

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

BAŞ BOYUN KANSERLERİNDE PRİMER DOKU VE TEDAVİ
SONRASI NÜKS/REFRAKTER DOKUDA PD-L1 VE VISTA
EKSPRESYON DÜZEYİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Görkem YAZICI ŞENER
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ozan YAZICI

ANKARA
2021

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BAŞ BOYUN KANSERLERİNDE PRİMER DOKU VE TEDAVİ
SONRASI NÜKS/REFRAKTER DOKUDA PD-L1 VE VISTA
EKSPRESYON DÜZEYİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Görkem YAZICI ŞENER
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ozan YAZICI

ANKARA

2021



**Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı**

Adı ve Soyadı	Görkem Yazıcı Şener
Baba Adı	Mehmet Tahsin
Doğum Yeri/Tarihi	Elazığ / 29.01.1992
Diploma Tarihi / Diploma No	25.08.2016 / 13/2016/210594
Mezun Olduğu Fakülte	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	İç Hastalıkları Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	Yıl: 4 Ay: 2
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: Baş Boyun Kanserlerinde Primer Doku Ve Tedavi Sonrası Nüks/Refrakter Dokuda PD-L1 Ve VISTA Ekspresyon Düzeyinin Karşılaştırılması

JÜRİ KARARI: İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmakta olan Görkem Yazıcı Şener'in "Baş Boyun Kanserlerinde Primer Doku Ve Tedavi Sonrası Nüks/Refrakter Dokuda PD-L1 Ve VISTA Ekspresyon Düzeyinin Karşılaştırılması" isimli tezi, komisyonumuzca yapılan tez sınavında başarılı bulunmuş ve uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir. Uzmanlık sınavına girmeye hak kazanmıştır.

XXXXXX

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince bilgi, tecrübe, çalışkanlık ve akademik duruşuyla bana örnek olan, desteğini her an hissettiğim kıymetli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Ozan Yazıcı'ya,

Öğrenciliğimden itibaren hep yanımda olan, dahil oldukları her anı keyifli hale getiren, tezimin her basamağında emeği olan kıdemlilerim, dostlarım ve her şeyin ötesinde abla ve ağabeyim Uzm. Dr. Bengü Mutlu Sütçüoğlu ve Uzm. Dr. Osman Sütçüoğlu'na,

Tezim sayesinde tanıştığım ve önceden tanımış olmayı dilediğim, sevgi ve anlayış dolu, bir abla şefkatiyle bu süreçte hep yanımda olan ve bu tez çalışmasında sonsuz emeği olan Öğr. Gör. Dr. Betül Öğüt'e

Tezimin başından itibaren desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Nalan Akyürek'e,

Öğrencileri olmaktan her daim gurur duyduğum, mesleki ve bilimsel olarak bilgi ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan, sevgi ve anlayışlarını her an hissettiğim başta İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlhan YETKİN olmak üzere tüm hocalarıma,

Bu yolculukta yanımda olan ve yolculuğu keyifli hale getiren, her birini tanımaktan mutluluk duyduğum Gazi Dahiliye ailesinin tüm üyelerine,

Hayatımın ve bu günlerimin mimarları, hayattaki en büyük rol modellerim, koşulsuz sevgi ve şefkatleriyle her an yanımda olan, kendimi hep güvende hissetmemi sağlayan, varlıkları en değerli varlığım olan canım aileme,

Hayatımızdaki tüm süreçleri güzelleştiren, yaptığım her işte beni destekleyen, varlığını ve koşulsuz sevgisini her an hissettiğim en büyük şansım Uğurcan Şener'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Görkem Yazıcı Şener

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
TABLolar.....	x
ŞEKİLLER	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. EPİDEMİYOLOJİ	4
2.2. ETİYOLOJİ	6
2.3. HİSTOPATOLOJİ VE KARSİNOGENEZ.....	7
2.4. TANI.....	8
2.5. EVRELEME	10
2.6. TEDAVİ	12
2.7. İMMÜN YANIT VE İMMÜN KONTROL NOKTA İNHİBİSYONU	15
2.8. PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1) ve VISTA (V-domain Ig suppressor of T cell activation)	17
2.8.1 PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1).....	17
2.8.2 VISTA (V-domain Ig suppressor of T cell activation).....	19

2.8.3 PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1) ve VISTA (V-domain Ig suppressor of T cell activation) – Tedavi İlişkisi	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1 Çalışmanın Tasarımı.....	23
3.2 İmmünohistokimyasal Değerlendirme	25
3.3 İstatistiksel Analiz	26
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA.....	42
6. KAYNAKLAR.....	49

ÖZET

PD-L1 ve VISTA ekspresyonu baş boyun kanserleri dahil birçok tümörde gösterilmiştir. Normal dokularda otoimmünite, immün tolerans, immün eliminasyon, inflamasyon gelişiminde sorumlu olan bu moleküllerin tümöral dokuda immün sistemden kaçış, progresyon ve tedavi yanıtında rol oynadığı düşünülmektedir. Bu moleküller tedavi yanıtını öngörmeye ve immün kontrol nokta inhibitörlerinin tedavide konumlandırılmasında potansiyel belirteç olarak görülmektedir. Bu çalışmada radyoterapi ve kemoradyoterapinin PD-L1 ve VISTA ekspresyonu üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya larinks, oral kavite ve hipofarinks kanseri ile takipli toplam 47 hasta dahil edildi. Çalışmada tanı anı primer biyopsi ile cerrahi olup adjuvan radyoterapi/kemoradyoterapi alan hastalarda nüks doku ya da definitif kemoradyoterapi alan hastalarda refrakter doku biyopsileri arasındaki PD-L1 ve VISTA ekspresyonları karşılaştırıldı. Biyopsi preparatları immünohistokimyasal olarak incelendi. PD-L1 ekspresyonu TPS ile VISTA ekspresyonu IC ile değerlendirildi.

Çalışmamızın sonuçlarında baş boyun kanserinde radyoterapi/kemoradyoterapi ile PD-L1 ve VISTA ekspresyon düzeyinin değişmediği görüldü (PD-L1 $p=0,542$; VISTA $p=0,425$). İlk biyopsi PD-L1 ve VISTA ekspresyonu klinik lenf nodu pozitif hastalarda nod negatif hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (PD-L1 $p=0,038$; VISTA $p=0,018$). PD-L1 ve VISTA ekspresyonu arasında pozitif korelasyon bulundu ($p<0,001$; $r=0,560$). İlk biyopsi PD-L1 ve VISTA ekspresyonu ile hastalıksız sağkalım arasında anlamlı istatistiksel ilişki bulunmadı (PD-L1 $p=0,568$; VISTA $p=0,842$). İlk ve ikinci biyopsi PD-L1 ekspresyonu ile genel sağkalım arasında anlamlı ilişkili görülmedi (ilk biyopsi PD-L1 $p=0,725$; ikinci biyopsi PD-L1 $p=0,443$). İlk biyopsi VISTA ekspresyonu %1'in üzerinde olan hastaların genel sağkalımı %1'in altında olanlara göre anlamlı kısa olarak bulundu ($p=0,048$). İkinci biyopsi VISTA ekspresyonu ile genel sağkalım arasında anlamlı ilişki görülmedi ($p=0,212$).

Sonuç olarak radyoterapi veya kemoradyoterapi ile PD-L1 ve VISTA ekspresyonunun değişmediği gösterildi. Radyoterapi ve kemoterapinin oluşturduğu immün yanıtın net olarak ortaya konulması tedavide immünoterapinin konumlandırılmasında kritik önem taşımaktadır. PD-L1 ve VISTA ekspresyonunun tedavi ile ilişkisini değerlendiren daha geniş aplı alışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



ABSTRACT

Expression of PD-L1 and VISTA has been demonstrated in a variety of tumors including head and neck cancers. PD-L1 and VISTA are thought to play a role in escape from the immune system, tumor progression and treatment response in tumoral tissue which are responsible for the development of immune tolerance, immune elimination and inflammation in normal tissues. These molecules are seen as a potential marker in predicting treatment response and situating immune checkpoint inhibitors in treatment. In this study, it was aimed to investigate the effects of radiotherapy and chemoradiotherapy on PD-L1 and VISTA expression.

A total of 47 patients with larynx, oral cavity and hypopharynx cancer were included in the study. In this study, PD-L1 and VISTA expressions were compared between the primary biopsy at the time of diagnosis and refractory tissue biopsies of patients who received definitive chemoradiotherapy or recurrent tissue biopsies of patients who received surgery with adjuvant radiotherapy/chemoradiotherapy. Biopsy specimens were examined immunohistochemically. Expression of PD-L1 was evaluated by TPS and VISTA expression was evaluated by IC.

The results of our study showed that PD-L1 and VISTA expression levels did not change with radiotherapy/ chemoradiotherapy in head and neck cancers (PD-L1 $p=0,542$; VISTA $p=0,425$). First biopsy PD-L1 and VISTA expression was found to be significantly higher in clinical lymph node positive patients compared to node negative patients (PD-L1 $p=0,038$; VISTA $p=0,018$). Positive correlation was found between PD-L1 and VISTA expression ($p<0,001$; $r=0,560$). No statistically significant correlation was found between PD-L1 and VISTA expression of first biopsy and disease-free survival (PD-L1 $p=0,568$; VISTA $p=0,842$). There was no relation between PD-L1 expression of first and second biopsy and overall survival (first biopsy PD-L1 $p=0,725$; second biopsy PD-L1 $p=0,443$). The overall survival of patients with VISTA expression above 1% on the first biopsy was found to be significantly shorter than those with less than 1%

($P=0.048$). No significant relation was seen between second biopsy VISTA expression and overall survival ($p=0,212$).

As a result, it was shown that PD-L1 and VISTA expression did not change with radiotherapy or chemoradiotherapy. A clear demonstration of the immune response which is generated by radiotherapy and chemotherapy is critical for the positioning of immunotherapy in treatment. Further studies are needed to evaluate the relationship between PD-L1 and VISTA expression with radiotherapy and chemoradiotherapy.



SİMGELER VE KISALTMALAR

BBK	: Baş-Boyun Kanserleri
RT	: Radyoterapi
KT	: Kemoterapi
KRT	: Kemoradyoterapi
ICI	: İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri
IHC	: İmmünohistokimya
PD -1	: Programmed Death-1; Programlanmış Hücre Ölümü 1
PD -L1	: Programmed Death-Ligand 1; Programlanmış Hücre Ölümü Ligandı 1
PD-L2	: Programmed Death-Ligand 2; Programlanmış Hücre Ölümü Ligandı 2
VISTA	: V-domain Ig suppressor of T cell activation
IARC	: International Agency for Research on Cancer; Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
EBV	: Epstein-Barr virüs
GS	: Genel Sağkalım
HPV	: Human papilloma virüs
Rb	: Retinoblastom geni
WHO	: World Health Organization; Dünya Sağlık Örgütü
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	: Ribo Nükleik Asit
MSI	: Microsatellite Instability; Mikrosatellit İnstabilite
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
TGF-β	: Transforming Growth Factor-β; Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta
USG	: Ultrasonografi
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
PET	: Pozitron Emisyon Tomografi
AJCC	: American Joint Committee on Cancer

IUCC	: International Union Against Cancer
TNM	: Tümör-Nod-Metastaz
LN	: Lenf Nodu
SCC	: Skuamöz Hücreli Kanser
BB	: Baş-Boyun
5-FU	: 5-Fluorourasil
R/M	: Rekürren/Metastatik
MHC	: Major Histocompatibility Complex; Major Doku Uygunluk Kompleksi
APC	: Antigen Presenting Cells; Antijen Sunucu Hücreler
CTLA-4	: Cytotoxic T-Lymphocyte-associated Antigen 4
LAG-3	: Lymphocyte Activation gene-3
TIM-3	: T Cell Membrane Protein 3
HLA	: Human Leucocyte Antigen
Treg	: Regulatory T Cells; Düzenleyici T Hücreler
ECM	: Ekstrasüler Matriks
IFN-γ	: İnterferon Gamma
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
IL-12	: İnterlökin 12
TPS	: Tumor Proportion Score
CPS	: Combined Positivity Score
IC	: Immune Cell Score
IL-2	: İnterlökin 2
IL-6	: İnterlökin 6
IL-8	: İnterlökin 8
DAMPs	: Damage Associated Molecular Patterns
ECOG	: Eastern Cooperative Oncology Group
RECIST	: Evaluation Criteria In Solid Tumors
OS	: Overall Survival (Genel Sağkalım)
DFS	: Disease-Free Survival (Hastalıksız Sağkalım)
FDA	: U.S. Food and Drug Administration; Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

TABLÖLAR

Tablo 2-1 IARC Globocan 2020 Global Kanser İnsidans-Mortalite-Prevelansı	5
Tablo 2-2 IARC Globocan 2020 Türkiye Kanser İnsidans-Mortalite-Prevelansı...	5
Tablo 2-3 Baş-Boyun Kanserleri Sitogenetik ve Moleküler Değişiklikler	8
Tablo 2-4 Baş-Boyun Kanserleri Başvuru Belirti ve Bulguları	9
Tablo 2-5 Baş-Boyun Kanserleri Tanı ve Evrelemesi	10
Tablo 2-6 Baş-Boyun Kanserleri TNM Evrelemesi	11
Tablo 2-7 Baş-Boyun Kanserleri İçin AJCC8 Değişiklikleri	12
Tablo 2-8 Neoadjuvan- Adjuvan Tedavi Endikasyonları.....	14
Tablo 2-9 Rekürren/Metastatik Hastalıkta Son 6 Ay İçinde Verilen Tedavilere Göre Tedavi Şeması	14
Tablo 2-10 Tümör Gelişim Mekanizmaları	16
Tablo 2-11 T Hücre Disfonksiyonu	17
Tablo 2-12 PD-L1 Ekspresyonunu Etkileyen Faktörler.....	19
Tablo 3-1 PD-L1 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi.....	26
Tablo 3-2 VISTA Ekspresyonunun Değerlendirilmesi	26
Tablo 4-1 Hastaların Demografik Bilgi ve Özellikleri.....	28
Tablo 4-2 Hastaların Tedavi Önce ve Sonrası PD-L1 Ekspresyon Düzeyleri	31
Tablo 4-3 İlk-İkinci Biyopsi Örnekleri PD-L1 TPS Skoru	31
Tablo 4-4 Tedavi Alt Gruplarına Göre PD-L1 Değişimi	32
Tablo 4-5 PD-L1 Farklı Cut-Off Değerler ile Biyopsiler Arası- OS-DFS İlişkisi p Değerleri.....	35
Tablo 4-6 Hastaların Tedavi Öncesi ve Sonrası VISTA Ekspresyon Düzeyleri...	37
Tablo 4-7 İlk-İkinci Biyopsi Örnekleri VISTA IC Skoru	37
Tablo 4-8 Tedavi Alt Gruplarına Göre PD-L1 Değişimi	38
Tablo 4-9 VISTA Farklı Cut-Off Değerler ile Biyopsiler Arası- OS-DFS İlişkisi p Değerleri.....	41

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Baş-Boyun Kanserinde İnvaziv Kanser Gelişimi	7
Şekil 2.2 Baş-Boyun Kanserleri Tedavi Gelişimi- Zaman Çizelgesi	15
Şekil 4.1 Hastaların Birinci Biyopsi PD-L1 Ekspresyonu ile Hastalıksız Sağkalım İlişki Grafiği	34
Şekil 4.2 Hastaların Birinci Biyopsi PD-L1 Ekspresyonu ile Genel Sağkalım İlişki Grafiği	34
Şekil 4.3 Hastaların İkinci Biyopsi PD-L1 Ekspresyonu ile Genel Sağkalım İlişki Grafiği	35
Şekil 4.4 Tedavi Öncesi ve Sonrası PD-L1 Ekspresyonu	36
Şekil 4.5 Hastaların Birinci Biyopsi VISTA Ekspresyonu ile Hastalıksız Sağkalım İlişki Grafiği	39
Şekil 4.6 Hastaların Birinci Biyopsi VISTA Ekspresyonu ile Genel Sağkalım İlişki Grafiği	40
Şekil 4.7 Hastaların İkinci Biyopsi VISTA Ekspresyonu ile Genel Sağkalım İlişki Grafiği	40
Şekil 4.8 Tedavi Öncesi ve Sonrası VISTA Ekspresyonu	41

1. GİRİŞ

Baş boyun kanserleri (BBK) ciddi morbidite ve mortaliteye sahip paranazal sinüs, nazofarinks, oral kavite, orofarinks, hipofarinks, larinks ve tükürük bezi kanserlerinden oluşmaktadır [1]. Erken ve ileri evre olarak kabaca ikiye ayrılan hastalığın başlıca tedavi yöntemleri cerrahi, radyoterapi (RT), kemoterapi (KT) ve immünoterapidir. Erken evrede cerrahi ve/veya radyoterapi, ileri evrede cerrahi ve/veya kemoradyoterapi (KRT) uygulanmaktadır [2, 3]. Hastalar tanı anında çoğunlukla lokal ileri evrededir ve agresif tedaviye rağmen sık nüks görülmektedir. Lokal ileri veya rezeke edilemeyen hastalıkta cerrahi ve/veya KRT ile sağkalım oldukça düşüktür. Metastatik hastalıkta ise sistemik tedaviyle sağkalım süreleri halen kısadır ve yeni tedavilere ihtiyaç vardır. Sağkalım sürelerinin uzatılması için çok sayıda tedavi ajanı araştırılmakta olup, immün kontrol nokta inhibitörleri (ICI) umut vadetmektedir.

Baş-boyun kanseri tedavisinde oldukça önemli bir adım olan ve onaylanmış ICI tedavileri pembrolizumab ve nivolumabdır. ICI kullanımının ve deneyiminin artışıyla her hastada immünoterapi yanıtının aynı olmadığı gözlenmiştir. Bu tedavilerin bir grup hastada sağkalımı anlamlı olarak uzatırken, hastaların yarıya yakınında tedaviye çok az yanıt alınabildiği ya da yanıt alınamadığı görülmüştür. Yüksek maliyet, yan etki riskleri ve yanıt oranları göz önüne alındığında kullanılacak geçerli prediktif biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. İmmünoterapi yanıtını öngören bir belirteç bulunmamakla birlikte, immünohistokimyasal (IHC) olarak PD-L1 (Programmed death-ligand 1) ekspresyonunun artışı ile immünoterapi yanıtı arasındaki ilişki gösterilmiştir [4-

8]. Baş-boyun kanserleri de dahil birçok kanserde PD-L1 ekspresyonun daha iyi immünoterapi yanıtı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [9-12].

Gerek ekspresyonunun birçok faktörden etkilenmesi gerekse de hastalık patogenezinde henüz aydınlatılamamış birçok faktör bulunması nedeniyle immünoterapi yanıtını öngörmede tek başına PD-L1 ekspresyonu yeterli değildir ve ek belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır [13-16]. Günümüzde oldukça hız kazanmış olan immünoterapi çalışmalarında popüler bir diğer molekül VISTA'dır (V-domain Ig suppressor of T cell activation). VISTA yapısal olarak PD-L1 ile oldukça benzer olması nedeniyle PD-L1 homologue olarak değerlendirilmektedir ve ekspresyonunun PD-L1 ekspresyonu ile korele olduğu gösterilmiştir [17-19].

Imm noterapinin BBK tedavisinde nereye konumlandırılacağına dair sayısız çalışma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Kemoterapi ve radyoterapi ile indüklenen hücre ölümü sonucu salınan antijenler tümör immünojenitesini artırır. Daha immünojen duruma gelen tümöre yönelik oluşan anti-tümör yanıtın immünoterapi etkinliğini de artırarak sinerjistik etki oluşturacağı d ş n lmektedir [20-23]. Imm nojenik yanıtın bir göstergesi olarak, PD-L1 ve VISTA ekspresyonu da tedavi süreci içerisinde değişiklik göstermekte, kemoterapi ve radyoterapi sonrasında ekspresyonlarında artış görülebilmektedir [24-27]. Baş-boyun kanserlerinde de PD-L1 ve VISTA ekspresyonunun kemoterapi ve radyoterapi sonrası artış gösterebildiği kısıtlı sayıdaki çalışmada gösterilmiştir [28-30]. Yine de immünoterapi ajanlarının BBK hastalarında hangi basamakta kullanılacağı hakkında kesin görüş bildirmek için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu tez çalışmasında, BBK tanılı hastalarda, RT ve KRT'nin PD-L1 ve VISTA ekspresyonu üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Baş-boyun kanseri tanısı ile opere edilen, adjuvan RT ya da KRT alan ve takibinde nüks görülen ya da definitif KRT alıp refrakter olan hastaların ilk ve ikinci doku biyopsilerinde PD-L1 ve VISTA düzeyleri karşılaştırılmıştır. RT sonrası PD-L1 ve VISTA ekspresyonunda artış gösterilmesi durumunda takibinde verilecek immünoterapi etkinliğinin de artabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda birincil olarak (K)RT'nin PD-L1 ve VISTA düzeyine etkisinin, ikincil olarak PD-L1 ve VISTA düzeyinin sağkalım ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. EPİDEMİYOLOJİ

Baş-boyun kanserleri en sık görülen 6. kanser olup, 2018 yılında 890.000 yeni vaka tanı almış ve 450.000 ölüm bildirilmiştir [31]. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) Globocan 2020 verilerine göre de 6. sıradaki yerini korumaktadır. IARC Globocan 2020 Türkiye verileri incelendiğinde, ülkemizde en sık görülen 11. kanser olup insidans ve mortalitesi daha düşüktür [32]. Dünya genelinde en sık görülen alt grup dudak ve oral kavite, ikinci sırada larinks ve üçüncü sırada nazofarinkstir. Türkiye’de en sık görülen alt grup larinks, ikinci sırada dudak ve oral kavite ve üçüncü sırada nazofarinkstir. Türkiye dünya geneliyle karşılaştırıldığında hipofarinks ve orofarinks kanser insidansının daha düşük, tükürük bezi kanser insidansının dünya ortalamasına yakın olduğu görülmektedir (**Tablo 2.1 ve 2.2**)

Baş-boyun kanserleri sıklıkla ileri yaş erkeklerde görülür ancak son zamanlarda kadınlarda ve sigara içmeyen genç erkeklerde artış görülmektedir. Kadınların daha ileri yaşta ve daha erken T ve N evresinde tanı aldığı saptanmıştır [33]. Dağılımında cinsiyet ve genetik faktörlere bağlı olarak coğrafik, etnik ve sosyoekonomik farklılıklar görülmektedir [34].

Tablo 2-1 IARC Globocan 2020 Global Kanser İnsidans-Mortalite-Prevelansı

Cancer	New cases				Deaths				5-year prevalence (all ages)	
	Number	Rank	(%)	Cum.risk	Number	Rank	(%)	Cum.risk	Number	Prop.
Breast	2 261 419	1	11.7	5.20	684 996	4	6.9	1.49	7 790 717	0
Lung	2 206 771	2	11.4	2.74	1 796 144	1	18.0	2.18	2 604 791	0
Prostate	1 414 259	3	7.3	3.86	375 304	8	3.8	0.63	4 956 901	0
Colon	1 148 515	4	6.0	1.30	576 858	5	5.8	0.55	3 045 225	0
Stomach	1 089 103	5	5.6	1.31	768 793	3	7.7	0.90	1 805 968	0
Liver	905 677	6	4.7	1.11	830 180	2	8.3	1.01	994 539	0
Rectum	732 210	7	3.8	0.91	339 022	10	3.4	0.37	2 066 732	0
Cervix uteri	604 127	8	3.1	1.39	341 831	9	3.4	0.82	1 495 211	0
Oesophagus	604 100	9	3.1	0.78	544 076	6	5.5	0.68	666 388	0
Thyroid	586 202	10	3.0	0.68	43 646	25	0.44	0.05	1 984 927	0
Bladder	573 278	11	3.0	0.64	212 536	14	2.1	0.18	1 720 625	0
Non-Hodgkin lymphoma	544 352	12	2.8	0.62	259 793	12	2.6	0.27	1 544 488	0
Pancreas	495 773	13	2.6	0.55	466 003	7	4.7	0.51	379 958	0
Leukaemia	474 519	14	2.5	0.50	311 594	11	3.1	0.32	1 340 506	0
Kidney	431 288	15	2.2	0.52	179 368	16	1.8	0.20	1 207 547	0
Corpus uteri	417 367	16	2.2	1.05	97 370	20	0.98	0.22	1 415 213	0
Lip, oral cavity	377 713	17	2.0	0.46	177 757	17	1.8	0.22	959 248	0
Melanoma of skin	324 635	18	1.7	0.37	57 043	23	0.57	0.06	1 092 818	0
Ovary	313 959	19	1.6	0.73	207 252	15	2.1	0.49	823 315	0
Brain, central nervous system	308 102	20	1.6	0.35	251 329	13	2.5	0.30	837 152	0
Larynx	184 615	21	0.96	0.25	99 840	19	1.0	0.13	518 380	0
Multiple myeloma	176 404	22	0.91	0.21	117 077	18	1.2	0.13	450 579	0
Nasopharynx	133 354	23	0.69	0.16	80 008	22	0.80	0.10	382 507	0
Gallbladder	115 949	24	0.60	0.13	84 695	21	0.85	0.09	137 466	0
Oropharynx	98 412	25	0.51	0.13	48 143	24	0.48	0.06	258 543	0
Hypopharynx	84 254	26	0.44	0.11	38 599	26	0.39	0.05	132 717	0
Hodgkin lymphoma	83 087	27	0.43	0.09	23 376	28	0.23	0.02	281 112	0
Testis	74 458	28	0.39	0.14	9 334	34	0.09	0.02	296 686	0
Salivary glands	53 583	29	0.28	0.06	22 778	29	0.23	0.03	160 292	0
Anus	50 865	30	0.26	0.06	19 293	30	0.19	0.02	141 378	0
Vulva	45 240	31	0.23	0.09	17 427	31	0.18	0.03	135 892	0
Penis	36 068	32	0.19	0.09	13 211	33	0.13	0.03	102 157	0
Kaposi sarcoma	34 270	33	0.18	0.03	15 086	32	0.15	0.01	82 033	0
Mesothelioma	30 870	34	0.16	0.03	26 278	27	0.26	0.03	37 047	0
Vagina	17 908	35	0.09	0.04	7 995	35	0.08	0.02	44 613	0
All cancer sites	19 292 789	-	-	20.44	9 958 133	-	-	10.65	50 550 287	0

Tablo 2-2 IARC Globocan 2020 Türkiye Kanser İnsidans-Mortalite-Prevelansı

Cancer	New cases				Deaths				5-year prevalence (all ages)	
	Number	Rank	(%)	Cum.risk	Number	Rank	(%)	Cum.risk	Number	Prop.
Lung	41 264	1	17.6	4.82	37 070	1	29.3	4.47	45 607	0
Breast	24 175	2	10.3	4.89	7 161	4	5.7	1.39	83 973	0
Prostate	19 444	3	8.3	5.26	5 464	6	4.3	0.85	69 682	0
Thyroid	13 682	4	5.9	1.41	795	21	0.63	0.09	47 883	0
Stomach	13 075	5	5.6	1.46	10 789	2	8.5	1.18	19 781	0
Bladder	12 248	6	5.2	1.47	3 771	11	3.0	0.36	35 857	0
Colon	12 217	7	5.2	1.41	6 545	5	5.2	0.66	31 660	0
Rectum	8 741	8	3.7	1.03	4 178	10	3.3	0.46	24 796	0
Pancreas	8 392	9	3.6	0.94	8 214	3	6.5	0.92	6 392	0
Leukaemia	7 023	10	3.0	0.69	4 831	9	3.8	0.48	20 820	0
Non-Hodgkin lymphoma	6 237	11	2.7	0.69	3 067	12	2.4	0.33	18 873	0
Brain, central nervous system	6 102	12	2.6	0.65	5 070	8	4.0	0.56	17 034	0
Corpus uteri	5 918	13	2.5	1.35	1 589	16	1.3	0.34	19 556	0
Liver	5 649	14	2.4	0.63	5 461	7	4.3	0.61	5 480	0
Kidney	5 125	15	2.2	0.61	1 965	15	1.6	0.23	14 172	0
Larynx	4 108	16	1.8	0.51	1 496	17	1.2	0.18	12 082	0
Ovary	4 059	17	1.7	0.84	2 730	13	2.2	0.58	11 278	0
Multiple myeloma	2 680	18	1.1	0.32	1 970	14	1.6	0.23	6 886	0
Cervix uteri	2 532	19	1.1	0.51	1 245	19	0.99	0.25	7 163	0
Lip, oral cavity	2 103	20	0.90	0.24	592	24	0.47	0.06	5 920	0
Melanoma of skin	1 756	21	0.75	0.18	888	20	0.70	0.09	5 424	0
Testis	1 605	22	0.69	0.27	176	27	0.14	0.03	6 016	0
Hodgkin lymphoma	1 520	23	0.65	0.14	378	26	0.30	0.04	5 445	0
Oesophagus	1 405	24	0.60	0.16	1 338	18	1.1	0.15	1 606	0
Nasopharynx	1 089	25	0.47	0.12	613	23	0.49	0.08	3 283	0
Mesothelioma	896	26	0.38	0.11	707	22	0.56	0.09	1 181	0
Gallbladder	767	27	0.33	0.08	505	25	0.40	0.05	892	0
Salivary glands	552	28	0.24	0.06	129	28	0.10	0.01	1 754	0
Kaposi sarcoma	525	29	0.22	0.05	75	33	0.06	0.01	1 506	0
Vulva	286	30	0.12	0.06	93	30	0.07	0.02	862	0
Hypopharynx	267	31	0.11	0.03	98	29	0.08	0.01	484	0
Anus	233	32	0.10	0.03	75	32	0.06	0.01	666	0
Oropharynx	219	33	0.09	0.03	86	31	0.07	0.01	584	0
Vagina	111	34	0.05	0.02	36	34	0.03	0.01	310	0
Penis	23	35	0.01	0.01	7	35	0.01	0.00	70	0
All cancer sites	233 834	-	-	23.35	126 335	-	-	13.05	581 636	0

2.2. ETİYOLOJİ

Baş-boyun kanseri etiolojisinde sigara ile alkol önemli bir yer tutar ve sinerjistik etkilidir [35, 36]. Sigara p53- p16 üzerinden hücre döngüsünü bozarak; alkol direkt toksik etkileri ve indirekt diğer kanserojenlerin etkilerini artırarak patogeneze rol alır [37-39].

Enfeksiyonlar etiolojide önemlidir. Epstein-Barr virüs (EBV) ve Human papilloma virüs (HPV) başlıca suçlanan onkogenik viral etkenlerdir. Epstein-Barr virüs özellikle Akdeniz ve Uzak Doğu'da nazofarinks, HPV özellikle Batılı ülkelerde orofarinks kanseri patofizyolojisinde rol alır. Etiyolojide yer aldıkları gibi, prognostik oldukları da gösterilmiştir [40, 41]. Epstein-Barr virüsün epitel hücreleri ile B hücrelere tropizmi mevcuttur ve bu hücrelerde latent kalabilir. Latent dönemde viral onkogenler devamlı çoğalırken epigenetik değişikliklerle epitel hücrelerine progenitör kök hücre özelliği kazandırır. Bu değişiklikler EBV ilişkili tümörlerin hızlı büyüme ve yayılımını kolaylaştırır [42, 43]. Human papilloma virüs skuamöz epitel hücrelerine bulaşır ve bu hücrelerde kontrolsüz bölünmeye neden olur. Bu dönüşüme en yatkın grup tonsil ve tonsil çevresi epitel hücreleridir [44]. Patofizyolojik mekanizma incelendiğinde, HPV'nin E6/E7 proteinleri aracılığıyla p53 ve Retinoblastom (Rb) tümör supresör genleri üzerinden etki gösterdiği görülmektedir.

Diğer etiyolojik faktörler kronik irritasyon, genetik yatkınlık, güneş-radyasyon maruziyeti, beslenme (karotenoid eksikliği), kötü ağız bakımı, uygun olmayan protezler, kimyasal maruziyet (nikel, asbest), kronik enfeksiyonlardır. Bu faktörlerin birçok kanser etiolojisinde ortak olması nedeniyle BBK'de senkron-

metakron tümörler sıktır [45-47]. İkincil tümörler özellikle baş-boyun, akciğer ve özefagusta görülür [48].

2.3. HİSTOPATOLOJİ VE KARSİNOGENEZ

Baş-boyun kanserlerinin en sık görülen tipi skuamöz hücreli karsinomdur. Daha az sıklıkta lenfoepitelyoma, içsi hücreli karsinom, verriköz karsinom, undiferansiye karsinom, lenfoma, nöroendokrin tümör, sarkom, malign melanom görülür [49].

Baş-boyun kanseri premalign lezyonları; lökoplaki, eritroplaki, skuamöz displazi, submukozal fibrozisdir. Lökoplaki WHO (World Health Organization) tarafından ‘başka bir hastalıkla klinik veya patolojik olarak karakterize edilemeyen beyaz plak veya yama’ olarak tanımlanmaktadır [50]. Lökoplaki risk faktörleri sigara-alkol olup, erkeklerde daha sık görülür. Diğer taraftan tütün kullanmayanlarda ve kadınlarda gelişen lökoplakinin malignite riski daha yüksektir [51, 52]. Eritroplaki oral mukozadaki kırmızı plak olarak tanımlanır, lökoplakiden daha nadirdir ancak malign potansiyeli daha fazladır. İnvaziv kanser gelişiminde birçok basamak ile çok sayıda sitogenetik ve moleküler değişiklik mevcuttur (**Şekil 2.1**) (**Tablo 2.3**).

Şekil 2.1. Baş-Boyun Kanserinde İnvaziv Kanser Gelişimi [53]



Tablo 2-3 Baş-Boyun Kanserleri Sitogenetik ve Moleküler Değişiklikler [54, 55]

Sitogenetik Değişiklikler	Moleküler Değişiklikler
➤ Kromozom, DNA, RNA veya protein yapılarında nokta mutasyon, delesyon ve amplifikasyon	➤ Mikrosatellit İnstabilite ➤ Heterozigosite kaybı ➤ P53 supresyonu ➤ Telomeraz aktivasyonu ➤ EGFR aktivasyonu ➤ VEGF artışı ➤ TGF- β reseptör kaybı

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit, RNA: Ribo Nükleik Asit, MSI: Mikrosatellit İnstabilite, EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor, VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor, TGF- β : Transforming Growth Factor- β

2.4. TANI

Baş-boyun kanserleri heterojen bir tümör grubudur ve başlangıç belirtisi geniş bir yelpazeye sahiptir. Genellikle ilk belirti primer tümör ilişkilidir, nadiren hastalar lenf nodu veya metastazdan tanı alır.

Tablo 2-4 Baş-Boyun Kanseri Başvuru Belirti ve Bulguları [56-58].

Paranasal Sinüs Kanseri	➤ Epistaksis ➤ Nazal obstrüksiyon	➤ Baş ağrısı
Nazofarinks Kanseri	➤ Nazal obstrüksiyon ➤ Hemoptizi ➤ Epistaksis ➤ Ele gelen kitle	➤ Tek taraflı seröz otitis media ➤ Kraniyal sinir tutulumu- Nöropati ➤ Tinnitus
Oral Kavite Kanseri	➤ İyileşmeyen yara ➤ Dizartri ➤ Disfaji	➤ Ağrılı lezyonlar ➤ Dil hareketlerinde kısıtlılık ➤ Lenfadenopati
Orofarinks Kanseri Hipofarinks Kanseri	➤ Otalji ➤ Ses değişikliği ➤ Uyku apne sendromu ➤ Odinofaji	➤ Ele gelen kitle ➤ Yutma güçlüğü ➤ Lenfadenopati ➤ Disfaji
Larinks Kanseri	➤ Ses kısıklığı ➤ Öksürük ➤ Hemoptizi	➤ Disfaji ➤ Boğaz ağrısı ➤ Stridor
Primeri Bilinmeyen Kanseri	➤ Lenfadenopati	

Tanıda anamnez, fizik muayene takibinde endoskopik inceleme yapılır. Endoskopik olarak tümör lokalizasyonu, büyüklüğü ve yayılımı değerlendirilir. Bulgular ışığında doku biyopsisi, lenf nodu sitolojisi, HPV-EBV araştırılması ve ileri görüntüleme gerekebilir. Kesin tanı biyopsi ile konur.

Tablo 2-5 Baş-Boyun Kanserleri Tanı ve Evrelemesi [59-61]

Genel Yaklaşım	Yayılım Değerlendirme	İkincil Primer Değerlendirme
➤ Anamnez ➤ Fizik Muayene ➤ Rijit Endoskopi ➤ Kan Tetkikleri ➤ Biyopsi ➤ Performans ➤ Konuşma ➤ Yutma ➤ Beslenme Durumu	➤ USG ➤ Kontrastlı BT ➤ MRI ➤ PET ➤ Baş Boyun Endoskopisi	➤ Üst GIS Endoskopi ➤ Bronkoskopi ➤ Baş Boyun Endoskopisi

USG: Ultrasonografi, BT: Bilgisayarlı Tomografi, MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme, PET: Pozitron Emisyon Tomografi

2.5. EVRELEME

Baş-boyun kanserleri evrelemesinde AJCC (American Joint Committee on Cancer) / IUCC (International Union Against Cancer) tarafından oluşturulan TNM sistemi kullanılır. TNM evrelemesi tedavi öncesi cTNM; cerrahi sonrası pTNM ve rekürren hastalıkta rTNM şeklindedir ve dünya genelinde klinisyenler için ortak bir kullanım aracıdır [62]. Bu sistemde T (Tümör) artan tümör boyutu ve tümör invazyon derinliğine göre T1-T3 olarak; diğer yapılara (kemik, kas, kıkırdak) invazyon ile T4 olarak evrelendirilir. N (Lenf Nodu) sayı-büyük-lökalizasyonuna (ipsilateral/kontralateral – bilateral/unilateral) göre evrelendirilir. M (Metastaz) uzak metastazı değerlendirir, tanı anında az sayıda hastada ve genellikle ileri lenf nodu evresi olan hastalarda mevcuttur [63, 64].

Tablo 2-6 Baş-Boyun Kanseri TNM Evrelemesi [65]

EVRE	TNM		
EVRE I T1: Tümör boyutu ≤ 2 cm; ekstraparankimal yayılım yok N0: Lenf nodu metastazı yok	T1	N0	M0
EVRE II T2: Tümör boyutu > 2 cm- ≤ 4 cm; ekstraparankimal yayılım yok N0: Lenf nodu metastazı yok	T2	N0	M0
EVRE III T3: Tümör boyutu > 4 cm ve/veya ekstraparankimal yayılım var N1: İpsilateral boyutu ≤ 3 cm tek lenf nodu metastazı	T3 T1 T2 T3	N0 N1 N1 N1	M0 M0 M0 M0
EVRE IVA T4a: Tümör deri, mandibula, kulak kanalı ve/veya fasyal sinire invaze N2a: İpsilateral boyutu > 3 cm- ≤ 6 cm tek lenf nodu metastazı N2b: İpsilateral boyutu ≤ 6 cm birden fazla lenf nodu metastazı N2c: Bilateral ya da kontralateral boyutu ≤ 6 cm birden fazla lenf nodu metastazı	T4a T4a T1 T2 T3 T4a	N0 N1 N2 N2 N2 N2	M0 M0 M0 M0 M0 M0
EVRE IVB T4b: Tümör kafa tabanı ve/veya pterigoid alana invaze ve/veya karotis arteri çevreliyor N3: En büyük boyutu > 6 cm lenf nodu metastazı	T4b Any T	Any N N3	M0 M0
EVRE IVC M1: Uzak metastaz	Any T	Any N	M1

Tablo 2-7 Baş-Boyun Kanseri için AJCC8 Değişiklikleri [66, 67]

Tümör Tipi	T Evrelemesi	N Evrelemesi
HPV İlişkili Oropharyngeal SCC	➤ p16 / HPV (+)→ yeni T,N ve prognostik evre ➤ T4a ve T4b kaldırıldı → T4	➤ cN1: Ipsilateral LN ➤ cN2: Bilateral/ kontralateral LN ➤ cN3: >6 cm LN ➤ Patolojik nodal evreleme
Non-HPV Oropharyngeal SCC		➤ N3b: Klinik ektranodal yayılım ➤ Patolojik nodal evreleme
Nazofaryngeal Kanseri	➤ Pterigoid kas tutulumu → T2 ➤ Prevertebral kas tutulumu → T2 ➤ Parotis invazyonu → T4	➤ Supraklavikuler fossa terimi kaldırıldı ➤ N3a/N3b kaldırıldı ➤ Seviye IV-Vb LN → N3 ➤ >6 cm LN → N3
Oral Kavite Kanseri	➤ Dudak SCC evrelemesi→ BB cilt tümörleri gibi ➤ T4'ü belirleyen ekstrasik kas tutulumu yok ➤ Yeni kriter→ invazyon derinliği	➤ Non-HPV ve non-EBV tablo

LN: Lenf Nodu SCC: Skuamöz Hücreli Kanseri BB: Baş-Boyun

2.6. TEDAVİ

Baş-boyun kanserlerinin tedavisi multidisipliner yaklaşım gerektirir. Tedavi hasta performansı, tümör lokalizasyonu, evresi (cerrahi sınır, lenf nodu dağılımı-boyutu, metastaz), tedavi duyarlılığına göre şekillenir. Tedavi seçenekleri cerrahi, RT, KT ve immünoterapidir.

Erken (evre I-II); T1-2/N0 hastalıkta cerrahi veya RT uygulanır. İleri (evre III-IV); T3-4/N0-3 hastalıkta cerrahi ve/veya (K)RT uygulanır (**Tablo 2.8**). Cerrahi seçildiğinde geniş eksizyon + bilateral boyun diseksiyonu + rekonstrüksiyon takibinde (K)RT eklenir. Tek başına KRT non-rezektabl hastalıkta veya hastalığı rezektabl olup performansı ve yaşam beklentisi düşük hastalarda tercih edilir. Nodal hastalığı olanlarda (K)RT sonrası rezidü lenf nodu kalan hastalarda lenf nodu diseksiyonu yapılmalıdır [68-71]. Lokal ileri hastalıkta KRT kombinasyonunun RT veya kemoterapiye kıyasla lokal kontrol ve sağkalım sonuçları daha iyidir. Kemoterapi; RT ile ardışık/eşzamanlı olarak uygulanabilir Eşzamanlı KRT’de sisplatin tercih edilir ve önerilen doz $\geq 200 \text{ mg/m}^2$ dir. Yüksek doz sisplatinini tolere edemeyecek veya sisplatinin uygun olmadığı hastalarda platin+ 5-Fluorourasil (5-FU) ve/veya setuksimab kullanılabilir. Ardışık tedavide indüksiyonda taksan+ platin+ 5-FU kullanılır. Rekürren/metastatik hastalıkta EXTREME rejimi olarak bilinen platin+5-FU+setuksimab kombinasyonu ya da platin dirençli hastalarda metotreksat, taksan ve setuksimab kullanılmaktadır [72]. Yapılan çalışmalarda pembrolizumab ve nivolumabın sağkalım üzerine olumlu etki gösterdiği saptanmıştır. Bu çalışmalar ışığında Food and Drug Administration (FDA) 2016’da platin dirençli R/M BBK’de pembrolizumab ve nivolumab kullanımını onaylamıştır. Ardından 2019’da rezeke edilemeyen veya R/M BBK’de ilk basamak tedavide platin+5-FU ile birlikte veya PD-L1 pozitif hastada monoterapi olarak pembrolizumab kullanımını onaylamıştır. Rekürren/metastatik (R/M) hastalık tedavi şeması Tablo 2.9’da sunulmuştur. Baş-boyun kanser tedavisi tarihsel gelişimi Şekil 2.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2-8 Neoadjuvan- Adjuvan Tedavi Endikasyonları

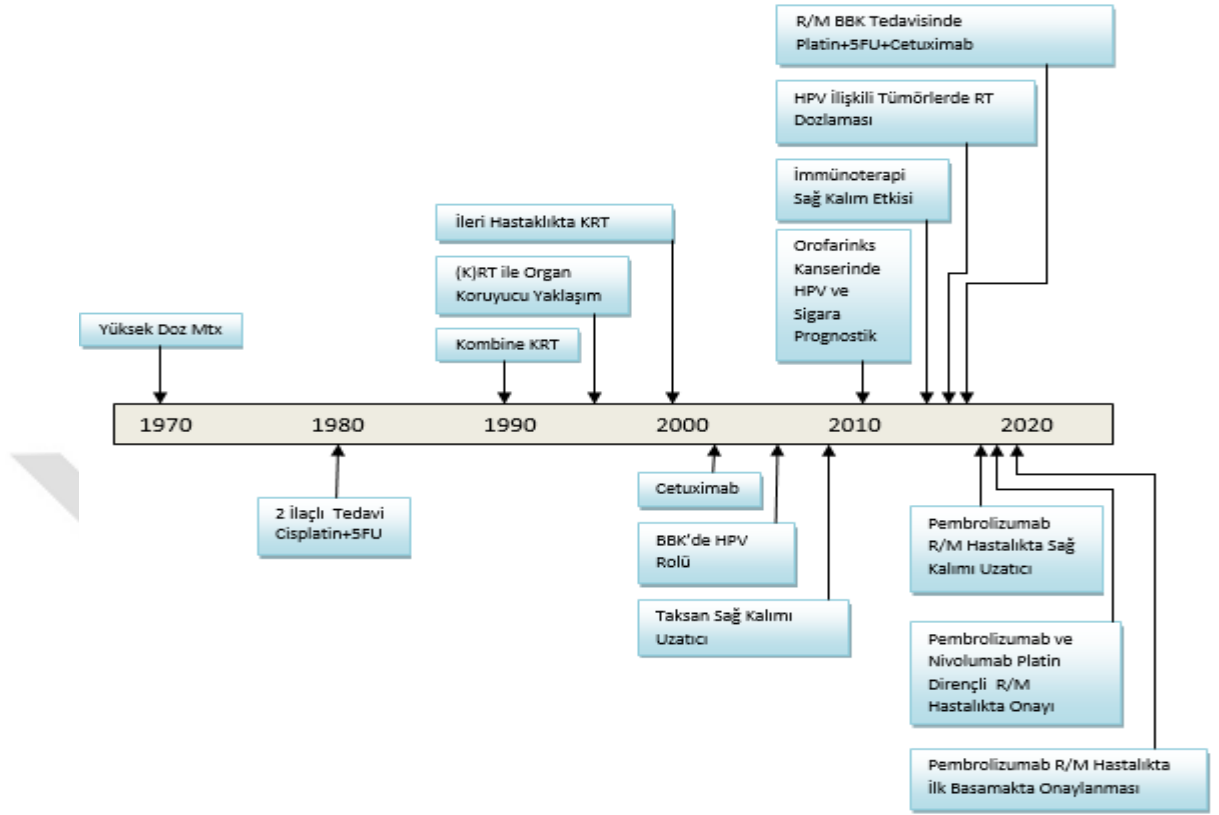
Neoadjuvan RT	Adjuvan KRT	Adjuvan RT
➤ Yüksek tümör yükü ➤ Rezeke edilecek dokunun küçültülmesi ➤ Lokal nüks ve metastazın önlenmesi	➤ T3-4 hastalık ➤ R1-R2 rezeksiyon ➤ Perinöral/lenfovasküler invazyon ➤ Ekstrakapsüler yayılım	➤ Tek başına lenf nodu tutulumu

Tablo 2-9 Rekürren/Metastatik Hastalıkta Son 6 Ay İçinde Verilen Tedavilere Göre Tedavi Şeması

REKÜRREN /METASTATİK HASTA			
PLATİN ALMAMIŞ		PLATİN ALMIŞ	PLATİN ALMIŞ
PD-L1 POZİTİF	PD-L1 NEGATİF	İMMUNOTERAPİ ALMAMIŞ	İMMÜNOTERAPİ ALMIŞ
Pembrolizumab Monoterapi veya Pembrolizumab+ Platin/ 5-FU	Platin/5-FU/ Setuksimab	Nivolumab Pembrolizumab	Taksan Metotreksat Setuksimab Destek Tedavi

5-FU: 5-Fluorourasil

Şekil 2.2 Baş-Boyun Kanserleri Tedavi Gelişimi- Zaman Çizelgesi [72-85]



2.7. İMMÜN YANIT VE İMMÜN KONTROL NOKTA İNHİBİSYONU

Tümör hücreleri gelişim, büyüme ve yayılım için çok sayıda mekanizmaya sahiptir (**Tablo 2.10**). Bunların içinde immün sistemden kaçış mekanizmaları son zamanlarda özel ilgi toplamıştır. İmmün yanıtın oluşmasında sayısız hücre, sinyal ve yolak mevcut olup bunların içinde T lenfositler oldukça önemli bir yere sahiptir. T hücre aktivasyonunda 2 sinyale ihtiyaç vardır. Birinci sinyal T hücre reseptörünün major histocompatibility complex (MHC) molekülleri ile sunulan spesifik antijenleri tanınması, ikinci sinyal T hücre yüzeyindeki CD28 ile APC

üzerindeki B7 molekülünün birleşmesi ile oluşur. Tümör hücrelerinin sebep olduğu T hücre disfonksiyonu tümör patogenezinin her basamağında kritiktir.

İmmün kontrol noktasında; T hücre reseptörlerinin antijenleri tanımasını sağlayan sinyallerin kontrolü gerçekleştirilir. Burada görevli çok sayıda molekülün başlıcaları Cytotoxic T-Lymphocyte-associated Antigen 4 (CTLA-4), Programmed Death-1 (PD-1), Lymphocyte Activation gene-3 (LAG-3), T Cell Membrane Protein 3 (TIM-3)tür. İmmünoterapi ajanlar, bu kontrol noktalarını hedef alarak, kanser hücrelerinin immün sistem aracılı eliminasyonunu sağlayan yeni tedavi ajanlarıdır [86]. CTLA-4 ve PD-1 birçok kanser tedavisinde hedef molekül olarak kullanılmaktadır [87].

Tablo 2-10 Tümör Gelişim Mekanizmaları [88, 89]

➤	Devamlı proliferatif sinyal üretimi
➤	Büyüme baskılayıcılardan kaçma
➤	Telomeraz inhibisyonu- immortalite
➤	Hücrel ölümüne direnç
➤	Anjiogenez, invazyon, metastaz
➤	İmmün sistemden kaçış- İmmün kontrol nokta inhibisyonu

Tablo 2-11 T Hücre Disfonksiyonu [90-93]

Genetik	➤ Neoantijen üretimi ➤ Mutasyonel yük ➤ Tümör mikro çevresinin moleküler profili (HLA I kaybı)
Antijen Sunumu ve Sinyal Değişikliği	➤ Disfonksiyonel dendritik hücre ➤ Bozulmuş T hücre aktivasyonu, T hücre apoptoz indüksiyonu ➤ Antijen sunumunda modülasyon ➤ T hücre göçünün engellenmesi, T hücrelerin ECM’de birikimi ➤ T hücre inhibitör reseptör ekspresyonu ➤ Kronik uyarılma sonucu T hücre tükenmesi ➤ ECM’nin kanser ilişkili fibroblastlar ile yeniden şekillenmesi
İmmünsupresyon	➤ Baskılayıcı hücrelerin çoğalması (yüksek Treg oranı) ➤ T hücre aktivator sinyallerin baskılanması
Metabolik	➤ Besin ve oksijen yarışı

HLA: Human Leucocyte Antigen, ECM: Ekstrasüler Matriks, Treg: Regulatory T Cells

2.8. PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1) ve VISTA (V-domain Ig suppressor of T cell activation)

2.8.1 PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1)

PD-1 (Programmed Death-1); T ve B lenfositler ile dendritik hücrelerde bulunan B7/CD28 ailesinden transmembran inhibitör proteindir. PD-1’in PD-L1

ve PD-L2 olarak 2 ligandı mevcuttur. PD-L1 T ve B lenfositler, dendritik hücreler, makrofajlar, mezenkimal kök hücreler, endotelial, epitelyal, inflamatuvar ve malign hücrelerde eksprese edilirken, PD-L2 makrofaj, dendritik ve mast hücrelerde eksprese edilir [94]. Normal dokularda PD-L1 immün tolerans, yabancı hücrelerin uzaklaştırılması ve kronik enfeksiyonlarda doku hasarının kontrolünde görevlidir [95, 96].

PD-1/PD-L1 etkileşimi immün yanıtı baskılayarak sitokin üretiminde azalma, T hücre anergi ve apoptozuna neden olur. Bu etkileşimle interferon gamma (IFN- γ), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), İnterlökin 12 (IL-12) azalır [97]. Tümör PD-L1 ekspresyonu T hücrelerinde fonksiyonel disfonksiyona yol açarak immün kaçışa yardımcı olur [98, 99].

PD-1/PD-L1 etkileşimi mesane, melanom, küçük hücreli dışı akciğer, baş boyun ve meme başta olmak üzere çok sayıda kanserde saptanmıştır [100-102]. Baş-boyun kanserlerinde PD-L1 ekspresyonunun prognostik olduğu düşünülmektedir [103, 104]. Ancak prognoz üzerine etkisi üzerine çelişkili sonuçlar mevcuttur [105]. Oral kavite kanserinde PD-L1 ekspresyonunun kötü prognostik faktör iken larinks kanserinde iyi prognostik olduğu bulunmuştur [106, 107].

PD-L1 ekspresyonu çok sayıda faktörden etkilenir (**Tablo 2.12**). PD-L1 IHC değerlendirilmesinde Tumor Proportion Score (TPS), Combined Positivity Score (CPS) veya Immune Cell Score (IC) kullanılır. TPS; hücre membranı parsiyel ya da tam olarak PD-L1 ile boyanan canlı tümör yüzdesidir, sadece tümör hücrelerini değerlendirir. CPS; PD-L1 ile boyanan hücre (tümör, lenfosit,

makrofaj) sayısının toplam canlı tümör hücre sayısına bölümünün 100’le çarpımıdır, hem tümör hücrelerini hem tümör etrafı stromayı değerlendirir. IC; PD-L1 pozitif hücre ile çevrili tümöral alanın oranını belirtir [108-112].

Tablo 2-12 PD-L1 Ekspresyonunu Etkileyen Faktörler

➤	Değerlendirilen antikor klonu
➤	Kullanılan skorelama yöntemi
➤	Tümör heterojenitesi (primer / metastatik; biyopsi/cerrahi)
➤	Uygulanan tedaviler
➤	Arşiv/ frozen
➤	Genetik, inflamatuvar ve onkojenik sinyaller

2.8.2 VISTA (V-domain Ig suppressor of T cell activation)

VISTA (V-domain Ig suppressor of T cell activation) B7 ailesinden transmembran bir proteindir. İşlevsel olarak PD-L1 homologudur [113]. VISTA dokuya özgü bir moleküldür; inhibitör ya da stimulan olarak tek bir gruba dahil edilememektedir [114]. Tümör ile hematopoetik hücrelerde eksprese edilir. Myeloid ve lenfoid seride bulunması nedeniyle hem doğal hem kazanılmış bağışıklıkta rol alır [115]. Reseptör ve ligand görevi mevcuttur. T hücre üzerinde T hücre aktivitesini negatif düzenleyen reseptör görevindeyken Ig füzyon proteini için ligand görevindedir. VISTA-Ig füzyon proteini etkileşiminde CD4-CD8 hücreler baskılanıp IFN, IL-2 üretimi azalırken myeloid hücre VISTA

ekspresyonuyla IL-6, IL-8, TNF- α 'nın arttığı görülmüştür [116]. VISTA inhibisyonuyla proinflamatuvar sitokinler artar ve T hücreler üzerindeki baskılanma ortadan kalkar [117].

VISTA normal dokularda inflamasyon, kanser ve otoimmün süreçlerde rol alır [118]. Yapılan çalışmalarda CTLA-4 eksikliğinin ölümcül lenfoproliferatif hastalığa; PD-1 eksikliğinin dilate kardiyomyopati ve lupus benzeri fenotipe; PD-L1 inhibisyonunun otoimmün diyabet, otoimmün böbrek hasarı ve otoimmün hepatite sebep olduğu gösterilmiştir [119-124]. Wang ve ark. VISTA inhibisyonu ile spontan T hücre aktivasyonu, abartılı T hücre yanıtı ve kronik çoklu organ inflamasyonu geliştiğini saptamıştır [125].

Preklinik bir çalışmada anti-VISTA tedavinin tümör spesifik T hücre yanıtını artırdığı, Treg supresör etkisini bozduğu ve tümör mikro çevresindeki baskılayıcı etkiyi azalttığı böylece tümör büyümesini baskıladığı görülmüştür ve bu durum VISTA'nın potansiyel bir tedavi ajanı olarak önemini vurgulamaktadır [126].

VISTA immün sistemde hem aktivatör hem supresan etkili olması, hem doğal hem kazanılmış bağışıklıkta görev alması tedavi potansiyeli olarak bu molekülü çok özellikli bir hale getirmektedir. Bu hedefle yapılan çalışmalarda, VISTA ekspresyonu ile birçok kanserde sağkalım ilişkisi saptanmıştır [127-130]. Fakat bu çalışmalarda değerlendirilen hücrelere göre (immün hücreler / tümör hücreleri) VISTA ekspresyonunda farklılıklar saptanmıştır. Bu nedenle, daha fazla hasta sayısı ile yapılacak ek çalışmalar, VISTA değerlendirilmesinin standardizasyonuna katkı sağlayacaktır.

2.8.3 PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1) ve VISTA (V-domain Ig suppressor of T cell activation) – Tedavi İlişkisi

PD-L1 ve VISTA ekspresyonu statik bir süreçten ziyade dinamik bir süreçtir; birçok kanserde ekspresyonları tedavi ile değişmektedir. Bu dinamik sürecin kanser tedavisi süresince takip edilmesi tedavi yanıtları ile ilişkili olabilir.

İyonizan radyasyon direkt ve dolaylı (serbest radikaller) olarak çok sayıda hücresel yapıda hasar oluşturur. Hasarlanan hücrede apoptoz, nekroz, nekroptoz, mitotik yıkım, otofaji veya yaşlanma gelişebilir [131, 132]. Tümör hücrelerinden DNA, damage associated molecular patterns (DAMPs), neoantijenler açığa çıkarak MHC-I ekspresyonunu artırır. Bu moleküllerin dendritik hücrelerle T hücrelere sunumu artar. Tedavi ile vasküler geçirgenlikte meydana gelen artış sonucu CD8 T hücre ve makrofaj infiltrasyonu olur [133, 134]. Bu hipotezi destekleyecek en büyük örnek olarak, radyoterapiye bağlı apiskobal etkiden söz edilebilir. RT lokal bir tedavi yöntemi olmasına rağmen uygulanan alan dışındaki tümörde de küçülme görülebilir ki buna apiskobal etki denir. Radyoterapinin immünoterapi ile kombine kullanılması ile apiskobal etkinin artabileceği öne sürülmüştür [135-137]. Baş-boyun kanserinde de RT ile PD-L1 ekspresyonunun arttığı çalışmalar gösterilmiş olup, bu apiskobal etkiden yararlanmak akılcı görünmektedir [138].

Diğer taraftan, radyasyon immün sistem üzerinde immün stimulan olduğu kadar immünsupresan etki de gösterebilir. Bu etkisini ROS artışına bağlı TGF- β üretimini artırarak gerçekleştirir. TGF- β artışı dendritik hücrelerin toleransını artırır ve tümör antijenitesini azaltır [139]. Bu nedenle immünoterapinin tedavide

(K)RT ile birlikte kullanımında zamanlama, doz ve fraksiyona bağı olarak tedavi yanıtında farklılıklar görülebileceğı de düşünölmektedir [140, 141].

Kemoterapi, tümör mikro çevresinde oluşturduğı değışiklikler ve immünojenik hücre ölümlü ile PD-L1 ekspresyonunu uyarır [142]. Siklofosfamid, okzaliptin, 5-FU ve bleomisin immünojenik hücre ölümlüne sebep olabilen kemoterapötiklerden birkaçıdır. Baş-boyun kanserinde sisplatin tedavisinin PD-L1 ekspresyonunu arttırdığı çalışmalarda gösterilmiştir [143].

Bu bilgiler ışığında, birçok kanserde RT/KT ile immünoterapi kombinasyonunun sinerjistik etkisi doğrulanmıştır [144]. Baş-boyun kanserinde immünoterapi ile alınan olumlu sonuçlar çok sayıda çalışmanın önünü açmış olup, PD-1/PD-L1 inhibitörlerinin tedavide farklı basamaklarda ve farklı kombinasyonlarla kullanımını değıerlendiren çok sayıda çalışma sürdürölmektedir [145].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışmanın Tasarımı

Bu tez çalışması arşivsel tıbbi kayıtlar ve biyopsi örnekleri incelenerek elde edilen verilerle yapılmış retrospektif, çok merkezli, girişimsel olmayan bir çalışmadır. Çalışmamıza Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalı ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalı'nda Kasım 2008 ile Mart 2021 tarihleri arasında BBK ile takip edilen hastalar dahil edilmiştir. Opere olan ve adjuvan (K)RT sonrası nüks gelişen ya da opere olmayıp definitif KRT sonrası refrakter hastalar incelenmiştir. Primer ve nüks/refrakter doku arasındaki PD-L1 ve VISTA ekspresyon düzeyi karşılaştırılmıştır.

Hastaların demografik özellikleri, özgeçmişleri, onkolojik geçmişleri ilgili bilgiler arşiv dosyaları incelenerek toplanmıştır. Hasta dosyalarından tanı tarihi, performansı, sırasıyla uygulanan tedaviler, nüks tarihi, nüks bölgesi, alınan patolojik örneklerdeki histolojik tanısı, nüks tedavisi, tedavi yanıtı, son kontrol/ölüm tarihi kaydedilmiştir.

Hastaların performansı Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) skalası kullanılarak değerlendirilmiştir. Hastaların klinik ve patolojik evreleri 8. TNM kriterleri baz alınarak hesaplanmıştır ve tedavi yanıtları Response Evaluation Criteria In Solid Tumors (RECIST) temel alınarak değerlendirilmiştir. Hastalıksız sağkalım, tanı tarihi ile nüks tarihi arasındaki süre olarak belirlenmiştir. Genel sağkalım, tanı tarihi ile ölen hastalarda ölümün gerçekleştiği

tarih veya yaşıyan hastalarda son kontrol tarihi arasındaki süre olarak hesaplanmıştır.

Çalışmaya dahil olma kriterleri

- 1) Oral kavite, orofarinks, hipofarinks, larinks kanseri ile takipli hastalar
- 2) Tedavi öncesi primer doku biyopsisi mevcut hastalardan küratif amaçla cerrahi+RT veya definitif (K)RT alıp sonrasında nüks/refrakter hastalığı biyopsi ile kanıtlanmış ve her iki biyopsisi mevcut hastalar
- 3) Primer doku histolojisi skuamöz hücreli kanser olan hastalar
- 4) Dosyalarından yeterli klinik bilgiye ulaşılabilen hastalar

Çalışma dışlama kriterleri

- 1) Nazofarinks kanseri ile takipli hastalar
- 2) Nüks hastalığı uzak metastaz olan hastalar
- 3) Primer tümör histolojisi skuamöz hücreli kanser olmayan hastalar
- 4) Dosyalarından yeterli klinik bilgiye ulaşılabilen hastalar

Bu tez çalışması için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 9 Mart 2020 tarihinde onay alınmıştır (24074710-604.01.01.-09 numaralı sayı-karar).

3.2 İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Çalışma kriterlerini karşılayan hastaların patoloji preparatları patoloji arşivinden temin edilerek primer doku ve lenf nodları değerlendirmeye dahil edildi. Biyopsi veya kesitlerin birincisi tanı anındaki; ikincisi lokal nüksün görüldüğü anda alınan formalin fikse, parafine gömülü bloklardan oluşmaktadır. Birden fazla nüks biyopsisi mevcut hastaların ilk nüks biyopsisi değerlendirildi. Nekrozun en az, tümör hücrelerinin en yoğun olduğu parafin bloklar seçildi. Bloklardan 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak pozitif şarjlı camlara aktarıldı. Bu kesitler IHC olarak Ventana Benchmark XT kullanılarak boyandı. Anti-PD-L1 (klon SP263, kullanıma hazır, Ventana) tavşan monoklonal antikoru için Optiview DAB Detection Kit, VISTA (klon D5L5T, Cell Signaling) tavşan monoklonal antikoru için Ultraview Universal DAB Detection Kit kullanıldı. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu seçildi. Nekrotik, non neoplastik ve karsinoma in situ dokular incelemeye dahil edilmedi.

Preparatlar hastaların klinik bilgisi paylaşılmadan, bağımsız ve deneyimli patolog tarafından değerlendirildi. PD-L1 ekspresyonunun değerlendirilmesinde tümör hücrelerindeki membranöz boyanma (TPS), VISTA ekspresyonunun değerlendirilmesinde tümöral dokudaki immün hücrelerin (IC) boyanması dikkate alındı. PD-L1'in SP263 klonu kullanılarak yapılan IHC çalışma sonuçları, literatüre uygun şekilde TPS kullanılarak değerlendirildi. PD-L1 ve VISTA skorlamaları tablo 3.1 ve 3.2'de sunulmuştur [114, 146-148].

Tablo 3-1 PD-L1 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Tümör Hücre Skoru	PD-L1 Eksprese Eden Tümör Hücre Oranı
0	Negatif ya da <%1
1	≥%1 ve <%5
2	≥%5 ve <%50
3	≥%50

Tablo 3-2 VISTA Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

İmmün Hücre Skoru	VISTA Eksprese Eden İmmün Hücre Oranı
0	Negatif ya da <%1
1	≥%1 ve <%5
2	≥%5 ve <%10
3	≥%10

3.3 İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi ve tabloların oluşturulmasında IBM SPSS (Statistical Package for Social Science) Statistics 25 programı kullanıldı. Verilerin dağılımının (parametrik/ nonparametrik) incelenmesinde Kolmogorov Smirnov ve Shapiro Wilk testleri kullanıldı. Bağımlı iki grubun karşılaştırılmasında parametrik test koşullarının sağlandığı değişkenlerde paired-T testi; non-parametrik koşullarda Wilcoxon testi kullanıldı. Bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında parametrik koşulların sağlandığı koşullarda Student-T testi; non-parametrik koşullarda Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenler arasındaki ilişki Chi-Square ve Fisher exact testiyle karşılaştırıldı. İki farklı değişken arasındaki ilişkinin yönü ve şiddeti Spearman korelasyon testiyle değerlendirildi. Hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım süreleri Kaplan-Meier

analiziyle incelendi ve sonuçlar Kaplan-Meier eğrileriyle gösterildi. Sağkalım üzerine bağımsız değişkenler cox regresyon analizi ile değerlendirildi. Bütün analizlerde $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

Çalışmaya 47 hasta dahil edildi. Hastaların demografik bilgileri ve özellikleri tablo 4.1’de sunulmuştur. Hastaların yaş ortalaması 60,2 ($\pm$ 8,65) idi, hastaların çoğu erkek ve ECOG performans skorları 0-2’den oluşmaktaydı. Tamamı skuamöz hücreli karsinomdan oluşan tümörlerin çoğu larinks (n=26, %55,3) ve oral kavite (n=19, %40,4) kökenliydi.

Tablo 4-1 Hastaların Demografik Bilgi ve Özellikleri

		n (%)
Cinsiyet	Kadın	6 (12,8)
	Erkek	41 (87,2)
ECOG	0	30 (63,8)
	1	16 (34)
	2	1 (2,1)
VKI	<18,5	3(6,4)
	18,5-24,9	24(51,1)
	25-29,9	16(34)
	30-34,9	4(8,5)
Tümör (T) evresi	T1	16 (34)
	T2	17 (36,2)
	T3	12 (25,5)
	T4	2 (4,3)
Diferansiyasyon	İyi Diferansiye	16 (34)
	Orta Diferansiye	10 (21,3)
	Az Diferansiye	13 (27,7)
	Belirtilmemiş	8 (17)
Nodal (N) Evresi	N0	22 (46,8)
	N1	12 (25,5)
	N2	12 (25,5)
	N3	1(2,2)
Metastaz (M)	M0	47 (100)
Klinik Evre	Evre 1	11(23,4)
	Evre 2	6(12,8)
	Evre 3	19(40,4)
	Evre 4	11(23,4)
Lokalizasyon	Larinks	26 (55,3)
	Oral kavite	19 (40,4)
	Hipofarinks	2 (4,3)
Tedavi	RT	12 (25,5)
	KRT	35 (74,5)
Cerrahi	Var	25 (53,2)
	Yok	22 (46,8)
Cerrahi Evre	Evre 1	1(2,1)
	Evre 2	11(23,4)
	Evre 3	10(21,3)
	Evre 4	3(6,4)
Adjuvan Tedavi	RT	7 (28)
	KRT	18 (72)
Yaşam Durumu	Yaşıyor	18 (38,3)
	Eksitus	29 (61,7)

Larinks kanserli (n=26) hastaların tanı anındaki evresi değişkenlik göstermekteydi. Tanı anında, 10 hastada evre 1, 1 hastada evre 2, 6 hastada evre 3, 9 hastada evre 4a idi. Larinks kanserli 26 hastanın definitif tedavisi incelendiğinde, 20 hastanın KRT, 6 hastanın cerrahi ile tedavi edildiği saptandı. Cerrahi yapılan hastalarda adjuvan tedavi olarak KRT/RT ile tedavi edilmişti. Definitif ya da adjuvan olarak uygulanan KRT’de çoğunlukla RT+haftalık sisplatin veya RT+sisplatin+setuksimab kullanıldığı görüldü. Tedavi sonrası 24 hastada lokal nüks, 2 hastada refrakter hastalık saptandı.

Oral kavite kanserli (n=19) hastaların tanı anı evresi 1 hastada evre 1, 4 hastada evre 2, 13 hastada evre 3, 1 hastada evre 4b idi. Hastaların tümüne cerrahi uygulandığı adjuvan olarak 11 hastanın RT+ sisplatin, 3 hastanın RT+setuksimab, 5 hastanın RT aldığı görüldü. 18 hastada lokal nüks, 1 hastada refrakter hastalık izlendi.

Hipofarinks kanseri ile takipli hastaların biri RT+sisplatin, diğeri RT+setuksimab alırken bu hastaların takibinde birinde lokal nüks, diğesinde refrakter hastalık görüldü.

Tüm hastalar içinde 1 hastanın neoadjuvan RT alıp sonrasında cerrahiye verildiği ve 1 hastanın neoadjuvan KT alıp takibinde cerrahi sonrası RT aldığı saptandı.

Çalışmaya dahil edilen hastaların takiplerinde toplam 43 hastada (%91,5) lokorejyonel nüks, 4 hastada (%8,5) refrakter hastalık görüldü. Bu hastalardan 30 hastaya (%63,8) kurtarma cerrahisi uygulandığı görüldü. Kurtarma cerrahisi

uygulanan hastaların 13'ünün (%43,3) tedavi yanıtının tam yanıt olduğu saptandı.

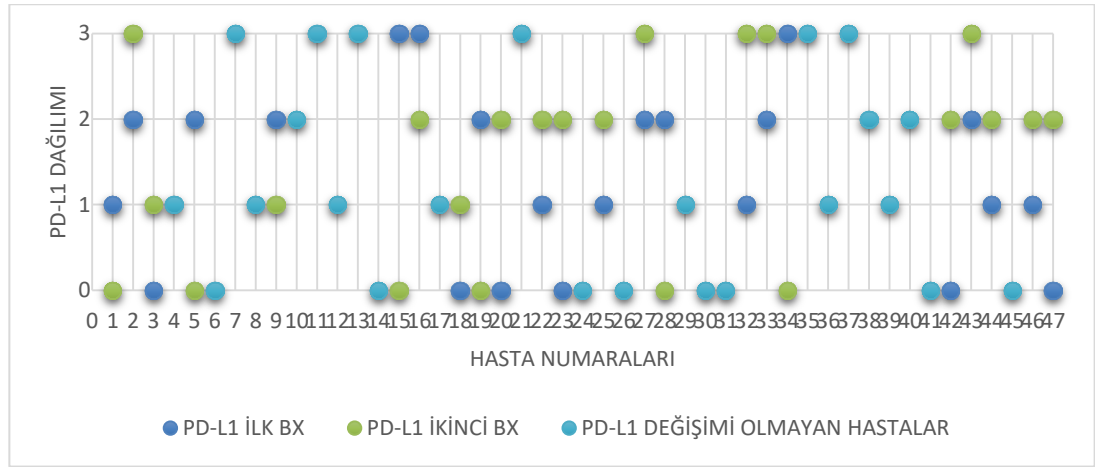
Tüm hastaların içinde toplam 6 hastada (%12,8) metastaz geliştiği saptandı.

Çalışmaya dahil edilen 47 hastadan 7 hastanın RT doz ve fraksiyonuna ulaşamamış olup 40 hastanın medyan RT dozu 6600 cGy (%95 CI, 5815-6563), fraksiyonu 32 (%95 CI, 27,92-31,52) olarak görüldü.

PD-L1 ve VISTA ekspresyonunda cinsiyet, VKI, klinik ve cerrahi evrelere göre anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Diğer taraftan, primer biyopsi PD-L1 ekspresyonu klinik lenf nodu pozitif hastalarda nod negatif hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu bulundu ($p=0,038$). Ancak cerrahi nod pozitifliği ile PD-L1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

Arşiv süresinin PD-L1 ve VISTA ekspresyonu üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde arşiv süresi 5 yıldan uzun olan preparatların PD-L1 ve VISTA ekspresyonunun 5 yıldan kısa olan arşiv preparatlarına göre daha düşük olduğu bulunmuştur (PD-L1 $p=0,005$; VISTA $p=0,016$).

Primer doku ile nüks/refrakter dokuda bakılan PD-L1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Hastaların bireysel olarak tedavi önce ve sonrası PD-L1 ekspresyon düzeyleri tablo 4.2'de gösterilmiştir. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası tümör lokalizasyonlarına göre PD-L1 ekspresyonu tablo 4.3'te sunulmuştur.

Tablo 4-2 Hastaların Tedavi Önce ve Sonrası PD-L1 Ekspresyon Düzeyleri**Tablo 4-3 İlk-İkinci Biyopsi Örnekleri PD-L1 TPS Skoru**

Lokalizasyon		İlk Biyopsi PD-L1 TPS				İkinci Biyopsi PD-L1 TPS				P değeri
		0	1	2	3	0	1	2	3	
Larinks	N	8	7	8	3	9	5	8	4	0,873
	%	30,8	26,9	30,8	11,5	34,6	19,2	30,8	15,4	
Oral Kavite	N	3	6	4	6	4	4	4	7	0,760
	%	15,8	31,6	21,1	31,6	21,1	21,1	21,1	36,8	
Hipofarinks	N	2					1	1		0,18
	%	100					50	50		

N= Hasta Sayısı, %=Yüzde

Sadece radyoterapi alan hastalar (n=12) ve kemoradyoterapi alan hastalar (n=35) ayrı gruplar olarak değerlendirildiğinde verilen tedavilere göre de PD-L1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$).

Tablo 4-4 Tedavi Alt Gruplarına Göre PD-L1 Değişimi

Tedavi		İlk Biyopsi PD-L1 TPS				İkinci Biyopsi PD-L1 TPS				p değeri
		0	1	2	3	0	1	2	3	
KRT	n	11	9	9	6	11	7	10	7	1
	%	31,4	25,7	25,7	17,1	31,4	20	28,6	20	
RT	N	2	4	3	3	2	3	3	4	1
	%	16,7	33,3	25	25	16,7	25	25	33,3	

KRT= Kemoradyoterapi, RT= Radyoterapi

Medyan takip süresi 45,2 ay (%95 CI, 41,4-64,3 ay) idi. Medyan hastalıksız sağkalım 13,9 ay (%95 CI, 8,6-19,2 ay), medyan genel sağkalım 52,4 ay (%95 CI, 27,9-76,8 ay) olarak hesaplandı. 5 yıllık sağkalım %49 (%95 CI, %42-56) idi.

Tanı anında yaş ≥ 60 ve <60 olan gruplar cox regresyon analizi ile karşılaştırıldığında genel sağkalımın 60 yaş ve üzeri olan grupta anlamlı olarak kısa olduğu bulundu ($p=0,004$). Tanı anında daha radikal cerrahi uygulanan hastaların hastalıksız sağkalımı ve genel sağkalımı koruyucu cerrahi uygulanan hastalarla karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Kurtarma cerrahisi uygulanan hastaların medyan sağkalımı 110,1 ay (%95 CI, 39,3-180,8 ay) iken cerrahi uygulanmayan hastaların medyan sağkalımı 17,1 ay (%95 CI, 7,7-26,4 ay) idi, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$).

PD-L1 ekspresyonu ilk biyopsisinde %1'in üzerinde olan hastaların ($n=34$) medyan hastalıksız sağkalım süresi 11,9 ay (%95 CI, 8,1-15,6 ay) iken %1'in altında olan hastaların ($n=13$) medyan hastalıksız sağkalım süresi 15,8 ay (%95

CI, 5,2-26,4 ay) olduğu görüldü. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,568$).

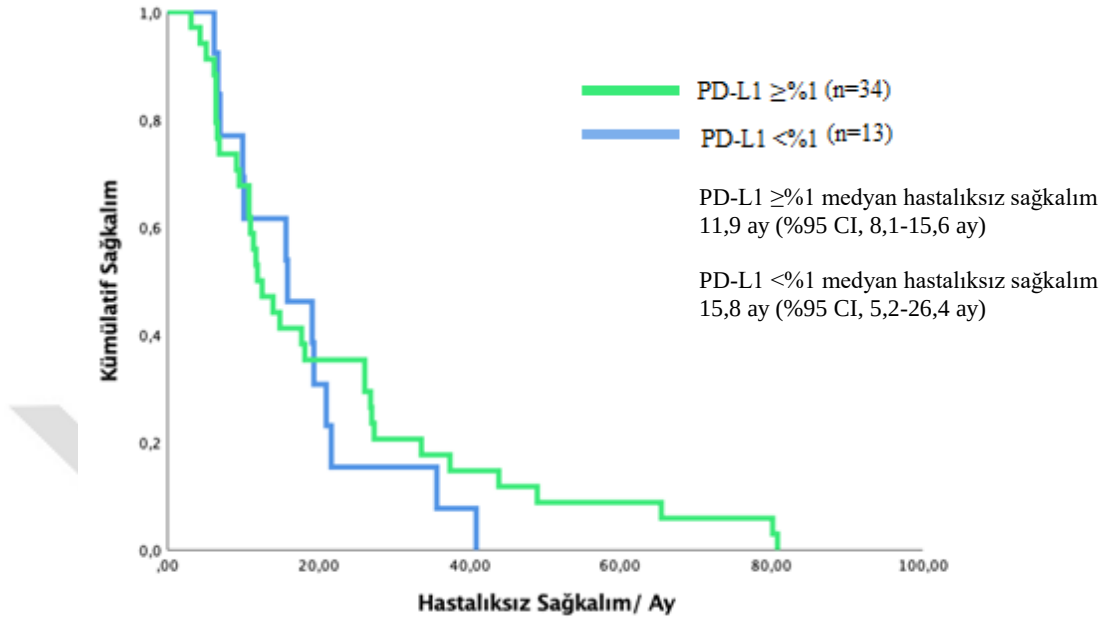
PD-L1 ekspresyonu ilk biyopsisinde %1'in üzerinde olan hastaların ($n=34$) medyan genel sağkalım süresi 61 ay (%95 CI, 36,3-85,8 ay) iken %1'in altında olan hastaların ($n=13$) medyan genel sağkalım süresi 45,2 ay (%95 CI, 0-131,3 ay) olduğu görüldü. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,725$).

PD-L1 ekspresyonu ikinci biyopsisinde %1'in üzerinde olan hastaların ($n=34$) medyan genel sağkalım süresi 46,5 ay (%95 CI, 27,4-65,6 ay) iken %1'in altında olan hastaların ($n=13$) medyan genel sağkalım süresi 80,2 ay (%95 CI, 0-178,8 ay) olduğu görüldü. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,443$).

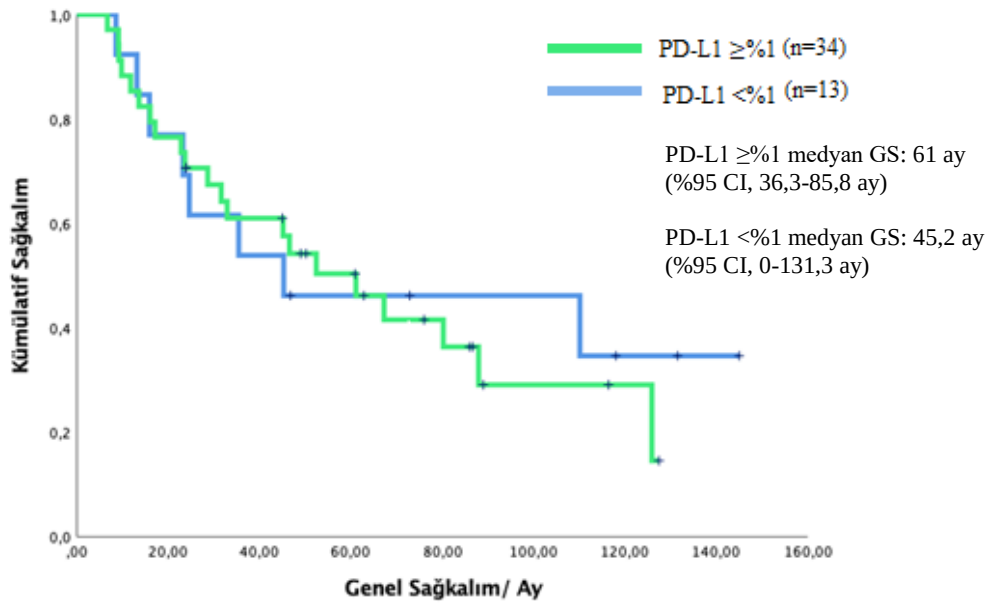
PD-L1 eksprese eden hastaların 5 yıllık sağkalımı %50 (%95 CI, %41-59), etmeyen hastaların 5 yıllık sağkalımı %46 (%95 CI, %33-59) olarak hesaplandı.

Hastaların birinci biyopsi PD-L1 ekspresyonu hastalıksız sağkalım grafiği ile birinci ve ikinci biyopsi PD-L1 ekspresyonu genel sağkalım grafiği şekil 4.1-4.2-4.3'te gösterilmiştir.

Şekil 4.1 Hastaların Birinci Biyopsi PD-L1 Ekspresyonu ile Hastalıksız Sağkalım İlişki Grafiği

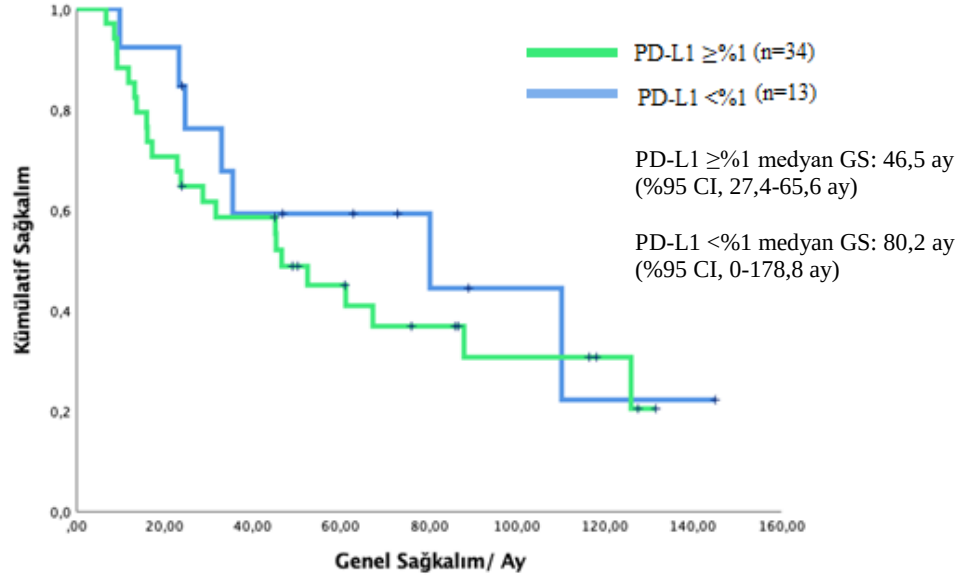


Şekil 4.2 Hastaların Birinci Biyopsi PD-L1 Ekspresyonu ile Genel Sağkalım İlişki Grafiği



GS: Genel Sağkalım

Şekil 4.3 Hastaların İkinci Biyopsi PD-L1 Ekspresyonu ile Genel Sağkalım İlişki Grafiği



GS: Genel Sağkalım

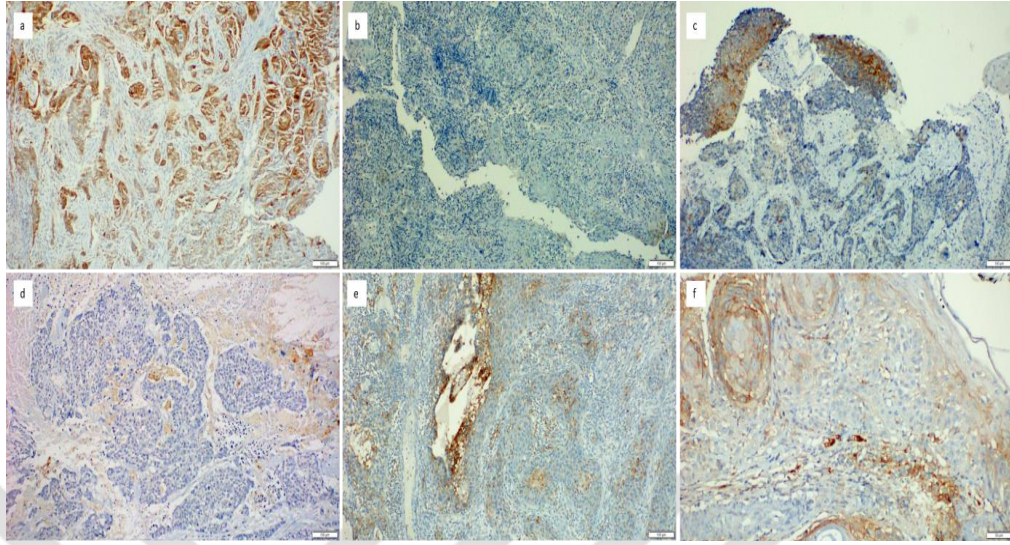
Tanı anında PD-L1 ekspresyonu farklı cut-off değerler baz alınarak değerlendirildiğinde her bir değer için pozitif ve negatif gruplar arasında medyan hastalıksız ve genel sağkalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (**Tablo 4.5**).

Tablo 4-5 PD-L1 Farklı Cut-Off Değerler ile Biyopsiler Arası- OS-DFS İlişkisi p Değerleri

Cut-off	İlk-İkinci Biyopsi p Değeri	DFS p Değeri	OS p Değeri
%1	1	0,568	0,725
%5	0,617	0,292	0,506
%50	0,705	0,51	0,853

OS:Overall Survival (Genel Sağkalım), DFS: Disease-Free Survival (Hastalıksız Sağkalım)

Şekil 4.4 Tedavi Öncesi ve Sonrası PD-L1 Ekspresyonu



Tedavi öncesi (a, b, c) ve tedavi sonrası (d, e, f)

Tedavi ile PD-L1 ekspresyonunda azalma; Tedavi öncesi PD-L1 skoru 3 (a) olan hastanın tedavi sonrası PD-L1 skoru 0 (d).

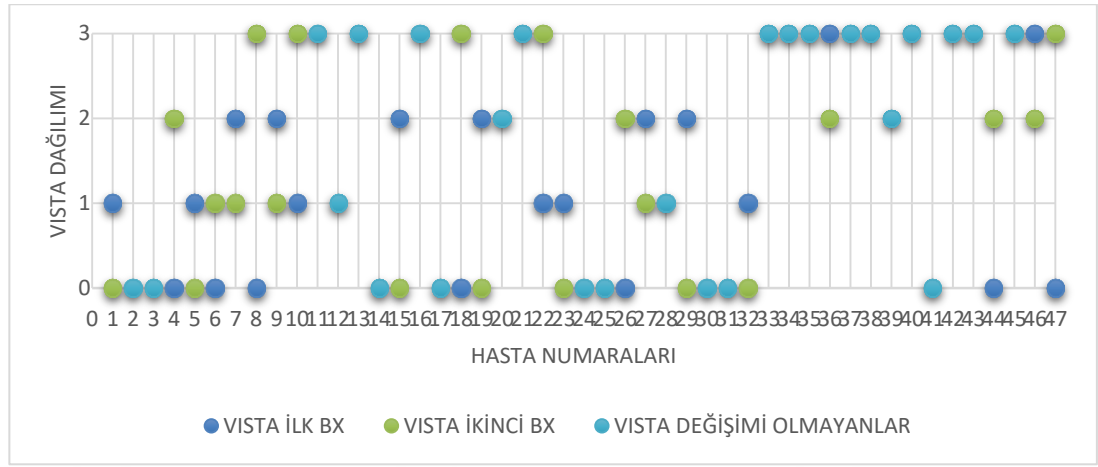
PD-L1 ekspresyonunda artış; Tedavi öncesi PD-L1 skoru 0 (b) olan hastanın tedavi sonrası PD-L1 skoru 2 (e).

PD-L1 ekspresyonunda değişiklik olmayan grup; Tedavi öncesi ve tedavi sonrası PD-L1 skoru 2 (c), (f).

Primer doku ile nüks/refrakter dokuda bakılan VISTA ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Hastaların bireysel olarak tedavi önce ve sonrası VISTA ekspresyon düzeyleri tablo 4.6’da gösterilmiştir. PD-L1 ve VISTA ekspresyonu arasında pozitif korelasyon bulundu ($p<0,001$; $r=0,560$).

Primer biyopsi VISTA ekspresyonu klinik lenf nodu pozitif hastalarda nod negatif hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu bulundu ($p=0,018$). Ancak cerrahi nod pozitifliği ile VISTA ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

Hastaların tedavi öncesi ve sonrası tümör lokalizasyonlarına göre VISTA ekspresyonu tablo 4.7’de sunulmuştur.

Tablo 4-6 Hastaların Tedavi Öncesi ve Sonrası VISTA Ekspresyon Düzeyleri**Tablo 4-7 İlk-İkinci Biyopsi Örnekleri VISTA IC Skoru**

Lokalizasyon		İlk Biyopsi VISTA IC				İkinci Biyopsi VISTA IC				P değeri
		0	1	2	3	0	1	2	3	
Larinks	N	11	6	2	7	11	4	2	9	0,496
	%	42,3	23,1	7,7	26,9	42,3	11,4	7,7	34,6	
Oral Kavite	N	4	1	6	8	4	2	5	8	1
	%	21,1	5,3	31,6	42,1	21,1	10,5	26,3	42,1	
Hipofarinks	N	1	1			1			1	0,655
	%	50	50			50			50	

N= Hasta Sayısı, %=Yüzde

Sadece radyoterapi alan hastalar (n=12) ve kemoradyoterapi alan hastalar (n=35) ayrı gruplar olarak değerlendirildiğinde verilen tedavilere göre de VISTA ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$).

Tablo 4-8 Tedavi Alt Gruplarına Göre PD-L1 Değişimi

Tedavi		İlk Biyopsi VISTA IC				İkinci Biyopsi VISTA IC				p değeri
		0	1	2	3	0	1	2	3	
KRT	n	11	5	7	12	11	4	7	13	1
	%	31,4	14,3	20	34,3	31,4	11,4	20	37,1	
RT	N	5	3	1	3	5	2	0	5	1
	%	41,7	25	8,3	25	41,7	16,7	0	41,7	

KRT= Kemoradyoterapi, RT= Radyoterapi

VISTA ekspresyonu ilk biyopsisinde %1'in üzerinde olan hastaların (n=31) medyan hastalıksız sağkalım süresi 11,3 ay (%95 CI, 6,4-16,2 ay) iken %1'in altında olan hastaların (n=16) medyan hastalıksız sağkalım süresi 17,7 ay (%95 CI, 12,8-22,6 ay) olduğu görüldü. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,842).

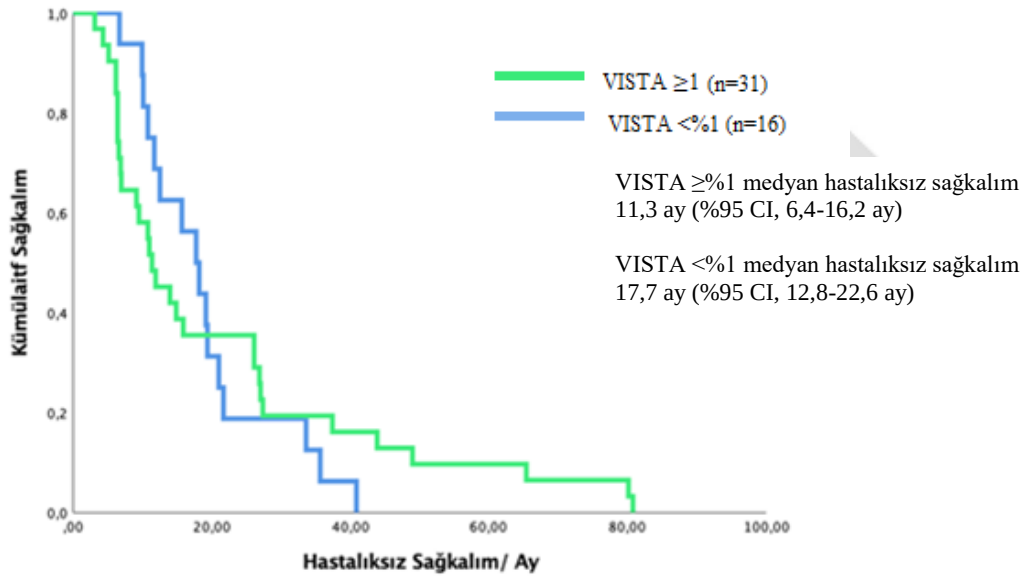
VISTA ekspresyonu ilk biyopsisinde %1'in üzerinde olan hastaların (n=31) medyan genel sağkalım süresi 52,4 ay (%95 CI, 16,2-88,5 ay) iken %1'in altında olan hastaların (n=16) medyan genel sağkalım süresi 110,1 ay (%95 CI, 23,1-145 ay) olduğu görüldü. Tanı anında VISTA ekspresyonu %1'in üzerinde olan hastaların genel sağkalımının anlamlı olarak kısa olduğu görüldü (p=0,048).

VISTA ekspresyonu ikinci biyopsisinde %1'in üzerinde olan hastaların (n=31) medyan genel sağkalım süresi 52,4 ay (%95 CI, 34,1-70,6 ay) iken %1'in altında olan hastaların (n=16) medyan genel sağkalım süresi 110,1 ay (%95 CI, 0-223,1 ay) olduğu görüldü. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,212).

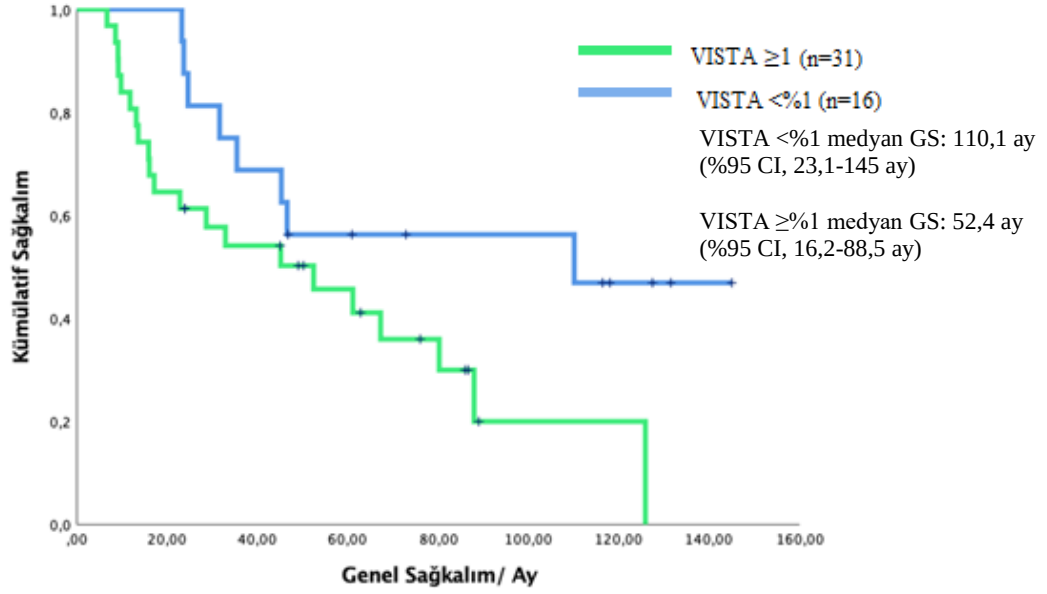
VISTA eksprese eden hastaların 5 yıllık sağkalımı %45 (%95 CI, %36-54), etmeyen hastaların 5 yıllık sağkalımı %56 (%95 CI, %44-68) olarak hesaplandı.

Hastaların birinci biyopsi VISTA ekspresyonu hastalıksız sağkalım grafiği ile birinci ve ikinci biyopsi VISTA ekspresyonu genel sağkalım grafiği şekil 4.5-4.6-4.7’de gösterilmiştir.

Şekil 4.5 Hastaların Birinci Biyopsi VISTA Ekspresyonu ile Hastalıksız Sağkalım İlişki Grafiği

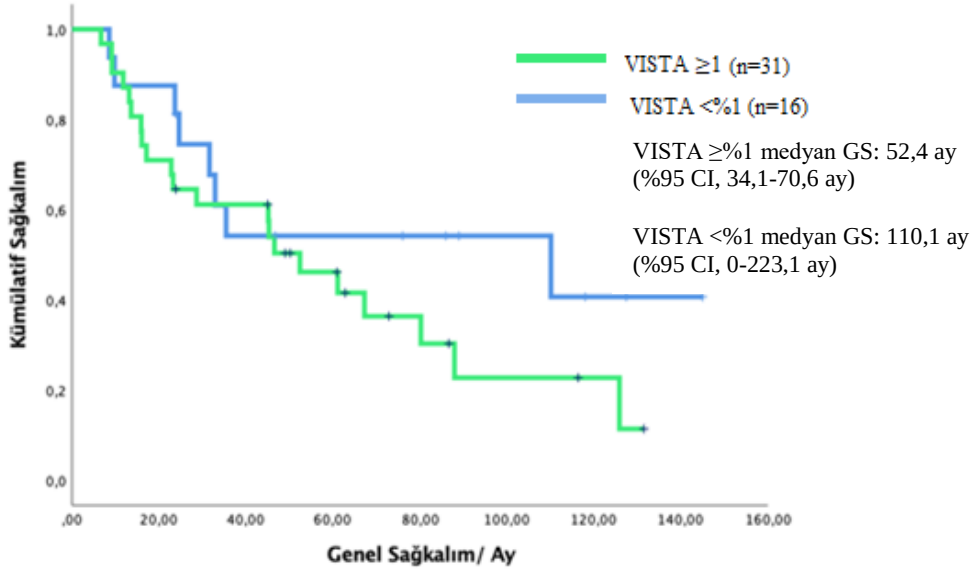


Şekil 4.6 Hastaların Birinci Biyopsi VISTA Ekspresyonu ile Genel Sağkalım İlişki Grafiği



GS: Genel Sağkalım

Şekil 4.7 Hastaların İkinci Biyopsi VISTA Ekspresyonu ile Genel Sağkalım İlişki Grafiği



GS: Genel Sağkalım

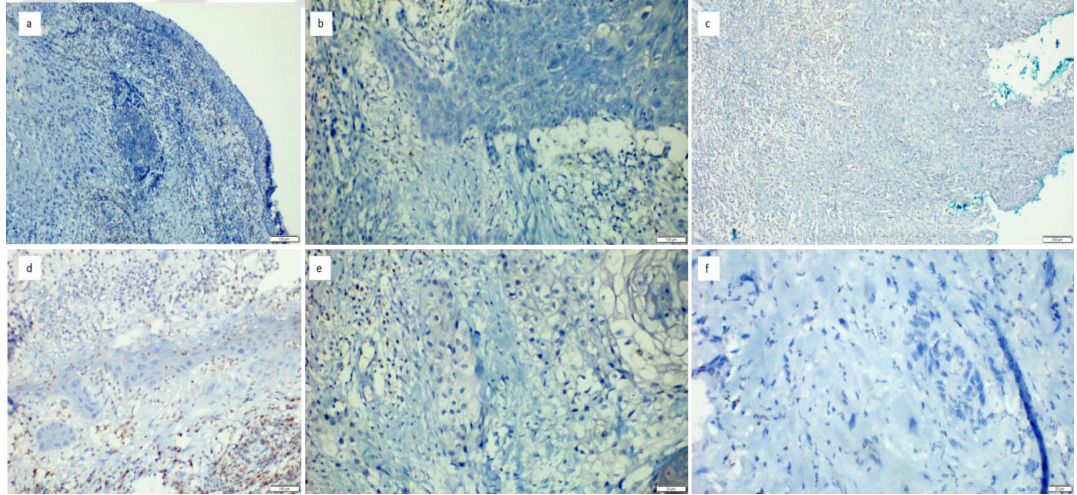
Tanı anında VISTA ekspresyonu farklı cut-off değerler baz alınarak değerlendirildiğinde her bir değer için pozitif ve negatif gruplar arasında medyan hastalıksız ve genel sağkalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (**Tablo 4.9**).

Tablo 4-9 VISTA Farklı Cut-Off Değerler ile Biyopsiler Arası- OS-DFS İlişkisi p Değerleri

Cut-off	İlk-İkinci Biyopsi p Değeri	DFS p Değeri	OS p Değeri
%1	1	0,842	0,048
%5	0,593	0,12	0,261
%10	0,739	0,545	0,387

OS:Overall Survival (Genel Sağkalım), DFS: Disease-Free Survival (Hastalıksız Sağkalım)

Şekil 4.8 Tedavi Öncesi ve Sonrası VISTA Ekspresyonu



Tedavi öncesi (a, b, c) ve tedavi sonrası (d, e, f)

Tedavi ile VISTA ekspresyonunda artış; Tedavi öncesi VISTA skoru 0 (a) olan hastanın tedavi sonrası VISTA skoru 2 (d).

VISTA ekspresyonunda değişiklik olmayan grup; Tedavi öncesi VISTA skoru 2 (b) olan hastanın tedavi sonrası VISTA skoru 2 (e).

VISTA ekspresyonunda azalma; VISTA skoru 2 (c) olan hastanın tedavi sonrası VISTA skoru 0 (f).

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda baş-boyun kanserinde RT veya KRT'nin PD-L1 ve VISTA düzeyine etkisinin gösterilmesi hedeflenmiş olup PD-L1 ve VISTA düzeyinin RT veya KRT ile artmadığı saptandı. PD-L1 ve VISTA ekspresyonunun pozitif korelasyon gösterdiği ve tanı anında PD-L1 ve VISTA ekspresyonunun klinik lenf nodu pozitifliği ile ilişkili olduğu görüldü. Tanı anında alınan biyopsi PD-L1 ekspresyonu ile hastalıksız ve genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı. VISTA ekspresyonu ile hastalıksız sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. Ancak tanı anında pozitif VISTA ekspresyonu daha kısa genel sağkalım ile ilişkili olarak bulundu.

Radyoterapi veya kemoradyoterapinin PD-L1 ve VISTA ekspresyonu üzerindeki etkileri birçok kanserde oldukça fazla sayıda çalışmaya konu olmuştur. Ancak BBK'de bu konuda yapılmış kısıtlı sayıda çalışma ve çelişkili sonuçlar mevcuttur. Radyoterapi immün stimülan ve supresan olarak 2 yönlü etki gösterebilmektedir. Lenfositlerin oldukça radyosensitif olmaları nedeniyle radyoterapinin immün supresif etkisi görülebilmektedir. Uygulanan radyoterapi dozuna ve tedaviye maruz kalan T hücre alt grubuna bağlı olarak lenfositlerde %90'a varan azalma görülebilir [149]. Yapılan bir prelinik çalışmada BBK mevcut modellere radyoterapi uygulanması sonrası PD-L1 ekspresyonunda artış görülmüştür [30]. Diğer kanserler incelendiğinde rektal adenokanserler ve yumuşak doku sarkomlarında yapılan çalışmalarda kemoradyoterapi/ radyoterapi ile PD-L1 ekspresyonunda artış görülmüştür [150, 151]. Benzer şekilde prelinik bir malign melanom çalışmasında immünoterapi ile radyoterapi kombinasyonu ile

daha iyi hastalık kontrolünün sağlanması da sinerjistik etkiyi doğrular niteliktedir [152]. Ancak bu durumun tersinin gösterildiği çalışmalar da mevcuttur. Gastroözefageal bileşke ve gastrik kanserlerde yapılan bir çalışmada platin bazlı neoadjuvan KT alan hastalarda tedavi sonrası dokuda immün ve tümör hücrelerde PD-L1 ekspresyonu azalırken, VISTA ekspresyonunun arttığı görülmüştür [153].

Radyoterapi sonrası PD-L1 ekspresyonundaki artış radyoterapinin tümör antijenitesini artırmasıyla açıklanmaktadır. Ancak tersi yönde radyoterapinin immün supresan etkisi de mevcuttur. BBK'de yapılmış bir çalışmada kemoradyoterapi ile Treg infiltrasyonunda artış ve anti-tümör yanıtta baskılanma görülmüştür [154]. Meme kanserinde yapılan prelinik bir çalışmada da tümör antijenitesindeki değişikliğin RT fraksiyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir [140]. Benzer şekilde radyoterapi ile indüklenen immün yanıtın takibinde devam eden fraksiyone RT veya KT ile baskılanabileceği çalışmalarda gösterilmiştir [155]. McBride ve ark.nın oligometastatik BBK çalışmasında nivolumab ve RT birlikte kullanımında sağkalımda anlamlı değişikliğin görülmemesi de radyoterapinin her zaman tümör immünojenitesini artırmadığı görüşünü desteklemektedir [156]. Benzer şekilde ileri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserinde yapılan bir çalışmada pembrolizumab RT ile kombine veya monoterapi olarak kullanımları arasında sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaması da bu sonucu destekler niteliktedir [157]. Çalışmamızda da uygulanan RT doz, fraksiyon, zamanlaması ile radyoterapinin primer dokuya uygulanması sonucu tümör mikroçevresinde meydana gelen lenfopeni sonucunda PD-L1 ve VISTA ekspresyonunun artmamış olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda PD-L1 IHC değerlendirilmesinde TPS kullanılmıştır. Ancak RT ile indüklenen lenfopeni

sonucunda tümör-lenfosit PD-1/PD-L1 etkileşiminin azalmasının dolaylı olarak tümörün PD-L1 ekspresyonunu azaltabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışmamızda kullanılan patoloji preparatlarının arşivden temin edilmesi ve uzun arşiv süresi PD-L1 ve VISTA ekspresyonundaki artışın gösterilememesi ile ilişkili olabilir. Radyoterapinin primer dokuya değil, uzak metastaz bölgesine uygulanması sonucu primer dokudaki PD-L1 ve VISTA düzeyleri sonraki çalışmalarda değerlendirilmelidir. Benzer şekilde arşiv/taze doku ya da arşiv süresinin PD-L1 ve VISTA ekspresyonu üzerindeki etkileri ileri çalışmalarda değerlendirilmelidir. İmmünoterapiye alınan olumlu yanıtlar lokal ileri hastalıkta neoadjuvan/adjuvan ICI kullanımı ile kombinasyon tedavide immünoterapi etkinliğini araştıran çok sayıda çalışmanın önünü açmıştır [158-164]. Kemoradyoterapi/ radyoterapinin PD-L1 ve VISTA ekspresyonu üzerindeki etkilerinin net olarak aydınlatılması immünoterapinin tedavideki konumunun belirlenmesinde harita olacaktır.

Bir diğer nokta olarak kemoterapi/ radyoterapi ilişkili immünojenik yanıtın ne kadar sürdüğü bilinmemektedir. Örneğin, KEYNOTE-048 çalışmasında, BBK'de pembrolizumab tedavisinin kemoterapi ile birlikte uygulandığı grubun progresyonsuz sağkalımının erken dönemde monoterapi grubuyla karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu ancak 2. yılın sonunda benzer olduğu görülmüştür [84]. Bu durum akıllara erken dönemde KT sonucu oluşan immünolojik yanıtın uzun dönemde kaybolabileceğini getirmektedir.

Yapılan çalışmalarda PD-L1 ve VISTA ekspresyonu tedavi yanıtını öngörmenin yanında prognoz ve sağkalımı öngörmede de belirleyici olarak

bulunmuştur. Ancak bu çalışmalarda da çelişkili sonuçlar mevcuttur. PD-L1 ekspresyonu oral kavite kanserinde kötü prognostik faktör iken larinks kanserinde iyi prognostik faktör olarak değerlendirilmiştir [106, 107]. Yakın zamanda yayınlanan iki farklı metaanalizde ise, BBK’de PD-L1 ekspresyonu ile hastalıksız ve genel sağkalım arasında ilişki bulunmadığı görülmüştür [165, 166]. Gastrointestinal ve jinekolojik kanserlerin değerlendirildiği bir çalışmada VISTA ekspresyonunun daha düşük sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [167]. Over kanserinde yapılmış bir çalışmada VISTA ekspresyonu ile lenf nodu pozitifliği ve ileri evre hastalık arasında ilişkili saptanmıştır [168]. Çalışmamızda PD-L1 ekspresyonu ile hastalıksız ve genel sağkalım arasında ilişki olmadığı görüldü. VISTA ekspresyonu ile hastalıksız sağkalım arasında ilişki saptanmadı. Literatür ile benzer şekilde VISTA ekspresyonu daha kısa genel sağkalım ile ilişkili bulunmuştur. Yine literatür ile benzer şekilde PD-L1 ve VISTA ekspresyonu lenf nodu pozitifliği ile ilişkili olarak bulundu.

Baş boyun kanserlerinde uygulanan agresif tedavilere rağmen nüks ile sık karşılaşılmaktadır. Tahmin edildiği gibi sistemik rekürrens lokorejyonel nüks ile karşılaştırıldığında daha kısa sağkalım ile ilişkili olarak bulunmuştur [169]. Lokal nüks sonrası kurtarma cerrahisi uygulanan hastaların 5 yıllık sağkalımlarının %30-80 aralığında değiştiği çalışmalarla gösterilmiştir [170-172]. Bu noktada sağkalımın belirlenmesinde hastaların tanı anı hastalık evresi, eşlik eden komorbiditeler gibi çok sayıda faktörün rol aldığı düşünülmektedir. Larinks kanserinde yapılmış bir çalışmada rekürren hastalarda kurtarma cerrahisi sonrası 5 yıllık sağkalımın %49 olduğu bulunmuştur [173]. Çalışmamızda 5 yıllık sağkalım benzer bulunmuş olup hastaların uzun sağkalımları az sayıda hastanın metastatik

olması, lokorejyonel nüks görülen hastalarda başarılı agresif kurtarma cerrahisi uygulanması ve cerrahi sonrası hastaların %50'ye yakınında tam yanıt alınması ile ilişkilendirilmiştir.

Baş- boyun kanserlerinde immünoterapi üzerine yapılmış çok sayıda çalışmada PD-L1 ekspresyonu ile sağkalım arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar PD-L1 ekspresyonunu değerlendirmede kullanılan IHC skora göre sonuçların farklılık gösterdiğini saptamıştır. PD-L1 ekspresyonunun CPS ile değerlendirildiği çalışmalarda sağkalım ile anlamlı ilişki saptanırken, TPS ile değerlendirildiği çalışmalarda sağkalım ile anlamlı ilişki saptanamamıştır. KEYNOTE-055'de CPS kullanılmış ve PD-L1 ekspresyonu daha iyi sağkalım ile ilişkili bulunmuştur [174]. CheckMate 141 ve SUPREME-HN çalışmalarında TPS kullanılmış olup PD-L1 ile sağkalım arasında ilişki bulunmamıştır [81, 175]. KEYNOTE-12 genişletilmiş kohortun değerlendirildiği çalışmada benzer şekilde PD-L1 ekspresyonu CPS ile değerlendirildiğinde sağkalım için olumlu, TPS ile değerlendirildiğinde ilişkisiz olduğu saptanmıştır [176]. Çalışmamızda PD-L1 ekspresyonunu değerlendirmede TPS kullanılmış olup sağkalım ile ilişki bulunmamasının nedenlerinden birinin kullanılan skorlama olabileceği düşünülmektedir.

Yapısal ve işlevsel olarak PD-L1 homoloğu olarak değerlendirilen VISTA üzerine bitmiş ve devam etmekte olan sayısız çalışma mevcuttur. VISTA'nın tedavide hedef bir molekül olabileceği ve direnç mekanizmalarındaki rolü araştırılmaktadır. Preklinik olarak kolon kanserli modellerde PD-1 ve VISTA ile ikili inhibisyonda tedavi yanıtında görülen artış, metastatik melanomda anti-PD-1

tedaviye direnç gelişimi sonrası VISTA pozitif lenfosit sayısında görülen artış immünoterapi kazanılmış direncinde VISTA'nın rol oynayabileceğini düşündürmekte ve tedavideki önemini artırmaktadır [177, 178]. Ayrıca yapılan çalışmalarda PD-L1 eksprese etmeyen hastalarda da az da olsa bir tedavi yanıtı alınması immünoterapi kararında PD-L1 ile birlikte değerlendirilecek ek belirteçlerin çalışılması gerekliliğini göstermektedir. VISTA bu noktada umut vadeci olup oral kavite kanserinde yapılmış bir çalışmada VISTA'nın PD-L1 ile korele olduğu gösterilmiştir [179]. Çalışmamızda da benzer şekilde PD-L1 ve VISTA ekspresyonunun pozitif korelasyon gösterdiği saptanmış olup PD-L1 ve VISTA'nın birlikte değerlendirilebileceği görüşünü desteklemektedir.

İmmünbelirteçlerin diğer tedaviler ile düzeylerinin ilişkisinin net olarak ortaya konulması gelecekte muhtemel olarak kişisel immün haritaların oluşturularak hastaya özel tedavi planı çizilmesine olanak sağlayacaktır.

Çalışmamızın belirli kısıtlılıkları vardır. İlk olarak bu çalışma az sayıda hastanın dahil edildiği retrospektif bir çalışmadır. Hastaların farklı merkezlerde radyoterapi almış olmalarının hastalar arası heterojeniteye yol açmış olabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde hastaların birebir benzer kemoterapi rejimi almamış olması hastalar arası heterojeniteye sebep olan bir diğer faktördür. Değerlendirilen patoloji preparatlarının arşiv preparatı olması ve 5 yıldan daha eski blokların değerlendirilmesi çalışmamızdaki bir diğer kısıtlılıktır. Tüm kısıtlılıklara rağmen çalışmamız BBK'de tedavi ile PD-L1 ve VISTA ekspresyonlarının değerlendirildiği ve sağkalım ilişkisinin araştırıldığı öncü çalışmalardan biridir.

Çalışmamızda BBK’de tedavinin PD-L1 ve VISTA ekspresyonu üzerindeki etkisi araştırılmış olup PD-L1 ve VISTA ekspresyonunun kemoradyoterapi/ radyoterapi ile değişmediği sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonucun az hasta sayısı, hastaların farklı merkezlerde tedavi almış olmaları, patoloji preparatlarının arşiv örneği olması, RT uygulanan bölgede gelişen lenfopeni ile ilişkili olabilir. PD-L1 ve VISTA ekspresyonu ile sağkalım ilişkilerine bakıldığında; PD-L1 ekspresyonunun hastalıksız ve genel sağkalım ile ilişkili olmadığı ancak tanı anında VISTA ekspresyonunun daha kısa sağkalımla ilişkili olduğu görüldü. Bu alanda yapılacak çok sayıda hastanın dahil edildiği prospektif çalışmaların yapılmasının ayrıca uzak metastaz bölgesine uygulanacak radyoterapinin primer tümör bölgesindeki immünoterapi biyobelirteçleri üzerindeki etkisinin ileri çalışmalarla değerlendirilmesinin uygun olacağını düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

1. Hashim, D., et al., *Head and neck cancer prevention: from primary prevention to impact of clinicians on reducing burden*. Ann Oncol, 2019. **30**(5): p. 744-756.
2. Alsahafi, E., et al., *Clinical update on head and neck cancer: molecular biology and ongoing challenges*. Cell Death Dis, 2019. **10**(8): p. 540.
3. Argiris, A., et al., *Head and neck cancer*. Lancet, 2008. **371**(9625): p. 1695-709.
4. Walk, E.E., et al., *The Cancer Immunotherapy Biomarker Testing Landscape*. Arch Pathol Lab Med, 2020. **144**(6): p. 706-724.
5. Havel, J.J., D. Chowell, and T.A. Chan, *The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy*. Nat Rev Cancer, 2019. **19**(3): p. 133-150.
6. Gibney, G.T., L.M. Weiner, and M.B. Atkins, *Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy*. Lancet Oncol, 2016. **17**(12): p. e542-e551.
7. Seliger, B., et al., *Immune Escape Mechanisms and Their Clinical Relevance in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(19).
8. Bauml, J.M., C. Aggarwal, and R.B. Cohen, *Immunotherapy for head and neck cancer: where are we now and where are we going?* Ann Transl Med, 2019. **7**(Suppl 3): p. S75.
9. Chow, L.Q.M., et al., *Antitumor Activity of Pembrolizumab in Biomarker-Unselected Patients With Recurrent and/or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Results From the Phase Ib KEYNOTE-012 Expansion Cohort*. J Clin Oncol, 2016. **34**(32): p. 3838-3845.
10. Salmaninejad, A., et al., *PD-1/PD-L1 pathway: Basic biology and role in cancer immunotherapy*. J Cell Physiol, 2019. **234**(10): p. 16824-16837.
11. Pinato, D.J., et al., *Intra-tumoral heterogeneity in the expression of programmed-death (PD) ligands in isogeneic primary and metastatic lung*

- cancer: Implications for immunotherapy*. Oncoimmunology, 2016. **5**(9): p. e1213934.
12. Maleki Vareki, S., C. Garrigós, and I. Duran, *Biomarkers of response to PD-1/PD-L1 inhibition*. Crit Rev Oncol Hematol, 2017. **116**: p. 116-124.
 13. Hanna, G.J., et al., *Frameshift events predict anti-PD-1/L1 response in head and neck cancer*. JCI Insight, 2018. **3**(4).
 14. Darabi, S., et al., *Predictive Biomarkers for Immunotherapy Response Beyond PD-1/PD-L1*. Oncology (Williston Park), 2020. **34**(8): p. 321-327.
 15. McCusker, M.G., D. Orkoulas-Razis, and R. Mehra, *Potential of Pembrolizumab in Metastatic or Recurrent Head and Neck Cancer: Evidence to Date*. Onco Targets Ther, 2020. **13**: p. 3047-3059.
 16. Cramer, J.D., B. Burtness, and R.L. Ferris, *Immunotherapy for head and neck cancer: Recent advances and future directions*. Oral Oncol, 2019. **99**: p. 104460.
 17. Villarroel-Espindola, F., et al., *Spatially Resolved and Quantitative Analysis of VISTA/PD-1H as a Novel Immunotherapy Target in Human Non-Small Cell Lung Cancer*. Clin Cancer Res, 2018. **24**(7): p. 1562-1573.
 18. Böger, C., et al., *The novel negative checkpoint regulator VISTA is expressed in gastric carcinoma and associated with PD-L1/PD-1: A future perspective for a combined gastric cancer therapy?* Oncoimmunology, 2017. **6**(4): p. e1293215.
 19. Hou, Z., et al., *Prognostic significance and therapeutic potential of the immune checkpoint VISTA in pancreatic cancer*. J Cancer Res Clin Oncol, 2021. **147**(2): p. 517-531.
 20. van den Ende, T., et al., *Priming the tumor immune microenvironment with chemo(radio)therapy: A systematic review across tumor types*. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2020. **1874**(1): p. 188386.

21. Gong, J., et al., *Radiation therapy and PD-1/PD-L1 blockade: the clinical development of an evolving anticancer combination*. J Immunother Cancer, 2018. **6**(1): p. 46.
22. Wang, Y., et al., *PD-L1 Expression in Circulating Tumor Cells Increases during Radio(chemo)therapy and Indicates Poor Prognosis in Non-small Cell Lung Cancer*. Sci Rep, 2019. **9**(1): p. 566.
23. Moy, J.D., J.M. Moskowitz, and R.L. Ferris, *Biological mechanisms of immune escape and implications for immunotherapy in head and neck squamous cell carcinoma*. Eur J Cancer, 2017. **76**: p. 152-166.
24. Yoneda, K., et al., *Alteration in tumoural PD-L1 expression and stromal CD8-positive tumour-infiltrating lymphocytes after concurrent chemo-radiotherapy for non-small cell lung cancer*. Br J Cancer, 2019. **121**(6): p. 490-496.
25. Derer, A., et al., *Chemoradiation Increases PD-L1 Expression in Certain Melanoma and Glioblastoma Cells*. Front Immunol, 2016. **7**: p. 610.
26. Katsuya, Y., et al., *Expression of programmed death 1 (PD-1) and its ligand (PD-L1) in thymic epithelial tumors: Impact on treatment efficacy and alteration in expression after chemotherapy*. Lung Cancer, 2016. **99**: p. 4-10.
27. Pilonis, K.A., et al., *Converging focal radiation and immunotherapy in a preclinical model of triple negative breast cancer: contribution of VISTA blockade*. Oncoimmunology, 2020. **9**(1): p. 1830524.
28. Makowska, A., et al., *Anti-PD-1 antibody increases NK cell cytotoxicity towards nasopharyngeal carcinoma cells in the context of chemotherapy-induced upregulation of PD-1 and PD-L1*. Cancer Immunol Immunother, 2021. **70**(2): p. 323-336.
29. Tran, L., et al., *Cisplatin Alters Antitumor Immunity and Synergizes with PD-1/PD-L1 Inhibition in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma*. Cancer Immunol Res, 2017. **5**(12): p. 1141-1151.

30. Oweida, A., et al., *Ionizing radiation sensitizes tumors to PD-L1 immune checkpoint blockade in orthotopic murine head and neck squamous cell carcinoma*. Oncoimmunology, 2017. **6**(10): p. e1356153.
31. Johnson, D.E., et al., *Head and neck squamous cell carcinoma*. Nature Reviews Disease Primers, 2020. **6**(1): p. 1-22.
32. World Health Organization. Global Health Observatory. GLOBOCAN 2020.
33. Li, H., et al., *Sex differences in patients with high risk HPV-associated and HPV negative oropharyngeal and oral cavity squamous cell carcinomas*. Cancers Head Neck, 2018. **3**: p. 4.
34. Michmerhuizen, N.L., et al., *Genetic determinants in head and neck squamous cell carcinoma and their influence on global personalized medicine*. Genes Cancer, 2016. **7**(5-6): p. 182-200.
35. Ragin, C.C., F. Modugno, and S.M. Gollin, *The epidemiology and risk factors of head and neck cancer: a focus on human papillomavirus*. J Dent Res, 2007. **86**(2): p. 104-14.
36. Hashibe, M., et al., *Interaction between tobacco and alcohol use and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium*. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers, 2009. **18**(2): p. 541-550.
37. Marur, S., et al., *HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic*. Lancet Oncol, 2010. **11**(8): p. 781-9.
38. Stephen, J.K., et al., *Significance of p16 in Site-specific HPV Positive and HPV Negative Head and Neck Squamous Cell Carcinoma*. Cancer Clin Oncol, 2013. **2**(1): p. 51-61.
39. Kawakita, D. and K. Matsuo, *Alcohol and head and neck cancer*. Cancer Metastasis Rev, 2017. **36**(3): p. 425-434.

40. Psyrri, A. and S. Tsiodras, *Optimizing approaches to head-and-neck cancers. Viruses in head-and-neck cancers: prevention and therapy*. Ann Oncol, 2008. **19 Suppl 7**: p. vii189-94.
41. Turunen, A., et al., *Epstein-Barr virus (EBV)-encoded small RNAs (EBERs) associated with poor prognosis of head and neck carcinomas*. Oncotarget, 2017. **8**(16): p. 27328-27338.
42. Guidry, J.T., C.E. Birdwell, and R.S. Scott, *Epstein-Barr virus in the pathogenesis of oral cancers*. Oral Dis, 2018. **24**(4): p. 497-508.
43. Fernandes, Q., et al., *Role of Epstein-Barr Virus in the Pathogenesis of Head and Neck Cancers and Its Potential as an Immunotherapeutic Target*. Front Oncol, 2018. **8**: p. 257.
44. Sabatini, M.E. and S. Chiocca, *Human papillomavirus as a driver of head and neck cancers*. Br J Cancer, 2020. **122**(3): p. 306-314.
45. Adeel, M. and M.I. Siddiqi, *Metachronous second primary malignancy in head and neck cancer patients: is five years of follow-up sufficient?* J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg, 2018. **44**(5): p. 220-224.
46. Bugter, O., et al., *Survival of patients with head and neck cancer with metachronous multiple primary tumors is surprisingly favorable*. Head Neck, 2019. **41**(6): p. 1648-1655.
47. Lee, D.H., et al., *Second cancer incidence, risk factor, and specific mortality in head and neck squamous cell carcinoma*. Otolaryngol Head Neck Surg, 2013. **149**(4): p. 579-86.
48. Argiris, A., et al., *Competing causes of death and second primary tumors in patients with locoregionally advanced head and neck cancer treated with chemoradiotherapy*. Clin Cancer Res, 2004. **10**(6): p. 1956-62.
49. *WHO Classification of Head and Neck Tumours*. 4th Edition ed, ed. C.J. El-Naggar AK, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ. Vol. Volume 9.

50. van der Waal, I., *Oral leukoplakia, the ongoing discussion on definition and terminology*. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2015. **20**(6): p. e685-92.
51. Gurbuz, O., *Precancerous lesions of the oral mucosa*. 2012.
52. Neville, B.W. and T.A. Day, *Oral cancer and precancerous lesions*. CA Cancer J Clin, 2002. **52**(4): p. 195-215.
53. Pai, S.I. and W.H. Westra, *Molecular pathology of head and neck cancer: implications for diagnosis, prognosis, and treatment*. Annu Rev Pathol, 2009. **4**: p. 49-70.
54. Park, B.J., S.I. Chiosea, and J.R. Grandis, *Molecular changes in the multistage pathogenesis of head and neck cancer*. Cancer Biomark, 2010. **9**(1-6): p. 325-39.
55. Gałdzicka, J., et al., *Epigenetic Modifications in Head and Neck Cancer*. Biochem Genet, 2020. **58**(2): p. 213-244.
56. Alfouzan, A.F., *Head and neck cancer pathology: Old world versus new world disease*. Niger J Clin Pract, 2019. **22**(1): p. 1-8.
57. Kennel, T., et al., *Head and neck carcinoma of unknown primary*. Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis, 2019. **136**(3): p. 185-192.
58. Chernock, R.D. and J.S. Lewis, *Approach to metastatic carcinoma of unknown primary in the head and neck: squamous cell carcinoma and beyond*. Head Neck Pathol, 2015. **9**(1): p. 6-15.
59. Vishwanath, V., S. Jafarieh, and A. Rembielak, *The role of imaging in head and neck cancer: An overview of different imaging modalities in primary diagnosis and staging of the disease*. J Contemp Brachytherapy, 2020. **12**(5): p. 512-518.
60. Dammann, F., et al., *Diagnostic imaging modalities in head and neck disease*. Dtsch Arztebl Int, 2014. **111**(23-24): p. 417-23.
61. Iglesias Docampo, L.C., et al., *SEOM clinical guidelines for the treatment of head and neck cancer (2017)*. Clin Transl Oncol, 2018. **20**(1): p. 75-83.

62. Zandoni, D.K., S.G. Patel, and J.P. Shah, *Changes in the 8th Edition of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) Staging of Head and Neck Cancer: Rationale and Implications*. Curr Oncol Rep, 2019. **21**(6): p. 52.
63. Lydiatt, W.M., et al., *Head and Neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual*. CA Cancer J Clin, 2017. **67**(2): p. 122-137.
64. Lydiatt, W., B. O'Sullivan, and S. Patel, *Major Changes in Head and Neck Staging for 2018*. Am Soc Clin Oncol Educ Book, 2018. **38**: p. 505-514.
65. J. Larry Jameson et al.-Harrison's Principles of Internal Medicine. 1-2-McGraw-Hill
66. Amin MB, E.S., Greene FL, et al., eds, *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. Springer International Publishing: American Joint Commission on Cancer; 2017, New York.
67. Glastonbury, C.M., *Critical Changes in the Staging of Head and Neck Cancer*. Radiology: Imaging Cancer, 2020. **2**(1): p. e190022.
68. Machiels, J.P., et al., *Squamous cell carcinoma of the oral cavity, larynx, oropharynx and hypopharynx: EHS-ESMO-ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. Ann Oncol, 2020. **31**(11): p. 1462-1475.
69. Bossi, P., et al., *Nasopharyngeal carcinoma: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. Ann Oncol, 2020.
70. Pfister, D.G., et al., *Head and Neck Cancers, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology*. J Natl Compr Canc Netw, 2020. **18**(7): p. 873-898.
71. Cohen, E.E.W., et al., *The Society for Immunotherapy of Cancer consensus statement on immunotherapy for the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck (HNSCC)*. J Immunother Cancer, 2019. **7**(1): p. 184.

72. Vermorken, J.B., et al., *Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer*. N Engl J Med, 2008. **359**(11): p. 1116-27.
73. Capizzi, R.L., et al., *Methotrexate therapy of head and neck cancer: improvement in therapeutic index by the use of leucovorin "rescue"*. Cancer Res, 1970. **30**(6): p. 1782-8.
74. Rooney, M., et al., *Improved complete response rate and survival in advanced head and neck cancer after three-course induction therapy with 120-hour 5-FU infusion and cisplatin*. Cancer, 1985. **55**(5): p. 1123-8.
75. Adelstein, D.J., et al., *Simultaneous versus sequential combined technique therapy for squamous cell head and neck cancer*. Cancer, 1990. **65**(8): p. 1685-91.
76. Forastiere, A.A., et al., *Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer*. N Engl J Med, 2003. **349**(22): p. 2091-8.
77. Calais, G., et al., *Randomized trial of radiation therapy versus concomitant chemotherapy and radiation therapy for advanced-stage oropharynx carcinoma*. J Natl Cancer Inst, 1999. **91**(24): p. 2081-6.
78. Bonner, J.A., et al., *Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck*. N Engl J Med, 2006. **354**(6): p. 567-78.
79. D'Souza, G., et al., *Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer*. New England Journal of Medicine, 2007. **356**(19): p. 1944-1956.
80. Posner, M.R., et al., *Cisplatin and fluorouracil alone or with docetaxel in head and neck cancer*. N Engl J Med, 2007. **357**(17): p. 1705-15.
81. Ferris, R.L., et al., *Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck*. N Engl J Med, 2016. **375**(19): p. 1856-1867.

82. Chen, A.M., et al., *Reduced-dose radiotherapy for human papillomavirus-associated squamous-cell carcinoma of the oropharynx: a single-arm, phase 2 study*. The Lancet Oncology, 2017. **18**(6): p. 803-811.
83. American Society of Clinical Oncology , *Head and Neck Cancer Cancer Progress Timeline Guideline*.
84. Burtneess, B., et al., *Pembrolizumab alone or with chemotherapy versus cetuximab with chemotherapy for recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-048): a randomised, open-label, phase 3 study*. Lancet, 2019. **394**(10212): p. 1915-1928.
85. Seiwert, T.Y., et al., *Safety and clinical activity of pembrolizumab for treatment of recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-012): an open-label, multicentre, phase 1b trial*. Lancet Oncol, 2016. **17**(7): p. 956-965.
86. Farkona, S., E.P. Diamandis, and I.M. Blasutig, *Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer?* BMC Med, 2016. **14**: p. 73.
87. Yang, B., et al., *Progresses and Perspectives of Anti-PD-1/PD-L1 Antibody Therapy in Head and Neck Cancers*. Front Oncol, 2018. **8**: p. 563.
88. Hanahan, D. and R.A. Weinberg, *Hallmarks of cancer: the next generation*. Cell, 2011. **144**(5): p. 646-74.
89. Vinay, D.S., et al., *Immune evasion in cancer: Mechanistic basis and therapeutic strategies*. Semin Cancer Biol, 2015. **35 Suppl**: p. S185-s198.
90. Anderson, K.G., I.M. Stromnes, and P.D. Greenberg, *Obstacles Posed by the Tumor Microenvironment to T cell Activity: A Case for Synergistic Therapies*. Cancer Cell, 2017. **31**(3): p. 311-325.
91. Ferris, R.L., *Immunology and Immunotherapy of Head and Neck Cancer*. J Clin Oncol, 2015. **33**(29): p. 3293-304.

92. Merlano, M.C., N. Denaro, and O. Garrone, *Immune escape mechanisms in head and neck squamous cell carcinoma and implication for new immunotherapy approach*. Curr Opin Oncol, 2020. **32**(3): p. 203-209.
93. Theodoraki, M.N., et al., *Clinical Significance of PD-L1(+) Exosomes in Plasma of Head and Neck Cancer Patients*. Clin Cancer Res, 2018. **24**(4): p. 896-905.
94. Seliger, B., *Basis of PD1/PD-L1 Therapies*. J Clin Med, 2019. **8**(12).
95. Kythreotou, A., et al., *PD-L1*. J Clin Pathol, 2018. **71**(3): p. 189-194.
96. Sun, C., R. Mezzadra, and T.N. Schumacher, *Regulation and Function of the PD-L1 Checkpoint*. Immunity, 2018. **48**(3): p. 434-452.
97. Parry, R.V., et al., *CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms*. Mol Cell Biol, 2005. **25**(21): p. 9543-53.
98. Müller, T., et al., *PD-L1: a novel prognostic biomarker in head and neck squamous cell carcinoma*. Oncotarget, 2017. **8**(32): p. 52889-52900.
99. Mei, Z., et al., *Immune checkpoint pathways in immunotherapy for head and neck squamous cell carcinoma*. International journal of oral science, 2020. **12**(1): p. 1-9.
100. Wu, Y., et al., *PD-L1 Distribution and Perspective for Cancer Immunotherapy-Blockade, Knockdown, or Inhibition*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 2022.
101. Zou, W. and L. Chen, *Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment*. Nat Rev Immunol, 2008. **8**(6): p. 467-77.
102. Patel, S.P. and R. Kurzrock, *PD-L1 Expression as a Predictive Biomarker in Cancer Immunotherapy*. Mol Cancer Ther, 2015. **14**(4): p. 847-56.
103. Strati, A., et al., *Prognostic significance of PD-L1 expression on circulating tumor cells in patients with head and neck squamous cell carcinoma*. Ann Oncol, 2017. **28**(8): p. 1923-1933.

104. Maruse, Y., et al., *Significant association of increased PD-L1 and PD-1 expression with nodal metastasis and a poor prognosis in oral squamous cell carcinoma*. Int J Oral Maxillofac Surg, 2018. **47**(7): p. 836-845.
105. Qiao, X.-w., et al., *The Evolving Landscape of PD-1/PD-L1 Pathway in Head and Neck Cancer*. Frontiers in Immunology, 2020. **11**(1721).
106. Vassilakopoulou, M., et al., *Evaluation of PD-L1 Expression and Associated Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma*. Clin Cancer Res, 2016. **22**(3): p. 704-13.
107. Lin, Y.M., et al., *High PD-L1 Expression Correlates with Metastasis and Poor Prognosis in Oral Squamous Cell Carcinoma*. PLoS One, 2015. **10**(11): p. e0142656.
108. Witte, H.M., et al., *Prognostic Impact of PD-L1 Expression in Malignant Salivary Gland Tumors as Assessed by Established Scoring Criteria: Tumor Proportion Score (TPS), Combined Positivity Score (CPS), and Immune Cell (IC) Infiltrate*. Cancers (Basel), 2020. **12**(4).
109. Economopoulou, P., et al., *Diagnostic Tumor Markers in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HNSCC) in the Clinical Setting*. Front Oncol, 2019. **9**: p. 827.
110. Cristina, V., et al., *Immunotherapies and Future Combination Strategies for Head and Neck Squamous Cell Carcinoma*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(21).
111. Downes, M.R., et al., *Inter- and intraobserver agreement of programmed death ligand 1 scoring in head and neck squamous cell carcinoma, urothelial carcinoma and breast carcinoma*. Histopathology, 2020. **76**(2): p. 191-200.
112. Rasmussen, J.H., et al., *Intratumor heterogeneity of PD-L1 expression in head and neck squamous cell carcinoma*. British journal of cancer, 2019. **120**(10): p. 1003-1006.
113. Tagliamento, M., P. Bironzo, and S. Novello, *New emerging targets in cancer immunotherapy: the role of VISTA*. ESMO Open, 2020. **4**(Suppl 3): p. e000683.

114. Huang, X., et al., *VISTA: an immune regulatory protein checking tumor and immune cells in cancer immunotherapy*. J Hematol Oncol, 2020. **13**(1): p. 83.
115. ElTanbouly, M.A., et al., *VISTA: a novel immunotherapy target for normalizing innate and adaptive immunity*. Semin Immunol, 2019. **42**: p. 101308.
116. Nowak, E.C., et al., *Immunoregulatory functions of VISTA*. Immunol Rev, 2017. **276**(1): p. 66-79.
117. Xu, W., et al., *Immune-Checkpoint Protein VISTA Regulates Antitumor Immunity by Controlling Myeloid Cell-Mediated Inflammation and Immunosuppression*. Cancer Immunol Res, 2019. **7**(9): p. 1497-1510.
118. Xu, W., et al., *The structure, expression, and multifaceted role of immune-checkpoint protein VISTA as a critical regulator of anti-tumor immunity, autoimmunity, and inflammation*. Cell Mol Immunol, 2018. **15**(5): p. 438-446.
119. Takahashi, S., et al., *In vivo overexpression of CTLA-4 suppresses lymphoproliferative diseases and thymic negative selection*. Eur J Immunol, 2005. **35**(2): p. 399-407.
120. Tivol, E.A., et al., *Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4*. Immunity, 1995. **3**(5): p. 541-7.
121. Nishimura, H., et al., *Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor*. Immunity, 1999. **11**(2): p. 141-51.
122. Cassol, C., et al., *Anti-PD-1 Immunotherapy May Induce Interstitial Nephritis With Increased Tubular Epithelial Expression of PD-L1*. Kidney Int Rep, 2019. **4**(8): p. 1152-1160.
123. Wang, J., et al., *Establishment of NOD-Pdcd1^{-/-} mice as an efficient animal model of type I diabetes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(33): p. 11823-8.

124. Nishimura, H., et al., *Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice*. Science, 2001. **291**(5502): p. 319-22.
125. Wang, L., et al., *Disruption of the immune-checkpoint VISTA gene imparts a proinflammatory phenotype with predisposition to the development of autoimmunity*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014. **111**(41): p. 14846-51.
126. Le Mercier, I., et al., *VISTA Regulates the Development of Protective Antitumor Immunity*. Cancer Res, 2014. **74**(7): p. 1933-44.
127. Zhang, M., et al., *VISTA expression associated with CD8 confers a favorable immune microenvironment and better overall survival in hepatocellular carcinoma*. BMC cancer, 2018. **18**(1): p. 1-8.
128. Zong, L., et al., *VISTA expression is associated with a favorable prognosis in patients with high-grade serous ovarian cancer*. Cancer Immunol Immunother, 2020. **69**(1): p. 33-42.
129. Cao, X., et al., *VISTA Expression on Immune Cells Correlates With Favorable Prognosis in Patients With Triple-Negative Breast Cancer*. Front Oncol, 2020. **10**: p. 583966.
130. Loeser, H., et al., *The expression of the immune checkpoint regulator VISTA correlates with improved overall survival in pT1/2 tumor stages in esophageal adenocarcinoma*. Oncoimmunology, 2019. **8**(5): p. e1581546.
131. Golden, E.B., et al., *The convergence of radiation and immunogenic cell death signaling pathways*. Front Oncol, 2012. **2**: p. 88.
132. Sato, H., N. Okonogi, and T. Nakano, *Rationale of combination of anti-PD-1/PD-L1 antibody therapy and radiotherapy for cancer treatment*. International journal of clinical oncology, 2020. **25**(5): p. 801-809.
133. Shevtsov, M., et al., *Novel Approaches to Improve the Efficacy of Immuno-Radiotherapy*. Front Oncol, 2019. **9**: p. 156.

134. Qian, J.M. and J.D. Schoenfeld, *Radiotherapy and Immunotherapy for Head and Neck Cancer: Current Evidence and Challenges*. Frontiers in Oncology, 2021. **10**(3307).
135. Wang, D., et al., *Research Progress and Existing Problems for Abscopal Effect*. Cancer Manag Res, 2020. **12**: p. 6695-6706.
136. Buchwald, Z.S., et al., *Radiation, Immune Checkpoint Blockade and the Abscopal Effect: A Critical Review on Timing, Dose and Fractionation*. Front Oncol, 2018. **8**: p. 612.
137. Lauber, K. and L. Dunn, *Immunotherapy Mythbusters in Head and Neck Cancer: The Abscopal Effect and Pseudoprogression*. Am Soc Clin Oncol Educ Book, 2019. **39**: p. 352-363.
138. von der Grün, J., et al., *Targeted therapies and immune-checkpoint inhibition in head and neck squamous cell carcinoma: where do we stand today and where to go?* Cancers, 2019. **11**(4): p. 472.
139. Demaria, S., E.B. Golden, and S.C. Formenti, *Role of Local Radiation Therapy in Cancer Immunotherapy*. JAMA Oncol, 2015. **1**(9): p. 1325-32.
140. Dewan, M.Z., et al., *Fractionated but not single-dose radiotherapy induces an immune-mediated abscopal effect when combined with anti-CTLA-4 antibody*. Clin Cancer Res, 2009. **15**(17): p. 5379-88.
141. Schaeue, D., et al., *Maximizing tumor immunity with fractionated radiation*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2012. **83**(4): p. 1306-10.
142. Wang, Y.J., et al., *Immunogenic effects of chemotherapy-induced tumor cell death*. Genes Dis, 2018. **5**(3): p. 194-203.
143. Ock, C.Y., et al., *Changes in programmed death-ligand 1 expression during cisplatin treatment in patients with head and neck squamous cell carcinoma*. Oncotarget, 2017. **8**(58): p. 97920-97927.

144. Demaria, S., et al., *Immune-mediated inhibition of metastases after treatment with local radiation and CTLA-4 blockade in a mouse model of breast cancer*. Clin Cancer Res, 2005. **11**(2 Pt 1): p. 728-34.
145. Lin, W., et al., *Crosstalk Between PD-1/PD-L1 Blockade and Its Combinatorial Therapies in Tumor Immune Microenvironment: A Focus on HNSCC*. Front Oncol, 2018. **8**: p. 532.
146. Ferris, R.L., et al., *Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck*. New England Journal of Medicine, 2016. **375**(19): p. 1856-1867.
147. Cohen, E.E.W., et al., *Pembrolizumab versus methotrexate, docetaxel, or cetuximab for recurrent or metastatic head-and-neck squamous cell carcinoma (KEYNOTE-040): a randomised, open-label, phase 3 study*. Lancet, 2019. **393**(10167): p. 156-167.
148. Bahleda, R., et al., *Long-term safety and clinical outcomes of atezolizumab in head and neck cancer: phase Ia trial results*. Annals of Oncology, 2017. **28**: p. v373.
149. Qian, J.M. and J.D. Schoenfeld, *Radiotherapy and Immunotherapy for Head and Neck Cancer: Current Evidence and Challenges*. Front Oncol, 2020. **10**: p. 608772.
150. Hecht, M., et al., *PD-L1 is upregulated by radiochemotherapy in rectal adenocarcinoma patients and associated with a favourable prognosis*. Eur J Cancer, 2016. **65**: p. 52-60.
151. Patel, K.R., et al., *Increase in PD-L1 expression after pre-operative radiotherapy for soft tissue sarcoma*. Oncoimmunology, 2018. **7**(7): p. e1442168.
152. Twyman-Saint Victor, C., et al., *Radiation and dual checkpoint blockade activate non-redundant immune mechanisms in cancer*. Nature, 2015. **520**(7547): p. 373-7.
153. Schoop, H., et al., *Therapy Resistance in Neoadjuvantly Treated Gastric Cancer and Cancer of the Gastroesophageal Junction is Associated with an Increased*

Expression of Immune Checkpoint Inhibitors-Comparison Against a Therapy Naïve Cohort. Transl Oncol, 2020. **13**(2): p. 165-176.

154. Schuler, P.J., et al., *Effects of adjuvant chemoradiotherapy on the frequency and function of regulatory T cells in patients with head and neck cancer.* Clin Cancer Res, 2013. **19**(23): p. 6585-96.
155. Lee, Y., et al., *Therapeutic effects of ablative radiation on local tumor require CD8+ T cells: changing strategies for cancer treatment.* Blood, 2009. **114**(3): p. 589-95.
156. McBride, S., et al., *Randomized Phase II Trial of Nivolumab With Stereotactic Body Radiotherapy Versus Nivolumab Alone in Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma.* J Clin Oncol, 2021. **39**(1): p. 30-37.
157. Theelen, W., et al., *Effect of Pembrolizumab After Stereotactic Body Radiotherapy vs Pembrolizumab Alone on Tumor Response in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Results of the PEMBRO-RT Phase 2 Randomized Clinical Trial.* JAMA Oncol, 2019. **5**(9): p. 1276-82.
158. Stafford, M. and J. Kaczmar, *The neoadjuvant paradigm reinvigorated: A review of pre-surgical immunotherapy in HNSCC.* Cancers of the head & neck, 2020. **5**(1): p. 1-9.
159. Machiels, J.P., et al., *Pembrolizumab given concomitantly with chemoradiation and as maintenance therapy for locally advanced head and neck squamous cell carcinoma: KEYNOTE-412.* Future Oncol, 2020. **16**(18): p. 1235-1243.
160. Powell, S.F., et al., *Safety and Efficacy of Pembrolizumab With Chemoradiotherapy in Locally Advanced Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Phase IB Study.* J Clin Oncol, 2020. **38**(21): p. 2427-2437.
161. Haddad, R., et al., *IMvoka010: Randomized phase III study of atezolizumab (atezo) as adjuvant monotherapy after definitive therapy of squamous cell carcinoma of the head and neck (SCCHN).* Annals of Oncology, 2018. **29**: p. viii397.

162. Ferris, R.L., et al., *Durvalumab with or without tremelimumab in patients with recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma: EAGLE, a randomized, open-label phase III study*. Ann Oncol, 2020. **31**(7): p. 942-950.
163. Haddad, R., et al., *Double-blind, two-arm, phase 2 study of nivolumab (nivo) in combination with ipilimumab (ipi) versus nivo and ipi-placebo (PBO) as first-line (1L) therapy in patients (pts) with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (R/M SCCHN)—CheckMate 714*. Annals of Oncology, 2016. **27**: p. vi350.
164. Argiris, A., et al., *A randomized, open-label, phase 3 study of nivolumab in combination with ipilimumab vs extreme regimen (cetuximab+ cisplatin/carboplatin+ fluorouracil) as first-line therapy in patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck-CheckMate 651*. Annals of Oncology, 2016. **27**: p. vi350.
165. Yang, W.F., et al., *The prognostic role of PD-L1 expression for survival in head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis*. Oral Oncol, 2018. **86**: p. 81-90.
166. Tang, H., et al., *The different role of PD-L1 in head and neck squamous cell carcinomas: A meta-analysis*. Pathol Res Pract, 2020. **216**(1): p. 152768.
167. Kato, S., et al., *Expression of TIM3/VISTA checkpoints and the CD68 macrophage-associated marker correlates with anti-PD1/PDL1 resistance: implications of immunogram heterogeneity*. Oncoimmunology, 2020. **9**(1): p. 1708065.
168. Liao, H., et al., *Expression of V-domain immunoglobulin suppressor of T cell activation is associated with the advanced stage and presence of lymph node metastasis in ovarian cancer*. Oncol Lett, 2018. **16**(3): p. 3465-3472.
169. Aydil, U., et al., *Failure of Concurrent Chemoradiotherapy for Organ Preservation in Laryngeal Cancer: Survival Outcomes and Recurrence Patterns*. Ear Nose Throat J, 2019. **98**(7): p. E92-e96.

170. Agra, I.M., et al., *Diagnosis and treatment of recurrent laryngeal cancer following initial nonsurgical therapy*. Head Neck, 2012. **34**(5): p. 727-35.
171. Esteller, E., et al., *Salvage surgery after locoregional failure in head and neck carcinoma patients treated with chemoradiotherapy*. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2011. **268**(2): p. 295-301.
172. León, X., et al., *Results of salvage surgery for local or regional recurrence after larynx preservation with induction chemotherapy and radiotherapy*. Head Neck, 2001. **23**(9): p. 733-8.
173. Birkeland, A.C., et al., *Predictors of survival after total laryngectomy for recurrent/persistent laryngeal squamous cell carcinoma*. Head Neck, 2017. **39**(12): p. 2512-2518.
174. Bauml, J., et al., *Pembrolizumab for Platinum- and Cetuximab-Refractory Head and Neck Cancer: Results From a Single-Arm, Phase II Study*. J Clin Oncol, 2017. **35**(14): p. 1542-1549.
175. Pai, S.I., et al., *SUPREME-HN: a retrospective biomarker study assessing the prognostic value of PD-L1 expression in patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck*. J Transl Med, 2019. **17**(1): p. 429.
176. Mehra, R., et al., *Efficacy and safety of pembrolizumab in recurrent/metastatic head and neck squamous cell carcinoma: pooled analyses after long-term follow-up in KEYNOTE-012*. Br J Cancer, 2018. **119**(2): p. 153-159.
177. Liu, J., et al., *Immune-checkpoint proteins VISTA and PD-1 nonredundantly regulate murine T-cell responses*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015. **112**(21): p. 6682-7.
178. Kakavand, H., et al., *Negative immune checkpoint regulation by VISTA: a mechanism of acquired resistance to anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma patients*. Mod Pathol, 2017. **30**(12): p. 1666-1676.

179. Wu, L., et al., *Expression of VISTA correlated with immunosuppression and synergized with CD8 to predict survival in human oral squamous cell carcinoma.* Cancer Immunol Immunother, 2017. **66**(5): p. 627-636.

