



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

**TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ**

**ORGAN KORUMA PROTOKOLÜ UYGULANAN LARİNKS  
KARSİNOMLARINDA STAT3 EKSPRESYONUNUN TEDAVİ  
DİRENCİ VE KONVANSİYONEL PARAMETRELERLE  
İLİŞKİSİ**

**Dr. Esra Nur ŞAHİN**

**UZMANLIK TEZİ**

ANKARA/2022



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**  
**ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

**TIBBİ PATOLOĞİ KLİNİĞİ**

**ORGAN KORUMA PROTOKOLÜ UYGULANAN LARİNKS  
KARSİNOMLARINDA STAT3 EKSPRESYONUNUN TEDAVİ  
DİRENCİ VE KONVANSİYONEL PARAMETRELERLE  
İLİŞKİSİ**

**Dr. Esra Nur ŞAHİN**

**UZMANLIK TEZİ**

**Tez DanıŐmanı**  
**Doç. Dr. Ünsal HAN**

ANKARA/2022

## TEŞEKKÜR

Patoloji uzmanlık eğitimim sürecinde bilgisi ve meslek tecrübesiyle gelişimime büyük katkı sağlayan, çalışma azmini ve disiplinini her zaman örnek aldığım; tezimin araştırma ve yazım sürecinde akademik deneyimleriyle yol gösteren, bu süreçte harcadığı zaman, gösterdiği ilgi ve desteklerinden dolayı kıymetli hocam Doç. Dr. Ünsal HAN'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca akademik bilgisinden ve deneyimlerinden her zaman çok faydalandığım; çözüm odaklı yaklaşımlarıyla ve hoşgörüsüyle her türlü süreci kolaylaştıran, bizleri her konuda destekleyen değerli hocam Prof. Dr. Murat ALPER'e,

Bilgilerini ve meslek tecrübelerini paylaşarak uzmanlık eğitimime büyük katkılar sağlayan; anlayışlı ve destekleyici yönleriyle her zaman yanımda olan değerli hocalarım Doç. Dr. Evrim ÖNDER ve Doç. Dr. Ata Türker ARIKÖK'e,

Bilgileri, katkıları ve her konudaki yardımlarıyla bu süreçte her zaman yanımda olan çok değerli Uzm. Dr. Ayşegül ADABAĞ, Uzm. Dr. Demet YILMAZER, Uzm. Dr. Aysun GÖKCE, Uzm. Dr. Tuğba TAŞKIN TÜRKMENÖĞLU, Uzm. Dr. Sehal ARSLANKOZ ve Uzm. Dr. Eşref DEMİR'e,

Bu uzun ve yorucu asistanlık yoluma devam etmemi sağlayan, beraber çalışmaktan ve vakit geçirmekten çok büyük mutluluk duyduğum, tüm zorlu zamanlarda ve tez sürecimde desteklerini eksik etmeyen, her birini ayrı ayrı çok sevdiğim asistan arkadaşlarıma,

Büyük özveri ve gayretle çalışan laboratuvar çalışanlarımıza, sekreterlerimize ve tüm klinik personelimize,

Ve son olarak beni sabırla bugünlere getiren, koşulsuz ilgi, sevgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan anneme, babama ve sevgili kardeşime,

Sonsuz teşekkürler...

Dr. Esra Nur ŞAHİN

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ÖZET .....	viii
ABSTRACT .....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. LARİNKs EMBRİYOLOJİSİ .....	3
2.2. LARİNKs HİSTOLOJİSİ.....	3
2.3.1. Genel Anatomi.....	5
2.3.2. Larinks Kıkırdakları .....	5
2.3.3. Larinksin Ligament/Membranları .....	5
2.3.3.1. Ekstrensik ligament/membranları.....	6
2.3.3.2. İntrensik ligament/membranları.....	6
2.3.4. Larinksin Eklemleri .....	6
2.3.5. Larinksin Kasları .....	7
2.3.5.1. Ekstresek kaslar .....	7
2.3.5.2. İntresek kaslar .....	8
2.3.6. Larinksin İç Yapısı .....	8
2.3.7. Larinksin Kompartmanları .....	9
2.3.7.1. Supraglottik bölge.....	9
2.3.7.2. Glottik bölge .....	10
2.3.7.3. Subglottik bölge.....	10
2.3.8. Larinksin Damarları ve Sinirleri.....	10
2.4. LARİNKs KANSERLERİ .....	11
2.4.1. Giriş.....	11
2.4.2. Epidemiyoloji .....	11
2.4.3. Etiyoloji .....	12

2.4.4. Klinik Özellikler .....	12
2.4.5. Konvansiyonel Skuamöz Hücreli Karsinoma .....	14
2.4.5.1. Makroskopi .....	14
2.4.5.2. Histopatoloji .....	14
2.4.5.3. Genetik Profil.....	16
2.4.5.4. Prognostik ve Prediktif Faktörler.....	16
2.4.6. Skuamöz Hücreli Karsinoma Subtipleri.....	18
2.4.6.1. Verrüköz karsinom .....	18
2.4.6.2. Bazaloid skuamöz hücreli karsinom .....	19
2.4.6.3. Papiller skuamöz hücreli karsinom.....	19
2.4.6.4. İğsi hücreli skuamöz hücreli karsinom .....	19
2.4.6.5. Adenoskuamöz karsinom.....	20
2.4.6.6. Lenfoepitelyal karsinom .....	21
2.4.7. Evreleme.....	21
2.5. PATOGENEZ .....	23
2.5.1. HPV-Pozitif Baş Boyun Skuamöz Hücreli Karsinomları .....	23
2.5.2. HPV-Negatif Baş Boyun Skuamöz Hücreli Karsinomları .....	24
2.6. TEDAVİ.....	26
2.6.1. Erken Evre Larinks Kanserinde Tedavi .....	26
2.6.2. İleri Evre Larinks Kanserinde Tedavi .....	27
2.7. ORGAN KORUYUCU KEMORADYOTERAPİ.....	27
2.8. TEDAVİ REZİSTANSI.....	30
2.9. JAK/STAT SİNYAL YOLAĞI .....	33
2.9.1. Normal Hücrelerde JAK/STAT Sinyal Yolağı.....	35
2.9.2. JAK/STAT Sinyal Yolağının Düzenlenmesi.....	36
2.9.3. JAK/STAT Sinyal Yolağının Tümörögenezdeki Rolü.....	37
2.9.4. JAK/STAT Yolağının Kemoterapi ve Radyoterapi Direncindeki Rolü .....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. VAKA GRUBUNUN TANIMLANMASI .....	40
3.2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	41
3.3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA.....	41

3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME.....	42
3.5. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM.....	46
3.6. ETİK KURUL ONAYI.....	46
4. BULGULAR.....	47
5. TARTIŞMA.....	63
6. SONUÇLAR.....	76
7. KAYNAKLAR.....	79
8. ÖZGEÇMİŞ.....	88
9. EKLER .....	90
EK-1: p-STAT3 DATASHEET .....	90



## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>AJCC</b>	: “American Joint Committee on Cancer”
<b>CAP</b>	: “College of American Pathologists”
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>EBV</b>	: Epstein-Barr Virus
<b>ENE</b>	: Ekstranodal Uzanım
<b>HPV</b>	: Human Papilloma Virus
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen ve Eozin
<b>JAK</b>	: “Janus Kinase”
<b>KT</b>	: Kemoterapi
<b>KRT</b>	: Kemoradyoterapi
<b>p-STAT3</b>	: “phospho-STAT3”
<b>RT</b>	: Radyoterapi
<b>SHK</b>	: Skuamöz Hücreli Karsinom
<b>STAT</b>	: “Signal Transducer and Activator of Transcription”
<b>TNM</b>	: Tümör-Nod-Metastaz
<b>TRHG</b>	: Tedaviye Dirençli Hasta Grubu
<b>TSHG</b>	: Tedaviye Sensitif Hasta Grubu

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1:</b>	Larinksin histolojisi.....	4
<b>Şekil 2:</b>	Larinksin kıkırdakları ve ligamentleri (önden ve arkadan görünüş) .....	7
<b>Şekil 3:</b>	Larinksin intrinsek ve ekstrinsek kasları (arkadan, yandan ve üstten görünüş).....	9
<b>Şekil 4:</b>	Larinksin kompartmanları.....	10
<b>Şekil 5:</b>	STAT3 ile ilişki hücresel olayların şematik gösterimi.....	34
<b>Şekil 6:</b>	JAK/STAT sinyal yolağına genel bakış.....	35
<b>Şekil 8:</b>	STAT3 ilişkili genler ve tümörögenezdeki rolleri.....	38
<b>Şekil 9:</b>	İyi diferansiye keratinize SHK'un tanı biyopsisi ve larenjektomi materyalinde gözlenen paralel p-STAT3 boyanması.....	43
<b>Şekil 10:</b>	Orta diferansiye keratinize SHK ve p-STAT3 boyanması.....	44
<b>Şekil 11:</b>	Az diferansiye keratinize SHK ve p-STAT3 boyanması.....	44
<b>Şekil 12:</b>	İğsi hücreli SHK ve p-STAT3 boyanması.....	45
<b>Şekil 13:</b>	Bazaloid SHK ve p-STAT3 boyanması.....	45
<b>Şekil 14:</b>	p-STAT3 ekspresyon düzeyi ile hastalıksız sağkalım arasındaki ilişki.....	55
<b>Şekil 15:</b>	p-STAT3 ekspresyon düzeyi ile genel sağkalım arasındaki ilişki.....	56
<b>Şekil 16:</b>	Düşük p-STAT3 ekspresyonunda genel sağkalım eğrisi (cKRT+iKRT vs RT).....	60
<b>Şekil 17:</b>	Düşük p-STAT3 ekspresyonunda hastalıksız sağkalım eğrisi (cKRT+iKRT vs RT).....	61
<b>Şekil 18:</b>	Yüksek p-STAT3 ekspresyonunda genel sağkalım eğrisi (cKRT+iKRT vs RT).....	61
<b>Şekil 19:</b>	Yüksek p-STAT3 ekspresyonunda hastalıksız sağkalım eğrisi (cKRT+iKRT vs RT).....	62

## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo 1:</b>	Larinks, hipofarinks, trakea ve parafaringeal boşluk tümörlerinin DSÖ sınıflaması .....	11
<b>Tablo 2:</b>	Larinks kanserlerinin patolojik evre sınıflaması (pTNM).....	22
<b>Tablo 3:</b>	Larinks kanserlerinin tümör evre gruplaması .....	23
<b>Tablo 4:</b>	RT ile bazı KT ajanlarının etki ve direnç mekanizmalarının özeti .....	31
<b>Tablo 5:</b>	İmmunohistokimyasal boyama değerlendirme sistemi – 1 .....	42
<b>Tablo 6:</b>	İmmunohistokimyasal boyama değerlendirme sistemi – 2.....	43
<b>Tablo 7:</b>	TSHG ile TRHG'nun epidemiyolojik verilerinin karşılaştırması.....	49
<b>Tablo 8:</b>	TSHG ile TRHG'nun tümör evresi açısından karşılaştırılması .....	50
<b>Tablo 9:</b>	TSHG ile TSHG'nda uygulanan tedavilerin dağılımı.....	51
<b>Tablo 10:</b>	TSHG ile TRHG'nun tanı biyopsilerinde p-STAT3 ekspresyonunun karşılaştırması .....	51
<b>Tablo 11:</b>	TSHG ile TRHG arasında yüksek ve düşük STAT3 ekspresyonunun dağılımı .....	52
<b>Tablo 12:</b>	Tedavi subgruplarında göre, TSHG ile TRHG arasında yüksek ve düşük STAT3 ekspresyonunun dağılımı.....	53
<b>Tablo 14:</b>	STAT3 ekspresyon düzeyinin klinik evre ile ilişkisi .....	54
<b>Tablo 15:</b>	Nükse kadar geçen sürenin STAT3 ekspresyon düzeyi ile ilişkisi .....	55
<b>Tablo 16:</b>	TRHG'nda tanı biyopsisi ve larenjektomi materyallerinde STAT3 ekspresyon karşılaştırması .....	57
<b>Tablo 17:</b>	TRHG'nda tanı biyopsisi ve larenjektomi materyallerinde STAT3 ekspresyon korelasyonu .....	57
<b>Tablo 18:</b>	Düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalarda RT'ye eklenen KT'nin klinik evre ve nükse kadar geçen süre üzerine etkisi .....	58
<b>Tablo 19:</b>	Yüksek p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalarda RT'ye eklenen KT'nin klinik evre ve nükse kadar geçen süre üzerine etkisi .....	59

## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Organ koruyucu tedavi uygulanan larinks skuamöz hücreli karsinomlarının tedavisindeki en büyük sorunlardan biri tedavi direncidir. JAK/STAT sinyal yolağı, son zamanlarda tedavi direnci ile ilişkilendirilen majör sinyal yollarındandır. STAT3 ekspresyon seviyesindeki artışın radyoterapi ve/veya kemoterapi direnci ile ilişkili olabileceği ve STAT3 inhibitörlerinin hedefe yönelik tedavide kullanılabileceği gündeme gelmiştir. Çalışmamızın amacı, larinks skuamöz hücreli karsinom tanısı alan ve organ koruyucu tedavi protokolü uygulanan hastalarda, STAT3 ekspresyonunun tedavi direnci ve klinik/histopatolojik prognostik parametrelerle ilişkisini araştırmaktır. İkincil amacımız ise radikal cerrahi (larenjektomi) uygulanan, tedaviye dirençli vakalarda tanı biyopsileri ve larenjektomi materyallerinde STAT3 ekspresyon durumunu değerlendirmek; bu sayede tedavi direncinin tanı biyopsilerinden öngörülebilirliğini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamızda T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji kliniğinde 2008-2022 yılları arasında larinks skuamöz hücreli karsinomu tanısı alan ve cerrahi dışı tedavi uygulanan 123 vaka dahil edildi. Vakalar, uygulanan organ koruyucu tedavilere yanıt durumlarına göre tedaviye sensitif hasta grubu (TSHG) ve tedaviye rezistan hasta grubu (TRHG) olmak üzere iki gruba ayrıldı. TSHG'nun tanı biyopsilerine ait birer adet; TRHG'nun tanı biyopsilerine ve tedavi sonrası biyopsilerine ait tümöral dokuları içeren ikişer adet parafin bloktan elde edilen kesitlere immünohistokimyasal olarak p-STAT3 antikoru uygulandı. p-STAT3 ekspresyonu skorlanarak, STAT3 ekspresyon düzeyinin tedavi direnci ve klinik/patolojik prognostik parametrelerle ilişkisi değerlendirildi.

**Bulgular:** Vakalar TSHG ve TRHG olarak ayrılmış ve her iki grubun tanı biyopsilerinde p-STAT3 ekspresyonu değerlendirilmiş olup iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir boyanma farkı saptanmadı. TSHG'nun tanı yaşı, TRHG'na göre anlamlı olarak daha ileri bulundu ( $p= 0,038$ ). TSHG'da subglottik lokalizasyonda tümör olmadığı ve diğer lokalizasyonlardaki tümörlerin benzer oranda olduğu; TRHG'da ise tümörlerin en sık transglottik lokalizasyonda olduğu görüldü.

Bu dağılım farkı istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0,001$ ). Vakalar STAT3 ekspresyon düzeylerine göre iki gruba ayrılıp değerlendirilmiş olup iki grup arasında histopatolojik ve klinik prognostik parametreler açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Ayrıca TRHG'ndaki vakaların, tanı biyopsilerindeki ve larenjektomi materyallerindeki STAT3 boyanmasının ortanca değerleri arasında anlamlı bir fark görülmedi.

**Sonuç:** Çalışmamızda STAT3 immünekspresyonu, larinks skuamöz hücreli karsinomlarında kemoradyoterapi direnci ile ilişkili bulunmamıştır. STAT3 ekspresyon düzeyi prognostik parametrelerle ve sağkalımla ilişkili görünmemektedir. Bu nedenle STAT3, tedavi direncini ve hastalık prognozunu öngörmemize katkı sağlayacak bir biyobelirteç olarak değerlendirilememiştir. TSHG, TRHG'na göre daha ileri yaşlarda tanı almaktadır. TSHG ve TRHG'nda tümör lokalizasyonları farklılık gösterme eğilimindedir. TRHG'ndaki vakaların, tanı biyopsileri ve larenjektomi materyallerindeki STAT3 boyanmasında fark gözlenmemesi, JAK/STAT sinyal yolağının tedavi sürecinin başında ve sonunda benzer düzeyde etkin olduğunu; verilen tedavilere sekonder olarak sonradan aktive veya inhibe olup tedavi direncine neden olmadığını düşündürebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Laringeal skuamöz hücreli karsinom, STAT3, tedavi direnci

## ABSRACT

**Introduction and Aim:** One of the biggest problems that laryngeal squamous cell carcinomas patients which are receiving organ-preserving treatment have is the treatment resistance. The JAK/STAT signaling pathway is one of the major signaling pathways recently associated with treatment resistance. It has been brought to the agenda that the increase in STAT3 expression level may be associated with radiotherapy and/or chemotherapy resistance and that STAT3 inhibitors can be used in targeted treatment. The aim of our study is to investigate the relationship of STAT3 expression with treatment resistance and clinical/histopathological prognostic parameters in patients diagnosed with laryngeal squamous cell carcinoma and undergoing organ-preserving treatment protocol. Our secondary aim is to evaluate the STAT3 expression status in diagnostic biopsies and laryngectomy materials in treatment-resistant cases undergoing radical surgery (laryngectomy); thereby investigating the predictability of treatment resistance from diagnostic biopsies.

**Materials and Method:** In our study 123 cases were included that have been diagnosed with laryngeal squamous cell carcinoma and were receiving non-surgical treatment between 2008-2022 at the Dışkapı Yıldırım Beyazıt Training and Research Hospital, Medical Pathology clinic. The cases were divided into two groups as treatment-sensitive patient group (TSPG) and treatment-resistant patient group (TRPG) according to their response to organ-preserving treatments. One of each TSPG's diagnostic biopsies' sections and two of each TRPG's sections from diagnostic and post treatment biopsies was stained with p-STAT3 immunohistochemically. The relationship of STAT3 expression level with treatment resistance and clinical/pathological prognostic parameters was evaluated by scoring p-STAT3 expression.

**Results:** Cases were separated as TSPG and TRPG, and p-STAT3 expression was evaluated in the diagnostic biopsies of both groups, and no statistically significant staining difference was found between the two groups. However, diagnosis age of TSPG have been found significantly higher compered to TRPG ( $p= 0,038$ ). In TSPG, it was seen that there is no tumor at the subglottic localization and tumors at other

localizations have a similar rate; for TRPG, on the other hand the tumors were mostly at the transglottic localization. This distribution difference was statistically significant ( $p= 0.001$ ). The cases were divided into two groups according to their STAT3 expression levels and no significant difference was found between the two groups in terms of histopathological and clinical prognostic parameters after the evaluation. In addition, for the cases of TRPG there was no significant difference between the median values of STAT3 staining in diagnostic biopsies and laryngectomy materials.

**Conclusion:** In our study there has been no relationship that is found between STAT3 immunoeexpression and chemoradiotherapy resistance in laryngeal squamous cell carcinomas. STAT3 expression level does not appear to be associated with prognostic parameters and survival. Therefore, STAT3 could not be evaluated as a biomarker that would contribute to our prediction of treatment resistance and disease prognosis. TSPG is diagnosed at a later age than TRPG. Tumor localizations of TSPG and TRPG tend to differ. The lack of STAT3 staining difference for diagnostic biopsies and laryngectomy materials might suggest that JAK/STAT signaling pathway is similarly active at the beginning and end of the treatment process; it is not activated or inhibited secondarily to given treatments and does not cause treatment resistance.

**Keywords:** Laryngeal squamous cell carcinoma, STAT3, treatment resistance

## 1. GİRİŞ

Larinks kanserleri, yıllık kanser vakalarının %1,1 kadarını oluşturmaktadır. Baş ve boyun kanserleri içinde en sık görülen kanserlerdendir (1). Solunum yollarının akciğer kanserinden sonra gelen ikinci en sık kanseridir. Larinks kanserlerinin %95'ten fazlasını skuamöz hücreli karsinomlar (SHK) oluşturmaktadır (2). Hastaların tanı anındaki evreleri ile sağkalım oranları arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Erken evre larinks kanserlerinde kür oranları %80-90'a yaklaşmıştır (3). Ancak vakaların %60 kadarı tanı anında ileri evrededir. Onkolojik hastalıklar içinde 5 yıllık sağkalımı düşüş gösteren kanserlerdendir. 5 yıllık sağkalım son 40 yılda %66'dan %63'e düşüş göstermiştir (4).

Larinks skuamöz hücreli karsinomlarının tedavisinde esas amaç hastalığı kontrol etmek; ikincil amaçlar ise trakeostomiden kaçınmak, fonasyon ve yutma fonksiyonlarının korunmasıdır. Tedavide geleneksel olarak cerrahi, radyoterapi, sistemik tedavi (kemoterapi) ya da kombine tedaviler uygulanmaktadır (5). Son dekatta tedavi yaklaşımları organ koruyucu tedaviler üzerinde yoğunlaşmıştır. Organ koruyucu tedavilerde radyoterapi, kemoterapi ve hedefe yönelik ajanlarla larenjektomiye gerek kalmadan kür şansı sağlanabilmektedir (6). Bu tedavi protokolleri ile bir grup hastada hastalık kontrolü sağlanabilmekte ve larenjektomiye ihtiyaç duyulmamaktadır, fakat bazı hastalar uygulanan tedavilere direnç göstermektedir. Organ koruyucu tedavilerin başarısını öngören belirteçler aransa da tedavi seçimini ve prognozu yönlendirebilecek bir marker henüz bulunamamıştır (3). Kemoterapi ve radyoterapi direnci larinks skuamöz hücreli karsinomlarının tedavisinde en büyük bariyerlerden biridir. Bu nedenle altta yatan direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, mevcut olan az sayıdaki tedavi seçeneklerine olan yanıtın artması ve yeni geliştirilecek potansiyel tedavi ajanları açısından yeni hedef moleküllerin tanımlanması için oldukça önemlidir. Pek çok majör sinyal yolağı ve farklı mekanizmalar baş boyun SHK'larında kemoradyoterapi direnç mekanizmalarıyla ilişkili bulunmuştur. Araştırılan bu yolaklardan bir tanesi de Janus Kinase (JAK)/ signal transducer and activator of transcription (STAT) sinyal yolağıdır (7).

JAK-STAT sinyal yolağının efektör molekülü olan STAT3, çeşitli hücrelerel sinyal yolaklarını düzenleyen intrasellüler bir sinyal molekülüdür. Aktive olduğunda nükleusa transloke olarak proliferasyon, anjiyogenez ve DNA tamiri gibi çok sayıda esansiyel hücre fonksiyonlarını düzenleyici rolü vardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, tümöral hücrelerde STAT3 overekspresyonu ya da persistan aktivasyonunun olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca STAT3 ekspresyon seviyesindeki artışın kemoradyoterapi direnci ile ilişkili olabileceği ve STAT3 inhibitörlerinin hedefe yönelik tedavide ve direnç geliştiren olgularda kullanılabileceği gündeme gelmiştir (8).

Çalışmamızın amacı, larinks skuamöz hücreli karsinom tanısı alan ve organ koruyucu tedavi uygulanan hastalarda; uygulanan organ koruyucu tedavi protokolüne yanıt veren vakalar ile tedaviye direnç gösteren vakalar arasında, fosforile-STAT3 (p-STAT3) antikoruna ait immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin tespit edilerek, tedavi direnci gelişmesi beklenen hasta grubunu ilk tanı anında, tedavi şeması başlanmadan önce öngörebilmektir ve bu sayede tedaviye yol gösterebilmektir. Bunun yanısıra p-STAT3 antikoruna ait boyanma özelliklerinin histopatolojik ve klinik prognostik parametrelerle ilişkisinin saptanması da hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. LARİNKES EMBRİYOLOJİSİ

Larinks embriyolojisi prenatal evre ve postnatal evre olarak iki dönemde incelenmektedir (9). Larinksin supraglottik bölümü 3. ve 4. brankial arkıtan gelişmektedir. Bu nedenle bu arklardan köken alan oral kavite ve orofarinks gelişimiyle ilişkilidir. Glottik ve subglottik bölge ise trakea ve akciğerlerin de köken aldığı 6. brankial arkıtan gelişmektedir. Bocca ve arkadaşları da larinksin embriyolojik olarak üst ve alt kısım olarak iki ayrı hemilarinksten oluştuğunu ve her bir yarının kendine ait bir gelişimsel kökeni ve bağımsız bir lenfatik sirkülasyonu olduğunu göstermişlerdir. Bu embriyolojik demarkasyon, larinks kanserlerinin orijini ve yayılımında önemli bulunmuştur (10).

Larinks, intrauterin yaklaşık 4. haftada oluşmaya başlar ve kompleks bir embriyolojik gelişime sahiptir (9). Gelişimi postnatal dönemde de devam eder. Daha belirgin olarak hayatın ilk yıllarında büyür ve genişler. Neonatal dönemde C1-C4 vertebralar hizasında yer alırken zamanla olağan lokalizasyonu olan C4-C7 vertebralar hizasına gelir (11). Puberte döneminde de tüm larinkste cinsiyete göre farklılık gösteren bir büyüme ve gelişme gözlenir (9).

### 2.2. LARİNKES HİSTOLOJİSİ

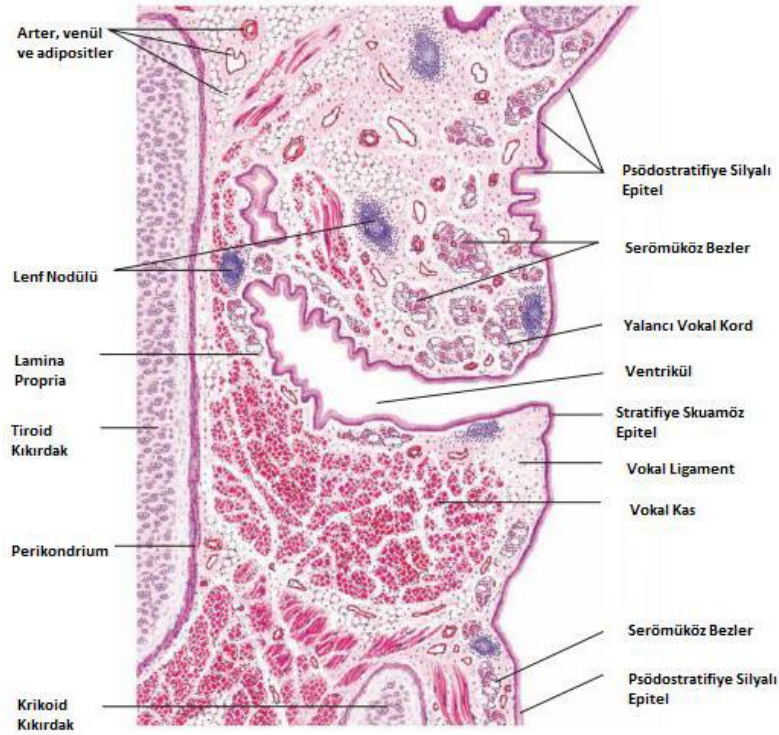
Larinksin en üstünde yer alan epiglottisin dile bakan 'lingual' ve larinkse bakan 'laringeal' yüzü vardır. Lingual yüzünün mukozası non-keratinize çok katlı yassı epitel ile döşelidir. Bu epitel epiglottis apeksine ve laringeal yüzeyin yaklaşık üst yarısına kadar uzanır. Non-keratinize çok katlı yassı epitel, laringeal yüzeyin bazaline doğru yalancı çok katlı silli silindirik epitele dönüşür. Laringeal veya lingual yüz epitelleri içinde tat tomurcukları ve lenfoid agregatlar da bulunabilir. Epitel altında lamina propriada tübüloasiner seromüköz bezler yer almaktadır (12).

Epiglottisi örten yalancı çok katlı silli silindirik epitel, plica vestibularislerin, ventriküllerin ve plica vokalislerin altında kalan larinks mukozasının yüzey epitelini de oluşturmaktadır. Bu alanlarda epitel altında lamina propriada, seromüköz bezler, bu

bezlerin boşaltım kanalları, kan damarları, yağ hücreleri ve lenfoid agregatlar bulunur. Lenfoid agregatlar ventrikülde daha fazla sayıda bulunabilir ve bu durumda laringeal tonsil olarak adlandırılır. Plica vokalislerin mukozası farklı olarak, non-keratinize çok katlı yassı epitel ile döşelidir. Lamina propria bu bölgede kalın olup skuamöz epitel ile vokal ligament arasında uzanan gevşek bir bağ dokudan oluşmaktadır. Reinke boşluğu olarak da anılan bu lamina propriada, az sayıda kapiller damar ve oldukça seyrek serömüsinöz gland bulunmaktadır. Bu alanda lenfatik damarlar gözlenmemektedir. Bu oluça kısıtlı vasküler yapılanma sayesinde glottik tümörler sınırlı kalma eğilimi göstermektedirler (12, 10).

Sigara içmeyen kişilerin yaklaşık yarısında, supraglottik ve infraglottik bölgelerdeki olağan solunum epiteli arasında yamalar halinde skuamöz epitel izlenebilir. Sigara içen bireylerde ise larinks epiteli sıklıkla keratinize olmayan çok katlı skuamöz epitele transforme olur (10).

Larinksin epiglottis dışındaki majör kıkırdaklarının tümü hyalin kıkırdak yapısındadır. Epiglottis farklı olarak elastik kıkırdaktan oluşur ve çok sayıda fenestrasyon içerir (10).



**Şekil 1:** Larinksin histolojisi (12)

## **2.3. LARINKS ANATOMİSİ**

### **2.3.1. Genel Anatomi**

Larinks, boynun üst ve ön tarafında, dil kökü ile trakea arasında bulunan, alt solunum yollarına ait bir organdır. Havanın trakeaya iletimi yanısıra fonasyon ve yabancı cisimlerin alt solunum yollarına geçmesini engellemek üzere sfinkter fonksiyonuna sahiptir (9, 13). Anatomik olarak 3. ve 6. servikal vertebralara (C3-C6) arasında bulunur. Çocuklarda ve kadınlarda daha yukarıda lokalize olabilir. Larinks, anteriorda deri ve fascialar ile, posteriorda farinksin alt segmenti olan laringofarinks ile, yanlarında kaslar, damar-sinir paketi ve tiroid bezinin sağ ve sol lobları ile komşuluk göstermektedir. Süperiorda hyoid kemiğe ligament ve kas aracılığıyla bağlı olup inferiorda trakea ile devamlıdır (14).

Larinks iskeleti kıkırdak yapılar ve bunların birbiri ile bağlantısını sağlayan ligamentler, membranlar ve kaslardan oluşur (13).

### **2.3.2. Larinks Kıkırdakları**

Larinks iskeleti, cartilago epiglottica, cartilago thyroidea, cartilago cricoidea adı verilen 3 adet tek kıkırdak ile cartilago arytenoidea, cartilago corniculata, cartilago cuneiformis adı verilen 3 adet çift kıkırdak olmak üzere toplam 9 adet kıkırdaktan oluşmaktadır. Cartilago triticea ve cartilago sesamoidea denen çift kıkırdaklar da bazı insanlarda görülebilir (14).

### **2.3.3. Larinksin Ligament/Membranları**

Larinks kıkırdakları, ligamentler ve membranlardan meydana gelen bir askı sistemiyle birbirine bağlanmıştır. Larinks ligament ve membranları, ekstrensik ve intrensik olmak üzere iki gruba ayrılır (9).

### **2.3.3.1. Ekstrensik ligament/membranları**

Membrana thyrohyoidea, ligamentum (lig.) thyrohyoideum medianum, lig. thyrohyoideum laterale, lig. cricotracheale ve lig. cricopharyngeum larinksin ekstrensik ligament/membranlarını oluşturmaktadır (9).

### **2.3.3.2. İntrensik ligament/membranları**

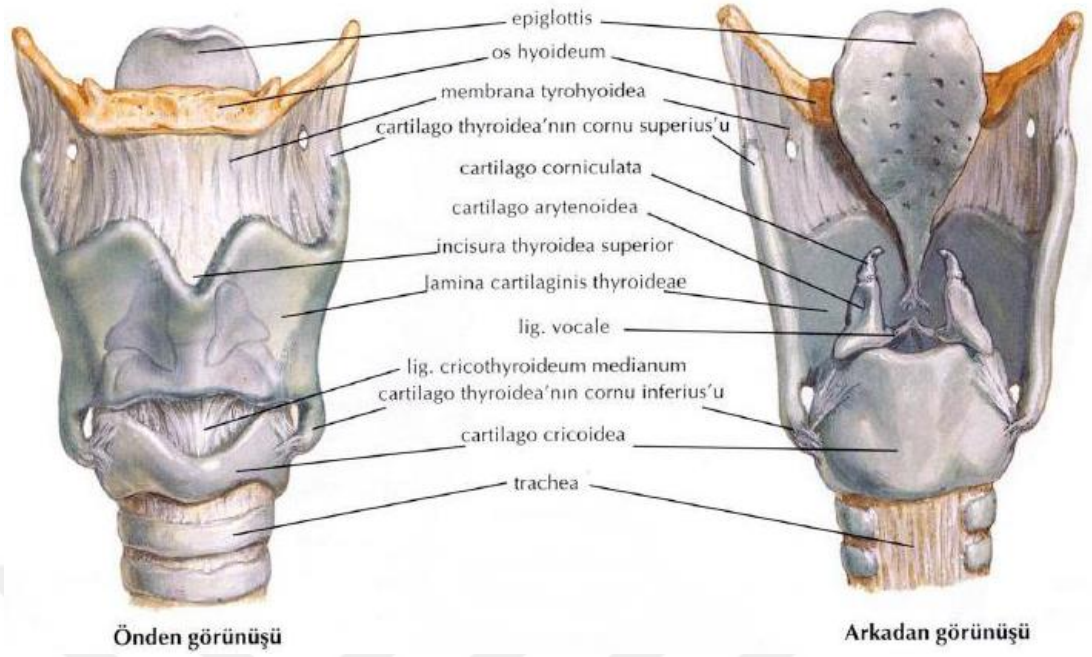
Lig. thyroepiglotticum, lig. cricothyroideum, lig. cricothyroideum medianum, lig. ceratocricoidium, lig. cricoarytenoideum, membrana fibroelastica, conus elasticus, lig. vocale, lig. vestibulare ve membrana quadrangularis larinksin intrensik ligament/membranlarını oluşturmaktadır (9).

### **2.3.4. Larinksin Eklemleri**

Larinks iki çift ekleme sahiptir. Eklemlerin her ikisi de gerçek eklem olup hareket yeteneğine sahiptir (9).

*Articulatio cricothyroidea;* Krikoid kıkırdağın yan yüzü ile tiroid kıkırdağın cornu inferiusu arasında bulunan eklemdir. Hareketi lig. vocale'lerin gerilmesini sağlar (9).

*Articulatio cricoarytenoidea;* Aritenoid kıkırdağın tabanı ile krikoid kıkırdağın arka yan üst kenarı arasında bulunan eklemdir. Hareketi rima glottis'in açılıp kapanmasını ve plica vocalis'in gerilmesini sağlar (9).



**Şekil 2:** Larinksin kıkırdakları ve ligamentleri (önden ve arkadan görünüş) (15)

### 2.3.5. Larinksin Kasları

Larinksin kasları, lokalizasyonu, orijini ve inervasyonuna göre ekstrensek kaslar ve intrinsek kaslar olmak üzere iki gruba ayrılır (9).

#### 2.3.5.1. Ekstrensek kaslar

Origo ya da insertiosu larinks dışında yer alan kaslardır. Larinksin komşu yapılarla bağlantısını sağlarlar. Larinksin konuşma esnasında sabitlenmesinden, yutkunma esnasındaki vertikal hareketlerinden ve plica vokalis'in gerilmesinden sorumludurlar. Bu grup kaslar; musculus (m.) thyrohyoideus, m. sternothyroideus, m. stylopharyngeus, m. palatopharyngeus, m. salpingopharyngeus, m. constrictor pharyngis inferior'un pars cricopharyngea'sı ve m. constrictor pharyngis inferior'un pars thyropharyngea'sıdır (14, 9).

### 2.3.5.2. İntrensek kaslar

Hem origo hem insertiosu larinksin içinde bulunan kaslardır. İntrensek kasların tümünün origo ya da insertio yeri tiroid kıkırdaktır. Bu grupta yer alan kaslar; m. cricothyroideus, m. cricoarytenoideus posterior ve lateralis, m. thyroarytenoideus, m. vocalis, m. thyroepiglotticus, m. arytenoideus, m. arytenoideus transversus ve m. arytenoideus obliquus'tur. M. arytenoideus transversus tek, diğer tüm kaslar çifttir. Bu grup kaslar rima glottidis'in açılıp kapanmasında, plica vokalislerin boyunu ve gerginliğini ayarlama ve larinks girişinin kapanmasında fonksiyon gösterirler (14, 9, 13).

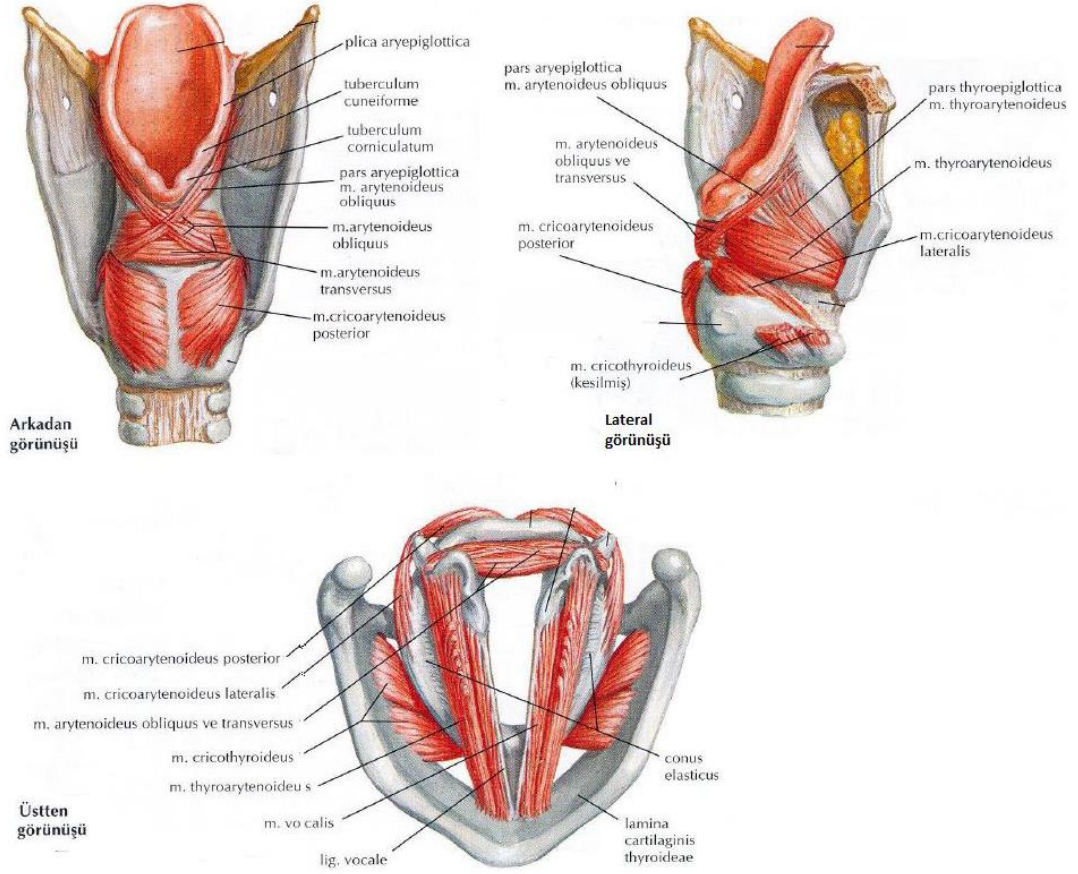
### 2.3.6. Larinksin İç Yapısı

Larinksin giriş kısmına aditus laryngis, içerisinde buluna boşluğa ise cavitas laryngis adı verilir. Cavitas laryngis vestibulum laryngis, ventriculus laryngis ve cavitas infraglottica olmak üzere 3 bölüme ayrılarak incelenir (14):

***Vestibulum Laryngis:*** Aditus laryngis'ten plica vestibularis'e kadar olan kısımdır (14).

***Ventriculus Laryngis:*** Plica vestibularis ile plica vocalis arasında kalan larinks boşluğudur (14).

***Cavitas Infraglottica:*** Plica vocalis'ten trakeaya kadar uzanan kısımdır (14).



**Şekil 3:** Larinksin intrinsek ve ekstrinsek kasları (arkadan, yandan ve üstten görünüş) (15)

### 2.3.7. Larinksin Kompartmanları

Larinksin anatomik kompartmanları supraglottik bölge, glottik bölge ve subglottik bölge olmak üzere 3 bölümde incelenir (16):

#### 2.3.7.1. Supraglottik bölge

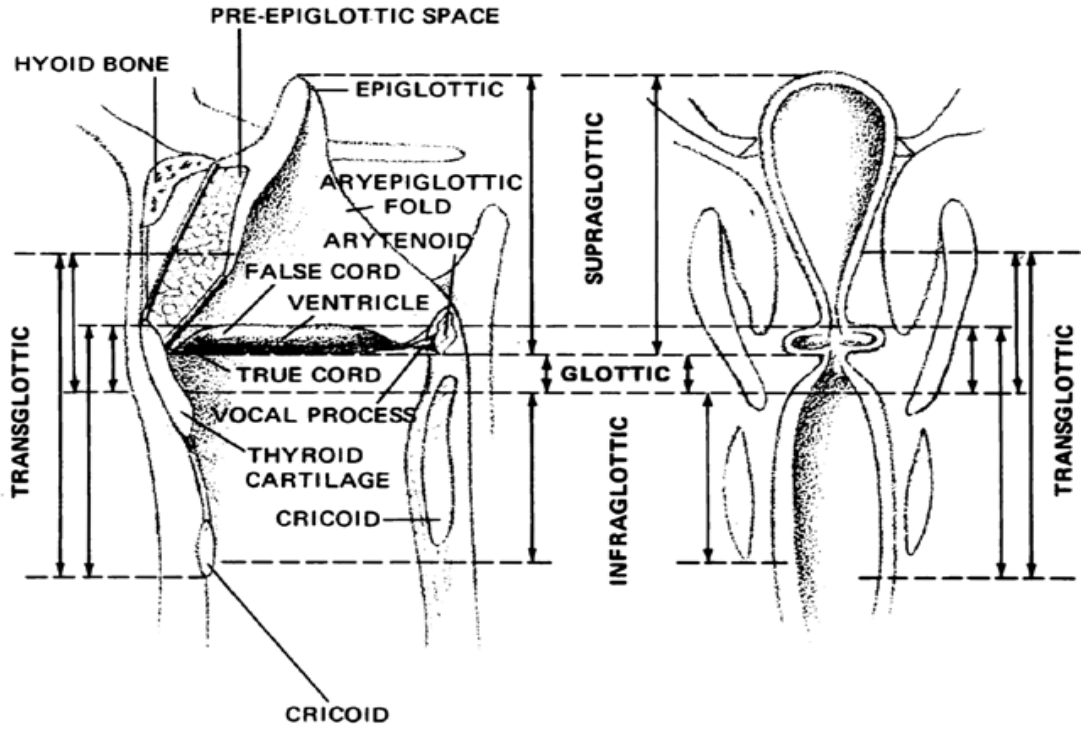
Epiglottisin üst kenarından başlayarak ventriküllere kadar uzanan bölgedir. Epiglottisin lingual ve laringeal yüzü, aryepiglottik foldlar, aritenoidler, yalancı kordlar ve ventriküller bu bölgede yer almaktadır (16).

### 2.3.7.2. Glottik bölge

Ventriküllerden başlayıp gerçek vokal kordların yaklaşık 1 cm altına kadar uzanan bölgedir. Gerçek vokal kordları, ön komissürü ve arka komissürü içermektedir (16).

### 2.3.7.3. Subglottik bölge

Gerçek vokal kordların yaklaşık 1 cm altından başlayıp, krikoid kırırdağın alt kenarına değin uzanan bölümdür (16).



Şekil 4: Larinksin kompartmanları (16)

### 2.3.8. Larinksin Damarları ve Sinirleri

**Arterleri:** Arteria (a.) thyroidea superior'un dalı olan a. laryngea superior ve ramus cricothyroideus ile a. thyroidea inferior'un dalı olan a. laryngea inferior ile beslenir (14).

**Venleri:** vena (v.) laryngea superior ve v. laryngea inferior aracılığı ile v. brachiocephalica sinistra'ya iletilir (14).

**Lenfatikleri:** Plica vocalis'lerin üst kısmının lenfatik drenajı nodi cervicales profundi superiores'e olurken; plica vocalis'lerin alt kısmının lenfatik drenajı nodi cervicales profundi inferiores'e olmaktadır (14).

**Sinirleri;** İnervasyonu nervus (n.) vagus'a ait dallar olan n. laryngeus superior ve n. laryngeus recurrens (inferior) tarafından olmaktadır (14).

## 2.4. LARİNKS KANSERLERİ

### 2.4.1. Giriş

Laringeal ve hipofaringeal tümörler, yüzey epitelinden, epitel altı yumuşak dokulardan, tükürük bezi dokusundan ya da kıkırdak dokudan kaynaklanabilir (2).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2022 yılında güncellediği larinks tümörleri sınıflaması Tablo 1'de gösterilmiştir (17).

**Tablo 1:** Larinks, hipofarinks, trakea ve parafaringeal boşluk tümörlerinin DSÖ sınıflaması

<b>PREKÜRSÖR LEZYONLAR</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Skuamöz papilloma ve papillomatozis</li><li>• Laringeal ve hipofaringeal epitelyal displazi</li></ul>
<b>SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOMLAR</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Konvansiyonel skuamöz hücreli karsinoma</li><li>• Verrüköz karsinoma</li><li>• Bazaloid skuamöz hücreli karsinoma</li><li>• Papiller skuamöz hücreli karsinoma</li><li>• İğsi hücreli skuamöz hücreli karsinoma</li><li>• Adenoskuamöz karsinoma</li><li>• Lenfoepitelyal karsinoma</li></ul>
<b>HİPOFARİNK, LARİNK, TRAKEA VE PARAFARİNGEAL BOŞLUĞA ÖZGÜ MEZENKİMAL TÜMÖRLER</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Laringeal kartilajinöz tümörler</li></ul>

### 2.4.2. Epidemiyoloji

Larinks kanserleri, baş ve boyun kanserleri içinde en sık görülen kanserlerdendir. Yıllık kanser vakalarının %1,1 kadarını oluşturmaktadır (1). Larinks

kanserlerinin %95'ten fazlasını ise skuamöz hücreli karsinom (SHK) oluşturmaktadır. Larinks ve hipofarinksin SHK'u, solunum yollarının akciğer kanserinden sonra gelen ikinci en sık kanseridir. Sıklığı erkeklerde belirgin olarak daha yüksektir. Erkeklerde tüm malignitelerin %1,6-2'sini oluştururken; kadınlarda bu oran %0,2-0,4'tür. Kadınlardaki sıklığı, sigara kullanımının yaygınlaşmasına bağlı olarak artış eğilimindedir. Laringeal SHK sıklığı hem aynı ülke içinde hem de ülkeler arasında coğrafik farklılıklar göstermektedir (2).

Larinks karsinomları, sıklıkla 6.-7. dekatta ortaya çıkar ancak nadir olarak çocuklarda da tanımlanmış vakalar mevcuttur (18).

Vakaların %60 kadarı tanı anında ileri evrededir (Evre 3 ve 4). Onkolojik hastalıklar arasında 5 yıllık sağkalımı son 40 yılda düşüş gösteren kanserlerdendir. 5 yıllık sağkalım %66'dan %63'e düşüş göstermiştir (4).

### **2.4.3. Etiyoloji**

Sigara ve alkol tüketimi, larinks karsinomu gelişiminde en önemli risk faktörlerini oluşturur. Vakaların büyük bir kısmında sigara ve/veya alkol kullanım öyküsü vardır. Ayrıca, sigara ve alkol tüketiminin birlikte olması durumunda kanser gelişim riskinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Glottik bölge tümörleri için esas risk faktörü sigara iken; supraglottik bölge tümörleri için alkol tüketimi daha önemli bir risk faktörüdür (19). En yüksek kanser riski aktif sigara içicilerinde olup; sigara kullanımı bırakıldığında risk belirgin olarak azalmaktadır (20). Sigara ve alkol tüketiminin önüne geçildiğinde laringeal kanserlerin %90 kadarı önlenmektedir (2).

Gastroözefageal reflü, beslenme alışkanlıkları, vitamin eksikliği, radyasyon maruziyeti, HPV ve EBV enfeksiyonu ile sosyoekonomik durum da laringeal kanser riskini artıran diğer risk faktörlerindedir. Sigara ve alkol dışındaki bu faktörler, SHK gelişiminde sınırlı rol oynamaktadır (2, 21).

### **2.4.4. Klinik Özellikler**

Larinks karsinomları, orijin aldıkları larinks kompartmanına ve bu alanlardaki anatomik özelliklere bağlı olarak farklı yayılım, klinik ve prognostik özelliklere

sahiptirler. Larinksteki lokalizasyonlarına göre ‘supraglottik’, ‘glottik’, ‘subglottik’ ve ‘transglottik’ tümörler olmak üzere 4 gruba ayrılırlar. Bu sınıflandırmanın temeli esas olarak laringoskopik muayeneye dayanmaktadır (22). Larinks SHK’larının bu topografik dağılımı bazı coğrafik farklılıklar da göstermektedir. Fransa, İspanya, İtalya, Finlandiya, Hollanda gibi bazı ülkelerde en sık lokalizasyon supraglottik bölge iken; ABD, Kanada, İngiltere gibi bazı ülkelerde ise glottik bölge tümörleri daha sık görülmektedir. En nadir görüldüğü lokalizasyon ise subglottik bölgedir (2).

**Glottik tümörler:** Gerçek vokal kordlardan gelişen tümörlerdir. Gerçek vokal kordları tutup subglottik bölgeye 1 cm’den daha az uzanım gösteren tümörler de bu grupta yer almaktadır. Vakaların %60-65 kadarını oluşturmaktadır. Ses kısıklığı en erken görülen semptomdur. Ses kısıklığının erken dönemde ortaya çıkması sayesinde glottik tümörler erken evrelerde tanı alır. Vokal kordların anterior 1/3’ü tümörün en sık geliştiği lokalizasyondur. Glottik bölge tümörleri uzun yıllar lokalize kalma eğilimi gösterirler. Bunun sebebi, glottik bölgeyi çevreleyen kıkırdak duvar varlığı ve vokal kord lamina propriasının lenfatik damarlardan yoksun olmasıdır. Zamanla ön kommissürü aşarak diğer korda, posteriorda aritenoid kıkırdaklara, süperiorda supraglottik bölgeye ve inferiorda subglottik bölgeye, anteriorda ise tiroid kıkırdak ve boynun ön tarafındaki yumuşak dokuya invazyon gösterebilirler. Yapılan çalışmalarda bu bölge tümörlerinde için ipsilateral lenf nodu metastaz oranının düşük olduğu görülmüştür (19, 22).

**Supraglottik tümörler:** Yalancı kord, ventrikül, aryepiglottik fold ve epiglottisin lingual ya da laringeal yüzünden gelişen tümörlerdir. Vakaların %30-35 kadarını oluştururlar. Disfaji, odinofaji, hemoptizi, ses değişikliği, boğazda yabancı cisim hissi gibi semptomlarla klinik verirler. Uzun süre sessiz kalıp ileri evrede tanı alırlar. Bu bölge tümörleri, epiglottis kıkırdağının kribriiform yapıya sahip olması nedeniyle preepiglottik boşluğa yayılma eğilimi gösterirler, ancak orofaringeal bölge, kalın hyoepiglottik ligament sayesinde korunmaktadır. Olguların sadece %1 kadar glottik bölgeye invazyon gösterir. Kıkırdakta görülen osseöz metaplazi sayesinde kıkırdak invazyon oranı düşüktür. Vakaların yaklaşık %40’ında lenf nodu metastazı görülmektedir. Klinik-radyolojik olarak lenf nodu metastazı saptanmayan olguların yaklaşık %20-35’inde mikroskopik incelemede metastaz izlenmektedir (19, 22, 23).

**Subglottik (infraglottik) tümörler:** Vokal kordların alt sınırı ile 1. trakeal kıkırdak arasında kalan bölgede gelişen tümörler ile vokal kordları tutup subglottik bölgeye 1 cm'den daha fazla uzanım gösteren tümörleri kapsamaktadır. İkinci duruma oldukça nadir rastlanır. Subglottik tümörler, vakaların yaklaşık %5 kadarını oluşturur. Uzun süre sessiz kalıp ileri evrede tanı alırlar. En sık semptom hava yolu tıkanıklığına bağlı dispne ve stridordur. Trakeaya invazyon oldukça sıktır, bu nedenle rezeksiyon olabildiğince distalden yapılır. Krikoid kıkırdak invazyonu hemen tüm vakalarda görülür. İntertirokrikoid membran, prelarineal duvar ve tiroid gland invazyonu da görülebilir. Vakaların %15-20'sinde servikal lenf nodu metastazı izlenirken, %50 kadarında ise paratrakeal lenf nodu metastazı da görülmektedir (19, 22, 23).

**Transglottik tümörler:** Transglottik terimi anatomik bir bölgeyi işaret etmez. Bu terim laringeal ventrikülü vertikal olarak geçen tümörler için kullanılmaktadır. Dolayısıyla bu tümörler supraglottik ve glottik bölgeyi tutmaktadır. Subglottik bölgeye uzanım da sık izlenir. Transglottik tümörler vakaların %5'ten daha azını oluşturmaktadır. En sık semptom, lenf nodlarında büyümeye bağlı, boyunda kitledir. Klinik olarak agresif seyirli olup lenf nodu metastaz oranı oldukça yüksektir (19, 22, 23).

#### **2.4.5. Konvansiyonel Skuamöz Hücreli Karsinoma**

##### **2.4.5.1. Makroskopi**

Larinks SHK'ları makroskopik olarak nodüler/polipoid kitleler, depreşe/endofitik lezyonlar ya da flat lezyonlar şeklinde gelişebilir. Santral ülserasyon sık görülen bir durumdur (2). Genellikle pembe-gri renktedirler. Vokal kord lokalizasyonlu olanları hiperkeratotik görünüme sahip olabilir (22).

##### **2.4.5.2. Histopatoloji**

SHK'un temel histolojik özelliği invazyon yapması ve skuamöz farklılaşma göstermesidir. Skuamöz farklılaşma, keratin incileri ya da tek hücre keratinizasyonu şeklinde keratinizasyon ve/veya hücrelerarası köprü formasyonu ile karakterizedir. İnvazyon ise tümörün bazal membranı aşım adalar, kordonlar ya da izole tümör hücreleri halinde subepitelyal dokuya ilerlemesidir. İnvazyona hemen daima

desmoplastik stromal yanıt eşlik eder. Bu yanıt myofibroblastik proliferasyon, ekstrasellüler matris artışı ve neovaskülarizasyon ile kendini gösterir. Tümör hücreleri; lenfatik damarlar, kan damarları veya perinöral düzlem boyunca yayılım gösterebilir (2).

Konvansiyonel SHK'lar, modifiye Broder's sistemi baz alınarak; olağan skuamöz epitele farklılaşma derecelerine, hücrel pleomorfizmlerine ve mitotik aktivitelerine göre 'iyi derece diferansiye', 'orta derece diferansiye' ve 'az derece diferansiye' olarak derecelendirilirler. İyi diferansiye SHK'lar, olağan skuamöz epitele oldukça benzer. Keratinosit benzeri, geniş sitoplazmalı hücreler ile bazal hücre benzeri daha küçük hücreler içerir. Genellikle tümör periferinde izlenirler. Tipik olarak keratinizasyon ve hücrelerarası köprü yapıları dikkati çeker. Mitoz nadirdir. Orta derece diferansiye SHK'larda, hücrel pleomorfizm daha belirgin, mitozlar sayıca daha fazladır. Arada atipik mitotik figürler göze çarpar. Keratinizasyon azalmıştır. Az derece diferansiye SHK'larda ise, baskın hücre tipi bazal hücre benzeri hücrelerdir. Atipik formlar da içeren sık mitotik figürler görülür. Hücrelerarası köprüler ve keratinizasyon zor farkedilir. Keratinizasyon daha çok iyi ve orta derecede diferansiye tümörlerde görülse de SHK derecelemesinde önemli bir histolojik kriter olarak görülmemelidir. Ayrıca varyant SHK'ların kendine özgü biyolojik potansiyelleri mevcuttur ve bu nedenle varyant SHK'larda histolojik derecelendirme yapılmamaktadır (21, 2, 24).

Bazal membranı aşmış, yalnızca yüzeysel stromal invazyon gösteren tümörler, 'yüzeysel invaziv', 'mikroinvaziv' ya da 'minimal invaziv' SHK olarak adlandırılırlar. Bazı yazarlara göre bu terminoloji, bazal membran seviyesinin 0,5 mm altına kadar olan invazyon derinliği için kullanılır (22).

İmmünofenotipik olarak SHK'lar sitokeratinler, p40, p63 gibi çok çeşitli epitelyal belirteçler eksprese ederler. İyi diferansiye SHK'lar, olağan skuamöz epitele benzer şekilde, CK5/6 gibi orta-yüksek molekül ağırlıklı sitokeratinleri eksprese ederken; CK8, CK18 gibi düşük molekül ağırlıklı sitokeratinleri eksprese etmezler. Tümörün diferansiyasyon derecesi azaldıkça orta-yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin ekspresyonu kaybolurken; düşük molekül ağırlıklı sitokeratinler ile vimentin ekspresyonu görülmeye başlar (2).

### 2.4.5.3. Genetik Profil

Larinks SHK, çoklu genetik anomaliler ve anöploidi gelişimi sonucunda ortaya çıkabilir. Bazı vakalarda, 3q, 5p, 8q, 11q13 ve 18p gibi kromozom kazanımları veya 3p, 5q, 8p gibi kromozom kayıplarının olduğu genomik hibridizasyon çalışmalarında gösterilmiştir. CDKN2A, TP53 gibi tümör supresor gen kayıpları ile EGFR, VEGFA, PIK3CA, PTGS2, matrix metalloproteinazları gibi onkogenlerde amplifikasyon ya da mutasyonlar da tespit edilmiştir. Ayrıca miR-7, miR206 gibi tümör supresor microRNA'larda da down regülasyon olduğu saptanmıştır (2).

### 2.4.5.4. Prognostik ve Prediktif Faktörler

Beş yıllık sağkalım oranları, glottik bölge SHK'ları için %80-85, supraglottik bölge SHK'ları için %65-75, subglottik bölge SHK'ları için %40 civarındadır (2).

#### 2.4.5.4.1. Klinik prognostik faktörler

**Evre:** Sağkalımı öngörmeye en önemli parametredir. Tümörün invazyon gösterdiği anatomik yapılar ile bölgesel ya da uzak metastaz varlığı da sağkalımı öngörmeye bağımsız prediktif parametrelerdir (2).

**Lokalizasyon:** Önemli bir prognostik parametredir. Glottik lokalizasyonlu tümörler en iyi; subglottik lokalizasyonlu tümörler ise en kötü prognoza sahiptir (2).

**Diğer Faktörler:** Tanı esnasındaki hasta yaşı, komorbidite ve performans durumu da prognoza etkilidir (2).

#### 2.4.5.4.2. Histopatolojik prognostik faktörler

**Diferansiasyon:** SHK'larda kullanılan "iyi diferansiye, orta diferansiye, az diferansiye" şeklindeki subjektif kriterlere sahip derecelendirme sisteminin prognostik değeri tartışmalı olup sınırlı bir prognostik önemi vardır. Bazı araştırmacılar bu derecelendirme sistemini sağkalımla ilişkili bulurken; bazı araştırmacılar ise sağkalımla ilişki gözlemlememiştir (21, 2).

**İnvaziv büyüme paterni:** Tümörün invaziv tarafındaki histolojik özelliklerin, tümörün merkezi ya da yüzeysel alanlarına göre prognostik olarak daha anlamlı olduğu gösterilmiştir. İnvaziv tarafındaki histolojik özelliklerin değerlendirilmesi için basit bir derecelendirme sistemi önerilmiştir. Bu sistemde, “nükleer pleomorfizm, keratinizasyon derecesi, büyüme paterni ve inflamatuvar yanıt” olmak üzere 4 histolojik parametre değerlendirilmekte ve “toplam malignensi skoru” elde edilmektedir. Yüksek skorlar kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca invaziv taraftaki tümör invazyon paterninin de SHK prognozunda önemli olduğu bildirilmiştir (2, 25).

**Vasküler ve perinöral invazyon:** Tümörün lenfatik damarlara ve/veya kan damarlarına invazyon göstermesi, lenf nodu metastazı ve/veya uzak metastazla ilişkilidir. Lenfovasküler invazyon, agresif davranış gösteren SHK’larda daha sık görülmekte olup düşük sağkalım ve rekürrens ile ilişkili bulunmuştur. Perinöral invazyon da benzer şekilde; lokal rekürrens riskinde artış, bölgesel lenf nodu metastazı ve düşük sağkalımla ilişkilidir (2). Ayrıca perinöral invazyon ile prognoz arasındaki bu ilişki tutulan sinir çapından bağımsızdır (24).

**Bölgesel lenf nodları:** Tedavi görmemiş hastalara ait boyun diseksiyonu spesmenlerinde selektif boyun diseksiyonu için en az 6 lenf nodu, radikal ve modifiye radikal boyun diseksiyonları için ise en az 10 lenf nodu diseke edilebilmelidir. Metastatik lenf nodu varlığında, en geniş lenf nodu metastaz çapı makroskopik ve gerekirse mikroskopik olarak ölçülmelidir. Tek hücreler halinde veya en geniş çapı 0.2 mm’den küçük hücre kümeleri halinde olan lenf nodu metastazları, izole tümör hücreleri (İTH) olarak isimlendirilirler. İTH içeren lenf nodlarının ise N0 olarak değerlendirilmesi önerilmektedir. Nadir çalışmalarda, İTH’nin lokal hastalık kontrolünde kötü prognostik bir parametre olabileceği gösterilmiştir (24).

**Metastatik lenf nodunda ektranodal uzanım:** Lenf nodu metastazları, baş ve boyun kanserlerinde tek başına en kötü prognostik faktör olarak bilinmektedir. Ektranodal uzanım (ENE), metastatik tümörün lenf nodu kapsülünü aşır, stromal reaksiyon oluşturarak veya oluşturmayarak bağ doku içine yayılmasıdır. Metastatik lenf nodunda ENE olması ayrıca bir prognostik öneme sahip olup hem lokal rekürrens hem de uzak metastaz ile ilişkili bulunmuştur. Bu nedenle, ENE varlığının ya da yokluğunun güncel N evremelesinde de yeri vardır. Metastatik tümör odağının, normal

lenf nodu kapsülünden çevre bağ dokuya doğru olan invazyon uzunluğunun raporlanması da önerilmektedir. 2mm ve daha az olan ENE'lar, 'ENEmi'; 2 mm'den daha fazla olan ENE'lar, 'ENema' olarak kategorize edilmiştir; fakat ENE uzunluğunun şu an için evrelemede yeri yoktur (2, 24).

**Rezeksiyon sınırları:** Cerrahi rezeksiyon sınırları temiz olan tümörler daha düşük rekürrens ve daha iyi sağkalıma sahiptir. Temiz cerrahi sınır, cerrahi rezeksiyon sınırlarında invaziv SHK, SHK in-situ ya da yüksek dereceli displazinin olmaması olarak tanımlanmaktadır. Düşük dereceli displazi varlığı ise cerrahi sınır pozitifliği oluşturmamaktadır. Cerrahi sınırlar raporlanırken invaziv SHK'un, SHK in-situnun ya da yüksek dereceli displazinin cerrahi sınıra olan uzaklıkları verilmelidir. Yakın cerrahi sınırlar lokal rekürrens açısından artmış riske sahiptir. Güvenli cerrahi rezeksiyon sınırı açık olarak tanımlanmış olmasa da genel olarak 5 mm'lik temiz mesafenin yeterli olduğuna inanılmaktadır. Bazı çalışmalar, özellikle glottik tümörlerde 1-2 mm'lik mesafenin de yeterli olduğunu göstermektedir (2, 24).

#### **2.4.6. Skuamöz Hücreli Karsinoma Subtipleri**

SHK subtipleri, prognostik öneme sahip, iyi tanımlanmış ayırıcı tanı özellikleri olan klinikopatolojik antitelerdir (21).

##### **2.4.6.1. Verrüköz karsinom**

Hiperkeratoz ve ekzofitik büyüme paterni gösteren, nadir görülen, iyi seyirli bir SHK subtipidir. Maligniteye ait sitolojik özellikler göstermesi ve metastaz yapması beklenmez. Lateral yayılım ve subepitelyal alana invazyonla karakterizedir. Lokalizasyonundan bağımsız olarak, HPV enfeksiyonu ile ilişkisi yoktur. Verrüköz karsinom tanısı, özellikler küçük biyopsi örneklerinde, oldukça güçtür. Aşıkır invazyon yokluğunda verrüköz hiperplazi olasılığı mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. Prognozu konvansiyonel SHK'a göre oldukça iyidir (21). Genellikle glottik bölgede yerleşme eğilimi gösterirler (26).

Majör prognostik faktör tanı anındaki evredir. Verrüköz karsinom ve konvansiyonel SHK 'un birarada olduğu tümörler "Hibrid" ya da "Mikst" Verrüköz

SHK olarak adlandırılır ve bu grup tümörlerde evreyi, prognozu ve tedaviyi belirleyen konvansiyonel SHK komponentidir (27).

#### **2.4.6.2. Bazaloid skuamöz hücreli karsinom**

Belirgin bazaloid morfoloji ve skuamöz hücre diferansiyonu gösteren, agresif bir SHK subtipidir. Mikzoid veya hyalen stromal değişiklikler sık görülür. Larinks ve hipofarinks lokalizasyonlu bazaloid SHK'ların HPV enfeksiyonu ile ilişkisi yoktur (21). İmmünohistokimyasal olarak yüksek molekül ağırlıklı sitokeratinler (HMWCK), p63 ve p40 ile kuvvetli boyanma gösterirler (2). Prognozu, konvansiyonel SHK'a göre daha kötüdür (28). Ayırıcı tanıda, daha iyi prognoz gösteren, nöroendokrin karsinom ve HPV pozitif non-keratinize SHK'lar ekarte edilmelidir (21).

#### **2.4.6.3. Papiller skuamöz hücreli karsinom**

Egzofitik gelişim gösteren, atipik skuamöz epitel ya da immatür bazaloid epitel ile döşeli papiller yapılardan oluşan nadir bir SHK subtipidir (2). Hem düşük riskli hem yüksek riskli HPV enfeksiyonu ile ilişkili vakalar bildirilmiştir (29), (30). HPV varlığı ya da yokluğunun prognoz üzerine etkisi net değildir. Özellikle küçük biyopsi materyallerinde invazyonu göstermek zorlayıcı olabilir. İnvaziv alanlar genellikle düzensiz non-keratinize skuamöz adalar şeklinde görülmektedir. Papiller SHK'lar belirgin skuamöz atipi göstermesiyle verrüköz karsinomlardan ve papillomlardan ayrılır. Egzofitik büyüme paterni sayesinde genellikle erken evrede tanınırlar ve konvansiyonel SHK'lara göre daha iyi prognoza sahiptirler (21).

#### **2.4.6.4. İğsi hücreli skuamöz hücreli karsinom**

İğsi hücreler ve/veya pleomorfik hücrelerden oluşan, nadir görülen bir SHK subtipidir. Larinks orijinli iğsi hücreli SHK (İHSHK)'lar, sıklıkla glottik bölgede lokalizedir ve makroskopik olarak polipoid kitleler oluşturur. İHSHK'lar skuamöz epitelden köken alır ve epitelyal-mezenkimal geçiş ile farklı bir diferansiyon gösterir (2). Yani epitelyal-mezenkimal geçiş gösteren bir SHK olarak kabul edilmektedir (21). Atipik iğsi ve/veya pleomorfik hücrelerin gelişigüzel dağıldığı bir büyüme paterni

gösterir. Nükleuslar, hipersellülarite, hiperkromazi ve belirgin pleomorfizm sergiler. Mitotik figürlerden zengindir ve nekroz içerebilir. Vakaların %7-15 kadarında, kemik, kıkırdak, kas gibi malign heterolog mezenkimal farklılaşma odakları izlenmektedir (2). İğsi hücreli ve SHK komponentleri birlikte olduğunda tanı kolaydır, ancak SHK alanları sınırlı olduğunda sarkom olasılığı ekarte edilmelidir. Larinks lokalizasyonlu iğsi hücreli bir malign tümör, aksi ispat edilene kadar İHSHK olarak düşünülmelidir (21). İHSHK tanısı, epitelyal farklılaşmanın ya morfolojik olarak ya da immunohistokimyasal yöntemlerle gösterilmesi esasına dayanır (2).

Larinks lokalizasyonlu tümörler, glottik bölgede gelişmelerinden dolayı erken klinik semptomlar verip erken tanı alırlar. Derin invazyon yapmazlar ve vokal kordların lenfatik yapılardan fakir olması nedeniyle nadiren metastaz yaparlar. Bu nedenle larinks orijinli İHSHK'ların prognozu konvansiyonel SHK'lara benzer ya da kısmen daha iyidir. Hipofarinks lokalizasyonunda gelişen İHSHK'ların prognozu daha kötü bulunmuştur (31).

#### **2.4.6.5. Adenoskuamöz karsinom**

Larinks yüzey epitelinden gelişen hem skuamöz hem de glandüler farklılaşma gösteren bifazik morfolojili malign tümördür. SHK komponenti tümörün daha yüzeysel alanlarında, karsinoma in-situ ya da invaziv SHK olarak bulunur. Glandüler komponent ise kribriform ya da tübüloglandüler yapılanma gösterir ve genellikle daha derin tümör alanlarında izlenmektedir. İntralüminal (nadiren intrasitoplazmik) müsin, Alcian Blue, Müsikarmen gibi histokimyasal yöntemlerle gösterilebilir. İmmunohistokimyasal yöntemler de bu iki farklı komponenti göstermekte faydalıdır (2). Skuamöz ve glandüler komponent birbirine oldukça yakın mesafede gelişir, ancak aralarındaki sınır belirgindir (21).

Ayırıcı tanıda daha iyi prognoz gösteren mukoepidermoid karsinomu dışlamak önemlidir. Mukoepidermoid karsinom için karakteristik olan MAML2 translokasyon çalışmaları bu konuda faydalı olabilir. MAML2 translokasyonu varlığında adenoskuamöz karsinom (ASK) tanısı ekarte edilir (32). ASK, konvansiyonel SHK ile kıyaslandığında, cerrahi ve adjuvan kemoradyoterapiye rağmen daha kötü prognozludur. Daha ileri evrede tanı alır, sık rekürrens ve yayılım gösterir (33).

Olguların %75 kadarında bölgesel lenf nodu; %25 kadarında uzak organ metastazı izlenir (2).

#### **2.4.6.6. Lenfoepitelyal karsinom**

Stromasında belirgin lenfoplazmositik hücre infiltrasyonu gösteren, az diferansiye bir SHK subtipidir. Morfolojik olarak nazofarinksin non-keratinize, undiferansiye SHK'unu andırır (21). Nazofaringeal SHK'un aksine nadiren EBV pozitifdir, ancak yüksek riskli HPV de bulundurabilir (34). Pan-keratin ve p40, p63, CK5/6 gibi skuamöz belirteçlerle pozitifdir. Özellikle morfolojik ve immunohistokimyasal olarak skuamöz farklılaşma özellikleri gözlenemediğinde malign melanoma ve lenfoma mutlaka ekarte edilmelidir. Prognozu, konvansiyonel SHK ile benzerdir (21).

#### **2.4.7. Evreleme**

Klinik ve radyolojik olarak değerlendirilen hastaların, tedavi yaklaşımını ve prognoz tayinini yapabilmek için tümör evrelemesi ve evre gruplaması yapılmaktadır. "American Joint Cancer Committee" (AJCC)- 8. baskı esas alınarak hazırlanan, "College of American Pathologists" (CAP)'in 2021 yılında güncellenen, larinks kanserlerinin patolojik evre sınıflaması (pTNM) ve evre gruplaması, sırasıyla Tablo-2 ve Tablo-3'te gösterilmiştir (24).

**Tablo 2: Larinks kanserlerinin patolojik evre sınıflaması (pTNM)**

<b>T- PRİMER TÜMÖR</b>	
<b>Supraglottis</b>	
<b>Tx</b>	Primer tümör değerlendirilemedi
<b>Tis</b>	Karsinoma in situ
<b>T1</b>	Tümör supraglottisin bir bölgesine sınırlı ve vokal kord hareketi normal
<b>T2</b>	Tümör, supraglottis veya glottis veya supraglottis dışındaki bir bölgenin birden fazla alt bölge mukozasına invaze (örn. dil kökü mukozası, vallekula, piriform sinus medial duvarı), vokal kord fikse değil
<b>T3</b>	Tümör, vokal kord fiksasyonu ile birlikte larinkse sınırlı ve/veya şu bölgelerden herhangi birine invaze= postkrikoid alan, preepiglottik boşluk, paraglottik bölge ve/veya tiroid kıkırdak iç korteksi
<b>T4a</b>	Tümör, tiroid kıkırdakın dış korteksine invaze ve/veya larinks dışındaki yapılara invaze
<b>T4b</b>	Tümör, prevertebral boşluğa ya da mediastinal yapılara invaze ya da karotid arteri sarmış
<b>Glottis</b>	
<b>Tx</b>	Primer tümör değerlendirilemedi
<b>Tis</b>	Karsinoma in situ
<b>T1</b>	Tümör vokal korda/kordlara sınırlı (anterior ya da posterior komissür tutulumu olabilir), vokal kord mobilitesi doğal
<b>T1a</b>	Tümör, bir vokal korda sınırlı
<b>T1b</b>	Tümör, her iki vokal kordu da tutmuş
<b>T2</b>	Tümör, supraglottis ve/veya subglottise uzanıyor ve/veya vokal kord mobilitesinde kısıtlılık ile birlikte
<b>T3</b>	Tümör, vokal kord fiksasyonu ile birlikte larinkse sınırlı ve/veya paraglottik boşluğa ve/veya tiroid kıkırdak iç korteksine invaze
<b>T4a</b>	Tümör, tiroid kıkırdak dış korteksine invaze ve/veya larinks dışındaki yapılara invaze
<b>T4b</b>	Tümör, prevertebral boşluğa ya da mediastinal yapılara invaze ya da karotid arteri sarmış
<b>Subglottis</b>	
<b>Tx</b>	Primer tümör değerlendirilemedi
<b>Tis</b>	Karsinoma in situ
<b>T1</b>	Tümör subglottise sınırlı
<b>T2</b>	Tümör, vokal kord/kordlara uzanım gösteriyor, doğal ya da kısıtlı kord vokal hareketleri ile birlikte
<b>T3</b>	Tümör, vokal kord fiksasyonu ile birlikte larinkse sınırlı ve/veya paraglottik boşluğa ve/veya tiroid kıkırdak iç korteksine invaze
<b>T4a</b>	Tümör, tiroid kıkırdak ya da krikoid kıkırdağa invaze ve/veya larinks dışındaki yapılara invaze
<b>T4b</b>	Tümör, prevertebral boşluğa ya da mediastinal yapılara invaze ya da karotid arteri sarmış
<b>N- BÖLGESEL LENF NODU</b>	
<b>Nx</b>	Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemiyor
<b>N0</b>	Bölgesel lenf düğümü metastazı yok
<b>N1</b>	İpsilateral tek lenf düğümü metastazı, en büyük uzunluk 3 cm veya daha az ve ENE (-)
<b>N2a</b>	İpsilateral tek lenf düğümü metastazı, en büyük uzunluk 3 cm veya daha az ve ENE (+); ya da ipsilateral tek lenf düğümü metastazı, en büyük uzunluk 3 cm'den fazla ancak 6 cm'den az ve ENE (-)
<b>N2b</b>	İpsilateral multiple lenf düğümü metastazı, en büyük uzunlukları 6 cm veya daha az ve ENE (-)
<b>N2c</b>	Bilateral ya da kontralateral tek/multiple lenf düğümü metastazı, en büyük uzunluk 6 cm veya daha az ve ENE (-)
<b>N3a</b>	En büyük uzunluğu 6 cm'den daha fazla olan lenf nodu metastazı ve ENE (-)
<b>N3b</b>	İpsilateral tek lenf düğümü metastazı, en büyük uzunluk 3 cm'den fazla ve ENE (+); ya da Multiple ipsilateral, kontralateral veya bilateral lenf nodu metastazları ve herhangi bir tanesi ENE (+); ya da herhangi bir boyutta kontralateral tek lenf nodu metastazı ve ENE (+)
<b>M- UZAK METASTAZ</b>	
<b>M0</b>	Uzak metastaz var
<b>M1</b>	Uzak metastaz yok

**Tablo 3:** Larinks kanserlerinin tümör evre gruplaması

<b>EVRE 0</b>	Tis	N0	M0
<b>EVRE1</b>	T1	N0	M0
<b>EVRE 2</b>	T2	N0	M0
<b>EVRE 3</b>	T3	N0	M0
<b>EVRE 4A</b>	T1, T2, T3	N1	M0
	T4a	N0, N1	M0
<b>EVRE 4B</b>	T1, T2, T3, T4a	N2	M0
	T4b	Herhangi bir N	M0
	Herhangi bir T	N3	M0
<b>EVRE 4C</b>	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

## 2.5. PATOGENEZ

Baş ve boyun bölgesi SHK'larının etiolojisine bakıldığında, temel olarak tütün kullanımı, alkol tüketimi ile HPV ve Ebbstein Barr Virus (EBV) olmak üzere viral enfeksiyonların olduğu görülmektedir. Bu nedenle baş boyun SHK'ları, patogenezi göz önünde bulundurularak "HPV-negatif" ve "HPV-pozitif" olarak iki gruba ayrılmaktadır. Patogenetik süreçler, epidemiyolojik özellikler, prognoz ve tedavi yaklaşımları bu iki grup arasında farklılıklar göstermektedir. Baş ve boyunun farklı lokalizasyonlarında öne çıkan patogenetik süreçler de farklıdır. Larinks orijinli konvansiyonel SHK'larda HPV pozitifliği beklenen bir durum değildir ve larinks SHK'ları, HPV-negatif yoldan gelişim göstermektedir. Bununla birlikte HPV-negatif ve HPV-pozitif SHK'larının temel özelliklerinin ve farklılıklarının görülmesi tümör patogenezi ve hastalık prognozunu anlayabilmek adına önemli olduğundan bu iki yoldan kısaca bahsedilmiştir (35).

### 2.5.1. HPV-Pozitif Baş Boyun Skuamöz Hücreli Karsinomları

HPV ilişkili baş boyun SHK'ları gerek etiyolojik ve epidemiyolojik özellikler gerek klinik ve histopatolojik özellikler açısından HPV negatif yoldan gelişen SHK'lara göre farklı niteliklere sahiptir. Epidemiyolojik olarak bakıldığında, HPV-pozitif baş boyun SHK sıklığı 1984-2004 yılları arasında %225 artış göstermiştir (36). Bu grupta hastalar daha genç olup (ortalama yaş 50-56'dır) hasta popülasyonu tipik

olarak beyaz ırk, erkek cinsiyet ve yüksek sosyoekonomik statüde vakalardan oluşmaktadır. HPV, orofarinks kanserlerinin %70'ten fazlası ile ilişkili bulunmuştur. Diğer baş boyun bölgelerinden gelişen SHK'lar için ise minör risk faktörüdür (35). HPV negatif konvansiyonel SHK'ların aksine, bu gruptaki hastalar tipik olarak ileri klinik evrede tanı alırlar. Sıklıkla primer tümör boyutları küçüktür, ancak yüksek oranda lenf nodu metastazı gösterirler. Lenf nodu metastazları sıklıkla büyük boyutta ve kistik niteliktedir. HPV ilişkili SHK'lar, konvansiyonel SHK'lardan farklı olarak non-keratinize morfoloji gösterirler. Sıklıkla kript epitelinden orijin alırlar ve konvansiyonel SHK'ların aksine komşu yüzey epitelinde displazi varlığı nadirdir. Tümör hücrelerinde yüksek nükleus/sitoplazma oranı, yüksek mitoz ve/veya apoptoz görülmektedir. Çevre stroma lenfoid dokudan zengindir ve desmoplastik reaksiyon izlenmemektedir. HPV ilişkili SHK'ların genel sağkalımları, konvansiyonel SHK'lara göre daha yüksek; lokal rekürrens riskleri ise daha düşüktür. Ayrıca bu grup hastaların radyoterapi ve kemoterapi yanıtı da daha iyi bulunmuştur (36).

Etiyolojide yüksek riskli HPV subtipleri suçlanmaktadır. HPV-16 en sık görülen subtip olmakla birlikte HPV 18, 31, 33 gibi diğer yüksek riskli HPV subtiplerine de rastlanmaktadır. HPV enfeksiyonunun karsinogeneze olan ilişkisinde, virusun E6 ve E7 proteinleri önemli rol oynamaktadır. HPV E6 proteini, bir tümör supresör gen (TSG) olan p53'te proteozomal degradasyona sebep olur. E7 proteini ise, bir hücre siklusu düzenleyicisi olan retinoblastoma-assosiated protein (RB1)'e bağlanır ve bu proteini destrükte eder. Bu durum hücre siklusunu hızlandırmakta ve hücreyi S fazına götürmektedir. RB1 proteinin degradasyonu, feedback regülasyonla p16 proteinini artırır. p16 ekspresyon artışı, HPV-pozitif tümörleri tespit etmekte kullanılmaktadır (35).

### **2.5.2. HPV-Negatif Baş Boyun Skuamöz Hücreli Karsinomları**

HPV negatif SHK'lar, daha ileri yaş hasta grubunda ortaya çıkmaktadır (ortalama yaş 60-70'tir). Histopatolojik olarak değerlendirildiğinde, HPV ilişkili tümörlerden farklı olarak, tipik konvansiyonel SHK morfolojisi izlenmektedir. Tümör hücrelerinde diferansiye skuamöz epitel yansıtır keratinizasyon dikkati çeker. Çevre stromada belirgin desmoplastik reaksiyon görülür ve sıklıkla tümör komşuluğundaki

yüzey epitelinde displazi vardır. HPV pozitif SHK vakalarına kıyasla bu grup hastaların genel sağkalımı daha düşük; rekürrens ve ikinci primer malignite gelişim sıklığı daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca HPV ilişkili SHK'ların aksine bu grupta p53 sıklıkla mutanttır (35).

Etiyolojide tütün kullanımı en önemli risk faktörünü oluşturur. Sigara içindeki polisiklik aromatik hidrokarbonlar karsinogenezde etkili olan esas maddelerdir. Bu karsinojenler, çoğu DNA'ya bağlanarak genetik anomalilere sebep olurlar veya maruz kalan dokularda inflamasyonu uyararak bazı sitokin ve büyüme faktörlerinin lokal üretimini artırır. Bu durum anjiyogenez, proliferasyon ve karsinogenezi tetiklemektedir. Bu gruptaki diğer önemli risk faktörü ise alkol tüketimidir. Alkol, sigara içindeki kimyasallar için solvent görevi görerek epitelyal hücrelerin bu maddelere maruziyetini artırır. Ayrıca alkolün metaboliti olan asetaldehit, DNA'ya bağlanarak da karsinogenezi başlatabilir (35).

Larinks SHK'ları özelinde bakıldığında, HPV'nin patogenezdaki rolü oldukça sınırlıdır. Tümörlerin yalnızca %4-15 kadarında HPV tespit edilmiş olsa bile olguların çok büyük bir kısmı HPV-ilişkisiz yoldan gelişim göstermektedir (2). Tedavi yönetimi zor olan bu hasta grubunda, premalign lezyonlardan malignite gelişimini öngörebilmek, prognoz ve sağkalım hakkında fikir sahibi olabilmek, hedefe yönelik yeni tedavi modaliteleri geliştirebilmek, mevcut tedaviler için tedavi yanıtını veya direnç gelişimini öngörebilmek adına yeni moleküler biyobelirteçlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Bu nedenle baş boyun SHK patogenezdaki genetik ve epigenetik değişikliklerin anlaşılması, sinyal yollarındaki işleyiş değişikliklerinin tanımlanması büyük önem kazanmıştır (35).

Larinks kanserlerinin de içinde bulunduğu HPV-negatif baş boyun SHKlarının %80'den fazlasında, en önemli TSG olan p53 geninde fonksiyon kaybıyla karakterize mutasyonlar vardır (36). Ayrıca yapılan pek çok çalışmada, baş-boyun SHK'larında sinyal proteinlerinde aberan ekspresyon ve/veya çeşitli sinyal yollarında aktivasyon artışı olduğu görülmüştür (35).

HPV-negatif tümör patogeneğinde önemli role sahip olan bu sinyal yolları şunlardır (36):

- TP53/RB yolağı
- NOTCH yolağı
- PI3K/Akt/mTOR yolağı
- Epidermal Growth Faktör reseptör (EGFR) yolağı
- MET yolağı
- RAS/RAF/MAPK yolağı
- JAK/STAT yolağı

## **2.6. TEDAVİ**

Larinks kanserlerinin güncel tedavi şemaları, hastalıkta kür sağlamanın yanısıra mümkün olduğunca larinks fonksiyonlarını korumak ve hastalara en iyi yaşam kalitesini sunmak üzerine yoğunlaşmıştır. Tedavi seçenekleri, transoral lazer mikrocerrahi, açık parsiyel larenjektomi ve total larenjektomi gibi cerrahi tedaviler ile radyoterapi veya kemoradyoterapi gibi cerrahi olmayan tedavileri kapsamaktadır. Her hasta için yaş, komorbidite, primer tümörün lokalizasyonu, primer tümörün hacmi, invazyon durumu, lenf nodu metastaz durumu gibi faktörler göz önünde bulundurularak en uygun tedavi yöntemi seçilir. Anterior komissür tutulumu, vokal kord mobilitesi, tedavi öncesi ses ve yutma fonksiyonları, hasta kompliyansı da tedavi seçiminde diğer önemli faktörler arasındadır (3).

İleri T ve N evreleri, büyük tümör hacmi, anterior komissür tutulumu, kıkırdak invazyonu, preepiglottik veya paraglottik boşluk invazyonu, vokal kord hareketlerinde kısıtlılık, trakeostomi gerektiren havayolu obstrüksiyonu tedavilerde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (3).

### **2.6.1. Erken Evre Larinks Kanserinde Tedavi**

Erken evre larinks kanserinde (T1N0 ve T2N0) temel hedef, hastalıkta kür sağlarken larinks fonksiyonlarını maksimum düzeyde korumaktır. Bu grup hastalarda

transoral lazer mikrocerrahi, parsiyel larenjektomi gibi organ koruyucu cerrahiler ya da radyoterapi, tedavide tek başına kullanılır (3).

### **2.6.2. İleri Evre Larinks Kanserinde Tedavi**

İleri evre larinks kanserlerinde (T3, T4, TxN+), larinksin cerrahi yöntemlerle korunması oldukça zordur. Larinks koruyucu cerrahi, sadece T3 evreli iyi seçilmiş bir grup hastada tedavi seçeneği olarak değerlendirilebilir. Bu hastalarda supraglottik veya suprakrikoid parsiyel larenjektomi ya da çok az iyi seçilmiş vakada transoral lazer mikrocerrahi uygulanabilir. T3 evreli ve larinks fonksiyonları büyük ölçüde korunmuş olan hastaların çoğu eş zamanlı kemoradyoterapi (KRT) ile başarılı şekilde tedavi edilebilir. Bu sayede cerrahi, rekürrens gösteren hastalarda bir kurtarma seçeneği olarak kullanılır. Seçilmiş T3 ve T4 evreli hastalarda, kombine kemoterapi ve radyoterapi sağkalım oranlarından ödün vermeden larinks fonksiyonlarında yüksek oranda koruma sağladığı için cerrahiye tercih edilmektedir. Tedavi öncesi yutma ve konuşma fonksiyonları kötü olan bir grup T3 ve T4 evreli hastada ise, total larenjektomi daha yüksek sağkalım ve yaşam kalitesi getirdiği için organ koruyucu yaklaşımlara tercih edilmektedir. Yani T3 ve T4 evreli hastalarda, tedavi öncesi larinks fonksiyonlarının değerlendirilmesi ve hastaya ait diğer özellikler uygun tedavi seçiminde oldukça önemlidir. Yanısıra organ koruyucu yaklaşımlarla tedavi edilen hastalarda olası rekürrenslerin erken saptanması için yakın takip gerekir (3, 37, 38).

Organ koruyucu tedavilerin başarısını öngören belirteçler aransa da tedavi seçimini ve prognozu yönlendirebilecek bir biyobelirteç henüz bulunamamıştır. Şu an için yalnızca yüksek tümör volümü ve indüksiyon kemoterapilerine yanıtızsızlık kötü prognostik parametreler olarak görülmektedir (3).

### **2.7. ORGAN KORUYUCU KEMORADYOTERAPİ**

Larinks kanserlerine onkolojik açıdan bakıldığında tedavideki ilk hedef bölgesel kontrolü sağlamak, rekürrens veya ikinci primer durumunda hastalara uygun tedavileri vermektir. Ancak bu bölge kanserlerinde tedavinin vazgeçilmez parçası organ koruyucu yaklaşımdır. Solunum, yutma, fonasyon gibi son derece önemli larinks fonksiyonlarının korunmasını amaçlayan organ fonksiyonu koruyucu tedaviler bu

grup hastalar için oldukça kritiktir. Ayrıca fonksiyonel problemlerin, hasta sağkalımı açısından bağımsız prognostik bir faktör olduğu da savunulmaktadır (6).

1990'lı yıllara kadar ileri evre larinks kanserlerinin standart tedavisi total larenjektomi idi. Bu yıllardan itibaren yapılan randomize çalışmalarda kemoterapi ve radyoterapi protokolleri ileri evre larinks kanserli hastalarda uygulanmış ve bu çalışmaların sonuçları bir meta analizle değerlendirildiğinde sağ kalımda bir azalma olmadan, total larenjektomiye gerek kalmaksızın kemoradyoterapi ile organ korumanın mümkün olduğu sonucuna varılmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise organ koruma için en uygun tedavi şeması araştırılmıştır (39, 6).

Larinks SHK'ları için mevcut tedavi modaliteleri cerrahi seçenekler yanısıra radyoterapi veya platin bazlı ajanlar, taksanlar ve bir anti-EGFR antikoru olan setuksimabın kullanıldığı kombine tedavilerdir. Son yıllarda gündeme gelen bir diğer tedavi de, tümör hücrelerinin immün sistem tarafından tanınması ve yok edilmesini sağlamak için immün sistemin düzenlenmesi esasına dayanan immunoterapidir. Anti-programmed cell death ligand 1 (anti-PD1) antikoları, *rekürren* ve/veya *unrezektable* metastatik baş ve boyun SHK'larında kullanılabilir.

Organ koruyucu tedavi stratejileri:

1- Eş zamanlı kemoradyoterapi (Eş zamanlı KRT): Radyoterapinin (RT) kemoterapi ajanlarıyla eş zamanlı olarak kullanıldığı tedavidir. Sisplatin, 5-fluorourasil (5-FU) ve docetaxel/paklitaksel ve setuksimab, RT ile kombinasyonda en çok kullanılan tedavi ajanlarıdır. Bu ajanlar tek başına ya da kombinasyonlar halinde kullanılabilir. Eş zamanlı KRT tedavisi için farklı seçenekler olsa da sisplatin daha yüksek radyosensitivite sağladığı için yaygın olarak tercih edilmektedir. Eş zamanlı KRT ile sadece RT kıyaslandığında, eş zamanlı KRT alan hastalarda hastalığın lokal kontrolünde artış, larenjektomisiz sağ kalımda artış; uzak metastaz riskinde bir miktar azalma ve kanserden ölüm riskinde azalma olduğu gözlenmiştir (40, 41). Eş zamanlı KRT, günümüzde organ koruyucu tedavide altın standart yaklaşımdır (40, 42).

2- İndüksiyon Kemoterapi: İndüksiyon kemoterapi sonrasında sadece RT ya da indüksiyon kemoterapi sonrasında KRT uygulanan tedavi metodudur. RT'den önce tümör hacmini azaltmak, RT duyarlılığını değerlendirmek veya uzak organ metastaz riskini azaltmak amaçlarıyla kullanılmaktadır. İndüksiyon kemoterapide tercih edilen

kombinasyon sisplatin ve 5-FU'dir (40). Son çalışmalarda taksan grubu kematerapötik içeren indüksiyon KT alternatifleri de araştırılmış olup indüksiyon kemoterapide taksan grubu kemoterapi ilacı, Sisplatin ve 5-FU'den oluşan üçlü tedavinin, Sisplatin ve 5-FU'den oluşan ikili tedaviye göre genel sağ kalımda ve organ koruyucu yaklaşımda daha iyi sonuç verdiği kanıtlanmıştır (43). Sonuç olarak indüksiyon KT ve sonrasında RT/KRT, lokal ileri larinks kanserlerinde uygulanmaktadır, fakat standart tedavi değildir (40).

3- Hedefe Yönelik Tedaviler: Lokal ileri evre larinks SHK'larında hedefe yönelik tedaviler eklenerek organ koruyucu tedavinin etkinliğini artırmak hedeflenmektedir. Genellikle setuksimab gibi anti-EGFR monoklonal antikorların RT ile kombine edilerek kullanıldığı yeni bir tedavi yaklaşımıdır. Lokal ileri unrezektable baş boyun skuamöz hücreli karsinomların tedavisinde sadece RT'ye göre daha iyi sonuçlarının olduğu gösterilmiştir (6, 44).

Tüm çalışma verileri birlikte değerlendirilerek, National Comprehensive Cancer Network (NCCN), American Society of Clinical Oncology (ASCO), European Society of Medical Oncology (ESMO) topluluklarının güncel tedavi önerileri oluşturmuşlardır. Bu toplulukların önerileri derlendiğinde (42):

- Kemoterapi ve radyasyon tedavilerinin, olası akut ve kronik yan etkilerinden dolayı her hasta için uygun olamayabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.
- Organ koruyucu tedavide önerilen altın standart tedavi protokolü eş zamanlı KRT'dir.
- Eş zamanlı KRT'de tercih edilen kemoterapi ajanı sisplatinidir. Sisplatin verilemeyecekse, Cetuximab ya da 5-FU de alternatif olarak kullanılabilir.
- İndüksiyon KT'de önerilen ise; taksan, sisplatin ve 5-FU'den oluşan üçlü tedavidir. İndüksiyon KT'yi takiben uygulanan eş zamanlı KRT'de Cetuximab da kullanılabilir.
- T3, N0-N1-N2-N3 vakalar ile masif kartilaj invazyonu ve çevre yumuşak doku invazyonu olmayan T4 laringeal karsinom vakalarında, önerilen tedavi sisplatin bazlı eş zamanlı KRT'dir. İndüksiyon KT sonrası sadece RT veya eş zamanlı KRT de alternatif tedavi seçenekleri olarak tercih edilebilir.

- Cerrahi yöntemlerin tercih edilmediği erken evre (T1 veya T2) ve KT'nin kontraendike olduğu lokal ileri evre laringeal karsinom olgularında ise sadece RT kullanılabilir (45).
- Bu 'guideline'larda yer almasa da, lokal ileri evre unrezektable baş boyun skuamöz hücreli karsinomlarının tedavisinde, sisplatin kontraendike ise Cetuximab gibi anti-EGFR monoklonal antikorlar RT ile birlikte kullanılabilir (6, 44).

## 2.8. TEDAVİ REZİSTANSI

Dünya genelinde, larinks skuamöz hücreli karsinomlarının da içinde bulunduğu baş boyun skuamöz hücreli karsinomlarının yıllık insidansı 600,000 vakadır ve bu vakaların yaklaşık yarısı ölümlle sonuçlanmaktadır. Bu yüksek mortalite oranının sebeplerinden biri de etkili tedavilerin eksikliğidir. Organ koruyucu kemoradyoterapide kullanılan ajanlarla olan tedavi yanıtının kombine tedavilerde dahi oldukça düşük olduğu gözlenmektedir. Bir çalışmada setuksimabın, sisplatin ve 5-FU gibi ajanlarla kombine edilmesiyle dahi tedavi yanıt oranı en fazla %36 civarında gözlenmiştir. Bununla birlikte tedaviye başlangıç yanıtından sonra da sıklıkla rekürrens gelişmektedir. Uygulanan tedavilere karşı gelişen bu direnç, baş ve boyun kanserlerinde en büyük tedavi sorunlarından biridir. Kemoterapi ve/veya radyoterapi direnci, başlangıç tedavisinden sonra erken dönemde ya da geç dönemde ortaya çıkabilmektedir. Kemoradyoterapi direnci konusunda, *primer (intrinsik)* direnç ve *sekonder* (kazanılmış) direnç olarak iki farklı mekanizmadan bahsedilse de bu mekanizmalar sıklıkla birlikte gerçekleşmektedir. Primer direnç, tedaviyi takiben tümör regresyonunun olmamasıdır. Bu durumun tedavi başlangıcından önce gelişmiş bazı süreçlerin bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Sekonder direnç ise tedaviyi takiben başlangıçta klinik fayda sağlanan hastalarda, gözlenen tedavi cevabında gerileme olmasıdır. Her iki tip direnç de baş boyun skuamöz hücreli karsinomlarında siktir. Her ikisine de ait spesifik mekanizmalar tam anlamıyla anlaşılabilmiş değildir (7).

Kemoterapi ve radyoterapi direncinin baş boyun skuamöz hücreli karsinomlarının tedavisindeki en büyük bariyerlerden biri olması nedeniyle altta yatan direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, mevcut olan az sayıdaki tedavi

seçeneklerine olan yanıtın artması ve yeni geliştirilecek potansiyel tedavi ajanları açısından yeni hedef moleküllerin tanımlanması adına oldukça önemlidir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda pek çok majör sinyal yolağı ve farklı mekanizmalar baş boyun SHK'larında kemoradyoterapi direnç gelişim süreçleriyle ilişkili bulunmuştur (7). Larinks SHK'larında organ koruyucu kemoterapide kullanılan kemoterapi ajanları, hedefe yönelik tedavide kullanılan ajanlar ile radyoterapiye karşı gelişen tedavi direnci ile ilişkili olduğu gösterilen temel sinyal yolakları ve bazı süreçler Tablo 4'te özetlenmiştir.

**Tablo 4:** RT ile bazı KT ajanlarının etki ve direnç mekanizmalarının özeti

TEDAVİ MODALİTESİ	ETKİ MEKANİZMASI	DİRENÇ MEKANİZMALARI
<b>Sisplatin</b>	Sisplatin, hücre içine alınarak DNA ve RNA ile etkileşebilir bir forma getirilir. DNA'nın pürin bazlarıyla etkileşerek DNA'da hasara sebep olur. Oluşan DNA hasarı sonucunda sitotoksik süreçler tetiklenmektedir (46).	AKT/PI3K yolağı (7) RAS/RAF/MEK/ERK yolağı (7) JAK/STAT yolağı (7) EMT yolağı (7) Kanser kök hücreleri (7) İnfluks/eflüks mekanizmaları (46) DNA onarımının artması (46) Apoptozis inhibisyonu (46) EGFR/FAK/NF-KB aktivasyonu (45)
<b>5-Flourourasil</b>	5-FU, pirimidin bazlarıyla benzer yapıya sahip olan anti-metabolit bir ilaçtır. Pirimidin analogu yapısı sayesinde RNA/DNA'ya entegre olup normal nükleotid metabolizmasını bozarak sitotoksik etki gösterir (47).	Apoptozis inhibisyonu (45) Timidilat sentaz ekspresyonunda artış (47) Bcl2, BclXL, Mcl2 overekspresyonu (47) AKT/PI3K yolağı (48) NF-KB yolağı (48)
<b>Docetaxel/Paclitaxel</b>	Mikrotübüllere bağlanarak normal mikrotübül dinamiklerini suprese ederler. Sonuçta kromozom ayrılması ve normal hücre bölünmesi bozulur. Süreç hücre ölümüyle sonlanır (45).	İnfluks/eflüks mekanizmaları (45) Apoptozis inhibisyonu (45) NOTCH yolağı (49) JAK/STAT yolağı (50)
<b>Setuksimab</b>	Hücre yüzeyinde buluna EGFR'e karşı geliştirilmiş monoklonal bir antikordur. Bu sayede hücre çoğalması, farklılaşma ve büyüme üzerine etkili bazı sinyal yolaklarının reseptörü olan EGFR inhibe edilir (7).	AKT/PI3K yolağı (7) RAS/RAF/MEK/ERK yolağı (7) JAK/STAT yolağı (7) EMT yolağı (7) Kanser kök hücreleri (7) Anjiyogenesis (51) EGFR degradasyonunda bozukluk veya EGFR'nin subsellüler lokalizasyonu (51)
<b>Radyoterapi</b>	İyonize radyasyon ile direkt DNA hasarı ya da serbest radikaller oluşturarak kanser hücrelerini öldürmeyi ve tümör büyümesini kontrol altına almayı hedefleyen tedavi şeklidir (52).	JAK/STAT yolağı (53) EGFR/PI3K/AKT yolağı (54) EMT yolağı (54) Kanser kök hücreleri (54) p53 gen mutasyonu (54) Anjiyojenik faktörlerde ekspresyon artışı (54) Hipoksi fenomeni (54)

Bu süreçleri daha detaylı olarak incelersek:

**AKT/PI3K Yolağı:** Büyüme faktörleri veya sitokinlerin reseptör tirozin kinaz (RTK) veya G proteini ilişkili bir reseptöre bağlanmasıyla yolak aktive olur. Fosfotidil inozitol trifosfat (PIP3), fosfoinozotid 3-kinaz (PI3K) ile fosforlanarak aktive edilir. Aktive PIP3, Protein Kinaz B'yi (AKT) aktive eder. AKT ise hücre siklusunun ilerlemesi, hücre bölünmesi ve büyüme ile ilişkili süreçlerin aktivasyonunu sağlamaktadır.

Yapılan çalışmalarda, AKT/ PI3K yolak aktivasyonuna ikincil artmış AKT sinyallerinin hem primer hem de sekonder kemoterapi ve radyoterapi direnciyle ilişkili olduğu bulunmuş; cetuximab, sisplatin, 5-FU ve radyoterapi direnci ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (7).

**RAS/RAF/MEK/ERK Yolağı:** Bu yolağın yaygın kullanılan diğer ismi “mitogen activated protein kinaz” (MAPK) yolağıdır.

Ekstrasellüler RTK'ın aktivasyonu ile guanozin trifosfaz (GTPaz) aktivitesine sahip RAS molekülü uyarılır. RAS'ın aktivasyonu ile sırasıyla RAF, “mitogen-activated protein kinase kinase” (MEK) ve “extracelluler signal-regulated kinase” (ERK) molekülleri aktive olur. ERK ise hücre siklusunun ilerlemesi, diferansiasyon ve apoptozdan kaçış gibi süreçlerle ilgili proteinleri fosforlayarak aktive eder. Bu yolak baş boyun SHK'larında tedavi direnci konusunda en iyi çalışılmış yolaklardan biridir. Yapılan çalışmalarda, yolağa ait RTK, AXL, ERK1/2 ve MAPK yolağının hedef proteinlerinden biri olan transkripsiyon faktör AP-1 gibi noktalarda meydana gelen alterasyonlar primer ve sekonder tedavi direnciyle ilişkili bulunmuştur (7).

**JAK/STAT Yolağı:** Bu yolaktan, ilgili bölümde detaylı olarak bahsedilmiştir.

**Epitelyal-Mezenkimal Geçiş (EMT):** Epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT), epitelyal hücrelerin adezyon özelliklerini kaybedip diğer dokulara olan migrasyonunu ve invazyonunu tanımlar. Bu süreç aslında embriyonik gelişim ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik süreçlerde oldukça önemlidir. Kanser hücreleri tarafından ise, bir uzak organ metastaz mekanizması olarak kullanılmaktadır. Migrasyondan sonra kanser hücreleri mezenkimal-epitelyal geçiş (MET) ile çoğalma ve ikinci tümör oluşturabilme yeteneğine sahip bir fenotipe geri döner. E-cadherin proteininde down-regülasyon ile

vimentin, SNAIL, TWIST ve “zinc finger e-box binding homeobox 1/2” (ZEB1/2), EMT yolağının belirteçlerindedir. EMT ile ilgili çalışmalar sıklıkla yolağın metastatik rolü üzerine olsa da; EMT tedavi direnci ile de ilişkisi bulunan bir yoldur. Özellikle sekonder direncin bu yolla ilişkili olduğundan bahsedilmektedir. Örneğin, TWIST molekülünün hem sisplatin hem setuksimab direnciyle ilişkili olduğu ve sekonder direnci yenmek için potansiyel bir hedef molekül olabileceği düşünülmektedir (7).

**Kanser Kök Hücreleri:** Kanser kök hücre (KKH) teorisi; tümörün, farklılaşma, kendini yenileme, yeniden tümör oluşturma, EMT aracılığıyla mobilite sağlama ve tedaviye direnç gösterme gibi özelliklere sahip birkaç kök hücre içerdiğine dayanır. KKH’lerinin dinlenme halinde bulunması, genellikle bölünen hücreleri hedef alan mevcut tedavilere direnç gelişmesini açıklar. Cell surface antigen 44 (CD44), aldehit dehidrogenaz 1 (ALDH1), octamer-binding transcription factor (OCT4) ve sex determining region Y-box 2 (SOX2), KKH belirteçleri arasındadır. Yapılan çalışmalarda, KKH’lerinin cetuximab, afatinib ve sisplatin direnciyle ilişkisi olduğu gösterilmiştir (7).

**Diğer Mekanizmalar:** Tüm bu anlatılan mekanizmaların yanı sıra DNA/RNA hasar tamir mekanizmaları, ilaç dışı atımı (*efflux*), apoptozis inhibisyonu, hipoksi fenomeni, p53 geninde mutasyon, anjiyojenik faktörlerin ekspresyonunda artış ve epidermal growth factor receptor (EGFR) / focal adhesion kinase (FAK) / nuclear factor-kappa beta (NF-KB) yolağında aktivasyon da kemoterapi ve radyoterapi direnç mekanizmaları arasındadır (45), (54).

## 2.9. JAK/STAT SİNYAL YOLAĞI

JAK/STAT yolağı, yaklaşık 3 dekad önce keşfedilmiş esansiyel bir hücre içi sinyal ağıdır. Pek çok sitokin ve büyüme faktörü tarafından uyarılabilen bu yolağın ekstrasellüler sinyallerin nükleusa iletilmesinde görevlidir (55). JAK/STAT yolağı, hücre bölünmesi, hücre transformasyonu, inflamasyon, immünite, anjiyogenezis, doku invazyonu, metastaz, DNA tamiri ve tedavi direnci gibi hem homeostazla hem de tümörün gelişmesiyle ilgili pek çok biyolojik olayla ilişkilidir (Şekil 5) (8).



**Şekil 5:** STAT3 ile ilişki hücresele olayların şematik gösterimi

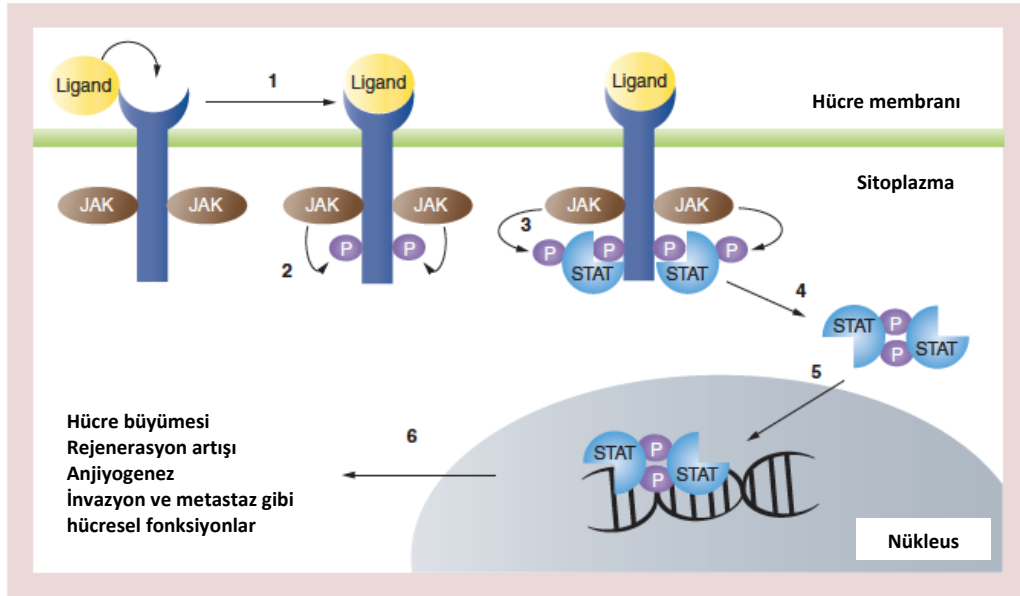
RTKlar, JAK ve STAT proteinleri bu yolağın esas bileşenleridir. RTKlar, ekstrasellüler bölgedeki sitokin ve büyüme faktörlerinin bağlandığı hücre membranında lokalize reseptörlerdir. Her bir RTKın, ligandın bağlandığı ekstrasellüler bölgesi, transmembran bölgesi ve kaskadı başlatan intrasellüler bölgesi vardır. RTKların intrinsek kinaz aktivitesi bulunmaz, ancak intrasellüler bölgesinde, kinaz aktivitesi olan JAK proteinleri için bağlanma bölgesi içerir (55).

JAK proteinleri, non-membran RTK ailesinde yer almaktadır. JAK protein ailesi, JAK1, JAK2, JAK3 ve reseptör olmayan tirozin protein kinaz 2 (TYK2)'yi içeren yapısal ve fonksiyonel homoloji gösteren 4 üyeden oluşmaktadır (55). JAK proteinlerinin boyutları 120 ila 140 kDa aralığındadır ve hepsi yedi adet korunmuş JAK homoloji (JH) alanı içermektedir (56).

STAT protein ailesi, STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b, STAT6'yı içeren 7 üyeden oluşmaktadır. Bu moleküller, 750-850 aminoasitten oluşmakta ve çeşitli fonksiyonel bölgeler içermektedir. Bu fonksiyonel bölgeler, STATların dimerizasyonu, diğer proteinlerle ilişkilmesi, STAT dimerlerinin nükleusa translokasyonu, DNA'ya bağlanması ve transkripsiyon regülasyonunda rol alır (55).

### 2.9.1. Normal Hücrelerde JAK/STAT Sinyal Yolağı

Prolaktin gibi hormonların, Epidermal Growth Faktör (EGF) gibi büyüme faktörlerinin veya interlökin-6 (IL6), interferon gama (IFN-gama) gibi sitokinlerin ilgili RTK'ın ekstrasellüler bölgesine bağlanmasıyla yolak aktive olur. Bu bağlanma, reseptör subünitelerinin dimerizasyonuna ya da multimerizasyonuna yol açar. JAK proteini, dimerize/multimerize olan reseptörlerin intrasellüler bölgelerine non-kovalent yolla bağlanır. Bağlanan JAK proteinleri karşılıklı olarak birbirlerinin tirozin rezidülerini fosforile eder ve JAK proteininin kinaz domaini aktive olur. Bu olaya 'otofosforilasyon' denir. JAK'ların otofosforilasyonu sonucunda, sitoplazmada serbest halde bulunan inaktif STAT3 proteinleri, reseptördeki fosforile tirozin rezidülerine bağlanır. Bu bağlanma sonrasında STAT3 proteinleri, JAK'lar tarafından fosforile edilir. Bu fosforilasyon STAT proteinlerinin dimerize olmasına yol açar. Dimerize olan aktive STATlar, reseptörden ayrılır, nükleusa transloke olur ve spesifik DNA bölgelerine bağlanarak hedef genlerde transkripsiyonu sağlar (Şekil 6) (55).



Şekil 6: JAK/STAT sinyal yolağına genel bakış (57)

STAT proteinlerinin aktivasyonu normal hücrelerde, proliferasyon, diferansiasyon, apoptozis, otofaji, immün düzenlenme gibi önemli biyolojik işlemlerde görevlidir. Ayrıca yolağın embriyolojik gelişimde, hematopoezde ve inflamatuvar yanıtta da görevli olduğu rapor edilmiştir (58). Ayrıca mevcut bulgular,

STAT3'ün, vasküler endotelial growth faktör (VEGF) artışı ile anjiyogenezde önemli rolü olan, çoğu dokuda bulunan bir onkojenik transkripsiyon faktörü olduğunu göstermektedir (59). STAT3'ün asetilasyon ile aktivasyonu, tümör supresör genlerin promotör bölgelerinin susturulmasında ve tümör gelişiminde etkilidir (60).

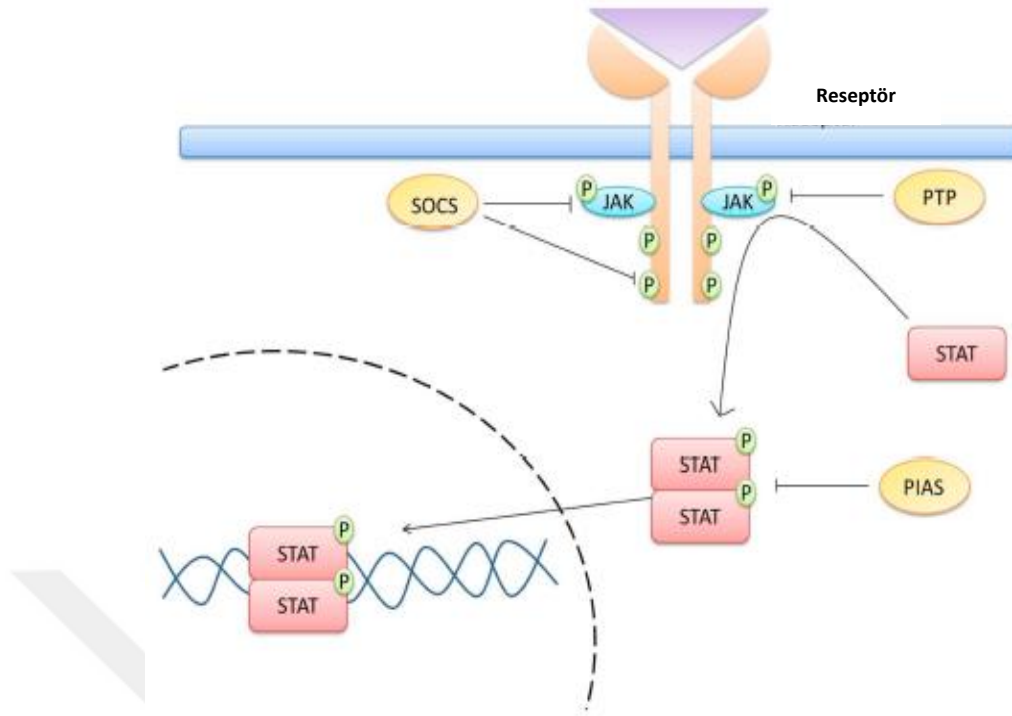
### **2.9.2. JAK/STAT Sinyal Yolağının Düzenlenmesi**

Tirozin kinazlar JAK ve STAT aktivasyonunda önemli role sahip olsa da çok sayıda düzenleyici mekanizma JAK/STAT yolağının regülasyonu ile ilişkilidir. Bu sayede normal fizyolojik sinyaller devam ederken, tümör gibi hastalıkların gelişimi ile ilişkili aktiviteler de engellenir (55).

JAK/STAT sinyal yolağı, tüm basamaklarda regüle edilmektedir. Sinyal boyunca 3 ana düzenleyici görev alır (Şekil 7) (55, 8):

- 1- Fosfat gruplarının ayrılmasını sağlayan protein fosfatazlar, JAK ve/veya STAT'ta defosforilasyon ve deaktivasyonu sağlayarak, JAK/STAT sinyalini durdurmaktadır.
- 2- "Small ubiquitin-like modifier by the protein inhibitor of activated STAT" (PIAS) adı verilen moleküllerin JAK ve STAT proteinlerine eklenmesiyle aktivasyonları engellenmektedir.
- 3- "Suppressors of cytokine signaling" (SOCS) adı verilen molekül ve çeşitli proteinler arasında kurulan kompleksler, RTK veya JAK üzerinden sinyal iletimini inhibe etmektedir.

Ayrıca uzayan sinyallerde JAK proteini, self-inhibitör aktivitesi sayesinde yolağı inhibe etmektedir. EGFR gibi bazı reseptör tirozin kinazlar ve reseptör olmayan tirozin kinazlar da STAT proteinlerini direkt olarak fosforile ederek yolağı aktive edebilir (55), (8).

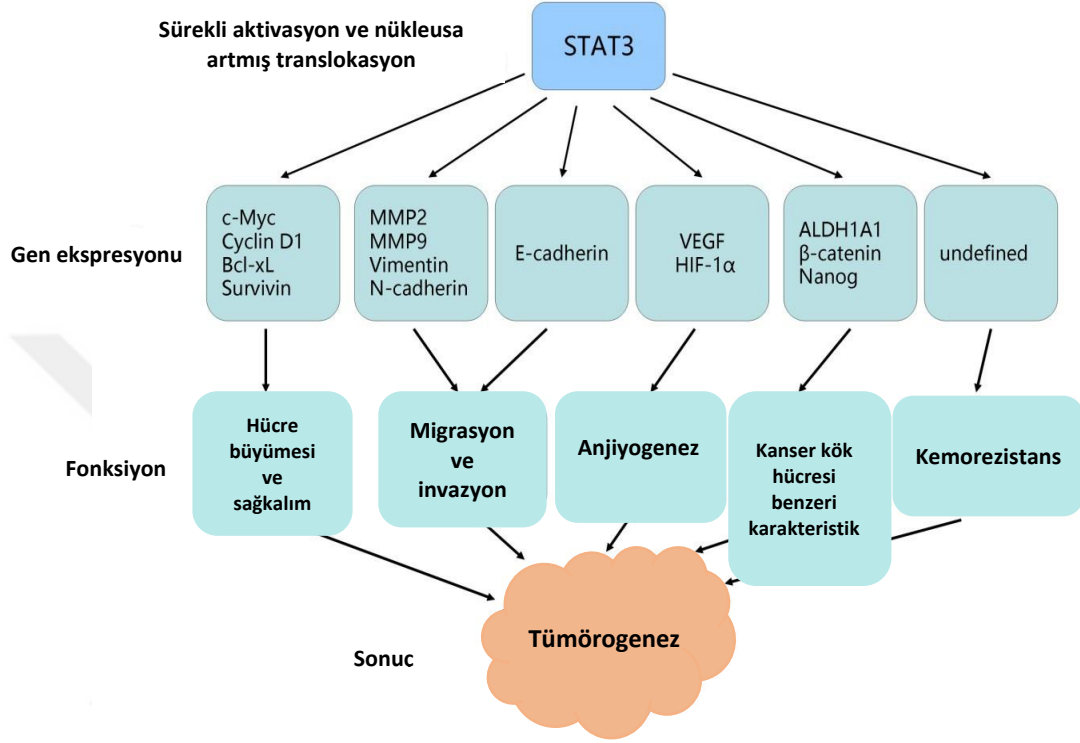


**Şekil 7:** JAK/STAT sinyal yolağının düzenleyici molekülleri (61)

### 2.9.3. JAK/STAT Sinyal Yolağının Tümörögenezdeki Rolü

Normal koşullarda, JAK/STAT yolağının aktivasyonu sıkı bir kontrol altındadır ve geçicidir. Bu yolaktaki persistan aktivasyon sinyallerinin, pek çok insan malignitesi gelişiminde önemli rol oynadığı görülmüştür (62). Kanser gelişimi anormal, kontrolsüz hücre büyümesi ile karakterize olduğu için, JAK/STAT yolağının aşırı aktivasyonunun potansiyel sonucu kanser gelişimidir. JAK/STAT yolağındaki süreğen aktivasyon veya defektler, proliferasyon, anjiyogenez, konak immün yanıtından kaçış, apoptozise direnç, karsinogenez ve metastazla ilişkili bulunmuştur. Bu yolaktaki onkojenik sinyaller neoplastik hücrelerden ve/veya tümör mikroçevresinden salgılanan ligandlara bağlı olabileceği gibi JAK ve/veya STAT proteinlerindeki mutasyonlara bağlı da olabilir (55). Özellikle JAK2 mutasyonlarının, lösemi ve polisitemi vera gibi myeloproliferatif hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir fakat benzer mutasyonlar henüz solid organ tümörlerinde tanımlanmamıştır (60). Devamlı olarak aktif halde bulunan STAT3'ün meme, kolon, mide, baş-boyun, deri, prostat gibi pek çok solid organ kanserinde potansiyel onkojenik rolü tanımlanmıştır. STAT3'teki persistan aktivasyon onkogen ve

immüniteden kaçışta önemli rol oynarken; STAT3 ablasyonunun ise tümör gelişimini engellediği in-vivo ve in-vitro modellerde gösterilmiştir. Yapılan son çalışmalar, JAK/STAT yolağındaki aberan aktivasyonun, TSG'lerde downregulasyon ve solid tümörlerin metastatik yetenek kazanması ile ilişkili olduğunu da göstermektedir (55).



**Şekil 8:** STAT3 ilişkili genler ve tümörögenezdeki rolleri (63)

#### 2.9.4. JAK/STAT Yolağıının Kemoterapi ve Radyoterapi Direncindeki Rolü

Kemoterapi ve radyoterapi direnci baş boyun skuamöz hücreli karsinomlarının tedavisindeki en büyük engellerden biridir (45). Tedavi direnciyle ilişkili bulunan majör sinyal yollarından biri de JAK/STAT sinyal yolağıdır (7). Bu sinyal yolağıının ve yolağıın önemli efektör molekülü olan STAT3'ün hiperaktivasyonunun /overekspresyonunun pek çok solid organ malignitesinde ve hematolojik malignitelere uygulanan kemoterapi ve radyoterapi protokollerine karşı gelişen direnç ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (64). Larinks skuamöz hücreli karsinomlarının tedavisinde de kullanılan standart kemoterapi ajanlarından olan sispatine, 5-FU'e ve taksan grubu ilaçlara karşı gelişen kemoterapi direncinde STAT3 aberan aktivasyonunun sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Bu grup hastalarda

kullanılan radyoterapi (65) ve hedefe yönelik tedavi ajanlarından olan setuksimaba (7) karşı gelişen tedavi direncinde de yine STAT3 molekülünün overekspresyonun sorumlu olabileceği gösterilmiştir. Yanı sıra STAT3 aktivasyonunun, JAK inhibitörleri, STAT inhibitörleri veya farklı mekanizmalarla inhibe edilmesiyle, gelişen tedavi direncinin azaldığı, kullanılan tedavi ajanlarına olan duyarlılığın ve tedavi yanıtının arttığı gösterilmiştir (64).

JAK/STAT sinyal yolağının overekspresyonu, yani aktive STAT3 molekülünün aberan aktivasyonu kısa survival, kötü prognoz, standart kemoterapi ajanlarına ve radyoterapiye dirençle ilişkili bulunmuş olsa da bu durum bir anlamda kanser tedavisi için ihtiyaç duyulan, yeni ve daha etkili ajanların geliştirilmesi adına yeni bir bakış açısı kazandırmaktadır. JAK/STAT yolağını bloke eden ajanların, JAK veya STAT inhibitörlerinin veya bu moleküllere yönelik geliştirilebilecek hedefe yönelik tedavi ajanlarının mevcut tedavi modaliteleri ile birlikte kullanımının, tedavi direncini aşmak ve prognozda iyileşme sağlamak noktasında fayda getireceği umulmaktadır (55). Özellikle günümüzde önemli onkogenlerden biri olduğuna inanılan STAT3 molekülünün değerli bir tedavi hedefi olduğu düşünülmektedir. Şu an için klinik kullanımda olan, direkt olarak STAT3'ü hedefleyen inhibitör bir ilaç mevcut değildir, ancak STAT3 tedavi direnci problemini aşmak için umut vadeden, güncel bir hedef olarak gösterilmektedir (64).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. VAKA GRUBUNUN TANIMLANMASI

Çalışmamıza T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji kliniğinde 2008-2022 yılları arasında larinks skuamöz hücreli karsinomu tanısı alan ve Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi kliniği tarafından cerrahi dışı tedavi uygulanan 123 hasta dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen olguların tümü HPV negatif, konvansiyonel SHK ve varyantlarından oluşmaktadır. Hastane bilgi yönetim sisteminden ulaşılan vakalar arasından epitelyal orijinli olmayan larinks tümörleri, larinkse olan diğer organ metastazları, yeterli klinik bilgi elde edilemeyen vakalar ile takip ve tedavileri hastanemizde yapılan ancak organ koruyucu tedavi almadan önceki biyopsi materyallerine ulaşılamayan vakalar çalışma dışı bırakılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen olgular, uygulanan organ koruyucu tedavi protokolünden fayda görüp kür sağlanan vakalar (tedaviye sensitif hasta grubu-TSHG) ve uygulanan organ koruyucu tedavi protokolüne direnç gösteren vakalar (tedaviye rezistan hasta grubu-TRHG) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. TSHG’nda dahil edilen hastalar skuamöz hücreli karsinom tanısı alıp organ koruyucu tedavi protokolü başlandıktan sonra kür sağlanıp nüks göstermeyen hastalardan oluşmaktadır. TRHG’nda ise skuamöz hücreli karsinom tanısı alıp organ koruyucu tedavi protokolü başlandıktan sonra tedaviye yanıt vermeyen veya nüks gösteren hastaları içermektedir. Nüks gösteren hastalar tedavi bitiş tarihinden nüks tanısı aldıkları tarihe kadar geçen süre açısından bir yıl ve daha kısa zamanda nüks eden ve bir yıldan daha uzun zaman sonra nüks eden hastalar olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Bir yıl ve daha kısa zamanda nüks eden vakalar primer tedavi direnci ile; bir yıldan daha uzun zaman sonra nüks eden vakalar sekonder tedavi direnci ile ilişkilendirilerek değerlendirilmiştir.

Hastalara ait tedavi bilgileri, takip notları ve patoloji raporlarına hastane bilgi yönetim sistemi üzerinden ulaşılmıştır.

### 3.2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME

Organ koruyucu tedavi protokolü ile nüks göstermeyen (TSHG) vakaların tanı aldıkları ilk punch biyopsi materyallerine ait Hematoksilen&Eozin (H&E) boyalı lamalar kliniğimizin lam arşivinden çıkarılarak retrospektif olarak tarandı. Vakalar, cinsiyet, yaş, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, tümörün histopatolojik tanısı, tümörün histopatolojik derecesi, klinik evre ve uygulanan tedavi protokolleri açısından değerlendirildi.

Organ koruyucu tedavi protokolüne direnç gösteren (TRHG) vakaların tanı aldıkları ilk punch biyopsi materyalleri ve uygulanan tedavi sonrasında yapılan total larenjektomi materyallerine ait H&E boyalı lamalar kliniğimizin lam arşivinden çıkarılarak retrospektif olarak değerlendirildi. Vakalar cinsiyet, yaş, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, tümörün histopatolojik tanısı, tümörün histopatolojik derecesi, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, tiroid kartilaj invazyonu, ekstralaringeal invazyon, lenf nodu metastaz durumu, patolojik evre, klinik evre ve uygulanan tedavi protokolleri açısından değerlendirildi.

Her iki vaka grubu için de uygulanan tedavi protokolleri ‘sadece RT’, ‘eş zamanlı KRT’ ve ‘indüksiyon KRT’ olarak kategorize edildi.

Tümör diferansiyasyon derecesi, DSÖ Baş ve Boyun Tümörleri Sınıflaması, 4. baskı baz alınarak ‘iyi’, ‘orta’ ve ‘az’ diferansiye olarak değerlendirildi (2). Tümörün patolojik evresi ve klinik evresi ise 2021 yılında güncellenen CAP protokolü esas alınarak belirlendi (24).

### 3.3. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA

İmmunohistokimyasal çalışma için TSHG vakalarından 1’er adet ve TRHG vakalarından ise tedavi öncesini ve tedavi sonrasını temsil eden 2’şer adet lam seçildi. Seçilen lamalar, tümörün en az diferansiye olduğu alanı temsil eden, inflamasyondan ve nekrozdaki olabildiğince fakir, olağan epitelle geçiş gösteren en geniş tümör alanlarını içerecek şekilde belirlendi. Seçilen lamlara ait, %10’luk formalinle fiksasyon sonrası rutin takip işlemlerinden geçmiş, parafine gömülü doku blokları blok arşivinden çıkarıldı. İmmunohistokimyasal çalışmalar için bu bloklardan 4-6 mikron kalınlığında

kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. İmmünohistokimyasal boyamalar, anti-phosphoSTAT3 antibody [E121-31] (ab32143, Abcam, Cambridge, U.K.) antikoru kullanılarak Ventana Benchmark XT marka otomatize cihazda, 1/500 dilüsyonda çalışılmıştır. Pozitif kontrol olarak rat karaciğeri kullanılmıştır (Datasheet ektedir).

### 3.4. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

İmmünohistokimyasal değerlendirmelerde yalnızca nükleer boyanmalar dikkate alınmış; sitoplazmik boyanmalar pozitif boyanma olarak kabul edilmemiştir. Boyanma yaygınlığını ve boyanma şiddetini birlikte değerlendiren iki farklı skorlama sistemi kullanılmıştır.

Guichet tarafından tanımlanmış, semikantitatif skorlama yönteminde tümör, boyanma yaygınlığına ve boyanma şiddetine göre 0, 1, 2, 3 olarak skorlanmakta ve bu skorlar çarpılarak bir total skor elde edilmektedir (66). Total skor 5 ve üzeri olan vakalar yüksek ekspresyon; 5'in altında olan vakalar ise düşük ekspresyon olarak değerlendirilmektedir (Tablo 5). Bu skorlama sisteminde heterojen boyanma gösteren tümörler, baskın olan boyanma şiddeti esas alınarak skorlama yapılmıştır.

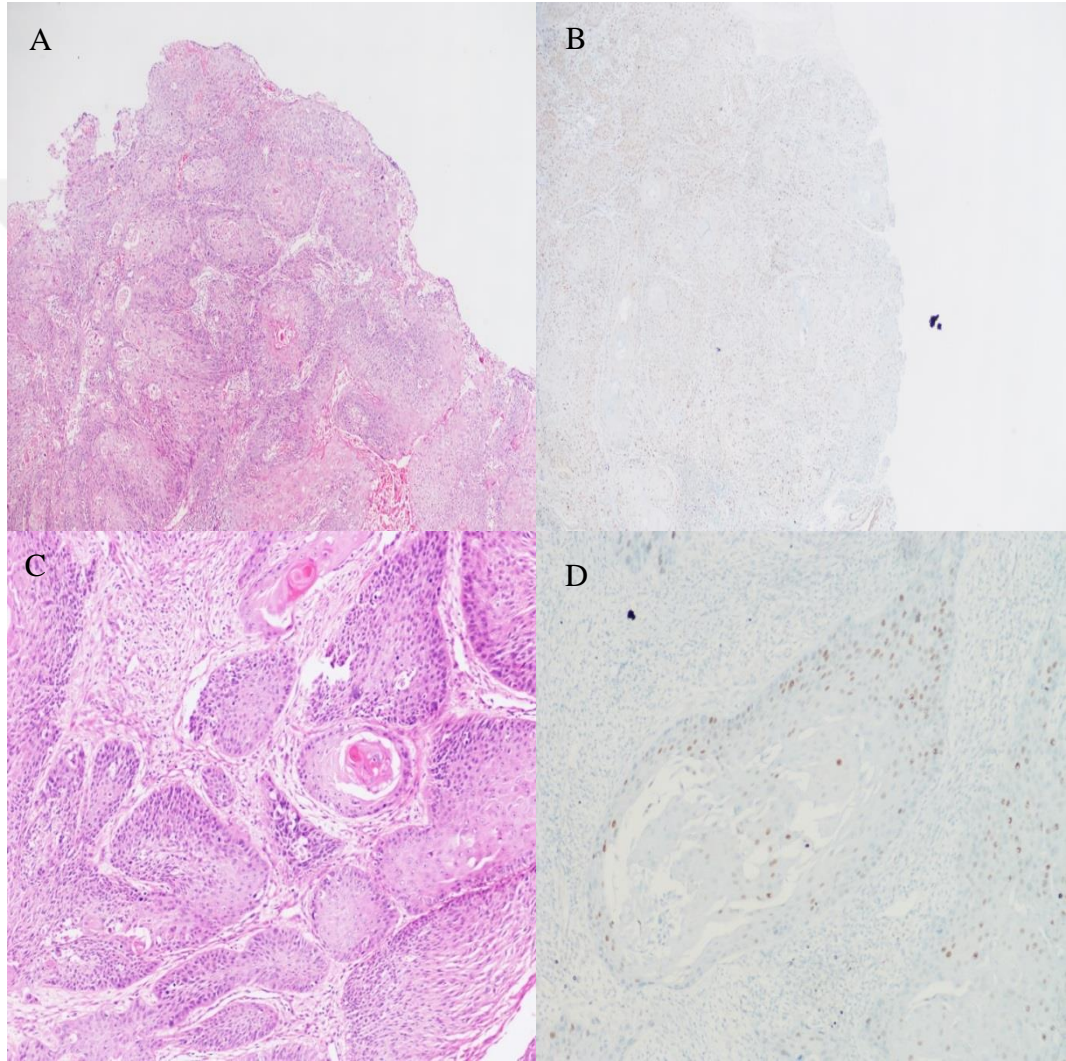
**Tablo 5:** İmmünohistokimyasal boyama değerlendirme sistemi – 1

<b>Boyanma Yaygınlığına Göre:</b> Skor 0: %0 yaygınlıkta boyanma Skor 1: %0-10 yaygınlıkta boyanma Skor 2: %10-50 yaygınlıkta boyanma Skor 3: %51-100 yaygınlıkta boyanma
<b>Boyanma Şiddetine Göre:</b> Skor 0: Boyanma yok Skor 1: Zayıf boyanma Skor 2: Orta şiddette boyanma Skor 3: Kuvvetli boyanma
<b>Total Skor: Boyanma yaygınlık skoru x Boyanma şiddet skoru</b> 5 ve üzeri: Yüksek ekspresyon 5'in altı: Düşük ekspresyon

İkinci skorlama sistemi ise boyanma şiddeti ile pozitiflik yüzdesinin birlikte değerlendirildiği histo-skor (H-skor)'dur (67). H-skor ile 0-300 arasında sayısal bir skor elde edilmektedir (Tablo 6).

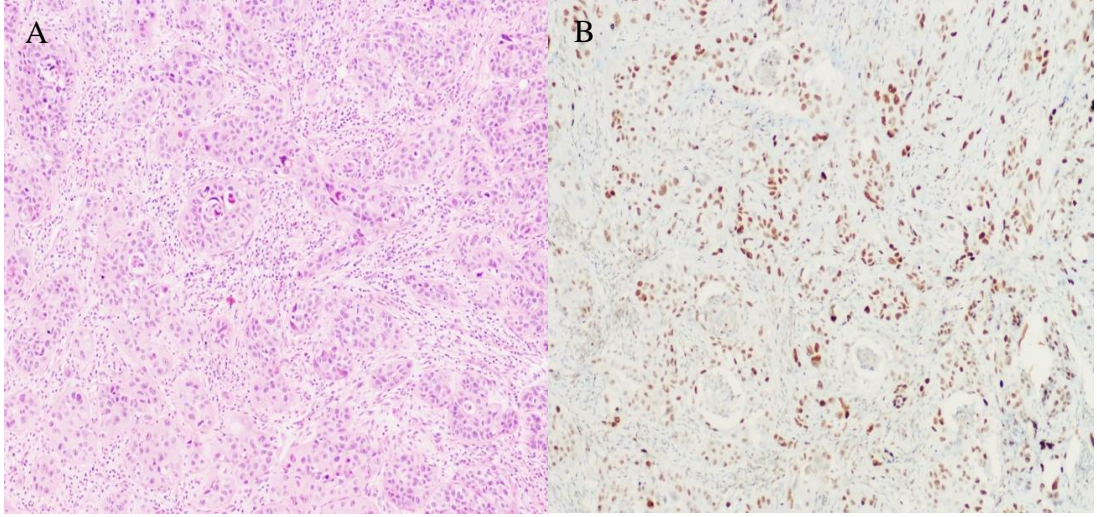
**Tablo 6:** İmmünohistokimyasal boyama değerlendirme sistemi – 2

<b>Boyanma Şiddeti:</b> Skor 0: Boyanma yok Skor 1: Zayıf boyanma Skor 2: Orta şiddette boyanma Skor 3: Kuvvetli boyanma
<b>H-skor:</b> 0 x (boyanmayan hücre yüzdesi) + 1 x (zayıf boyanan hücre yüzdesi) + 2 x (orta şiddette boyanan hücre yüzdesi) + 3 x (kuvvetli boyanan hücre yüzdesi)



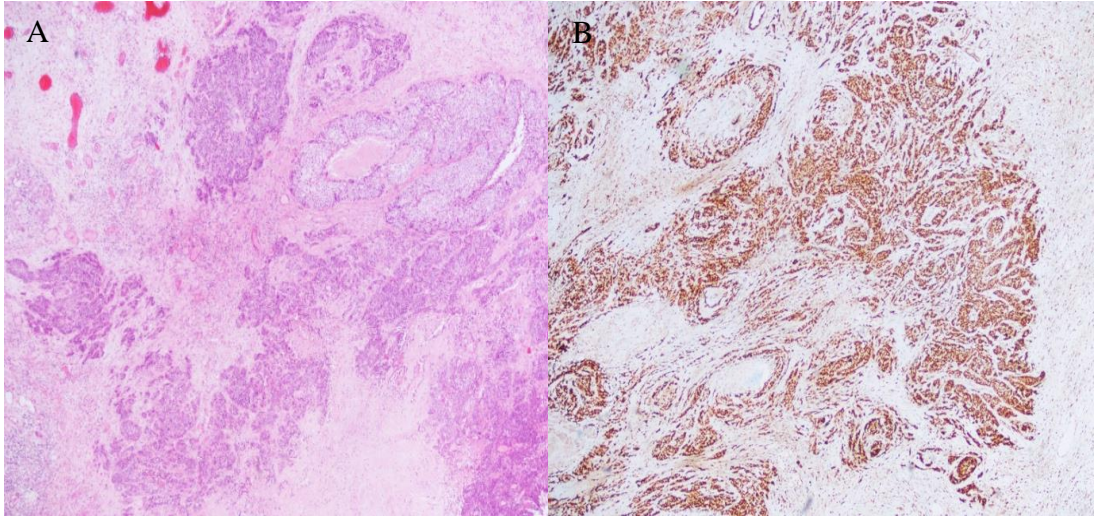
**Şekil 9:** İyi diferansiye keratinize SHK'un tanı biyopsisi ve larenjektomi materyalinde gözlenen paralel p-STAT3 boyanması.

**A:** İyi diferansiye keratinize SHK, tanı biyopsi materyali (H&E, x40), **B:** İyi diferansiye keratinize SHK, tanı biyopsi materyalinde boyanma olmayan (skor 0) ve zayıf nükleer (skor 1); %0-10 yaygınlıkta (skor1) p-STAT3 boyanması (p-STAT3, x40), **C:** İyi diferansiye keratinize SHK, larenjektomi materyali (H&E, x100), **D:** İyi diferansiye keratinize SHK, larenjektomi materyalinde boyanma olmayan (skor 0) ve zayıf nükleer (skor 1); %10-50 yaygınlıkta (skor 2) p-STAT3 boyanması (p-STAT3, x100)



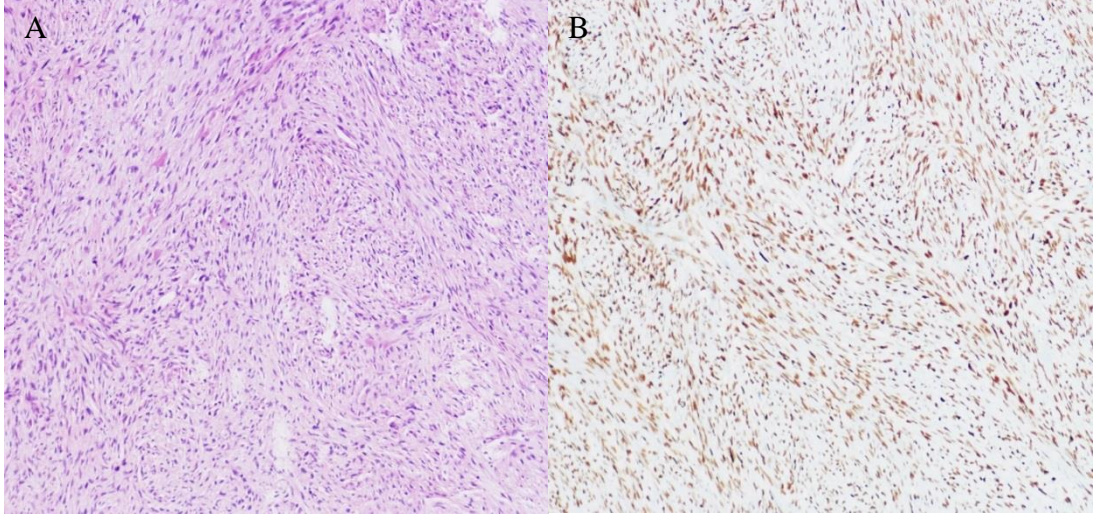
**Şekil 10:** Orta diferansiye keratinize SHK ve p-STAT3 boyanması

A: Orta diferansiye keratinize SHK (H&E, x100), B: Orta diferansiye keratinize SHK'da zayıf (skor 1), orta şiddette (skor 2) ve şiddetli (skor 3); %50'den fazla yaygınlıkta (skor 3) nükleer p-STAT3 boyanması (p-STAT3, x100)



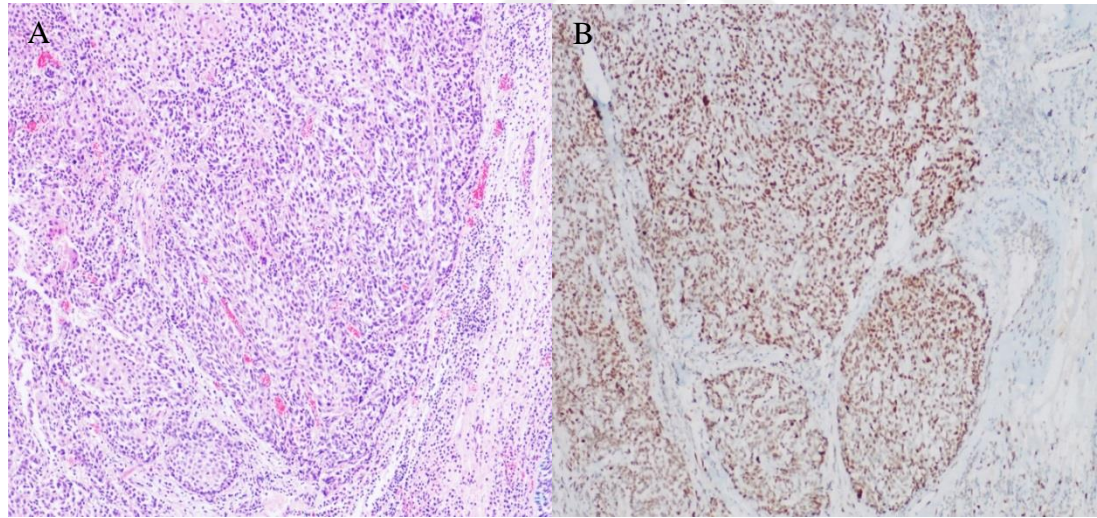
**Şekil 11:** Az diferansiye keratinize SHK ve p-STAT3 boyanması

A: Az diferansiye keratinize SHK (H&E, x40), B: Az diferansiye keratinize SHK'da şiddetli (skor3); %100 yaygınlıkta (skor 3) nükleer p-STAT3 boyanması (p-STAT3, x40)



**Şekil 12:** İğsi hücreli SHK ve p-STAT3 boyanması

A: İğsi hücreli SHK (H&E, x100), B: İğsi hücreli SHK'da şiddetli (skor 3) ve orta şiddette (skor 2); %100 yaygınlıkta (skor 3) nükleer p-STAT3 boyanması (p-STAT3, x100)



**Şekil 13:** Bazaloid SHK ve p-STAT3 boyanması

A: Bazaloid SHK (H&E, x100), B: Bazaloid SHK'da şiddetli (skor 3); %100 yaygınlıkta (skor 3) nükleer STAT3 boyanması (p-STAT3, x100)

### **3.5. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM**

Verilerin analizi IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 25 paket programında yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) incelendi. Tanımlayıcı analizler normal dağılan sayısal değişkenler için ortalama ve standart sapma; normal dağılmayan sayısal değişkenler için ortanca, uç değerler ve çeyrekler arası aralık; ordinal ve kategorik değişkenler için ise frekans tabloları ile verildi. Bağımsız gruplar arası karşılaştırmalarda normal dağılan sayısal değişkenler için Student's T-Testi, normal dağılmayan sayısal değişkenler için Mann Whitney U testi, kategorik değişkenler için ise yerine göre Ki-kare ya da Fisher Testi kullanıldı. Bağımlı gruplar arası karşılaştırmalarda ise normal dağılmayan sayısal değişkenler için Wilcoxon Testi, kategorik değişkenler için ise McNemar testi kullanıldı. Spearman testi kullanılarak skorlamalar arasında korelasyon analizi yapıldı. Nüks veya ölümü predikte eden kestirim değerlerini belirlemek için ROC analizi yapıldı. Genel ve hastalısız sağ kalım hızları Kaplan-Meier sağ kalım analizi kullanılarak hesaplandı. İki grubun sağ kalım üzerine etkisi log rank testi kullanılarak incelendi.  $P < 0.05$  için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### **3.6. ETİK KURUL ONAYI**

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 12.09.2022 tarihinde 146/35 nolu etik kurul onayı alınmıştır.

## 4. BULGULAR

Çalışmamıza 115 (%93,5)'i erkek, 8 (%4)'i kadın olmak üzere toplam 123 hasta dahil edildi. Vaka popülasyonunun ortalama tanı yaşı 59,8 ( $\pm 9,6$ ) idi. 39 (%32) vakanın supraglottik, 34 (%27,9) vakanın glottik, 5 (%4,1) vakanın subglottik, 43 (%35,2) vakanın transglottik lokalize olduğu görüldü. Ayrıca 1 (%0,8) vaka subglottik ve supraglottik alanda lokalize olmak üzere iki farklı primer tümör içermekteydi. Tümörlerin histopatolojik tiplendirmesinde 99 (%80,5) hastada keratinize skuamöz hücreli karsinom görülürken; 24 (%19,5) hastada varyant skuamöz hücreli karsinom saptandı. Keratinize skuamöz hücreli karsinom vakalarından 7 tanesi mikroinvaziv skuamöz hücreli karsinom olup biyopsilerin büyük kısmı karsinoma in-situ alanlarından oluşmaktaydı. Bu nedenle 7 vakanın diferansiyasyon derecesi belirlenememiş olup 92 vaka tümör diferansiyasyonu değerlendirmek için uygundu. Bu 92 vakanın 13 (%14,1)'ü iyi, 48 (%52,2)'i orta, 31 (%33,7)'i az diferansiye idi. Varyant skuamöz hücreli karsinomların ise 4 (%16,7)'ünü içsi hücreli skuamöz hücreli karsinom, 4 (%16,7)'ünü papiller skuamöz hücreli karsinom ve 16 (%66,6)'sını bazaloid skuamöz hücreli karsinom oluşturmaktaydı. Organ koruyucu tedavi protokolü dahilinde hastaların 40 (%32,5)'i sadece radyoterapi, 62 (%50,4)'si eş zamanlı kemoradyoterapi, 21 (%17,1)'i ise indüksiyon kemoradyoterapi almış idi. Hastalar, 'tedaviye sensitif hasta grubu (TSHG)' ve 'tedaviye rezistan hasta grubu (TRHG)' olmak üzere 2 gruba ayrıldı. 123 hastanın 34 (%27,6)'ünde tedavi direnci gelişmiş iken 89 (%72,4)'unda tedavi direnci gelişmemiş idi. Tedavi direnci gelişen 34 vakanın 27'sine direnç gelişmesi üzerine total larenjektomi yapılmış olup; lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, en uzun tümör çapı ve patolojik evre yalnızca bu vakalarda değerlendirilebildi. 11 (%40,7) hastada lenfovasküler invazyon (LVİ) saptanırken; 16 (%59,3) hastada LVİ görülmedi. 13 (%48,1) hastada ise perinöral invazyon (PNİ) saptanırken; 14 (%51,9) hastada PNİ tespit edilmedi. En uzun tümör çapının ortancası 3 cm (Çeyrekler Arası Aralık (CAA)= 2) idi. Tümörlerin patolojik T evrelemesine göre 2 (%7,4)'si T1, 1 (%3,7)'i T2, 5 (%18,5)'i T3 ve 19 (%70,4)'u T4 evresindeydi. Patolojik N evrelemesine göre tümörlerin 15 (%75)'i N0,

1 (%5)'i N1, 1 (%5)'i N2 ve 3 (%15)'ü N3 evreliydi. Patolojik evre gruplamasına göre tümörlerin 2 (%10)'si evre 1, 1 (%5)'i evre 2, 2 (%10)'si evre 3, 15 (%75)'i evre 4 idi. Tümörler patolojik evrelerine göre erken (evre 1 ve evre 2) ve ileri (evre 3 ve evre 4) evre olarak gruplandığında 3 (%15) vakanın erken evre; 17 (%85) vakanın ise ileri evre olduğu görüldü. Klinik T evrelemede vakaların 23 (%18,7)'ü T1, 24 (%19,5)'ü T2, 67 (%54,5)'i T3 ve 9 (%7,3)'ü T4 idi. Klinik N evrelemede olguların 93 (%75,6)'ü N0, 11 (%8,9)'i N1, 14 (%11,4)'ü N2, 4 (%3,3)'ü N3 ve 1 (%0,8)'i N4 evreliydi. 1 (%0,8) olguda tanı anında klinik olarak uzak metastaz varken; 122 (%99,2) olguda tanı anında uzak metastaz saptanmadı. Klinik evre gruplamasına göre ise hastaların 23 (%18,7)'ü evre 1, 17 (%13,8)'si evre 2, 58 (%47,2)'i evre 3, 25 (%20,3)'i evre 4 idi. Tümörler klinik evrelerine göre erken (evre 1 ve evre 2) ve ileri (evre 3 ve evre 4) evre olarak gruplandığında 40 (%32,5) vakanın erken evre; 83 (%67,5) vakanın ise ileri evre olduğu görüldü.

TRGH grubunda nükse kadar geçen sürenin ortancası 9,7 (ÇAA= 12) ay idi. Hastaların tedavi bitiş tarihinden nüks tanısı almalarına kadar geçen süre  $\leq 1$  yıl ve  $>1$  yıl olarak 2 grupta değerlendirildi. 1 yıl ve daha kısa sürede nüks gösteren hasta sayısı 22 (%64,7) iken; 1 yıldan daha sonra nüks tanısı alan hasta sayısı ise 12 (%35,3) idi.

TSHG ile TRHG epidemiyolojik özellikler açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında cinsiyet ( $p > 0,99$ ), tümörün histopatolojik tipi ( $p = 0,85$ ) ve tümör diferansiyasyon derecesi ( $p = 0,17$ ) arasında anlamlı bir fark saptanmadı. TSHG'nun yaş ortalamasının diğer gruba göre anlamlı olarak daha ileri olduğu görüldü ( $p = 0,038$ ). Ayrıca her iki grup tümör lokalizasyonlarının dağılımı açısından karşılaştırıldığında TSHG'da subglottik lokalizasyonda tümör olmadığı ve glottik, supraglottik ve transglottik lokalizasyondaki tümörlerin benzer oranda olduğu; TRHG'da ise tümörlerin en sık transglottik lokalizasyonda olduğu görüldü. İki grup arasındaki bu dağılım farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p = 0,001$ ) (Tablo 7).

**Tablo 7:** TSHG ile TRHG'nun epidemiyolojik verilerinin karşılaştırması

	<b>TSHG</b> n= 89	<b>TRHG</b> n= 34	<b>p değeri</b>
<b>Cinsiyet</b>			>0,99
Erkek	83 (%93,3)	32 (%94,1)	
Kadın	6 (%6,7)	2 (%5,9)	
<b>Yaş</b>	60,9±9,6	56,9±9,1	<b>0,038</b>
<b>Tümör lokalizasyonu, n=122</b>			<b>0,001</b>
Transglottik	30 (%34,1)	13 (%38,2)	
Supraglottik	30 (%34,1)	9 (%26,5)	
Glottik	28 (%31,8)	6 (%17,6)	
Subglottik	0 (%0)	5 (%14,7)	
Subglottik ve Supraglottik	0 (%0)	1 (%2,9)	
<b>Tümör tipi</b>			0,85
Keratinize SHK	72 (%80,9)	27 (%79,4)	
Varyant SHK	17 (%19,1)	7 (%20,6)	
<b>Diferansiyasyon derecesi, n=92</b>			0,17
İyi	10 (%15,4)	3 (%11,1)	
Orta	37 (%56,9)	11 (%40,7)	
Az	18 (%27,7)	13 (%48,1)	

TSHG ile TRHG, klinik evre ve klinik T, klinik N, klinik M verileri açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (p değerleri 0,69; 0,59; 0,27; >0,99). Klinik evre; erken evre ve ileri evre olarak iki gruba ayrılarak karşılaştırıldığında da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p= 0,69) (Tablo 8).

**Tablo 8:** TSHG ile TRHG'nun tümör evresi açısından karşılaştırılması

	<b>TSHG, n= 89</b>	<b>TRHG, n= 34</b>	<b>p değeri</b>
<b>Klinik Evre</b>			0,69
1	16 (%18)	7 (%20,6)	
2	12 (%13,5)	5 (%14,7)	
3	45 (%50,6)	13 (%38,2)	
4	16 (%18)	9 (%26,5)	
<b>Klinik evre</b>			0,69
Erken evre	28 (%31,5)	12 (%35,3)	
İleri evre	61 (%68,5)	22 (%64,7)	
<b>kT</b>			0,59
1	16 (%18)	7 (%20,6)	
2	15 (%16,9)	9 (%26,5)	
3	52 (%58,4)	15 (%44,1)	
4	6 (%6,7)	3 (%8,8)	
<b>kN</b>			0,27
0	69 (%77,5)	24 (%70,6)	
1	7 (%7,9)	4 (%11,8)	
2	9 (%10,1)	5 (%14,7)	
3	4 (%4,5)	0 (%0)	
4	0 (%0)	1 (%2,9)	
<b>kM</b>			>0,99
0	89 (%100)	33 (%97,1)	
1	0 (%0)	1 (%2,9)	

Organ koruyucu tedavi protokolü dahilinde hastalara radyoterapi (RT), eş zamanlı (konkomitan) kemoradyoterapi (cKRT) ve indüksiyon kemoradyoterapi (iKRT) uygulanmış olup, TSHG ile TRHG arasında uygulanan tedavilerin dağılımı Tablo 9’ da gösterilmiştir. İki grup arasında uygulanan tedavilerin dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p= 0,65).

**Tablo 9:** TSHG ile TRHG’nda uygulanan tedavilerin dağılımı

	<b>TSHG, n= 89</b>	<b>TRHG, n= 34</b>	<b>p değeri</b>
<b>Uygulanan tedavi</b>			0,65
RT	27 (%30,3)	13 (%38,2)	
cKRT	47 (%52,8)	15 (%44,1)	
iKRT	15 (%16,9)	6 (%17,6)	

TSHG ile TRHG’nda tanı biyopsilerine uygulanan p-STAT3’ün ekspresyonuna yönelik iki farklı skorlama sistemi kullanılmıştır. Birinci skorlama sistemi ile elde edilen p-STAT3 yaygınlık skoru (p= 0,74), p-STAT3 şiddet skoru (p= 0,25) ve p-STAT3 total skorunda (p= 0,62) iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. p-STAT3 total skor, yüksek ve düşük ekspresyon olarak iki grupta değerlendirildiğinde de iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p= 0,79). İkinci skorlama sistemi ile elde edilen p-STAT3 H-skorunda da aynı şekilde gruplar arası anlamlı fark yoktur (p= 0,29), (Tablo 10).

**Tablo 10:** TSHG ile TRHG’nun tanı biyopsilerinde p-STAT3 ekspresyonunun karşılaştırması

	<b>TSHG, n= 89</b>	<b>TRHG, n= 34</b>	<b>p değeri</b>
<b>p-STAT3 yaygınlık skoru</b>	3 (1)*	3 (1)*	0,74
<b>p-STAT3 şiddet skoru</b>	2 (0)*	2 (1)*	0,25
<b>p-STAT3 total skor</b>	6 (2)*	6 (3)*	0,62
<b>p-STAT3 total skor</b>			0,79
Yüksek ekspresyon	39 (%43,8)	14 (%41,2)	
Düşük ekspresyon	50 (%56,2)	20 (%58,8)	
<b>p-STAT3 H-skoru</b>	230 (80)*	200 (108)*	0,29

\*Ortanca (ÇAA)

TSHG ile TRHG arasında p-STAT3 ekspresyonu yüksek ve düşük ekspresyon olarak sınıflandırılarak değerlendirildiğinde aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0,79$ ), (Tablo 11). p-STAT3 yaygınlık skoru ve p-STAT3 şiddet skoru, “skor 3 ve daha düşük skorlar (skor 0, 1, 2)” olarak iki sınıfa indirgenerek incelendiğinde de TSHG ile TRHG arasında istatistiksel olarak anlamlı p- STAT3 ekspresyon farkı görülmemiştir (p değerleri 0,63 ve 0,55’ tir).

Bu değerlendirme tüm hasta popülasyonu yanısıra sadece RT verilen, cKRT verilen ve iKRT verilen hasta popülasyonlarında da yapılmış olup 3 subgrupta da p-STAT3 ekspresyonu istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır (p değerleri  $>0,99$ ; 0,56; 0,18’ dir), (Tablo 12). Sadece RT verilen, cKRT verilen ve iKRT verilen hasta popülasyonlarında da p-STAT3 yaygınlık skoru ve p-STAT3 şiddet skoru, “skor 3 ve daha düşük skorlar (skor 0, 1, 2)” olarak iki sınıfa indirgenerek incelenmiştir. p değerleri sırasıyla RT alan hastalarda  $>0,99$  ve  $>0,99$ ; cKRT alan hastalarda 0,73 ve  $>0,99$ ; iKRT alan hastalarda ise 0,61 ve 0,28 olup tüm değerler istatistiksel olarak anlamsızdır.

**Tablo 11:** TSHG ile TRHG arasında yüksek ve düşük STAT3 ekspresyonunun dağılımı

		<b>Yüksek STAT3 ekspresyonu</b>	<b>Düşük STAT3 ekspresyonu</b>	<b>p değeri</b>
<b>Tüm Hastalar</b>				0,79
	<b>TSHG</b>	39 (%73,6)	50 (%71,4)	
	<b>TRHG</b>	14 (%26,4)	20 (%28,6)	

**Tablo 12:** Tedavi subgruplarında göre, TSHG ile TRHG arasında yüksek ve düşük STAT3 ekspresyonunun dağılımı

		<b>Yüksek STAT3 ekspresyonu</b>	<b>Düşük STAT3 ekspresyonu</b>	<b>p değeri</b>
<b>RT,</b> <b>n=40</b>				>0,99
	<b>TSHG</b>	10 (%66,7)	17 (%68)	
	<b>TRHG</b>	5 (%33,3)	8 (%32)	
<b>cKRT,</b> <b>n=62</b>				0,56
	<b>TSHG</b>	21 (%72,4)	26 (%78,8)	
	<b>TRHG</b>	8 (%27,6)	7 (%21,2)	
<b>iKRT,</b> <b>n=21</b>				0,18
	<b>TSHG</b>	8 (%88,9)	7 (%58,3)	
	<b>TRHG</b>	1 (%11,1)	5 (%41,7)	

Yüksek p-STAT3 ekspresyonu ve düşük p-STAT3 ekspresyonunun, patolojik evre, pT evresi ve pN evresi ile olan ilişkisi değerlendirilmiş olup p-STAT3 ekspresyon düzeyi ile patolojik evre, pT evresi ve pN evresi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p değerleri 0,41, 0,47 ve 0,53'tür), (Tablo 13).

**Tablo 13:** STAT3 ekspresyon düzeyinin patolojik evre ile ilişkisi

	<b>Düşük STAT3 ekspresyonu n= 53</b>	<b>Yüksek STAT3 ekspresyonu n= 70</b>	<b>p değeri</b>
<b>pT, n= 27</b>			0,47
T1	1 (%8,3)	1 (%6,7)	
T2	1 (%8,3)	0 (%0)	
T3	1 (%8,3)	4 (%26,7)	
T4	9 (%75)	10 (%66,7)	
<b>pN, n= 20</b>			0,53
N0	6 (%75)	9 (%75)	
N1	0 (%0)	1 (%8,3)	
N2	1 (%12,5)	0 (%0)	
N3	1 (%12,5)	2 (%16,7)	
<b>Patolojik Evre, n= 20</b>			0,41
1	1 (%12,5)	1 (%8,3)	
2	1 (%12,5)	0 (%0)	
3	0 (%0)	2 (%16,7)	
4	6 (%75)	9 (%75)	

Yüksek p-STAT3 ekspresyonu ve düşük p-STAT3 ekspresyonunun vakaların klinik evresi, kT, kN ve kM evreleri ile olan ilişkisi değerlendirilmiş olup p-STAT3 ekspresyon düzeyi ile klinik evre, kT, kN, kM evreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p değerleri 0,44; 0,41; 0,78 ve >0,99'dur), (Tablo 14).

**Tablo 14:** STAT3 ekspresyon düzeyinin klinik evre ile ilişkisi

	<b>Düşük STAT3 ekspresyonu, n=53</b>	<b>Yüksek STAT3 ekspresyonu, n=70</b>	<b>p değeri</b>
<b>Klinik Evre</b>			0,44
1	9 (%17)	14 (%20)	
2	6 (%11,3)	11 (%15,7)	
3	29 (%54,7)	29 (%41,4)	
4	9 (%17)	16 (%22,9)	
<b>kT</b>			0,41
1	9 (%17)	14 (%20)	
2	10 (%18,9)	14 (%20)	
3	32 (%60,4)	35 (%50)	
4	2 (%3,8)	7 (%10)	
<b>kN</b>			0,78
0	40 (%75,5)	53 (%75,7)	
1	5 (%9,4)	6 (%8,6)	
2	5 (%9,4)	9 (%12,9)	
3	2 (%3,8)	2 (%2,9)	
4	1 (%1,9)	0 (%0)	
<b>kM</b>			>0,99
0	53 (%100)	69 (%98,6)	
1	0 (%0)	1 (%1,4)	

TRHG'nda yüksek ve düşük p-STAT3 ekspresyon düzeyi ile en geniş tümör çapı, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon varlığı ile ilişkisi araştırılmış olup aralarında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (p değerleri 0,053; 0,70 ve 0,86).

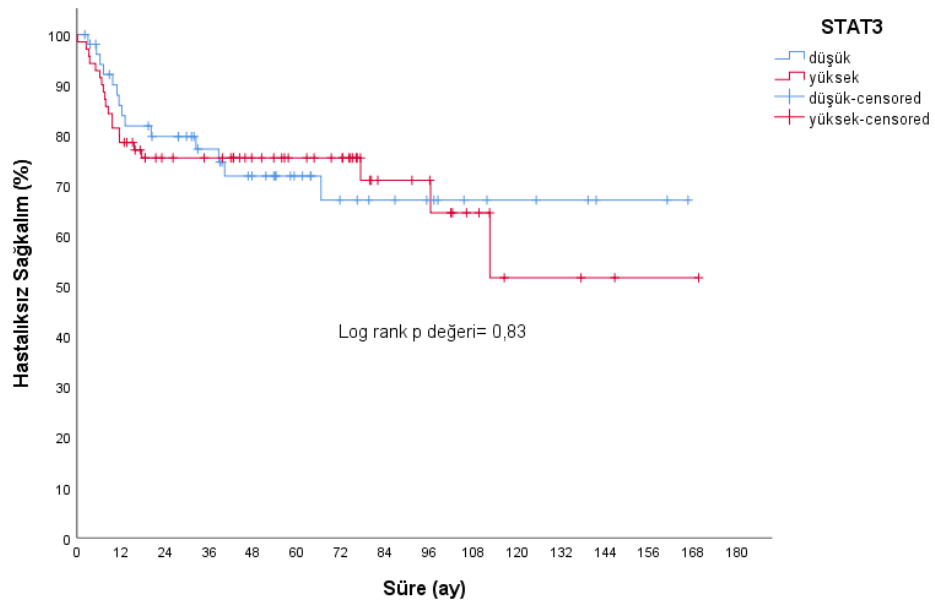
TRHG'nda, tedavi bitiş tarihinden nüks tanısı aldıkları tarihe kadar geçen süre, ≤1 yıl ve >1 yıl olarak iki gruba ayrılmıştır. Bu iki grup arasında yüksek ve düşük p-STAT3 ekspresyon düzeyleri açısından fark olup olmadığı incelenmiş; istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (p= 0,16), (Tablo 15).

**Tablo 15:** Nükse kadar geçen sürenin STAT3 ekspresyon düzeyi ile ilişkisi

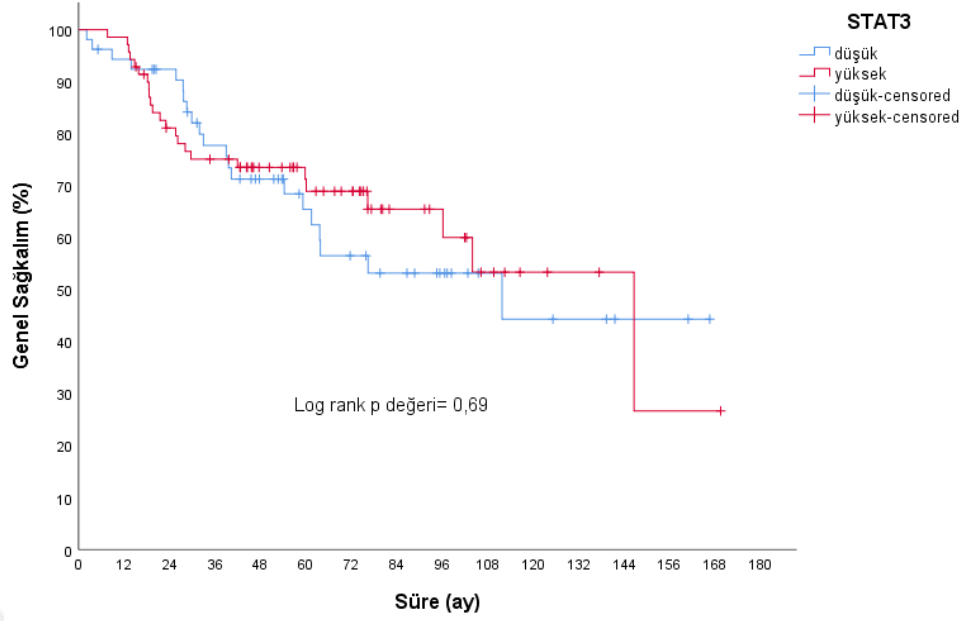
	Düşük STAT3 ekspresyonu, n= 53	Yüksek STAT3 ekspresyonu, n=70	p değeri
<b>Nükse kadar geçen süre, n=34</b>			0,16
≤1 yıl	7 (%50)	15 (%75)	
>1 yıl	7 (%50)	5 (%25)	

Yapılan sağkalım analizlerinde, yüksek ve düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren vakalar arasında hastaliksız sağkalım ve genel sağkalım oranları açısından fark olup olmadığı araştırılmıştır. Hastaliksız sağkalım analizinde p değeri 0,83 olup iki grup arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Takip süresi yaklaşık 96 ay ve üzerine çıktığında, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren vakalarda hastaliksız sağkalım oranının daha yüksek olma eğilimi gösterdiği görülmektedir (Şekil 14).

Benzer şekilde genel sağkalım analizinde p değeri 0,69 olup iki grup arasında anlamlı bir fark yoktur. Takip süresi yaklaşık 144 ay ve üzerine çıktığında genel sağkalım oranının, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren vakalarda daha yüksek olma eğiliminde olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 15).



**Şekil 14:** p-STAT3 ekspresyon düzeyi ile hastaliksız sağkalım arasındaki ilişki



**Şekil 15:** p-STAT3 ekspresyon düzeyi ile genel sağkalım arasındaki ilişki

Hastalısız sağkalım analizinde p-STAT3 H-skoruna yönelik kestirim değeri belirlemek için ROC analizi kullanıldığında EAA 0,438 (%95 GA 0,317-0,559) ve p değeri 0,29 tespit edildi. Benzer şekilde genel sağkalım analizinde p-STAT3 H-skoruna kestirim değeri belirlemek için ROC analizi kullanıldığında ise EAA 0,502 (%95 GA 0,392-0,611) ve p değeri 0,98 tespit edildi. Her iki analizde de sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı için H-skoru için yüksek ve düşük ekspresyonu ifade bir eşik değer saptanamamıştır. Bu nedenle sınıflama gerektiren analizlerde H-skoru kullanılamamıştır.

TRHG'ndaki vakaların, tanı biyopsilerindeki ve nüks nedeniyle yapılan larenjektomi materyallerinde p-STAT3 boyanması için yaygınlık skoru, şiddet skoru, total skor ve H skoru karşılaştırılmış olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Skorların ortanca değerleri ve p değerleri Tablo 16'da gösterilmiştir.

**Tablo 16:** TRHG’nda tanı biyopsisi ve larenjektomi materyallerinde STAT3 ekspresyon karşılaştırması

TRHG, n= 34	Tanı biyopsisi	Larenjektomi materyali	p değeri
<b>Yaygınlık skoru</b>	3 (1)*	2,5 (1)*	0,14
<b>Şiddet skoru</b>	2 (0)*	2 (1)*	0,82
<b>Total skor</b>	6 (2)*	4 (3)*	0,61
<b>Total skor</b>			0,27
Düşük ekspresyon	53 (%43,1)	19 (%55,9)	
Yüksek ekspresyon	70 (%56,9)	15 (%44,1)	
<b>H-skoru</b>	220 (90)*	190 (123)*	0,33

\*Ortanca (ÇAA)

Tedaviye direnç gösteren hasta grubundaki her vakanın tanı biyopsilerindeki ve nüks nedeniyle yapılan larenjektomi materyallerindeki p-STAT3 boyanmasının, yaygınlık skoru, şiddet skoru, total skor ve H skoru ile ayrı ayrı korelasyon analizi yapıldığında ise aralarında anlamlı bir korelasyon olmadığı görülmüştür (p değerleri 0,29; 0,30; 0,25 ve 0,13), (Tablo 17).

**Tablo 17:** TRHG’nda tanı biyopsisi ve larenjektomi materyallerinde STAT3 ekspresyon korelasyonu

	Tanı biyopsisi vs larenjektomi materyali	
	$r_s$	p değeri
<b>Yaygınlık skoru</b>	0,188	0,29
<b>Şiddet skoru</b>	0,182	0,30
<b>Total skor</b>	0,203	0,25
<b>H-skoru</b>	0,266	0,13

Tüm hasta popülasyonu, sadece RT alan hastalar ile RT’ye ek olarak herhangi bir KT alan (cKRT veya iKRT) hastalar olarak iki gruba ayrılmış ve bu iki grup düşük ve yüksek p-STAT3 ekspresyonuna göre ayrı ayrı analiz edilmiştir.

Düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalar içinde, sadece RT alanlar ile RT’ye ek olarak herhangi bir KT alan (cKRT veya iKRT) hastalar karşılaştırıldığında; bu iki tedavi grubu arasında cinsiyet ( $p > 0,99$ ), yaş ( $p = 0,23$ ), histopatolojik tümör tipi ( $p > 0,99$ ), tümör diferansiyasyon derecesi ( $p = 0,68$ ), en geniş tümör çapı ( $p = 0,76$ ),

LVİ (p= 0,22), PNI (p= >0,99), patolojik evre (p= 0,43) ve nükse kadar geçen süre (p= 0,24) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalarda iki tedavi grubu klinik evre açısından karşılaştırıldığında sadece RT alan hastaların tamamı evre 1 ve evre 2 olmak üzere erken evreli iken; cKRT veya iKRT alan hastaların tamamı evre 3 ve evre 4 olmak üzere ileri evreli idi. İki grup arasındaki bu dağılım istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p <0,001), (Tablo 18).

**Tablo 18:** Düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalarda RT'ye eklenen KT'nin klinik evre ve nükse kadar geçen süre üzerine etkisi

Düşük STAT3 ekspresyonu n=53	cKRT+iKRT n=38	RT n=15	p değeri
<b>Klinik evre</b>			<b>&lt;0,001</b>
1	0 (%0)	9 (%60)	
2	0 (%0)	6 (%40)	
3	29 (%76,3)	0 (%0)	
4	9 (%23,7)	0 (%0)	
<b>Klinik evre</b>			<b>&lt;0,001</b>
Erken evre	0 (%0)	15 (%100)	
İleri evre	38 (%100)	0 (%0)	
<b>kT</b>			<b>&lt;0,001</b>
1	0 (%0)	89 (%60)	
2	4 (%10,5)	6 (%40)	
3	32 (%84,2)	0 (%0)	
4	2 (%5,3)	0 (%0)	
<b>kN</b>			<b>0,15</b>
0	25 (%65,8)	15 (%100)	
1	5 (%13,2)	0 (%0)	
2	5 (%13,2)	0 (%0)	
3	2 (%5,3)	0 (%0)	
4	1 (%2,6)	0 (%0)	
<b>Nükse kadar süre</b>	10,9 (16)	20,2 (44,6)	<b>0,24</b>
<b>Nükse kadar süre, n=14</b>			<b>0,27</b>
≤1 yıl	6 (%66,7)	1 (%20)	
>1 yıl	3 (%33,3)	4 (%80)	

Yüksek p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalar içinde, sadece RT alanlar ile RT'ye ek olarak herhangi bir KT alan (cKRT veya iKRT) hastalar karşılaştırıldığında; bu iki tedavi grubu arasında cinsiyet (p= >0,99), yaş (p=0,40), histopatolojik tümör

tipi ( $p = >0,99$ ), tümör diferansiyasyon derecesi ( $p = 0,21$ ), en geniş tümör çapı ( $p = 0,13$ ), LVİ ( $p = 0,62$ ), PNI ( $p = >0,99$ ) ve patolojik evre ( $p = 0,67$ ) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

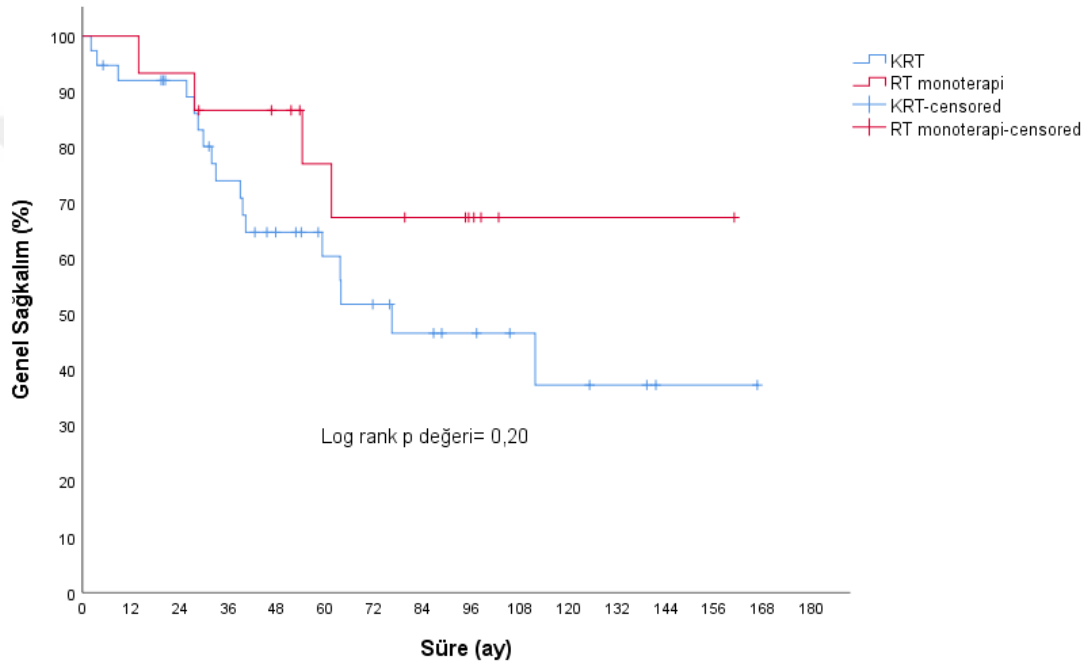
Yüksek p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalarda iki tedavi grubu klinik evre açısından karşılaştırıldığında sadece RT alan hastaların %85,7'si evre 1 ve evre 2 olmak üzere erken evreli iken; cKRT veya iKRT alan hastaların %100'ü evre 3 ve evre 4 olmak üzere ileri evreli idi. İki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,001$ ), (Tablo 19).

Yüksek p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalarda nükse kadar geçen sürenin ortancası sadece RT alan hastalarda 13,6 ay iken; cKRT veya iKRT alan hastalarda 7,3 ay olup istatistiksel olarak anlam ifade etmektedir ( $p = 0,047$ ), (Tablo 19). Düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalarda bu iki tedavi grubu arasında böyle bir farkın gözlenmemiş olduğu dikkat çekicidir.

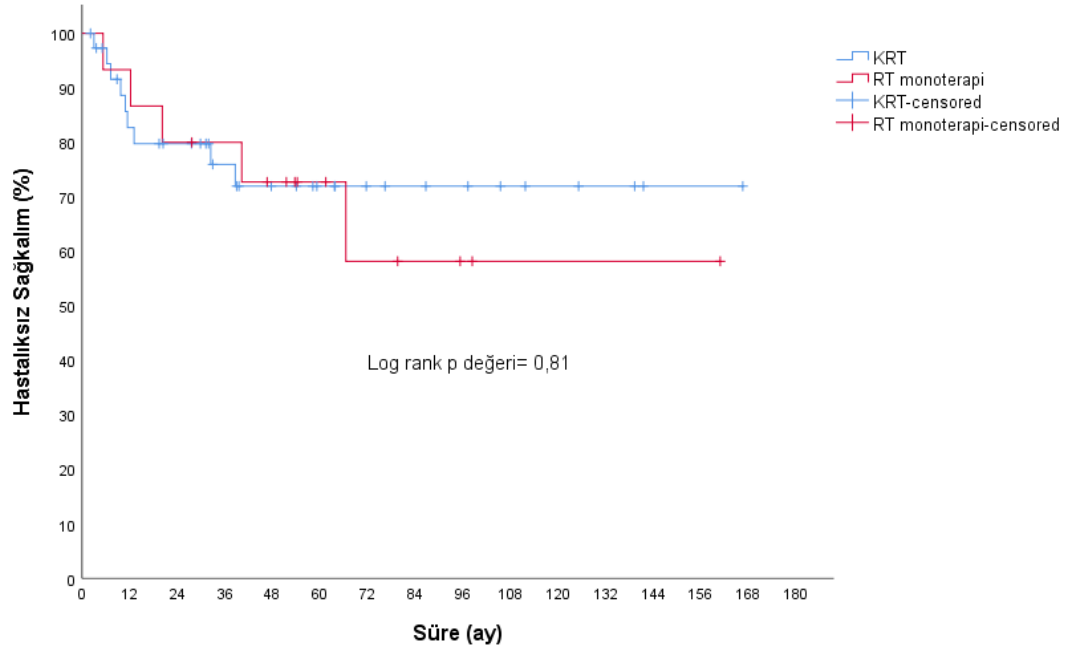
**Tablo 19:** Yüksek p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalarda RT'ye eklenen KT'nin klinik evre ve nükse kadar geçen süre üzerine etkisi

Yüksek STAT3 ekspresyonu, n= 70	cKRT+iKRT n= 45	RT n= 25	p değeri
<b>Klinik evre</b>			<b>&lt;0,001</b>
1	0 (0)	14 (56)	
2	1 (2,2)	10 (40)	
3	28 (62,2)	1 (4)	
4	16 (35,6)	0 (0)	
<b>Klinik evre</b>			<b>&lt;0,001</b>
Erken evre	1 (2,2)	24 (96)	
İleri evre	44 (97,8)	1 (4)	
<b>kT</b>			<b>&lt;0,001</b>
1	0 (0)	14 (56)	
2	4 (8,9)	10 (40)	
3	34 (75,6)	1 (4)	
4	7 (15,6)	0 (0)	
<b>kN</b>			<b>0,006</b>
0	28 (62,2)	25 (100)	
1	6 (13,3)	0 (0)	
2	9 (20)	0 (0)	
3	2 (4,4)	0 (0)	
4	-	-	
<b>Nükse kadar süre</b>	7,3 (7,7)	13,6 (84,3)	<b>0,047</b>
<b>Nükse kadar süre, n= 20</b>			<b>0,11</b>
≤1 yıl	11 (91,7)	4 (50)	
>1 yıl	1 (8,3)	4 (50)	

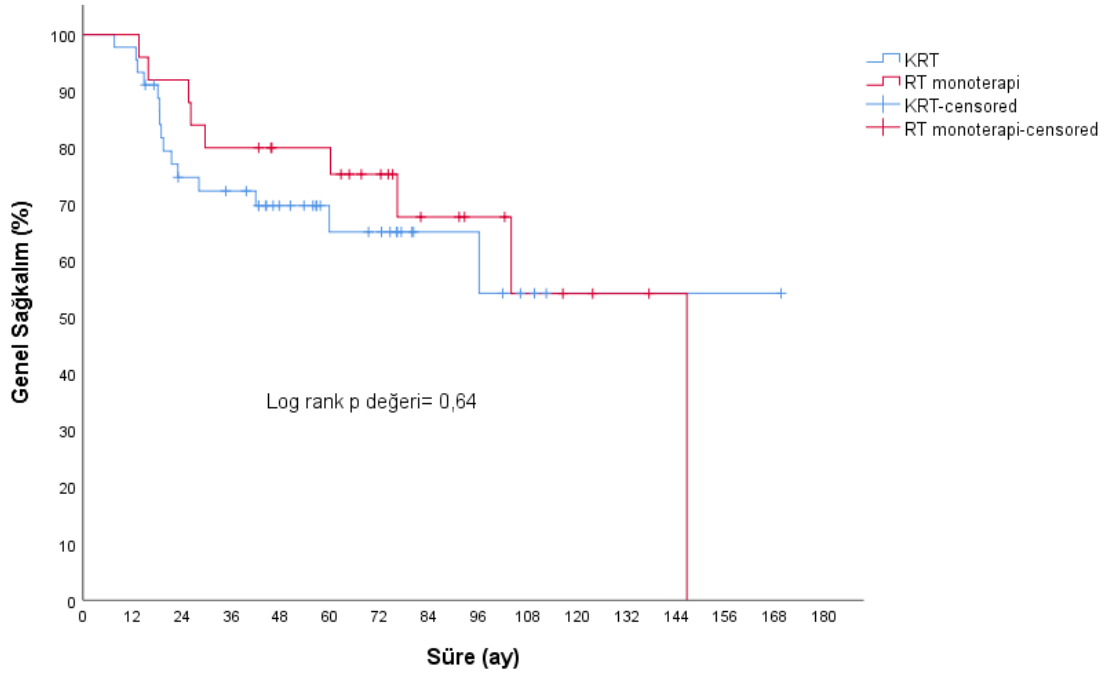
Sadece RT verilen hastalar ile RT'ye ek olarak KT alan (cKRT veya iKRT) hastaların p-STAT3 ekspresyon düzeylerine göre ayrı ayrı sağkalım analizleri yapılmıştır. Düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalarda, hastalısız sağkalım ( $p=0,81$ ) ve genel sağkalım ( $p= 0,20$ ) açısından sadece RT verilmesi ile RT'ye KT eklenmesi arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 16 ve Şekil 17). Aynı şekilde yüksek p-STAT3 ekspresyonu gösteren hastalarda da, hastalısız sağkalım ( $p= 0,92$ ) ve genel sağkalım ( $p= 0,64$ ) açısından sadece RT verilmesi ile RT'ye KT eklenmesi arasından anlamlı bir fark yoktur (Şekil 18 ve Şekil 19).



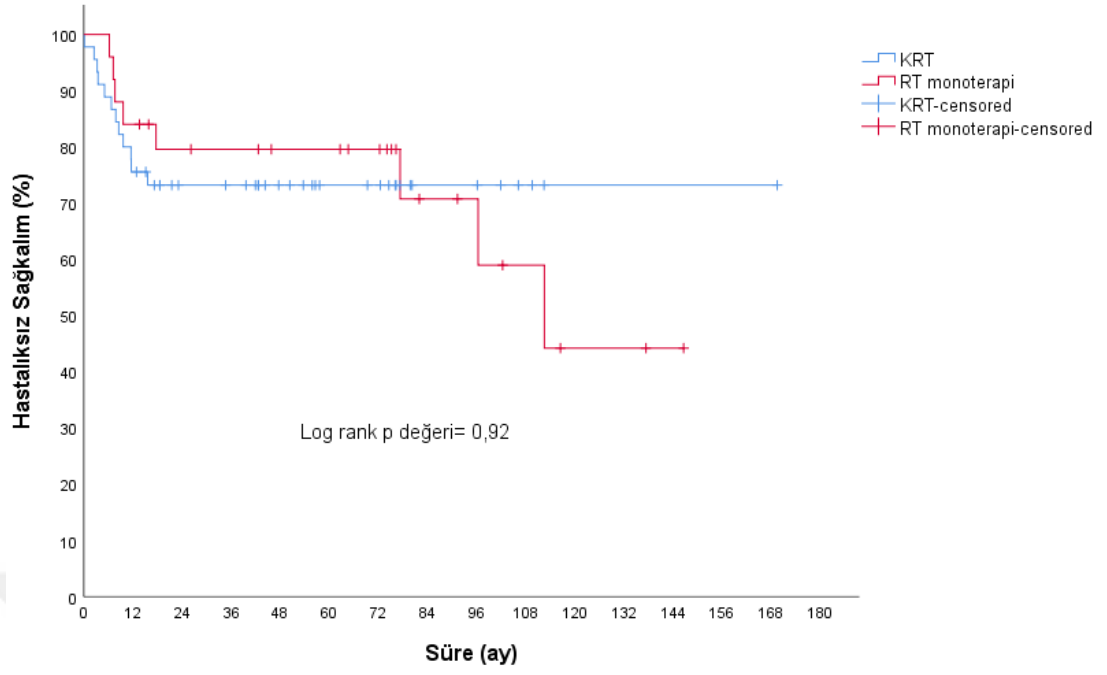
**Şekil 16:** Düşük p-STAT3 ekspresyonunda genel sağkalım eğrisi (cKRT+iKRT vs RT)



**Şekil 17:** Düşük p-STAT3 ekspresyonunda hastaliksız sağkalım eğrisi (cKRT+iKRT vs RT)



**Şekil 18:** Yüksek p-STAT3 ekspresyonunda genel sağkalım eğrisi (cKRT+iKRT vs RT)



**Şekil 19:** Yüksek p-STAT3 ekspresyonunda hastaliksız sağkalım eğrisi (cKRT+iKRT vs RT)

## 5. TARTIŞMA

Larinks kanserleri, yıllık kanser vakalarının %1,1 kadarını oluşturmaktadır ve baş ve boyun kanserleri içinde en sık görülen kanserlerdendir (1). Erken evre larinks kanserlerinde kür oranları %80-90'a yaklaşırsa da vakaların %60 kadarı tanı anında ileri evrededir ve ileri evre larinks kanserlerinde sağkalım oranları daha düşüktür. 5 yıllık sağkalımı son 40 yıl içinde düşüş göstermiş olup %66'dan %63'e düşmüştür. Larinks solunum, konuşma ve yutma fonksiyonları gibi yaşamsal ve hayat kalitesini belirleyen işlevleri olan bir organdır. Bu nedenle yüksek mortalite yanısıra yüksek morbiditeye sahip bir kanser grubudur. Tedavi yaklaşımı son dekadda, larinksin fizyolojik fonksiyonlarını olabildiğince koruyarak hastalıkta kür sağlamak boyutuna evrilmiştir. Günümüzde, organ koruyucu tedavi protokolleri, tercih edilen güncel tedavi yaklaşımıdır. Bu amaçla radyoterapi ve/veya kemoterapi ya da hedefe yönelik antikörlerin kullanıldığı sistemik tedaviler kullanılmaktadır, fakat bu tedavilerde izlenen başarı oranları kombine tedavilerde dahi beklenildiği kadar yüksek değildir. Bu durumun en önemli nedenlerinden biri uygulanan tedavilere karşı gelişen dirençtir. Kemoterapi ve radyoterapi direncinin larinks kanserlerinin tedavisindeki en büyük bariyerlerden biri olması nedeniyle altta yatan direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, mevcut olan az sayıdaki tedavi seçeneklerine olan yanıtın artması adına oldukça önemlidir. Bu bağlamda larinks karsinomlarının patogenez süreçlerini anlamak, tedavi dirençlerinin önüne geçebilmek, yeni geliştirilecek potansiyel tedavi ajanları açısından yeni hedef moleküller veya klinik prognozla ilişkili biyobelirteçler tanımlamak için önemlidir. Tüm bunlardaki nihai hedef tedavi yanıtlarında ilerleme sağlayabilmektir (1, 4, 7, 36).

Baş ve boyun kanserlerinin patogenezinde, HPV ilişkili ve HPV ilişkisiz olmak üzere klinik ve patolojik olarak birbirinden farklı özellikler gösteren iki farklı yolak etkindir. Larinks kanseri özelinde bakıldığında ise majör yolak HPV ilişkisiz yolaştır. Bu yolağın patogenezinde p53 mutasyonu yanısıra pekçok majör sinyal yolağı etkili bulunmuştur. Bu sinyal yolaklarından biri de JAK/STAT sinyal yolağıdır (35).

JAK/ STAT sinyal yolağı, esansiyel bir hücre içi sinyal ağıdır. Bu yolak bazı hormonlar, sitokinler veya büyüme faktörleri gibi ekstrasellüler sinyallerin nükleusa

iletmesinde görevlidir. RTKlar, JAK ve STAT proteinleri bu yolağın esas bileşenleridir. 7 üyeden oluşan STAT ailesinin bir üyesi olan STAT3, JAK/STAT sinyal yolağının önemli efektör moleküllerinden biridir. Ekstrasellüler sinyallerin yokluğunda inaktif STAT3 proteinleri, hücre içinde sitoplazmada serbest halde lokalizedir. STAT3 proteininin aktive olabilmesi için JAK proteinleri tarafından fosforile edilip dimerize olmaları gerekir. Dimerize olan aktive STAT3'ler, reseptörden ayrılır, nükleusa transloke olur ve spesifik DNA bölgelerine bağlanarak c-myc, cyclin D1, bcl-XL, survivin gibi hedef genlerde transkripsiyonu sağlar (55). STAT3 protein aktivasyonu normal hücrelerde, proliferasyon, diferansiasyon, apoptozis, otofaji, immün düzenlenme gibi önemli biyolojik işlemlerde görevlidir (58). Fizyolojik koşullarda yolağın aktivasyonu sıkı bir kontrol altındadır ve geçicidir, ancak artmış ekstrasellüler sinyallerin varlığında veya yolakta yer alan protein defektleri sonucunda süreğen bir aktivasyon gelişir. JAK/STAT yolağındaki bu persistan aktivasyon; proliferasyon, anjiyogenez, konak immün yanıtından kaçış, apoptozise direnç ve metastaz gibi karsinogenez süreçleriyle ilişkili bulunmuştur. Bu doğrultuda yapılan çalışmalarda, bu yolağının persistan aktivasyonunun meme, kolon, mide, baş-boyun, deri, prostat gibi pek çok insan malignitesi ile ilişkili olduğu görülmüştür (62).

Tüm bu süreçler yanısıra son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, JAK/STAT yolağındaki aşırı aktivasyonun ve bunun bir sonucu olarak STAT3 proteinindeki overekspresyonun, larinks kanserlerinin organ koruyucu tedavisinde de kullanılan, radyoterapi ve kemoterapi direnciyle ilişkili olabileceği gündeme gelmiştir (64).

Biz bu çalışmada larinks skuamöz hücreli karsinomu tanısı ile organ koruma protokolüne alınan 123 hastada, STAT3 ekspresyonunun tedavi direnci ve konvansiyonel prognostik parametrelerle ilişkisini araştırdık. STAT3 protein ekspresyonunu immunohistokimyasal yöntemle değerlendirdik ve antikor olarak STAT3'ün aktif ve nükleusa transloke olan fosforile formunu (p-STAT3) kullandık.

Larinks karsinomlarının epidemiyolojik verileri açısından literatür taraması yapıldığında, erkek/kadın oranının, 3,8/1 gibi bir oranla erkek hasta lehine yüksek olduğu görülmektedir (68). Bizim çalışmamızdaki hasta popülasyonunun da, 115 (%93,5)'i erkek; 8 (%4)'i kadındı ve erkek/kadın oranı literatür ile uyumlu bulundu.

Larinks karsinomlarının tanı aldığı ortalama yaş aralığı 6.-7. dekaddır (69). Bizim çalışmamızda da hasta popülasyonunun yaş ortalaması 59,8 ( $\pm 9,6$ ) bulundu ve literatür bilgileri ile uyumluydu.

Çalışmamızdaki tümörlerin anatomik lokalizasyonlarına baktığımız zaman; 39 (%32) vakanın supraglottik, 34 (%27,9) vakanın glottik, 5 (%4,1) vakanın subglottik, 43 (%35,2) vakanın transglottik lokalize olduğu görüldü. 1 (%0,8) vaka ise subglottik ve supraglottik alanda lokalize olmak üzere iki farklı primer tümör içermekteydi. Bu dağılım da literatürle uyumlu bulundu (19).

Çalışmamızdaki hastalar, uygulanan tedaviye sensitif hasta grubu (TSHG) ve tedaviye rezistan hasta grubu (TRHG) olmak üzere iki gruba ayrıldı. 123 hastanın 34 (%27,6)'ünde tedavi direnci saptanmış olup 89 (%72,4)'unda tedavi direnci gelişmedi. Organ koruyucu tedavilere karşı gelişen direnç ile ilgili literatür verilerine baktığımızda tedaviye karşı gelişen direnç oranlarının çok daha yüksek olduğunu görmekteyiz. Yapılan bir çalışmada baş boyun kanserlerindeki tedavi yanıtının kombine kemoterapilerle %36 civarında olduğu ifade edilmiştir (70). Bizim çalışmamızda organ koruyucu tedavi protokollerine direnç geliştiren hasta oranının literatür verilerine oranla daha düşük olmasının önemli nedenlerinden biri hasta seçimi konusunda kabul kriterlerinin net belirlenmiş olmasına bağlı görünmektedir. Çünkü hastaların tedaviden fayda görme olasılıkları değerlendirilerek, doğru kabul kriterleriyle doğru hasta grubuna organ koruyucu tedavi uygulanması oldukça önemlidir. Yanısıra tedavi direnci gösteren bazı hastaların tanı biyopsilerinin dış merkezlerce alınmış olmasından dolayı bu biyopsilere erişilememiş ve çalışmaya dahil edilememiştir. Ayrıca yapılan bu çalışma retrospektif bir çalışmadır ve hastaların takip verileri kesitsel olarak değerlendirilebilmiştir. Tüm hastaların uzun dönem takiplerinin devam ediyor olması da literatürden farklı bir oran çıkmasında etkili olmuş olabilir.

İki grup arasındaki epidemiyolojik verilere baktığımızda, cinsiyet açısından anlamlı bir fark yok iken; TSHG'ndaki hastaların tanı aldığı yaş ortalamasının diğer gruba göre anlamlı olarak daha ileri olduğu görüldü ( $p= 0,038$ ). Ayrıca her iki grup tümör lokalizasyonlarının dağılımı açısından karşılaştırıldığında TSHG'da subglottik lokalizasyonda tümör olmadığı ve glottik, supraglottik ve transglottik lokalizasyondaki tümörlerin benzer oranda olduğu; TRHG'da ise tümörlerin en sık

transglottik lokalizasyonda olduğu görüldü. İki grup arasındaki bu dağılım farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p= 0,001$ ). Literatürde tedavi direncini araştıran çalışmalar genellikle hücre kültürleri kullanılan in-vitro çalışmalar olduğundan, tedavi direncinin epidemiyolojik verilerle ilişkisine değinilmemişti. Bu nedenle bulgularımızı literatür verileriyle karşılaştıramıyoruz. Bu bulgularımızın, tedavi direnci geliştiren tümörlerin farklı biyolojik davranışlara sahip olduğunun dolaylı bir göstergesi olduğunu düşünmekteyiz. Henüz tanımlanmamış bazı biyolojik süreçlerin, hem erken yaşta malignite gelişmesiyle hem de gelişen malignitenin tedavilere dirençli, agresif bir doğaya sahip olmasıyla ilişkisi olabilir. Benzer şekilde tedavilere dirençli, agresif biyolojik özelliklere sahip tümörler, belli anatomik lokalizasyonları tercih ediyor olabilir. Bu anatomik lokalizasyonların tanımlanması, tedavi kararında yol gösterici olacaktır. Bu nedenle tedavi ile ilgilenen direnç çalışmalarında hasta özelliklerinin de detaylandırılarak incelenmesi önemlidir. Bu anlamda çalışmamızın bu bulgularını, literatüre sağladığı katkı ve konunun önemine dikkat çekmesi yönüyle önemli buluyoruz.

Çalışmamızda organ koruyucu tedavi protokolü dahilinde hastalara RT, cKRT ve iKRT uygulanmış olup iki grup arasında uygulanan tedavilerin dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p= 0,65$ ). Literatürde bu tedavi yöntemlerinin hangi hastalarda uygulanması gerektiği büyük çalışmalarda araştırılmış ve tedavi seçiminde bir standardizasyon sağlanmaya çalışılmıştır. Bu bağlamda RT, iyi seçilmiş bir grup erken evreli hastanın tedavisinde kullanılırken; cKRT ve iKRT ileri evre hastalarda tercih edilmektedir (71), (72). İki hasta grubunda, tedavi dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmaması, uygun hastalara uygun tedavi yöntemlerinin seçilmiş olduğunu doğrulayan, beklenen bir bulgudur.

Bu iki gruptaki hastalar klinik evre, klinik T evresi, N evresi ve M evresi açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p$  değerleri 0,69; 0,59; 0,27 ve  $>0,99$ ). Klinik evre; erken evre (evre 1 ve evre 2) ve ileri evre (evre 3 ve evre 4) olarak iki gruba ayrılarak karşılaştırıldığında da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p= 0,69$ ). Her iki hasta grubunun da benzer evrelere sahip olması, larinks kanserlerinde organ koruyucu cerrahinin, seçilmiş bazı erken evreli hastalar dışında daha çok lokal ileri evre hastalıkta kullanılmasının doğal bir sonucudur (42). Her iki hasta grubunun da benzer

linik evrelere sahip olması ve iki gruba da benzer tedavilerin uygulanmış olması tedavi direncine STAT3 ekspresyonunun etkisini araştırmada bir standardizasyon sağlamıştır.

JAK/STAT sinyal yolağındaki artmış aktivasyonun ve bunun bir sonucu olarak, artmış STAT3 ekspresyonunun, kemoradyoterapi direnci ile ilişkili anahtar bir moleköl olabileceği literatürdeki pek çok çalışmada vurgulanmıştır (73). STAT3'ün tedavi direnci ile olan bu ilişkisi baş boyun kanserleri yanısıra kolorektal kanserler (74), meme kanseri (75), akciğer kanseri (76), hepatoselüler kanser (77) ve glial tümörler (78) gibi pek çok sistemde araştırılmış ve ekspresyon artışının tedavi direnciyle ilişkili olduğu saptanmıştır. Servikal kanserlerde ise tersi bulgular mevcut olup artmış STAT3 ekspresyonunun kemosenitivitede artış sağladığı bildirilmiştir (79,80). Baş boyun SHK'ları için literatüre baktığımızda ise STAT3 artışının tedavi direnciyle ilişkili olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir. Liu ve ark. ile Qu ve ark.'nın yaptığı benzer şekilde dizayn edilmiş iki yakın zamanlı çalışmada STAT3 sinyallerinin farklı şekillerde inhibe edilmesiyle kemosenitivitede artış olduğu saptanmıştır. Bu iki çalışma da literatürdeki pek çok çalışma gibi hücre kültürleri kullanılarak yapılmıştır (81,82). Zhou ve ark. tarafından 43 vakanın dahil edildiği, oral SHK'larda yapılan çalışmada da benzer yönde bulgular elde edilmiştir. Bu çalışmanın literatürdeki diğer direnç araştıran çalışmalardan farkı, PCR ve immunohistokimyasal yöntemin hastalara ait tümöral dokularda çalışılmış olmasıdır (83). Biz de çalışmamızda STAT3 ekspresyonunun tedavi direnci ile ilişkisini araştırmak adına, tedaviye duyarlı hasta grubunda ve tedaviye direnç gösteren hasta grubunda STAT3 ekspresyon düzeylerini inceledik ve iki grup arasında anlamlı bir ekspresyon farkı olmadığını saptadık ( $p= 0,79$ ). Bu bulgularımız, yüksek veya düşük STAT3 ekspresyonunun tedavi direnci ile ilişkili olmadığını göstermektedir, ancak literatür verisiyle paralel değildir. Bunun üzerine STAT3 ekspresyonunun, tüm hasta popölasyonu yanısıra tedavi subtiplerindeki direnç ile ilişkisi de değerlendirilmiştir.

STAT3'teki artmış ekspresyonun tüm sistemlerin aksine servikal kanserlerde kemosenitivite artışına sebep olması dikkate değer bir bulgudur. STAT3 ekspresyonu ile HPV ilişkisini araştıran çalışmalar için literatüre baktığımızda HPV pozitif servikal kanserlerde STAT3 ekspresyonunun daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Yüksek riskli HPV'lerin viral onkogeneze etkili olan proteinlerinin,

STAT3 moleküllerinin fosforilasyonunu artırdığı ve HPV pozitif servikal kanserlerde STAT3 aktivitesinin ve nükleer lokalize STAT3 miktarının buna sekonder olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir (91). Baş boyun kanserlerinde ise, servikal kanserlerin aksine STAT3'ün aktivitesi ve nükleer lokalizasyonu HPV negatif tümörlerde daha yüksek; HPV pozitif tümörlerde daha düşük bulunmuştur (92). HPV pozitif tümörlerde STAT3 ekspresyonunun sistem bağımlı olarak değişmesinin sebebi henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. İki sistem arasında STAT3 ekspresyonu ile tedavi direnci noktasında ters sonuçların çıkması buna bağlı olabilir. STAT3 ekspresyonu ve HPV durumunun tedavi direnci ile ilişkisi henüz yeterince araştırılmamış bir konudur. Bu farklı sonuçların aydınlatılabilmesi için farklı sistemlerin HPV pozitif ve HPV negatif tümörlerinde yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatürdeki STAT3 ekspresyonu ve RT direnci arasındaki ilişkiyle ilgili yapılmış çalışmalara baktığımızda; Li ve ark. yaptıkları bir çalışmada, artmış STAT3 ekspresyonunun, laringeal skuamöz hücreli karsinomlardaki RT direnciyle ilişkili olduğunu öne sürmüşler ve shRNA aracılığıyla STAT3 ekspresyonunu baskıladıklarında tümör hücrelerinin daha radyosensitif hale geldiğini in-vivo deney modellerinde göstermişlerdir (84). Sonraki yıllarda Choe ve ark. yayınladığı bir diğer çalışmada da benzer şekilde, artmış STAT3 aktivitesinin laringeal skuamöz hücreli karsinomlarda radyorezistansla ilişkili olduğu gösterilmiştir (85). STAT3 ile RT direnci arasındaki bu ilişki diğer sistemlerde de araştırılmış olup Yin ve ark.'nın küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında yaptığı bir çalışmada da STAT3 overekspresyonunun radyorezistanla ilişkili olduğu bulunmuştur (86). Biz ise çalışmamızda RT alan hastalarda, tedaviye duyarlı hasta grubu ile tedaviye direnç gösteren hasta grubu arasında STAT3 ekspresyonu açısından anlamlı bir fark saptamadık (p değeri >0,99). Yani literatür verilerinden farklı olarak STAT3 overekspresyonunu RT direnci ile ilişkili bulmadık.

STAT3 ekspresyonu ile KT direnci arasındaki ilişki açısından literatüre baktığımızda; Gu ve ark. çalışmalarında, artmış STAT3 ekspresyonunun baş boyun skuamöz hücreli karsinomlarındaki sisplatin direnci ile ilişkili olduğunu göstermiştir (87). Liu ve ark. ise bir STAT3 inhibitör molekülü olan cucurbitacin aracılığı ile STAT3 molekülünü inhibe ettiklerinde, laringeal skuamöz hücreli karsinomlardaki sisplatin direncine karşı duyarlılık geliştiğini bulmuştur (88). Li ve ark.'nın yaptığı

daha yakın zamanlı bir çalışmada ise, larinks skuamöz hücreli karsinomlarında, “long noncoding RNA” ile STAT3 sinyalleri dolaylı olarak inhibe edildiğinde uygulanan kemoterapötik ajanlara duyarlılığın arttığı gösterilmiştir (89). Baş ve boyun kanserlerinin tedavisinde kullanılan bir diğer kemoterapötik ajan 5-FU’dur. Wang ve ark.’nın mide adenokarsinomlarında yaptığı bir çalışmada ise STAT3 ekspresyonu ile 5-FU direnci arasındaki ilişki araştırılmış ve STAT3 sinyalleri inhibe edildiğinde 5-FU direncinde gerileme olduğu görülmüştür (90). Literatürde baş boyun tümörlerindeki KT direnci ile ilgili yapılan çalışmalar daha çok bu bölgede en çok tercih edilen ajan olan sisplatin direncini araştırmaya yöneliktir. Bizim vakalarımızda da kemoterapötik ajan olarak %90 gibi yüksek bir oranda sisplatin kullanılmıştır. Çalışmamızda cKRT ve iKRT alan hasta popülasyonunda, TSHG ile TRHG arasında STAT3 ekspresyon seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık saptamadık (p değerleri 0,56 ve 0,18). Yani KT direnciyle STAT3 ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu ve bu sonuç literatür verileriyle uyumlu değildi.

Çalışmamızın verilerine göre STAT3 ekspresyonunun düşük veya yüksek olması, hem RT hem KT rezistansı ile ilişkili değildir. Tümörün tedavi sürecinde veya tedavinin en başında geliştirdiği bu direnç JAK/STAT sinyal yolağından bağımsız bir süreçtir. Bu direncin sebebi, henüz netleştirilememiş olup JAK/STAT yolağı dışındaki diğer sinyal yolları veya henüz tanımlanamamış olan bir gendeki mutasyonlar olabilir. Baş boyun SHK’larında RT ve KT direnci konusunda literatürde yer alan çalışmaların hemen tamamı STAT3 proteininin mRNA’sına yönelik western-blot gibi daha ileri ve hassas teknikler kullanılarak yapılmış in-vivo ve in-vitro çalışmalardır. Bizim çalışmamızda ise değerlendirmeler yalnızca immunohistokimyasal yöntemle yapılabilmektedir. Ayrıca çalışmamız retrospektif bir çalışma olup hastaların takip verileri kesitsel olarak değerlendirebilmiştir. Bunlar çalışmamızın kısıtlılıkları olsa da baş boyun tümörlerinin tedavilerindeki direnç mekanizmaları günümüzde netleştirilememiş bir konudur. Daha fazla sayıda vakanın dahil edilerek, uzun süreli takiplerle yapılacak olan prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. Çünkü tedavi direncinden sorumlu anahtar mekanizma veya molekülün tanımlanması, henüz tanı anında iken, uygulanacak tedavilere direnç gösterecek hastaları öngörmemizi sağlayacaktır. Bu sayede tedavi direnci gösterme ihtimali yüksek olan hastalarda, tanımlanan moleküllere yönelik inhibitör ajanları içeren kombine tedaviler

kullanılabilecek veya direnç geliŖeceđini öngördüğümüz tedavilerden ve bu tedavilerin olası yan etkilerinden kaçınılabilecektir.

Tedavi direncinde tartıŖılan konulardan bir tanesi de primer (intrinsik) direnç ve sekonder (kazanılmıŖ) dirençtir. Primer direnç, tedaviyi takiben tümör regresyonunun olmamasıdır. Bu durumun tedavi baŖlangıcından önce geliŖmiŖ bazı süreçlerin bir sonucu olduğu düşünölmektedir. Sekonder direnç ise tedaviyi takiben baŖlangıçta klinik fayda sağlanan hastalarda, gözlenen tedavi cevabında gerileme olmasıdır. Her iki tip direnç de baŖ boyun skuamöz hücreli karsinomlarında sıktır ve her ikisine de ait spesifik mekanizmalar tam anlamıyla anlaŖılabilmıŖ değildir ve bu iki mekanizma sıklıkla birlikte gerçekteŖmektedir (7). BaŖ boyun tümörlerinde JAK/STAT yolağının ‘sadece’ primer dirençle olan iliŖkisi henüz bildirilmemiŖtir; ancak Sen ve ark. STAT3’ün hem primer hem de sekonder dirençle iliŖkili olduğunu rapor etmiŖtir (93). Biz de çalıŖmamızda, tedavi direnci gösteren hasta grubunda, tedavi bitiŖ tarihinden nüks tanısı alınan tarihe kadar geçen süreyi  $\leq 1$  yıl ve  $>1$  yıl olarak iki gruba ayırdık. İlk bir yılda gerçekteŖen nükslerin primer dirençle; 1 yıldan sonra geliŖen nükslerin ise sekonder dirençle daha çok iliŖkili olabileceğini düşündük. Buradan yola çıkarak, iki grup arasındaki STAT3 ekspresyon düzeylerini araŖtırdık ve primer direnç ile sekonder dirençte STAT3’ün etkinliğini değerlendirmek istedik.  $\leq 1$  yılda ve  $>1$  yılda direnç geliŖtiren hastalar arasında anlamlı bir STAT3 ekspresyon farkı olmadığını gördük ( $p= 0,16$ ). Bu konuyla ilgili literatürde yeterli çalıŖma ve bilgi olmadığını görmekteyiz. Bizim yaptığımız değerlendirme de sadece dolaylı yoldan yapılmıŖ bir yorumdur ve bu konuyla ilgili nesnel veriler ortaya koyacak çalıŖmalara ihtiyaç vardır.

JAK/STAT sinyal yolağındaki aktivasyon düzeyinin uygulanan RT ve/veya KT nedeniyle deđiŖip deđiŖmediđini analiz edebilmek için tedaviye direnç gösteren hasta grubundaki vakaların, tanı biyopsilerindeki ve larenjektomi materyallerindeki STAT3 boyanması karŖılaŖtırılmıŖtır. Tanı biyopsilerindeki STAT3 ekspresyonlarının ortanca değerleriyle larenjektomi materyallerindeki ekspresyonların ortanca değerleri arasında anlamlı bir fark görölmemiŖtir. Bu bulgu, JAK/STAT sinyal yolağının tedavi sürecinin baŖında ve sonunda benzer düzeyde etkin olduğunu; verilen tedavilere sekonder olarak sonradan aktive olup tedavi direncine neden olmadığını ya da baŖta

aktif bir yolak iken verilen tedavilere sekonder olarak inhibe olup tedavi direncine neden olmadığını düşündürebilir.

Her vakanın kendi içinde, tanı biyopsilerindeki ve larenjektomi materyallerindeki STAT3 boyanmasının korelasyon analizi yapıldığında ise iki biyopsi arasında, ekspresyon artışı/azalışı yönünde anlamlı bir korelasyon olmadığı görülmüştür. Tanı biyopsilerinin punch biyopsi niteliğinde olması tümörün derinini ve genelini değerlendirmek noktasında kısıtlayıcı bir faktör olsa da; bu bulgu da JAK/STAT sinyal yolağının tedavi sürecinin başında ve sonunda benzer düzeyde etkin olduğu görüşünü destekleyebilir. Bu konuyla ilgili ise literatürde benzer şekilde tasarlanmış başka çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda ayrıca STAT3 ekspresyonunun, konvansiyonel prognostik parametreler ve sağkalımla ilişkisini de değerlendirdik. Feng ve ark. yaptıkları deneysel modelde STAT3 sinyallerini inhibe ettiklerinde, laringeal skuamöz hücreli karsinomların hücre büyümesinin ve motilitesinin baskılandığını bulmuşlardır (94). Sonraki yıllarda Xu ve ark. tarafından larinks karsinomlarında yapılan bir başka çalışmada da benzer şekilde JAK/STAT sinyal yolağı dolaylı olarak baskılandığında, kanser hücrelerinin proliferasyon ve invazyon yeteneğinin inhibe olduğu görülmüştür (95). Bu çalışmalardan elde edilen bulgular, STAT3 overekspresyonunun kötü prognostik parametrelerle ilişkili olabileceğini düşündürmekte ve STAT3'ün hastalık prognozunu öngörmeye yeni ve değerli bir biyobelirteç olabileceği öngörüsü uyandırmaktadır. Bu bağlamda Masuda ve ark. baş boyun SHK'larında STAT3 ekspresyonu ile prognostik veriler arasındaki ilişkiyi araştırmış; STAT3 pozitif vakaların daha yüksek oranda lenf nodu metastazı yaptığını ve daha ileri klinik evre ile ilişkili olduğunu bulmuştur (96). Daha yakın zamanlı bir başka çalışmada ise larinks karsinomlarında, STAT3 fosforilasyonunun engellenmesiyle dolaylı olarak STAT3 yolağı inhibe edildiğinde uzak metastaz riskinin azaldığı, invivo ve invitro modellerde gösterilmiştir (97). Farklı bir çalışmada ise Pectasides ve ark., baş boyun SHK'larındaki STAT3 ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişkiyi araştırmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamamıştır (98). STAT3 ekspresyonunun evre ile ilişkisi diğer sistemlerde de araştırılmış bir konudur. Masuda ve ark. renal hücreli karsinomlarda yaptığı çalışmalarında artmış STAT3 mRNA seviyeleri ile tümör evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını bulmuşlardır.

Özetle literatür verilerine baktığımızda STAT3 ekspresyonunun tümör evresi ile ilişkisi konusunda çelişkili bulgular mevcuttur. Bizim çalışmamızda da p-STAT3 ekspresyon düzeyi ile klinik evre, kT, kN ve kM evreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p değerleri 0,44; 0,41; 0,78 ve >0,99). Çalışmaların bir kısmının immunohistokimyasal yöntemle, bir kısmının mRNA analizleriyle yapılmış olması, immunohistokimyasal boyanmaların değerlendirilmesinde ortak kabul edilen bir skorlama sisteminin olmaması ve değerlendirmelerin subjektif olması çıkan farklı sonuçlardaki kısıtlayıcı faktörlerdendir. Ayrıca çalışmalara dahil edilen hasta sayılarındaki yetersizlikler ve farklılıklar da çelişkili sonuçların çıkmasında etkili görünmektedir.

Çalışmamızda p-STAT3 ekspresyon düzeyi ile tümörün histopatolojik derecesi, en geniş tümör çapı, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon varlığı ile ilişkisi araştırılmış olup aralarında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (p değerleri 0,24; 0,053; 0,70 ve 0,86). Bu konuyla ilgili literatürdeki çalışmalara baktığımızda Zhao ve ark. larinks skuamöz hücreli karsinomlarında, STAT3 ekspresyonunun az ve orta diferansiye tümörlerde, iyi diferansiye tümörlere göre daha yüksek olduğunu bildirmiştir (99). Pectasides ve ark. ise yine larinks karsinomunda, STAT3 ekspresyon düzeyi ile tümör diferansiyasyon derecesi arasında anlamlı bir ilişki görmemiştir (98). Gordziel ve ark. da kolorektal karsinomlarda bu konuyu araştırmış ve STAT3 ekspresyon düzeyi ile tümörün histolojik diferansiyasyonu arasında anlamlı bir ilişki olmadığını ifade etmiştir (100). STAT3 ekspresyon düzeyleri ile LVİ ve PNI arasındaki ilişki açısından literatürde verilerin sınırlı olduğunu görmekteyiz. Baş boyun SHK'larında bu konuda yapılmış bir çalışma mevcut değildir, Kolorektal kanserlerde yapılan bir çalışmada Monnien ve ark., STAT3 ekspresyonu ile LVİ ve PNI ilişkisini araştırmış; ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamamıştır (101).

STAT3 ekspresyonunun sağkalımla ilişkisini araştıran çalışmalar için literatüre baktığımızda bulguların çelişkili olduğunu görmekteyiz. Baş boyun SHK'larında yapılan çalışmalarda Masuda ve ark. yüksek STAT3 ekspresyonunun daha düşük sağkalımla ilişkili olduğunu ifade ederken; Pectasides ve ark. ise yüksek STAT3 ekspresyonunu artmış sağkalımla korele bulmuştur (96), (98). Farklı sistemlerde yapılan çalışmalara baktığımızda ise kolon adenokarsinomlarında yapılan bir çalışmada Monnien ve ark., STAT3 pozitifliğinin 5 yıllık genel sağkalım ve 5 yıllık

hastaliksız sağkalımla ilişkisini analiz etmiş ve STAT3 eksprese eden vakaların genel sağkalımlarının daha yüksek olduğunu bildirmiştir; ancak STAT3 ekspresyonu ile hastaliksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bildirmemiştir (101). Bizim alışmamızda ise yüksek ve düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren vakalar arasında yapılan hastaliksız sağkalım analizinde p değeri 0,83 olup iki grup arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Takip süresi yaklaşık 96 ay ve üzerine çıktığında, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren vakalarda hastaliksız sağkalım oranının daha yüksek olduğu görülmektedir. Benzer şekilde genel sağkalım analizinde p değeri 0,69 olup iki grup arasında anlamlı bir fark yoktur. Takip süresi yaklaşık 144 ay ve üzerine çıktığında genel sağkalım oranı, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren vakalarda daha yüksek olma eğilimindedir. Literatürdeki bu çelişkili verileri netleştirmek hastalık prognozunu öngörebilmek ve hasta yönetimine işık tutabilmek adına oldukça önemlidir. Bu nedenle hasta sayılarının artırılarak, daha uzun süreli takiplerin yapılacağı prospektif nitelikte çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda tartışmak istediğimiz bir diğer nokta ise RT'ye eklenen KT'nin etkinliğinin, tümörün STAT3 ekspresyon düzeyine göre farklılık gösterip göstermediğidir. Tümörün STAT3 ekspresyon düzeyini tedavi için prediktif bir biyobelirteç olarak kullanarak, hangi hastanın eklenecek KT'den fayda göreceğini, hangi hastanın fayda görmeyeceğini öngörebilmek hastalar için oldukça pragmatik bir yaklaşım olacaktır. Çünkü RT'ye eklenen KT'ler toksisite oranlarında belirgin bir artışı da beraberinde getirmektedir (102). Bu sayede henüz tedavinin başındayken, yeterli düzeyde KT etkinliği öngörülmeyen hasta grubunda kemoterapi ajanlarının kısa ve uzun dönem yan etkilerinden kaçınmak da mümkün olacaktır. Bu karşılaştırmayı yapabilmek için tüm hasta popülasyonumuz, sadece RT alan hastalar ile RT'ye ek olarak herhangi bir KT alan (cKRT veya iKRT) hastalar olarak iki gruba ayrılmış ve bu iki grup düşük ve yüksek STAT3 ekspresyonuna göre ayrı ayrı analiz edilmiştir. Hastalarımızın aldığı KT, %90 gibi yüksek bir oranla sisplatinidir. Literatürde bu konuya eğilen çalışma sayısı henüz yeterli olmasa da baş boyun SHK'larında yapılmış iki çalışmanın sonuçlarını dikkat çekici bulduk. Hato ve ark. 65'i RT'ye ek sisplatin almış, 32'si sadece RT almış olan toplam 97 hastada yaptıkları çalışmada vakaları STAT3 ekspresyon düzeylerine göre sağkalım ve prognoz açısından analiz etmiştir.

STAT3 pozitif hasta gruplarındaki 5 yıllık hastalısız sağkalım ve 5 yıllık genel sağkalım oranlarında tedaviye KT eklenmesiyle belirgin şekilde artış olduğunu; STAT negatif hastalarda ise tedaviye KT eklenmesinin sağkalımda anlamlı bir değişikliğe sebep olmadığını göstermiştir. Ayrıca STAT3 pozitif ve negatif vakalar arasında evre açısından anlamlı bir ilişki saptamamıştır. Bu alışmada STAT3 ekspresyon analizinde immunohistokimyasal yöntem yanısıra genetik çalışmalar da kullanılmıştır (103). Sonraki yıllarda van Ruitenbeek ve ark. da 35'i RT'te KT almış, 53'ü ise sadece RT almış toplam 88 hasta dahil ettikleri çalışmalarında, STAT3 ekspresyon durumuna göre tedaviye KT eklenmesinin sağkalımla ve prognostik parametrelerle ilişkisini araştırmıştır. STAT3 pozitif ve negatif vakalar arasında 5 yıllık hastalısız sağkalım ve 5 yıllık genel sağkalım açısından anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir. Ayrıca hem STAT3 pozitif hem STAT3 negatif vaka grubunda anlamlı olarak, sadece RT alan hastaların erken T evresine; RT'ye ek KT alan hastaların ileri T evresine sahip olduğunu göstermişlerdir.

Bizim alışmamızda ise, düşük ve yüksek STAT3 eksprese eden hastaların patolojik evrelerinde anlamlı bir fark yoktu. Hem düşük hem yüksek STAT3 eksprese eden hasta grubunda anlamlı olarak, erken evreli hastalar sadece RT; ileri evreli hastalar ise RT'ye ek KT almış idi. Bu dağılım istatistiksel olarak anlamlı görünse de hastaların tedavi planında genellikle, erken evre tümörlere sadece RT verilmiş; ileri evre tümörlerde ise sışplatin bazlı KT eklenerek RT verilmişti. Literatürdeki benzer sonucu olan çalışmaya baktığımızda da benzer biasın olduğu görmekteyiz. Bu konuda daha sağlıklı değerlendirmelerde bulunabilmek için, aynı evreli hastalarda benzer çalışmaların tekrarlanması gerektiğini düşünmekteyiz.

Yüksek STAT3 eksprese eden hasta grubunda, sadece RT alan hastalarda nükse kadar geçen süre ortalama 13,6 ay iken; RT'ye KT eklendiğinde bu süre ortalama 7,3 ay idi ( $p= 0,047$ ). Düşük STAT3 eksprese eden vakalarda da sadece RT alan hastalarda nükse kadar geçen sürenin ortalaması KT eklenen gruba göre daha yüksekti ancak bu gruptaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. RT'ye ek KT alan hastaların; sadece RT alan hastalara göre daha ileri evrede olması, KT eklenen hasta grubundaki erken nüksü açıklayan bir durum olabilir. Bu nedenle istatistiksel olarak anlamlı görünse de evre standardizasyonu olmadan böyle bir yorumun yapılması taraflı bir değerlendirme olacaktır. Ayrıca her iki grupta da vaka sayılarının kısıtlı

olması sağlıklı yorum yapmamızı engellemektedir. Yine de yüksek STAT3 ekspresyonunun nükse kadar geçen süreyi öngörmeye değerli bir prognostik parametre olabileceği çalışmamızın önemli bir bulgusudur. Literatürde bu konuyla ilgili benzer ya da ters sonuçları olan başka bir çalışma mevcut değildir. Bu bulgumuz, yüksek STAT3 eksprese eden hastaların, eklenen KT'den daha az fayda göreceğini ifade etmektedir, fakat net bir kanıya varabilmek için çok daha fazla sayıda hasta içeren serilerle, evre standardizasyonu sağlanarak ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Bu sayede her hastaya uygun, etkin tedaviler verilerek hem tedavi yanıtında artış hem de yan etkilerden kaçınmak mümkün olacaktır.

Yapılan sağkalım analizlerinde ise; hem düşük hem de yüksek STAT3 ekspresyonu gösteren hasta gruplarında, hastalısız sağkalım ve genel sağkalım açısından sadece RT verilmesi ile RT'ye KT eklenmesi arasında anlamlı bir fark görülmedi. Bu bulgumuzu destekleyen literatür verileri mevcut olsa da, STAT3 ekspresyonunun eklenecek KT'nin faydasını öngörmedeki rolü henüz yeterince çalışılmamış bir konudur. Hastaların tedavi ve takip süreçlerine ışık tutabilmek adına daha fazla sayıda vaka içeren, prospektif ve nesnel veriler elde edilebilecek genetik temelli çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇLAR

1. Çalışmamızda 123 larinks SHK vakasında STAT3 ekspresyonunun tedavi direnci ve patolojik/klinik prognostik verilerle ilişkisi araştırıldı.
2. Çalışmaya dahil edilen hastaların 115 (%93,5)'i erkek, 8 (%4)'i kadındı.
3. Vaka popülasyonunun ortalama tanı yaşı 59,8 ( $\pm 9,6$ ) idi.
4. Organ koruyucu tedavi protokolü dahilinde hastaların 40 (%32,5)'ı sadece radyoterapi, 62 (%50,4)'si eş zamanlı kemoradyoterapi, 21 (%17,1)'i ise indüksiyon kemoradyoterapi almış idi.
5. Hastalar, TSHG ve TRHG olmak üzere 2 gruba ayrıldı. 123 hastanın 34 (%27,6)'ünde tedavi direnci gelişmiş iken 89 (%72,4)'unda tedavi direnci gelişmemiş idi.
6. TSHG'nun yaş ortalaması TRHG'na göre anlamlı olarak daha ileri idi ( $p=0,038$ ).
7. TSHG'da subglottik lokalizasyonda tümör olmadığı ve glottik, supraglottik ve transglottik lokalizasyondaki tümörlerin benzer oranda olduğu; TRHG'da ise tümörlerin en sık transglottik lokalizasyonda olduğu görülmüştür. İki grup arasındaki bu dağılım farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,001$ ).
8. TSHG ile TRHG arasında cinsiyet, tümörün histopatolojik tipi ve tümör diferansiyasyon derecesi, klinik evre, klinik T, klinik N, klinik M evreleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.
9. TSHG ile TRHG'nun tanı biyopsilerine uygulanan p-STAT3'ün ekspresyonu iki farklı skorlama sistemi ile değerlendirilmiş olup iki grup arasında anlamlı ekspresyon farkı saptanmamıştır. Bu bulgu STAT3 ekspresyonunun tedavi direnci ile ilişkili olmadığını düşündürmektedir.
10. Bu değerlendirme tüm hasta popülasyonu yanısıra tedavi subgruplarında da yapılmış olup tedavi subgruplarındaki direnç gelişiminde STAT3 ekspresyonu anlamlı bulunmamıştır.
11. STAT3 ekspresyon düzeyi ile patolojik evre, pT, pN, klinik evre, kT, kN, kM, LVİ, PNİ ve nükse kadar geçen süre arasında anlamlı bir ilişki

saptanmamıştır. Bu bağlamda STAT3 ekspresyon düzeyi klinik ve histopatolojik prognostik parametrelerle ilişkili görünmemektedir.

12. STAT3 ekspresyon düzeyi ile hastalısız sağkalım oranları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Takip süresi yaklaşık 96 ay ve üzerine çıktığında, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren vakaların hastalısız sağkalım oranlarında daha yüksek olma eğilimi gözlenmiştir.
13. STAT3 ekspresyon düzeyi ile genel sağkalım oranları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Takip süresi yaklaşık 144 ay ve üzerine çıktığında, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, düşük p-STAT3 ekspresyonu gösteren vakaların genel sağkalım oranlarında daha yüksek olma eğilimi gözlenmektedir.
14. TRHG'ndaki vakaların, tanı biyopsilerindeki ve nüks nedeniyle yapılan larenjektomi materyallerindeki STAT3 boyanmasının ortanca değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgu, JAK/STAT sinyal yolağının tedavi sürecinin başında ve sonunda benzer düzeyde etkin olduğunu; verilen tedavilere sekonder olarak sonradan aktive olup tedavi direncine neden olmadığını ya da başta aktif bir yolak iken verilen tedavilere sekonder olarak inhibe olup tedavi direncine neden olmadığını düşündürebilir.
15. Tüm hasta popülasyonu, sadece RT alan hastalar ile RT'ye ek olarak herhangi bir KT alan (cKRT veya iKRT) hastalar olarak iki gruba ayrılmıştır. Sadece RT alan 40 hastanın 15'i düşük; 25'i yüksek STAT3 ekspresyonu göstermekte idi. RT'ye ek KT alan 83 hastanın ise 38'i düşük; 45'i yüksek STAT3 eksprese etmekte idi.
16. Hem düşük hem yüksek STAT3 ekspresyonu gösteren vakalarda, sadece RT alan hastaların erken klinik evreye; RT'ye ek KT alan hastaların ileri klinik evreye sahip olduğu görülmüştür.
17. Yüksek STAT3 eksprese eden hasta grubunda, sadece RT alanlarda nükse kadar geçen sürenin ortalaması, RT'ye eklenen hastalara göre daha yüksekti ( $p= 0,047$ ). Düşük STAT3 eksprese eden vakalarda da, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, benzer bulgu saptandı. Bu

bağlamda, hem düşük hem yüksek STAT3 eksprese eden hastalarda, RT'ye KT eklenmesinin nükse kadar geçen süreye katkı sağlamadığı düşünülmüştür.

18. Hem düşük hem yüksek STAT3 eksprese hastalarda, RT'ye KT eklenmesinin hastalısız sağkalıma ve genel sağkalıma katkısı saptanmamıştır.



## 7. KAYNAKLAR

1. Olimpia GES, Yolanda TF, Darío GH, Aracely DO, de Lourdes ZMMa, Nereyda HN, et al. Satisfaction of the Service Provider with the Organization of the Timely Cervical Cancer Detection Program. *Health N Hav.* 2017;09(02):289–98.
2. El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR. World Health Organisation Classification of Head and Neck Tumors. In: *World Health Organisation Classification of Head and Neck Tumors*. 4th Edition. 2017. p. 77–104.
3. Obid R, Redlich M, Tomeh C. The Treatment of Laryngeal Cancer. Vol. 31, *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2019. p. 1–11.
4. Steuer CE, El-Deiry M, Parks JR, Higgins KA, Saba NF. An update on larynx cancer. *CA Cancer J Clin.* 2017 Jan;67(1):31–50.
5. Obid R, Redlich M, Tomeh C. The Treatment of Laryngeal Cancer. Vol. 31, *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2019. p. 1–11.
6. Akdemir E Y, Cengiz M, Baş-Boyun Kanserlerinde Organ Koruyucu Kemoradyoterapi, Organ-Preserving Chemoradiation in Head and Neck Cancers, *Türkiye Klinikleri Medical Oncology, Special Topics*, 2018-Volume 11, p. 147-153.
7. Picon H, Guddati AK. Mechanisms of resistance in head and neck cancer. *Am J Cancer Res.* 2020 Sep 1;10(9):2742-2751. PMID: 33042614; PMCID: PMC7539768.
8. Spitzner M, Ebner R, Wolff HA, Michael Ghadimi B, Wienands J, Grade M. STAT3: A novel molecular mediator of resistance to chemoradiotherapy. Vol. 6, *Cancers*. MDPI; 2014. p. 1986–2011.
9. Arnold W, Böckers A, Brauer L, Dehghani F. Sobotta Anatomi Konu Kitabı. In: Waschke J, Böckers TM, Paulsen F, editors. *Sobotta Anatomi Konu Kitabı*. First Edition. 2016. p. 572–83.
10. Mills SE. Histology for Pathologist. In: Mills SE, editor. *Histology for Pathologist*. Fifth edition. 2019. p. 960–99.
11. Tewfik TL, Meyers AD. Congenital Malformations of the Larynx (Updated: Jan 13, 2021) [Internet]. <http://emedicine.medscape.com/article/837630-overview>. [cited 2022 Aug 24]. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/837630-overview>
12. Eroschenko VP. diFiore'nin Histoloji Atlası. In: Demir R, editor. *diFiore'nin Histoloji Atlası*. 12. baskı. 2013. p. 389–416.
13. Anand N, Birch R, Collins P, Crossman AR, Gleeson M. Gray's Anatomy The Anatomical Basis of Clinical Practice. In: Standring S, editor. *Gray's Anatomy*. Forty-first Edition. 2016. p. 586–623.

14. Sancak B, Akşit D, Cumhuri M, İlgi S, Kural E, Taner D. Fonksiyonel Anatomi, Baş-Boyun ve İç Organlar. 5. Baskı. Sancak B, Cumhuri M, editors. 2010. 105–114 p.
15. Netter FH. İnsan Anatomisi Atlası. Beşinci Baskı. Cumhuri M, editor. Nobel Tıp Kitabevleri; 2010.
16. Collage of American Pathologists, Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Cancers of the Larynx [Internet]. 2017. Available from: [www.cap.org/cancerprotocols](http://www.cap.org/cancerprotocols)
17. WHO Classification of Tumours Online. World Health Organization. 2022. [Internet]. Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/>
18. Singh W, Kaur A. Laryngeal carcinoma in a six year old with a review of the literature. Vol. 101, Journal of Laryngology and Otology. 1987. p. 957–8.
19. Gnepp DR, Bishop JA, Bell D, Bilodeau EA. Gnepp's Diagnostic Surgical Pathology of the Head and Neck. In: Gnepp DR, Bishop JA, editors. Gnepp's Diagnostic Surgical Pathology of the Head and Neck. Third Edition. Elsevier; 2021. p. 63–125.
20. James A. Koufman, Alan J. Burke, The Etiology and Pathogenesis of Laryngeal Carcinoma, Otolaryngologic Clinics of North America, Volume 30, Issue 1, 1997, Pages 1-19.
21. Zidar N, Gale N. Update from the 5th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumors: Hypopharynx, Larynx, Trachea and Parapharyngeal Space. Head Neck Pathol. 2022 Mar 1;
22. Goldblum JR, Lamps LW, McKenney JK, Myers JL. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 2018. p. 183–97.
23. Thompson LDR, Wenig BM, Müller S, Nelson B, Gannon FH, Cassarino DS, et al. Diagnostic Pathology Head and Neck. In: Bennett NI, Gelsinger AG, Cannon TL, Ferrel TW, editors. Diagnostic Pathology Head and Neck. Second Edition. Elsevier; 2016. p. 238–331.
24. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Cancers of the Larynx [Internet]. 2021. Available from: [www.cap.org/cancerprotocols](http://www.cap.org/cancerprotocols)
25. Bryne M, Jenssen N, Boysen M. Histological grading in the deep invasive front of T1 and T2 glottic squamous cell carcinomas has high prognostic value. Vol. 427, Virchows Arch. 1995.
26. Echanique KA, Desai S v., Marchiano E, Spinazzi EF, Strojjan P, Baredes S, et al. Laryngeal Verrucous Carcinoma: A Systematic Review. Vol. 156, Otolaryngology - Head and Neck Surgery (United States). SAGE Publications Inc.; 2017. p. 38–45.
27. Orvidas LJ, Olsen KD, Lewis JE, Suman Vj. Verrucous Carcinoma Of The Larynx: A Review Of 53 Patients. 1998.

28. Ereño C, Gaafar A, Garmendia M, Etxezarraga C, Bilbao FJ, López JI. Basaloid squamous cell carcinoma of the head and neck: A Clinicopathological and Follow-Up Study of 40 Cases and Review of the Literature. Vol. 2, Head and Neck Pathology. 2008. p. 83–91.
29. Cobo F, Talavera P, Concha Á. Review article: Relationship of human papillomavirus with papillary squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: A review. Vol. 16, International Journal of Surgical Pathology. 2008. p. 127–36.
30. Jo VY, Mills SE, Stoler MH, Stelow EB. Papillary Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck Frequent Association With Human Papillomavirus Infection and Invasive Carcinoma [Internet]. 2009. Available from: [www.ajsp.com](http://www.ajsp.com)
31. Gerry D, Fritsch VA, Lentsch EJ. Spindle cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: An analysis of 341 cases with comparison to conventional squamous cell carcinoma. *Annals of Otolaryngology, Rhinology and Laryngology*. 2014;123(8):576–83.
32. Kass JI, Lee SC, Abberbock S, Seethala RR, Duvvuri U. Adenosquamous carcinoma of the head and neck: Molecular analysis using CRTC-MAML FISH and survival comparison with paired conventional squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2015 Nov 1;125(11): E371–6.
33. Dubal PM, Unsal AA, Echanique KA, Vazquez A, Reder LS, Baredes S, et al. Laryngeal adenosquamous carcinoma: A population-based perspective. *Laryngoscope*. 2016 Apr 1;126(4):858–63.
34. Acuña G, Gomà M, Temprana-Salvador J, Garcia-Bragado F, Alós L, Ordi J, et al. Human papillomavirus in laryngeal and hypopharyngeal lymphoepithelial carcinoma. *Modern Pathology*. 2019 May 1;32(5):621–6.
35. Johnson DE, Burtneß B, Leemans CR, Lui VWY, Bauman JE, Grandis JR. Head and neck squamous cell carcinoma. Vol. 6, Nature Reviews Disease Primers. Nature Research; 2020.
36. Alshafi E, Begg K, Amelio I, Raulf N, Lucarelli P, Sauter T, et al. Clinical update on head and neck cancer: molecular biology and ongoing challenges. Vol. 10, Cell Death and Disease. Nature Publishing Group; 2019.
37. Genden EM, Ferlito A, Silver CE, Jacobson AS, Werner JA, Suárez C, et al. Evolution of the management of laryngeal cancer. Vol. 43, Oral Oncology. 2007. p. 431–9.
38. Forastiere AA, Ismaila N, Lewin JS, Nathan CA, Adelstein DJ, Eisbruch A, et al. Journal Of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* [Internet]. 2017; 36:1143–69. Available from: <https://doi.org/10.1200/JCO.2017>.
39. Pignon JP, Bourhis J, Domenge C, Designé L. Chemotherapy added to locoregional treatment for head and neck squamous-cell carcinoma: Three meta-analyses of updated individual data. *Lancet*. 2000 Mar 18;355(9208):949–55.

40. Demiröz C, Özşahin M. Skuamöz Hücreli Baş Boyun Kanserinde Kemoradyoterapi. Vol. 37, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2011.
41. Pignon JP, Maître A le, Maillard E, Bourhis J. Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): An update on 93 randomised trials and 17,346 patients. *Radiotherapy and Oncology*. 2009 Jul;92(1):4–14.
42. Lagha A, Chraiet N, Labidi S, Rifi H, Ayadi M, Krimi S, et al. Larynx preservation: What is the best non-surgical strategy? Vol. 88, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2013. p. 447–58.
43. Posner MR, Hershock DM, Blajman CR, Mickiewicz E, Winquist E, Gorbounova V, et al. Cisplatin and Fluorouracil Alone or with Docetaxel in Head and Neck Cancer A b s t r a c t [Internet]. 2007. Available from: [www.nejm.org](http://www.nejm.org)
44. Horn S, Ozsahin M, Lefèbvre JL, Horiot JC, Lartigau E. Larynx preservation: What is the standard treatment? Vol. 84, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. Elsevier Ireland Ltd; 2012. p. e97–105.
45. Kanno Y, Chen CY, Lee HL, Chiou JF, Chen YJ. Molecular Mechanisms of Chemotherapy Resistance in Head and Neck Cancers. Vol. 11, *Frontiers in Oncology*. Frontiers Media S.A.; 2021.
46. Bozok Çetintaş, Vildan & Eroğlu, Zuhale. (2013). Cisplatin direncinde etkili moleküler mekanizmalar. *S.D.Ü. Tıp Fak. Dergisi* 20. 72-79.
47. Zhang N, Yin Y, Xu SJ, Chen WS. 5-Fluorouracil: Mechanisms of resistance and reversal strategies. Vol. 13, *Molecules*. 2008. p. 1551–69.
48. Wang W bin, Yang Y, Zhao YP, Zhang TP, Liao Q, Shu H. Recent studies of 5-fluorouracil resistance in pancreatic cancer. Vol. 20, *World Journal of Gastroenterology*. WJG Press; 2014. p. 15682–90.
49. Qiu S, Deng L, Bao Y, Jin K, Tu X, Li J, et al. Reversal of docetaxel resistance in prostate cancer by Notch signaling inhibition. *Anticancer Drugs*. 2018 Oct 1;29(9):871–9.
50. Wang N, Jiang Y, Lv S, Wen H, Wu D, Wei Q, Dang Q. HOTAIR expands the population of prostatic cancer stem-like cells and causes Docetaxel resistance via activating STAT3 signaling. *Aging (Albany NY)*. 2020 Jul 13;12(13):12771-12782. doi: 10.18632/aging.103188. Epub 2020 Jul 13. PMID: 32657763; PMCID: PMC7377851.
51. Brand TM, Iida M, Wheeler DL. Molecular mechanisms of resistance to the EGFR monoclonal antibody cetuximab. Vol. 11, *Cancer Biology and Therapy*. 2011. p. 777–92.
52. Mortezaee K, Najafi M. Immune system in cancer radiotherapy: Resistance mechanisms and therapy perspectives. Vol. 157, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. Elsevier Ireland Ltd; 2021.

53. Wang X, Zhang X, Qiu C, Yang N. STAT3 Contributes to Radioresistance in Cancer. Vol. 10, *Frontiers in Oncology*. Frontiers Media S.A.; 2020.
54. Ganci F, Sacconi A, Mancio V, Spriano G, Fontemaggi G, Carlini P, et al. Radioresistance in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma — Possible Molecular Markers for Local Recurrence and New Putative Therapeutic Strategies. In: *Contemporary Issues in Head and Neck Cancer Management*. InTech; 2015.
55. Ayele TM, Muche ZT, Teklemariam AB, Kassie AB, Abebe EC. Role of JAK2/STAT3 Signaling Pathway in the Tumorigenesis, Chemotherapy Resistance, and Treatment of Solid Tumors: A Systemic Review. Vol. 15, *Journal of Inflammation Research*. Dove Medical Press Ltd; 2022. p. 1349–64.
56. Pencik J, Pham HTT, Schmoellerl J, Javaheri T, Schleder M, Culig Z, et al. JAK-STAT signaling in cancer: From cytokines to non-coding genome. *Cytokine*. 2016 Nov 1;87:26–36.
57. Hin Tang JJ, Hao Thng DK, Lim JJ, Toh TB. JAK/STAT signaling in hepatocellular carcinoma. *Hepat Oncol*. 2020 Mar 1;7(1).
58. Laouar Y, Welte T, Fu XY, Flavell RA. STAT3 Is Required for Flt3L-Dependent Dendritic Cell Differentiation The signals that control cell-fate decisions of a pro-genitor commitment involve the interplay of both cyto-kines and transcription factors. Flt3L (fms-like tyrosine. Vol. 19, *Immunity*. 2003.
59. Zhang Z, Mao H, Du X, Zhu J, Xu Y, Wang S, et al. A novel small molecule agent displays potent anti-myeloma activity by inhibiting the JAK2-STAT3 signaling pathway [Internet]. Vol. 7. Available from: [www.impactjournals.com/oncotarget](http://www.impactjournals.com/oncotarget)
60. Yu H, Pardoll D, Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: A leading role for STAT3. Vol. 9, *Nature Reviews Cancer*. 2009. p. 798–809.
61. Gutiérrez-Hoya A, Soto-Cruz I. Role of the JAK/STAT Pathway in Cervical Cancer: Its Relationship with HPV E6/E7 Oncoproteins. Vol. 9, *Cells*. NLM (Medline); 2020.
62. Groner B, von Manstein V. Jak Stat signaling and cancer: Opportunities, benefits and side effects of targeted inhibition. Vol. 451, *Molecular and Cellular Endocrinology*. Elsevier Ireland Ltd; 2017. p. 1–14.
63. Liang R, Chen X, Chen L, Wan F, Chen K, Sun Y, et al. STAT3 signaling in ovarian cancer: A potential therapeutic target. Vol. 11, *Journal of Cancer*. Ivyspring International Publisher; 2020. p. 837–48.
64. Zhao C, Li H, Lin HJ, Yang S, Lin J, Liang G. Feedback Activation of STAT3 as a Cancer Drug-Resistance Mechanism. Vol. 37, *Trends in Pharmacological Sciences*. Elsevier Ltd; 2016. p. 47–61.

65. Park SY, Lee CJ, Choi JH, Kim JH, Kim JW, Kim JY, et al. The JAK2/STAT3/CCND2 Axis promotes colorectal Cancer stem cell persistence and radioresistance. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. 2019 Sep 11;38(1).
66. Guichet PO, Masliantsev K, Tachon G, Petropoulos C, Godet J, Larrieu D, et al. Fatal correlation between YAP1 expression and glioma aggressiveness: clinical and molecular evidence. *Journal of Pathology*. 2018 Oct 1;246(2):205–16.
67. Mccarty KS, Szabo E, Flowers JL, Cox EB, Leight GS, Miller L, et al. Use of a Monoclonal Anti-Estrogen Receptor Antibody in the Immunohistochemical Evaluation of Human Tumors1 [Internet]. Vol. 46. 1986. Available from: [http://aacrjournals.org/cancerres/articlepdf/46/8\\_Supplement/4244s/2426191/cr046008s4244s.pdf](http://aacrjournals.org/cancerres/articlepdf/46/8_Supplement/4244s/2426191/cr046008s4244s.pdf)
68. Flint P., Haughey B., et al. *Cummings Otolaryngology, Head and Neck Surgery*. 6th edition. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2015.
69. About Laryngeal and Hypopharyngeal Cancer. American Cancer Society, [cancer.org](http://cancer.org)1.800.227.2345 [Internet]. Available from: <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8664.00.pdf>.
70. Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, Remenar E, Kawecki A, Rottey S, et al. Platinum-Based Chemotherapy plus Cetuximab in Head and Neck Cancer Abstract [Internet]. Vol. 359, *N Engl J Med*. 2008. Available from: [www.nejm.org](http://www.nejm.org)
71. Nakayama M, Laccourreye O, Holsinger FC, Okamoto M, Hayakawa K. Functional organ preservation for laryngeal cancer: Past, present and future. *Jpn J Clin Oncol*. 2012 Mar;42(3):155–60.
72. Loo SW, Geropantas K, Roques TW. Functional Organ Preservation in Locally Advanced Laryngeal Squamous Cell Carcinoma: Is there a Role for Induction Chemotherapy? *Clin Oncol*. 2013 May;25(5):298–307.
73. Koerdel K, Spitzner M, Meyer T, Engels N, Krause F, Gaedcke J, et al. NOTCH activation via gp130/STAT3 signaling confers resistance to chemoradiotherapy. *Cancers (Basel)*. 2021 Feb 1;13(3):1–17.
74. Gargalionis AN, Papavassiliou KA, Papavassiliou AG. Targeting STAT3 signaling pathway in colorectal cancer. Vol. 9, *Biomedicines*. MDPI AG; 2021.
75. Xu H, Zhou Y, Li W, Zhang B, Zhang H, Zhao S, et al. Tumor-derived mesenchymal-stem-cell-secreted IL-6 enhances resistance to cisplatin via the STAT3 pathway in breast cancer. *Oncol Lett*. 2018 Jun 1;15(6):9142–50.

76. Yin Z, Zhang Y, Li Y, Lv T, Liu J, Wang X. Prognostic significance of STAT3 expression and its correlation with chemoresistance of non-small cell lung cancer cells. *Acta Histochem.* 2012 Feb;114(2):151–8.
77. Zhou JJ, Cheng D, He XY, Meng Z, Ye HL, Chen RF. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR sensitizes hepatocellular carcinoma cell to cisplatin by suppressing the STAT3/ABCB1 signaling pathway. *Oncol Lett.* 2017 Dec 1;14(6):7986–92.
78. Gao L, Cong Y, Li F, Dong B, Zhang J, Rao Y, et al. Inhibition of STAT3 and ErbB2 Suppresses Tumor Growth, Enhances Radiosensitivity, and Induces Mitochondria-Dependent Apoptosis in Glioma Cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010 Jul 15;77(4):1223–31.
79. Walch-Rückheim B, Pahne-Zeppenfeld J, Fischbach J, Wickenhauser C, Horn LC, Tharun L, et al. STAT3/IRF1 pathway activation sensitizes cervical cancer cells to chemotherapeutic drugs. *Cancer Res.* 2016 Jul 1;76(13):3872–83.
80. Stroeder R, Walch-Rückheim B, Fischbach J, Juhasz-Böss I, Rübe C, Solomayer EF, et al. Oncostatin M treatment increases the responsiveness toward cisplatin-based chemoradiotherapy in cervical cancer cells in a STAT3-dependent mannerrussalina stroeder1. *Oncol Lett.* 2018 Sep 1;16(3):3351–8.
81. Liu X, Zhang Z, Kan S, Lv Z, Zhou S, Liu X, et al. PHF20 inhibition promotes apoptosis and cisplatin chemosensitivity via the OCT4-p-STAT3-MCL1 signaling pathway in hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol.* 2021 Jul 1;59(1).
82. Qu H, Jiang W, Wang Y, Chen P. STOML2 as a novel prognostic biomarker modulates cell proliferation, motility and chemo-sensitivity via IL6-Stat3 pathway in head and neck squamous cell carcinoma [Internet]. Vol. 11, *Am J Transl Res.* 2019. Available from: [www.ajtr.org](http://www.ajtr.org)
83. Zhou X, Ren Y, Liu A, Jin R, Jiang Q, Huang Y, et al. WP1066 sensitizes oral squamous cell carcinoma cells to cisplatin by targeting STAT3/miR-21 axis. *Sci Rep.* 2014;4.
84. Li X, Wang H, Lu X, Di B. Silencing STAT3 with short hairpin RNA enhances radiosensitivity of human laryngeal squamous cell carcinoma xenografts in vivo. *Exp Ther Med.* 2010 Nov;1(6):947–53.
85. Ho Choe M, Won Min J, Bae Jeon H, Cho DH, Su Oh J, Gyu Lee H, et al. ERp57 modulates STAT3 activity in radioresistant laryngeal cancer cells and serves as a prognostic marker for laryngeal cancer [Internet]. Vol. 6. Available from: [www.impactjournals.com/oncotarget](http://www.impactjournals.com/oncotarget)
86. Yin ZJ, Jin FG, Liu TG, Fu EQ, Xie YH, Sun RL. Overexpression of STAT3 potentiates growth, survival, and radioresistance of non-small-cell lung cancer (NSCLC) cells. *Journal of Surgical Research.* 2011 Dec;171(2):675–83.
87. Fu. Expression of Stat3 and Notch1 is associated with cisplatin resistance in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncol Rep.* 2010 Jan 26;23(3).

88. Liu T, Peng H, Zhang M, Deng Y, Wu Z. Cucurbitacin B, a small molecule inhibitor of the Stat3 signaling pathway, enhances the chemosensitivity of laryngeal squamous cell carcinoma cells to cisplatin. *Eur J Pharmacol.* 2010 Sep;641(1):15–22.
89. Li R, Chen S, Zhan J, Li X, Liu W, Sheng X, et al. Long noncoding RNA FOXD2-AS1 enhances chemotherapeutic resistance of laryngeal squamous cell carcinoma via STAT3 activation. *Cell Death Dis.* 2020 Jan 1;11(1).
90. Ma L, Wang Y. JAK2/STAT3 inhibitor reduced 5-FU resistance and autophagy through ATF6-mediated ER stress. *Journal of Receptors and Signal Transduction.* 2022;42(2):206–13.
91. Morgan EL, Macdonald A. Manipulation of JAK/STAT signalling by high-risk HPVs: Potential therapeutic targets for HPV-associated malignancies. Vol. 12, *Viruses.* MDPI AG; 2020.
92. Gaykalova DA, Manola JB, Ozawa H, Zizkova V, Morton K, Bishop JA, et al. NF- $\kappa$ B and stat3 transcription factor signatures differentiate HPV-positive and HPV-negative head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2015 Oct 15;137(8):1879–89.
93. Sen M, Joyce S, Panahandeh M, Li C, Thomas SM, Maxwell J, et al. Targeting Stat3 abrogates EGFR inhibitor resistance in cancer. *Clinical Cancer Research.* 2012 Sep 15;18(18):4986–96.
94. Feng J, Fan Y, Ayiheng Q, Zhang H, Yong J, Hu B. MicroRNA-125B targeted STAT3 to inhibit laryngeal squamous cell carcinoma cell growth and motility. *Oncol Lett.* 2017;14(1):480–6.
95. Xu Y, Zhang Q, Zhou J, Li Z, Guo J, Wang W, et al. Down-regulation of SOX18 inhibits laryngeal carcinoma cell proliferation, migration, and invasion through JAK2/STAT3 signaling. *Biosci Rep.* 2019 Jul 5;39(7).
96. Masuda M, Suzui M, Yasumatu R, Nakashima T, Kuratomi Y, Azuma K, et al. Constitutive Activation of Signal Transducers and Activators of Transcription 3 Correlates with Cyclin D1 Overexpression and May Provide a Novel Prognostic Marker in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma 1 [Internet]. Available from: <http://aacrjournals.org/cancerres/article-pdf/62/12/3351/2494823/ch1202003351.pdf>
97. Wang W, Sun Y, Li X, Shi X, Li Z, Lu X. Dihydroartemisinin prevents distant metastasis of laryngeal carcinoma by inactivating STAT3 in cancer stem cells. *Medical Science Monitor.* 2020 Mar 16;26.
98. Pectasides E, Egloff AM, Sasaki C, Kountourakis P, Burtness B, Fountzilas G, et al. Nuclear localization of signal transducer and activator of transcription 3 in head and neck squamous cell carcinoma is associated with a better prognosis. *Clinical Cancer Research.* 2010 Apr 15;16(8):2427–34.
99. Zhao X dong, Zhang W, Liang H jun, Ji W yue. Overexpression of miR -155 Promotes Proliferation and Invasion of Human Laryngeal Squamous Cell Carcinoma via Targeting SOCS1 and STAT3. *PLoS One.* 2013 Feb 20;8(2).

100. Gordziel C, Bratsch J, Moriggl R, Knösel T, Friedrich K. Both STAT1 and STAT3 are favourable prognostic determinants in colorectal carcinoma. *Br J Cancer*. 2013 Jul 9;109(1):138–46.
101. Monnier F, Zaki H, Borg C, Mougin C, Bosset JF, Mercier M, et al. Prognostic value of phosphorylated STAT3 in advanced rectal cancer: A study from 104 French patients included in the EORTC 22921 trial. *J Clin Pathol*. 2010 Oct;63(10):873–8.
102. Sharma A, Mohanti BK, Thakar A, Bahadur S, Bhasker S. Concomitant chemoradiation versus radical radiotherapy in advanced squamous cell carcinoma of oropharynx and nasopharynx using weekly cisplatin: A phase II randomized trial. *Annals of Oncology*. 2010 Nov;21(11):2272–7.
103. Hato S v, Figdor CG, Takahashi S, Pen AE, Halilovic A, Bol KF, et al. Direct inhibition of STAT signaling by platinum drugs contributes to their anti-cancer activity [Internet]. Vol. 8. 2017. Available from: [www.impactjournals.com/oncotarget](http://www.impactjournals.com/oncotarget)



## 8. ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı Esra NurŞAHİN

Doğum yeri ve tarihi :

Uyruğu :

Medeni durumu :

İletişim adresi :

Yabancı dili : İngilizce

### II- Eğitimi

2018-2022: SBÜ Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi

2010-2016: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

2006-2010: Ankara Gazi Anadolu Lisesi

1998-2006: Beytepe İlköğretim Okulu

### III- Ünvanları

Uzmanlık Öğrencisi (2018-2022)

Pratisyen Hekim (2016-2017)

### IV- Mesleki Deneyimi

2018-2022: SBÜ Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Bölümü (Uzmanlık Öğrencisi)

2016-2017: Çorum İskilip Atıf Hoca Devlet Hastanesi (Pratisyen Hekim)

### V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Ankara Patoloji Derneği

### VI- Bilimsel İlgi Alanları:

Buğra Sağlam, Murat Albayrak, Ali Acar, Abdulkerim Yıldız, Senem Maral, Mesut Tıglioğlu, İsmet Battal, Esra Nur Şahin, Arif Kuş, Q fever as a rare cause

of hemophagocytic lymphohistiocytosis: Case report, Transfusion and Apheresis Science, Volume 59, Issue 4, 2020.

Şahin E., Alper M., Gökce A., Yılmaz D., Langerhans Hücreli Histiositozun Gastrointestinal Sistem Tutulumu, 29. Ulusal Patoloji Kongresi. Trabzon, 2019 (Poster Sunumu)

Şahin E., Gökce A., Arslankoz S., Memenin Amiloid Tümörü, 29. Ulusal Patoloji Kongresi. Trabzon, 2019 (Poster Sunumu)

#### **VII- Bilimsel Etkinlikleri:**

2022, 11th Arkadi M. Rywlin International Pathology Slide Seminar Symposium in Anatomic Pathology

2021, 9. Ulusal Sitopatoloji Sanal Kongresi

2020, Ankara, Patoloji Kış Okulu

2019, Trabzon, 29. Ulusal Patoloji Kongresi

2018, Ankara, Patoloji Kış Okulu

2018, Ankara, 28. Ulusal Patoloji Kongresi

## 9. EKLER

### EK-1: p-STAT3 DATASHEET



#### Product datasheet

### Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] ab32143

Recombinant RabMAb<sup>®</sup>

★★★★★ 7 Abreviews 55 References 12 Images

#### Overview

<b>Product name</b>	Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31]
<b>Description</b>	Rabbit monoclonal [E121-31] to STAT3 (phospho S727)
<b>Host species</b>	Rabbit
<b>Tested applications</b>	<b>Suitable for:</b> ICC/IF, WB, Dot blot, IP, IHC-P
<b>Species reactivity</b>	<b>Reacts with:</b> Mouse, Rat, Human <b>Predicted to work with:</b> Horse, Cow, Macaque monkey
<b>Immunogen</b>	Synthetic peptide. This information is proprietary to Abcam and/or its suppliers.
<b>Positive control</b>	WB: A431 cell lysate, C6 treated with epidermal growth factor. IP: HeLa cells ICC/IF: A431 cells IHC-P: human astrocytoma, rat cerebral cortex, mouse liver, and brain astrocytoma tissues
<b>General notes</b>	<p>This product is a recombinant monoclonal antibody, which offers several advantages including:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- High batch-to-batch consistency and reproducibility</li><li>- Improved sensitivity and specificity</li><li>- Long-term security of supply</li><li>- Animal-free production</li></ul> <p>For more information see <a href="#">here</a>.</p> <p>Our RabMAb<sup>®</sup> technology is a patented hybridoma-based technology for making rabbit monoclonal antibodies. For details on our patents, please refer to <a href="#">RabMAb<sup>®</sup> patents</a>.</p> <p><b>We are constantly working hard to ensure we provide our customers with best in class antibodies. As a result of this work we are pleased to now offer this antibody in purified format. We are in the process of updating our datasheets. The purified format is designated 'PUR' on our product labels. If you have any questions regarding this update, please contact our Scientific Support team.</b></p> <p>Mouse: We have preliminary internal testing data to indicate this antibody may not react with this species. Please contact us for more information.</p>

#### Properties

<b>Form</b>	Liquid
<b>Storage instructions</b>	Shipped at 4°C. Store at +4°C short term (1-2 weeks). Upon delivery aliquot. Store at -20°C. Avoid freeze / thaw cycle.

1

<b>Storage buffer</b>	pH: 7.20 Preservative: 0.01% Sodium azide Constituents: 59% PBS, 40% Glycerol, 0.05% BSA
<b>Purity</b>	Protein A purified
<b>Clonality</b>	Monoclonal
<b>Clone number</b>	E121-31
<b>Isotype</b>	IgG

#### Applications

**The Abpromise guarantee** Our [Abpromise guarantee](#) covers the use of ab32143 in the following tested applications. The application notes include recommended starting dilutions; optimal dilutions/concentrations should be determined by the end user.

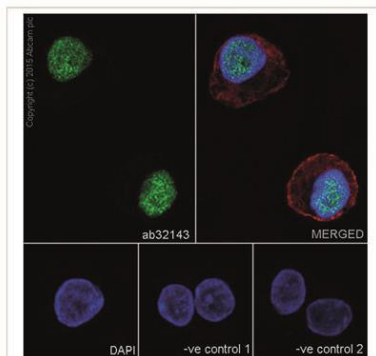
Application	Abreviews	Notes
ICC/IF		1/500. <b>For unpurified, use 1/100.</b>
WB	★★★★★ (1)	1/1000 - 1/10000. Detects a band of approximately 98 kDa (predicted molecular weight: 88 kDa). Stimulation may be required to allow detection of the phosphorylated protein. Please see images below for recommended treatment conditions and positive controls.
Dot blot		1/1000.
IP		1/60.
IHC-P	★★★★★ (5)	1/250. Perform heat mediated antigen retrieval before commencing with IHC staining protocol. See <a href="#">IHC antigen retrieval protocols</a> . <b>For unpurified, use 1/50.</b>

#### Target

<b>Function</b>	Signal transducer and transcription activator that mediates cellular responses to interleukins, KITLG/SCF, LEP and other growth factors. Once activated, recruits coactivators, such as NCOA1 or MED1, to the promoter region of the target gene (PubMed:17344214). May mediate cellular responses to activated FGFR1, FGFR2, FGFR3 and FGFR4. Binds to the interleukin-6 (IL-6)-responsive elements identified in the promoters of various acute-phase protein genes. Activated by IL31 through IL31RA. Involved in cell cycle regulation by inducing the expression of key genes for the progression from G1 to S phase, such as CCND1 (PubMed:17344214). Mediates the effects of LEP on melanocortin production, body energy homeostasis and lactation (By similarity). May play an apoptotic role by transactivating BIRC5 expression under LEP activation (PubMed:18242580). Cytoplasmic STAT3 represses macroautophagy by inhibiting EIF2AK2/PKR activity.
<b>Tissue specificity</b>	Heart, brain, placenta, lung, liver, skeletal muscle, kidney and pancreas.
<b>Involvement in disease</b>	Hyperimmunoglobulin E recurrent infection syndrome, autosomal dominant

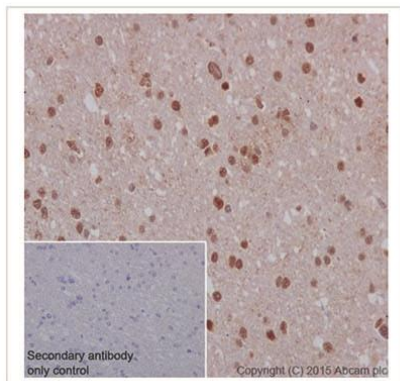
	Autoimmune disease, multisystem, infantile-onset
<b>Sequence similarities</b>	Belongs to the transcription factor STAT family. Contains 1 SH2 domain.
<b>Post-translational modifications</b>	Tyrosine phosphorylated upon stimulation with EGF. Tyrosine phosphorylated in response to constitutively activated FGFR1, FGFR2, FGFR3 and FGFR4 (By similarity). Activated through tyrosine phosphorylation by BMX. Tyrosine phosphorylated in response to IL6, IL11, LIF, CNTF, KITLG/SCF, CSF1, EGF, PDGF, IFN-alpha, LEP and OSM. Activated KIT promotes phosphorylation on tyrosine residues and subsequent translocation to the nucleus. Phosphorylated on serine upon DNA damage, probably by ATM or ATR. Serine phosphorylation is important for the formation of stable DNA-binding STAT3 homodimers and maximal transcriptional activity. ARL2BP may participate in keeping the phosphorylated state of STAT3 within the nucleus. Upon LPS challenge, phosphorylated within the nucleus by IRAK1. Upon erythropoietin treatment, phosphorylated on Ser-727 by RPS6KA5. Phosphorylation at Tyr-705 by PTK6 or FER leads to an increase of its transcriptional activity. Dephosphorylation on tyrosine residues by PTPN2 negatively regulates IL6/interleukin-6 signaling.
<b>Cellular localization</b>	Cytoplasm. Nucleus. Shuttles between the nucleus and the cytoplasm. Translocated into the nucleus upon tyrosine phosphorylation and dimerization, in response to signaling by activated FGFR1, FGFR2, FGFR3 or FGFR4. Constitutive nuclear presence is independent of tyrosine phosphorylation. Predominantly present in the cytoplasm without stimuli. Upon leukemia inhibitory factor (LIF) stimulation, accumulates in the nucleus. The complex composed of BART and ARL2 plays an important role in the nuclear translocation and retention of STAT3. Identified in a complex with LYN and PAG1.

## Images



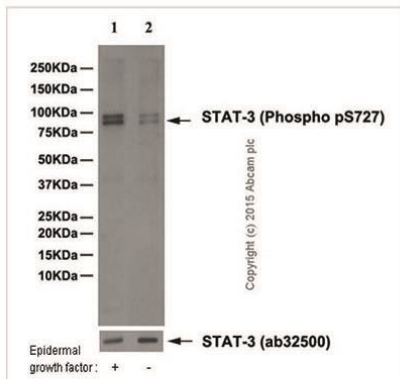
Purified ab32143 staining STAT3 (phospho S727) in A431 cells by Immunocytochemistry/ Immunofluorescence. 4% PFA-fixed, 0.1% Triton X-100 permeabilized A431 (Human epidermoid carcinoma) cells labelled with ab32143 at 1/500 dilution, followed by Goat anti-rabbit IgG (Alexa Fluor 488) (ab150077) secondary antibody at 1/400 dilution (green). Confocal image showing nuclear staining on A431 cell line. The red staining is ab7291 anti-Tubulin (mouse mAb), followed by Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Fluor® 594) (ab150120) secondary antibody.

Immunocytochemistry/ Immunofluorescence - Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143)



Immunohistochemistry (Formalin/PFA-fixed paraffin-embedded sections) - Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143)

Immunohistochemical staining of paraffin embedded human astrocytoma with purified ab32143 at a working dilution of 1/250. The secondary antibody used is HRP goat anti-rabbit IgG H&L (ab97051) at 1/500. The sample is counter-stained with hematoxylin. Antigen retrieval was performed using Tris-EDTA buffer, pH 9.0. PBS was used instead of the primary antibody as the negative control, and is shown in the inset.



Western blot - Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143)

**All lanes :** Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143) at 1/5000 dilution (purified)

**Lane 1 :** C6 treated with epidermal growth factor

**Lane 2 :** untreated C6 whole cell lysates

Lysates/proteins at 20 µg per lane.

**Secondary**

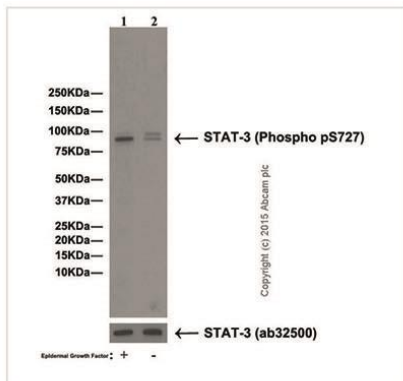
**All lanes :** HRP goat anti-rabbit IgG (H+L) at 1/50000 dilution

**Predicted band size:** 88 kDa

**Observed band size:** 98 kDa

Blocking buffer: 5% NFDm/TBST

Dilution buffer: 5% NFDm/TBST



Western blot - Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143)

**All lanes :** purified

**Lane 1 :** A431 treated with epidermal growth factor

**Lane 2 :** untreated A431 cell lysate

Lysates/proteins at 20 µg per lane.

**Secondary**

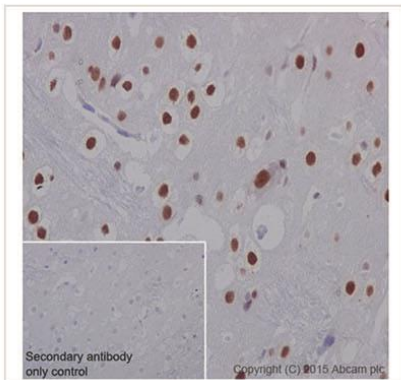
**All lanes :** HRP goat anti-rabbit IgG (H+L) at 1/50000 dilution

**Predicted band size:** 88 kDa

**Observed band size:** 98 kDa

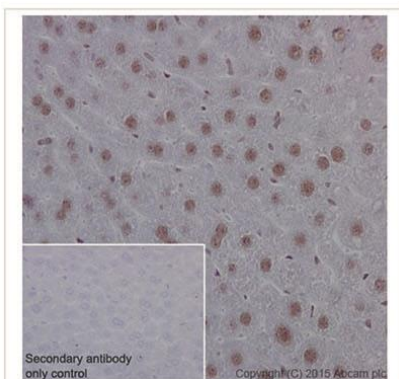
Blocking buffer: 5% NFDm/TBST

Dilution buffer: 5% NFDm/TBST



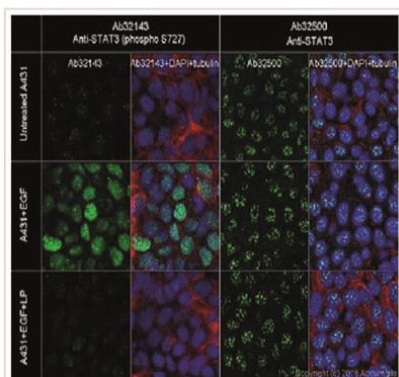
Immunohistochemistry (Formalin/PFA-fixed paraffin-embedded sections) - Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143)

Immunohistochemical staining of paraffin embedded rat cerebral cortex with purified ab32143 at a working dilution of 1/250. The secondary antibody used is HRP goat anti-rabbit IgG H&L (ab97051) at 1/500. The sample is counter-stained with hematoxylin. Antigen retrieval was performed using Tris-EDTA buffer, pH 9.0. PBS was used instead of the primary antibody as the negative control, and is shown in the inset.



Immunohistochemistry (Formalin/PFA-fixed paraffin-embedded sections) - Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143)

Immunohistochemical staining of paraffin embedded mouse liver with purified ab32143 at a working dilution of 1/250. The secondary antibody used is HRP goat anti-rabbit IgG H&L (ab97051) at 1/500. The sample is counter-stained with hematoxylin. Antigen retrieval was performed using Tris-EDTA buffer, pH 9.0. PBS was used instead of the primary antibody as the negative control, and is shown in the inset.

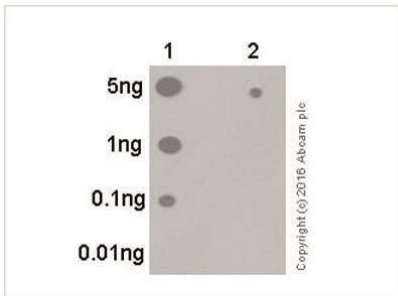


Immunocytochemistry/ Immunofluorescence - Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143)

Immunocytochemical/Immunofluorescence analysis of untreated, EGF treated and EGF + LP treated A431 cells labelling STAT3 (phospho S727) with ab32143 (left) and STAT3 with ab32500 (right) both at a dilution of 1/500.

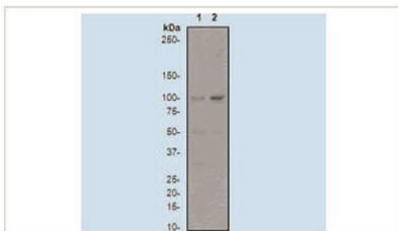
Cells were fixed with 4% paraformaldehyde and permeabilized with 0.1% Triton X-100. Goat Anti-Rabbit IgG H&L (Alexa Fluor® 488) (ab150077) (1/1000) was used as the secondary antibody (green). DAPI (blue) was used as the nuclear counterstain. Anti-alpha Tubulin antibody [DM1A] - Microtubule Marker (Alexa Fluor® 594) (ab195889) (1/200) was used as a counterstain (red).

The green staining was increased and translocated from the cytoplasm into the nucleus in the EGF (ab9697 100ng/ml, 10min) treated A431 cells when compared with A431 cells without treatment. After LP treatment, the green signal was decreased. For the pan antibody, there was no great difference after EGF (100ng/ml, 10min) or EGF (100ng/ml, 10min) + LP treatment.



Dot Blot - Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143)

Dot Blot analysis of Lane 1: STAT3 (pS727) phospho peptide and Lane 2: STAT3 non-phospho peptide labeling STAT3 (phospho S727) with ab32143 at 1/1000 dilution (0.009 µg/ml). 5% NFDN /TBST was used as the diluting and blocking buffer and concentration. ab97051, Goat Anti-Rabbit IgG, (H+L), Peroxidase conjugated was used as the secondary antibody at 1/100,000 dilution. Exposure time: 10 seconds.



Western blot - Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143)

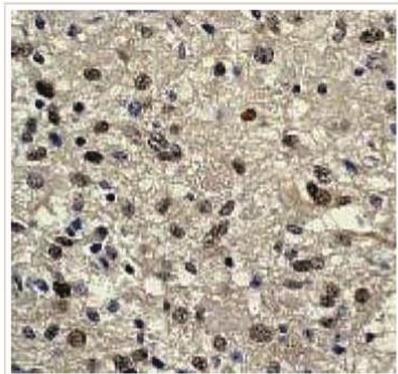
**All lanes :** Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143) at 1/1000 dilution (unpurified)

**Lane 1 :** A431 cell lysate

**Lane 2 :** A431 + EGF cell lysate

**Predicted band size:** 88 kDa

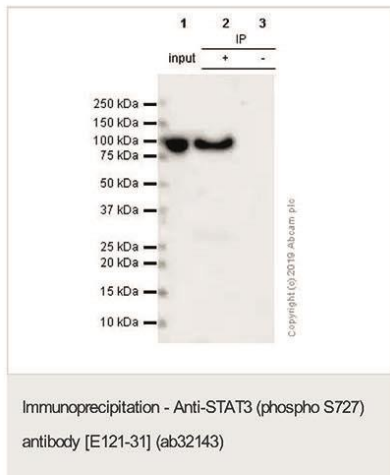
**Observed band size:** 98 kDa



Immunohistochemistry (Formalin/PFA-fixed paraffin-embedded sections) - Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31] (ab32143)

IHC-P analysis of brain astrocytoma using unpurified ab32143 at 1/50 dilution.

Perform heat mediated antigen retrieval before commencing with IHC staining protocol.



ab32143 (purified) at 1/60 dilution (2.594 µg/ml)  
immunoprecipitating STAT3 in HeLa whole cell lysate.

Lane 1 (input): HeLa (human cervix adenocarcinoma epithelial cell)  
whole cell lysate 10µg

Lane 2 (+): ab32143 & HeLa whole cell lysate

Lane 3 (-): Rabbit monoclonal IgG (ab172730) instead of ab32143  
in HeLa whole cell lysate

For western blotting, ab32143 at 1/500 and VeriBlot for IP  
secondary antibody (HRP) (ab131366) was used at 1/1000 dilution.

Blocking and diluting buffer: 5% NFDN /TBST.

Why choose a recombinant antibody?

**Research with confidence**  
Consistent and reproducible results

**Long-term and scalable supply**  
Recombinant technology

**Success from the first experiment**  
Confirmed specificity

**Ethical standards compliant**  
Animal-free production

Anti-STAT3 (phospho S727) antibody [E121-31]  
(ab32143)

**Please note:** All products are "FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES"

#### Our Abpromise to you: Quality guaranteed and expert technical support

- Replacement or refund for products not performing as stated on the datasheet
- Valid for 12 months from date of delivery
- Response to your inquiry within 24 hours
- We provide support in Chinese, English, French, German, Japanese and Spanish
- Extensive multi-media technical resources to help you
- We investigate all quality concerns to ensure our products perform to the highest standards

If the product does not perform as described on this datasheet, we will offer a refund or replacement. For full details of the Abpromise, please visit <https://www.abcam.com/abpromise> or contact our technical team.