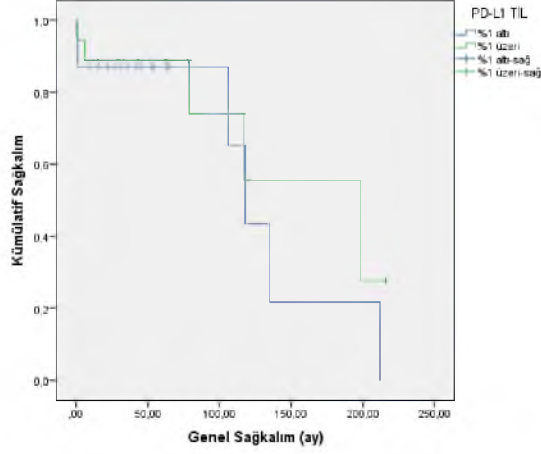
Şekil 26: Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu %1 ve üzeri pozitif kabul edilen olgular ve genel sağkalım



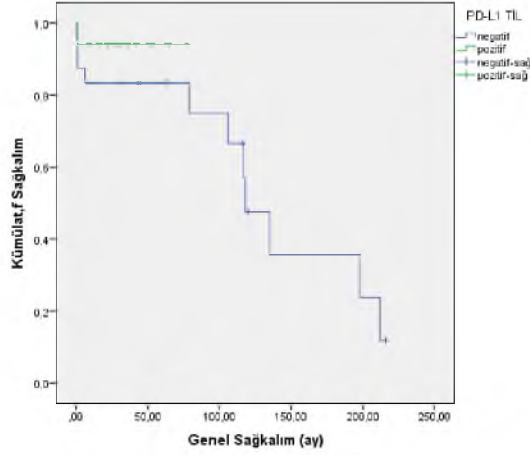
Şekil 27: Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu skorlama sistemine göre değerlendirilen olgular ve genel sağkalım

Kaplan Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde TİL'lerdeki PD-L1 ekspresyonu; skorlama sistemine göre ve %1 ve üzeri pozitif kabul edilerek değerlendirildiğinde TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile genel sağkalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$) (Şekil 28, 29). Korelasyon

analizinde TİL'lerde $\geq\%1$ PD-L1 ekspresyonu ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönde orta düzeyde ilişki tespit edildi ($p=0.047$) ($r=0.312$)



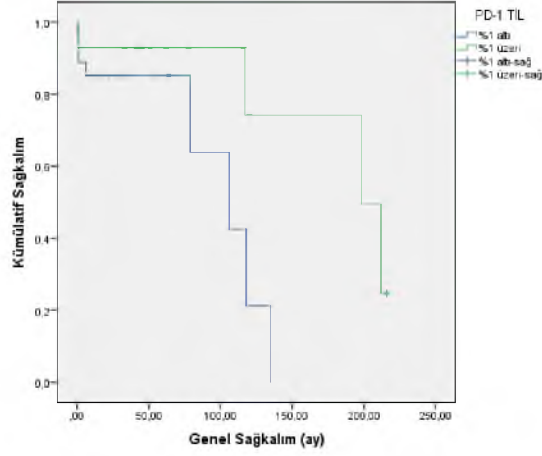
Şekil 28: Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu $\geq\%1$ ve üzeri pozitif kabul edilen olgular ve genel sağkalım



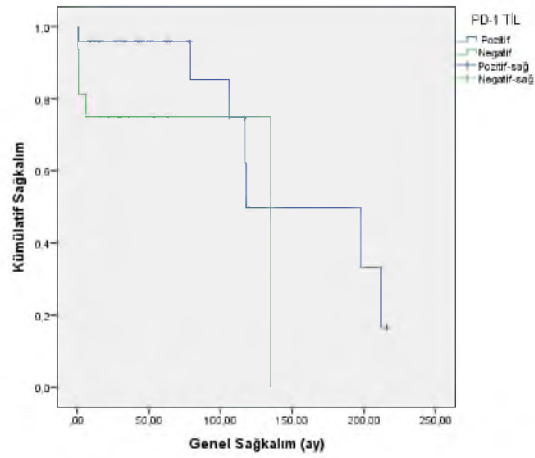
Şekil 29: Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-L1 ekspresyonu skorlama sistemine göre değerlendirilen olgular ve genel sağkalım

Kaplan Meier yöntemi ile yapılan tek değişkenli analizlerde TİL'lerdeki PD-1 ekspresyonu; $\geq\%1$ ve üzeri pozitif kabul edilerek ve skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile genel sağkalım süresi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.05$) (Şekil 30, 31). Korelasyon

analizinde TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönde orta düzeyde ilişki mevcuttu (P=0.032) (r=0.335).



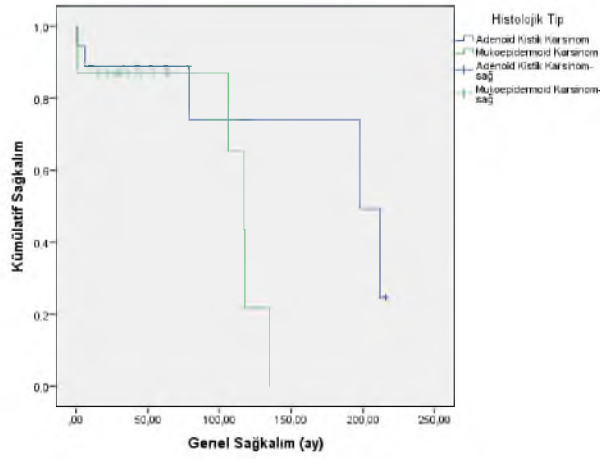
Şekil 30: Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu %1 ve üzeri pozitif kabul edilen olgular ve genel sağkalım



Şekil 31: Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu skorlama sistemine göre değerlendirilen olgular ve genel sağkalım

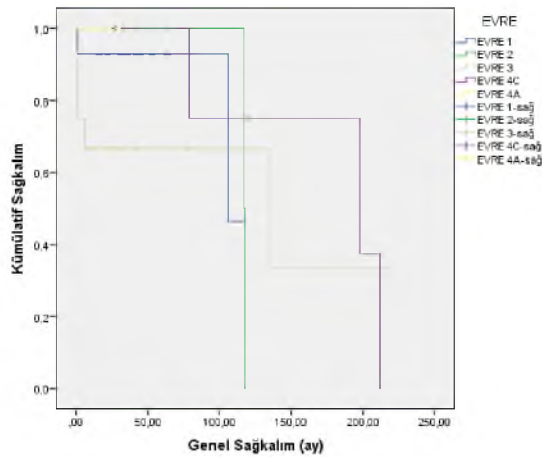
MEK grubundaki 23 hasta 1-135 ay arasında izlendi ve 7 hasta (%30.4) izlem sonunda ölmüştü. MEK'ler için ortalama genel sağkalım süresi 45.8 ± 39.3 aydı. AKK

grubundaki 18 hasta 1-216 ay arasında izlenmiş olup, 5 hasta (%27.8) izlem sonunda ölmüştü. AKK'lar için ortalama genel sağkalım süresi 77.4 ± 69.1 aydı. Tümörün histolojik tipi ile genel sağkalım süresi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$) (Şekil 32). Korelasyon analizinde mitoz ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif yönde orta düzeyde ilişki mevcuttu ($P = 0.000$) ($r = -0.669$).



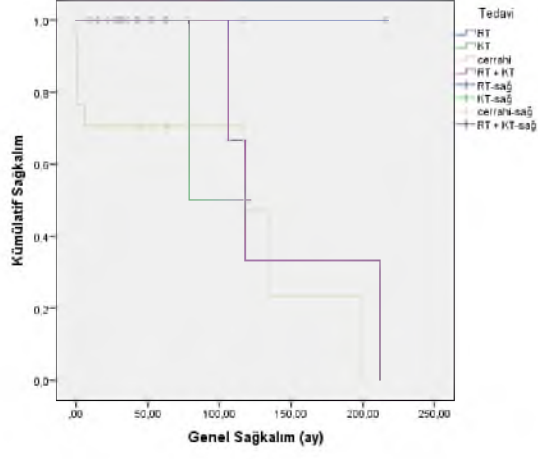
Şekil 32: Tümörün histolojik tipi ile genel sağkalım süresi arasındaki ilişki

Tümörün evresi ile genel sağkalım süresi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$) (Şekil 33).



Şekil 33: Evre ile genel sağkalım süresi arasındaki ilişki

Uygulanan tedavi yöntemi ile genel sağkalım süresi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Şekil 34).



Şekil 34: Tedavi yöntemi ile genel sağkalım arasındaki ilişki

TARTIŞMA

Tükrük bezi tümörleri, klinik bulguları ve mikroskopik görünümüleri belirgin değişkenlik gösteren, benign ve malign neoplazmlardan oluşan heterojen bir gruptur. DSÖ 2017 sınıflamasına göre tükrük bezi malign epitelyal tümörleri 20 alt grupta toplanmıştır. Malign tükrük bezi neoplazmları tüm malignitelerin < %0,5 ve tüm baş ve boyun kanserlerinin % 3-5'ini oluşturmaktadır (221). DSÖ tükrük bezi tümörlerinin tüm dünyadaki yıllık insidansının yaklaşık 100000'de 0,4-13,5 arasında olduğunu bildirmektedir (24, 31). SEER verilerine göre malign tükrük bezi tümörlerinin global prevalansı 1.2/100.000'dir (223). Literatürdeki diğer çalışmalarda malign tükrük bezi neoplazmlarının sıklığı 100.000 kişi başına 0,9 ile 2,6 vaka arasında değişmektedir (2, 224, 225). Gao ve ark.larının 7190 hastadan oluşan çalışmasında olguların % 64.73'ü benign epitelyal tükrük bezi tümörü ve % 35.27'si malign tükrük bezi tümöründen oluşmaktadır (34). Türkiye'de tükrük bezi tümörleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Bunlardan Gök Ü. ve arkadaşlarının çalışmasında 112 olguda malign tümörler içinde en sık MEK ve AKK, benign tümörler içinde ise en sık pleomorfik adenom saptanmıştır (41). Alper M. ve arkadaşlarının 142 olgudan oluşan serisinde en sık görülen malign tükrük bezi tümörü AKK, en sık görülen benign tümör pleomorfik adenomdur (42). Lebe B. ve arkadaşları toplam 130 olgunun %72,3'ünün benign, %27,7' sinin malign; en sık görülen benign tümörün pleomorfik adenom, en sık görülen malign tümörün ise AKK olduğunu bildirmiştir (43). Aydın S. ve arkadaşlarının çalışmasında parotis cerrahisi uygulanan 52 hastanın 47'sinde benign, 5'inde malign tümör görülmüştür ve en sık malign tümör MEK, en sık benign tümör pleomorfik adenomdur (44). Atalay ve arkadaşlarının çalışmasında 158 olgudan 14'ü malign, 123'ü benign ve 21'i nonneoplastikdir. En sık görülen malign tümör MEK, en sık görülen benign tümör ise pleomorfik adenomdur (45).

R. Cordesmeier ve ark. 61 AKK'dan oluşan çalışma popülasyonunda medyan yaş 56.4 (226) Meyers ve ark 95 AKK'dan oluşan çalışmasında medyan yaş 54 (227), S. Ali ve ark. 94 MEK'dan oluşan çalışma popülasyonunun medyan yaşı 57'dir (228). X.-d. Wang ve ark. 2508 olgudan oluşan serisinde MEK grubunda ortalama yaş 45, AKK grubunda ortalama yaş 55 (229), Ho Kol ve ark.'nın 42

hastadan oluşan AKK serisinde medyan yaş 53 (230), Granic ve ark. 64 MEK olgusundan oluşan çalışmada ortalama tanı yaşı 46.9 (231), Liu ve ark. çalışmasında 376 MEK olgusunda ortalama yaş 46.2'dir (232). Bizim serimizde MEK grubunda ortalama yaş Granic ve ark.'nın serisine benzer şekilde 46.8; AKK grubundaki ortalama yaş Ho Kol ve ark.'nın serisine benzer şekilde 53.3 idi.

McHugh ve ark 125 MEK'dan oluşan çalışmada olguların %45.6'sı erkek; %54.4'ü kadın olarak bildirilmiştir (233). Liu ve ark. çalışmasında 376 MEK olgusunun 46.5'i erkek; %53.5'i kadın olduğu görülmüştür (232). Literatürdeki bazı çalışmalarda MEK'da erkek baskınlığı bildirilmiştir (234-236). S. Ali ve ark. 94 MEK olgusundan oluşan çalışmada %52 erkek; %48 kadın hasta mevcut olduğu görülmüştür (228). Ozawa ve ark. 43 MEK olgusundan oluşan çalışmada hastaların %60'ı erkek; %40'ı kadın cinsiyette idi (237). Danimarka'da yapılmış 952 olgudan oluşan geniş seride MEK'da %52.1 erkek; %47.8 kadın; AKK'da %55.5 kadın, %44.5 erkek cinsiyet hakimdi (36). M. Meyers ve ark. 95 AKK olgusundan oluşan serisinde %64 kadın, %36 erkek cinsiyette idi (227). R. Cordesmeyer ve ark. 61 AKK'dan oluşan çalışma popülasyonunda hastaların %55,7'si kadın, %44,3'ü erkek idi (226). MEK'da literatürde bazı çalışmalarda kadın baskınlığı olmasına rağmen bizim çalışmamızda olduğu gibi erkek baskınlığı olan yayınlar da mevcuttu. AKK grubunda ise literatür ile uyumlu olarak kadın cinsiyet hakimdi.

Tüm tükürük bezi tümörlerinin yaklaşık %80'i parotis bezinde, %15'i submandibular bezde ve %5'inde minör ve sublingual tükürük bezlerinde ortaya çıkmaktadır (56). McHugh ve ark 125 MEK olgusunun %86.4'ü parotis, %12'si submandibuler bez ve %2 diğer bölge yerleşimli idi (233). Liu ve ark. çalışmasında 376 MEK olgusunun %62.2'si minör tükürük bezi yerleşimli idi. S. Ali ve ark. 94 MEK olgusundan oluşan çalışmada olguların büyük çoğunluğu (%93) parotis bezi yerleşimli idi (228). Ozawa ve ark. 43 MEK olgusundan oluşan çalışmada tümörlerin %65'i parotis bezi yerleşimli idi (237). Byrd ve ark 101 MEK olgusundan oluşan serisinde %37.6 ile en sık parotis bezi yerleşimli tümörler dikkati çekmiştir (63). Granic ve ark. 64 MEK olgusundan oluşan çalışmada %51.6 parotis bezi, %15.6 submandibular ve sublingual bez %32.8 minör bez yerleşimli idi (231). R.

Cordesmeyyer ve ark. 61 AKK'dan oluşan serisinde çoğu vaka, özellikle ağız boşluğunda, minör tükrük bezlerinde (% 75.4) yer almaktadır (226). Zhang ve ark. 218 AKK olgusundan oluşan çalışmasında olguların %66.5'i minör tükrük bezi kökenli idi (238). Literatürde olduğu gibi ülkemizde de tükrük bezi ile ilgili çalışmalarda da farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bunlardan Gök Ü. ve arkadaşlarının çalışmasında 112 tükrük bezi kitlesinin % 60'ının parotis bezinden, %45'inin submandibular bezden, %7'sinin minör tükrük bezlerinden kaynaklandığı; parotis bezindeki kitlelerin % 83,3'ünün benign, % 16,6'sının malign, submandibular bez kitlelerinin %86,6'sının benign, %13,3'ünün malign, minör tükrük bezi kitlelerinin ise % 42,2'sinin benign, % 57,1'inin malign karakterde olduğunu bildirilmiştir (41). Alper M. ve arkadaşlarının 142 olgudan oluşan serisinde tümörlerin %59,15'i parotis, %11,98' i submandibuler bezde, %2,81' i sublingual bezde ve % 26,06'sı minör tükrük bezlerinde lokalizedir (42). Bizim çalışmamızda tüm olgular içinde en sık yerleşim yeri minör tükrük bezleri idi. Her iki grup ayrı ayrı incelendiğinde AKK grubunda en sık yerleşim yeri minör tükrük bezi (%77.8); MEK grubunda en sık yerleşim yeri ise parotis bezi (%43.5) idi.

Granic ve ark. 64 MEK olgusundan oluşan çalışmasında düşük dereceli tümörlerin parotis bezinde, yüksek dereceli tümörlerin ise minör tükrük bezlerinde daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (231). Bizim çalışmamızda Granic ve ark. benzer şekilde MEK grubunda düşük dereceli tümörler parotis bezinde, yüksek dereceli tümörler ise minör tükrük bezlerinde daha fazla idi.

Tükrük bezi kanseri etyopatogenezi hakkında çok az şey bilinmektedir. İyonize radyasyon, örn. atom bombası patlaması veya lenfoma tedavisi için terapötik ışınlamanın, özellikle MEK'ların malign tümörler oluşturma riskini artırdığı bildirilmiştir (239, 240). Bizim çalışmamızda MEK grubunda 1 olgunun çocukluk döneminde lösemi nedeniyle radyasyon tedavisi aldığı öğrenilmiştir.

McHugh ve ark.nın çalışmasında 125 MEK olgusunun %46.9'unda cerrahi sınır pozitifliği bildirilmiştir. Aynı çalışmada cerrahi sınır pozitifliği ile uzak metastaz arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (233).

Yapılan bir çalışmada 52 MEK olgusunda %21 cerrahi sınır pozitifliği gözlenmiştir (241). S.Ali ve ark.nın 94 MEK olgusundan oluşan çalışmasında olguların %50'sinde cerrahi sınır pozitifliği tespit edilmiştir (228). Byrd ve ark 101 MEK olgusundan oluşan serisinde %5 oranında cerrahi sınır pozitifliği bildirilmiştir (63). Granic ve ark. 64 MEK olgusundan oluşan çalışmasında %10.9 oranında cerrahi sınır pozitifliği gösterilmiştir (231). Zhang ve ark.nın çalışmasında 218 AKK'un % 26.2'sinde pozitif cerrahi sınır olduğu saptanmıştır (238). Literatürdeki çalışmalarda MEK'da cerrahi sınır pozitifliğinin kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (235, 242). Bizim olgularımızda cerrahi sınır pozitifliği tüm hastaların %43.9'unda görülmüştür. AKK olgularının %61.1'inde, MEK olgularının %30.4'ünde cerrahi sınır pozitif saptanmıştır. Cerrahi sınır pozitifliği ile sağkalım analizi olgu sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirilememiştir.

McHugh ve ark 125 MEK olgusunun %28.7'sinde PNI bildirilmiştir (233). Başka bir çalışmada 52 MEK olgusunda %19 PNI tespit edilmiştir (241) S. Ali ve ark. 94 MEK olgusundan oluşan çalışmasında %23 PNI mevcuttu (228). Zhang ve ark.nın serisinde 218 AKK'un % 81.6'sında PNI varlığı gösterilmiştir (238). Ho Kol ve ark.nın 42 hastadan oluşan AKK serisinde %78.1 PNI görülmüştür (230). Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde PNI varlığı AKK grubunda (%66.6) MEK grubuna göre (%33.3) dikkat çekici şekilde daha fazla idi.

125 MEK olgusundan oluşan bir çalışmada olguların 2'sinde ekstraparankimal invazyon varlığı bildirilmiştir (233). Çalışmamızdaki tümörlerde ekstraparankimal invazyon varlığı literatüre göre daha fazla oranlarda saptanmıştır. Bu durumun literatürde yer alan birçok çalışmada ekstraparankimal invazyon varlığının araştırılmamasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Min ve ark. 616 AKK olgusunda oluşan serisinde hastaların %10'unda servikal lenf nodu metastazı olduğu bildirilmiştir (243). H. Shinomiya ve ark. 72 malign tükrük bezi tümöründen oluşan çalışmasında 23 MEK olgusunda servikal lenf nodu metastaz oranını %17 AKK'da servikal lenf nodu metastaz oranını %22.2 olarak bildirmiştir (244). Başka bir çalışmada AKK'da % 20.7 oranında lenf nodu tutulumu gözlenmiştir. Aynı çalışmada lenf nodu tutulumunun azalmış sağkalım ile ilişkili

olduğu belirtilmiştir (230). M. Meyers ve ark. 95 AKK olgusundan oluşan serisinde olguların %10'unda servikal lenf nodu metastazı mevcuttu (227). Le ve ark.nın AKK'da çalışmasında servikal pozitif lenf nodu varlığının artmış uzak metastaz riski ve azalmış sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (245). Zhang ve ark.nın 218 AKK'dan oluşan serisinde olguların %15.7'sinde lenf nodu metastazı gelişmiştir (238).

Liu ve ark.nın 376 tükruk bezi MEK hastasından %14'ünde servikal lenf nodu metastazı bulunduğu gözlemlenmiştir (232). Nance ve ark. 50 MEK olgusundan oluşan serisinde lenf nodu metastaz oranı %32 olarak bildirilmiştir (246). McHugh ve ark.nın çalışmasında 125 MEK olgusunun %15.4'ünde servikal lenf nodu metastaz saptanmıştır (233). Yapılan bir çalışmada 52 MEK olgusunda %7.6 lenf nodu metastazı bildirilmiştir (241). Byrd ve ark. 101 MEK olgusundan oluşan serisinde %9 oranında servikal lenf nodu metastazı olduğu gösterilmiştir (63). Granic ve ark.nın 64 MEK olgusundan oluşan çalışmasında %21.9 oranında servikal lenf nodu metastazı saptanmış ve nodal tutulumun kötü prognoz ile ilişkili olduğu bulunmuştur (231). Bizim alışmamızda AKK grubunda olguların %11.1'inde (n:2), MEK grubunda olguların %17.3'ünde (n:4) lenf nodu metastazı saptanmıştır. Nodal tutulumun sağkalım ile ilişkisi olgu sayısının azlığı nedeniyle değerlendirilememiştir.

Liu ve ark.nın serisinde lenf nodu metastaz oranı yaklaşık % 14 ve bunların çoğu erkek idi (232). Nance ve arkadaşları % 32 (246) ve Brandwein ve ark. % 33 (247) olarak bildirilmiştir. Bizim alışmamızda Liu ve ark.na benzer şekilde %14.3 oranında lenf nodu metastazı bulunmuş olup, bu olgularda erkek cinsiyet baskınlığı mevcut idi.

Malign tümörlerin gelişimi ve prognozunun konakçı immün fonksiyonları ile yakından ilişkili olduğu iyi bilinmektedir. Konakçı immün sistemi, tümör antijenini etkin bir şekilde tanımladığında ve çeşitli T hücreleri aktive edildiğinde tümöre karşı immün tepkiler indüklenir (206).

PD-1, PD-L1 ve PD-L2 içeren iki liganda sahiptir. PD-L1, NK, dendritik hücreler, T ve B hücreleri ve tümör hücreleri gibi antijen sunan hücrelerin hücre

yüzeyinde ifade edilmektedir (177, 196). Tümör hücrelerinin yüzeyindeki PD-L1, tümöre spesifik T hücreleri üzerindeki PD-1'e bağlanır ve T hücrelerinin sitotoksik aktivitesini inhibe eder. Böylece, aktive olmuş PD-1/PD-L1 yolu ile tümör hücrelerinin immün kontrol noktası sistemi ortadan kaldırılmış olur (248).

Son zamanlarda onkolojide PD-1 reseptörü ve onun ligandını (özellikle PD-L1) içeren bağışıklık kontrol noktası inhibitörleri sık kullanılmaya başlanmış ve bu immünoterapötik ajanların kullanımı çeşitli kanserlerin tedavisinde büyük ilerlemelere neden olmuştur. Günümüzde bu ajanlar malign melanom, küçük hücreli dışı akciğer kanseri gibi tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadır (12).

Ayrıca PD-L1 ekspresyonu böbrek, özofagus, mide, pankreas, meme, malign melanom, over, mide ve hepatoselüler karsinom gibi birçok farklı malign tümörde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (210-215, 249-251).

Tükrük bezi kanserlerinin standart tedavisi cerrahi işlemdir çünkü genellikle KT ve RT'ye direnç gösterir; bununla birlikte ileri evre tümörlerde tedavi genellikle karmaşık multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Geleneksel KT'ler sıklıkla lokal olarak ilerlemiş veya metastatik tükrük bezi tümörlerinin yönetiminde zayıf etkinlik gösterirler (5, 6). Moleküler hedefli tedaviler, bu hastaların tedavisi için yararlı olabilir, ancak aday hastaları seçmek için önemli bir kılavuz veya araç mevcut değildir (252).

Tükrük bezi tümörlerinin alt tiplerinin düşük prevalansı nedeniyle, sağkalım için prediktif ve prognostik klinikopatolojik faktörlere ilişkin mevcut bilgiler yetersizdir. Çeşitli kanserlerde kapsamlı çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, tükrük bezi tümörlerinde PD-1/PD-L1 gibi bağışıklık kontrol noktaları ile ilgili belirteçler hakkında bilgi hala azdır (7).

Tükrük bezi tümör insidansı düşük olduğundan klinik çalışmalar bu tümörlere odaklanmamıştır. Ancak kötü prognozlu ölümcül alt tipler göz önüne alındığında potansiyel biyobelirteçlerin araştırılması önemlidir (7). Tükrük bezi malign tümörleri nadir olmaları ve histolojik heterojenlikleri nedeniyle deneyimli patologlar için bile tanı sorunu olmaya devam etmektedir (253). Diğer glandüler tümörlerde

gözlemlenen sağkalımdaki belirgin artışın aksine, tükrük bezi tümörlü hastaların sağkalımının son otuz yılda artmamış olması yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulmasını zorunlu kılmaktadır (79).

Literatürde tükrük bezi ve immün kontrol noktaları ile ilgili birkaç çalışma bulunmaktadır. Bunlardan biri olan Mukaigawa ve ark. 219 olguluk AKK (%24), karsinoma eks pleomorfik adenom (%20), MEK (%16), tükrük bezi duktus karsinomu (%14), asinik hücreli karsinom (%8), adenokarsinom, NOS (%5), büyük hücreli karsinom (%3), SCC (%2), epitelyal-miyoepitelyal karsinom (%2), polimorfik düşük dereceli adenokarsinom (%1), bazal hücreli adenokarsinom (%1), kistadenokarsinom (%1), berrak hücreli karsinom, NOS (%0.5), miyoepitelyal karsinom (%0.5), onkositik karsinomdan (%0.5) oluşan serilerini PD-L1 tavşan monoklonal antikor E1L3N klonu kullanarak doku mikroarray yöntemi ile değerlendirmiştir. Olgularının %22.8'inde tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu bulunmuş; PD-L1 ekspresyonu karsinoma eks pleomorfik adenom olgularının % 41'inde, tükrük bezi duktus karsinomu olgularının % 48'inde, büyük hücreli karsinom olgularının % 71'inde, adenokarsinom, NOS olgularının % 36'sında pozitif tespit edilmiştir. PD-L1 ekspresyonu AKK'da %2, MEK'da %9 olguda saptanmış; asinik hücreli karsinomda hiç ekspresyon görülmemiştir (207). Chang ve ark.nın çalışmasında Kore Üniversitesi'nde 2001 ve 2015 yılları arasında teşhis edilen 70 olgudan oluşan malign tükrük bezi tümörlerini doku mikroarray yöntemi kullanılarak değerlendirmiştir. MEK %38.6 oranında en sık görülen alt tip, ardından AKK (%21.4), tükrük bezi duktus karsinomu (%15.7), asinik hücreli karsinom (%10.0), SCC (%4.3), adenokarsinom (%2.9), karsinoma ek pleomorfik adenom (%2.9), epitelyal-miyoepitelyal karsinom (% 2.9) ve andiferansiye karsinom (% 1.4) çalışmada yer alan tümör tipleridir. Tümör hücrelerinde PD-L1 (tavşan monoklonal antikor, Abcam) pozitifliği AKK'ların %26.7'sinde, MEK'ların % 25.9'unda bildirilmiştir. Bu çalışmada tükrük bezi malign tümörleri içinde PD-L1 için en fazla negatiflik gösteren tümör tiplerinin AKK, MEK ve tükrük bezi duktus karsinomu olduğu vurgulanmıştır (7). Sridharan ve ark. 28 AKK olgusundan oluşan serisinde olguların hiçbirinde tümör hücrelerinde PD-L1 (klon:405.9A11) ekspresyonu saptanmamıştır (254). Başka bir çalışmada 47 olgunun 25'i AKK, 9'u MEK, 11'i

adenokarsinom ve 2'si müsinöz adenokarsinom idi. Bu çalışmada tümör hücrelerindeki PD-L1 (tavşan poliklonal antikor, Abcam, Cambridge, İngiltere) pozitifliği, MEK'ların %63.6'sında, AKK'ların %44.0'ünde görülmüştür (206). Bizim çalışmamızda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu %1 ve üzerindeki boyanma oranları pozitif olarak kabul edildiğinde; MEK grubundaki olguların %78.3'ünde, AKK grubundaki olguların %27.8'inde pozitif saptanmıştır. Buna göre PD-L1 ekspresyonu açısından AKK grubu genel olarak negatifken, MEK grubunun daha fazla pozitiflik oranına sahip olduğu görülmüştür. Farklı tümör çeşitlerinde olduğu gibi tükrük bezi tümörlerinde de PD-L1 ekspresyonu ile ilgili bilgiler literatürde farklılık göstermekte ve bazen birbiriyle çelişmektedir. Bu durum farklı antikor klonlarının kullanımı, kesinleşmiş bir skorlamanın olmaması ve bazı çalışmaların tümörün tamamını temsil etmeyen mikroarray yöntemi ile yapılmış olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

PD-L1 ile ilgili çalışmalarda İHK yöntem ve değerlendirilmesinde belirgin farklılıklar mevcuttur. Sun ve arkadaşlarının PD-L1'in 3 klonunu (E1L3N, SP142, 28-8) birbiriyle kıyasladıkları 218 triple negatif meme karsinom olgusu ile yaptıkları çalışmada her üç klonda boyanma oranları birbirinden farklı bulunmuş, en yüksek boyanma PD-L1 (klon E1L3N) ile en düşük boyanma PD-L1 (SP-142) ile saptanmıştır. Bu çalışmada altın standart olacak antikor ve en uygun eşik değerinin bulunması için büyük gruplarda daha fazla çalışma yapılması tavsiye edilmektedir (255). Bizim çalışmamızda da PD-L1 için sp263 klonu kullanılmıştır. Ancak literatürde tükrük bezi tümörlerinde sp263 klonu ile yapılmış çalışma bulunmamakta birlikte PD-L1 için kullanılan klonlardaki farklılıkları değerlendiren bir çalışma da yer almamaktadır.

PD-L1'in değerlendirilmesinde çalışmalar arasında yöntem farklılıkları da bulunmaktadır. En sık kullanılan yöntemlerden biri <%1, %5, %10 ve %50 eşik değerlerini kullanarak boyanmayı değerlendirmektir (255). Diğer bir yöntem, öncelikle tümörün boyanma şiddetini 0-3 olarak skorlayıp, bu değeri boyanma yüzdesi ile çarparak elde edilen H skorunu (H skoru= boyanma yüzdesi x boyanma şiddeti skoru) karşılaştırmaktır (206, 256). Sadece >%1 boyanmayı pozitif kabul ederek değerlendirmek de diğer bir yöntemdir (257).

Harada ve ark. çalışmasında tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği cinsiyet ile ilişkili bulunmamıştır (206). Mukaigawa ve ark.larının 219 malign tükrük bezi karsinomundan oluşan çalışmasında tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliğinin erkek hastalarda daha fazla olduğu saptanmıştır (207). Oral SCC'larda PD-L1 ekspresyonunun incelendiği bir çalışmada PD-L1 ekspresyonu kadınlarda erkeklerden 2 kat daha fazla izlenmiştir (258). Zhang ve ark. üst üriner traktus tümörlerinden oluşan 162 olguda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu kadınlarda daha fazla bulunmuştur (259). Bizim çalışmamızda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu saptanan 23 olgunun %65.2'si erkek, %34.8'i kadın idi. Çalışmamızda tükrük bezi malign tümörlerinde PD-L1 ekspresyonu Mukaigawa ve ark.larının çalışmasına benzer şekilde erkek cinsiyette fazla bulunmuştur.

Mosconi ve ark. çalışmasında 30 MEK olgusunda PD-L1 (klon E1L3N) ekspresyonunun yüksek dereceli tümörlerde daha fazla olduğu bildirilmiştir (260). Böger ve ark.nın serisinde mide karsinomlarında tümör hücrelerinde en yüksek pozitiflik oranını T2 tümörlerde (%48,2) gözlemlenmiş, T3 ve T4 tümörlerde bu oranların ilginç şekilde daha düşük bulunduğu bildirilmiştir (222). Meme kanserinde PD-L1'in prognostik öneminin incelendiği metaanalizde, PD-L1 (+)'liği yüksek tümör derecesi ile ilişkili saptanmıştır (261). Diğer çalışmalarda, PD-L1 ekspresyonunun ürotelyal, karaciğer, oral karsinom ve akciğer adenokarsinomlarında daha yüksek histolojik malignite dereceleri ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir (262-265). Literatürde çalışmamız ile benzer sonuçlar gösteren Böger ve ark.nın çalışmasına rağmen Mosconi ve ark.nın MEK'ları incelediği çalışmasından farklı olarak düşük dereceli tümörlerde PD-L1 pozitifliği daha fazla tespit edilmiştir.

Primer tümör ve metastatik odaklarda PD-L1 ekspresyonunun primer ve metastatik lezyonlar arasında uyumlu olduğu gözlenmiştir (266). Bizim çalışmamızda da kısıtlı sayıda PD-L1 pozitifliği gösteren olgumuza rağmen literatür ile benzer şekilde primer ve metastatik lezyonlar arasında PD-L1 ekspresyonunun uyumlu olduğu saptanmıştır.

Çoğu solid tümörde, tümör hücre membranındaki PD-L1 ekspresyonu kötü prognoz ve agresif klinikopatolojik özellikler ile koreledir (210-215). Ürotelyal karsinom, kolorektal kanser, özofagus kanseri, gastrik karsinom, hepatoselüler karsinom, akciğer kanseri, melanom, orofaringeal SCC, servikal kanser, glioblastoma, malign mezotelyomalar, over kanseri ve pankreas kanserini içeren; 3107 hastanın dahil edildiği 28 çalışmanın metaanalizinde solid tümörlerde PD-L1 ekspresyonunun daha kötü sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (268). Bazı çalışmalarda PD-L1 ekspresyonu ve klinik sonuç arasındaki ilişkiler hala tartışmalıdır. Bununla birlikte, tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu her zaman olumsuz sonuçla ilişkili değildir (228). Ancak önceki bazı raporlarda, küçük hücreli akciğer karsinomu ve melanom gibi bazı malign tümörlerin PD-L1 pozitif tümörlerde daha iyi prognoza sahip olduğu gösterilmiştir (208, 209). V. Velcheti ve arkadaşları küçük hücreli akciğer karsinomunda PD-L1 pozitifliğinin iyi prognozla ilişkili olmasını, diğer çalışmalarda nispeten küçük kohortların (n = 14–214) kullanımını ve daha da önemlisi, antikor spesifikliğı, testin tekrarlanabilirliğı ve PD-L1 ekspresyonunun heterojenliğı gibi parametreler dışında onaylanmış bir PD-L1 skorlama yönteminin yokluğu ile açıklanabileceğini savunmuştur (208). Taube ve ark çalışmasında melanomda PD-L1 pozitifliğinin iyi sağkalım ile ilişkisini hastaların IFN- α , yüksek doz IL-2, aşı veya bunların kombinasyonları dahil olmak üzere bir çeşit immünoterapi aldıklarını ve bu tedavilerin sonuçları değiştirebileceğini düşünmüştür (209). Koh ve arkadaşlarının çalışmasında 109 hastada ve diğer bazı çalışmalarda PD-L1 ekspresyonu ile genel sağ kalım arasında ilişki saptanmamıştır (269-271). Mukaigawa ve ark.larının birçok tükruk bezi malign tümörünü kapsayan 219 olgudan oluşan çalışmasında malign tükruk bezi tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliğinin PD-L1 negatif hastalardan anlamlı olarak daha kısa hastaliksız yaşam süresi ve genel sağkalım değerleri olduğu gösterilmiştir (207). Harada ve ark. serisinde malign tükruk bezi tümörlerinde PD-L1 ekspresyonu pozitifliğinin daha kısa yaşam süresi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (206). Bizim çalışmamızda Mukaigawa, Harada ve ark. benzer şekilde tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliğı daha kısa yaşam süresi ile ilişkilidir.

Mukaigawa ve ark.nın çalışmasında tükrük bezi malign tümörlerinde doku mikroarray yöntemi kullanarak PD-L1 (tavşan monoklonal antikor, klon E1L3N) ekspresyonunu araştırdığı çalışmasında MEK'da TİL'ler PD-L1 pozitifliği %7, AKK'da %0 oranında saptanmıştır (207). Harada ve ark. TİL'lerde PD-L1 (tavşan poliklonal antikor, Abcam, Cambridge, İngiltere) pozitifliğini H skoru kullanarak tam doku kesitlerinde değerlendirdiği çalışmasında TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu % 57.4'ünde düşük (skor <5); % 42.6'sında TİL'lerde PD-L1 yüksek (skor \geq 5) olarak tespit edilmiştir (206). Beckers ve ark.nın 161 triple negatif meme karsinom olgusu ile yaptıkları çalışmasında olguların %93'ünde TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu bildirilmiştir (272). Çalışmamızda tüm olgular dikkate alındığında TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu olguların %53.7'sinde pozitif, %46.3'ünde negatif saptanmıştır. Gruplara göre incelendiğinde ise MEK grubunda %65.2, AKK grubunda %38.9 ekspresyon gözlenmiştir. Çalışmalar arasındaki bu farklılıkların sebebi olarak, PD-L1 pozitifliğini saptamak için farklı klonların kullanılmış olması, doku mikroarray yönteminin kullanılmış olması, pozitiflik değerlendirme yöntemlerindeki ve seçilen eşik değerlerdeki farklılıklar gösterilebilir.

Harada ve ark. (tavşan poliklonal antikor, Abcam, Cambridge, İngiltere) ile Mukaigawa ve ark.larının (klon E1L3N) çalışmasında tükrük bezi malign tümörlerinde PD-L1 ekspresyonunu araştırdığı çalışmasında TİL'lerde PD-L1 pozitifliği ile cinsiyet arasında ilişki saptanmamıştır (206, 207). Ancak 21 erkek ve 20 kadın hastayı kapsayan çalışmamızda dikkat çekici şekilde erkek baskınlığı mevcuttur.

Mukaigawa ve ark.larının çalışmasında tükrük bezi malign tümörlerinde TİL'lerde PD-L1-pozitif olan hastalar, PD-L1-negatif olan hastalardan daha kısa hastaliksız yaşam süresi ve genel sağkalıma sahip olduğu gösterilmiştir (207). Harada ve ark. çalışmasında hem tümör hücreleri membranında hem de TİL'lerde PD-L1 pozitifliği daha kısa genel sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (206). Mide kanseri, özofageal SCC, kolorektal kanser, ürotelyal karsinom, renal hücreli karsinom, meme kanseri, akciğer kanseri, overyan yüksek dereceli seröz karsinom, ektranodal NK / T hücreli lenfoma, baş ve boyun kanseri, diffüz büyük B hücreli lenfoma ve spinal kordomayı içeren, 3674 kişinin dahil edildiği, 18 çalışmadan elde edilen verilerin

meta-analizinde TİL'lerde PD-L1 pozitif hastalar, negatif hastalarla kıyaslandığında azalmış ölüm riski ile anlamlı derecede ilişkili olduğu gösterilmiştir (273). Sun ve ark. çalışmasında immün hücrelerde PD-L1 (klon 28-8) negatifliği, daha kısa hastaliksız sağkalım ve genel sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (255). Bizim çalışmamızda TİL'lerde PD-L1 ekspresyonu ile sağkalım arasında pozitif ilişki tespit edilmiştir. PD-L1'in TİL'ler üzerindeki tam rolü, bu alandaki verilerin azlığı nedeniyle tamamen açık değildir. PD-L1'in, tümör hücrelerinde veya TİL'lerde farklı roller oynadığı düşünülmektedir (274). Bu nedenle PD-L1 pozitif TİL'lerin pozitif prognostik etkisinin tümör mikroçevresindeki bağışıklık ağı içindeki düzenleyici ve henüz tamamıyla aydınlatılmamış mekanizmalara dayandığını varsayıyoruz.

Siridharan ve ark.nın serisinde AKK'da olguların %50'sinde PD-1 (klon EH33) pozitifliği görülmüştür (254). Eto ve ark.nın 105 gastrik karsinomdan oluşan çalışmasında PD-1 (ab174838; Abcam) ekspresyonunu %27 olarak bildirilmiştir (275). 41 olgudan oluşan çalışma grubumuzda TİL'lerde PD-1 ekspresyonu olguların %66'sında pozitif, %34'ünde negatif saptanmıştır. MEK grubundaki olguların %91'inde, AKK grubunda ise %33 oranında PD-1 ekspresyonu görülmüştür. Çalışma grubumuzda Siridharan ve ark. çalışmasından daha düşük PD-1 ekspresyonu saptanması, farklı eşik değerlerin ve farklı klonların kullanılmasından kaynaklanmış olabilir.

Eto ve ark. gastrik karsinomda PD-1 ekspresyonu ile ilgili çalışmasında PD-1 pozitifliği gösteren 28 olgunun 18'i erkek; 10'u kadın cinsiyet idi (275). Thompson ve ark. berrak hücreli RCC'de PD-1 ekspresyonunu erkeklerde %75.3 oranında bildirmiştir (276). Bizim çalışmamızda da PD-1 ekspresyonu literatür ile benzer şekilde erkek cinsiyette daha fazla idi.

Chang ve ark. malign tükrük bezi tümörlerini kapsayan çalışmasında PD-1 ekspresyonu ile tümör çapı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (7). Gastrik karsinomlarda PD-1/PD-L1 ekspresyonunun araştırıldığı bir çalışmada 5 cm'den büyük tümörlerde daha fazla olguda PD-1 negatif tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile tümör çapı arasında ters yönde ilişki mevcuttu. Eğer immünohistokimyasal inceleme için doku mikroarray yöntemi

kullanılıyorsa, yanlış negatif sonuçlarla karşılaşma riski söz konusu olabilir. Bununla birlikte, tümörü infiltre eden immün hücreler genellikle tümörlerin merkezi kısmından ziyade invazyon sınırında veya stromada yoğunlaşmaktadır. Sonuç olarak, doku mikro array yöntemi TİL'lerde eksprese edilen biyobelirteçleri değerlendirmek için uygun değildir (273). Literatürde yapılan çalışmaların çoğunda İHK değerlendirme doku mikro array yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bu nedenle ortaya çıkan çelişkili sonuçlar yanıltıcı olabilir.

Wu ve ark. çalışmasında PD-1 ekspresyonu ile vasküler invazyon, nöral invazyon, T evresi, lenf nodu metastazı gibi parametrelerle istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (211). Çalışmamızda TİL'lerde PD-1 ekspresyonu gösteren TİL ile anjiyolenfatik invazyon, lenf nodu metastazı, evre arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Gastrik karsinom olgularında tek değişkenli analizde, PD-1 eksprese eden hastalar daha iyi bir genel sağkalım oranı gösterilmiştir (211). Bizim çalışmamızda TİL'lerde PD-1 ekspresyonu ile sağkalım arasında literatür ile benzer şekilde pozitif ilişki mevcuttur.

Zhang ve ark. 218 AKK olgusundan oluşan çalışmasında sağkalım ile KT/RT tedavileri ilişkili bulunmamıştır (238). Bizim çalışmamızda Zhang ve ark. benzer şekilde her iki grupta da tedavi protokolleri ile sağkalım arasında ilişki görülmemiştir.

Sonuç olarak programlı ölüm yolağına karşı hem PD-L1 hem de PD-1 proteinlerini hedef alan pek çok immünoterapötik ajan için klinik çalışmalar hala devam etmektedir. Bu çalışmada en sık görülen malign tükrük bezi tümörlerinde PD-L1/PD-1 ekspresyonu geniş ve homojen bir seride değerlendirilmiş; klinikopatolojik prognostik parametreler sağkalımla ilişkilendirilerek immünterapi açısından hasta seçimine katkı sağlayabilecek sonuçlar elde edilmeye çalışılmıştır. PD-L1 ekspresyonu saptanan hastalarda daha kısa yaşam süresi gözlenmesi; PD-L1 ekspresyonu gösteren olguların kötü prognoz açısından yakın takibe alınması gerektiğini düşündürmektedir. MEK olgularında hem neoplastik hücreler hem de

tümör mikroçevresinde yaygın PD-L1 ekspresyonu olması hastaların immünoterapiden potansiyel olarak yüksek fayda görebileceğini göstermektedir. Çalışmamızda en sık görülen malign tükruk bezi tümörlerinin, tam doku preperatlarında çalışılması ve iki farklı değerlendirme yönteminin kullanılması nedeni ile literatüre önemli katkı ve prognostik açıdan yararlı bilgiler sağlayacağına inanmaktayız. Gelecekteki çalışmalarda daha fazla olgu sayısı içeren geniş serilerde, immünohistokimyasal antikor klonları, kullanılan protokollerin ve yorumlamaların standart hale geldiği takdirde klinik kullanıma uygun hale geleceği düşünülmektedir.

SONUÇLAR

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında 1997 ile 2017 yılları arasında tanı almış 23 mukoepidermoid karsinom ve 18 adenoid kistik karsinom olmak üzere toplam 41 malign tükruk bezi olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. İmmunohistokimyasal olarak PD-1/PD-L1 antikoru kullanılarak tam doku kesitlerinde 23 mukoepidermoid karsinom ve 18 adenoid kistik karsinom olgusu incelenmiştir. Çalışmaya alınan 41 hastanın yaşları 12-92 arasındadır. Ortalama yaş 49.68 ± 20.29 olarak saptanmıştır. Tüm hastaların %51.2'si erkek, %48.8'i kadın idi. Adenoid kistik karsinom grubunda en sık minör tükruk bezi (%77.8) yerleşimli, mukoepidermoid karsinom grubunda ise parotis bezi (%43.5) yerleşimli hasta tespit edilmiştir.

Tüm olguların ortalama genel sağ kalım süresi 59.73 ± 55.98 ay olarak bulunmuştur. MEK grubundaki hastalarda ortalama genel sağ kalım süresi 45.88 ± 39.36 ay, AKK grubundaki hastalarda ise ortalama genel sağ kalım süresi 77.77 ± 69.11 ay olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda PD-1/PD-L1 ekspresyonunun AKK ve MEK'da sağ kalıma etkisi, klinik öneminin belirlenmesi ve klinikopatolojik faktörler ile ilişkisi araştırılmıştır. Tükruk bezi malign tümörlerinde bu belirteçlerin araştırıldığı az sayıdaki çalışmada farklı sonuçlar bildirilmiştir. Çalışmamızda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu her iki değerlendirme yöntemine göre de MEK grubunda daha fazla pozitiflik göstermiştir. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır.

Çalışmamızda PD-L1 pozitifliği saptanan hastalarda daha kısa yaşam süresi gözlenmesi PD-L1 ekspresyonunun prognostik öneme sahip olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda TİL'lerde PD-L1/PD-1 ekspresyonu her iki değerlendirme yöntemine göre de MEK grubunda daha fazla pozitiflik göstermiştir. Bizim çalışmamızda TİL'lerde PD-L1/PD-1 ekspresyonu ile sağ kalım arasında pozitif ilişki tespit edilmiştir. PD-L1 pozitif TİL'lerin pozitif prognostik etkisinin tümör

mikroçevresindeki bağışıklık ağı içindeki düzenleyici etkisinin aydınlatılmasını sağlayan çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Klasik kemoterapotik ajanların yetersiz kaldığı ileri evre veya metastatik tükruk bezi malign tümörlerinin tedavisinde immünoterapi umut verici yaklaşımlardan birisidir. PD-L1 ekspresyonu saptanan hastalarda daha kısa yaşam süresi gözlenmesi; PD-L1 ekspresyonu gösteren olguların kötü prognoz açısından yakın takibe alınması gerektiğini; MEK olgularında hem tümör hücrelerinde hem de TİL'lerde PD-L1 ekspresyonunun saptanması hastaların immünoterapiden potansiyel olarak fayda görebileceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

- 1-Fonseca FP, Carvalho Mde V, de Almeida OP, Rangel AL, Takizawa MC, Bueno AG, et al. Clinicopathologic analysis of 493 cases of salivary gland tumors in a Southern Brazilian population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2012;114(2):230-9.
- 2-Koivunen P, Suutala L, Schorsch I, Jokinen K, Alho OP. Malignant epithelial salivary gland tumors in northern Finland: incidence and clinical characteristics 2002;259(3):146-9.
- 3-Lin CC, Tsai MH, Huang CC, Hua CH, Tseng HC, Huang ST. Parotid tumours: A 10-year experience. *Am J Otolaryngol* 2008;29(2):94-100.
- 4-Tian Z, Li L, Wang L, Hu Y, Li J. Salivary gland neoplasms in oral and maxillofacial regions: a 23-year retrospective study of 6982 cases in an eastern Chinese population. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010;39(3):235-42.
- 5-Kaplan MJ, Johns ME, Cantrell RW. Chemotherapy for salivary gland cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1986;95:165–70.
- 6-Belani CP. Preliminary experience with chemotherapy in advanced salivary glands neoplasms. *Med Pediat Oncol* 1988;16(3):197–202.
- 7-Chang H, Kim JS, Choi YJ, Cho JG, Woo JS, Kim A, et al. Overexpression of PD-L2 is associated with shorter relapse-free survival in patients with malignant salivary gland tumors *Hyeyoon Onco Targets Ther* 2017;10:2983-2992.
- 8-Ceeraz S, Nowak EC, Noelle RJ. B7 family checkpoint regulators in immune regulation and disease. *Trends Immunol* 2013;34(11):556-63.
- 9-He YF, Zhang GM, Wang XH, Zhang H, Yuan Y, Li D, et al. Blocking programmed death-1 ligand-PD-1 interactions by local gene therapy results in enhancement of antitumor effect of secondary lymphoid tissue chemokine. *J Immunol* 2004;173(8):4919-28.

- 10-Cheng X, Veverka V, Radhakrishnan A, Waters LC, Muskett FW, Morgan SH, et al. Structure and interactions of the human programmed cell death 1 receptor. *J Biol Chem* 2013;288(17):11771-85.
- 11-Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, Okazaki T, Honjo T, Minato N. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(19):12293-7.
- 12-Swaika A, Hammond WA, Joseph RW. Current state of anti-PD-L1 and anti-PD-1 agents in cancer therapy. *Mol Immunol* 2015;67(2 Pt A):4-17.
- 13-Woodburne RT, Burkel WE. *Essentials of Human Anatomy*. 8th ed. New York: Oxford University 1988:388-389.
- 14-Jensen JL, Barkvoll P. Clinical implications of dry mouth: oral mucosal diseases. *Ann N Y Acad Sci* 1998;842:156-162.
- 15-Elluru GR, Kumar M, eds. *Physiology of the salivary glands*. Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery, 4th Edition, Elsevier Mosby 2005:1292-1312.
- 16-Chandra S. *Textbook of dental and oral histology and embryology with multiple questions*. RK Bahli, Anil Kohli (eds). New Delhi:Jaypee 2004:219-236.
- 17-Di Palma S, Simpson RHW, Skalova A, Leivo I. Major and Minor Salivary Glands. In Cardesa A, Slootweg PJ. (Eds). *Pathology of the Head and Neck*. Slootweg Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006:132-164.
- 18- Martinez-Madrigal F, Bosq J, Casiraghi O. Major Salivary Glands. *Histology for Pathologist*, Foyrth Edition, ed. Stacey E. Mills. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia 2012:478-482.
- 19-Kontis TC, Johns M. *Anatomy and Physiology of the Salivary Glands*. Head and Neck Surgery-Otolaryngology, Third Edition, ed. Byron J. Bailey. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia 2001:429-36.

- 20-Carlson GW. The salivary glands: Embryology, anatomy, and surgical applications. *Surgical Clinics of North America* 2000;80:261–273.
- 21-Moore KL. *Clinically Oriented Anatomy*. Third Edition. Williams and Wilkins. Baltimore, MD. 1992:670–671,751–2.
- 22-Kaya S. Tükürük Bezi Hastalıkları. Ankara:Günes Tıp Kitabevi 1997:15- 83.
- 23-Martinez-Madrigal F, Micheau C. Major Salivary Glands. In Sternberg S. (ed): *Histology For Pathologists*. New York 1992:459-462.
- 24-National Cancer Institute at the National Institutes of Health: General Information about Salivary Gland Cancer.
- 25-Uğuz AH. Tükürük Bezleri. Baş Boyun Patolojisi (ed): Sarıoğlu S.İzmir: O Tıp Kitabevi 2014:239-240.
- 26-Eşrefoğlu M. Özel Histoloji. 2. Baskı, İstanbul Tıp Kitabevi 2016:93-97.
- 27-Cazelitz J, Jaup T, Seifort G. Lactoferrin and lysozyme in carcinomas of the parotid gland. A comparative immunocytochemical study with the occurrence in normal and inflamed tissue. *Virchows Arch(A)* 1981;394:61-73.
- 28-Reatimo S, Kontinen YT. Distribution of lactoferrin in human salivary glands. *Histochemistry* 1980;66:285-291.
- 29-Laurie SA, Licitra L. Systemic therapy in the palliative management of advanced salivary gland cancers. *J Clin Oncol* 2006;24:2673–8.
- 30-Carlson J, Licitra L, Locati L, Raben D, Persson F, Stenman G. Salivary gland cancer: an update on present and emerging therapies. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2013:257–63.
- 31-Ellis GL, Auclair PL, Gnepp DR. *Surgical pathology of the salivary glands*. Philadelphia: WB Saunders 1991:135–64.

- 32-Fonseca FP, Sena Filho M, Altemani A, Speight PM, Vargas PA. Molecular signature of salivary gland tumors: potential use as diagnostic and prognostic marker. *J Oral Pathol Med* 2016;45(2):101-10.
- 33-Ettl T, Baader K, Stiegler C, Müller M, Agaimy A, Zenk J, et al. Loss of PTEN is associated with elevated EGFR and HER2 expression and worse prognosis in salivary gland cancer. *Br J Cancer* 2012;106(4):719-26.
- 34-Gao M, Hao Y, Huang MX, Ma DQ, Chen Y, Luo HY, et al. Salivary gland tumours in a northern Chinese population: a 50-year retrospective study of 7190 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2017;46(3):343-349.
- 35-Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. Pathology and genetics of head and neck tumours. Lyon: IARC Press; 2005.
- 36- Bjørndal K, Krogdahl A, Therkildsen MH, Overgaard J, Johansen J, Kristensen CA, et al. Salivary gland carcinoma in Denmark 1990–2005: a national study of incidence, site and histology. Results of the Danish Head and Neck Cancer Group (DAHANCA). *Oral Oncol* 2011;47:677–82.
- 37-Sultan I, Rodriguez-Galindo C, Al-Sharabati S, Guzzo M, Casanova M, Ferrari A. Salivary gland carcinomas in children and adolescents: a population-based study, with comparison to adult cases. *Head Neck* 2011;33:1476–81.
- 38-da Cruz Perez DE, Pires FR, Alves FA, Almeida OP, Kowalski LP. Salivary gland tumors in children and adolescents: a clinicopathologic and immunohistochemical study of fifty-three cases. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2004;68(7):895-902.
- 39-Aro K, Leivo I, Grénman R, Mäkitie AA. Paediatric salivary gland cancer in Finland. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2012;76(9):1304-7.
- 40-Ellies M, Schaffranietz F, Arglebe C, Laskawi R. Tumors of the salivary glands in childhood and adolescence. *J Oral Maxillofac Surg* 2006;64(7):1049-58.

- 41-Gök Ü, Yalçın Ş, Kaygusuz İ, Keleş E, Çetinkaya T, Alpay HC. Tükürük Bezi Kitleleri: 112 Olgunun Analizi. Turk Arch ORL 2001;39(2):104-108.
- 42-Alper M, Patıroğlu T, Belenli O. Tükürük Bezi Tümörleri: 142 Olgunun Histopatolojik Tip, Yerleşim Yeri, Yaş ve Cinsiyet Dağılım Analizi. Turk Patoloji Derg 2001;17(1-2):18-20.
- 43-Lebe B, Sarıoğlu S, Papuççuoğlu U. Primer Tükürük Bezi Tümörlerinin Histopatolojik Tanı Özellikleri (130 olgu). Turk Patoloji Derg 2001;17(1-2):21-24.
- 44-Aydın S, Oktay Z, Paksoy M, Eken M, Şanlı A, Kibar S. Parotis Tümörlerine Yaklaşım. Kartal Eğit. Araşt. Hast. Tıp Derg 2008;XIX(2):57-61.
- 45-Atalay B, Bora F, Ceylan S. Tükürük Bezi Kitlelerinde Histopatolojik Çeşitlilik:158 olgunun analizi. S.D.Ü. Tıp Fak. Derg 2011;18(3)/82-85.
- 46-Albeck H, Nielsen NH, Hansen HE, Bentzen J, Ockelmann HH, Bretlau P, et al. Epidemiology of nasopharyngeal and salivary gland carcinoma in Greenland. Arctic Med Res 1992;51:189-195.
- 47-Shore-Freedman E, Abrahams C, Recant W, Schneider AB. Neurilemmomas and salivary gland tumors of the head and neck following childhood irradiation. Cancer 1983;51:2159-63.
- 48-Spitz MR, Batsakis JG. Major salivary gland carcinoma. Descriptive epidemiology and survival of 498 patients. Arch Otolaryngol 1984;110:45-9.
- 49-Belsky JL, Tachikawa K, Cihak RW, Yamamoto T. Salivary gland tumors in atomic bomb survivors, Hiroshima-Nagasaki, 1957 to 1970. JAMA 1972;219(7):864-8.
- 50-Dahse R, Driemel O, Schwarz S, Kromeyer-Hauschild K, Berndt A, Kosmehl H. KRAS status and epidermal growth factor receptor expression as determinants for anti-EGFR therapies in salivary gland carcinomas. Oral Oncol 2009;45(9):826-9.

51-Cerda T, Sun XS, Vignot S, Marcy PY, Baujat B, Baglin AC, et al. A rationale for chemoradiation (vs radiotherapy) in salivary gland cancers? On behalf of the REFCOR (French rare head and neck cancer network). *Crit Rev Oncol Hematol* 2014;91:142–58.

52-Hsieh CE, Lin CY, Lee LY, Yang LY, Wang CC, Wang HM, et al. Adding concurrent chemotherapy to postoperative radiotherapy improves locoregional control but not overall survival in patients with salivary gland adenoid cystic carcinoma –a propensity score matched study. *Radiat Oncol* 2016;11:47.

53-Schoenfeld JD, Sher DJ, Norris Jr CM, Haddad RI, Posner MR, Balboni TA, et al. Salivary gland tumors treated with adjuvant intensity-modulated radiotherapy with or without concurrent chemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012;82:308–14.

54-Tanvetyanon T, Fisher K, Caudell J, Otto K, Padhya T, Trotti A. Adjuvant chemoradiotherapy versus with radiotherapy alone for locally advanced salivary gland carcinoma among older patients. *Head Neck* 2016;38:863–70.

55-North C, Lee D, Piantadosi S, Zahurak M, Johns ME. Carcinoma of the major salivary glands treated by surgery or surgery plus post-operative radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1990;18:1319-26.

56-Spiro R. Salivary neoplasms: overview of 25-years' experience with 2807 patients. *Head Neck Surg* 1986;8(3):177-84.

57-Keller G, Steinmann D, Quaas A, Grünwald V, Janssen S, Hussein K. New concepts of personalized therapy in salivary gland carcinomas. *Oral Oncol* 2017;68:103-113.

58-Ito FA, Ito K, Vargas PA, de Almeida OP, Lopes MA. Salivary gland tumors in a brazilian population:a retrospective study of 496 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005;34(5):533–6.

- 59-Luna MA. Salivary mucoepidermoid carcinoma: revisited. *Adv Anat Pathol* 2006; 13(6):293–307.
- 60-Pires FR, de Almeida OP, de Araujo VC, Kolawski LP. Prognostic factors in head and neck mucoepidermoid carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130(2):174–180.
- 61-Ritwik P, Brannon RB. Minor salivary gland mucoepidermoid carcinoma in children and adolescents: a case series and review of the literature. *J Med Case Rep* 2012;6: 182.
- 62-Eversole LR. Mucoepidermoid carcinoma: review of 815 reported cases. *J Oral Surg* 1970;490–4.
- 63- Byrd SA, Spector ME, Carey TE, Bradford CR, McHugh JB. Predictors of recurrence and survival for head and neck mucoepidermoid carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2013;149:402-8.
- 64-Saku T, Hayashi Y, Takahara O, Matsuura H, Tokunaga M, Tokunaga M, et al. Salivary gland tumors among atomic bomb survivors, 1950–1987. *Cancer* 1997;79(8):1465–75.
- 65-Modan B, Chetrit A, Alfandary E, Tamir A, Lusky A, Wolf M, et al. Increased risk of salivary gland tumors after low-dose irradiation. *Laryngoscope* 1998;108(7):1095–7.
- 66-Whatley WS, Thompson JW, Rao B. Salivary gland tumors in survivors of childhood cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;134(3):385–8.
- 67-Melrose RJ, Abrams AM, Howell FV. Mucoepidermoid tumors of the intraoral minor salivary glands: a clinicopathologic study of 54 cases. *J Oral Pathol* 1970;2:314–325.

- 68-Plambeck K, Friedrich RE, Schmelzle R. Mucoepidermoid carcinoma of salivary gland origin: classification, clinical-pathological correlation, treatment results and longterm follow-up in 55 patients. *J Craniomaxillofac Surg* 1996;24:133–9.
- 69-Goode RK, Auclair PL, Ellis GL. Mucoepidermoid carcinoma of the major salivary glands: clinical and histopathologic analysis of 234 cases with evaluation of grading criteria. *Cancer* 1998; 82:1217–24.
- 70-Ellis GL, Auclair P. Tumors of the salivary glands. *Atlas of tumor pathology, 3rd series, fascicle 17*. Armed Forces Institute of Pathology, Washington 1996:39–57, 155–175, 452–454.
- 71-Coca-Pelaz A, Rodrigo JP, Triantafyllou A, Hunt JL, Rinaldo A, Strojan P, et al. Salivary mucoepidermoid carcinoma revisited. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2015;272(4):799-819.
- 72-Akrish S, Peled M, Ben-Izhak O, Nagler RM. Malignant salivary gland tumors and cyclooxygenase-2: a histopathological and immunohistochemical analysis with implications on histogenesis. *Oral Oncol* 2009;45(12):1044–50.
- 73-Alos L, Lugan B, Castillo M, Nadal A, Carreras M, Caballero M, et al. Expression of membranebound mucins (MUC1 and MUC4) and secreted mucins (MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6 and MUC7) in mucoepidermoid carcinomas of salivary glands. *Am J Surg Pathol*. 2005; 29(6):806– 13.
- 74-Azevedo RS, de Almeida OP, Kowalski LP, Pires FR. Comparative cytokeratin expression in the different cell types of salivary gland mucoepidermoid carcinoma. *Head Neck Pathol* 2008; 2(4): 257–64.
- 75-Coxon A, Rozenblum E, Park YS, Joshi N, Tsurutani J, Dennis PA, et al. Mect1-Maml2 fusion oncogene linked to the aberrant activation of cyclic AMP/CREB regulated genes. *Cancer Res*. 2005; 65(16):7137–44.

- 76-Jaskoll T, Htet K, Abichaker G, Kaye FJ, Melnick M. CRTC1 expression during normal and abnormal salivary gland development supports a precursor cell origin for mucoepidermoid cancer. *Gene Expr Pattern* 2011; 11(1–2):57–63.
- 77-Fujimaki M, Fukumura Y, Saito T, Mitani K, Uchida S, Yokoyama J, et al. Oncocytic mucoepidermoid carcinoma of the parotid gland with CRTC1-MAML2 fusion transcript: report of a case with review of literature. *Hum. Pathol* 2011;42:2052-5.
- 78-Mendelson AA, al-Macki K, Chauvin P, Kost KM. Sclerosing mucoepidermoid carcinoma of the salivary gland: Case report and literature review. *Ear Nose Throat J* 2010;89:600-3.
- 79-Adams A, Warner K, Nör JE. Salivary Gland Cancer Stem Cells. *Oral Oncol* 2013;49(9):845-853.
- 80-El-Naggar AK, JKC C, Grandis JR, Takata T, Grandis J, Slootweg P (eds) (2017) WHO classification of head and neck tumours, 4th edn. Lyon, IARC
- 81-Ettl T, Stiegler C, Zeitler K, Agaimy A, Zenk J, Reichert TE, et al. EGFR, HER2, survivin, and loss of pSTAT3 characterize high-grade malignancy in salivary gland cancer with impact on prognosis. *Hum Pathol* 2012;43:921–31.
- 82-Ettl T, Schwarz S, Kleinsasser N, Hartmann A, Reichert TE, Driemel O. Overexpression of EGFR and absence of C-KIT expression correlate with poor prognosis in salivary gland carcinomas. *Histopathology* 2008;53:567–77.
- 83-Nakayama T, Miyabe S, Okabe M, Sakuma H, Ijichi K, Hasegawa Y, et al. Clinicopathological significance of the CRTC3-MAML2 fusion transcript in mucoepidermoidcarcinoma. *Mod. Pathol* 2009;22:1575-81.
- 84-O’Neill ID. t(11;19) translocation and CRTC1-MAML2 fusion oncogene in mucoepidermoid carcinoma. *Oral Oncol* 2009;45(1):2–9.

- 85-Behboudi A, Enlund F, Winnes M, Andren Y, Nordkvist A, Leivo I, et al. Molecular classification of mucoepidermoid carcinomas-prognostic significance of the MECT1-MAML2 fusion oncogene. *Genes Chromosomes Cancer* 2006; 45(5):470–81.
- 86-Okabe M, Miyabe S, Nagatsuka H, Terada A, Hanai N, Yokoi M, et al. MECT1-MAML2 fusion transcript defines a favorable subset of mucoepidermoid carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2006; 12(13):3902–7.
- 87-Rasheed FS, Majeed A H. Immunohistochemical expression of actin and S100 in pleomorphic adenoma and mucoepidermoid carcinoma. *Salivary plasma analysis. Oral Diag* 2011;23(2):51–54.
- 88-Garden AS, El-Naggar AK, Morrison WH, Callender DL, Ang KK, Peters LJ. Postoperative radiotherapy for malignant tumors of the parotid gland. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997;37:79–85.
- 89-Terhaard CH, Lubsen H, Van der Tweel I, Hilgers FJ, Eijkenboom WM, Marres HA, et al. Salivary gland carcinoma: independent prognostic factors for locoregional control, distant metastases, and overall survival: results of the Dutch Head and Neck Oncology Cooperative Group. *Head Neck* 2004;26:681–92.
- 90- Ghosh-Laskar S, Murthy V, Wadasadawala T, Agarwal J, Budrukkar A, Patil N, et al. Mucoepidermoid carcinoma of the parotid gland: factors affecting outcome. *Head Neck* 2011; 33:497–503.
- 91-Chen AM, Granchi PJ, Garcia J, Bucci MK, Fu KK, Eisele DW (2007) Local-regional recurrence after surgery without postoperative irradiation for carcinomas of the major salivary glands: implications for adjuvant therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007;67:982–7.
- 92-Vander Poorten V, Hunt J, Bradley PJ, Haigentz M Jr, Rinaldo A, Mendenhall WM, et al. Recent trends in the management of minor salivary gland carcinoma. *Head Neck*2014;36:444–55.

- 93-Chen AM, Garcia J, Lee NY, Bucci MK, Eisele DW. Patterns of nodal relapse after surgery and postoperative radiation therapy for carcinomas of the major and minor salivary glands: what is the role of elective neck irradiation? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007;67:988–94.
- 94-Gilbert J, Li Y, Pinto HA, Jennings T, Kies MS, Silverman P, et al. Phase II trial of taxol in salivary gland malignancies (E1394): a trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Head Neck* 2006;28:197–204.
- 95-Venook AP, Tseng A Jr, Meyers FJ, Silverberg I, Boles R, Fu KK, et al. Cisplatin, doxorubicin and 5-fluorouracil chemotherapy for salivary gland malignancies: a pilot study of the Northern California Oncology Group. *J Clin Oncol* 1987;5:951–5.
- 96-Dodd RL, Slevin NJ. Salivary gland adenoid cystic carcinoma: a review of chemotherapy and molecular therapies. *Oral Oncol* 2006;42:759–69.
- 97- Bradley PJ. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: a review. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;12:127–32.
- 98-Bonaparte JP, Hart R, Trites J, Taylor MS. Incidence of adenoid cystic carcinoma in Nova Scotia: 30-year population-based epidemiologic study. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2008;37:642–8.
- 99-van der Wal JE, Snow GB, van der Waal I. Histological reclassification of 101 intraoral salivary gland tumours (new WHO classification). *J Clin Pathol* 1992;45:834–5.
- 100-Vander Poorten VLM, Balm AJM, Hilgers FJM, Tan IB, Keus RB, Hart AAM. Stage as major long term outcome predictor in minor salivary gland carcinoma. *Cancer* 2000;89:1195–204.
- 101-Vander Poorten VL, Hart AA, van der Laan BF, Baatenburg de Jong RJ, Manni JJ, Marres HA, et al. Prognostic index for patients with parotid carcinoma: external

validation using the nationwide 1985–1994 Dutch head and neck oncology cooperative group database. *Cancer* 2003;97:1453–63.

102-Vander Poorten VL, Balm AJ, Hilgers FJ, Tan IB, Loftus-Coll BM, Keus RB, et al. Prognostic factors for long term results of the treatment of patients with malignant submandibular gland tumors. *Cancer* 1999;85:2255–64.

103-Batsakis JG. Carcinomas of the submandibular and sublingual glands. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1986;95:211–2.

104-van Weert S, Reinhard R, Bloemena E, Buter J, Witte BI, Vergeer MR, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: a single-center analysis of 105 consecutive cases over a 30-year period. *Oral Oncol* 2013;49:824–9.

105-Stenman G, Persson F, Andersson MK. Diagnostic and therapeutic implications of new molecular biomarkers in salivary gland cancers. *Oral Oncol* 2014;50:683–90.

106-Nascimento AG, Amaral AL, Prado LA, Kligerman J, Silveira TR. Adenoid cystic carcinoma of salivary glands. A study of 61 cases with clinicopathologic correlation. *Cancer* 1986;57:312–9.

107-Spiro RH, Huvos AG, Strong EW. Adenoid cystic carcinoma of salivary origin. A clinicopathologic study of 242 cases. *Am J Surg* 1974;128:512–20.

108-Sequeiros Santiago G, Rodrigo Tapia JP, Llorente Pendas JL, Suarez Nieto C. Prognostic factors in adenoid cystic carcinoma of salivary glands. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2005;56:361–7.

109-Spiro RH, Thaler HT, Hicks WF, Kher UA, Huvos AH, Strong EW. The importance of clinical staging of minor salivary gland carcinoma. *Am J Surg* 1991;162:330–6.

110-Zvrko E, Golubovic M. Laryngeal adenoid cystic carcinoma. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2009;29:279–82.

- 111-Laurie SA, Ho AL, Fury MG, Sherman E, Pfister DG. Systemic therapy in the management of metastatic or locally recurrent adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: a systematic review. *Lancet Oncol* 2011;12:815–24.
- 112-Husain Q, Kanumuri VV, Svider PF, Radvansky BM, Boghani Z, Liu JK, et al. Sinonasal adenoid cystic carcinoma: systematic review of survival and treatment strategies. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2013;148:29–39.
- 113-Biswas KD, Saha J, Sen I, Biswas G, Sinha R, Saha D, et al. Unusual presentations of adenoid cystic carcinoma in extra-salivary gland subsites in head and neck region: a case series. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg* 2014;66 (Suppl.1):286-90.
- 114-Westra WH. The surgical pathology of salivary gland neoplasms. *Otolaryngol Clin North Am* 1999;39:919–43.
- 115-Chen W, Dong S, Zhou J, Sun M. Investigation of myoepithelial cell differentiation into Schwann-like cells in salivary adenoid cystic carcinoma associated with perineural invasion. *Mol Med Rep* 2012;6:755–9.
- 116-Prasad AR, Savera AT, Gown AM, Zarbo RJ. The myoepithelial immunophenotype in 135 benign and malignant salivary gland tumors other than pleomorphic adenoma. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:801–6.
- 117-Moskaluk CA. Adenoid cystic carcinoma: clinical and molecular features. *Head Neck Pathol* 2013;7:17–22.
- 118-Azumi N, Battifora H. The cellular composition of adenoid cystic carcinoma. An immunohistochemical study. *Cancer* 1987;60:1589–98.
- 119-Bell D, Holsinger CF, El-Naggar AK. CRTC1/MAML2 fusion transcript in central mucoepidermoid carcinoma of mandible diagnostic and histogenetic implications. *Ann Diagn Pathol* 2010; 14(6):396–401.

- 120-Tang Y, Liang X, Zhu G, Zheng M, Yang J, Chen Y. Expression and importance of zinc-finger transcription factor Slug in adenoid cystic carcinoma of salivary gland. *J Oral Pathol Med* 2010;39(10):775–80.
- 121-Seethala RR. An update on grading of salivary gland carcinomas. *Head Neck Pathol*. 2009; 3(1):69–77.
- 122-Coca-Pelaz A, Rodrigo JP, Bradley PJ, Vander Poorten V, Triantafyllou A, Hunt JL, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck—an update. *Oral Oncol* 2015;51:652–61.
- 123-Vila L, Liu H, Al-Quran SZ, Coco DP, Dong HJ, Liu C. Identification of ckit gene mutations in primary adenoid cystic carcinoma of the salivary gland. *Mod Pathol* 2009;22:1296–302.
- 124-Jiang LC, Huang SY, Zhang DS, Zhang SH, Li WG, Zheng PH, et al. Expression of beclin 1 in primary salivary adenoid cystic carcinoma and its relation to Bcl-2 and p53 and prognosis. *Braz J Med Biol Res* 2014;47:252–8.
- 125-Moskaluk CA, Baras AS, Mancuso SA, et al. Development and characterization of xenograft model systems for adenoid cystic carcinoma. *Lab Invest* 2011;91:1480–1490.
- 126-Jeng YM, Lin CY, Hsu HC. Expression of the c-kit protein is associated with certain subtypes of salivary gland carcinoma. *Cancer Lett* 2000;154:107–11.
- 127-Holst VA, Marshall CE, Moskaluk CA, Frierson Jr HF. KIT protein expression and analysis of c-kit gene mutation in adenoid cystic carcinoma. *Mod Pathol* 1999;12:956–60.
- 128-Freier K, Flechtenmacher C, Walch A, Devens F, Mühling J, Lichter P, et al. Differential KIT expression in histological subtypes of adenoid cystic carcinoma (ACC) of the salivary gland. *Oral Oncol* 2005;41:934–9.

129-Lim JJ, Kang S, Lee MR, Pai HK, Yoon HJ, Lee JI, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in salivary gland carcinomas and its relation to p53, Ki-67 and prognosis. *J Oral Pathol Med* 2003;32:552–61.

130-Shao Z, Zhu F, Song K, Zhang H, Liu K, Shang Z. EphA2/ephrinA1 mRNA expression and protein production in adenoid cystic carcinoma of salivary gland. *J Oral Maxillofac Surg* 2013;71:869–78.

131-Locati LD, Bossi P, Perrone F, Potepan P, Crippa F, Mariani L, et al. Cetuximab in recurrent and/or metastatic salivary gland carcinomas: a phase II study. *Oral Oncol* 2009;45:574–8.

132-Sequeiros-Santiago G, Garcia-Carracedo D, Fresno MF, Suarez C, Rodrigo JP, Gonzalez MV. Oncogene amplification pattern in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Oncol Rep* 2009;21:1215–22.

133-Lee SK, Kwon MS, Lee YS, Choi SH, Kim SY, Cho KJ, et al. Prognostic value of expression of molecular markers in adenoid cystic cancer of the salivary glands compared with lymph node metastasis: a retrospective study. *World J Surg Oncol* 2012;10:266.

134-Franchi A, Gallo O, Bocciolini C, Franchi L, Paglierani M, Santucci M. Reduced E-cadherin expression correlates with unfavorable prognosis in adenoid cystic carcinoma of salivary glands of the oral cavity. *Am J Clin Pathol* 1999;111:43–50.

135- Shirai A, Furukawa M, Yoshizaki T. Expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 in adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope* 2003;113:1955–60.

136-Wang YY, Chen WL, Huang ZQ, Yang ZH, Zhang B, Wang JG, et al. Expression of the membranecytoskeletal linker Ezrin in salivary gland adenoid cystic carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011;112:96–104.

137-Barrera JE, Shroyer KR, Said S, Hoernig G, Melrose R, Freedman PD, et al. Estrogen and progesterone receptor and p53 gene expression in adenoid cystic cancer. *Head Neck Pathol* 2008;2:13–8.

138-Shadaba A, Gaze MN, Grant HR. The response of adenoid cystic carcinoma to tamoxifen. *J Laryngol Otol* 1997;111:1186–9.

139-Shen C, Xu T, Huang C, Hu C, He S. Treatment outcomes and prognostic features in adenoid cystic carcinoma originated from the head and neck. *Oral Oncol* 2012;48:445–9.

140-Ciccolallo L, Licitra L, Cantu G, Gatta G. EUROCORE Working Group. Survival from salivary glands adenoid cystic carcinoma in European populations. *Oral Oncol* 2009;45:669–74.

141-Huang M, Ma D, Sun K, Yu G, Guo C, Gao F. Factors influencing survival rate in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1997;26:435–9.

142-Hitre E, Budai B, Takácsi-Nagy Z, Rubovszky G, Tóth E, Remenár É, et al. Cetuximab and platinum-based chemoradio- or chemotherapy of patients with epidermal growth factor receptor expressing adenoid cystic carcinoma: a phase II trial. *Br J Cancer* 2013;109:1117–22.

143-Jensen AD, Nikoghosyan A, Hinke A, Debus J, Mütter MW. Combined treatment of adenoid cystic carcinoma with cetuximab and IMRT plus C12 heavy ion boost: ACCEPT (ACC, Erbitux® and particle therapy) *BMC Cancer* 2011;11:70.

144-Haddad RI, Posner MR, Busse PM, Norris CM, Goguen LA, Wirth LJ, et al. Chemoradiotherapy for adenoid cystic carcinoma: preliminary results of an organ sparing approach. *Am J Clin Oncol*. 2006;29:153–7.

145-Zwicker F, Roeder F, Thieke C, Timke C, Mütter MW, Huber PE, et al. IMRT reirradiation with concurrent cetuximab immunotherapy in recurrent head and neck cancer. *Strahlenther Onkol* 2011;187:32–8.

- 146-Hanahan D and Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144: 646-74.
- 147-Ehrlich P. Ueber den jetzigen stand der karzinomforschung. *Ned Tijdschr Geneesk* 1909;5:73–290.
- 148-Burnet FM. Cancer a biological approach. *Br Med J* 1957;1:841–7.
- 149-Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002; 3:991–8.
- 150-Dunn GP, Bruce AT, Sheehan KC, Shankaran V, Uppaluri R, Bui JD, et al. A critical function for type I interferons in cancer immunoediting. *Nat Immunol* 2005;6:722–9.
- 151-Smyth MJ, Thia KY, Street SE, MacGregor D, Godfrey DI, Trapani JA. Perforin-mediated cytotoxicity is critical for surveillance of spontaneous lymphoma. *J Exp Med* 2000; 192:755–60.
- 152-Mori S, Jewett A, Murakami-Mori K, Cavalcanti M, Bonavida B. The participation of the Fas-mediated cytotoxic pathway by natural killer cells is tumor-cell-dependent. *Cancer Immunol Immunother* 1997;44:282–90.
- 153-Takeda K, Hayakawa Y, Smyth MJ, Kayagaki N, Yamaguchi N, Kakuta S, et al. Involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in surveillance of tumor metastasis by liver natural killer cells. *Nat Med* 2001;7:94–100.
- 154-Kim R, Emi M, Tanabe K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology* 2007;121(1):1-14.
- 155-Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331(6024):1565-70.

- 156-Kumar AA. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Ninth Edition, International Edition, Philadelphia 2015:310-312
- 157-de Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer* 2006;6(1):24-37.
- 158-Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer *J Clin Invest* 2007;117(5):1175-83.
- 159-Smyth MJ, Thia KY, Street SE, Cretney E, Trapani JA, Taniguchi M, et al. Differential tumor surveillance by natural killer (NK) and NKT cells. *J Exp Med* 2000;191(4):661-8.
- 160-Condeelis J, Pollard JW. Pollard Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. *Cell* 2006;124(2):263-6.
- 161-Murdoch C, Muthana M, Coffelt SB, Lewis CE. The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2008;8(8):618-31
- 162-DeNardo DG, Barreto JB, Andreu P, Vasquez L, Tawfik D, Kolhatkar N, et al. CD4(+) T cells regulate pulmonary metastasis of mammary carcinomas by enhancing protumor properties of macrophages. *Cancer Cell* 2009;16(2):91-102.
- 163-Langowski JL, Kastelein RA, Oft M. Swords into plowshares: IL-23 repurposes tumor immune surveillance. *Trends Immunol* 2007;28(5):207-12.
- 164-Smyth MJ, Dunn GP, Schreiber RD. Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. *Adv Immunol* 2006;90:1-50.
- 165-Vivier E, Ugolini S, Blaise D, Chabannon C, Brossay L. Targeting natural killer cells and natural killer T cells in cancer. *Nat Rev Immunol* 2012;12(4):239-52.

- 166-Coulie PG, Van den Eynde BJ, van der Bruggen P, Boon T. Tumour antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2014;14:135–146.
- 167-Tivol EA, Borriello F, Schweitzer AN, Lynch WP, Bluestone JA, Sharpe AH. Loss of CTLA4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA4. *Immunity* 1995;3:541-7.
- 168-Sukari A, Nagasaka M, Al-Hadidi A, Lum LG. Cancer Immunology and Immunotherapy. *Anticancer Res.* 2016;36(11):5593-5606.
- 169-Francisco LM, Salinas VH, Brown KE, Vanguri VK, Freeman GJ, Kuchroo VK, et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory t cells. *J Exp Med* 2009;206(13):3015-29.
- 170-Mellman I, Coukos G, Dranoff G: Cancer immunotherapy comes of age. *Nature* 2011;480(7378):480-9.
- 171-Gabrilovich, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol* 2009;9(3):162-74.
- 172-Rabinovich GA, Gabrilovich D, Sotomayor EM. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells. *Annu Rev Immunol* 2007;25:267–296.
- 173-Khaled YS, Ammori BJ, Elkord E. Myeloid-derived suppressor cells in cancer: recent progress and prospects. *Immunol Cell Biol* 2013;91:493–502.
- 174-Dey A, Allen J, Hankey-Giblin PA. Ontogeny and polarization of macrophages in inflammation: blood monocytes versus tissue macrophages. *Front Immunol* 2015;5:683.
- 175-Pillay J, Kamp VM, van Hoffen E, Visser T, Tak T, Lammers JW, et al. A subset of neutrophils in human systemic inflammation inhibits T-cell responses through Mac-1. *J Clin Invest* 2012;122(1):327-36.

- 176-Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: Impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer* 2012;12(4):298-306.
- 177-Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med* 2000;192(7):1027-34.
- 178-Ott PA, Hodi FS, Robert C. CTLA-4 and PD-1/PD-L1 blockade: new immunotherapeutic modalities with durable clinical benefit in melanoma patients. *Clin Cancer Res.* 2013;19(19):5300-9.
- 179-Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Targeting the PD-1/B7-H1 (PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Curr Opin Immunol* 2012;24(2):207-12.
- 180-Couzin-Frankel J. Cancer Immunotherapy. *Science* 2013;342(6165):1432-3.
- 181-Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012;12(4):252-64.
- 182-Alegre ML, Frauwirth KA, Thompson CB. T-cell regulation by CD28 and CTLA-4. *Nat Rev Immunol.* 2001;1(3):220-8.
- 183-Masteller EL, Chuang E, Mullen AC, Reiner SL, Thompson CB. Structural analysis of CTLA-4 function in vivo. *J Immunol* 2000; 164:5319–5327
- 184-O'Day SJ, Hamid O, Urba WJ. Targeting cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (CTLA-4). *Cancer* 2007;110: 2614–27.
- 185-Sun Z, Fourcade J, Pagliano O, Chauvin JM, Sander C, Kirkwood JM, et al. IL10 and PD-1 Cooperate to Limit the Activity of Tumor-Specific CD8+ T Cells. *Cancer Res* 2015;75(8):1635-44.
- 186-Zou, W, and Chen L. Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment. *Nat. Rev. Immunol* 2008;–477.

- 187-Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev* 2010;236:219-42.
- 188-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(1):24-33.
- 189-Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD. Immune checkpoint blockade in cancer therapy. *J Clin Oncol* 2015;33(17):1974-82.
- 190-Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol* 2008;26:677-704.
- 191-Thibault ML, Mamessier E, Gertner-Dardenne J, Pastor S, Just-Landi S, Xerri L, et al. PD-1 is a novel regulator of human b-cell activation. *Int Immunol*. 2013;25(2):129-37.
- 192-Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* 2006;439:682-7.
- 193-Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, et al. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* 2009;114:1537-44.
- 194-Sfanos KS, Bruno TC, Meeker AK, De Marzo AM, Isaacs WB, Drake CG. Human prostate-infiltrating CD8 T lymphocytes are oligoclonal and PD-1. *Prostate* 2009;69:1694-703.
- 195-Dong H, Zhu G, Tamada K, Chen L. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med* 1999;5(12):1365-9.

- 196-Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol* 2001;2(3):261-8.
- 197-Tseng SY, Otsuji M, Gorski K, Huang X, Slansky JE, Pai SI, et al. B7-DC, a new dendritic cell molecule with potent costimulatory properties for T cells. *J Exp Med* 2001;193(7):839-46.
- 198-Chakravarti N, Prieto VG. Predictive factors of activity of anti-programmed death-1/programmed death ligand-1 drugs: Immunohistochemistry analysis. *Transl Lung Cancer Res* 2015;4(6):743-51.
- 199-Kinter AL, Godbout EJ, McNally JP, Sereti I, Roby GA, O'Shea MA, et al. The common γ -chain cytokines IL-2, IL-7, IL-15, and IL-21 induce the expression of programmed death-1 and its ligands. *J Immunol* 2008;181(10):6738-46.
- 200-Zhong X, Tumang JR, Gao W, Bai C, Rothstein TL. PD-L2 expression extends beyond dendritic cells/macrophages to B1 cells enriched for VH11/VH12 and phosphatidylcholine binding. *Eur J Immunol* 2007;37(9):2405-10.
- 201-Messal N, Serriari NE, Pastor S, Nunès JA, Olive D. PD-L2 is expressed on activated human T cells and regulates their function. *Mol Immunol* 2011;48(15-16):2214-9.
- 202-Lesterhuis WJ, Steer H, Lake RA. PD-L2 is predominantly expressed by Th2 cells. *Mol Immunol* 2011;49(1-2):1-3.
- 203-Okazaki T, Honjo T. D-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int Immunol* 2007;19(7):813-24.
- 204-Lesterhuis WJ, Punt CJ, Hato SV, Eleveld-Trancikova D, Jansen BJ, Nierkens S, et al. Platinum-based drugs disrupt STAT6-mediated suppression of immune responses against cancer in humans and mice. *J Clin Invest*. 2011;121(8):3100-8.

- 205-Pinchuk IV, Saada JI, Beswick EJ, Boya G, Qiu SM, Mifflin RC, et al. PD-1 ligand expression by human colonic myofibroblasts/fibroblasts regulates CD4+ T-cell activity. *Gastroenterology* 2008;135(4):1228-1237, 1237.e1-2.
- 206-Harada K, Ferdous T, Ueyama Y. PD-L1 expression in malignant salivary gland tumors. *BMC Cancer* 2018;18(1):156.
- 207-Mukaigawa T, Hayashi R, Hashimoto K, Ugumori T, Hato N, Fujii S. Mukaigawa et al. Programmed Death Ligand-1 Expression Is Associated With Poor Disease Free Survival in Salivary Gland Carcinomas. *J Surg Oncol* 2016;114(1):36-43.
- 208-Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, Anagnostou VK, Syrigos KN, Sznol M, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. *Lab Invest* 2014;94(1):107-16.
- 209-Taube JM, Anders RA, Young GD, Xu H, Sharma R, McMiller TL, et al. Colocalization of inflammatory response with B7-H1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. *Sci Transl Med* 2012;4(127):127ra37.
- 210- Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC, Lohse CM, Dong H, Webster WS, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Dec;101(49):17174-9.
- 211-Wu C, Zhu Y, Jiang J, Zhao J, Zhang XG, Xu N. Immunohistochemical localization of programmed death-1 ligand-1 (PD-L1) in gastric carcinoma and its clinical significance. *Acta histochem* 2006;108:19–24.
- 212-Chen L, Deng H, Lu M, Xu B, Wang Q, Jiang J, et al. B7-H1 expression associates with tumor invasion and predicts patient's survival in human esophageal cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2014;7:6015–23.

- 213-Nomi T, Sho M, Akahori T, Hamada K, Kubo A, Kanehiro H, et al. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:2151–7.
- 214-Muenst S, Schaerli AR, Gao F, Däster S, Trella E, Droeser RA, et al. Expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2014;146:15–24.
- 215-Hino R, Kabashima K, Kato Y, Yagi H, Nakamura M, Honjo T, et al. Tumor cell expression of programmed cell death-1 ligand 1 is a prognostic factor for malignant melanoma. *Cancer* 2010;116:1757–66.
- 216-Oliveira-Costa JP, de Carvalho AF, da Silveira da GG, Amaya P, Wu Y, Park KJ, et al. Gene expression patterns through oral squamous cell carcinoma development: PD-L1 expression in primary tumor and circulating tumor cells. *Oncotarget* 2015;6(25):20902-20.
- 217-Droeser RA, Hirt C, Viehl CT, Frey DM, Nebiker C, Huber X, et al. Clinical impact of programmed cell death ligand 1 expression in colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2013;49(9):2233-42.
- 218-Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 2012;366(26):2455-65.
- 219-Topalian SL, Sznol M, McDermott DF, Kluger HM, Carvajal RD, Sharfman WH, et al. Survival, durable tumor remission, and long-term safety in patients with advanced melanoma receiving nivolumab. *J Clin Oncol* 2014;32(10):1020–30.
- 220- Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, Powderly JD, Picus J, Sharfman WH, et al. Phase I study of singleagent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol* 2010;28(19):3167–75.

- 221-Milano A, Longo F, Basile M, Iaffaioli RV, Caponigro F. Recent advances in the treatment of salivary gland cancers: emphasis on molecular targeted therapy. *Oral Oncol* 2007;43:729–34.
- 222-Böger C, Behrens HM, Mathiak M, Krüger S, Kalthoff H, Röcken C. PD-L1 is an independent prognostic predictor in gastric cancer of Western patients. *Oncotarget* 2016;7(17):24269-83.
- 223-Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. SEER*Stat Database: Incidence–SEER 9. Available from: <https://seer.cancer.gov/>. Accessed April 23, 2017.
- 224-Pinkston JA, Cole P. Incidence rates of salivary gland tumors: results from a population-based study. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;120:834–40.
- 225-Sun EC, Curtis R, Melbye M, Goedert JJ. Salivary gland cancer in the United States. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1999;8:1095–100.
- 226-Cordesmeyer R, Schliephake H, Kauffmann P, Tröltzsch M, Laskawi R, Ströbel P, et al. Clinical prognostic factors of salivary adenoid cystic carcinoma: A single-center analysis of 61 patients. *J Craniomaxillofac Surg*. 2017;45(11):1784-1787.
- 227-Meyers M, Granger B, Herman P, Janot F, Garrel R, Fakhry N, et al. Head and neck adenoid cystic carcinoma: A prospective multicenter REFCOR study of 95 cases. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis* 2016;133(1):13-7.
- 228-Ali S, Sarhan M, Palmer FL, Witcher M, Shah JP, Patel SG, et al. Cause-Specific Mortality in Patients with Mucoepidermoid Carcinoma of the Major Salivary Glands. *Ann Surg Oncol* 2013;20(7):2396-404.
- 229-Wang XD, Meng LJ, Hou TT, Huang SH. Tumours of the salivary glands in northeastern China: a retrospective study of 2508 patients. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2015;53(2):132-7.

230-Ko YH, Lee MA, Hong YS, Lee KS, Jung CK, Kim YS et al. Prognostic Factors Affecting the Clinical Outcome of Adenoid Cystic Carcinoma of the Head and Neck. *Jpn J Clin Oncol* 2007;37(11):805-11.

231-Granic M, Suton P, Mueller D, Cvrljevic I, Luksic I. Prognostic factors in head and neck mucoepidermoid carcinoma: experience at a single institution based on 64 consecutive patients over a 28-year period. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2018;47(3):283-288.

232-Liu S, Ow A, Ruan M, Yang W, Zhang C, Wang L, et al. Prognostic factors in primary salivary gland mucoepidermoid carcinoma: an analysis of 376 cases in an Eastern Chinese population. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014;43(6):667-73.

233-McHugh CH, Roberts DB, El-Naggar AK, Hanna EY, Garden AS, Kies MS, et al. Prognostic Factors in Mucoepidermoid Carcinoma of the Salivary Glands. *Cancer* 2012;118(16):3928-36.

234-Rapidis AD, Givalos N, Gakiopoulou H, Stavrianos SD, Faratzis G, Lagogiannis GA, Katsilieris I, et al. Mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands. Re view of the literature and clininopathological analysis of 18 patients. *Oral Oncol* 2007;43:130–6.

235-Guzzo M, Andreola S, Sirizzotti G, Cantu G. Mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands: clinicopathological review of 108 patients treated at the National Cancer Institute of Milan. *Ann Surg Oncol* 2002;9:688–95.

236-Ansari MH. Salivary gland tumors in an Iranian population: a retrospective study of 130 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65(11):2187-94.

237-Ozawa H, Tomita T, Sakamoto K, Tagawa T, Fujii R, Kanzaki S, et al. Mucoepidermoid Carcinoma of the Head and Neck: Clinical Analysis of 43 Patients. *Jpn J Clin Oncol* 2008;38(6):414-8.

238-Zhang CY, Xia RH, Han J, Wang BS, Tian WD, Zhong LP, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: Clinicopathologic analysis of 218 cases in a

Chinese population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013;115(3):368-75.

239-Boukheris H, Ron E, Dores GM, Stovall M, Smith SA, Curtis RE, Risk of radiation-related salivary gland carcinomas among survivors of Hodgkin lymphoma: a population-based analysis. *Cancer* 2008;113(11):3153-9.

240-Land CE, Saku T, Hayashi Y, Takahara O, Matsuura H, Tokuoka S, et al. Incidence of salivary gland tumors among atomic bomb survivors, 1950-1987. Evaluation of radiation-related risk. *Radiat Res* 1996;146:28–36.

241-Katabi N, Ghossein R, Ali S, Dogan S, Klimstra D, Ganly I. Prognostic features in mucoepidermoid carcinoma of major salivary glands with emphasis on tumour histologic grading. *Histopathology* 2014;65(6):793-804.

242-Healey WV, Przin KH, Smith L. Mucoepidermoid carcinoma of salivary gland origin. Classification, clinical-pathologic correlation, and results of treatment. *Cancer* 1970;26:368–88.

243-Min R, Siyi L, Wenjun Y, Ow A, Lizheng W, Minjun D, et al. Salivary gland adenoid cystic carcinoma with cervical lymph node metastasis: a preliminary study of 62 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2012;41(8):952-7.

244-Shinomiya H, Otsuki N, Yamashita D, Nibu K. Patterns of lymph node metastasis of parotid cancer. *Auris Nasus Larynx* 2016;43(4):446-50.

245-Le QT, Birdwell S, Terris DJ, Gabalski EC, Varghese A, Fee We Jr, et al. Postoperative irradiation of minor salivary gland malignancies of the head and neck. *Radiother Oncol* 1999;52:165–71.

246-Nance MA, Seethala RR, Wang Y, Chiosea SI, Myers EN, Johnson JT, et al. Treatment and survival outcomes based on histological grading in patients with head and neck mucoepidermoid carcinoma. *Cancer* 2008; 113:2082–9.

- 247-Brandwein MS, Ivanov K, Wallace DI, Hille JJ, Wang B, Fahmy A, et al. Mucoepidermoid carcinoma: a clinicopathologic study of 80 patients with special reference to histological grading. *Am J Surg Pathol* 2001;25:835–45.
- 248-Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: A potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 2002;8:793–800.
- 249-Muenst S, Soysal SD, Gao F, Obermann EC, Oertli D, Gillanders WE. The presence of programmed death 1 (PD-1)-positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2013;139(3):667–676.
- 250-Hamanishi J, Mandai M, Iwasaki M, Okazaki T, Tanaka Y, Yamaguchi K, et al. Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8⁺ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(9):3360–5.
- 251-Shi F, Shi M, Zeng Z, Qi RZ, Liu ZW, Zhang JY, et al. PD-1 and PD-L1 upregulation promotes CD8(+) T-cell apoptosis and postoperative recurrence in hepatocellular carcinoma patients. *Int J Cancer* 2011;128(4):887–96.
- 252-Caballero M, E Sosa A, Tagliapietra A, Grau JJ. Metastatic adenoid cystic carcinoma of the salivary gland responding to cetuximab plus weekly paclitaxel after no response to weekly paclitaxel alone. *Head Neck* 2013;35:52–4.
- 253-Ettl T, Schwarz-Furlan S, Gosau M, Reichert TE. Salivary gland carcinomas. *Oral Maxillofac Surg* 2012;16(3):267-83.
- 254-Sridharan V, Gjini E, Liao X, Chau NG, Haddad RI, Severgnini M, et al. Immune Profiling of Adenoid Cystic Carcinoma: PD-L2 Expression and Associations with Tumor-Infiltrating Lymphocytes. *Cancer Immunol Res* 2016;4(8):679-87.

255-Sun WY, Lee YK, Koo JS. Expression of PD-L1 in triple-negative breast cancer based on different immunohistochemical antibodies. *J Transl Med* 2016;14(1):173.

256-Li X, Wetherilt CS, Krishnamurti U, Yang J, Ma Y, Styblo TM, et al. Stromal PD-L1 expression is associated with better disease-free survival in triple negative breast cancer. *Am J Clin Pathol* 2016;146(4):496-502.

257-Polónia A, Pinto R, Cameselle-Teijeiro JF, Schmitt FC, Paredes J. Prognostic value of stromal tumour infiltrating lymphocytes and programmed cell death-ligand 1 expression in breast cancer. *J Clin Pathol* 2017;70(10):860-867.

258-Satgunaseelan L, Gupta R, Madore J, Chia N, Lum T, Palme CE, et al. Programmed cell death-ligand 1 expression in oral squamous cell carcinoma is associated with an inflammatory phenotype. *Pathology* 2016;48(6):574-80.

259-Zhang B, Yu W, Feng X, Zhao Z, Fan Y, Meng Y et al. Prognostic significance of PD-L1 expression on tumor cells and tumor-infiltrating mononuclear cells in upper tract urothelial carcinoma. *Med Oncol* 2017;34(5):94.

260-Mosconi C, Arantes DAC, Gonçalves AS, Alencar RCG, Oliveira JC, Silva TA et al. Immunohistochemical investigations on the expression of programmed cell death ligand 1, human leukocyte antigens G and E, and granzyme B in intraoral mucoepidermoid carcinoma. *Arch Oral Biol* 2017;83:55-62.

261-Wang C, Zhu H, Zhou Y, Mao F, Lin Y, Pan B et al. Prognostic Value of PD-L1 in Breast Cancer: A Meta-Analysis. *Breast J* 2017;23(4):436-443.

262-Nakanishi J, Wada Y, Matsumoto K, Azuma M, Kikuchi K, Ueda S. Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers. *Cancer Immunol Immunother* 2007;56(8):1173-82.

263-Ye Y, Zhou L, Xie X, Jiang G, Xie H, Zheng S. Interaction of B7-H1 on intrahepatic cholangiocarcinoma cells with PD-1 on tumor-infiltrating T cells as a mechanism of immune evasion. *J Surg Oncol* 2009;100(6):500-4.

- 264-Cho YA, Yoon HJ, Lee JI, Hong SP, Hong SD. Relationship between the expressions of PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2011;47(12):1148-53.
- 265-Yang CY, Lin MW, Chang YL, Wu CT, Yang PC. Programmed cell death-ligand 1 expression in surgically resected stage I pulmonary adenocarcinoma and its correlation with driver mutations and clinical outcomes. *Eur J Cancer* 2014;50(7):1361-9.
- 266-Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 expression as a predictive biomarker in cancer immunotherapy. *Mol Cancer Ther* 2015;14(4):847–56.
- 267-Wu P, Wu D, Li L, Chai Y, Huang J. PD-L1 and survival in solid tumors: A meta-analysis. *PLoS One* 2015;10(6):e0131403.
- 268-Bellmunt J, Mullane SA, Werner L, Fay AP, Callea M, Leow JJ, et al. Association of PD-L1 expression on tumor-infiltrating mononuclear cells and overall survival in patients with urothelial carcinoma. *Ann Oncol.* 2015;26:812–7.
- 269- Koh YW, Jeon YK, Yoon DH, Suh C, Huh J. Programmed death 1 expression in the peritumoral microenvironment is associated with a poorer prognosis in classical Hodgkin lymphoma. *Tumour Biol* 2016;37(6):7507-14.
- 270-Zhang W, Pang Q, Zhang X, Yan C, Wang Q, Yang J, et al. Programmed death-ligand 1 is prognostic factor in esophageal squamous cell Carcinoma and is associated with epidermal growth factor receptor. *Cancer Sci* 2017; 108:590–597.
- 271-Chen K, Cheng G, Zhang F, Zhang N, Li D, Jin J, et al. Prognostic significance of programmed death-1 and programmed death-ligand 1 expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2016;7:30772–80.
- 272-Beckers RK, Selinger CI, Vilain R, Madore J, Wilmott JS, Harvey K, et al. Programmed death ligand 1 expression in triple-negative breast cancer is associated with tumour-infiltrating lymphocytes and improved outcome. *Histopathology* 2016;69(1):25-34.

273-Zhao T, Li C, Wu Y, Li B, Zhang B. Prognostic value of PD-L1 expression in tumor infiltrating immune cells in cancers: A metaanalysis. *PLoS One* 2017;12(4):e0176822.

274-Chovanec M, Cierna Z, Miskovska V, Machalekova K, Svetlovska D, Kalavska K et al. Prognostic role of programmed-death ligand 1 (PD-L1) expressing tumor infiltrating lymphocytes in testicular germ cell tumors. *Oncotarget* 2017;8(13):21794-21805.

275-Eto S, Yoshikawa K, Nishi M, Higashijima J, Tokunaga T, Nakao T et al. Programmed cell death protein 1 expression is an independent prognostic factor in gastric cancer after curative resection. *Gastric Cancer* 016;19(2):466-71.

276-Thompson RH, Dong H, Lohse CM, Leibovich BC, Blute ML, Cheville JC, et al. PD-1 Is Expressed by Tumor-Infiltrating Immune Cells and Is Associated with Poor Outcome for Patients with Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007;13(6):1757-61.

277-Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The Immunobiology of Cancer Immunosurveillance and Immunoediting. *Immunity* 2004;21(2):137-48.