

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

KÜRATİF RADYOTERAPİ UYGULANACAK LOKAL İLERİ  
EVRE BAŞ VE BOYUN KANSERLİ HASTALARDA EGFR,  
VEGF, OSTEOPONTİNİN LOKAL KONTROL,  
HASTALIKSIZ SAĞKALIM, GENEL SAĞKALIM ÜZERİNDE  
PROGNOSTİK ETKİLERİ

Dr. Fulya ÇOLAK ATAİZİ

Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR  
2012



T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

KÜRATİF RADYOTERAPİ UYGULANACAK LOKAL İLERİ  
EVRE BAŞ VE BOYUN KANSERLİ HASTALARDA EGFR,  
VEGF, OSTEOPONTİNİN LOKAL KONTROL,  
HASTALIKSIZ SAĞKALIM, GENEL SAĞKALIM ÜZERİNDE  
PROGNOSTİK ETKİLERİ

Dr. Fulya ÇOLAK ATAİZİ

Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI  
Doç. Dr. Durmuş ETİZ

ESKİŞEHİR  
2012

## TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr.Fulya ÇOLAK ATAİZİ' ne ait "Küratif radyoterapi uygulanacak lokal ileri evre baş ve boyun kanserli hastalarda EGFR, VEGF, osteopontinin lokal kontrol, hastalıksız sağkalım, genel sağkalım üzerinde prognostik etkileri" adlı çalışma jürimiz tarafından Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı' nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Durmuş ETİZ

Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Erkan N. ÖZÜDOĞRU

K.B.B.Anabilim Dalı

Üye

Yrd. Doç. Evrim BAYMAN

Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun ..... Tarih ve  
..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Bekir YAŞAR

Dekan

## TEŐEKKÖR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez danıőmanım ve Anabilim Dalı Baőkanımız hocam Doç. Dr. Durmuş ETİZ' e, eğitimim süresinde bilgi ve birikimlerini paylaőan ve tezimi hazırlamamda katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Evrim BAYMAN' a teşekkür ederim.

## ÖZET

**Çolak Ataizi, F. Küratif radyoterapi uygulanacak lokal ileri evre baş ve boyun kanserli hastalarda EGFR, VEGF, osteopontinin lokal kontrol, hastaliksız sağkalım, genel sağkalım üzerinde prognostik etkileri. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2012.** Baş boyun skuamöz hücre kanserleri (BBSK)‘ nin yaklaşık 2\3’ü lokal ileri evrede tanı almaktadır. Tedavi seçenekleri arasında cerrahi+adjuvan radyoterapi (RT), organ koruyucu yaklaşım olarak ise RT\Radyokemoterapi (RKT) yer almaktadır. Tedavi sonrasında lokal ileri evre hastalarda 5 yıllık sağkalım oranları %10-40 arasında değişmektedir. Güncel tedavi yaklaşımlarındaki gelişmelere rağmen tedaviye yanıt oranları hala düşük olup tedaviye direnç ve nüks büyük problem oluşturmaktadır. Tümörle ilişkili inflamasyon, hipoksi, anjiogenezis gibi bazı faktörler tümör agresivitesinde ve tedaviye yanıtta önemli rol oynamaktadır. Tümör davranışını öngörebilmek üzere prognostik faktörlerin belirlenmesine ihtiyaç vardır. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Osteopontin tümör gelişiminde rol oynamaktadır. Son yıllarda tümör oluşumunda rol oynayan faktörlere yönelik gelişmeler mevcuttur. Bu çalışmada küratif RT uygulanan BBSK hastalarda EGFR, VEGF, Osteopontin’in olası prognostik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Küratif RT uygulanan 50 hasta retrospektif olarak incelendiğinde EGRF, VEGF, Osteopontin’ in lokal kontrol, hastaliksız sağkalım, genel sağkalım üzerine etkisi gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Baş boyun kanseri, radyoterapi

## ABSTRACT

**Colak Ataizi, F. The prognostic effects of EGFR, VEGF and osteopontin on local tumor control, disease-free survival and overall survival in patients with head and neck cancer undergoing curative-intended radiotherapy. Eskisehir Osmangazi University, Medicine Faculty, Department of Radiation Oncology, Medical Specialty Thesis, Eskisehir, 2012.** Approximately 2/3 of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) are diagnosed at locally advanced stage. Treatment options include surgery + adjuvant radiotherapy (RT) as well as RT/Radiochemotherapy as the organ sparing approach. In patients with locally advanced disease, 5-year survival rates vary between 10-40%. Despite the advances in the treatment modalities, response rates to the treatment are still low and the resistance and relapse are the major problems. Several microenvironmental factors (inflammation, hypoxia, angiogenesis, etc.) are likely to play an important role in tumor aggressiveness and response to treatment. Thus, the prognostic factors should be determined to predict the tumor behavior. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and osteopontin have a major role in the development of tumors. In recent years, advances are available in the field of therapeutic interventions directed to these factors. The present study aimed to evaluate the possible prognostic value of osteopontin in HNSCC patients treated with curative-intended RT.

**Key Words:** Head and neck cancer, radiotherapy

**İÇİNDEKİLER**

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. Baş Boyun Anatomisi	3
2.2. Baş Boyun Skuamöz Hücreli Kanserlerde (BBSK) Semptomlar	5
2.3. Baş Boyun Skuamöz Hücreli Kanserlerde (BBSK) Tanı	5
2.4. Baş Boyun Skuamöz Hücreli Kanserlerde (BBSK) Evreleme	6
2.5. Prognostik Faktörler	11
2.6. Tedavi	12
2.7. Tedavisini Tamamlayan BBSK' lı Hastalarda İzlem	14
2.8. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	15
2.9. Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR)	18
2.10. Osteopontin	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM	22
3.1. Hasta Kabul Kriterleri	22
3.2. Uygulanan Tedavi	22
3.3. İmmünohistokimyasal Boyamalar	23
3.4. İstatistiksel Değerlendirmeler	24
4. BULGULAR	25
5.TARTIŞMA	29
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	34
KAYNAKLAR	



## SİMGELER VE KISALTMALAR

Ab	Antikor
AJCC	The American Joint Committee on Cancer
BBSK	Baş Boyun Skuamöz Hücre Kanserleri
BT	Bilgisayarlı Tomografi
Cox-2	Siklooksijenaz
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
ESOGÜ	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
EORTC	European Organization for Research on Treatment of Cancer
GTP az	Guanin Nüklootid-Bağlayıcı Proteinler
Gy	Gray
Hb	Hemoglobin
HPV	Human Papilloma Virus
HSS	Hastaliksız Sağ Kalım
Ig	İmmünglobulin
IL	Interlökin
JAK	Janus kinase
KPS	Karnofsky performans skalası
KT	Kemoterapi
LINAK	Lineer akselatör
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MMP	Matrix Metalloproteinkinaz
N	Lenf Nodu
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NK	natural killer
PET-CT	Positron Emission Tomography/Computed Tomography
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PIGF	Plasenta Büyüme Faktörü
RKT	Radyokemoterapi
RNA	Ribonükleikasit

RT	Radyoterapi
RTOG	Radiation Oncology Therapy Group's
SCCa	Skvamöz Hücreli Kanser
SPSS	Statistical Packages for the Social Sciences
T	Tümör Evresi
TGF	Transforming Growth Factor
TSH	thyroid-stimulating hormone
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

**TABLÖLAR**

	Sayfa
2.1. AJCC 7. th\2010 oral kavite kanserleri evrelemesi	8
2.2. AJCC 7.th\2010 larenks kanserleri evrelemesi	10
4.1. Hastaların genel dağılımı	25
4.2. Hastaların VEGF boyama özellikleri	27
4.3. Hastaların EGFR ve osteopontin boyanma özellikleri	28
4.4. Exitus olan hastaların boyanma özellikleri	28

## 1.GİRİŞ

Baş boyun skuamöz hücre kanserleri (BBSK)'nin yaklaşık 2\3'ü lokal ileri evrede tanı almaktadır. Tedavi seçenekleri arasında cerrahi+adjuvan radyoterapi (RT), organ koruyucu yaklaşım olarak ise RT\Radyokemoterapi (RKT) yer almaktadır. Tedavi sonrasında lokal ileri evre hastalarda 5 yıllık sağkalım oranları %10-40 arasında değişmektedir. Güncel tedavi yaklaşımlarındaki gelişmelere rağmen tedaviye yanıt oranları hala düşük olup tedaviye direnç ve nüks büyük problem oluşturmaktadır. Tümörle ilişkili inflamasyon, hipoksi, anjiogenezis gibi bazı faktörler tümör agresivitesinde ve tedaviye yanıtta önemli rol oynamaktadır. Tümör davranışını öngörebilmek üzere prognostik faktörlerin belirlenmesine ihtiyaç vardır. Epidermal growth factor receptor (EGFR), vascular endothelial growth factor (VEGF), Osteopontin tümör gelişiminde rol oynamaktadır. Son yıllarda tümör oluşumunda rol oynayan faktörlere yönelik gelişmeler mevcuttur. Bu çalışmada küratif RT uygulanan BBSK hastalarda EGFR, VEGF, Osteopontin'in olası prognostik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

BBSK; oral kavite, orofarenks, larenks, hipofarenks, nazofarenks, paranasal sinuslar ve nazal kavite kanserlerini içermektedir. Tüm kanser vakalarının %6' sını oluşturmakta olup en sık görülen kanserler sıralamasında altıncı sıradadır(1). Her yıl tüm dünyada tahmini 550.000 kişi BBSK tanısı almakta ve 304.000 kişi bu kansere bağlı olarak kaybedilmektedir(2). ABD' de 2010 yılında 49.260 yeni baş boyun skuamöz hücreli kanser (oral kavite, larenks ve hipofarenks) vakası görülmüş ve bu kansere bağlı 11.480 kişi yaşamını yitirmiştir(3). ABD'de son 20 yılda BBSK' i insidansında düşme gözlenirken, dil-dil kökü, tonsil kanserlerinde genç kişilerde 20-44 yaş grubunda artış gözlenmiştir. Bu artışın nedeninin human papilloma virus (HPV) enfeksiyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir(4). Dünyada BBSK' leri bazı bölgelerde daha sık gözlenmektedir. Güney Asya, Batı Avrupa, Avustralya ve Yeni Zelanda da yüksek oranda gözlenmektedir. Larengeal kanserler için ise Güney-Doğu Avrupa, Güney Amerika ve Batı Asya yüksek riskli bölgelerdir (1).

Ülkemizde 2004-2006 verilerine göre BBSK insidansında artma gözlenmezken (larenks, hipofarenks, orofarenks, oral kavite) vaka sayısı erkeklerde 1988, bayanlarda 351 olarak gözlenmiştir. Mevcut vakaların erkeklerde 1596' sını bayanlarda 100' ünü larenks kanseri oluşturmaktadır. Literatürlerle uygun olarak ülkemizde de en sık gözlenen BBSK larenks kanserleridir. Sıklıkla hayatın 6-7 dekadlarında gözlenmekte olup erkeklerde kadınlara oranla 3 kat daha fazla rastlanmaktadır. Ülkemizde de yapılan istatistiklere göre erkeklerde daha sık görülmektedir(5).

BBSK' nin etiyolojisinde sigara, alkol kullanımı, betel tütünü çiğnenmesi, HPV enfeksiyonu, diş protezleri, herediter faktörler, immunsupresyon, diyetel faktörler (sebze ve meyve tüketim miktarının azlığı, vitamin eksikliği) rol almaktadır. Yapılan çalışmalarda hastaların % 75' in de sigara ve alkol tüketiminin olduğu gözlenmiştir. Hiç sigara içmeyen ancak alkol tüketimi olan kişilerde de BBSK riskinde artış saptanmıştır(6). Diyet faktörlerinde ise günlük yeterli düzeyde sebze ve meyve tüketiminin BBSK' leri riskini azalttığını (günde 5 porsiyon meyve-sebze tüketenlerde, günde 1 porsiyon tüketenlere göre %29 oranında risk azalmakta) gösteren çalışmalar mevcuttur(7-8). A vitamini, riboflavin, tiamin eksikliğinin kanser riskinde artmaya yol açtığı gözlenmiştir. Bazı sendromlarda (Plummer Wilson

sendromu, Herediter Non Polipozis, Coli–Li, Fraumeni–Ataxia, Telenjektazi–Fanconi anemisi) risk yüksekliği gözlenmiştir(9-11). Bir takım meslek gruplarında, özellikle krom, nikel, radyum, ağaç doğrama işlerinde çalışan kişilerde sinonazal kanserlerin oranlarında artış gözlenmiştir(12). Etiyolojik faktörlerden bir diğeri de HPV olup pozitifliği (özellikle de subtipleri 16-18-31’ nin pozitifliği) kanser gelişiminde önemli risk faktörleri arasında gösterilmektedir. BBSK’ li hastaların %25’ inde HPV Deoksiribonükleik asit (DNA) pozitif olarak bulunmuştur. HPV pozitifliğinin tonsil kanserlerinde en fazla, orofarenks ve oral kavite kanserlerinde orta derecede, larenks kanserlerinde ise en az birliktelik gösterdiği saptanmıştır(13-15). HPV’ nin pozitif olduğu hastalar genellikle alkol alan, immüsuprese olmayan hastalar olup patolojik olarak ise genelde iyi diferansiyedirler(16). HPV birlikteliği prognoz ve tedavi yanıtı açısından da önemli bir faktör olup pozitif olan hastalarda radyoterapi ve kemoterapiye cevabın daha iyi olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur(17). Tüm bu faktörlerin dışında düşük sosyoekonomik seviyenin de oral kavite kanserlerinin oranında artmaya yol açtığı gözlenmiştir(18).

## **2.1. Baş Boyun Anatomisi**

Anatomik olarak BBSK oral kavite, orofarenks, hipofarenks, larenks, nazofarenks, nazal kaviteyi içermektedir.

### **2.1.1. Oral Kavite**

Oral dil, ağız tabanı, retromolar trigon, bukkal mukoza ve sert damağı içerir.

a. Oral dil: Anterionda circumvallata papilladan ağız tabanı bileşkesinde dilin alt yüzeyine uzanmakta olup 4 anatomik bölgeye ayrılır; uç, lateral kenarlar, dorsal yüzey ve ventral yüzey. Dil kan akımını lingual arter, facial arterin tonsiller dalı ve asendan farengeal arterden alırken, primer drenajı internal juguler venedir. Dilin ön 2\3 kısmının genel hissini lingual sinir–tat hissini facial sinirin korda timpani dalı sağlarken arka 1\3 kısmı ve sirkumvallat papille’ nin hissini ve tat duyusunu glossofarengeal sinir sağlamaktadır.

b. Ağız tabanı: Alt alveolar bölgeden dilin alt yüzeyine uzanan, arka sınırı anterior tonsiller pillar olan yarımay şeklinde olan bir boşluktur. Tabanını mylohyoid ve hyoglossus kasları oluştururken arka sınırını anterior tonsillar pillar oluşturmaktadır. Lingual sinir tarafından innerve edilir.

c. Sert damak: Superior alveolar bölge iç yüzeyinden palatin kemik posterior kenarına uzanmaktadır.

d. Retromolar trigon: Mandibula asendan ramusu üzerindeki üçgen bölgedir. Tabanını son molar diş oluştururken apeksini maksiller tuberositas oluşturur.

e. Bukkal mukoza: Dudakların ve yanakların mukozal yüzeylerini içermektedir. Superior ve inferiorda üst ve alt alveolar ridgeden, posteriorda pterygomandibular raphe kadar uzanmaktadır. İnnervasyonunu mandibular sinirin dalı olan bukkal sinir sağlar.

### **2.1.2. Orofarenks**

Tonsiller fossa, yumuşak damak, uvula, dil kökü, lateral ve posterior farengeal duvarı içerir.

a. Tonsiller fossa

b. Dil kökü: Önde sirkumvallat papilla, yanlarda glossofarengeal sulkus ve orofarengeal duvarlar, altta glossoepiglottik fossa veya vallekula ve farengoepiglottik fold tarafından sınırlandırılmıştır. Kanlanması Lingual arter tarafından sağlanırken innervasyonu hipoglossal sinir tarafından sağlanır.

### **2.1.3. Larenks**

Larenks tiroid kıkırdak üst kenarı ile krikoid kıkırdak alt kenarı arasında yerleşmiştir ve 3 bölüme ayrılır (Supraglottik, glottik ve subglottik larenks). Supraglottik larenks; epiglot, yalancı vokal kordlar, ventriküller, aritenoidler ve ariepiglottik foldlardan oluşurken glottik larenks; vokal kordlar ve ön komissürden oluşur. Subglottis larenks ise vokal kordların 5mm altından başlayıp krikoid kartilajın inferior sınırına kadar olan bölümü oluşturmaktadır. Superior larengeal sinir ve rekürren larengeal sinirle innerve edilmektedir.

### **2.1.4. Hipofarenks**

Hipofarenks yukarıda orofarenksle başlayıp aşağıda özafagusla devam etmektedir. Üst sınırını hyoid kemik ve alt sınırını krikoid kıkırdak oluşturur. Üç bölüme ayrılmaktadır; bunlar bilateral piriform sinüsler, postkrikoid bölge ve posterior farengeal duvardır. Duysal innervasyonunu superior larengeal sinirin internal dalı ve glossopfarengeal sinirden alırken motor innervasyonunu rekürren larengeal sinir ve farengeal pleksustan alır.

## 2.2. Baş Boyun Skuamöz Hücreli Kanserlerde (BBSK) Semptomlar

Erken evrelerde primer tümör bölgesinde semptomlar ve fiziksel bulgular minimal düzeydedir. Oral kavite kanserlerinde tanı fizik muayene (inspeksiyon ve palpasyon) önemli yer tutmaktadır. Hastalar başlangıç semptomlarının belirsiz ve ağrısız olması nedeni ileri evrede tanı almaktadırlar. Oral kavite kanserlerinden dil tümörleri genelde dilin lateral kenarından çıkarlar. Erken dönemde küçük ağrısız ülserler şeklinde olup dil kaslarını yavaş yavaş invaze ederken bazı dil tümörleri nadiren de olsa erken evrede ağrılı olabilirler. İleri evrede ise genellikle ülseratif egzofitik lezyonlar şeklinde gözlenirler. Erken dönemde lenf nodu metastaz yapma oranları yüksek olduğundan hastaların ilk başvuru nedeni boyunda kitle (lenf nodu) olabilmektedir. Tanı anında hastaların %30-40' ında servikal lenf nodu metastazı gözlenmektedir (19).

Orofarenks tümürlü hastalar boğaz ağrısı, disfaji, odinofaji, otalji şikayeti ile başvururlar. Lenfatik ağ bakımından zengin bir bölge olduğu için lenf nodu tutulum oranı yüksektir ve hastalar tanı anında boyunda kitle ile gelebilirler. Genellikle subdigastrik (jugulodigastrik) bölge lenf nodları tutulmaktadır.

Hipofarenks kanserleri semptomlarının çoğu lokal tümör yayılımı ile ilişkilidir. Bu hastalar en sık disfaji, boğaz ağrısı, ses kısıklığı, kilo kaybı, tek taraflı otalji ve boyunda kitle ile başvururlar(20).

Larenks kanserleri ise yerleşim yerine göre semptom vermektedir. Glottik kanserler genellikle çok erken dönemde seste çatallaşmaya neden olurken ileri lezyonlarda boğaz ağrısı otalji, hava yolu obstrüksiyonu gözlenir. Supraglottik kanserler ise erken dönemde disfaji, boğazda takılma hissi ve boyunda kitle ile başvururken geç dönemde kilo kaybı, ağız kokusu, aspirasyon gözlenmektedir.

Nazal kavite ve paranasal sinüs tümörlerinde sinüzit, tek taraflı nazal obstrüksiyon epistaksis başvuru semptomları arasındadır (23).

## 2.3. Baş Boyun Skuamöz Hücreli Kanserlerde (BBSK) Tanı

Oral kavite tümörü olan hastalarda ayrıntılı anamnez alınmalı ve dikkatli fizik muayene yapılarak, şüpheli görülen lezyonlardan biyopsi alınmalıdır. Oral kavitenin palpasyonu kemik tutulumunu, dil fiksasyonunu değerlendirmeyi sağlarken bu bulguların saptanması dilin ekstrensek kaslarının tutulduğunu göstermektedir. Oral



kavitenin değerlendirilmesi sırasında ayrıntılı diş muayenesi de yapılmalıdır. Hastalara şüpheli alanlardan biyopsi yapılmadan önce panoramik mandibula grafisi, Bilgisayarlı Tomografi (BT), Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) çekilmelidir. BT en sık kullanılan görüntüleme yöntemidir. Metastatik lenf nodlarını ve kortikal kemik yapıyı diğer görüntüleme yöntemlerine göre daha iyi tanımlarken MRG ise daha üstün yumuşak dokuyu gösterme perinöral invazyonu saptama özelliğine sahiptir(21-22). Positron Emission Tomography/Computed Tomography (PET-CT) ise tedavi planlanmasında uzak metastazların belirlenmesinde, tedavi sonrasında devam eden hastalık\nüks hastalığın değerlendirilmesinde ve lenf nodu tutulumlarının belirlenmesi amaçlı kullanılır. PET-CT lenf nodu metastazları için %90 sensitivite ve %94 spesifiteye sahiptir. BT’ de ise bu oranlar sırası ile %82 ve %85’ dir (23).

Orofarenks tümörlü hastalarda ayrıntılı fizik muayene, fiberoptik görüntüleme primer tümör ve lenf nodu tutulum değerlendirmesi için BT\MRG, PET-CT (primer tümör boyutu lenf nodu değerlendirmesi, uzak metastaz taraması ve tedavi planlaması ve yanıt değerlendirmesi için) ve akciğer metastazı ya da ikinci primer olasılığı ekartasyonu için Akciğer grafisi\toraks BT kullanılmaktadır. Larenks ve hipofarenks tümörlerinde ise yukarıdakilere ek olarak panendoskopi, genel anestezi altında muayene (endoskopi) tüm hastalara yapılmalıdır.

#### **2.4. Baş Boyun Skuamöz Hücreli Kanserlerde (BBSK) Evreleme**

Baş-boyun kanserlerinde hastalara uygulanacak tedavinin belirlenmesi ve prognozun değerlendirilmesi amaçlı evrelemeye ihtiyaç duyulmaktadır.

##### **2.4.1. The American Joint Committee on Cancer (AJCC) 7 th./2010 Baş–Boyun Kanseri Evrelemesi**

###### **a. Oral kavite**

Oral kavite evrelemesi (Tablo 2.1.)

Tx: Primer tümör değerlendirilemedi.

T0: Primer tümör bulgusu yok.

Tis: Karsinoma in situ.

T1: Tümör boyutu 2cm ya da daha küçük boyut.

T2: Tümör boyutu 2cm ‘den büyük ancak 4cm’ den küçük.

T3: Tümör boyutu 4cm' den büyük.

T4a: Tümör komşu yapılara invaze (mandibula\maxillanın kortikal kemik), dilin derin kaslarını (genioglossus, palatoglossus, hyoglossus, styloglossus), maksiler sinüs, yüz derisini tutmuş.

T4b: Tümör pterigoid plate veya kafa tabanını ve\veya karotid arter kılıfını tutmuş.

Bölgesel lenf nodu

Nx: Rejyonel lenf nodu değerlendirilemedi.

N0: Rejyonel lenf nodu bulgusu yok.

N1: İpsilateral tek lenf nodu tutulumu mevcut lenf nodu çapı 3cm veya daha küçük.

N2a: İpsilateral tek lenf nodu tutulumu mevcut lenf nodu çapı 3cm' den büyük 6cm den küçük.

N2b: İpsilateral multipl metastatik lenf nodu tutulumu mevcut hepsinin çapı 6cm den küçük.

N2c: Bilateral\kontrilateral çapı 6cm' den küçük lenf nodu.

N3: Metastatik lenf nodu çapı 6c' den büyük.

Uzak metastaz

M0: Uzak metastaz bulgusu yok.

M1: Uzak metastaz mevcut.

Histolojik grade (derece)

Gx: Grade değerlendirilemedi.

G1: İyi derecede diferansiye.

G2: Orta derecede diferansiye.

G3: Kötü derecede diferansiye.

G4: Undiferansiye.

Tablo 2.1. AJCC 7th\2010 oral kavite kanserleri evrelemesi.

Evre	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0

Tablo 2.1. “devam” AJCC 7th\2010 oral kavite kanserleri evrelemesi.

II	T2	N0	M0
III	T3	N0	M0
	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
IVA	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
	T4a	N2	M0
IVB	T4b	N1-2-3	M0
	T1-2-3-4	N3	M0
IVC	T1-2-3-4	N1-2-3	M1

### b. Larenks kanseri

Larenks kanseri evrelemesi (Tablo 2.2.)

Primer tümör

Tx: Primer tümör değerlendirilemedi.

T0: Primer tümör bulgusu yok.

Tis: Karsinoma insitu.

Supraglottik larenks

T1: Tümör supraglottisin bir bölümünde sınırlı, vokal kord hareketleri normal.

T2: Tümör supraglottisin birden fazla bölümüne veya glottise veya supraglottis dışı bir bölgesine (vallekula, dil kökü mukozasına, piriform sinüsün medial duvarı).

T3: Tümör larenkste sınırlı vokal kord fikse ve\veya postkrikoid bölge, preepiglottik dokular, paraglottik alana invaze ve\veya tiroid kıkırdak iç korteksine uzanmış.

T4a: Tiroid kıkırdak tutulumu ve\veya larenks dışı dokulara (trakea, tiroid, özafagus, dilin derin ekstrensek kaslarına) uzanım.

T4b: Tümör prevertebral alana, karotis kılıfına, mediastinal yapılara uzanmış.  
Glottik larenks

T1: Tümör vokal kordlarda sınırlı (ant\post komissuru içerebilir) vokal kord hareketleri normal.

T1a: Tümör tek bir vokal korda.

T1b: Tümör her iki vokal korda.

T2: Tümör supraglottik, subglottik alana uzanmış ve\veya vokal kord hareketleri sınırlı.

T3: Tümör larenkste sınırlı vokal kord fikse ve\ veya tümör paraglottik mesafeye invaze ve\veya tiroid kartilaj iç korteksine invaze.

T4a: Tümör tiroid kartilaj korteksine invaze ve\veya tümör larenks dışı dokulara (trakea, tiroid, özafagus) uzanım.

T4b: Tümör prevertebral alana, karotis kılıfına ya da mediastinal yapılara uzanmış.

Subglottik larenks

T1: Tümör subglottise sınırlı.

T2: Tümör vokal korda\kordlara uzanmış (vokal kord hareketi normal\sınırlı).

T3: Tümör larenks içinde sınırlı ancak vokal kord hareketleri fiske.

T4a: Tümör tiroid kartilaj korteksine invaze ve\veya tümör larenks dışı dokulara (trakea, tiroid, özafagus) uzanım.

T4b: Tümör prevertebral alana, karotis kılıfına ya da mediastinal yapılara uzanmış.

Boyun evrelemesi oral kavite tümörlerindeki evreleme ile aynıdır.

Tablo 2.2. AJCC 7.th\2010 larenks kanserleri evrelemesi.

Evre	T	N	M
0	T1	N0	M0
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T3	N0	M0
	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
IVA	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
	T4a	N2	M0
IVB	T4b	N1-2-3	M0
	T1-2-3-4	N3	M0
IVC	T1-2-3-4	N1-2-3	M1

## 2.5. Prognostik Faktörler

BBSK'li hastalarda prognostik faktörler hastaya, tümöre ve tedaviye ait olarak gruplanabilir. Hastaya ait faktörler arasında hastanın performans durumu, yaşı, cinsiyeti, hemoglobin düzeyi RT uygulananlarda lokorejyonel kontrolde bağımsız prognostik faktör olarak saptanırken genel sağkalımda performans durumu ve cinsiyet prediktif faktörler olarak saptanmıştır(24-25). Nguyen ve ark yaptığı çalışmada lokal ileri evre larenks kanserli hemoglobin (Hb) seviyesi 12.5gr/dl üzerinde olan hastalarda lokorejyonel kontrolün ve genel sağ kalımın daha iyi olduğu saptanmıştır(26). Lokorejyonel kontrolde ve genel sağ kalımda tümöre bağlı prognostik faktörler arasında lenf nodu varlığı ve boyutu, tümör (T) evresi ve tümör volumü yer almaktadır. Tedaviye bağlı faktörler arasında ise; toplam tedavi süresi, total uygulanan tedavi dozu ve fraksiyon dozu yer almaktadır(27).

Primer olarak cerrahi ile tedavi edilen hastalarda ise lokorejyonel kontrolde T ve lenf nodu (N) evresi, cerrahi sınır durumu (pozitif/yakın cerrahi sınır), tümör grade ve ekstrakapsüler yayılım varlığı önemli prognostik faktörlerdendir(28).

Moleküler prognostik faktörler arasında ise EGFR overekspresyonu, VEGF ekspresyonu, osteopontin ekspresyonu, p53 mutasyonu, siklin D1 over ekspresyonu, transforming growth factor (TGF) –alfa, siklooksijenaz (Cox-2) overekspresyonu yer almaktadır.

BBSK gelişiminde tümör supresör genlerin inaktivasyonu, protoonkogenlerin aktivasyonu rol oynamaktadır(29). Hastaların % 50' sinde 17p heterozigot kaybı ve p53 nokta mutasyonları gözlenmektedir(30). p53 mutasyonları varlığının premalign lezyonların invaziv hastalığa progresyonuna yol açtığı düşünülmektedir. Sigara ve alkol alan kişilerin büyük çoğunluğunda p53 mutasyonları mevcuttur(31). Poeta ve ark yaptığı çalışmada primer cerrahi uygulanan baş boyun kanserli hastalarda sağ kalımda p53 mutasyonlarının varlığı bağımsız prognostik faktör olarak gösterilmiştir (32). Moleküler prognostik faktörlerden Siklin D1 overekspresyonu BBSK %30-50 hastada mevcut olup hastalığın daha hızlı ilerlemesine, erken rekürrense ve kısa genel sağkalıma yol açabilmektedir(33). Bir diğer faktör olarak Cox-2 enzimi, programlı hücre ölümünün (apoptozisin) azalmasına, yeni damar oluşumu (anjioenezisin) artışına, immunsupresyon\inflamasyonun artmasına, invazyon potansiyelinin kazanılması ile metastaza yol açabilmektedir(34-35). Cox-2

ekspresyonu premalign oral skuamöz hücreli kanser (SCCa) lezyonlarında önemli prognostik faktör olarak saptanmıştır(36). Premalign lezyonlardan lökoplaki; yüzey epitelin hiperkeratozisi, displazisi, hiperplazisi ya da invaziv karsinoma şekline dönüşebilmektedir. İnvaziv SCCa %8 oranında dönüşme riski mevcuttur. Eritroplaki ise kendini displazi, karsinoma insitu ya da invaziv SCCa olarak gösterebilir. İnvaziv SCCa dönüşme riski%51' dir(37). VEGF, EGFR de hücre siklus regülasyonunda rol oynayan diğer moleküler prognostik faktörler arasındadır.

## 2.6. Tedavi

Hastalara uygulanacak tedaviyi belirlemede etkili olan faktörler primer tümör yerleşim bölgesi, evresi, rezektabilite durumu ve hasta faktörleri (komorbidite, organ koruma isteği)' dir. Genel olarak tedavi yaklaşımları cerrahi ve RT' dir. Baş –boyun skuamöz hücre kanserli hastaların yaklaşık 2\3'ü lokal ileri evrede saptanırken başvuru sırasında çoğu hastada lenf nodu metastazı mevcuttur. Primer tümör yerleşimine göre bakıldığında orofarenks kanserlerinde erken evrede (T1-T2 N0) primer tedavi modalitesi cerrahi veya RT'dir. Mevcut retrospektif çalışmalarda 5 yıllık hastalığa spesifik sağkalım hastalısız sağ kalım (HSS) oranları primer cerrahi uygulananlarda %80-100 iken primer radyoterapi uygulananlarda bu oran %77-89 olarak saptanmış olup her iki tedavi modalitesi arasında fark gözlenmemiştir(38-40). Klinik olarak erken evre olan ve cerrahi tedavi uygulanan hastalarda sıklıkla patolojik okült nodal hastalığın saptanması ile hastanın evresi artmaktadır. Cerrahi sınır durumu ile birlikte ise (pozitif ya da yakınlığı ile) adjuvan tedavi gerektirmektedir. Cerrahi sınır negatif ve boyun lenf nodu tutulumu olmayanlarda cerrahi iyi bir tedavi yaklaşımıdır. Bu hastalarda RT lokorejyonel rekürrens ya da ikinci primer tümörlerin tedavisine saklanmalıdır(41). Lokal ileri evre (T3-4, N0\T3-4, N+\herhangi T, N2-3) hastalarda 5 yıllık genel sağkalım oranları %30–60 olup uzak metastaz oranı %5-10' dur. Unrezektabil, ya da rezektabil ancak cerrahi yapılamayan hastalarda RT veya RKT tedavide uygulanmaktadır. Tek başına RT veya RKT tedavisinin etkinliğini karşılaştıran çalışmalar mevcuttur(42). Calais ve ark. (43), Denis ve ark. (44) yaptıkları çalışmalarda evre III-IV orofarenks kanserli hastalarda tek RT ile RKT karşılaştırılmış ve 3 yıllık genel sağkalım (%51 vs %31 p=0.02) ve hastalısız sağkalım oranları (%42 vs %20 p=0.04) eş zamanlı RKT

kolunda yüksek bulunmuştur. Tedavi sonuçlarına etki eden faktörler arasında tedavi modalitesi önemli bir yer tutmaktadır. Standart fraksinasyon, hiperfraksinasyon, akselere fraksinasyon kullanılabilir. "The North American Intergroup" çalışmasında tek başına RT, RT +sisplatin ve split course RT+cisplatin-5FU uygulaması karşılaştırılmış olup sağkalım eş zamanlı RT+sisplatin kolunda%37, tek RT alan kolda %23 olarak saptanmıştır(p=0.14)(42).

Eş zamanlı RKT uygulanan rezektabl lokal ileri evre hastalarda tedavi sonrasında 8.-12. haftalarda değerlendirme yapılarak rezüdü tümör mevcut ise kurtarıcı cerrahi, boyun diseksiyonu yapılabilir. Tam yanıt alınan N2-3 vakalarında ise planlı boyun diseksiyonu tartışmalıdır. Primer tedavi olarak cerrahi uygulanan ve patolojik olarak yüksek riskli hastalara RT ile birlikte eşzamanlı kemoterapi (KT) verilmesinin lokal kontrole ve genel sağkalıma katkıda bulunduğu gösterilmiştir(45-46).

Erken evre hipofarenks kanserinde, T1-T2 N0 hastalarda tedavide cerrahi\RT uygulanabilmektedir. Erken evre T1 N0-1 ve düşük tümör volümlü T2 N0 hastalarda 5 yıllık genel sağkalım %70-90 iken T2-T4 N+ hastalarda bu oran %15-30' dur.

Hipofarenks kanserlerinde organ koruyucu cerrahide laringofarenjektomi uygulanmaktadır. Organ koruyucu cerrahi için relatif kontrendikasyonlar arasında tümörün transglottik yayılımı, kıkırdak tutulumu, varlığı vokal kord paralizi, post krikoid bölge invazyonu yer almaktadır. Erken evre olan ve RT uygulanan hastalarda tam yanıt mevcut ise hastalar izleme alınmakta olup rezüdü hastalık varsa cerrahi tedavi uygulanmaktadır(47). Rezektabl lokal ileri evre hipofarenks tümörlerinde ise cerrahi tedavide total larenjektomi uygulanır. Postoperatif dönemde risk faktörleri mevcut ise adjuvan RT ve\veya eş zamanlı RKT uygulanır. Radiation Oncology Therapy Group's (RTOG) 9501 çalışmasında cerrahi sonrasında uygulan RKT' nin progresyonsuz sağkalımda, European Organization for Research on Treatment of Cancer (EORTC) 22931 çalışmasında ise hastalısız sağkalım ve genel sağkalımda artmaya yol açtığı saptanmıştır(45). Rezektabl lokal ileri evre olan hastalarda RKT' nin tek başına RT tedavisine oranla progresyonsuz sağkalımı ve genel sağkalımı artırıp uzak metastaz oranında azalmaya yol açtığı gözlenmiştir(48). Tedavide farklı fraksiyonasyon rejimleri karşılaştırılmış hiperfraksiyonasyonla, akselere fraksiyonasyon ve konkomitant boost uygulanan hastalarda lokorejyonel kontrolün



ve HSS' nin daha iyi olduğu saptanmıştır(49). Larenks kanserleri tedavisine bakıldığında karsinoma insitu' lu hastalarda cerrahi tedavide stripping kullanılabilir. Tekrarlayan girişimler sonrası kord kalınlaşmasına bağlı ses kısıklığı olabilmektedir. Erken dönemde uygulanan RT ise sesin korunmasını sağlamaktadır(50).

Erken evre larenks kanserlerinde T1-T2 glottik kanserli hastalarda transoral lazer eksizyon, parsiyel larenjektomi veya primer RT tedavi seçenekleri arasındadır. Beş yıllık lokal kontrol oranları transoral lazer eksizyonunda T1 %90; T2 %70-85, parsiyel larenjektomide T1' de % 90-95; T2' de %80, primer RT uygulananlarda T1' de %85-91; T2' de %70-80 saptanmıştır(51).

Genellikle tedavide ilk seçenek olarak primer RT tercih edilip tedavi başarısızlığı sonrasında kurtarıcı tedavi olarak cerrahi seçilmektedir. RT farklı fraksiyonasyon rejimlerinde tedavi sonuçlarını değiştirdiği gözlenmiştir. MD Anderson Kanser Merkezi' inde yapılan çalışmada günlük tek fraksiyon alan hastalarla iki fraksiyon alanlar karşılaştırılmış ve tek fraksiyon alanlarda lokal kontrol %67 iken, günde 2 fraksiyon tedavi alan hastalarda ise bu oran %79 olarak saptanmıştır(52).

Lokal ileri evre larenks kanserlerinde ise tedavide organ koruyucu yaklaşım olarak RT uygulanmaktadır. RT ile birlikte KT ya da indüksiyon KT sonrasında RT uygulaması tedavi seçenekleri arasındadır. RTOG 91-11 çalışmasında hastalar 3 kola randomize edilmiş olup 1. kolda yalnızca RT uygulanan, 2. kolda RKT uygulanan ve 3. kolda ise indüksiyon kemoterapisi sonrasında RT uygulanan hastalar karşılaştırılmış eş zamanlı radyokemoterapinin lokorejyonel kontrolde ve larenks korunmasında daha etkili olduğu gösterilmiştir(53).

## **2.7. Tedavisini Tamamlayan BBSK' lı Hastalarda İzlem**

National Comprehensive Cancer Network (NCCN) 2011 nerilerine göre;

- 1- Birinci yılda her 1-3 ayda bir, ikinci yılda her 2-4 ayda, üç-beş yıl arasında 4-6 ayda bir, beşinci yıldan sonra her 6-12 ay da bir fizik muayene ve dikkatli anamnez.
- 2- Tedavi sonrasında primer tümör alanını ve eğer boyun da tedavi alanında ise boyun bölgesini de içerecek görüntüleme (Aseptomatik hastalarda şikayet\belirti olmadığı sürece tekrarlanması gerekmez).

- 3- Klinik gereklilik durumlarında akciğer grafisi.
- 4- Boyun RT alanlarda her 6-12 ay da bir thyroid-stimulating hormone (TSH) ölçümü.
- 5- Klinik gereklilik durumunda yutma ve konuşma ile ilgili rehabilitasyon.
- 6- Klinik gereklilik durumun da alkol\sigara bağımlılığı tedavisi.
- 7- Klinik gereklilik durumunda diş bakımı (özellikle oral kavite RT uygulanan hastalarda).

## 2.8. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

Anjiogenezis kanser progresyonu ve metastaz oluşumu için gerekli olup bir çok endojen proanjiogenik ve antianjiogenik faktör ile düzenlenmektedir. Bu faktörlerden en önemlisi VEGF ve reseptörleridir(54). VEGF hücre proliferasyonu, migrasyonu, farklılaşması, sağkalımı gibi vasküler gelişimin her evresinde rol almaktadır. Endotel hücrelerine spesifik olan VEGF ilk olarak 1980' li yıllarda tanımlanmıştır(55). VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F, plasenta büyüme faktörü (PlGF) izoformları mevcuttur.

a. VEGF-A: Heparin bağlayıcı 45kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Vaskülogenezde ve anjiogenezde önemli role sahiptir. VEGF 121-145-165-183-189-206 olmak üzere 6 izoformu mevcuttur(56). Hücrelerin çoğu VEGF 121-165-189 sekrete etmektedirler. Bunlardan VEGF-121 dokularda diffüz ve nispeten serbest halde bulunurken VEGF-165' in yaklaşık yarısı hücre yüzeyi heparan sülfat proteoglikanlarına bağlanmaktadır. VEGF-189' un ise neredeyse tamamı ekstrasellüler matrikse sekrete edilir. Sekrete edilen formlar endotelial hücrelerin proliferasyonu ve anjiogenezisi indüklerken, heparin bağlayıcı formları ise hücre yüzeyi ve ekstrasellüler matriks proteoglikanlarına bağlanarak diğer anjiogenik faktörlerin salınımına yol açmaktadırlar(57).

b. VEGF-B: Kahverengi yağ dokusu, myokard ve iskelet kaslarından yüksek miktarda eksprese edilmekte olup VEGF R-1 ve nörofilinin -1 için ligand oluşturmaktadırlar. VEGF-B 167 ve VEGF-B 186 olmak üzere iki izoformu vardır(58).

c. VEGF-C: Endotel hücrelerinde sağkalımı, migrasyonu, mitogenezi indüklerken esas fonksiyonu lenfatik damarların endotelinde eksprese edilen tirozin

kinaz reseptörü olan VEGFR-3' e bağlanarak lenfatik damarların büyümesini düzenlemektir(59).

d. VEGF-D: Embriyogenez sırasında deri ve akciğerden salınır, VEGFR 2-3'e bağlanarak onların aktiflenmesi ile endotel hücreleri için mitojenez, anjiogenez ve lenfanjiogenezi uyarmaktadır(60)

e. VEGF- E: VEGFR-2 'ye bağlanarak anjiogenezi uyardığı gösterilmiştir.

f. VEGF-F: Yılan zehirinde tespit edilmiştir. Anjiogenezisi VEGF-A' ya göre daha az arttırmasına karşılık, vasküler permeabiliteyi yüksek oranda arttırdığı gözlenmiştir(61).

### 2.8.1. VEGF Reseptörleri

Tirozin kinaz ailesinden olup hücre içi ve dışı olmak üzere iki bölümü bulunmaktadır. Özgül ligandlarına bağlandığında aktifleşirler ve ikincil habercilerin oluşumunu sağlayarak hücre içi sinyal taşınmasını sağlarlar; hücre dışı bölüm immünglobulin (Ig) benzeri olup hücre içi bölüm tirozin kinaz aktivitesindedir(62).

a.VEGFR-1: VEGF-A, VEGF-B ve PlGF'e bağlanmaktadır. Endotel hücrelerinde zayıf mitojenik sinyaller oluştururlar. Endotel hücrelerinin yanı sıra osteoblastlardan, monosit\makrofajlardan, plasental trofoblastlardan bazı hematopoetik hücrelerden eksprese edilirler(63). VEGFR-1 salınımı HIF-1 (hipoksi inducible factor) bağlantılı mekanizma ile hipoksi tarafından kontrol edilip salınımı arttırılmaktadır.

b. VEGFR-2: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, PlGF bu reseptöre bağlanmaktadır. Endotel hücrelerinin mitogenezinde, proliferasyonunda ve sağkalımında rol oynamaktadır. Bu hücrelerin farklılaşması ve mikrovasküler permeabiliteleri için gereklidir. Endotel hücrelerinden başka; nöronal hücreler, osteoblastlar, pankreatik kanal hücreleri, megakaryositler, hematopoetik kök hücrelerinde de bulunmaktadır.

c. VEGFR-3: VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D' yi bağlayarak lenfanjiogeneizde rol oynamaktadır. Lenfatik damarlardan ve hematopoetik hücrelerden salınırlar. VEGF- C ile bağlanması ile lenfangiogenezi indükleyerek kanser metastazlarında önemli rol oynadığı bildirilmektedir(63). VEGFR 1-2-3 dışında solubl formları sVEGFR-1 ve sVEGFR -2 mevcuttur.

d. sVEGFR-1: VEGF inhibitörü olarak görev yapmaktadır. Meme kanserinde, serebrovasküler olay geçirenlerde ve preeklampside yüksek olarak saptanmıştır(64).

e. sVEGFR-2: Plazmada serbest halde dolaşan VEGFR-2 nin bir izoformu olup anjiogenezisin inhibisyonunda rol oynar.

VEGF reseptörleri için koreseptör görevini gören nörofilinler; nörofilin-1 ve nörofilin-2'dir.

Nörofilin-1: VEGF A; VEGF B ve PlGF' e bağlanmaktadır. VEGFR-2 ile salgılandıklarında VEGF 165 ile VEGFR-2 bağlanmasını güçlendirerek tümör anjiogenezisini güçlendirdiği gözlenmiştir.

Nörofilin-2: lenfatik ve endotel hücrelerden salgılanmaktadır (65).

VEGF, endotel hücre proliferasyonu, migrasyonu, farklılaşması ve sağkalımı gibi faktörleri etkileyip vasküler gelişimin her aşamasında rol oynamaktadır(66).

Vasküler sistem gelişimi organogenezisteki ilk olaylardan biridir. İlk kan damarları de novo oluşan anjioblastların primitif bir vasküler pleksus içine yığılması ile oluşmakta ve sonrasında büyüme, migrasyon ve farklılaşma ile fonksiyonel dolaşım sistemi oluşmakta olup bu olayların bir çoğuna VEGF aracılık etmektedir(67)

Doğumdan sonra anjiogenez organ büyümesine katkıda bulunur ve erişkin dönemde çoğu kan damarı sessiz halde kalmakta, sadece gebelikte plasenta oluşumunda ve over siklusunda meydana gelmektedir. Bunun dışında hipoksiye karşı hızlı bölünme yeteğini endotel hücreleri koruyarak yara iyileşmesinde yeniden aktive olurlar. Aşırı uyarıldıklarında ise inflamatuvar hastalıklar, obezite, astma, diabetes mellitus, siroz, otoimmün hastalıklar oluşumuna neden olmaktadır(68).

VEGF reseptörlerinin aktivasyonu ile fosfolipaz C, inositol 3kinaz guanin nükleotid-bağlayıcı proteinler (GTP az) aktivatör proteinleri gibi hücre içi sinyal iletim proteinleri fosforile olarak hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu ve diferansiyasyonunu sağlarlar. Nitrik oksit sentaz enzimi üzerindeki uyarıcı etki ile de endotel hücrelerde migrasyonda rol oynarlar(69). VEGF düzeyi interlökin 6 (IL6), interlökin 10 (IL10), interlökin 13 (IL13), platelet derived growth factor (PDGF), TGF B ile düzenlenmekte ve salınımı artmaktadır(70).

HIF-1 VEGF salınımında etkili rol oynamaktadır. Bunların dışında VEGF hücre içi ve dışı matris yıkımından sorumlu olan matrix metalloproteinaz (MMP) ile ürokinaz doku tipi plazminojen aktivatörlerin salınımını da uyarmakta ve

böylece kanserli hastalarda invazyon ve metastaz oluşumunu da kolaylaştırmaktadır(71).

TGF Beta' da VEGF ve reseptörlerinin salınımını uyararak anjiogenezin proliferatif aşamasında rol oynamaktadır. Baş boyun kanserli hastalarda lenfanjiogenez regülatörü olan VEGF A ve VEGFR-2 yüksek oranda gözlenmekte olup bu artışın da tümör progresyonu ve azalmış sağkalımla ilişkili olduğu düşünülmektedir(70).

VEGF ekspresyonunun meme, kolon özafagus kanserlerinde bağımsız kötü prognostik faktörler arasında olduğu gösteren çalışmalar mevcuttur. Tümörler anjiogenik faktörlerin üretimiyle karakterize dokular olduklarından ekspresyonlarının ya da etkilerinin inhibisyonu tümör anjiogenezinin baskılanmasında etkilidir.

VEGF transmembran tirozin reseptörlerine bağlanması 2 farklı grupta inhibe edilebilir.

f. Monoklonal antikor (Ab) (bevacizumab): Antianjiogenik ve antitümöral etkinliği olan rekombinant insan monoklonal VEGF Ab dur.

g.VEGF R inhibitörleri (SU 416 ve SU 6668): SU 416→ VEGFR-2' yi inhibe etmektedir. Yarılanma ömrü kısadır ve yan etkileri fazladır. SU 6668-→VEGF, PDGF 'ü inhibe etmektedir.

## 2.9. Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR)

Erb B büyüme faktörü reseptörü; tirozin kinazlar grubu olan Erb -B/HER ailesinin üyesidir. Hücre proliferasyonunu, apoptozisi, anjiogenezisi ve tümör hücrelerinin metastaz yapma kapasitesini etkileyebilmektedir. HER -1\erb B-1 olarak adlandırılır. Diğerleri ise erbB-2, erbB-3, erbB4' tür. Yüz yetmiş kD ağırlığında olan bir transmembran glikoproteindir ve kromozomu 7p12 uzun kolundadır.

Hücre dışı ligandların bağlandığı N terminal kısım, hidrofobik transmembran komponent ve tirozin kinaz aktivitesine sahip sellüler bölümden oluşmaktadır. EGF, TGF alfa ve amphiregulin spesifik olarak bağlanan ligandlar olup bunların bağlanması ile EGFR Ras-Raf-MAPK mitojen akt protein kinaz, fosfotidil inositol 3 kinaz, fosfolipaz C, signal transducer and activators of transcription (STAT) yollarının aktivasyonuna sebep olmaktadır(72).

Ras-Raf-MAPK kinaz yolağının aktiflenmesi ile mitojen aktive protein kinazlar (ERK1-ERK2) aktive olur, bunun sonucunda da hücre proliferasyonunu, sağkalımını ve transformasyonunu düzenleyen moleküller aktive olup onların düzenlenmesini sağlar. Phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) yolağının aktivasyonu ile hücrelerin motilitesi, proliferasyonu, büyümesi ve sağkalımları düzenlenir. Protein kinaz C ve Janus kinase (JAK)\STAT yolağının aktivasyonu hücre proliferasyonu ve apoptozisin inhibisyonu gerçekleşmektedir(73).

Mevcut kaskadların aktivasyonu, hücre büyüme koordinasyonundan sorumlu olan diğer genlerin transkripsiyonuna yol açmaktadır. Hücre proliferasyonu, apoptozisi, angiogenezisi; tümör hücrelerinin metastaz yapma kapasitelerini etkilemektedir. EGFR' nin en sık genomik varyasyonu 1995' te tanımlanan EGFRVIII olup 145kD proteindir. EGFR overekspresyonu baş boyun kanserli hastalarda %80-90 oranında gözlenmektedir. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri, kolorektal kanserlerde de yükselebilmektedir. EGFR ekspresyonunun displazi aşamasında artmaya başladığı ve karsinom aşamasında belirli bir seviyeye ulaştığı saptanmıştır. Grandis ve ark yaptığı bir çalışmada BBSK hastalarda tümöre komşu normal mukozada da EGFR m ribonükleik asit (RNA)' nın 30 kat arttığı gözlenmiştir(74).

BBSK'li hastalarda EGFR aşırı ekspresyonunun EGFR gen amplifikasyonundaki artıştan çok mRNA EGFR aşırı üretiminden kaynaklandığı bildirilmektedir(75).

EGFR artışının akciğer, pankreas, kolon ve BBSK' li hastalarda genel sağkalımda azalmaya yol açtığını gösteren çalışmalar mevcuttur(76).

Grandis ve ark yaptığı bir çalışmada cerrahi+/- adjuvan RT alan hastalarda EGFR overekspresyonunu lokal kontrol ve genel sağkalım için bağımsız prognostik faktör olarak saptamışlardır.

EGFR yolunu hedefleyen tedavi yaklaşımları mevcuttur. Bunların kemoterapotik ilaçlarla uygulandığında aditif etki sağladıkları; RT ile uygulandığında ise akselere repopulasyonu engellemek suretiyle radyo duyarlaştırıcı etki gösterdiği belirtilmektedir. En sık kullanılanlar tirozin kinaz inhibitörleri (gefitinip,erlotinib) ve anti EGFR monoklonal antikor (cetixumab)' dur.

## 2.10. Osteopontin

İlk olarak Senger tarafından 1979'da malign epitelyal hücreler tarafından sekrete edilen fosfoglukoprotein olarak tanımlanmıştır. Non kollajenez sialik asitten zengin kemokin benzeri, 44kD moleküler ağırlığı olan asidik bir glikoproteindir. Dördüncü kromozomun uzun kolunda yer alır. Osteopontin böbrek, kemik, beyin, damar düz kas hücreleri, aktive makrofajlar, natural killer (NK) hücreleri, T lenfositleri, kuppfer hücreleri, diş, sement, hipertrofik kıkırdak böbrek vasküler dokular gibi çeşitli yerlerden sekrete edilirler(77).

Sekrete edilen protein çoğu zaman kan, süt, idrar ve seminal sıvıda bulunur. Hem fizyolojik hem de patolojik oluşumlarda yüksek düzeyde görülebilir. Osteopontin kemik rezorbsiyonunda ve matriks turnover'nın düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Osteopontinin aracılık ettiği sinyal yollarının çoğu CD44 ve integrin bağlanması ile aktive olur. Bu etkileşim ile hücrelerin büyümesi, migrasyonu ve invazyonu gözlenir. Ayrıca MMP bağlanması ve aktivasyonu ile apoptozisin oluşması engellenir. Metastaz yeteneğinin artması ve kanser hücre proliferasyonu ve progresyonunun direkt stimülasyonu gibi tümörögeneziste rol alan olaylara da yol açmaktadır(78).

Osteopontin inflamatuvar ve immün yanıtta da rol oynamaktadır. Aktive T hücreleri tarafından salınır ve özellikle de makrofajlar olmak üzere immün hücreleri inflamasyon bölgesine göç etmeleri için uyarır(79). Osteopontinin etkisini göstermek üzere CD44 ve integrine bağlanır.

a. CD44: Hücre yüzey adezyon molekülü olup primer ligandı hyaluronik asittir. Kollagen, fibronektin, kondroitin sülfat, osteopontin CD44' e bağlanır. Multipl izoformları olup lenfoma, meme, hepatosellüler, akciğer, pankreas, kolorektal kanserler gibi bir çok kanserde sekrete edilir.

b. İntegrin: Hücre yüzey glikoproteinidir. Alfa ve beta subünitinden oluşmaktadır. Spesifik ligandları fibronektin, osteopontin ve fibrinojendir. Osteopontin' in integrinle EGFR transaktivasyonuna; bunun da PI3 kinaz, Ras-Raf MAPK, fosfolipaz C ve protein kinaz C aktivasyonuna yolaçtığı gösterilmiştir. Yine osteopontin ve integrin ile osteoklastlar aktive olmakta ve litik kemik metastazlarına yol açmaktadırlar. Mevcut yollar ile NF-KB aktivasyonu, apoptozun

inaktivasyonu, MMP ve ürokinaz plasminojen aktivatör sentezi ile malign hücrelerde büyüme gözlenmektedir(80).

Çoğu tümör hücresi osteopontin üretir. Meme kanseri, akciğer, prostat, özofagus, BBSK'da osteopontin aşırı ekspresyonu mevcuttur(81). İmmunohistokimyasal analizlerde mide, kolon, pankreas, akciğer, renal, over kanserlerinde osteopontin düzeyleri ile patolojik evre arasında korelasyon bildirilmiştir. Beyin tümörleri, meme, mide, pankreas kanserli hastalarda tümör progresyonu ve sağkalım açısından prognostik faktör olduğu ve serum plazma da artmış osteopontin düzeyleri gösteren çalışmalar mevcuttur.



### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda Ocak 2006-Kasım 2010 tarihleri arasında RT uygulanan lokal ileri evre BBSK' li hastalarda EGFR, VEGF, Osteopontin ekspresyonunun lokal ve \veya lokorejyonel kontrol, HSS ve genel sağkalım üzerinde prognostik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 14.01.2011 ve 7 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

#### 3.1. Hasta Kabul Kriterleri

- 1- Biyopsi ile skuamöz hücreli baş boyun kanseri tanısı alan,
- 2- Lokal ileri evre T3-T4 N0N+ olan ve primer radyoterapi tedavisi alan,
- 3- Karnofsky performans skalası (KPS) 60 ve üzeri olan,
- 4- Yaş aralığı 18-90 yaş arası olan,
- 5- Evrelemesi yapılan ve metastazı saptanmayan,
- 6- RT almasında sakıncası olmayan hastalar (konnektif bağ doku hastalığı, kalp pil olmayan vakalar).

#### 3.2. Uygulanan Tedavi

Tüm hastalara küratif amaçlı RT uygulanmıştır. RT ile birlikte eş zamanlı radyoduyarlastırıcı KT; performansı ve kreatin klirensi uygun olan hastalara uygulanmıştır. Eş zamanlı KT protokolü RT'nin 1.- 22.- 43. günlerinde 80mg\ m<sup>2</sup> sisplatin ya da 40mg\m<sup>2</sup> \haftalık siplatin tedavisi şeklinde uygulanmıştır.

RT olarak hastalara primer tümör lokalizasyonuna ve evresine uygun olarak boyun lenfatikleri ve supraklavikular lenf nodları alan içine alınarak tedavi Lineer akselator (LINAK) (6MV) ve\veya kobalt (Co 60) cihazı ile 64-70 gray (Gy) uygulanmıştır.

Orofarenks kanserlerinde konvansiyonel planlama ile tonsil-dil kökü kanserlerinde karşılıklı paralel alanlar üstte retrofarengeal lenfatikleri içerecek şekilde, kafa tabanı ve sfenoid sinus tabanına önde fasial ark ve oral dilin bir kısmını (tümörün 2-3 cm ötesinden geçecek şekilde), aşağıda omuzların elverdiği kadar tüm boyun lenfatikleri ve arka servikal üçgeni (vertebraların spinöz proçesini geçen (lenf nodu bu alan dışında kalıyorsa onu da kapsayarak) içerecek şekilde planlanmıştır.

Superior alanlar, karşılıklı paralel lateral alanlardan 2Gy\gün\fx dozunda 44Gy sonrası medulla spinalis korunarak 50 Gy uygulanmıştır (6MV foton). Boost olarak primer tümöre 2cm sınırla 68-70 Gy uygulanmıştır. Metastatik lenf nodlarına ek doz verilmiştir. Supraklavikular lenf nodlarına ise tek anterior alandan 3cm derinlikle 50 Gy uygulanmıştır.

Hipofarenks kanserlerinde konvansiyonel planlama ile boyun karşılıklı paralel alanlardan üstte retrofarengeal lenf nodlarını ve mastoidi içerecek şekilde, altta omuzların elverdiği ölçüde tüm boynu içerecek (tümörün en az 1 cm altına kadar), arkada vertebraların spinöz proçesi (metastatik lenf nodlarını kapsayacak halde), önde cildi fall off geçecek şekilde (tümörün 2-3 cm ötesinden) RT planlanmıştır. Supraklavikular bölgeye tek anterior alandan RT uygulanmıştır. RT dozu olarak 2Gy\gün\fx‘ dan 44 Gy‘ e kadar karşılıklı 2 alandan ışılandıktan sonra medulla spinalis koruması yapılarak 50 Gy’ e tamamlanmıştır (6 MV foton ile). Boost ile primer tümöre 1 cm sınırla 70 Gy verilmiştir. Metastatik lenf nodlarına elektron enerjisi ile ek doz uygulanmıştır. Supraklavikular alan ise 3 cm derinlikte 50 Gy ile tedavi edilmiştir.

Larenks kanserlerinde konvansiyonel planlama ile boyun karşılıklı paralel alanlardan üstte mandibula açısı üzerinde, altta omuzların izin verdiği ölçüde aşağıda, arkada spinöz proçes (lenf nodu varlığında onu kapsayacak halde), önde mandibulanın 1\3 ön kısmın başlangıcı ve alt boyun supraklavikular bölge ise tek anterior alan olarak planlanmış; 2Gy\gün\fx ile 44 Gy sonrasında medulla spinalis korunarak 50’ e Gy tamamlanmıştır. Boost ile primer tümöre 1-1.5 cm sınır ile 70 Gy 6MV\Co60 ile RT uygulanmıştır. Tutulu lenf nodlarına elektron boost doz tamamlanmıştır.

Eş zamanlı radyoduyarlaştırıcı KT protokolü performansı ve kan değerleri uygun hastalara verilmiştir.

### **3.3.İmmünohistokimyasal Boyamalar**

Tümöral hücrelerde EGFR ekspresyonunun değerlendirilmesinde öncelikle tümöral hücrelerde boyanma yüzdesi ve boyanma şiddeti belirlenmiştir.

Boyanma yüzdesi skoru; tümöral hücrelerde boyanma görülmediyse skor 0, tümöral hücrelerde %10’ dan az boyanma varsa skor 1, tümöral hücrelerde %10-50

oranında boyanma varsa skor 2, tümöral hücrelerde %50' den fazla boyanma varsa skor 3 olarak değerlendirilmiştir.

Boyanma şiddeti skoru; tümöral hücrelerde boyanma görülmediyse skor 0, boyanma zayıf şiddette ise skor 1, boyanma orta şiddette ise skor 2, boyanma kuvvetli ise skor 3 olarak belirlenmiştir.

İmmünoaktivite skoru : Boyanma yüzdesi skoru x Boyanma şiddeti skoru

İmmünoaktivite skoru 4 veya daha yüksek olan olgular EGFR için pozitif, 3 veya daha az olanlar negatif olarak değerlendirilmiştir(82).

Osteopontin değerlendirilmesinde; tümöral hücrelerde %10 ve üzerinde boyanma olduğunda pozitif, tümöral hücrelerde %10' undan azında boyanma olduğunda negatif olarak değerlendirilmiştir(83)

VEGF değerlendirilmesinde; boyanma olmaması skor 0, zayıf boyanma olması skor 1, orta şiddette boyanma olması skor 2, kuvvetli boyanma olması skor 3 olarak değerlendirilmiştir(84)

### **3.4.İstatistiksel Değerlendirmeler**

Elli hastadan elde edilen verilerin analizi Statistical Packages for the Social Sciences (SPSS) (versiyon 13,0) paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

EGFR, VEGF, Osteopontinin boyanma özellikleri hastaların genel sağkalım süresi, lokal kontrol süresi, rejyonel kontrol süresi, uzak metastaz meydana gelme süresi ile olan ilişkiyi saptamak için Kaplan Meier ve Cox regresyon testi kullanılmıştır. Katagorik değişkenlerin değerlendirilmesi için kıkare testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak  $p \leq 0.05$  değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalında Ocak 2006–Mart 2010 tarihleri arasında RT veya radyokemoterapi (RKT) uygulanan 50 baş boyun skuamöz kanserli değerlendirilmiştir .

Tümör yerleşimleri; 36 larenks, 5 hipofarenks, 3 dil, 2 tonsil, 2 oral kavite ve 2 maksiller sinüs tümörü şeklindedir (Tablo 4.1.). Vakaların ortalama genel sağkalım süresi 21.44 (8-58) ay, lokal kontrol süresi 19.52 (0-58) ay ve ortalama rejyonel kontrol süresi 18.94 (0-58) ay olarak saptanmıştır.

Vakaların ortalama yaşı 61.8 (37-87) olup erkek\kadın oranı 42(%74)\8(%16)' dir. Yapılan istatistiklerde değerlendirilen prognostik faktörlerden yaşın rejyonel kontrol (p=0.20) ve genel sağkalıma (p=0.16) etkisi gözlenmedi.

Cinsiyet faktörü de genel sağkalımda etkili bulunmadı (p=0.922).

Radyoterapiye ara verilen gün ortalama 4(0-14) gün olup rejyonel kontrol süresine (p=0.376) etkisi gözlenmedi.

Tablo.4.1. Hastaların genel dağılımı.

		Hasta Sayısı (n)	Hasta yüzdesi (%)
Yaş	60 yaş altı	23	46
	60 yaş ve üzeri	27	54
Cinsiyet	Kadın	8	16
	Erkek	42	84
Yerleşim Yeri	Larenks	36	72
	Hipofarenks	5	10
	Dil	3	6
	Tonsil	2	4
	Oral kavite	2	4
	Maksiller sinüs	2	4
T Evresi	T1	2	4
	T2	5	10
	T3	27	54
	T4	16	32

Tablo.4.1. “devam” Hastaların genel dağılımı.

N Evresi	N0	20	40
	N1	11	22
	N2	13	26
	N3	6	12
KPS	60 ve altı	4	8
	70-80	15	30
	90-100	31	62

KPS skoruna göre ise 60 ve altı 4 hasta, 60 üzeri 42 hasta mevcuttu. Hastanın performans skorunun genel sağkalımda, lokal kontrolde ve rejyonel kontrolde etkili olduğu gözlemlendi. Performans skoru düştükçe lokal kontrolde ( $p=0.03$ ), rejyonel kontrolde ( $p=0.04$ ) ve sağkalımda azalma saptanmıştır ( $p=0.02$ ).

Hemoglobin düzeyinin de lokal kontrol ( $p=0.058$ ), rejyonel kontrol ( $p=0.025$ ) ve genel sağkalım ( $p=0.039$ ) üzerinde prognostik etkisi gözlenmiş olup Hb düzeyi  $12.5\text{mg/dl}$  ve üzerinde olan hastalarda prognoz daha iyi olarak saptanmıştır.

Hastalar T evresine göre bakıldığında T1 tümöre sahip 2 (%4) hasta, T2 tümöre sahip 5 (%10) hasta, T3 tümöre sahip 27 (%54) ve T4 tümöre sahip 16 (%32) hasta mevcuttu. T evresinin lokal kontrol ( $p=0.173$ ) üzerine etkisi saptanmazken, rejyonel kontrol ( $p=0.051$ ), uzak metastaz ( $p=0.029$ ) ve genel sağkalıma ( $p=0.012$ ) etkisi gözlenmiştir. T evresinin artması olumsuz prognostik faktör olarak gözlenmiştir.

Prognostik faktörlerden lenf nodu evresine göre N0 olan 20(%40) hasta, N3 olan 6 (%12) hasta mevcuttu. Lenf nodu evresinin lokal kontrol( $p=0.351$ ), uzak metastaz ( $p=0.178$ ) ve genel sağkalıma( $p=0.714$ ) etkisi gözlenmemiş olup rejyonel kontrole ( $p=0.041$ ) etkisi saptanmıştır. Lenf nodu evresi büyüdükçe rejyonel kontrol süresinde azalma gözlenmiştir.

Hastalara radyoterapi ile uygulanan eş zamanlı kemoterapi sayısının (planlanan KT şemasının tamamını alan 27, hiç KT almayan 13 hasta) lokal kontrol süresi( $p=0.016$ ), rejyonel kontrol süresi ( $p=0.021$ ) ve genel sağkalım süresine ( $p=0.015$ ) katkısı gözlenmiştir. Neoadjuvan KT ise 15 hastaya uygulanmış olup

vakalarda lokal kontrole ( $p=0.161$ ), rejyonel kontrole ( $p=0.180$ ) ve genel sağkalıma ( $p=0.113$ ) katkısı gözlenmemiştir.

Rejyonel kontrol varlığının lokal kontrol ( $p=0.004$ ) ve genel sağkalım üzerinde önemli etkisi olduğu saptanmıştır ( $p=0.002$ ). Rejyonel kontrolün olması genel sağkalımı arttırmaktadır.

Çalışmaya alınan hastaların 7 tanesinde uzak metastaz saptanırken 43 hastada gözlenmemiştir. Uzak metastaz olarak dört hastada akciğer, iki hastada karaciğer, bir hastada beyin, bir hastada kemik metastazı gözlenmiştir. İki hastada akciğer ve karaciğer metastazı aynı anda gözlemlendi.

Çalışılan prognostik faktörlerden EGFR ile pozitif boyanan 32(%64) vaka mevcut olup uygulanan istatistiklerde lokal kontrol( $p=0.671$ ), rejyonel kontrol( $p=0.286$ ), uzak metastaz( $p=0.929$ ) üzerine etkisi gözlenmemiştir (Tablo 4.2.).

VEGF çalışılan bir diğer parametre olup zayıf şiddette pozitif boyanma 9 (%18), orta şiddette pozitif boyanma 22(%44) ve şiddetli boyanma 19(%38) vakada gözlenmiş olup lokal kontrol( $p=0.902$ ), rejyonel kontrol( $p=0.854$ ), genel sağkalım ( $p=0.399$ ) üzerine etkisi gözlenmemiştir (Tablo 4.3.).

Osteopontin ile boyanmada 35(%70) hastada pozitif boyanma gözlenirken 15(%30) hastada negatif saptanmıştır. İstatistiksel olarak lokal kontrol ( $p=0.702$ ), rejyonel kontrol( $p=0.236$ ) ve genel sağkalıma( $p=0.9$ ) etkisi saptanmamıştır (Tablo 4.4.).

EGFR ve VEGF (orta ve şiddetli) ile pozitif boyanan hasta sayısı 26, VEGF ve osteopontin ile birlikte pozitif boyanan 30 ve üç faktör ile boyanan hasta sayısı 22 olarak gözlenmiştir.

Tablo 4.2.Hastaların VEGF boyanma özellikleri.

İmmünohistokimyasal boyanma	VEGF
+1 (zayıf)	9(%18)
+2 (orta şiddetli)	22(%44)

Tablo 4.2.”devam” Hastaların VEGF boyanma özellikleri.

+3 (kuvetli)	19(%38)
--------------	---------

Tablo 4.3. Hastaların EGFR ve osteopontin boyanma özellikleri

İmmünohistokimyasal boyanma	EGFR	Osteopontin
Negatif	11(%22)	15(%30)
Pozitif	39(%78)	35(%70)

Tablo 4.4. Exitus olan hastaların boyanma özellikleri.

Tanı Exitus Olan	Osteopontin	VEGF	EGFR	TOPLAM
Larenks	10(+) 4(--)	11(+) 3(--)	12(+) 2(--)	14
Hipofarenks	1(+) 1(--)	1(+) 1(--)	1(+) 1(--)	2
Dil	2(+) 0(--)	2(+) 0(--)	2(+) 0(--)	2
Tonsil	0(+) 1(--)	0(+) 1(--)	1(+) 0(--)	1
Maxiller Sinus	1(+) 1(--)	1(+) 1(--)	2(+) 0(--)	2
Oral Kavite	---	---	---	0
Toplam	14	15	18	21

## 5. TARTIŞMA

BBSK yaklaşık 1\3'ü erken evrede (evre I ve II) tanı almaktadırlar. Tedavide cerrahi veya RT uygulanmaktadır. Primer tümör bölgesine, yaşa, komorbid faktörlerine ve hasta tercihinine göre yaklaşım değişmektedir. Lokal ileri evrede başvuran hastaların tedavisinde ise cerrahi, RT/RKT tedavi seçenekleri arasındadır. Bu evrede olan hastaların 5 yıllık sağkalım oranları %10-%40 arasında değişmektedir. Tedavi alanındaki gelişmelere rağmen tedaviye direnç, lökorejyonel rekürrens, uzak metastaz oranları hala yüksektir. Tümör çevresinde bulunan bazı faktörler(hipoksi, inflamasyon, anjiogenezis gibi) tümör tedavi yanıtında ve agresivitesinde önemli rol oynamaktadır. Tümör davranışını öngörebilmek, tedaviye direnci anlayabilmek ve uygun tedavi seçeneklerini belirleyebilmek için prognostik faktörlerin belirlenmesine ihtiyaç vardır. Klinik ve moleküler faktörler olarak ele alınabilir. Bu çalışmada moleküler faktörlerden EGFR, VEGF ve Osteopontin'in lokal, rejyonel ve genel sağkalım üzerindeki prognostik etkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

Hasta ve tedaviye bağlı prognostik faktörler arasında klinik faktörlerde hastanın cinsiyeti, Hb düzeyi, KPS, T evresi, N evresi, tümör yerleşim yeri, tedavi dozu yer almaktadır.

BBSK erkeklerde yaklaşık 3 kat daha fazla gözlenmektedir ve erkeklerde lokal kontrol ve genel sağkalımın daha kötü olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur(85). Çalışmamızda olgularımızın 42'si erkek, 8' i kadın olup yapılan istatistiklerde cinsiyetin prognostik etkisi saptanmamıştır.

Hastaların KPS düzeyleri tedaviye yanıtta önemli parametrelerdendir. Performansı yüksek hastalarda prognoz daha iyi olduğu gözlenmiştir. G. Gasparini ve ark. evre II-IV baş-boyun skuamöz hücre kanserli, primer RKT uygulanan, 73 hasta ile yaptığı çalışmada KPS 90 ve üzerinde olanlarda tedaviye tam yanıtın daha iyi olduğu saptanmıştır (p=0.044) (86-88). Mevcut çalışmamızda KPS skoru 3 gruba ayrılarak değerlendirilmiştir. KPS 60 ve altında(n=4) 1. grup, 70-80 olan 2.grup(n=15), 90-100 olan 3.grup (n=31) olarak hastalar gruplandırılmıştır. Hastanın performans skorunun genel sağkalımda, lokal kontrolde ve rejyonel kontrolde etkili olduğu gözlenmiştir. Performans skoru düştükçe lokal kontrolde (p=0.03), rejyonel kontrolde (p=0.04) ve sağkalımda azalma saptanmıştır (p=0.02).



Hipoksi tedaviye cevabı etkileyen faktörlerden biridir. Hipoksi ile tümöre giden oksijen miktarı azalmaktadır. Tümör hücrelerine oksijen verilmesinde rol alan faktörlerden biri Hgb konsantrasyonudur. Düşük Hb konsantrasyonları genelde tümörün RT cevabı üzerinde olumsuz etkiye sahiptir. Elli bir çalışmadan 17.272 hastayı içeren çalışmada Hb konsantrasyonu ile lokal tümör kontrolü arasındaki prognostik ilişki incelenmiştir; bu çalışmalardan 39'unda (14.482 hasta) korelasyon olduğu ve 12'sinde de (2790 hasta) olmadığı gösterilmiştir(89). Bizim çalışmamızda hastalar Hb düzeyi 12.5mg\dl altı ( n=19) ve Hb 12.5 mg\dl ve üzeri (n=31) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Uygulanan istatistiklerde Hb düzeyinin lokal kontrol (p=0.058) üzerinde etkisi gözlenmezken, rejyonel kontrol (p=0.025) ve genel sağkalım (p=0.039) üzerinde prognostik etkisi gözlenmiş olup Hb düzeyi 12.5mg\dl ve üzerinde olan hastalarda prognoz daha iyi olarak saptanmıştır.

Tümör evresi ve volümü hastalara uygulanacak tedavi yaklaşımının belirlenmesinde önemli yer almaktadır. BBSK genellikle lokal ileri evrede başvurmaktalardır ki bu evrede cerrahi ve ardından postoperatif RT yaklaşımı uygulanmaktadır. Olumlu özellikleri olan (iyi hava yolu pasajı, küçük tümör volümü), medikal inoperabl ya da operasyonu kabul etmeyen hastalara organ koruyucu yaklaşım RT\RKT uygulanmaktadır. Tümör evresi ve volümü arttıkça lokal kontrol ve genel sağkalım azalmaktadır. Joost L ve ark. yaptığı çalışmada tümör volümünün lokal kontrolde önemli olduğu her 10cm 3 tümör volüm artmasında genel sağkalımın %14, hastalısız sağkalımın %13 oranında azalmaya yol açtığı gözlenmiştir(90-91). Bizim çalışmamızda tümör volümleri çalışılmamış olup tümör evresinin genel sağkalım (p=0.012) ve uzak metastaz (p=0.029) üzerine etkisi saptanırken, rejyonel kontrol (p=0.051), lokal kontrol üzerine etkisi saptanmamıştır. Tümör evresi arttıkça sağkalım azalırken uzak metastaz oranı artmıştır.

Prognostik faktörler arasında bir çok çalışmada da belirtilen lenf nodu evresi yer almaktadır. Organ koruyucu yaklaşım RKT uygulanan 111 hasta içeren çalışmada lenf nodu evresinin genel sağkalım(p=0.001) ve lokorejyonel kontrolde etkili olduğu gözlenmiştir (92-93). Bizim çalışmamızda N0 20, N1 11, N2 13, N3 6 olgu mevcuttur. Lenf nodu evresinin rejyonel kontrole etkisi saptanırken (p=0.041) genel sağkalım, lokal kontrol ve uzak metastaz üzerine etkisi saptanmamıştır.

Hastalara uygulanan tedavi yaklaşımı önemli bir prognostik faktördür. Lokal ileri evre BBSK' de organ koruyucu yaklaşımda tek başına RT uygulaması ile RKT uygulamasını karşılaştıran çalışmalar mevcuttur. Yapılan metaanalizde RT 'ye eş zamanlı KT eklenmesi 5 yıllık genel sağkalımı %8 oranında artırırken lokorejyonel kontrol ve hastalısız sağkalımı ise %4'den daha fazla arttırmaktadır(94-95). Mevcut olumlu etkinin yanında bir çok çalışma erken ve geç yan etkiye odaklanmış olup Forastiere ve ark. yaptığı çalışmada larenks kanseri tanısıyla eş zamanlı kemoradyoterapi uygulanan hastalarda grade 3-4 total toksisite %77 olarak bildirilmiştir(96). Bizim çalışmamızda KT uygulaması hiç KT almayanlar 1.grup, parsiyel KT alanlar (1\2 kür) 2.grup, tam KT alanlar (toplam 3 kür) 3. grup olarak sınıflandırılmıştır. KT'nin tam olarak alınmasının lokal kontrol (p=0.016), rejyonel kontrol (p=0.021), genel sağkalım (p=0.015) ve uzak metastaz (p=0.09) üzerine etkisi gözlenmiştir. KT 'sini tam alan hastalarda lokal kontrol, rejyonel kontrol ve genel sağkalımda artma gözlenirken uzak metastaz oranında azalma gözlenmiştir. Hastaların 10'unda grade 3-4 mukozit gözlenirken 40'ında grade 1-2 gözlenmiştir. KT'sini 3 kür alan 27 hastanın yalnızca 5' inde grade 3-4 mukozit gözlenmiştir.

Hastaların RT'sine ara verilmesi(yan etki\tatil \cihaz arızaları nedeniyle) tümör kontrolünü azaltmaktadır(97). Bizim çalışmamızda tedavisine hiç ara verilmeyen 4 hasta, 1-3 gün ara verilen 7 hasta ve 3 günden daha fazla ara verilen 29 hasta mevcuttu. RT ara verilen günün lokal kontrol, rejyonel kontrol ve genel sağkalım üzerine etkisi gözlenmemiştir.

BBSK' de prognoza etki edebilecek moleküler faktörlerden olan EGFR transmembran glikoprotein yapısında olan tirozin kinaz reseptörüdür. EGFR aktivasyonu sonrasında Ras-Raf-MAPK, Jak\STAT, PI3 kinaz, fosfolipaz C ve protein kinaz C yolları aktive olmakta ve sonuç olarak hücrelerde proliferasyona, anjiogenezise, apoptozise, migrasyona ve metastaza neden olmaktadır. EGFR overekspresyonu; EGFR ligandlarının otokrin\parakrin aktivasyonu, EGFR mutasyonu, EGFR amplifikasyonu ve diğer reseptörlerle ya da reseptörsüz transaktivasyonu sonrasında oluşabilmektedir(98). RT sonrasında hücrelerde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bağlı olarak DNA hasarları oluşmakta ve sıklıkla da çift zincir DNA kırıkları meydana gelmektedir. DNA hasar tamiri DNA-PK(DNA-dependent protein kinase) tarafından yapılmaktadır(99). RT sonrasında EGFR tirozin kinaz aktivitesinde artış

meydana gelmekte ve DNA-PK etkileşimi ile RT 'ye bağlı oluşan DNA hasarları da tamir edilmektedir. Böylece RT'ye yanıtta direnç gözlenmektedir.

EGFR ekspresyonu BBSK %80-90 oranında gözlenmektedir(100). Mevcut çalışmamızda da %78 oranında gözlenip literatürle uyumludur. Overekspresyonunun hastaliksız sağkalım, nedene spesifik sağkalım üzerine kötü prognostik etkisini gösteren çalışmalar mevcuttur. Grandis ve ark. çalışmasında EGFR ve TGF alfa' nın prognostik etkisi değerlendirilmiş olup her ikisinin de yüksek olması nedene spesifik sağkalım ve hastaliksız sağkalım da azalma saptamışlardır(101). Bizim çalışmamızda EGFR 'ün genel sağkalım, lokorejyonel, lokal kontrole, T evresine, N evresine prognostik etkisi gösterilememiştir. Literatürde EGFR overekspresyonunun etkisinin gösterilemediği çalışmalar mevcuttur. Bunlardan biri de Numico ve ark. yaptığı çalışma olup bu çalışmada 149 unrezektabl BBSK' li RKT uygulanan hastalarda 5 yıllık takipte sağkalımda fark saptanmamıştır(102).

EGFR 'ünü inhibe eden ilaçlar mevcut olup bunlar ; tirozin kinaz inhibitörleri ve monoklonal antikorlarıdır. EGFR monoklonal Ab olan cetixumabın RT ile eş zamanlı kullanımının genel sağkalımı arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Bonner ve ark., yaptığı çalışmada lokal ileri evre 424 BBSK' li hasta cetixumab+RT ve RT kollarına ayrılmış olup cetixumab+RT uygulanan kolda 5 yıllık sağkalım %45.6, yalnızca RT uygulanan kolda %36.4 olarak saptanmıştır.

EGFR anjiogenezisi arttırmaktadır. Ancak anjiogenezde en çok rol oynayan ve hipoksiye oldukça duyarlı olan VEGF'dür. Anjiogenez tümör büyümesinde, gelişiminde ve yayılımında önemli rol oynamaktadır. Çapı 3mm ve üzerinde olan tümörler beslenmelerini sağlamak amaçlı yeni damar oluşumuna ihtiyaç duyarlar. Anjiogenezde önemli role sahip VEGF tirozin kinaz reseptör ailesindedir. VEGF overekspresyonu kolorektal kanserler, meme, mide ve skuamöz hücreli kanserlerde gözlenmekte olup kötü prognostik etkiler göstermektedir.

Normal dokularla karsinoma insitu, erken invaziv skuamöz kanserli, ileri evre skuamöz kanserli dokular VEGF ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında invazyon düzeyi arttıkça ekspresyonun arttığı gözlenmiştir.

VEGF overeksprese eden tümörler ile normaller karşılaştırıldığında 1.88 kat ölüm riskinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak bazı çalışmalarda bu korelasyon gösterilememiştir.

On iki çalışmayı (n=1.002) içeren metaanalizde VEGF overekspresyonunun genel sağkalımı kötü yönde etkilediği lenf nodu metastaz riski ile arasında anlamlı ilişki olmadığı gözlenmiştir(103-104). Martin ve ark. yaptığı çalışmada (27 hasta primer RT uygulanan stage II-IV olan) VEGF overekspresyonu düşük olanlarda 5 yıllık lokal kontrol oranı %75 iken yüksek olanlarda %18 genel sağkalım oranları da sırasıyla %75\%23 olarak saptanmıştır(105). Bizim çalışmamızda ise VEGF pozitifliğinin etkisi gösterilmemiştir. Literatürde de etkisi gösterilemeyen çalışmalar mevcuttur. VEGF inhibisyonunu hedefleyen ilaçlar mevcut olup bunlar tirozin kinaz inhibitörleri ve monoklonal Ab 'dır. Bevacizumab VEGF'e bağlanarak anjiogenezisi inhibe etmektedir. Metastatik kolorektal kanserlerde 5 FU ile kombine kullanıldığında genel sağkalımda artma gözlenmiştir. Bunun dışında daha önce hiç KT almamış metastatik nüks küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde genel sağkalımda artma saptanmıştır.

Tirozin kinaz inhibitörü olan sorafenib ve sunitinib irrezektabl hepatosellüler kanserlerde, ileri evre renal cell karsinomlarında ve gastrointestinal tümörlerde kullanılmaktadır(106-107).

Osteopontin immün yanıtta, inflamasyonda, kemik yeniden yapılandırılmasında rol oynayan fosfoglikoproteindir. İntegrinler, CD44 ile etkileşime girerek etkisini göstermektedir. Osteopontin ve integrinin bağlanması ile EGFR aktive olmakta ve tümör hücre sağkalımına, metastaz oluşumuna ve anjiogenezisine neden olmaktadır. Osteopontininin tümör grade ve evresine göre grade için 12 ayrı kanserde, T evresi için 13, N evresi için 8, M evresi için 9 ayrı kanserde pozitif ilişki saptanmıştır. Snitcovsky ve ark. yaptığı çalışmada BBSK' li 69 hastanın tedavi öncesi ve sonrası osteopontin düzeyleri çalışılmış, tedavi öncesi yüksek osteopontin düzeyine sahip hastalarda genel sağkalımda azalma gözlenmiştir(108). Çalışmamızda osteopontininin lokal kontrol, genel sağkalım ve rejyonel kontrole etkisi gözlenmemiş olup hasta sayısının sınırlılığı bir etmen olabilir.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Retrospektif olarak primer RT uygulanan lokal ileri evre BBSK' li 50 hastada osteopontin, VEGF, EGFR' ünün lokal kontrol, rejyonel kontrol, genel sağkalım üzerinde prediktif etkilerinin incelendiği bu çalışmada; KPS düştükçe lokal kontrolde ( $p=0.03$ ), rejyonel kontrolde ( $p=0.04$ ) ve sağkalımda azalma saptanmıştır ( $p=0.02$ ). Tedavi öncesi Hb düzeyi  $12.5\text{mg/dl}$  ve üzerinde olan hastalarda genel sağkalımda artma ( $p=0.039$ ), tümör evresinin artması ile genel sağkalımda azalma gözlenmiştir ( $p=0.012$ ). Lenf nodu evresi arttıkça rejyonel kontrol süresinde azalma ( $p=0.041$ ), eş zamanlı KT alan hastalarda tam kür (3 kez) uygulanması ile lokal kontrol ( $p=0.016$ ), rejyonel kontrol ( $p=0.021$ ) ve sağkalım ( $p=0.015$ ) sürelerinde artma gözlenmiştir. Lokal ileri evre BBSK'de EGFR, VEGF ve osteopontinin prediktif etkileri incelenmiş, istatistiksel olarak anlamlı etki saptanmamıştır. Güncel literatür ışığında geniş hasta serilerini içeren çalışmalara gereksinim vardır.

## KAYNAKLAR

1. D. Max Parkin M, Freddie Bray, J. Ferlay, Paola Pisani: Gobal Cancer Statistics, 2002. CA Cancer J Clin.2005;55:74-108.
2. Jacques Ferlay, Hai-Rim Shin, Freddie Bray, David Forman, Colin Mathers and Donald Maxwell Parkin: Estimates of worldwide burden of cancer in2008: Globocan 2008. J. Cancer.127,2893-2917 (2010).
3. Ahmedin Jemal, Rebecca Siegel, Jiaquan Xu, Elizabeth Ward: Cancer Statistics, 2010. CA Cancer J Clin.2010;60:277-300.
4. Caroline H Shiboski, Brian L Schmidt, Richard C K Jordan Increasing Trends in the U.S. Population Ages 20-44 Yeras: Tongue and Tonsil Carcinoma. Cancer 2005;103:1843-9.
5. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Daire Başkanlığı 2004-2006 yılları Kanser İnsidansı.
6. Jay H. Lubin, Joshua Muscat, Mia M. Gaudet, Andrew F. Olshan, Maria Paula Curado, Luigino Dal Maso, Victor Wünsch-Filho, Erich M. Sturgis, Neonilia Szeszenia-Dabrowska, Xavier Castellsague, Zuo-Feng Zhang, Elaine Smith, Leticia Fernandez, Elena Matos, Silvia Franceschi, Eleonara Fabianova, Peter Rudnai, Mark P. Purdue, Dana Mates, Qingyi Wei, Rolando Herrero, Karl Kelsey, Hal Morgenstern, Oxana Shangina, Sergio Koifman, Jolanta Lissowska, Fabio Levi, Alexander W. Daudt, Jose Eluf Neto, Chu Chen, Philip Lazarus, Deborah M. Winn, Stephen M. Schwartz, Paolo Boffetta, Paul Brennan, Ana Menezes, Carlo La Vecchia, Michael McClean, Renato Talamini, Thangarajan Rajkumar, Richard B. Hayes, Mia Hashibe: An exanination of male and female odds ratios by BMI, cigarette smoking, and alcohol consumption for cancers of the oral cavity, pharynx, and larynx in pooled data from 15 case-control studies. Cancer Causes Control DOI 10.1007/s10552-011-9792-x.
7. Maria Pavia, Claudia Pileggi, Carmelo GA Nobile, and Italo F Angelillo: Association between fruit and vegetable consumption and oral cancer: a meta-analysis of observational studies. Am J Clin Nutr 2006;83:1126-34.

8. Neal D. Freedman, Yikyung Park, Amy F. Subar, Albert R. Hollenbeck, Michael F. Leitzmann: Fruit and vegetable intake and head and neck cancer risk in a large United States prospective cohort study. *Int J. Cancer*: 122,2330-2336 (2008).
9. Lars-Gunnar Larsson, Anita Sandström, and Per Westling: Relationship of Plummer-Vinson Disease to Cancer of the Upper Alimentary Tract in Sweden. *Cancer Research* 35,3308-3316, November 1975.
10. Carlos Suarez, Juan Pablo Rodrigo, Alfio Ferlito, Ruben Cabanillas, Ashok R. Shaha, Alessandra Rinaldo: Tumours of familial origin in the head and neck. *Oral Oncology* 2006; 42:965-978.
11. William D Foulkes, Jean-Sebastien Brunet, Weiva Sieh, Martin J Black, George Shenouda, Steven A Narod: Familial risks of squamous cell carcinoma of the head and neck: retrospective case-control study. *BMJ* 1996; 313:716-21.
12. Annette Leclerc, Daniele Luce, Paul A. Demers, Paolo Boffetta, Manolis Kogevinas, Stefano Belli, Ulrich Bolm-Audorff, Louise A. Brinton, Didier Colin, Pietro Comba, Michel Gerin, Lennart Hardell, Richard B. Hayes, Corrado Magnani, Enzo Merler, Jean-François Morcet, Susan Preston-Martin, Thomas L. Vaughan, and Wei Zheng: Sinonasal Cancer and Occupation. Results from the reanalysis of twelve case-control studies. *American Journal Of Industrial Medicine* 31:153-156, 1997.
13. Robert J.C. Slebos, Mann H. Lee, Beverly S. Plunkett, Theodore D. Kessis, Bart O Williams, Tyler Jacks, Lora Hedrick, Michael B. Kastan, and Kathleen R. Cho: p53-dependent G1 arrest involves pRB-related proteins and is disrupted by the human papillomavirus 16 E7 oncoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 91, pp June 1994; 5320-5324.
14. Giuseppe Pannone, Angela Santoro, Silvana Papagerakis, Lorenzo Lo Muzio, Gaetano De Rosa and Pantaleo Bufo: The role of human papillomavirus in the pathogenesis of head & neck squamous cell carcinoma: an overview. Pannone et al. *Infectious Agents and Cancer* 2011,6:4.

15. Wei Li, Carol H. Thompson, Christopher J. O'Brien, Edward B. McNeil, Richard A. Scolyer, Yvonne E. Cossart, Michael J. Veness, D. Murray Walker, Gary J. Morgan and Barbara R. Rose: Human Papillomavirus positivity predicts favourable outcome for squamous carcinoma of the tonsil. *Int.J. Cancer.* 2003; 106:553-558.
16. Gypsyamber D'Souza, Aimee R. Kreimer, Raphael Viscidi, Michael Pawlita, Carole Fakhry, Wayne M. Koch, William H. Westra, and Maura L. Gillison: Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal Cancer. *The New England Journal of Medicine* 2007; 356:1994-56.
17. Lisa Licitra, Federica Perrone, Paolo Bossi, Simona Suardi, Luigi Mariani, Raffaella Artusi, Maria Oggionni, Chiar Rossini, Giulio Cantu, Massimo Squadrelli, Pasquale Quattrone, Laura D. Locati, Cristiana Bergamini, Patrizia Olmi, Marco A. Pierotti, and Silvana Pilotti: High-risk human papillomavirus affects prognosis in patients with surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24:5630-5636.
18. Conway DI, Petticrew M, Marlborough H, Berthiller J, Hashibe M, Macpherson LM: Socioeconomic inequalities and oral cancer risk: a systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Int J Cancer.* 2008 Jun 15;122(12):2811-9.
19. Chen TC, Wang CT, Ko JY, Lou PJ, Yang TL, Ting LL, Wang CW, Hu YL, Wang CP: Postoperative radiotherapy for primary early oral tongue cancer with pathologic N1 neck. *Head Neck.* 2010 May;32(5):555-61.
20. Thawley SE. *Comprehensive management of head and neck tumors.* Philadelphia:W.B.Saunders, 1999
21. Van den Brekel MW, Castells JA, Snow GB, The role of modern imaging studies in staging and therapy of head neck neoplasms *Semin Oncol.* 1994 Jun;21(3):340-8
22. Aaron J. Zima, Jeffrey R. Wesolowski, Mohannad Ibrahim, Amy Anne Donatelli Lassig, Jeffery Lassig, and Suresh K. Mukherji: Magnetic resonance imaging of oropharyngeal cancer. *Top Magn Reson Imaging* 2007; 18:237-242.



23. Min Yao., Russell B. Smith, Henry T. Hoffman., Gerry F. Funk., Minggen Lu, Yusuf Menda Clinical significance of postradiotherapy fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging in management of head and neck cancer a long term outcome report *Int.J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, Vol. 74, No. 1, pp. 9-14, 2009
24. Padraig Warde, Brian O' Sullivan, Robert G. Bristow T1\T2 Glottic cancer managed by external beam radiotherapy: The influence of pretreatment hemoglobin on local control *Int.J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, Vol. 41, No. 2, pp. 347-353, 1998
25. Bentzen Jens Knud Daugaard, and Hansen Hanne Sand: Primary radiotherapy of carcinoma of the supraglottic larynx-A multivariate analysis of Prognostic Factors. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, Vol.41, No.2, pp. 335-360, 1998.
26. Phuc F. Nguyen-Tan, Quynh-Thu Le, Jeanne-Marie Quivey, Mark Singer, David J. Terris, Don R. Goffinet, and Karen K. Fu: Treatment results and prognostic factors of advanced T3-4 Laryngeal Carcinoma: The University of California, San Francisco (UCSF) and stanford university hospital (SUH) experience. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, Vol.50, No. 5, pp. 1172-1180, 2001
27. Quynh-Thu X. Le, Karen K. Fu, Steward Kroll, Janice K. Ryu, Jeanne M. Quivey, Thomas S. Meyler, Richard M. Krieg, and Theodore L. Phillips: Influence of fraction size, total dose, and overall time on local control of T1-T2 glottic carcinoma. *Int.J.Radiation Oncology Biol. Phys.*, Vol. 39. No.1, pp. 115-126, 1997.
28. Jayson S. Greenberg, Robert Fowler, Jose Gomez, Vivian MO, Dianna Roberts, Adel K. El Naggat, Jeffrey N. Myers: Extent of Extracapsular Spread. *Cancer* 2003; 97: 1464-70.
29. Joseph Califano, Peter van der Riet, William Westra, et al: Genetic progression model for head and neck cancer: Implications for field cancerization *Cancer Res* 1996; 56:2488-2492.

- 30.** Vera Balz, Kathrin Scheckenbach, Karl Götte, et al: Is the inactivation frequency in squamous cell carcinomas of the head and neck underestimated? Analysis of p53 exons 2-11 and human papillomavirus 16/18 E6 transcripts in 123 unselected tumor specimens. *Cancer Res* 2003; 63:1188-1191.
- 31.** Joseph A. Brennan, Jay O. Boyle, Wayne M. Koch, Steven N. Goodman, Ralph H. Hruban, Yolanda J. Eby, Marion J. Couch, Arlene A. Forastiere, and David Sidransky: Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N.Engl J Med.* 1995; 332:712-7.
- 32.** M.Luana Poeta, Judith Manola, Meredith A. Goldwasser, Arlene Forastiere, Nicole Benoit, Joseph A. Califano, John A. Ridge, Jarrad Goodwin, Daniel Kenady, John Saunders, William Wesra, David Sidransky, and Wayne M. Koch: TP53 Mutations and survival in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2007; 357:2552-61.
- 33.** Pasquale Capaccio, Giancarlo Pruneri, Nadia Carboni, Angelo Virgilio Pagliari, Massimiliano Quatela, Bruno Mario Cesana, Lorenzo Pignataro: cyclin D1 expression is predictive of occult metastases in head and neck cancer patients with clinically negative cervical lymph nodes. *Head Neck* 2000; 22:234-240.
- 34.** Masahiko Tsujii and Raymond N. DuBois: Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell*, November 3, 1995; 83:493-501.
- 35.** Oreste Gallo, Alessandro Franchi, Lucia Magnelli, Lacopo Sardi, Alfredo Vannacci, Vieri Boddi, Vincenzo Chiarugi and Emanuela Masini: Cyclooxygenase-2 pathway correlates with VEGH expression in head and neck cancer. Implications for tumor angiogenesis and metastasis. *Neoplasia* 2001; 3:53-61.
- 36.** Jon Sudb, Ari Ristimaki, Jan Erik Sondresen, Wania Kildal, Morten Boysen, Hanna S. Koppang, Albrecht Reith, Jahn M. Nesland, Magne Bryne: cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in high-risk premalignant oral lesions. *Oral Oncology* 2003; 39:497-505.

37. IsaAc van der Wall: potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; present concepts of management. *Oral Oncology* 2010;46 :423-425.
38. Moncrieff M, Sandilla J, Clark J, Clifford A, Shannon K, Gao K, O'Brien C.: Outcomes of primary surgical treatment of T1 and T2 carcinomas of the oropharynx. *Laryngoscope*. 2009 Feb;119(2):307-11.
39. Fein DA, Lee WR, Amos WR, Hinerman RW, Parsons JT, Mendenhall WM, Stringer SP, Cassisi NJ, Million RR.: Oropharyngeal carcinoma treated with radiotherapy: a 30-year experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1996 Jan 15;34(2):289-96.
40. William M. Mendenhall, Christopher G. Morris, Robert J. Amdur, Russell W. Hinerman, Robert S. Malyapa, John W. Werning, Christopher D. Lansford, and Douglas B. Villaret: Definitive radiotherapy for tonsillar squamous cell carcinoma. *Am J Clin Oncol* 2006; 29:290-297.
41. James O'Hara, Ken MacKenzie: Surgical versus non-surgical management of early stage oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011; 268:437-442.
42. David J. Adelstein, Yi Li, George L. Adams, Henry Wagner, Jr, Julie A. Kish, Jon F. Ensley, David E. Schuller, and Arlene A. Forastiere: An intergroup phase III comparison of standard radiation therapy and two schedules of concurrent chemoradiotherapy in patients with unresectable squamous cell head and neck cancer. *Journal of Clinical Oncology*, Vol 21, No 1 (January 1), 2003: pp 92-98
43. Gilles Calais, Marc Alfonsi, Etienne Bardet, Christian Sire, Thierry Germain, Philippe Bergerot, Beatrix Rhein, Jacques Tortochaux, Patrick Oudinot, Philippe Bertrand: Randomized trial of radiation therapy versus concomitant chemotherapy and radiation therapy for advanced-stage oropharynx carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst*. 1999; 91:2081-6.

44. Fabrice Denis, Pascal Garaud, Etienne Bardet, Marc Alfonsi, Christian Sire, Thierry Germain, Philippe Bergerot, Beatrix Rhein, Jacques Tortochaux, and Gilles Calais: Final results of the 94-01 french head and neck oncology and radiotherapy group randomized trial comparing radiotherapy in advanced-stage oropharynx carcinoma. *J clin Oncol* 2004; 22:69-76.
45. Jacques Bernier, Jay S. Cooper, T.F. Pajak, M. Van Glabbeke, J. Bourhis, Arlene Forastiere, Esat Mahmeý Özşahin, John R. Jacobs, J. Jassem, Kie-Kian Ang, J. L. Lefebvre: Defining risk levels in locally advanced head and neck cancers: A comparative analysis of concurrent postoperative radiation plus chemotherapy trials of the eortc (#22931) and rtog (#9501). *Head Neck* 2005; 27:843-850.
46. 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. MACH-NC Collaborative Group. Meta-Analysis of Chemotherapy on Head and Neck Cancer. *Lancet*. 2000 Mar 18;355(9208):949-55.
47. Robert J. Amdur, William M. Mendenhall, Scott P. Stringer, Douglas B. Villaret, Nicholas J. Cassisi: Organ preservation with radiotherapy for T1-T2 carcinoma of the pyriform sinus. *Head Neck* 2001; 23:353-362.
48. Jacques Bernier, Jay S. Cooper: Chemoradiation after surgery for high-risk head and neck cancer patients: How strong is the Evidence?. *The Oncologist* 2005; 10:215-224.
49. Karen K. Fu, Thomas F. Pajak, Andy Trotti, Christopher U. Jones, Sharon A. Spencer, Theodore L. Phillips, Adam S. Garden, John A. Ridge, Jay S. Cooper, and K. Kian Ang For the radiation therapy oncology group.: A radiation therapy oncology group (rtog) phase III randomized study to compare hyperfractionation and two variants of accelerated fractionation to standard fractionation radiotherapy for head neck squamous cell carcinomas: first report of rtog 9003. *Int. J. Radiation Oncology Biol Phys*. 2000; 48:7-16.
50. Allie Garcia-Serra, Russell W. Hinerman, Robert J. Amdur, Christopher G. Morris, William M. Mendenhall: Radiotherapy for carcinoma in situ of the true vocal cords. *Head Neck* 2002; 24:390-394.

51. Bhishamjit S. Chera, Robert J. Amdur, Christopher G. Morris, Jessica M. Kirwan, and William M. Mendenhall: T1N0 to T2N0 squamous cell carcinoma of the glottic larynx treated with definitive radiotherapy. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 2010; 78:461-466.
52. Adam S. Garden, Ken Forster, Pei-Fong Wong, William H. Morrison, Naomi R. Schechter, and K. Kian Ang: Results of radiotherapy for T2N0 glottic carcinoma does the “2” stand for twice-daily treatment? *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 2003; 55:322-328.
53. Arlene A. Forasiere, Helmuth Goepfert, Moshe Maor, Thomas F. Pajak, Randal Weber, William Morrison, Bonnie Glisson, Andy Trotti, John A. Ridge, Clifford Chao, Glen Peters, Ding-Jen Lee, Andrea Leaf, John Ensley, and Jap Cooper: Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349:2091-2098.
54. Napoleone Ferrara : Vegf as a therapeutic target in cancer. *Oncology* 2005; 69 (suppl 3): 11-16.
55. Napoleone Ferrara: Vegf: an update on biological and therapeutic aspects. *Current Opinion in Biotechnology* 2000; 11:617-624.
56. Birgitta Olofsson, Michael Jeltsch, Ulf Eriksson, Kari Alitalo: Current biology of Vegf-B and Vegf-C. *Current Opinion in Biotechnology* 1999; 10:528-535.
57. Ferrara N. Gerber H. P. Lecouter J. The biology of vegf and its reseptors, *Nat. Med*, 2003, 9(6):669-676
58. Birgitta Olofsson, Katri Pajusola, Gabriel von Euler, Dmitri Chilov, Kari Alitalo, and Ulf Eriksson : Genomic organization of the mouse and human genes for vascular endothelial growth factor B ( vegf-b) and characterization of a second splice isoform. *The Journal Of Biological Chemistry* 1996; 271:19310-19317.
59. Marc G. Achen, Michael Jeltsch, Eola Kukk, Taija Makinen, Angela Vitali, Andrew F. Wilks, Kari Alitalo, and Steven A. Stacker: Vascular endothelial growth factor D (Vegf-D) is a ligand for the tyrosine kinases Vegf receptor 2 (Flk1) and Vegh receptor 3 (Flt4). *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 1998; 95:548-553.

60. Pipsa Saharinen, Tuomas Tammela, Marika J. Karkkainen and Kari Alitalo: Lymphatic vasculature: development, molecular regulation and role in tumor metastasis and inflammation. *Trends in Immunology* Vol.25 No.7 July 2004.
61. Hiroyuki Takahashi, Shosaku Hattori, Akihiro Iwamatsu, Hajime Takizawa, and Masabumi Shibuya: A novel snake venom vascular endothelial growth factor (vegf) predominantly induces vascular permeability through preferential signaling via vegf receptor-1. *The Journal Of Biological Chemistry*. 2004; 279:46304-46314.
62. Andreas Bikfalvi: Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Biochemical Pharmacology* 68 (2004); 1017-1021.
63. Hans-Peter Gerber, Napoleone Ferrara: The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis. *J. Mol. Med* 2003; 81:20-31.
64. Jen-Liang Su, Pan-Chyr Yang, Jin-Yuan Shih, Ching-Yao Yang, Lin-Hung Wei, Chang-Yao Hsieh, Chia-Hung Chou, Yung-Ming Jeng, Ming-Yang Wang, King-Jen Chang, Mien-Chie Hung, and Min-Liang Kuo: The VEGF-C/Flt-4 axis promotes invasion and metastasis of cancer cells. *Cancer Cell* 2006; 9:209-223.
65. Masakazu Toi, Hiroko Bando, Taeko Ogawa, Mario Muta, Carsten Hornig and Herbert A. Weich: Significance of vascular endothelial Growth factor (VEGF)/soluble vegf receptor-1 relationship in breast cancer. *Int. J. Cancer*. 2002; 98:14-18.
66. Diane R. Bielenberg, Curtis A. Pettaway, Seiji Takashima, Michael Klagsbrun: Neuropilins in neoplasms: Expression, regulation, and function. *Experimental Cell Research* 2006; 312:584-593.
67. Annette Schmidt, Klara Brixius, Wilhelm Bloch: Endothelial precursor cell migration during vasculogenesis. *Circulation Research* 2007; 101:125-136.
68. Carmeliet P.: Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature*. 2005 Dec 15; 438(7070):932-6.

69. Simendra Singh, Alok K. Gupta: Nitric oxide: role in tumour biology and inos/no-based anticancer therapies. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 67:1211-1224.
70. Georg Breier, Sabine Blum, Janos Peli, Marcel Groot, Carola Wild, Werner Risau and Ernst Reichmann: transforming growth factor- $\beta$  and ras regulate the Vegf/Vegf-Receptor system during tumor angiogenesis. *Int. J.Cancer*. 2002; 97:142-148.
71. Sachie Hiratsuka, Kazuhiro Nkamura, Shinobu Iwai, Masato Murakami, Takeshi Itoh, Hiroshi Kijima, J. Michael Shipley, Robert M. Senior, and Masabumi Shibuya: MMP9 induction by vascular endothelial growth factor receptor-1 is involved in lung-specific metastasis. *Cancer Cell*: October 2002.
72. Modjtahedi H, Dean C. The receptor for EGF and its ligands - expression, prognostic value and target for therapy in cancer (review). *Int J Oncol*. 1994 Feb;4(2):277-96.
73. John Mendelsohn and Jose Baselga: Status of Epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21:2787-2799.
74. Jennifer Rubin Grandis and David J. Tweardy: Elevated levels of transforming growth factor , and epidermal growth factor receptor messenger RNA are early markers of carcinogenesis in head and neck cancer. *Cancer Res* 1993; 53:3579-3584.
75. Nicholas W. Choong, Ezra E. W. Cohen: Epidermal growth factor receptor directed therapy in head and neck cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematolog* 2006; 57:25-43.
76. Mark E. Sharafinski, Robert L. Ferris, Soldano Ferrone, Jennifer R. Grandis: Epidermal growth factor receptor targeted therapy of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck* 2010; 32:1412-1421.

- 77.** Yuji Higashibata, Takahiko Sakuma, Hirohisa Kawahata, Shinji Fujihara, Keiji Moriyama, Atsushi Okada, Takahiro Yasui, Kenjiro Kohri, Yukihiko Kitamura, and Shintaro Nomura: Identification of promoter regions involved in cell-and developmental stage-specific osteopontin expression in bone, kidney, placenta, and mammary gland: an analysis of transgenic mice. *J. Bone Miner Res* 2004; 19:78-88.
- 78.** Hongyan Diao, Kazuya Iwabuchi, Lanjuan Li, Kazunori Onoe, Luc Van Kaer, Shigeyuki Kon, Yoshinari Saito, Junko Morimoto, David T. Denhardt, Susan Rittling, and Toshimitsu Uede: Osteopontin regulates development and function of invariant natural killer T cells. *Pnas.* 2008; 105: 15884-15889.
- 79.** Hongyan Diao, Shigeyuki Kon, Kazuya Iwabuchi, Chiemi Kimura, Junko Morimoto, Daisuke Ito, Tatsuya Segawa, Masahiro Maeda, Junji Hamuro, Toshinori Nakayama, Masaru Taniguchi, Hideo Yagita. Luc Van Kaer, Kazunori Onoe, and Toshimitsu Uede: Osteopontin as a mediator of NKT cell function in T cell-mediated liver diseases. *Immunity* 2004; 21:539-550.
- 80.** Philip Y. Wai, and Paul C. Kuo: The role of osteopontin in tumor metastasis. *Journal Of Surgical Resarch* 2004; 121:228-241.
- 81.** Tuck AB, Hota C, Wilson SM, Chambers AF: Osteopontin-induced migration of human mammary epithelial cells involves activation of EGF receptor and multiple signal transduction pathways. *Oncogene.* 2003 Feb 27;22(8):1198-205.
- 82.** Ross Soo, Thomas Putti, Qian Tao, Boon-Cher Goh, Kang-Hoe Lee Overexpression of Cyclooxygenase-in Nasopharyngeal Carcinoma and Association With Epidermal Growth Factor Receptor Expression *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;131:147-152
- 83.** Chih-Yen Chien, Chih-Ying Su, Hui-Ching Chuang, Fu-Min Fang, PhD,Hsuan-Ying Huang, Ching-Mei Chen, MS,Chang-Han Chen, PhD,Chao-Cheng Huang, Clinical significance of osteopontin expression in T1 and T2 tongue cancers



- 84.** Edward R. Sauter, Mark Nesbit, Cames C. Watson, Andres Klein-Szanto  
Vasculer endothelial growt factor is a marker of tumor invasion and metastasis in  
squamous cell carcinomas of the head and neck *Clinical Cancer Research* Vol. 5,  
775-,782, April 1999
- 85.** Overgaard J, Hansen HS, Jørgensen K, Hjelm Hansen M. Primary radiotherapy of  
larynx and pharynx carcinoma--an analysis of some factors influencing local  
control and survival. *J Radiat Oncol Biol Phys.* 1986 Apr;12(4):515-21.
- 86.** Giampietro Gasparini, Pierantonio Bevilacqua, Emanuela Bonoldi, Alessandro  
Testolin, Andrea Galassi, Paolo Verderio, Patrizia Boracchi, Rosa Bianca  
Guglielmi, and Francesco Pezzella: Predictive and prognostic markers in a series  
of patients with head and neck squamous cell invasive carcinoma treated with  
concurrent chemoradiation therapy. *Clinical Cancer Research.* 1995; 1:1375-  
1383
- 87.** William Joseph Campbell, Jorge I de la Torre: Head and Neck Cancer-Squamous  
Cell Carcinoma.
- 88.** Cooper JS, Farnan NC, Asbell SO, Rotman M, Marcial V, Fu KK, et al.  
Recursive partitioning analysis of 2105 patients treated in Radiation Therapy  
Oncology Group studies of head neck cancer. *Cancer* 1996 ; 77(99):1905-11.
- 89.** Van Acht MJ, Hermans J, Boks DE, Leer JW. The prognostic value of  
hemoglobin and a decrease in hemoglobin during radiotherapy in laryngeal  
carcinoma. *Radiother Oncol.* 1992 Apr;23(4):229-35.
- 90.** Van den Bogaert W, van der Schueren E, Horiot JC, De Vilhena M, Schraub  
S, Svoboda V, Arcangeli G, de Pauw M, van Glabbeke M. The EORTC  
randomized trial on three fractions per day and misonidazole in advanced head  
and neck cancer: prognostic factors. *Radiother Oncol.* 1995 May;35(2):100-6.

91. Joost L. Knegjens, Michael Hauptmann, Frank A. Pameijer, Alfons J. Balm, Frank J. Hoebbers, Josin A. de Bois, Johannes J. Kaanders, Carla M. van Herpen, Cornelia G. Verhoef, Oda B. Wijers, ruud G. Wiggenraad, Jan Buter, Coen R. Rasch: Tumor volume as prognostic factor in chemoradiation for Advanced Head and neck Cancer. *Head Neck* 2010; 00:000-000. *Head & Neck* Doi10.1002 2010.
92. Mamelle,G., Pampurik, J., Luboinski,B.,Lancar, R., Lusinchi A., and Bosq, J. Lymph node prognostic factors in head neck squamous cell carcinomas. *Am J. Surg*,1994; 168:494-498.
93. Akihiro Homma, Yasushi Furuta, Nobuhiko Oridate, Yuko Nkanı, Gen Kohashi, Katsunori Yagi, Tatsumi Nagahashi, Satoshi Fukuda, Kazuaki Inoue, and Yukio Inuyama: Prognostic significance of clinical parameters and biological markers in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck treated with concurrent chemoradiotherapy. *Clinical Cancer Research*. April 1999; 5:801-806.
94. Bourhis J, Le Maitre A, Baujat B,et al:Individual patients data meta-analyses in head and neck cancer. *Curr Opin Oncol*. 2007; 19:188-194.
95. Pignon JP, Bourhis J, Domenge C, et al: Chemoteraphy added to locoregional treatment for head and neck squamous cell carcinoma. Three meta-analyses of updated indiviual data. *Lancet* 2000; 355:949-955.
96. Forastiere AA, Goepfert H, Maor M, et al: Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advaced laryngeal cancer. *N. Eng. J. Med*. 2003; 349:2091-2098.
97. Withers HR, Taylor JM, Maciejewski B. The hazard of accelerated tumor clonogen repopulation during radiotherapy. *Acta Oncol* 1988; 27 (2):131-146.
98. Steven S. Chang, joseph Califono: current status of biomarkers in head and neck cancer. *Journal Of Surgical Oncology* 2008; 97:640-643.
99. David J.Chen and Chaitanya S. Nirodi: The epidermal growth factor receptor: A role in repair of radiation-induced DNA damage.*Clin Cancer Res* 2007; 13(22) November15.

100. K.Kian Ang, Brian A. Berkey, Xiaoyu Tu, Hua-Zhong Zhang, Ruth Katz, Elizabeth H. Hammond, Karen K. Fu, and Luka Milas: Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Research* 2002; 62:7350-7356.
101. Jennifer Rubin Grandis, Mona F. Melhem, William E. Gooding, Roger Day, Valerie A. Holst, Marilyn M. Wagener, Stephanie D. Drenning, David J. Tweardy: Levels of TGF- $\alpha$  EGFR protein in head and neck squamous cell carcinoma and patient survival. *J. Natl. Cancer Inst.* 1998; 90:824-832.
102. Nurnico J. Russi EG: EGFR status and prognosis of patients with locally advanced head and neck cancer treated with chemoradiotherapy. *Ant. Cancer Res.* 2010 Feb; 30(2):671-676.
103. Panayiotis A. Kyzas, Isebella W. Cunha, and John P.A. Ioannidis: Prognostic significance of vascular endothelial growth factor immunohistochemical expression in head and neck squamous cell carcinoma: A meta-analysis. 2005; 11:1434-1440.
104. Edward R. Sauter, Mark Nesbit, James C. Watson, Andres Klein-Szanto, Samuel Litwin, and Mennhard Herlyn. 1999; 5:775-782.
105. S.G.Martin, C Orridge, A. Mukherjee, D.A.L. Morgan: Vascular endothelial growth factor expression predicts outcome after primary radiotherapy for head and neck squamous cell cancer. *Clinical Oncology* 2007; 19:71-76.
106. Escudier B, Eisen T, Stadler WM, et al: Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma, *N Engl J Med* 2007; 356:125-134.
107. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al: Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359:378-390.
108. Hema Rangaswani, Anuradha Bulbule and Gopal C. Kundu: Osteopontin: role in cell signaling and cancer progression. *Trends in cell biology* Vol.16 No.2 February 2006.

