

# Možnosti inhibice receptoru pro epidermální růstový faktor u karcinomu anu

## The Possibility of Epidermal Growth Factor Receptor Inhibition in Anal Cancer

Richter I.<sup>1</sup>, Dvořák J.<sup>2</sup>, Jirásek T.<sup>3</sup>, Bartoš J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Onkologické oddělení, Krajská nemocnice Liberec, a. s.

<sup>2</sup> Onkologická klinika 1. LF UK a Thomayerova nemocnice, Praha

<sup>3</sup> Oddělení patologie, Krajská nemocnice Liberec, a. s.

### Souhrn

Karcinom anu patří mezi vzácná nádorová onemocnění. Standardem v léčbě lokálního a lokálně pokročilého onemocnění je konkomitantní chemoradioterapie založená na kombinaci mitomycinu C a 5-fluorouracilu. Tato léčba je ale zatížená významnou morbiditou. S rozvojem molekulární biologie se hledají nové léčebné strategie. Expresie receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR) je u karcinomu anu nalezena v 55–100 % případů. Některé studie také demonstrovaly, že *KRAS* mutace, jako marker rezistence k antiEGFR terapii, je u karcinomu anu vzácná. Přehledový článek se zabývá aktuálním pohledem na možnosti antiEGFR terapie u pokročilého a metastatického karcinomu anu.

### Klíčová slova

karcinom anu – chemoradioterapie – monoklonální protilátky – receptor pro epidermální růstový faktor

### Summary

Anal cancer is a relatively rare tumour. In local and locally advanced disease, concomitant chemoradiation based on mitomycin C and 5-fluorouracil, remains golden standard of treatment. However, this treatment is associated with significant morbidity. With the developing of molecular biology, new treatment strategies can be investigated. Epidermal growth factor receptor (EGFR) expression in anal cancer is observed in 55–100% of cases. Some studies demonstrated that *KRAS* mutations, mechanism marker of resistance to antiEGFR therapy, are rare in anal cancer. This paper presents current view on the possibilities of antiEGFR therapy in locally advanced and metastatic anal cancer.

### Key words

anal cancer – chemoradiotherapy – monoclonal antibodies – epidermal growth factor receptor

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.



MUDr. Igor Richter, Ph.D.

Onkologické oddělení

Krajská nemocnice Liberec, a. s.

Husova 10

460 63 Liberec

e-mail: igor.richter@seznam.cz

Obdrženo/Submitted: 29. 3. 2015

Přijato/Accepted: 29. 4. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2015260>

## Úvod

Karcinom anu patří mezi méně častá onkologická onemocnění. Představuje 1–2 % všech malignit gastrointestinálního traktu [1]. Histologicky se nejčastěji vyskytuje spinocelulární karcinom, na rozvoji kterého se z 80–85 % podílí infekce lidským papilomavirem [2]. K základním prognostickým faktorům řadíme klinické stadium, stav poškození regionálních lymfatických uzlin, nádorový grading, lokalizaci nádoru, pohlaví, dávku radioterapie na oblast tumoru a spádových lymfatických uzlin [3]. Základní léčebnou modalitou lokálního a lokálně pokročilého karcinomu anu je konkomitantní chemoradioterapie, která umožňuje zachovat funkce svěrače s lepší kvalitou života. Problémem chemoradioterapie je vysoká toxicita léčby vyžadující adekvátní podpůrnou léčbu. U 10–20 % pacientů dochází k rozvoji diseminace onemocnění, kde je léčebnou možností podání paliativní chemoterapie. Léčebné výsledky těchto pacientů, podobně i pacientů s lokální recidivou onemocnění nejsou uspokojivé. S rozvojem molekulární biologie se hledají další prognostické a prediktivní faktory s cílem zlepšit léčebné výsledky a léčbu více individualizovat. Mezi nejvíce studované patří signální dráha receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR). Přehledový článek přináší aktuální pohled na léčebnou strategii karcinomu anu a na možnost využití antiEGFR terapie u této nemoci.

## Současné možnosti léčby karcinomu anu

Indikace léčby by měla vycházet jednak z rozsahu onemocnění, jednak nutno zvážit i faktory na straně pacienta, jako jsou celkový stav, přítomnost komorbidit či preference nemocného. Před zahájením léčby je vhodné pacienta konzultovat v rámci multidisciplinárního týmu. Chirurgickou léčbu (lokální excize) jako primární léčebnou modalitu lze indikovat u pacientů s dobře diferencovaným karcinomem análního kraje, velikosti do 2 cm a v případě, že je možné provést excizi s adekvátním okrajem alespoň 5 mm. V léčbě pokročilejších nádorů nebo nádorů v oblasti análního kanálu byla v minulosti standardním po-

stupem mutilující abdominoperineální amputace s nutností trvalé kolostomie. Pět let od operace přežívalo 40–70 % pacientů [4]. V roce 1974 Nigro et al pozorovali kompletní remisi u pacientů léčených konkomitantní chemoradioterapií [5]. Od té doby proběhlo několik studií II. fáze a šest randomizovaných studií III. fáze, na podkladě kterých dnes představuje konkomitantní chemoradioterapie základní léčebnou modalitu karcinomu anu. Na druhé straně ale dosud nebyla publikovaná prospektivní randomizovaná studie, která by hodnotila konkomitantní chemoradioterapii s chirurgickým výkonem. Konkomitantní chemoradioterapie prokázala účinnost i u pacientů v prvním klinickém stadiu [6]. Klinické studie první generace hodnotily přínos konkomitantní chemoradioterapie ve srovnání se samostatnou radioterapií. Studie ACT I a EORTC 22861 prokázaly vyšší procento kompletní remise, nižší výskyt lokální recidivy u pacientů s konkomitantní chemoradioterapií než u pacientů léčených radioterapií samotnou. Pětileté celkové přežití (overall survival – OS) bylo beze změn [7,8]. V roce 2010 prezentovaná analýza studie ACT I se sledováním pacientů po 13 letech prokázala lepší OS pacientů léčených konkomitantní chemoradioterapií. Medián OS byl 7,6 roku u pacientů v ramenu s konkomitantní chemoradioterapií, medián OS pacientů léčených samotnou radioterapií byl 5,4 roku [9]. Jako režim chemoterapie byla použita kombinace mitomycinu a 5-fluorouracilu (5-FU). Klinické studie druhé generace potvrdily lepší výsledky kombinace mitomycinu a 5-FU než samotné chemoterapie 5-FU. Klinická studie III. fáze potvrdila při aplikaci kombinované chemoterapie nižší výskyt kolostomie, delší přežití bez známek recidivy ve čtyřech letech. OS bylo beze změn. Toxicita léčby byla významně vyšší při kombinaci cytostatik [10]. Klinické práce další generace se snažily hodnotit i možný význam dalších cytostatik, především cisplatinu jako cytostatika se silným radiosenzibilizujícím účinkem. Dále byly diskutovány i možnosti neoadjuvantní chemoterapie před či udržovací chemoterapie po chemoradioterapii. Klinická studie RTOG 98–11 prokázala

vyšší procento pětiletého OS (78,2 vs. 70,5 %) a pětiletého přežití bez známek recidivy (67,7 vs. 57,9 %) při užití kombinace mitomycin/5-FU ve srovnání s cisplatinou/5-FU. Hematologická toxicita byla vyšší u pacientů léčených mitomycinem [11]. Rozsáhlejší studie ACT II neprokázala významnější rozdíl mezi mitomycinem a cisplatinou [12]. Na podkladě obou studií lze konstatovat, že substituce mitomycinu cisplatinou neprokázala lepší léčebné výsledky ve smyslu procenta kompletní remise, lokální kontroly či OS. Studie také neprokázaly význam neoadjuvantní chemoterapie před zahájením chemoradioterapie ani význam udržovací chemoterapie po ukončení chemoradioterapie. Kapecitabin je akceptovaná alternativa 5-FU v léčbě kolorektálního karcinomu (colorectal cancer – CRC) [13–16]. V léčbě karcinomu anu bylo hodnoceno 58 pacientů retrospektivně léčených kapecitabinem a 47 pacientů léčených 5-FU. Nebyly prokázány odlišné léčebné výsledky, podobně jako i v další retrospektivní studii [17,18]. NCCN (National Comprehensive Cancer Network) doporučuje jako možnou alternativu kombinaci kapecitabinu s mitomycinem ke kombinaci mitomycin/5-FU. Minimální dávka radioterapie představuje 45–50 Gy na oblast primárního nádoru pro tumory T1–2 N0. U pokročilejších stadií (T3–4 nebo v případě poškození lymfatických uzlin) je doporučeno navýšení dávky o 9–14 Gy [19]. Problémem konkomitantní chemoradioterapie je vysoký výskyt akutní toxicity léčby. Výše zmíněné klinické studie RTOG 98–11 a ACT II prokázaly akutní toxicitu stupně III a IV v 72–74 %. Jednalo se nejčastěji o kožní, hematologickou a gastrointestinální toxicitu [11,12]. Příčinou je množství citlivých tkání v ozařovacím objemu (střevní sliznice, rektum, močový měchýř, perineum, zevní genitál, hlavice stehenních kostí). Toleranci léčby lze zlepšit využitím moderních ozařovacích technik, jak potvrdila dozimetrická studie, která prokázala nižší dávkové zatížení kritických orgánů při využití techniky radioterapie s modulovanou intenzitou svazku (intensity modulated radiation therapy – IMRT) ve srovnání s konvenční technikou radioterapie [20]. Teoreticky předpoklad

výhody IMRT potvrdila prospektivní klinická studie II. fáze RTOG 0529 se snížením procenta hematologické toxicity stupně II–IV, gastrointestinální toxicity stupně III–IV a kožní toxicity stupně III–IV při využití techniky IMRT [21]. Navzdory účinnosti chemoradioterapie lze pozorovat lokální selhání léčby asi u 10–30 % pacientů [22]. Tato skupina pacientů by měla být indikována k záchranné abdominoperineální amputaci. Před tímto mutilujícím výkonem je vhodné provést histologickou verifikaci [23]. Zhruba u 10–20 % pacientů se objeví vzdálená diseminace onemocnění. Nejčastějším místem výskytu metastáz jsou játra, plíce a extrapánevní lymfatické uzliny [24]. U pacientů v dobrém výkonnostním stavu lze zvážit podání paliativní chemoterapie, nejčastěji v režimu cisplatina a 5-FU. Multicentrická studie fáze II se snaží hodnotit i kombinaci karboplatiny s paklitaxelem. S rozvojem molekulární biologie se hledají další možné prediktivní a prognostické faktory s cílem zlepšit léčebné výsledky a více individualizovat terapii karcinomu anu. Mezi nejčastěji studované patří dráha EGFR.

### EGFR a jeho význam u karcinomu anu

Receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR, HER1, erbB-1) je 170 kDa vážící transmembránový glykoprotein [25]. Je složen z 1 186 aminokyselin. Jeho produkce je kódovaná genem *EGFR1*, který je uložen na krátkém ramínku 7. chromozomu (7p12). EGFR patří do rodiny erb-B tyrozinkinázových receptorů, kam dále řadíme také HER2 (erbB-2), HER3 (erbB-3) a HER4 (erbB-4). EGFR má extracelulární doménu sloužící pro vazbu ligandu, transmembránovou lipofilní doménu a intracytoplazmatickou doménu, která vykazuje tyrozinkinázovou aktivitu [26]. Mezi ligandy EGFR patří epidermální růstový faktor (EGF), amphiregulin, epiregulin, transformující růstový faktor alfa (TGF $\alpha$ ), betacellulin, heparin-binding EGF (HB-EGF) [27]. EGFR může být také aktivován ionizujícím zářením. Po navázání ligandů dochází k homodimerizaci dvou extracelulárních domén EGFR nebo heterodimerizaci EGFR domény s jiným z členů erbB

rodiny. Po internalizaci dimérů dochází k autofosforylaci intracelulární tyrozinkinázové domény. Ta aktivuje cytoplazmatické transdukční proteinové kaskády, které indukují buněčnou proliferaci, akceleraci buněčné repopulace a inhibují apoptózu [28]. EGFR hraje důležitou roli při zachování normální funkce a reparace zdravých epidermálních tkání. Zvýšená aktivita EGFR je popsána u mnoha zhoubných nádorů. Aktivace EGFR na povrchu nádorových buněk je spojená s agresivnějším chováním nádorových buněk a horší odpovědí na radioterapii nebo chemoterapii [29,30]. Zvýšená exprese EGFR také zvyšuje motilitu nádorových buněk [31]. Radiobiologické studie potvrzují EGFR kritickou úlohu cytoprotektivních a pro-proliferativních reakcí nádorových buněk po ozáření. Na podkladě daných skutečností lze předpokládat, že indukované zvýšení exprese EGFR po radioterapii souvisí z akcelerovanou repopulací nádorových buněk [32,33]. Zvýšení nádorové repopulace v průběhu radioterapie vede k obnově klonogenních nádorových buněk, čímž působí kontraproduktivně vůči samotné léčbě zářením [34–36]. U karcinomu anu byla prokázána zvýšená exprese EGFR v 55–100 % [37–41]. Byla publikovaná práce, která hodnotila imunohistochemickou expresi EGFR u 43 pacientů. U 7 nebyla prokázána exprese EGFR, 7 pacientů mělo slabou expresi, 12 pacientů mělo středně silnou expresi a 17 pacientů mělo silně vyjádřenou expresi EGFR. Nebyla pozorována korelace mezi expresí EGFR a věkem pacienta nebo stupněm histologické diferenciace nádoru [42]. Na podkladě výše zmíněných skutečností je vhodné nalézt možnost inhibice funkce EGFR v průběhu onkologické léčby. První skupinu představuje možnost inhibice EGFR pomocí syntetických inhibitorů cytoplazmatické tyrozinkinázové aktivity EGFR označených jako tyrozinkinázový inhibitor (TKI). Jedná se o malé molekuly schopné prostupu cytoplazmatickou membránou. Největšího uplatnění dosáhly perorální TKI gefitinib a erlotinib. V současné době mají význam hlavně v paliativní léčbě nemalobuněčného plicního karcinomu [43]. Další skupinu představují monoklonální protilátky na-

mířené proti extracelulární receptorové doméně EGFR. Největšího uplatnění dosáhl cetuximab a panitumumab, hlavně v léčbě metastatického kolorektálního karcinomu (metastatic colorectal cancer – mCRC) [44–49]. S rozvojem molekulární biologie bylo zjištěno, že zásadním prediktivním faktorem pro použití anti-EGFR léčby u mCRC je stav onkogeny *KRAS*, později celého komplexu *RAS* [45,50]. Onkogeny *RAS* kódují regulační proteiny, které významně ovlivňují signální dráhu spouštěnou aktivací EGFR. Mohou se vyskytovat v nádorech buď v normální nemutované formě (wild-type), nebo v přítomnosti aktivní mutace. Tady je regulační protein *RAS* trvale aktivován bez ohledu na inhibici EGFR. Proběhlo několik studií s cílem zjistit frekvenci mutace genu *KRAS* u karcinomu anu. Tři práce hodnotily stanovení mutace *KRAS* dohromady u 146 pacientů. Ani jedno vyšetření neprokázalo výskyt mutované formy genu *KRAS* [41,42,51]. Větší práce hodnotila 193 biopsií a jenom ve třech případech byla prokázána mutace genu *KRAS* [52]. Podobně jako u spinocelulárních karcinomů anu i u spinocelulárních karcinomů hlavy a krku je frekvence mutací genu *KRAS* mnohem méně častá než u CRC, kde se mutace objevuje v 30–50 % případů [53,54]. U karcinomu hlavy a krku byl přínos antiEGFR terapie cetuximabem zdokumentován v léčbě lokálně pokročilého onemocnění i v léčbě metastatického či rekurentního onemocnění [55,56]. Prediktivní vliv mutace *KRAS* genu hodnotila malá studie sedmi pacientů s metastatickým karcinomem anu léčených cetuximabem. U dvou pacientů byla prokázána mutace *KRAS* genu. Pacienti s mutovaným *KRAS* genem progredovali, na rozdíl od skupiny s nemutovaným genem *KRAS*, kde byla zaznamenána léčebná odpověď nebo stabilizace onemocnění [57]. Na ASCO 2012 byla prezentována klinická studie II. fáze ECOG 3205, která hodnotila účinnost a bezpečnost podání kombinace cetuximabu a chemoradioterapie u pacientů s karcinomem anu bez poruchy imunitního systému. První výsledky prokázaly dvouleté RFS u 92 % pacientů, bezpečnost autoři hodnotili jako přijatelnou. Autoři

prezentovali podobnou terapii i u imunosuprimovaných pacientů s HIV infekcí, kde dvouleté přežití bez recidivy bylo u 80 % pacientů (studie AMC 045) [58]. Naopak další studie fáze II ACCORD 16 byla předčasně ukončena z důvodu vysoké toxicity kombinace cetuximabu a chemoradioterapie s využitím kombinace cisplatinu a 5-FU [59]. Podobně i další studie prokázala vysokou toxicitu léčby cetuximabem [60]. Hodnocení přínosu cetuximabu či panitumumabu v terapii metastatického karcinomu anu zatím máme k dispozici většinou ve formě kazuistických sdělení [61]. K dalšímu možnému využití antiEGFR léčby u karcinomu anu by mohlo přispět dozrání dat již výše zmíněných studií ECOG 3205 a AMC 045. Pro vysoké riziko toxicity kombinace chemoradioterapie s antiEGFR léčbou je vhodná další individualizace pacientů, kteří by měli větší prospěch z této léčby. Již výše uvedené radiobiologické poznatky prokázaly, že zvýšená exprese EGFR během radioterapie je spojena s akcelerovanou repopulací nádorových kmenových buněk. U karcinomu rekta proběhla studie, která hodnotila dynamiku změny exprese EGFR během neoadjuvantní chemoradioterapie. U pacientů se zvýšenou expresí EGFR bylo zjištěno významně kratší OS a přežití bez známek recidivy onemocnění. Jednalo se přibližně o 25 % hodnocených pacientů. Exprese EGFR byla vyšetřena jednak před zahájením chemoradioterapie v diagnostické biopsii, jednak v resekátu po operaci [62]. U karcinomu anu lze také předpokládat výskyt akcelerované repopulace nádorových kmenových buněk, podobně jako u spinocelulárních karcinomů hlavy a krku. Otázkou je způsob stanovení dynamiky exprese EGFR, protože v léčbě karcinomu anu se chirurgický výkon po chemoradioterapii provádí až v případě selhání nechirurgické léčby. Kontrolní biopsie v době chemoradioterapie nebo těsně po jejím ukončení může být pro pacienty bolestivá při výrazné kožní reakci a navíc vzorek nemusí být výtěžný. Možností je méně invazivní vyšetření PET EGFR hodnotící změnu dynamiky exprese EGFR *in vivo* [63]. Cílem je identifikovat pacienty, kteří by mohli mít prospěch z časného zařazení antiEGFR

terapie do léčebného algoritmu. K ozřejmění této problematiky budou ale nutné další prospektivní klinické studie.

### Závěr

Karcinomu anu nepatří mezi častá onkologická onemocnění. Základem léčby je konkomitantní chemoradioterapie, která je léčebným standardem již přes 30 let. Tato léčba je zatížena vysokou toxicitou. Dostatečná podpůrná terapie toxicity je základem úspěšného zvládnutí tohoto potenciálně kurativního onemocnění. S rozvojem molekulární biologie se hledají další prognostické a prediktivní faktory léčby. Jedním z nejvíce studovaných je EGFR. Využití antiEGFR terapie u karcinomu anu zatím nepatří ke standardním postupům. K jejímu praktickému uplatnění budou nutné výsledky prospektivních klinických studií.

### Literatura

1. Šlampa P, Vošmik M, Přibyllová O et al. Zhubné nádory anu. In: Šlampa P, Petera J et al (eds). Radiační onkologie. 1. vyd. Praha: Galén 2007: 145–152.
2. Daling JR, Madeleine MM, Johnson LG et al. Human papillomavirus, smoking, and sexual practices in the etiology of anal cancer. *Cancer* 2004; 101(2): 270–280.
3. Kocáková I, Kocák I, Soumarová R. Chemoradioterapie nádoru anu. In: Šlampa P, Soumarová R, Kocáková I et al (eds). Konkomitantní chemoradioterapie solidních nádorů. Praha: Galén 2005: 55–62.
4. Ryan DP, Compton CC, Mayer RJ. Carcinoma of the anal canal. *N Engl J Med* 2000; 342(16): 792–800.
5. Nigro ND, Vaitkevicius VK, Considine B. Combined therapy for cancer of the anal canal: a preliminary report. *Dis Colon Rectum* 1974; 17(3): 354–356.
6. Cummings BJ, Keane TJ, O'Sullivan B et al. Epidermoid anal cancer: treatment by radiation alone or by radiation and 5-fluorouracil with and without mitomycin C. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 21(5): 1115–1125.
7. UK Coordinating Committee on Cancer Research. Epidermoid anal cancer: results from the UKCCCR randomized trial of radiotherapy alone versus radiotherapy, 5-fluorouracil, and mitomycin. *UKCCCR Anal Cancer Trial Working Party. Lancet* 1996; 348(9034): 1049–1054.
8. Bartelink H, Roelofsens F, Eschwege F et al. Concomitant radiotherapy and chemotherapy is superior to radiotherapy alone in the treatment of locally advanced anal cancer: results of phase III randomized trial of the EORTC and Gastrointestinal Cooperative Groups. *J Clin Oncol* 1997; 15(5): 2040–2049.
9. Northover J, Glynn-Jones R, Sebag-Montefiore D et al. Chemoradiation for the treatment of epidermoid anal cancer: 13-year follow up of the first randomized UKCCCR Anal Cancer Trial (ACT I). *Br J Cancer* 2010; 102(7): 1123–1128. doi: 10.1038/sj.bjc.6605605.
10. Flam M, John M, Pajak TF et al. Role of mitomycin in combination with fluorouracil and radiotherapy, and salvage chemoradiation in the definitive nonsurgical treatment of epidermoid carcinoma of the anal canal: results of a phase III randomized intergroup study. *J Clin Oncol* 1996; 14(9): 2527–2539.

11. Gunderson LL, Winter KA, Ajani JA et al. Long-term update of US GI intergroup RTOG 98–11 phase III trial for anal carcinoma: survival, relapse, and colostomy failure with concurrent chemoradiation involving fluorouracil/mitomycin versus fluorouracil/cisplatin. *J Clin Oncol* 2012; 30(35): 4344–4351. doi: 10.1200/JCO.2012.43.8085.
12. James RD, Glynn-Jones R, Meadows HM et al. Mitomycin or cisplatin chemoradiation with or without maintenance chemotherapy for treatment of squamous-cell carcinoma of the anus (ACT II): a randomized, phase 3, open-label, 2 × 2 factorial trial. *Lancet* 2013; 14(6): 516–524. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70086-X.
13. Cassidy J, Clarke S, Diaz-Rubio E et al. Randomized phase III study of capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil/folinic acid plus oxaliplatin as first-line therapy for metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26(12): 2006–2012. doi: 10.1200/JCO.2007.14.9898.
14. Fuschs CS, Marshall J, Mitchell E et al. Randomized controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results from BICC-C Study. *J Clin Oncol* 2007; 25(30): 4779–4789.
15. Haller DG, Taberero J, Maroun J et al. Capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil and folinic acid as adjuvant therapy for stage III colon cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29(11): 1465–1471. doi: 10.1200/JCO.2010.33.6297.
16. Hofheinz RD, Wenz F, Post S et al. Chemoradiotherapy with capecitabine versus fluorouracil for locally advanced rectal cancer: a randomized, multicentre, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13(6): 579–588. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70116-X.
17. Meulendijks D, Dewit L, Tomaso NB et al. Chemoradiotherapy with capecitabine for locally advanced anal carcinoma: an alternative treatment option. *Br J Cancer* 2014; 111(9): 1726–1733. doi: 10.1038/bjc.2014.467.
18. Goodman K, Rothstein D, Lajhem C et al. Capecitabine plus mitomycin in patients undergoing definitive chemoradiation for anal squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2014; 90 (Suppl 1): S32–S33.
19. Kazda T, Syptáková B, Šlampa P et al. Zhubné nádory anu. In: Šlampa P et al (eds). Radiační onkologie v praxi. 3. vyd. Brno: Masarykův onkologický ústav 2011: 78–85.
20. Menkarios C, Azria D, Laliberte B et al. Optimal organ-sparing intensity modulated radiation therapy (IMRT) regimen for the treatment of locally advanced anal canal carcinoma: a comparison of conventional IMRT plans. *Radiat Oncol* 2007; 2: 41.
21. Kachnic LA, Winter K, Myerson RJ et al. RTOG 0529: a phase II evaluation of dose-painted intensity modulated radiation therapy in combination with 5-fluorouracil and mitomycin C for the reduction of acute morbidity in carcinoma of the anal canal. *Int Radiat Oncol Biol Phys* 2013; 86(1): 27–33. doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.09.023.
22. Schiller DE, Cummings BJ, Rai S et al. Outcomes of salvage surgery for squamous cell carcinoma of the anal canal. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(10): 2780–2789.
23. Mullen JT, Rodriguez-Bigaz MA, Chang GJ et al. Results of surgical salvage after failed chemoradiation therapy for epidermoid carcinoma of the anal canal. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(2): 478–483.
24. Cummings BJ. Metastatic anal cancer: the search for cure. *Onkologie* 2006; 29(1–2): 5–6.
25. Sírák I, Hatlová J, Petera J et al. Receptor pro epidermální růstový faktor a jeho úloha v radioterapii. *Klin Onkol* 2008; 21(6): 338–347.
26. Willett CG, Duda DG, Czito BG et al. Targeted therapy in rectal cancer. *Oncology* 2007; 21(9): 1055–1065.
27. Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer: signalling mechanism and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer* 2001; 37 (Suppl 4): S3–S8.
28. Ueberall I, Kolar Z, Trojec R et al. The status and role of ErbB receptors in human cancer. *Exp Mol Pathol* 2008; 84(2): 79–89. doi: 10.1016/j.yexmp.2007.12.002.

29. Akimoto T, Hunter NR, Buchmiller L et al. Inverse relationship between epidermal growth factor expression and radiocurability of murine carcinomas. *Clin Cancer Res* 1999; 5(10): 2884–2890.
30. Liang K, Ang KK, Milas L et al. The epidermal growth factor receptor mediates radioresistance. *Int J Radiat Biol Phys* 2003; 57(1): 246–254.
31. Verbeek BS, Andriaansen-Slot SS, Vroom TM et al. Overexpression of EGFR and c-erbB2 causes enhanced cell migration in human breast cancer cells and NIH3T3 fibroblasts. *FEBS Lett* 1998; 425(1): 145–150.
32. Withers HR, Taylor JM, Maciejewski B et al. The hazard of accelerated tumour clonogen repopulation during radiotherapy. *Acta Oncol* 1988; 27(2): 131–146.
33. Baumann M, Petersen C, Eichler W et al. Mechanism of repopulation in experimental squamous cell carcinoma. In: Kogelnik HD, Lukas P, Sedlmayer F (eds). *Progress in radiation-oncology*. Vol. 7. Bologna: Monduzzi 2002: 417–422.
34. Begg AC. Prediction of repopulation rates and radio-sensitivity in human tumours. *Int J Radiat Biol* 1994; 65(1): 103–108.
35. Fowler JF. Rapid repopulation in radiotherapy: a debate on mechanism. The phantom of tumor treatment-continually rapid proliferation inmasked. *Radiother Oncol* 1991; 22(3): 156–158.
36. Schmitdt-Ullrich RK, Contessa JN, Dent P et al. Molecular mechanism of radiation-induced accelerated repopulation. *Radiat Oncol Invest* 1999; 7(6): 321–330.
37. Alvarez G, Perry A, Tan BR et al. Expression of epidermal growth factor receptor in squamous cell carcinomas of the anal canal is independent of gene amplification. *Mod Pathol* 2006; 19(7): 942–949.
38. Le LH, Chetty R, Moore MJ. Epidermal growth factor receptor expression in anal carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2005; 124(1): 20–23.
39. Van Damme N, Deron P, Van Roy N et al. Epidermal growth factor receptor and KRAS status in two cohorts of squamous cell carcinomas. *BMC Cancer* 2010; 10: 189. doi: 10.1186/1471-2407-10-189.
40. Walker F, Abramowitz L, Benabderrahmane D et al. Growth factor receptor expression in anal squamous lesions: modifications associated with oncogenic human papillomavirus and human immunodeficiency virus. *Hum Pathol* 2009; 40(11): 1517–1527. doi: 10.1016/j.hum.path.2009.05.010.
41. Zampino MG, Magni E, Sonzogni A et al. KRAS status in squamous cell anal carcinoma (SCC): it's time for target-oriented treatment? *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 65(1): 197–199. doi: 10.1007/s00280-009-1117-3.
42. Van Damme N, Deron P, Van Roy N et al. Epidermal growth factor receptor and KRAS status in two cohorts of squamous cell carcinomas. *BMC Cancer* 2010; 10: 189. doi: 10.1186/1471-2407-10-189.
43. Shepherd FA, Pereira JR, Ciuleanu T et al. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2005; 353(2): 123–132.
44. Cunningham D, Humblet Y, Siena S et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(4): 337–345.
45. Van Cutsem E, Kohne CH, Láng I et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorine as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: update analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol* 2011; 29(15): 2011–2019. doi: 10.1200/JCO.2010.33.5091.
46. Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A et al. Fluorouracil, leucovorin and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27(5): 663–671. doi: 10.1200/JCO.2008.20.8397.
47. Maughan TS, Adams RA, Smith CG et al. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomized phase 3 MRC COIN trial. *Lancet* 2011; 377(9783): 2013–2114. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60613-2.
48. Tveit KM, Guren T, Glimelius B et al. Phase III trial of cetuximab with continuous or intermittent fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (Nordic FLOX) versus FLOX alone in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: the NORDIC-VII study. *J Clin Oncol* 2012; 30(15): 1755–1762. doi: 10.1200/JCO.2011.38.0915.
49. Van Cutsem E, Peeters M, Siena S et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(13): 1658–1664.
50. Oliner KS, Douillard JY, Siena S et al. Analysis of KRAS/NRAS and BRAF mutation in the phase III PRIME study of panitumumab (pab) plus FOLFOX versus FOLFOX as first-line treatment (tx) for metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol* 2013; 31 (Suppl): abstr. 3511.
51. Paliga A, Onerheim R, Gologan A et al. EGFR and KRAS gene mutation status in squamous cell anal carcinoma: a role for concurrent radiation and EGFR inhibitors? *Br J Cancer* 2012; 107(11): 1864–1868. doi: 10.1038/bjc.2012.479.
52. Serup-Hansen E, Linnemann D, Hogdal E et al. KRAS and BRAF mutation in anal carcinoma. *APMIS* 2015; 123(1): 53–59. doi: 10.1111/apm.12306.
53. Chang SE, Bhatia P, Johnson NW et al. Ras mutation in United Kingdom examples of oral malignancies are infrequent. *Int J Cancer* 1991; 48(3): 409–412.
54. Wang WY, Chein YC, Wong YK et al. Effects of KRAS status mutation and polymorphism on the risk and prognosis of oral squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2012; 34(5): 663–666. doi: 10.1002/hed.21792.
55. Bonner JA, Harari PM, Giralt J et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of head and neck. *N Engl J Med* 2006; 354(6): 567–578.
56. Vermorek JB, Mesia R, Rivera F et al. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med* 2008; 359(11): 1116–1127. doi: 10.1056/NEJMoa0802656.
57. Lukan N, Strobel P, Willer A et al. Cetuximab-based treatment of metastatic anal cancer: correlation of response with KRAS mutational status. *Oncology* 2009; 77(5): 293–299. doi: 10.1159/000259615.
58. Garg M, Lee JY, Kachnic LA et al. Phase II trials of cetuximab (CX) plus cisplatin (CDDP), 5-fluorouracil (5-FU) and radiation (RT) in immunocompetent (ECOG 3205) and HIV-positive (AMC045) patients with squamous cell carcinoma of the anal canal (SCAC): safety and preliminary efficacy results (abstract). *ASCO Meeting Abstracts* 2012; 30: 4030.
59. Deusch E, Lemanski C, Pignon JP et al. Unexpected toxicity of cetuximab combined with conventional chemoradiotherapy in patients with locally advanced anal cancer: results of the UNICANCER ACCORD 16 phase II trial. *Ann Oncol* 2013; 24(11): 2834–2838. doi: 10.1093/annonc/mdt368.
60. Olivatto LO, Viera FM, Pereira BV et al. Phase I study of cetuximab in combination with 5-fluorouracil, cisplatin, and radiotherapy in patients with locally advanced anal carcinoma. *Cancer* 2013; 119(16): 2973–2980. doi: 10.1002/cncr.28045.
61. Saif MW, Kontny E, Syrigos KN et al. The role of EGFR inhibitors in the treatment of metastatic anal canal carcinoma: a case series. *J Oncol* 2011; 2011: 125467. doi: 10.1155/2011/125467.
62. Richter I, Dvořák J, Blüml A et al. Vliv předoperační chemoradioterapie na změnu exprese receptoru pro epidermální růstový faktor u pacientů léčených předoperační chemoradioterapií pro lokálně pokročilý karcinom rektu. *Klin Onkol* 2014; 27(5): 361–366. doi: 10.14735/amko2014361.
63. Mishani E, Abourbeh G. Cancer molecular imaging: radionuclide-based biomarkers of the epidermal growth factor receptor (EGFR). *Curr Top Med Chem* 2007; 7(18): 1755–1772.