

**Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové**



**Receptor pro epidermální růstový faktor jako prediktor léčebné odpovědi  
u lokálně pokročilých karcinomů žaludku léčených předoperační  
chemoradioterapií**

**Igor Sirák**

**Autoreferát disertační práce**

**Doktorský studijní program Klinická onkologie a radioterapie**

**Hradec Králové**

**2009**

Disertační práce byla vypracována v rámci prezenčního studia doktorského studijního programu Klinická onkologie a radioterapie na Klinice onkologie a radioterapie Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

Student: MUDr. Igor Sirák  
Klinika onkologie a radioterapie  
Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové  
a Fakultní nemocnice Hradec Králové  
Sokolská 581, 50005 Hradec Králové

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Petera, Ph.D.  
Klinika onkologie a radioterapie  
Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové  
a Fakultní nemocnice Hradec Králové  
Sokolská 581, 50005 Hradec Králové

Oponenti: Prof. MUDr. Pavel Šlampa, CSc.  
Klinika radiační onkologie  
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně  
Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, 65653 Brno

Doc. MUDr. Renata Soumarová, Ph.D.  
Onkologické centrum J.G.Mendela Nový Jičín  
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně  
Máchova 30, 74101 Nový Jičín

Obhajoba se koná před Komisí pro obhajoby disertačních prací v doktorském studijním programu Klinická onkologie a radioterapie ve čtvrtek 18. června 2009 od 15.00 hodin, Výukové centrum LF v areálu Fakultní nemocnice Hradec Králové, přízemí, seminární místnost č.1.

Tato práce vznikla za podpory výzkumného projektu 00179906 Ministerstva zdravotnictví České republiky.

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové (tel. 495 816 131).

Prof. MUDr. Jiří Petera, Ph.D.  
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací  
v doktorském studijním programu Klinická onkologie a radioterapie

## OBSAH

<b>1. Souhrn</b> .....	str.4
<b>2. Summary</b> .....	str.4
<b>3. Úvod do problematiky</b> .....	str.5
<b>4. Cíle disertační práce</b> .....	str.5
<b>5. Soubor pacientů a použítá metodika</b> .....	str.6
5.1. Soubor pacientů.....	str.6
5.2. Léčba.....	str.6
5.3. Hodnocení léčebné odpovědi.....	str.8
5.4. Laboratorní stanovení EGFR.....	str.8
5.5. Hodnocení imunohistochemické exprese EGFR.....	str.9
5.6. Statistická analýza.....	str.9
<b>6. Výsledky</b> .....	str.9
<b>7. Význam exprese proteinů p53, p21 a p16</b> .....	str.10
<b>8. Diskuse</b> .....	str.11
<b>9. Závěry</b> .....	str.14
<b>10. Seznam použité literatury</b> .....	str.15
<b>11. Přehled publikační činnosti autora</b> .....	str.29

## 1. SOUHRN

Cílem mé disertační práce bylo zhodnotit vztah imunohistochemické exprese receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR) v předléčebné biopsii lokálně pokročilých karcinomů žaludku, vzhledem k léčebné odpovědi po neoadjuvantní chemoradioterapii.

Do studie bylo zařazeno 36 pacientů s histologicky ověřeným adenokarcinomem žaludku v klinickém stadiu T2-4 a/nebo s postižením lymfatických uzlin. Předoperační léčba se skládala z aplikace 30-45 Gy zevní radioterapie s konkomitantní chemoterapií – kontinuálně 5-fluorouracil a týdenní aplikace cisplatiny. Chirurgická léčba následovala s odstupem 4-6 týdnů po chemoradioterapii. Imunohistochemická exprese EGFR v předléčebné biopsii byla stanovena semikvantitativně na základě stanovení rozsahu a intenzity barvení nádorových buněk. Pozitivní léčebná odpověď k chemoradioterapii byla definována jako redukce T-stadia nádoru alespoň o jeden stupeň, a/nebo nález intenzivních regresivních změn nádorové tkáně během mikroskopického hodnocení.

Sedmnáct pacientů (47%) mělo pozitivní odpověď k chemoradioterapii: u osmi pacientů (22%) bylo dosaženo patologické kompletní remise a u devíti pacientů (25%) bylo pozorováno snížení rozsahu (downstaging) tumoru. Vysoká exprese EGFR byla nalezena v 8 biopsiích (22%) a multivariantní logistickou regresní analýzou byl prokázán její signifikantně negativní prediktivní vliv na celkovou léčebnou odpověď ( $p = 0.015$ ). Pozitivní léčebná odpověď byla prokázána u 57% (16/28) pacientů s nízkou expresí EGFR a u 13% (1/8) pacientů s vysokou expresí EGFR ( $p = 0.044$ ). U žádného pacienta s vysokou expresí EGFR nebyla nalezena patologická kompletní remise, ve srovnání s 8/28 (29%) pacientů s nízkou expresí EGFR ( $p = 0.16$ ).

Výsledky naznačují, že exprese EGFR může být užitečným molekulárním prediktorem špatné léčebné odpovědi u lokálně pokročilých adenokarcinomů žaludku léčených předoperační chemoradioterapií.

## 2. SUMMARY

The purpose of my doctoral thesis was a retrospective evaluation whether the intensity of epidermal growth factor receptor (EGFR) expression in tumor biopsy predicts tumor response to preoperative chemoradiotherapy in patients with locally advanced gastric carcinoma.

Thirty-six patients with gastric adenocarcinoma in clinical T2-4 stage and/or with nodal metastases were studied. Preoperative treatment consisted of 30-45 Gy of gastric irradiation with continuous 5-fluorouracil and weekly cisplatin. Surgical resection was performed 4-6 weeks later. EGFR expression in pretreatment tumor biopsies was assessed by immunohistochemistry. Level of EGFR expression was determined from the intensity and extent of staining. Tumor response after chemoradiotherapy was defined as a reduction of at least one T-stage level and/or finding of intense tumor regression in histopathologic examination.

Seventeen patients responded to preoperative chemoradiation - 8 patients (22%) had pathologic complete response, 9 patients (25%) were downstaged. Positive EGFR expression was found in 8 tumors (22%), and represented a significant predictive marker of poor tumor response in multivariate logistic regression analysis ( $p = 0.015$ ). Response to chemoradiotherapy was found in 57% (16/28) of EGFR negative patients and in 13% (1/8) of EGFR positive patients ( $p = 0.044$ ). None of the eight EGFR positive patients achieved pathologic complete response in comparison with 8/28 (29%) of patients with EGFR negative staining ( $p = 0.16$ ).

The results suggest that EGFR expression may represent a molecular marker predictive for poor response to preoperative chemoradiotherapy in locally advanced gastric carcinoma.

### 3. ÚVOD DO PROBLEMATIKY

Karcinom žaludku je obvykle diagnostikován v již pokročilém stadiu, kdy je přítomno prorůstání nádoru skrze celou stěnu žaludku event. do přilehlých orgánů, nebo již došlo k rozšíření nádoru do spádových lymfatických uzlin. Chirurgická resekce s čistými resekcními okraji (R0) je doposud jedinou akceptovatelnou radikální léčbou a je považována za zlatý standard léčby tohoto onemocnění. U většiny případů lokálně pokročilých karcinomů žaludku však nelze radikální resekci provést vzhledem k lokálnímu rozsahu onemocnění. Navíc prognóza nemocných i po radikální resekci zůstává nadále špatná, s celkovým 5-ti letým přežitím přibližně 50% u stadia T2, 45% u stadia T3 a pouze 15% u stadia T4. Přežití dále klesá v případě nálezu metastáz v regionálních mízních uzlinách a to: celkové 5-ti leté přežití přibližně na 20% u stadia N1 a 10% u stadia N2 (Kennedy 1970; Hartley et al. 1987).

Hlavní příčinou špatné prognózy nemocných s lokálně pokročilým karcinomem žaludku po radikální resekci je lokální recidiva základního onemocnění, kterou lze klinicky prokázat přibližně u poloviny pacientů a při pitvě až u 52-68% zemřelých (Gunderson et al. 1982; Gunderson 2002). Špatné výsledky samostatné chirurgické léčby vedou ke zvyšujícímu se zájmu o předoperační chemoradioterapii. Jejím cílem je dosáhnout zmenšení celkové nádorové masy a usnadnění následné chirurgické resekce; snížení incidence irresekalibilních nádorů; zvýšení procenta radikálních R0 resekcí; a snížení rizika lokální rekurence onemocnění po radikální operaci. Slibné výsledky předoperační chemoradioterapie již byly publikovány několika autory z různých onkologických center (Ajani et al. 2004; Ajani et al. 2005; Patel et al. 2007; Rohatgi et al. 2006; Ajani et al. 2006; Wydmanski et al. 2007; Zhang et al. 1998; Klautke et al. 2004; Allal et al. 2005; Roth et al. 2003; Petera et al. 2002; Fujitani et al. 2007). Počet celkových léčebných odpovědí po chemoradioterapii se v těchto studiích pohybuje v rozmezí 35-74% s procentem patologických kompletních remisí 11-30%. Výsledky studií tedy naznačují, že ne u všech nemocných dosáhneme předoperační chemoradioterapií výše zmíněných záměrů. Lze tedy odhadnout, že asi 1/4 až 2/3 léčených pacientů nemá z časově náročné a toxické předoperační léčby prokazatelný prospěch.

Identifikace faktorů předpovídajících léčebnou odpověď k předoperační chemoradioterapii u lokálně pokročilých karcinomů žaludku se tedy zdá být nezbytná při výběru pacientů indikovaných k předoperační chemoradioterapii a těch, u kterých by z důvodu nádorové rezistence předoperační léčba vedla pouze k zbytečnému oddálení operace.

Receptor pro epidermální růstový faktor byl v několika studiích na jiných typech nádorů popsán jako silný negativní prediktor léčebné odpovědi k předoperační radioterapii. Proto jsem si jej také zvolil za hlavní cíl svého zkoumání u dosud málo probádané předoperační chemoradioterapie karcinomu žaludku. Současně jsem na stejném souboru pacientů zkoumal prediktivní vliv nukleární exprese proteinů p53, p21 a p16, jejichž úloha v predikci léčebné odpovědi k předoperační (chemo)radioterapii byla popsána u karcinomu rekta.

### 4. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Hlavním cílem mé práce bylo zhodnotit vliv imunohistochemické exprese receptoru pro epidermální růstový faktor v předléčebné biopsii lokálně pokročilých karcinomů žaludku na léčebnou odpověď k neoadjuvantní chemoradioterapii a zvážit možnosti implementace tohoto vlivu do klinické praxe.

Vedlejším cílem mé práce bylo zhodnotit na stejném souboru pacientů prediktivní vliv imunohistochemické exprese dalších potenciálních molekulárních prediktorů léčebné odpovědi, konkrétně proteinů p53, p21 a p16.

## 5. SOUBOR PACIENTŮ A POUŽITÁ METODIKA

### 5.1. Soubor pacientů

V období mezi lednem 1999 a prosincem 2006 bylo na klinice onkologie a radioterapie Fakultní nemocnice v Hradci Králové léčeno předoperační chemoradioterapií celkem 58 pacientů s histologicky verifikovaným lokálně pokročilým adenokarcinomem žaludku, u kterých běžná stagingová vyšetření neprokázala přítomnost vzdálených metastáz. Jako součást rutinních stagingových vyšetření podstoupili nemocní před zahájením terapie následující vyšetření: celkové fyzikální vyšetření, esofagoduodenoskopii s endoskopickou ultrasonografií (EUS), rentgenové vyšetření horního gastrointestinálního traktu s baryovou kontrastní látkou, CT břicha a UZ jater, rentgenové vyšetření plic, základní hematologické a biochemické vyšetření krve včetně hladin CEA. Histologická diagnóza karcinomu žaludku byla stanovena z endoskopické biopsie nádoru, klinické T a N stadium bylo určeno endosonograficky.

U 22 pacientů nebylo možné vyšetřit nádorovou tkáň imunohistochemicky, vzhledem k insuficientnímu vzorku biopsie. Proto bylo do studie zařazeno pouze 36 pacientů s imunohistochemicky vyšetřitelným předléčebným vzorkem nádoru. V souboru bylo 29 mužů a 7 žen, s průměrným věkem v době diagnózy 61 let (28-80 let). Nádory se nacházely převážně v oblasti žaludečního těla (17 pacientů), dále v oblasti kardií žaludku (11 pacientů), antra pyloru (5 pacientů) a fundu žaludku (3 pacienti). Stadium nádoru v době diagnózy bylo hodnoceno dle TNM klasifikace zhoubných novotvarů (UICC 2002, 6. vydání, česká verze z roku 2004). Ve skupině nemocných zařazených do studie byla zaznamenána stadia T2 (10 pacientů), T3 (20 pacientů) a T4 (6 pacientů). Pouze 5 nemocných nemělo v době stanovení diagnózy známky šíření nádoru do regionálních uzlin, hodnoceno endosonograficky a dle CT břicha. Zbýlých 31 nemocných bylo klasifikováno jako stadium N1; žádný pacient nebyl klasifikován jako N2 stadium. Rozdělení klinických stadií dle TNM klasifikace tedy činilo: stadium IB (2 pacienti), stadium II (11 pacientů), stadium IIIA (17 pacientů) a stadium IV (6 pacientů). Histologicky se jednalo ve všech případech o adenokarcinom, se stupni nádorové diference: stupeň 1 (2 případy), stupeň 2 (14 případů) a stupeň 3 (20 případů).

### 5.2. Léčba

#### *Radioterapie*

Pacienti byli léčeni následující technikou ozařování: supinační poloha na zádech, ruce podél těla, případně s válečkem pod kolena k vyrovnání lumbální lordózy; rentgenový simulační snímek po per os podání baryové kontrastní látky na rentgenovém simulátoru Ximatron CX (Varian Medical Systems Inc., Palo Alto, USA). Pro definici plánovacích cílových objemů a rizikových orgánů byla použita data z výpočetní tomografie (Siemens Somatom DR Plus). K plánování byly použity plánovací systémy CadPlan Treatment Planning System (Varian Medical Systems Inc., Palo Alto, USA) a novější plánovací systém Eclipse (Varian Medical Systems Inc., Palo Alto, USA). Objemy GTV, CTV a PTV byly v plánovacím systému definovány v souladu s doporučeními ICRU 50 (International Commission on Radiation Units and Measurements Report 50 Recommendation).

Objem CTV zahrnoval celý žaludek s celou viditelnou a případně i perigastrickou propagací tumoru (= GTV), včetně spádových lymfatických uzlin (uzliny podél velké a malé kurvatury žaludku; uzliny pankreatickoduodenální; splenické; suprasplenické; uzliny v oblasti porta hepatis; přiléhající paraaortální uzliny) s minimálním lemem 1 cm k pokrytí případného mikroskopického šíření onemocnění. V případě nádorů uložených v oblasti kardií žaludku zahrnoval CTV také abdominální úsek jícnu a spádové lymfatické uzliny podél truncus coeliacus; arteria gastrica sinistra; dolní mediastinální a paraezofageální. Objem PTV

zahrnoval oblast celého CTV s lemem 1 cm zajišťujícím případně nepřesnosti v nastavení. Kromě cílových objemů byly konturovány také rizikové orgány s příslušnými tolerančními dávkami: ledviny (20 Gy); játra (30 Gy); mícha (45 Gy); tenké střevo (45 Gy).

Samotná radioterapie byla u všech nemocných zajištěna dvěma konformními poli (AP, PA) s individuálním tvarováním polí pomocí individuálně zhotovených bloků či dynamického vícelamelového kolimátoru (MLC). Ozařovací technika byla modifikována dle potřeby tak, aby byla ušetřena tkáň alespoň jedné celé funkční ledviny. Funkce ledvin byla před zahájením léčby hodnocena pomocí dynamické scintigrafie ledvin. Předepsaná dávka záření byla aplikována lineárním urychlovačem Clinac 600C (Varian Medical Systems Inc., Palo Alto, USA) s dynamickým vícelamelovým kolimátorem, nebo lineárním urychlovačem Clinac 2100C (Varian Medical Systems Inc., Palo Alto, USA), vždy za použití fotonů o energii brzdného záření 6 - 15 MV konvenční frakcionací, tj. 1.8 - 2 Gy na frakci s aplikací pěti frací záření týdně (pondělí až pátek).

Přesnost nastavení byla kontrolována alespoň jednou týdně pomocí systému portálového zobrazení. Tolerovaná chyba nepřesnosti nastavení byla 5 mm v každém směru.

Jedenáct pacientů bylo léčeno celkovou dávkou záření 45 Gy (25 frací po 1.8 Gy v průběhu pěti týdnů); čtrnáct pacientů obdrželo dávku 40 Gy (20 frací po 2 Gy v průběhu čtyř týdnů); a jedenáct pacientů obdrželo dávku 30 Gy (15 frací po 2 Gy v průběhu tří týdnů). Rozdíly v aplikované dávce záření byly způsobeny následujícími faktory: pacienti, kteří obdrželi dávku 30 Gy byli léčeni dříve, než byly publikovány výsledky studie fáze III Intergroup Trial (INT 0116), která prokázala dobrou toleranci a dobré výsledky adjuvantní chemoradioterapie žaludku s aplikací dávky 45 Gy (Macdonald et al. 2001). Pacienti, kteří obdrželi dávku 40 Gy měli karcinom kardie nebo fundu žaludku, u kterých díky proximálnímu uložení nádoru poblíž páteře nebylo možné aplikovat plných 45 Gy za současného dodržení toleranční dávky na míchu při konvenční AP/PA technice.

### *Chemoterapie*

Konkomitantní chemoterapie byla u všech 36-ti pacientů založena na kontinuální infuzi 5-fluorouracilu 200 mg/m<sup>2</sup>/den, aplikovaného v průběhu celé radioterapie, vždy kontinuálně od pondělí do pátku s přestávkou v období víkendu. Kontinuální chemoterapie byla technicky zajištěna centrálním žilním přístupem v podobě žilní kanyly či žilního port-systému a přenosné lékové pumpy. Dvacet-čtyři pacientů v dobrém celkovém stavu (performance status < 2 dle WHO) a s dobrými ledvinnými funkcemi podstoupili navíc aplikaci cisplatinu 30 mg/m<sup>2</sup> D1 s týdenními odstupy po dobu zevní radioterapie. Osm z těchto pacientů, kteří shodně dostali 30 Gy iradiace, dostalo navíc paclitaxel 60 mg/m<sup>2</sup> D1 s týdenními odstupy.

U pacientů, kteří dostali 40-45 Gy radioterapie, proběhla kompletní série konkomitantní chemoterapie společně se zevní iradiací. U pacientů s 30 Gy ozaření byla chemoterapie aplikována ve dvou identických sériích; první proběhla indukčně 3 týdny před zahájením radioterapie a druhá pak současně s radioterapií.

Všichni nemocní byli léčeni za hospitalizace na lůžkovém oddělení kliniky onkologie a radioterapie ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové. Hodnocení tolerance léčby probíhalo za denní kontroly stavu nemocného ošetřujícím lékařem; pacientova hmotnost a laboratorní kontroly krevního obrazu a základní biochemie byly měřeny vždy alespoň jednou týdně.

Všichni nemocní podstoupili konkomitantní chemoradioterapii v plánovaném rozsahu a tolerovali ji bez větších obtíží. Podpůrná léčba zahrnovala profylaktické a symptomatické podávání setronových antiemetik; případné dyspepsie horního typu byly tlumeny inhibitory protonové pumpy a metoklopramidem; každou týdenní potenciaci cisplatinou předcházela předepsaná prehydratace s následnou forsírovanou diurézou manitolem a 24-hodinovým sledováním příjmu a výdeje tekutin; případný nutriční event. minerálový deficit pacientů byl hrazen sippingem, event. parenterální cestou při významnějším deficitu.

## Chirurgický zákrok

Chirurgická léčba následovala 4-6 týdnů po ukončení neoadjuvantní chemoradioterapie. Typ chirurgického zákroku závisel na lokalizaci a rozsahu primárního nádoru: 11 pacientů podstoupilo subtotální gastrektomii; 8 pacientů podstoupilo totální gastrektomii; 5 pacientů mělo proximální gastrektomii; a 12 pacientů podstoupilo pouze explorativní laparotomii s nálezem inoperabilního nádorového procesu.

En bloc disekce přilehlých orgánů byla provedena v případě podezření na jejich infiltraci nádorem. Součástí operace byla disekce dostupných perigastrických lymfatických uzlin. Extenzivní disekce lymfatických uzlin nebyla rutinně prováděna.

Tabulka 1. Shrnutí léčby nemocných (n = 36).

<b>Dávka radioterapie</b>
• 30Gy (15 frakcí/3 týdny): 11 pacientů (31%)
• 40Gy (20 frakcí/4 týdny): 14 pacientů (38%)
• 45Gy (25 frakcí/5 týdnů): 11 pacientů (31%)
<b>Konkomitanti chemoterapie</b>
• Kontinuální 5-fluorouracil: 36 pacientů (100%)
• Týdenní cisplatina: 24 pacientů (67%)
• Týdenní paclitaxel: 8 pacientů (22%)
<b>Chirurgická léčba</b>
• Subtotální gastrektomie: 11 pacientů (31%)
• Totální gastrektomie: 8 pacientů (22%)
• Proximální gastrektomie: 5 pacientů (14%)
• Inoperabilní nádor: 12 pacientů (33%)

### 5.3. Hodnocení léčebné odpovědi

Po operačním zákroku a histopatologické studii resekovaného materiálu byl stanoven patologický staging onemocnění dle UICC kritérií (International Union Against Cancer, TNM klasifikace zhoubných novotvarů, 6. vydání z roku 2002, česká verze z roku 2004). R0 resekce byla definována jako odstranění celého nádoru s alespoň 1 mm čistými resekcními okraji. Pozitivní léčebná odpověď byla definována jako redukce T-stadia nádoru alespoň o jeden stupeň, a/nebo nález intenzivních regresivních změn nádorové tkáně během histopatologického hodnocení. Patologická kompletní remise (pCR) byla definována jako absence nádoru v resekovaném materiálu. Perioperační nález inoperabilního tumoru po proběhlé chemoradioterapii byl hodnocen jako negativní léčebná odpověď.

### 5.4. Laboratorní stanovení EGFR

Rutinně fixované parafinové bloky předléčebných nádorových biopsií byly mikrotomem nakrájeny na řezy o tloušťce 3 µm. Řezy tkáňových bloků byly deparafinovány xylenem a následně rehydrovány. Pro optimalizaci antigenní prezentace byla tkáň proteolyticky natrávena proteinázou K. Endogenní peroxidázová aktivita byla zablokována pomocí roztoku 3% peroxidu. Tkáňové řezy byly následně inkubovány 30 minut při pokojové teplotě v médiu s monoklonální myší antihumánní IgG1 protilátkou proti EGFR (EGFR pharmDx™, K1492, DakoCytomation, Glostrup, Dánsko). Následně byl vzorek inkubován dalších 30 minut se značeným HRP polymerem. Po 10-ti minutách inkubace s roztokem barviva DAB+ byl celý systém vizualizován a následně kontrastně obarven hematoxilinem. Jako negativní kontrola exprese EGFR byly použity EGFR pharmDx kontrolní preparáty dodávané společně s



aplikovanou monoklonální protilátkou. Tyto formalinem fixované parafinové preparáty obsahovaly lidské buněčné linie se střední a nízkou expresí EGFR. Hotové preparáty byly nakonec odečteny světelnou mikroskopií.

## 5.5. Hodnocení imunohistochemické exprese EGFR

U všech preparátů byla exprese EGFR hodnocena zkušeným histopatologem, který nebyl obeznámen s výsledky léčebné odpovědi nádorů k předoperační chemoradioterapii.

Hladina cytoplazmatické a membránové exprese EGFR byla hodnocena semikvantitativně za použití imunoreaktivního skórovacího systému (IRS). Hodnota IRS (0-7) byla získána součtem koeficientu intenzity barvení nádorových buněk (0 = žádná, 1 = slabá; 2 = střední; 3 = silná intenzita) a koeficientu rozsahu barvení stanoveného procentem barvicích se nádorových buněk (0 = < 5%; 1 = 6 až 25%; 2 = 26 až 50%; 3 = 51 až 75%; 4 = 76 až 100% buněk). Hodnota IRS 0-3 byla definována jako nízká exprese EGFR, hodnota IRS 4-7 jako vysoká exprese EGFR. Stejný skórovací systém hodnocení imunohistochemické exprese EGFR byl publikován již dříve (Kim et al. 2006).

## 5.6. Statistická analýza

Korelace mezi silou exprese EGFR a klinickými/histopatologickými charakteristikami pacientů a nádorů byla analyzována za pomoci chí-kvadrátového testu. Fisherův exaktní test ve čtyřpolní tabulce byl použit, pokud počet sledovaných případů klesl pod 10. Prediktivní hodnota pohlaví, lokalizace nádoru, nádorového stadia, nádorové diference, stavu lymfatických uzlin, dávky radioterapie, aplikace cisplatiny a stavu exprese EGFR na léčebnou odpověď k chemoradioterapii byla hodnocena za pomoci multivariantní stupňovité logistické regrese. Všechny statistické testy byly hodnoceny na hladině významnosti 5%. Veškerá statistická analýza byla provedena statistickým softwarem NCSS 2004 (NCSS, Keyville, Utah, USA).

## 6. VÝSLEDKY

Po absolvování předoperační chemoradioterapie podstoupilo 24 pacientů chirurgický léčebný zákrok. Sedmáct pacientů (47%) mělo pozitivní léčebnou odpověď k chemoradioterapii: 8 pacientů (22%) s nálezem patologické kompletní remise a 9 pacientů (25%) s nálezem downsatgingu tumoru. Celkem 20 pacientů (56%) podstoupilo R0 radikální resekci. U 12-ti pacientů (33%) proběhla pouze explorativní laparotomie s nálezem inoperabilního tumoru. Negativní patologický uzlinový nález byl hodnocen u 11 z 31 pacientů s počátečním N+ stadiem.

Tabulka 2. Přehled klinických a patologických stadií onemocnění (n = 36).

Klinické stadium	n	Patologické stadium	n
cT2cN0	2	pCR	8
cT2cN1	8	pT1pN0	2
cT3cN0	3	pT2pN0	4
cT3cN1	17	pT2pN1	7
cT4cN1	6	pT3pN0	2
		pT4pN1	1
		Inoperabilní	12

Vysoká exprese EGFR (IRS 4 – 7) byla nalezena v 8 biopsiích, frekvence vysoké exprese EGFR v souboru tedy činila 22%. Zbýlých 28 biopsií mělo nízkou expresi EGFR (IRS 0 – 3).

Nebyl prokázán žádný signifikantní prognostický vliv pohlaví, lokalizace nádoru, nádorového stadia, nádorové diferenciace, stavu lymfatických uzlin, dávky radioterapie, ani aplikace cisplatinu na léčebnou odpověď nádorů k chemoradioterapii. Multivariátní logistická regresní analýza prokázala, že jediný signifikantně prediktivní vliv na celkovou léčebnou odpověď nádorů k chemoradioterapii měla míra exprese EGFR v předléčebné nádorové biopsii ( $p = 0.015$ ,  $OR = 0.06$ ,  $95\% CI = 0.01 - 0.3$ ). Další výsledky prokázaly signifikantní asociaci mezi vysokou expresí EGFR a negativní léčebnou odpovědí nádorů k chemoradioterapii. Pozitivní léčebná odpověď byla prokázána u 57% (16/28) pacientů s nízkou expresí EGFR a u 13% (1/8) pacientů s vysokou expresí EGFR ( $p = 0.044$ ). U žádného z osmi pacientů s vysokou expresí EGFR nebyla nalezena patologická kompletní remise, ve srovnání s 8/28 (29%) pacientů s nízkou expresí EGFR ( $p = 0.16$ ).

Tabulka 3. Výsledky imunohistochemie EGFR ( $n = 36$ ).

<b>Intenzita barvení nádorových buněk</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0 (žádná): 16 pacientů (44%)</li> <li>• 1 (slabá): 12 pacientů (33%)</li> <li>• 2 (střední): 5 pacientů (14%)</li> <li>• 3 (silná): 3 pacienti (9%)</li> </ul>
<b>Rozsah barvení nádorových buněk</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0 (&lt;5%): 19 pacientů (53%)</li> <li>• 1 (6–25%): 7 pacientů (19%)</li> <li>• 2 (26–50%): 2 pacienti (6%)</li> <li>• 3 (51–75%): 4 pacienti (11%)</li> <li>• 4 (76–100%): 4 pacienti (11%)</li> </ul>
<b>Výsledná exprese EGFR</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nízká (IRS 0-3): 28 pacientů (78%)</li> <li>• Vysoká (IRS 4-7): 8 pacientů (22%)</li> </ul>

## 7. VÝZNAM EXPRESE PROTEINŮ p53, p21 A p16

Jako vedlejší cíl práce byl v předpovídání léčebné odpovědi k předoperační chemoradioterapii u pacientů s lokálně pokročilým karcinomem žaludku zkoumán význam imunohistochemické exprese proteinů p53, p21 a p16. Soubor pacientů, léčba, hodnocení léčebné odpovědi, hodnocení imunohistochemické exprese molekul p53, p21 a p16, jakož i statistická analýza získaných dat byly identické jako v části „soubor pacientů a použitá metodika“ hodnocení vlivu exprese EGFR.

### Laboratorní stanovení exprese p53, p21 a p16

Rutině fixované parafinové bloky předléčebných nádorových biopsií žaludku byly mikrotomem nakrájeny na řezy o tloušťce 3  $\mu\text{m}$ . Řezy tkáňových bloků byly deparafinovány xylenem a následně rehydrovány. Tkáňové vzorky nádorových biopsií všech pacientů v souboru obsahovaly dostatečné množství materiálu pro imunohistochemickou analýzu. Všechny tkáňové vzorky byly testovány následujícím panelem protilátek: monoklonální protilátka proti lidské molekule p53 (klon DO-7, DakoCytomation, Glostrup, Dánsko); monoklonální protilátka proti lidské molekule p21<sup>WAF1/CIP1</sup> (klon, SX118, DakoCytomation, Glostrup, Dánsko), histologický kit CINtec<sup>TM</sup> p16<sup>INK4a</sup> (klon E6H4, DakoCytomation, Glostrup, Dánsko). Imunohistochemické barvení proteinů p53, p21 a p16 bylo provedeno přesně podle návodu výrobce. Při odečítání intenzity barvení byly použity příslušné pozitivní a negativní kontrolní preparáty, dodávané výrobcem společně s barvicím kitem. Hladina

intenzity nukleární exprese proteinů p53, p21 a p16 byla vyhodnocena semikvantitativně prostřednictvím stejného imunoreaktivního skórovacího systému (tj. IRS hodnota 0-7 bodů) jako při hodnocení exprese EGFR; stejně tak byly nastaveny hranice hodnot IRS, tj. IRS skóre 0-3 značící nízkou expresi a IRS skóre 4-7 značící vysokou expresi sledovaných proteinů.

### Výsledky

Vysoká exprese p53 byla nalezena v 15-ti biopsiích (42%), vysoká exprese p21 v 10-ti biopsiích (28%) a vysoká exprese p16 v 7-mi biopsiích (19%). Ostatní biopsie vykazovaly ve zbylých případech nízkou expresi jednotlivě pro konkrétní sledovaný protein.

Tabulka 4. Výsledky imunohistochemie proteinů p53, p21 a p16 (n = 36).

Intenzita barvení nádorových buněk			
	p16	P21	p53
0 (žádná)	18 pacientů (50%)	2 pacienti (5%)	11 pacientů (31%)
1 (slabá)	10 pacientů (28%)	11 pacientů (31%)	13 pacientů (36%)
2 (střední)	2 pacienti (5%)	19 pacientů (53%)	5 pacientů (14%)
3 (silná)	6 pacientů (17%)	4 pacienti (11%)	7 pacientů (19%)
Rozsah barvení nádorových buněk			
	p16	p21	p53
0 (<5%)	24 pacientů (67%)	6 pacientů (17%)	14 pacientů (39%)
1 (6–25%)	5 pacientů (14%)	22 pacientů (61%)	4 pacienti (11%)
2 (26–50%)	2 pacienti (5%)	7 pacientů (19%)	4 pacienti (11%)
3 (51–75%)	1 pacient (3%)	1 pacient (3%)	7 pacientů (19%)
4 (76–100%)	4 pacienti (11%)	0 pacientů (0%)	7 pacientů (19%)
Výsledná exprese proteinů			
	p16	p21	p53
Nízká (IRS 0-3)	29 pacientů (81%)	26 pacientů (72%)	21 pacientů (58%)
Vysoká (IRS 4-7)	7 pacientů (19%)	10 pacientů (28%)	15 pacientů (42%)

Multivariantní logistická analýza neprokázala signifikantní vliv exprese p53 na celkovou léčebnou odpověď (OR = 1.40; 95% CI = 0.163 – 11.90, p = 0.76), ani na výskyt pCR (OR = 1.03; 95% CI = 0.678 – 1.570, p = 0.88); nebyl nalezen žádný signifikantní vliv exprese p21 na celkovou léčebnou odpověď (OR = 0.17; 95% CI = 0.019 – 1.420, p = 0.10), ani na výskyt pCR (OR = 1.68; 95% CI = 0.828 – 3.410, p = 0.15); stejně tak nebyl nalezen signifikantní vliv exprese p16 na celkovou léčebnou odpověď (OR = 0.63; 95% CI = 0.062 – 6.480, p = 0.70), jakožto ani na výskyt pCR (OR = 0.99; 95% CI = 0.679 – 1.450, p = 0.97). Pozitivní léčebná odpověď k chemoradioterapii byla zaznamenána u 52% (11/21) pacientů s nízkou expresí p53 a u 40% (6/15) pacientů s vysokou expresí p53 (p = 0.21); dále u 54% (14/26) pacientů s nízkou expresí p21 a u 30% (3/10) pacientů s vysokou expresí p21 (p = 0.14); a nakonec u 48% (14/29) pacientů s nízkou expresí p16 a u 43% (3/7) pacientů s vysokou expresí p16 (p = 0.32). Patologická kompletní remise byla nalezena u 19% (4/21) pacientů s nízkou expresí p53 a u 27% (4/15) pacientů s vysokou expresí p53 (p = 0.27); dále u 23% (6/26) pacientů s nízkou expresí p21 a u 20% (2/10) pacientů s vysokou expresí p21 (p = 0.34); a nakonec u 24% (7/29) pacientů s nízkou expresí p16 a u 14% (1/7) pacientů s vysokou expresí p16 (p = 0.36).

## 8. DISKUSE

Znalost genetických a fenotypových odlišností u karcinomu žaludku by nás mohla vést k cílenějšímu léčebnému postupu, stejně tak jako k přesnější předpovědi nádorové odpovědi k léčbě. V současnosti však u karcinomů žaludku neexistují spolehlivé prediktory léčebné odpovědi k (chemo)radioterapii, které by mohly být snadno vyhodnoceny před zahájením samotné protinádorové terapie. Identifikace faktorů predikujících léčebnou odpověď k předoperační chemoradioterapii se však zdá být nezbytná při výběru pacientů indikovaných k neoadjuvantní léčbě a těch, u kterých by z důvodu nádorové rezistence předoperační léčba vedla pouze k zbytečnému oddálení operace.

Prediktivní a prognostický význam exprese EGFR konkrétně u 511 pacientů s adenokarcinomem žaludku sledovala recentní korejská studie (Kim et al. 2008). Imunohistochemická overexprese EGFR v této studii byla zaznamenána u 27% nádorů žaludku a signifikantně korelovala s vyšším věkem nemocných, vyšším stupněm diferenciací a vyšším stadiem onemocnění. Multivariantní analýzou byla overexprese EGFR prokázána jako významný nezávislý negativní prognostický faktor. Autoři studie na závěr konstatují, že cílená anti-EGFR terapie může u karcinomu žaludku výhledově znamenat významný pokrok v léčbě tohoto onemocnění. Jiná studie sledující frekvenci výskytu strukturálních abnormalit EGFR u 77 případů karcinomu žaludku zaznamenala pouze velmi nízkou frekvenci mutací tohoto receptoru (2.5%) u karcinomu žaludku, na rozdíl od popisovaných mutací u jiných typů karcinomů, zejména pak NSCLC (Moutinho et al. 2008). Další dostupné údaje o vztahu EGFR k prognóze nemocných s karcinomem žaludku jsou méně přehledné.

V prezentované disertační práci jsem hodnotil význam míry imunohistochemické exprese EGFR v předléčebné biopsii karcinomů žaludku jako prediktivního faktoru léčebné odpovědi k předoperační chemoradioterapii. Dostupná publikovaná data popisují různorodé spektrum (6-86%) overexprese EGFR u lidských karcinomů žaludku (Tokunaga et al. 1995; Takehana et al. 2003; Dragovich et al. 2006; Mammano et al. 2006; Kim et al. 2008). Navzdory nízké frekvenci výskytu overexprese EGFR (22%) v našem souboru pacientů jsme zjistili signifikantní vztah exprese EGFR a léčebné odpovědi po neoadjuvantní chemoradioterapii. Tyto výsledky jsou konzistentní s výsledky podobných studií u jiných typů nádorů. Podle dostupných informací věřím, že tato studie je první publikovanou prací, která zkoumala prediktivní roli EGFR u pacientů s karcinomem žaludku léčených předoperační chemoradioterapií.

Zjištěné výsledky mohou mít významný klinický dopad na léčbu nemocných s pokročilým karcinomem žaludku. Jednou z možností implementace výsledků do praxe je zavedení rutinního barvení EGFR v endoskopických biopsiích, které vedly ke stanovení diagnózy adenokarcinomu žaludku. Znalost exprese EGFR by pak mohla hrát důležitou roli při rozhodování o strategii léčby nemocných. Při zvažování předoperační chemoradioterapie jako primární léčby by vysoká exprese EGFR mohla znamenat spíše nevhodnost indikace tohoto postupu a nemocný by měl bez větších odkladů podstoupit operační zákrok. Naopak nádory s nízkou expresí EGFR a hraniční operabilitou by byly vhodnými adepty pro neoadjuvantní léčbu. Při rozhodování o strategii léčby by však nadále hrál stěžejní roli rozsah onemocnění, přítomnost uzlinového postižení a vzdálených metastáz, věk a celkový zdravotní stav nemocného. Např. pacienti se symptomatikou obstrukce horní trávicí trubice v době diagnózy budou zřejmě nadále indikováni k neodkladnému primárnímu chirurgickému zákroku nezávisle na znalosti radiosenzitivity jejich onemocnění. Finanční otázka léčby zde hraje zanedbatelnou roli, vezmeme-li v potaz, že pokud není finančně náročná konkomitantní chemoradioterapie provedena předoperačně, bude u většiny nemocných za stejných nákladů vzhledem k aktuálním léčebným standardům indikována v léčbě adjuvantní. Léčba pacientů by měla probíhat centralizovaně v nemocnicích s bohatými zkušenostmi s chirurgickou léčbou karcinomů žaludku a s kvalitním personálním a přístrojovým vybavením radioterapie.

Výsledky této studie mohou být dále inspirací pro klinické zkoumání kombinace předoperační radioterapie karcinomu žaludku s biologickou blokadou funkce EGFR jeho inhibitory. Existuje však jen málo experimentálních studií sledujících radiosenzitizaci buněk

karcinomů žaludku aplikací inhibitorů EGFR *in vitro*, zatímco klinická evidence na pacientech zcela chybí. Snad jedinou recentně dostupnou experimentální studií je čínská radiobiologická studie, která prokázala *in vitro* zvýšení radiosenzitivity dvou ze sedmi odlišných linií lidského adenokarcinomu žaludku exprimujících EGFR po jejich předchozí expozici gefitinibu, selektivnímu inhibitoru EGFR tyrozinkinázy (Cao et al. 2007). Autoři této studie prokázali signifikantní redukci přeživších nádorových buněk jednak při zvýšení dávky radioterapie, tak ale i při zvýšení koncentrace samotného gefitinibu. Závěrem se pak shodují na tom, že aplikace gefitinibu s následnou iradiací může zvýšit radiosenzitivitu nádorových linií karcinomů žaludku s vysokou expresí EGFR jednak inhibicí buněčné proliferace, ale také zvýšenou indukcí apoptózy a redistribucí fází buněčného cyklu.

Dokud však nebude přínos anti-EGFR strategie v potenciaci radioterapie karcinomu žaludku potvrzen randomizovanou prospektivní studií, zůstane kombinovaná neoadjuvantní „bioradioterapie“ jen součástí experimentů. Nelze pak opomenout ani ekonomickou stránku případné kombinace biologické léčby a radioterapie. Zatímco finanční náklady na léčbu jednoho pacienta konvenční předoperační chemoradioterapií v dávce 45 Gy ve 25-ti frakcích technikou AP/PA s rentgenovou simulací, týdenní verifikací, dozimetrickou kontrolou při první frakci ozáření, konkomitantní kontinuální chemoterapií 5-fluorouracil  $200\text{mg}/\text{m}^2$  a týdenní aplikací cisplatinu  $40\text{mg}/\text{m}^2$  s antiemetickou profylaxí a za hospitalizace činí při aktuálních sazbách pojišťovny přibližně 98,000 Kč (jedná se o čisté náklady, které lze vykázat zdravotní pojišťovně kódem dle aktuálního sazebníku; v kalkulaci nejsou zahrnuty odběry a vyšetření krve, obvazový materiál, výživa, ani náklady na ošetřující personál); finanční nákladnost léčby by pak radikálně vzrostla, pokud by se k potenciaci radioterapie místo chemoterapie užívala konkomitantní aplikace cetuximabu v obdobném dávkovém schématu jako u potenciace radioterapie karcinomů hlavy a krku. V takovém případě by se cena léčby jednoho pacienta vyšplhala přibližně na 220,000 Kč. Rozhodujícím faktorem by ale měla být účinnost léčby, nikoliv její cena.

Při koncipování dalších klinických studií je důležité brát v úvahu nejen míru imunohistochemické exprese EGFR, ale také případnou přítomnost aktivační mutace K-ras, která dle aktuálních znalostí činí nádorové tkáně rezistentní k inhibitorům EGFR. Aktivační mutaci K-ras lze nalézt přibližně u 30% lidských nádorů a její přítomnost hraje kritickou roli ve snížené citlivosti nádorů k cytotoxické léčbě, včetně radioterapie (Bernhard et al. 2000; Toulany et al. 2005; Toulany et al. 2006; Cengel et al. 2006). Nemutovaná, tzv. divoká forma („wild-type“) K-ras může být nadměrně aktivovaná při nadměrné expresi nebo zvýšené aktivaci svých signálních partnerů, zejména pak EGFR. Tuto aktivitu pak vytváří mutovaná forma K-ras i v případě negativní exprese EGFR nebo při absenci jeho přirozených ligandů. V takovém případě není samotná exprese EGFR dostatečným prediktorem jeho skutečné aktivity, čili ani citlivosti nádorů k cytotoxické léčbě. Tato domněnka byla v uplynulém roce klinicky potvrzena při sledování účinnosti biologické terapie karcinomu kolorekta monoklonálními protilátkami proti EGFR. Klinická data prokazující nadřazenost průkazu aktivační mutace K-ras nad expresí EGFR v predikci nádorové radiorezistence zatím chybí. Stejně tak nebyl dosud prokázán vztah mezi mutací K-ras a radiosenzitivitou u karcinomu žaludku.

Předchozí pokusy korelovat stav exprese p53, p21 a p16 s léčebnou odpovědí u pacientů léčených předoperační radioterapií nebo chemoradioterapií dopadly rozporuplně. Některé studie připisují těmto regulátorům buněčného cyklu úlohu v predikování radiosenzitivity, zejména u adenokarcinomů rekta (Spitz et al. 1997; Fu et al. 1998; Qiu et al. 2000; Suzuki et al. 2004; Komuro et al. 2005), dlaždicobuněčných karcinomů hlavy a krku (Couture et al. 2002), a karcinomů jícnu (Takeuchi et al. 2003; Sohma et al. 2004). Nicméně jiné studie zase neshledaly rozdíly v léčebné odpovědi mezi nádory s pozitivní a negativní expresí těchto proteinů (Wilson et al. 1995; Tan et al. 1997; Sanuders et al. 1999; Lavertu et al. 2001; Koelbl et al. 2001; Reerink et al. 2004). Stejně tak ani naše zkoumání neprokázalo klinickou

významnost exprese p53, p21 či p16 v predikci léčebné odpovědi karcinomů žaludku k předoperační chemoradioterapii.

Za určitý nedostatek předkládané práce považuji nízký počet sledovaných pacientů a inhomogenitu léčebných dávek radioterapie a chemoterapie, která vyplývala z měnících se léčebných standardů našeho pracoviště v průběhu času. Za diskusi stojí také rozdílná technika stanovení rozsahu onemocnění před a po aplikaci chemoradioterapie. Zatímco před léčbou byl staging onemocnění stanovován převážně endosonograficky, léčebná odpověď byla hodnocena již jen stanovením patologického stagingu nebo perioperačně chirurgem. Opakování endosonografie nebo CT vyšetření s odstupem času po proběhlé chemoradioterapii by však mohlo přinést značně zavádějící údaje, díky neschopnosti těchto technik rozeznat jizevnaté, zánětlivé a edematózní změny od aktivního nádorového procesu. Tento nedostatek by mohlo odstranit provedení PET/CT před a po neoajuvantní léčbě. Této technice však v době průběhu léčby nemocných stála v cestě její špatná dostupnost a finanční nákladnost. Navíc diskutabilní zůstává případné ideální načasování PET/CT ke stanovení léčebné odpovědi po chemoradioterapii, ke spolehlivému rozeznání reparačních procesů od zbytkového nádoru tak, abychom současně stihly naplánovat operační zákrok s odstupem 4-6 týdnů od chemoradioterapie.

Otázkou na závěr zůstává, jakým směrem vést další výzkum v dosud málo úspěšné léčbě pokročilého karcinomu žaludku. Operační technika již se zdá dosáhla svého vrcholného bodu a aktuální literatura posledních let již nepřináší žádné převratné změny v chirurgických postupech léčby tohoto onemocnění. Stejně tak měnící se zkoumané režimy a dávky chemoterapie ať už v adjuvantním nebo neoadjuvantním podání nepřináší signifikantní změny v dlouhodobém přežití nemocných. Jednou z možností zlepšení výsledků léčby je použití nových technik radioterapie v předoperační nebo pooperační chemoradioterapii. Samostatné použití techniky IMRT (Intensity Modulated Radiation Therapy) v léčbě karcinomu žaludku postrádá praktický význam, protože nás zde netrápí akutní ani pozdní toxicita léčby, není tedy prvotní důvod hledat techniku šetření zdravých tkání. Ani není dostatek důkazů pro to, že případné navýšení dávky záření na tumor má vliv na léčebnou odpověď karcinomu žaludku či přežití nemocných (Taremi et al. 2007). Technika IGRT (Image Guided Radiation Therapy) u karcinomu žaludku naopak nachází své logické opodstatnění vzhledem k tomu, že žaludek je cílovou strukturou radioterapie, která během léčby vykazuje značné pohyby a výrazné změny ve své náplni (Watanabe et al. 2008). Za pomoci kombinace IGRT s aplikací kontrastních svorek do sliznice žaludku nebo spolykáním per os kontrastní látky před každou frakcí radioterapie by bylo možné dosáhnout redukce nežádoucích pohybů cílového objemu a zpřesnění léčby zářením. I tato technika má však své limity a u radiorezistentních nádorů nepřinese nemocným žádný další benefit. Je tedy logické hledat cestu, kterou dokážeme současně s rozvojem moderních technologií radioterapie dosáhnout zvýšení nádorové radiosenzitivity. Zdá se, že biologická anti-EGFR cílená léčba má v této oblasti největší potenciál.

## 9. ZÁVĚRY

Výsledky předkládané práce prokazují statisticky signifikantní asociaci mezi imunohistochemickou expresí receptoru pro epidermální růstový faktor a negativní léčebnou odpovědí lokálně pokročilých adenokarcinomů žaludku k předoperační chemoradioterapii. Klinickým dopadem výsledků mé práce je možnost stanovování míry exprese EGFR v předléčebné nádorové biopsii adenokarcinomů žaludku s cílem předpovídání jejich léčebné odpovědi k chemoradioterapii.

Prediktivní význam imunohistochemické exprese proteinů p53, p21 a p16 nebyl na rozdíl od exprese EGFR statisticky signifikantní, u exprese proteinu p21 však byla naznačena hraniční statistická významnost.

## 10. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Abbruzzese JL, Rosenberg A, Xiong Q, et al. Phase II study of anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) antibody cetuximab (IMC-C225) in combination with gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001;20:A518.
- Abd El-Rahim DM, Pinder SE, Paish CE, et al. Expression and co-expression of the members of the epidermal growth factor receptor (EGFR) family in invasive breast carcinoma. *Br J Cancer* 2004;91:1532-1542.
- Abe M, Takahashi M, Ono K, Tobe T, Inamoto T. Japan gastric trials in intraoperative radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;15:1431-1433.
- About-Pirak E, Hurwitz E, Pirak ME, Bellot F, Schlessinger J, Sala M. Efficacy of antibodies to epidermal growth factor receptor against KB carcinoma in vitro and in nude mice. *J Natl Cancer Inst* 1988;80:1605-1611.
- Adams EJ, Green JA, Clark AH, Youngson JH. Comparison of different scoring systems for immunohistochemical staining. *J Clin Pathol* 1999;52:75-77.
- Ahrendt SA, Decker PA, Alawi EA, et al. Cigarette smoking is strongly associated with mutation of the K-ras gene in patients with primary adenocarcinoma of the lung. *Cancer* 2001;92:1525-1530.
- Ajani JA, Mansfield PF, Crane CH, et al. Paclitaxel-based chemoradiotherapy in localized gastric carcinoma: degree of pathologic response and not clinical parameters dictated patient outcome. *J Clin Oncol* 2005;23(6):1237-1244.
- Ajani JA, Mansfield PF, Janjan N, et al. Multi-institutional trial of preoperative chemoradiotherapy in patients with potentially resectable gastric carcinoma. *J Clin Oncol* 2004;22(14):2774-2780.
- Ajani JA, Winter K, Okawara GS, et al. Phase II trial of preoperative chemoradiation in patients with localized gastric adenocarcinoma (RTOG 9904): quality of combined modality therapy and pathologic response. *J Clin Oncol* 2006;24(24):3953-3958.
- Allal AS, Zwahlen D, Brundler MA, et al. Neoadjuvant radiochemotherapy for locally advanced gastric cancer: long-term results of a phase I trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005;63(5):1286-1289.
- Allum WH, Hallissey MT, Ward LC, Hockey MS. A controlled, prospective, randomized trial of adjuvant chemotherapy or radiotherapy in resectable gastric cancer: Interim report. British Stomach Cancer Group. *Br J Cancer* 1989;60:739-744.
- Amado RG, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:1626-1634.
- Amorino GP, Hamilton VM, Valerie K, Dent P, Lammering G, Schmidt-Ullrich RK. Epidermal growth factor receptor dependence of radiation-induced transcription factor activation in human breast carcinoma cells. *Mol Biol Cell* 2002;13:2233-2244.
- Ang KK, Andratschke NH, Milas L. Epidermal growth factor receptor and response of head-and-neck carcinoma to therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;58:959-965.
- Ang KK, Berkey BA, Tu X, et al. Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Res* 2002;62:7350-7356.
- Arteaga CL. Epidermal growth factor receptor dependence in human tumors: more than just expression? *Oncologist* 2002;7(Suppl 4):31-39.
- Arteaga CL. Overview of epidermal growth factor receptor biology and its role as a therapeutic target in human neoplasia. *Semin Oncol* 2002;29:3-9.
- Atasoy BM, Bentzen SM, Trott KR. The epidermal growth factor receptor is involved in accelerated repopulation in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Exp Strahlenther Klin Strahlenbiol* 2004;13:39-41.

- Aviel-Ronen S, Blackhall FH, Shepherd FA, Tsao MS. K-ras mutations in non-small-cell lung carcinoma: a review. *Clin Lung Cancer* 2006;8:30-38.
- Balaban N, Moni J, Shannon M, et al. The effect of ionizing radiation on signal transduction: antibodies to EGF receptor sensitize A431 cells to radiation. *Biochim Biophys Acta* 1996;1314:147-156.
- Bandyopadhyay D, Mandal M, Adam L, Mendelsohn J, Kumar R. Physical interaction between epidermal growth factor receptor and DNA-dependent protein kinase in mammalian cells. *J Biol Chem* 1998;273:1568-1573.
- Barker FG, Simmons ML, Chang SM, et al. EGFR overexpression and radiation response in glioblastoma multiforme. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001;51:410-418.
- Batra SK, Castelino-Prabhu S, Wikstrand CJ, et al. Epidermal growth factor ligand-independent, unregulated, cell-transforming potential of a naturally occurring human mutant EGFRvIII gene. *Cell Growth Differ* 1995;6:1251-1259.
- Baumann M, Dubois W, Suit HD. Response of human squamous cell carcinoma xenografts of different sizes to irradiation: relationship of clonogenic cells, cellular radiation sensitivity in vivo, and tumor rescuing units. *Radiat Res* 1990;123:325-330.
- Baumann M, Krause M, Zips D, et al. Selective inhibition of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase by BIBX1382BS and the improvement of growth delay, but not local control, after fractionated irradiation in human FaDu squamous cell carcinoma in the nude mouse. *Int J Radiat Biol* 2003;79:547-559.
- Baumann M, Petersen C, Eicheler W, et al. Mechanisms of repopulation in experimental squamous cell carcinoma. In: Kogelnik HD, Lukas P, Sedlmayer F. *Progress in radiation-oncology*, vol. 7. Bologna, Monduzzi; 2002, p.417-422.
- Begg AC. Prediction of repopulation rates and radiosensitivity in human tumours. *Int J Radiat Biol* 1994;65:103-108.
- Bernhard EJ, Stanbridge EJ, Gupta S, et al. Direct evidence for the contribution of activated N-ras and K-ras oncogenes to increased intrinsic radiation resistance in human tumor cell lines. *Cancer Res* 2000;60:6597-6600.
- Bianco C, Bianco R, Tortora G, et al. Antitumor activity of combined treatment of human cancer cells with ionizing radiation and anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody C225 plus type I protein kinase A antisense oligonucleotide. *Clin Cancer Res* 2000;6:4343-4350.
- Bianco C, Tortora G, Bianco R, et al. Enhancement of antitumor activity of ionizing radiation by combined treatment with selective epidermal growth factor receptor – tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (Iressa). *Clin Cancer Res* 2002;8:3250-3258.
- Bonenkamp JJ, Hermans J, Sasako M, et al. Extended lymph node dissection for gastric cancer. *N Engl J Med* 1999;340:908-914.
- Bonenkamp JJ, Songun I, Hermans J, et al. Randomized comparison of morbidity after D1 and D2 dissection for gastric cancer in 966 Dutch patients. *Lancet* 1995;345:745-748.
- Bonner JA, Harari PM, Giralt J, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2006;354:567-578.
- Bos M, Mendelsohn J, Bowden C et al. Phase I studies of anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) chimeric monoclonal antibody C225 in patients with EGFR overexpressing tumors. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1996;15:443a.
- Bowers G, Reardon D, Hewitt T, et al. The relative role of ErbB1-4 receptor tyrosine kinases in radiation signal transduction responses of human carcinoma cells. *Oncogene* 2001;20:1388-1397.
- Brade AM, Magalhaes J, Siu L, et al. A single agent, phase I pharmacodynamic study of nimotuzumab (TheraCIM-h-R3) in patients with advanced refractory solid tumors. *J Clin Oncol* 2007;25: abstrakt 14030.



- Buchsbaum DJ, Bonner JA, Grizzle WE, et al. Treatment of pancreatic cancer xenografts with Erbitux (IMC-C225) anti-EGFR antibody, gemcitabine, and radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;54:1180-1193.
- Cao WG, Ma T, Li JF, et al. Effect of gefitinib on radiosensitivity of gastric cancer cell lines. *Ai Zheng* 2007;26:1330-1335.
- Caraglia M, Abbruzzese A, Leardi A, et al. Interferon-alpha induces apoptosis in human KB cells through a stress-dependent mitogen activated protein kinase pathway that is antagonized by epidermal growth factor. *Cell Death Differ* 1999;6:773-780.
- Carpenter G. Receptors for epidermal growth factor and other polypeptide mitogens. *Annu Rev Biochem* 1987;56:881-914.
- Cengel KA, Deutsch E, Stephens TC, Voong KR, Kao GD, Bernhard EJ. Radiosensitizing effects of the prenyltransferase inhibitor AZD3409 against RAS mutated cell lines. *Cancer Biol Ther* 2006;5:1206-1210.
- Chen DJ, Nirodi CS. The epidermal growth factor: a role in repair of radiation induced DNA damage. *Clin Cancer Res* 2007;13:6555-6560.
- Chow NH, Liu HS, Lee EI, et al. Significance of urinary epidermal growth factor and its receptor expression in human bladder cancer. *Anticancer Res* 1997;17:1293-1296.
- Chryssogelos SA, Dickson RB. EGF receptor expression, regulation, and function in breast cancer. *Breast Cance Res Treat* 1994;29:29-40.
- Chua DT, Nicholls JM, Sham JS, Au GK. Prognostic value of epidermal growth factor receptor expression in patients with advanced stage nasopharyngeal carcinoma treated with induction chemotherapy and radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;59:11-20.
- Chung KY, Shia J, Kemeny NE, et al. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2005;23:1803-1810.
- Cohen MH, Williams GA, Sridhara R, et al. United States Food and Drug Administration Drug Approval summary: Gefitinib (ZD1839; Iressa) tablets. *Clin Cancer Res* 2004;10:1212-1218.
- Cohen RB, Falcey JW, Paulter VJ, Fetzer K, Waksal H. Safety profile of the monoclonal antibody (MOAB) IMC-C225, an anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) used in the treatment of EGFR-positive tumors. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000;19:A1862.
- Contessa JN, Hampton J, Lammering G, et al. Ionizing radiation activates Erb-B receptor dependent Akt and p70 S6 kinase signaling in carcinoma cells. *Oncogene* 2002;21:4032-4041.
- Contessa JN, Reardon DB, Todd D, et al. The inducible expression of dominant-negative epidermal growth factor receptor-CD533 results in radiosensitization of human mammary carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 1999;5:405-411.
- Couture C, Raybaud-Diogene H, Tetu B, et al. p53 and Ki-67 as markers of radioresistance in head and neck carcinoma. *Cancer* 2002; 94:713-722.
- Crombet T, Osorio M, Cruz T, et al. Use of the humanized anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody h-R3 in combination with radiotherapy in the treatment of locally advanced head and neck cancer patients. *J Clin Oncol* 2004;22:1646-1654.
- 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;351:337-345.
- Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006;355:11-20.
- Cuschieri A, Weeden S, Fielding J, et al. Patient survival after D1 and D2 resections for gastric cancer: long-term results of the MRC randomized surgical trial. *Surgical Co-operative Group. Br J Cancer* 1999;79:1522-1530.

- Damstrup L, Rude Voldborg B, Spang-Thomsen M, Brunner N, Skovgaard Poulsen H. In vitro invasion of small-cell lung cancer cell lines correlates with expression of epidermal growth factor receptor. *Br J Cancer* 1998;78:631-640.
- De Pas T, Pelosi G, de Braud F, et al. Modulation of epidermal growth factor receptor status by chemotherapy in patients with locally advanced non-small-cell lung cancer is rare. *J Clin Oncol* 2004;22:4966-4970.
- Dei Tos AP, Ellis I. Assessing epidermal growth factor receptor expression in tumours: what is the value of current test methods? *Eur J Cancer* 2005;41:1383-1392.
- Demiral AN, Sarioglu S, Birlik B, Sen M, Kinay M. Prognostic significance of EGF receptor expression in early glottic cancer. *Auris Nasus Larynx* 2004;31:417-424.
- Di Marco E, Pierce JH, Fleming TP, et al. Autocrine interaction between TGF-alpha and the EGF receptor: quantitative requirements for induction of the malignant phenotype. *Oncogene* 1989;4:831-838.
- Dickstein BM, Wosikowski K, Bates SE. Increased resistance to cytotoxic agents in ZR75B human breast cancer cells transfected with epidermal growth factor receptor. *Mol Cell Endocrinol* 1995;110:205-211.
- Douglass HO, Nava HR. Gastric adenocarcinoma: management of the primary disease. *Semin Oncol* 1985;12:32-45.
- Dragovich T, McCoy S, Fenoglio-Preiser CM, et al. Phase II trial of erlotinib in gastroesophageal junction and gastric adenocarcinomas: SWOG 0127. *J Clin Oncol* 2006;24:4922-4927.
- Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC, et al. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol* 2005;23:5900-5909.
- Ekstrand AJ, James CD, Cavanee WK, Seliger B, Pettersson RF, Collins VP. Genes for epidermal growth factor receptor, transforming growth factor alpha, and epidermal growth factor and their expression in human gliomas in vivo. *Cancer Res* 1991;51:2164-2172.
- Elie C, Geay JF, Morcos M, et al. Lack of relationship between EGFR-1 immunohistochemical expression and prognosis in a multicentre clinical trial of 93 patients with advanced primary ovarian epithelial cancer (GINECO group). *Br J Cancer* 2004;91:470-475.
- Eriksen JG, Buffa FM, Alsner J, Steiniche T, Bentzen SM, Overgaard J. Molecular profiles as predictive marker for the effect of overall treatment time of radiotherapy in supraglottic larynx squamous cell carcinomas. *Radiother Oncol* 2004;71:275-282.
- Eriksen JG, Steiniche T, Askaa J, et al. The prognostic value of epidermal growth factor receptor is related to tumor differentiation and the overall treatment time of radiotherapy in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;58:561-566.
- Eriksen JG, Steiniche T, Overgaard J. The influence of epidermal growth factor receptor and tumor differentiation on the response to accelerated radiotherapy of squamous cell carcinomas of the head and neck in the randomized DAHANCA 6 and 7 study. *Radiother Oncol* 2005;74:93-100.
- Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 1989; 57:1083-1093.
- Fisher-Colbrie J, Witt A, Heinzl H, et al. EGFR and steroid receptors in ovarian carcinoma: comparison with prognostic parameters and outcome of patients. *Anticancer Res* 1997;17:613-619.
- Fowler JF. Rapid repopulation in radiotherapy: a debate on mechanism. The phantom of tumor treatment--continually rapid proliferation unmasked. *Radiother Oncol* 1991;22:156-158.

- Frederick L, Wang XY, Eley G, James CD. Diversity and frequency of epidermal growth factor receptor mutations in human glioblastomas. *Cancer Res* 2000;60:1383-1387.
- Fry DW, Kraker AJ, McMichael A, et al. A specific inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Science* 1994;265:1093-1095.
- Fu CG, Tominaga O, Nagawa H, et al. Role of p53 and p21/WAF1 detection in patient selection for preoperative radiotherapy in rectal cancer patients. *Dis Colon Rectum* 1998; 41:68-74.
- Fujitani K, Ajani JA, Crane CH, et al. Impact of induction chemotherapy and preoperative chemoradiotherapy on operative morbidity and mortality in patients with locoregional adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *Ann Surg Oncol* 2007;14:2010-2017.
- Gibson S, Tu S, Oyer R, Anderson SM, Johnson GL. Epidermal growth factor protects epithelial cells against Fas-induced apoptosis. Requirement for Akt activation. *J Biol Chem* 1999;274:17612-17618.
- Giralt J, de las Heras M, Cerezo L, et al. The expression of epidermal growth factor receptor results in a worse prognosis for patients with rectal cancer treated with preoperative radiotherapy: a multicenter, retrospective analysis. *Radiother Oncol* 2005;74:101-108.
- Giralt J, Eraso A, Armengol M, et al. Epidermal growth factor receptor is a predictor of tumor response in locally advanced rectal cancer patients treated with preoperative radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;54:1460-1465.
- Goldstein NI, Prewett M, Zuklys K, Rockwell P, Mendelsohn J. Biological efficacy of a chimeric antibody to the epidermal growth factor receptor in a human tumor xenograft model. *Clin Cancer Res* 1995;1:1311-1318.
- Goldstein NS, Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV colon adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system. *Cancer* 2001;92:1331-1346.
- Gonzalez G, Crombet T, Torres F, et al. Epidermal growth factor-based cancer vaccine for non-small-cell lung cancer therapy. *Ann Oncol* 2003;14:461-466.
- Green MR, Basketter DA, Couchman JR, Rees DA. Distribution and number of epidermal growth factor receptors in skin is related to epithelial cell growth. *Dev Biol* 1983;100:506-512.
- Gunderson LL. Gastric cancer – patterns of relapse after surgical resection. *Semin Radiat Oncol* 2002;12:150-161.
- Gunderson LL, Sosin H. Adenocarcinoma of the stomach: Areas of failure in a reoperation series (second or symptomatic looks). Clinicopathologic correlation and implications for adjuvant therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1982;8:1-11.
- Gutowski MC, Briggs SL, Johnson DA. Epidermal growth factor receptor-reactive monoclonal antibodies: xenograft antitumor activity alone and as drug immunoconjugates. *Cancer Res* 1991;51:5471-5475.
- Haimovitz-Friedman A. Radiation-induced signal transduction and stress response. *Radiat Res* 1998;150(Suppl 5):S102-S108.
- Han SW, Kim TY, Jeon YK, et al. Optimization of patient selection for gefitinib in non-small cell lung cancer by combined analysis of epidermal growth factor receptor mutation, K-ras mutation, and Akt phosphorylation. *Clin Cancer Res* 2006;12:2538-2544.
- Harari PM, Huang SM. Epidermal growth factor receptor modulation of radiation response: preclinical and clinical development. *Semin Radiat Oncol* 2002;12:21-26.
- Harari PM, Huang SM. Radiation response modification following molecular inhibition of epidermal growth factor receptor signaling. *Semin Radiat Oncol* 2001;11:281-289.
- Hartley LC, Evans E, Windsor CJ. Factors influencing prognosis in gastric cancer. *Aust N Z J Surg* 1987;57:5-9.

- Henning GT, Schild SE, Stafford SL, et al. Results of irradiation or chemoirradiation following resection of gastric adenocarcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;46:589-598.
- Herbst RS, Shin DM. Monoclonal antibodies to target epidermal growth factor receptor-positive tumors: a new paradigm for cancer therapy. *Cancer* 2002;94:1593-1611.
- Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;59:21-26.
- Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA Jr, et al. Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: correlation between gene copy number and protein expression and impact on prognosis. *J Clin Oncol* 2003;21:3798-3807.
- Howson CP, Hiyama T, Wynder EL. The decline in gastric cancer: epidemiology of an unplanned triumph. *Epidemiol Rev* 1986;8:1-27.
- Hu G, Liu W, Mendelsohn J, et al. Expression of epidermal growth factor receptor and human papillomavirus E6/E7 proteins in cervical carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1271-1276.
- Hu JK, Chen ZX, Zhou ZG, et al. Intravenous chemotherapy for resected gastric cancer: meta-analysis of randomized controlled trials. *World J Gastroenterol* 2002;8:1023-1028.
- Huang SM, Harari PM. Epidermal growth factor receptor inhibition in cancer therapy: biology, rationale and preliminary clinical results. *Invest New Drugs* 1999;17:259-269.
- Huang SM, Harari PM. Modulation of radiation response after epidermal growth factor receptor blockade in squamous cell carcinomas: inhibition of damage repair, cell cycle kinetics, and tumor angiogenesis. *Clin Cancer Res* 2000;6:2166-2174.
- Huang SM, Li J, Armstrong EA, Harari PM. Modulation of radiation response and tumor-induced angiogenesis after epidermal growth factor receptor inhibition by ZD1839 (Iressa). *Cancer Res* 2002;62:4300-4306.
- Husgafvel-Pursiainen K, Hackman P, Ridanpaa M, et al. K-ras mutations in human adenocarcinoma of the lung: association with smoking and occupational exposure to asbestos. *Int J Cancer* 1993;53:250-256.
- Karashima T, Sweeney P, Slaton JW, et al. Inhibition of angiogenesis by the anti-epidermal growth factor receptor antibody ImClone C225 in androgen-independent prostate cancer growing orthotopically in nude mice. *Clin Cancer Res* 2002;8:1253-1264.
- Kashles O, Yarden Y, Fischer R, Ullrich A, Schlessinger J. A dominant negative mutation suppresses the function of normal epidermal growth factor receptors by heterodimerization. *Mol Cell Biol* 1991;11:1454-1463.
- Kasid U, Pirolo K, Dritschilo A, Chang E. Oncogenic basis of radiation resistance. *Adv Cancer Res* 1993;61:195-233.
- Kastan MB, Canman CE, Leonard CJ. P53, cell cycle control and apoptosis: implications for cancer. *Cancer Metastasis Rev* 1995; 14:3-15.
- Kastan MB, Onyekwere O, Sidransky D, Vogelstein B, Craig RW. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Res* 1991; 51:6304-6311.
- Kavanagh BD, Lin PS, Chen P, Schmidt-Ullrich RK. Radiation-induced enhanced proliferation of human squamous cancer cells in vitro: a release from inhibition by epidermal growth factor. *Clin Cancer Res* 1995;1:1557-1562.
- Kearsley JH, Leonard JH, Walsh MD, Wright GR. A comparison of epidermal growth factor receptor (EGFR) and c-erbB-2 oncogene expression in head and neck squamous cell carcinomas. *Pathology* 1991;23:189-194.
- Kennedy BJ. TNM classification for stomach cancer. *Cancer* 1970;26:971-983.

- Kersemaekers AM, Fleuren GJ, Kenter GG, et al. Oncogene alterations in carcinomas of the uterine cervix: overexpression of the epidermal growth factor receptor is associated with poor prognosis. *Clin Cancer Res* 1999;5:577-586.
- Kern KA. Gastric cancer: a neoplastic enigma. *J Surg Oncol Suppl* 1989;1:34-39.
- Kersting C, Tidow N, Schmidt H, et al. Gene dosage PCR and fluorescence in situ hybridization reveal low frequency of egfr amplifications despite protein overexpression in invasive breast carcinoma. *Lab Invest* 2004;84:582-587.
- Kim JS, Kim JM, Li S, et al. Epidermal growth factor receptor as a predictor of tumor downstaging in locally advanced rectal cancer patients treated with preoperative chemoradiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006;66:195-200.
- Kim MA, Lee HS, Lee HE, Jeon YK, Yang HK, Kim WH. EGFR in gastric carcinomas: prognostic significance of protein overexpression and high gene copy number. *Histopathology* 2008;52:738-746.
- Klautke G, Foitzik T, Ludwig K, Ketterer P, Klar E, Fietkau R. Neoadjuvant radiochemotherapy in locally advanced gastric carcinoma. *Strahlenther Onkol* 2004;180:695-700.
- Klijn JG, Look MP, Portengen H, et al. The prognostic value of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in primary breast cancer: results of a 10 year follow-up study. *Breast Cancer Res Treat* 1994;29:73-83.
- Koelbl O, Rosenwald A, Haberl M, Muller J, Reuther J, Flentje M. p53 and Ki-67 as predictive markers for radiosensitivity in squamous cell carcinoma of the oral cavity? an immunohistochemical and clinicopathologic study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 49:147-154.
- Komuro Y, Watanabe T, Tsurita G, Muto T, Nagawa H. Evaluating the combination of molecular prognostic factors in tumor radiosensitivity in rectal cancer. *Hepatogastroenterology* 2005; 52:666-671.
- Kosse VA. Combined treatment of gastric cancer using hypoxic radiotherapy. *Vopr Onkol* 1990;36:1349-1353.
- Krause M, Baumann M, Thames HD. In regard to Solomon et al. EGFR blockade with ZD1839 ("Iressa") potentiates the antitumor effects of single and multiple fractions of ionizing radiation in human A431 squamous cell carcinoma. *IJROBP* 2003;55:713-723. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003;57:300-301.
- Krause M, Hessel F, Wohlfarth J, et al. Ultrafractionation in A7 human malignant glioma in nude mice. *Int J Radiat Biol* 2003;79:377-383.
- Krause M, Ostermann G, Petersen C, et al. Decreased repopulation as well as increased reoxygenation contribute to the improvement in local control after targeting of the EGFR by C225 during fractionated irradiation. *Radiother Oncol* 2005;76:162-167.
- Lammering G, Hewit TH, Hawkins WT, et al. Epidermal growth factor receptor as a genetic therapy target for carcinoma cell radiosensitization. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:921-929.
- Lammering G, Lin PS, Contessa JN, Hampton JL, Valerie K, Schmidt-Ullrich RK. Adenovirus-mediated overexpression of dominant negative epidermal growth factor receptor-CD533 as a gene therapeutic approach radiosensitizes human carcinoma and malignant glioma cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001;51:775-784.
- Lammering G. Molecular predictor and promising target: will EGFR become a star in radiotherapy? *Radiother Oncol* 2005;74:89-91.
- Lan L, Wong NS. Phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase C are required for the inhibition of caspase activity by epidermal growth factor. *FEBS Lett* 1999;444:90-96.
- Langner C, Ratschek M, Rehak P, Schips L, Zigeuner R. Are heterogenous results of EGFR immunoreactivity in renal cell carcinoma related to non-standardised criteria for staining evaluation? *J Clin Pathol* 2004;57:773-775.

- Lavertu P, Adelstein DJ, Myles J, Secic M. P53 and Ki-67 as outcome predictors for advanced squamous cell cancers of the head and neck treated with chemoradiotherapy. *Laryngoscope* 2001; 111:1878-1892.
- Layfield LJ, Bernard PS, Goldstein NS. Color multiplex polymerase chain reaction for quantitative analysis of epidermal growth factor receptor genes in colorectal adenocarcinoma. *J Surg Oncol* 2003;83:227-231.
- Lee JC, Wang ST, Chow NH, Yang HB. Investigation of the prognostic value of coexpressed erbB family members for the survival of colorectal cancer patients after curative surgery. *Eur J Cancer* 2002;38:1065-1071.
- Leong JL, Loh KS, Putti TC, Goh BC, Tan LK. Epidermal growth factor receptor in undifferentiated carcinoma of the nasopharynx. *Laryngoscope* 2004;114:153-157.
- Leu CM, Chang C, Hu C. Epidermal growth factor (EGF) suppresses staurosporine-induced apoptosis by inducing mcl-1 via the mitogen-activated protein kinase pathway. *Oncogene* 2000;19:1665-1675.
- Leung TW, Cheung AN, Cheng DK, Wong LC, Ngan HY. Expressions of c-erbB-2, epidermal growth factor receptor and pan-ras proto-oncogenes in adenocarcinoma of the cervix: correlation with clinical prognosis. *Oncol Rep* 2001;8:1159-1164.
- Liang K, Ang KK, Milas L, Hunter N, Fan Z. The epidermal growth factor receptor mediates radioresistance. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003;57(1):246-254.
- Lieto E, Ferraraccio F, Orditura M, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) is an independent prognostic indicator of worse outcome in gastric cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2008;15:69-79.
- Lin SY, Makino K, Xia W, et al. Nuclear localization of EGF receptor and its potential new role as a transcription factor. *Nat Cell Biol* 2001;3:802-808.
- Liu TF, Tatter SB, Willingham MC, Yang M, Hu JJ, Frankel AE. Growth factor receptor expression varies among high-grade gliomas and normal brain: epidermal growth factor receptor has excellent properties for interstitial fusion protein therapy. *Mol Cancer Ther* 2003;2:783-787.
- Lowe SW, Ruley HE, Jacks T, Housman DE. p53-dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. *Cell* 1993; 74:957-967.
- MacDonald JS, Smalley SR, Benedetti J, et al. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone in adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *N Engl J Med* 2001;345:725-730.
- Mammano E, Belluco C, Sciro M, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR): mutational and protein expression analysis in gastric cancer. *Anticancer Res* 2006;26:3547-50.
- Marchetti A, Martella C, Felicioni L, et al. EGFR mutations in non-small-cell lung cancer: analysis of a large series of cases and development of a rapid and sensitive method for diagnostic screening with potential implications on pharmacologic treatment. *J Clin Oncol* 2005;23:857-865.
- Mari E, Floriani I, Tinazzi A, et al. Efficacy of adjuvant chemotherapy after curative resection for gastric cancer: a meta-analysis of published randomised trials. A study of the GISCAD (Gruppo Italiano per lo Studio dei Carcinomi dell' Apparato Digerente). *Ann Oncol* 2000;11:837-843.
- Masui H, Kawamoto T, Sato JD, Wolf B, Sato G, Mendelsohn J. Growth inhibition of human tumor cells in athymic mice by anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies. *Cancer Res* 1984;44:1002-1007.
- Maurizi M, Almadori G, Ferrandina G, et al. Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 1996;74:1253-1257.
- McClellan M, Kievit P, Auersperg N, Rodland K. Regulation of proliferation and apoptosis by epidermal growth factor and protein kinase C in human ovarian surface epithelial cells. *Exp Cell Res* 1999;246:471-479.

- McKay JA, Murray LJ, Curran S, et al Evaluation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) in colorectal tumours and lymph node metastases. *Eur J Cancer* 2002;38:2258-2264.
- Meert AP, Martin B, Delmotte P, et al. The role of EGF-R expression on patient survival in lung cancer: a systematic review with meta-analysis. *Eur Respir J* 2002;20:975-981.
- Mendelsohn J, Baselga J. The EGF receptor family as targets for cancer therapy. *Oncogene* 2000;19:6550-6565.
- Mendelsohn J. Epidermal growth factor receptor inhibition by a monoclonal antibody as anticancer therapy. *Clin Cancer Res* 1997;3:2703-2707.
- Milas L, Akimoto T, Hunter NR, et al. Relationship between cyclin D1 expression and poor radioresponse of murine carcinomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;52:514-521.
- Milas L, Mason K, Hunter N, et al. In vivo enhancement of tumor radioresponse by C225 antiepidermal growth factor receptor antibody. *Clin Cancer Res* 2000;6:701-708.
- Milas L, Yamada S, Hunter N, Guttenberger R, Thomas HD. Changes in TCD50 as a measure of clonogen doubling time in irradiated and unirradiated tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991;21:1195-1202.
- Modjtahedi H, Affleck K, Stubberfield C, Dean C. EGFR blockade by tyrosine kinase inhibitor or monoclonal antibody inhibits growth, directs terminal differentiation and induces apoptosis in the human squamous cell carcinoma HN5. *Int J Oncol* 1998;13:335-342.
- Morgan MA, Parsels LA, Kollar LE, Normolle DP, Maybaum J, Lawrence TS. The combination of epidermal growth factor receptor inhibitors with gemcitabine and radiation in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:5142-5149.
- Morishige K, Kurachi H, Amemiya K, et al. Evidence for the involvement of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor receptor autocrine growth mechanism in primary human ovarian cancers in vitro. *Cancer Res* 1991;51:5322-5328.
- Moscattello DK, Holgado-Madruga M, Godwin AK, et al. Frequent expression of a mutant epidermal growth factor receptor in multiple human tumors. *Cancer Res* 1995;55:5536-5539.
- Moscattello DK, Montgomery RB, Sundareshan P, McDanel H, Wong MY, Wong AJ. Transformational and altered signal transduction by a naturally occurring mutant EGF receptor. *Oncogene* 1996;13:85-96.
- Moutinho C, Mateus AR, Milanezi F, Carneiro F, Seruca R, Suriano G. Epidermal growth factor receptor structural alterations in gastric cancer. *BMC Cancer* 2008;8:10.
- Murat A, Migliavacca E, Gorlia T, et al. Stem cell-related „self-renewal“ signature and high epidermal growth factor receptor expression associated with resistance to concomitant chemoradiotherapy in glioblastoma. *J Clin Oncol* 2008;26:3015-3024.
- Naramura M, Gillies SD, Mendelsohn J, Reisfeld RA, Mueller BM. Therapeutic potential of chimeric and murine anti-(epidermal growth factor receptor) antibodies in a metastasis model of human melanoma. *Cancer Immunol Immunother* 1993;37:343-349.
- Nasu S, Ang KK, Fan Z, Milas L. C225 antiepidermal growth factor receptor antibody enhances tumor radiocurability. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001;51:474-477.
- Neskovic-Konstantinovic Z, Nikolic-Vukosavljevic D, Brankovic-Magic M, et al. Expression of epidermal growth factor receptor in breast cancer, from early stages to advanced disease. *J Exp Clin Cancer Res* 1999;18:347-355.
- Nicholson RI, Gee JM, Harper ME. EGFR and cancer prognosis. *Eur J Cancer* 2001;37 (Suppl 4):S9-S15.
- Nishikawa R, Ji XD, Harmon RC, et al. A mutant epidermal growth factor receptor common in human glioma confers enhanced tumorigenicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:7727-7731.
- Ogino S, Kawasaki T, Brahmandam M, et al. Sensitive sequencing method for KRAS mutation detection by pyrosequencing. *J Mol Diagn* 2005;7:413-421.

- Oksvold MP, Huitfeldt H, Stang E, Madshus I. Localizing the EGF receptor. *Nat Cell Biol* 2002;4:E22-23.
- Overholser JP, Prewett MC, Hooper AT, Waksal HW, Hicklin DJ. Epidermal growth factor receptor blockade by antibody IMC-C225 inhibits growth of a human pancreatic carcinoma xenograft in nude mice. *Cancer* 2000;89:74-82.
- Pao W, Wang TY, Riely GJ, et al. KRAS mutations and primary resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib. *PLoS Med* 2005;2:e17.
- Parra HS, Cavina R, Latteri F, et al. Analysis of epidermal growth factor receptor expression as a predictive factor for response to gefitinib ("Iressa", ZD1839) in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 2004;91:208-212.
- Patel PR, Mansfield PF, Crane CH, et al. Clinical stage after preoperative chemoradiation is a better predictor of patient outcome than the baseline stage for localized gastric cancer. *Cancer* 2007;110:989-995.
- Payne SG, Brindley DN, Guilbert LJ. Epidermal growth factor inhibits ceramide-induced apoptosis and lowers ceramide levels in primary placental trophoblasts. *J Cell Physiol* 1999;180:263-270.
- Perez-Soler R. Phase II clinical trial data with the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor erlotinib (OSI-774) in non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2004;6(Suppl 1):S20-23.
- Perrotte P, Matsumoto T, Inoue K, et al. Anti-epidermal growth factor receptor antibody C225 inhibits angiogenesis in human transitional cell carcinoma growing orthotopically in nude mice. *Clin Cancer Res* 1999;5:257-265.
- Petera J, Dvořák J, Melichar B, et al. Chemoradioterapie v neoadjuvantní léčbě karcinomu žaludku. *Klinická onkologie* 2002;15:216.218.
- Petersen C, Eicheler W, Frommel A, et al. Proliferation and micromilieu during fractionated irradiation of human FaDu squamous cell carcinoma in nude mice. *Int J Radiat Biol* 2003;79:469-477.
- Pillai MR, Jayaprakash PG, Nair MK. Tumour-proliferative fraction and growth factor expression as markers of tumour response to radiotherapy in cancer of the uterine cervix. *J Cancer Res Clin Ocol* 1998;124:456-461.
- Prakash I, Mathur RP, Kar P, Ranga S, Talib VH. Comparative evaluation of cell proliferative indices and epidermal growth factor receptor expression in gastric carcinoma. *Indian J Pathol Microbiol* 1997;40:481-490.
- Prewett M, Rothman M, Waksal H, Feldman R, Bander NH, Hicklin DJ. Mouse-human chimeric anti-epidermal growth factor receptor antibody C225 inhibits the growth of human renal cell carcinoma xenografts in nude mice. *Clin Cancer Res* 1998;4:2957-2966.
- Qiu H, Sirivongs P, Rothenberger M, Rothenberger DA, Garcia-Aguilar J. Molecular prognostic factors in rectal cancer treated by radiation and surgery. *Dis Colon Rectum* 2000; 43:451-459.
- Raben D, Bianco C, Milas L, Ang KK. Targeted therapies and radiation for the treatment of head and neck cancer: are we making progress? *Semin Radiat Oncol* 2004;14:139-152.
- Raben D, Buchsbaum DJ, Gillespie Y, et al. Treatment of human intracranial gliomas with chimeric monoclonal antibody against the epidermal growth factor receptor increases survival of nude mice when treated concurrently with irradiation. *Proc Am Assoc Cancer* 1999;40:A1224.
- Raben D, Helfrich D, Chan D, et al. The effects of ZD1839 on cell signaling processes and its growth effects with radiation and chemotherapy in human non-small cell lung cancer cells in vitro. *Clin Cancer Res* 2001;7:3805s.
- Rao GS, Murray S, Ethier SP. Radiosensitization of human breast cancer cells by a novel ErbB family receptor tyrosine kinase inhibitor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;48:1519-1528.



- Reardon DB, Contessa JN, Mikkelsen RB, et al. Dominant negative EGFR-CD533 and inhibition of MAPK modify JNK1 activation and enhance radiation toxicity of human mammary carcinoma cells. *Oncogene* 1999;18:4756-4766.
- Redemann N, Holzmann B, von Rden T, Wagner EF, Schlessinger J, Ullrich A. Anti-oncogenic activity of signalling-defective epidermal growth factor receptor mutants. *Mol Cell Biol* 1992;12:491-498.
- Reerink O, Karrenbeld A, Plukker JT, et al. Molecular prognostic factors in locally irresectable rectal cancer treated preoperatively by chamo-radiotherapy. *Anticancer Res* 2004; 24:1217-1221.
- Robert F, Ezekiel MP, Spencer SA, et al. Phase I study of anti--epidermal growth factor receptor antibody cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:3234-3243.
- Rodemann HP, Dittmann K, Toulany M. Radiation-induced EGFR-signalling and control of DNA-damage repair. *Int J Radiat Biol* 2007;83:781-791.
- Rohatgi PR, Mansfield PF, Crane CH, et al. Surgical pathology stage by American Joint Commission on Cancer criteria predicts patient survival after preoperative chemoradiation for localized gastric carcinoma. *Cancer* 2006;107:1475-1482.
- Roth AD, Allal AS, Brundler MA, et al. Neoadjuvant radiochemotherapy for locally advanced gastric cancer: a phase I-II study. *Ann Oncol* 2003;14:110-115.
- Rubin Grandis J, Melhem MF, Barnes EL, Twardy DJ. Quantitative immunohistochemical analysis of transformig growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 1996;78:1284-1292.
- Rubin Grandis J, Melhem MF, Gooding WE, et al. Levels of TGF-alpha and EGFR protein in head and neck squamous cell carcinoma and patient survival. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:824-832.
- Rusch V, Klimstra D, Venkatraman E, Pisters PW, Langenfeld J, Dmitrovsky E. Overexpression of the epidermal growth factor receptor and its ligand transforming growth factor alpha is frequent in resectable non-small cell lung cancer but does not predict tumor progression. *Clin Cancer Res* 1997;3:515-522.
- Saleh MN, Raisch KP, Stackhouse MA, et al. Combined modality therapy of A431 human epidermoid cancer using anti-EGFr antibody C225 and radiation. *Cancer Biother Radiopharm* 1999;14:451-463.
- Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignances. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995;19:183-232.
- Saltz LB, Meropol NJ, Loehrer PJ Sr, Needle MN, Kopit J, Mayer RJ. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor. *J Clin Oncol* 2004;22:1201-1208.
- Saunders ME, MacKenzie R, Shipman R, Fransen E, Gilbert R, Jordan RC. Patterns of p53 gene mutations in head and neck cancer: full-length gene sequencing and results of primary radiotherapy. *Clin Cancer Res* 1999; 5:2455-2463.
- Scartozzi M, Bearzi I, Berardi R, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) status in primary colorectal tumors does not correlate with EGFR expression in related metastatic sites: implications for treatment with EGFR-targeted monoclonal antibodies. *J Clin Oncol* 2004;22:4772-4778.
- Schmidt-Ullrich RK, Contessa JN, Dent P, et al. Molecular mechanisms of radiation-induced accelerated repopulation. *Radiat Oncol Investig* 1999;7:321-330.
- Schmidt-Ullrich RK, Dent P, Grant S, Mikkelsen RB, Valerie K. Signal transduction and cellular radiation responses. *Radiat Res* 2000;153:245-257.
- Schmidt-Ullrich RK, Contessa JN, Lammering G, Amorino G, Lin PS. EGFR receptor tyrosine kinases and cellular radiation responses. *Oncogene* 2003;22:5855-5865.

- Schratinger VH, Kacani L, Andrie J, et al. Pharmacodiagnostic value of the HER family in head and neck squamous cell carcinoma. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2004;66:21-26.
- Schreiber AB, Lax I, Yarden Y, Eshhar Z, Schlessinger J. Monoclonal antibodies against receptor for epidermal growth factor induce early and delayed effects of epidermal growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:7535-7539.
- Selvaggi G, Novello S, Torri V, et al. Epidermal growth factor receptor overexpression correlates with a poor prognosis in completely resected non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2004;15:28-32.
- Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer* 2007;7:169-181.
- Shchepotin IB, Evans SR, Chorny V, et al. Intensive preoperative radiotherapy with local hyperthermia for the treatment of gastric carcinoma. *Surg Oncol* 1994;3:37-44.
- She Y, Lee F, Chen J, et al. The epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 selectively potentiates radiation response of human tumors in nude mice, with a marked improvement in therapeutic index. *Clin Cancer Res* 2003;9:3773-3778.
- Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:339-346.
- Shinojima N, Tada K, Shiraishi S, et al. Prognostic value of epidermal growth factor receptor in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer Res* 2003;63:6962-6970.
- Shintani S, Li C, Mihara M, et al. Enhancement of tumor radioresponse by combined treatment with gefitinib (Iressa, ZD1839), an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, is accompanied by inhibition of DNA damage repair and cell growth in oral cancer. *Int J Cancer* 2003;107:1030-1037.
- Siewert JR, Lange J, Bottcher K, Holscher M, Wieser HF, Gossner W. Stomach cancer: the current situation from the surgical viewpoint. *Dtsch Med Wochenschr* 1987;112:622-628.
- Silverberg E, Boring CC, Squires TS. Cancer statistics, 1990. *CA Cancer J Clin* 1990;40:9-26.
- Sindelar WF, Kinsella TJ, Tepper JE, et al. Randomized trial of intraoperative radiotherapy in carcinoma of the stomach. *Amer J Surg* 1993;165:178-186.
- Sirotnak FM, Zakowski MF, Miller VA, Scher HI, Kris MG. Efficacy of cytotoxic agents against human tumor xenografts is markedly enhanced by coadministration of ZD1839 (Iressa), an inhibitor of EGFR tyrosine kinase. *Clin Cancer Res* 2000;6:4885-4892.
- Sohda M, Ishikawa H, Masuda N, et al. Pretreatment evaluation of combined HIF-1 $\alpha$ , p53 and p21 expression is a useful and sensitive indicator of response to radiation and chemotherapy in esophageal cancer. *Int J Cancer* 2004; 110:838-844.
- Solomon B, Hagekyriakou J, Trivett M, et al. Potentiation of the antitumor effect of ionizing radiation by ZD1839 ("Iressa") in vitro and in vivo in A431 cells. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2002;43:1002.
- Soulieres D, Senzer NN, Vokes EE, Hidalgo M, Agarwala SS, Siu LL. Multicenter phase II study of erlotinib, an oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with recurrent or metastatic squamous cell cancer of the head and neck. *J Clin Oncol* 2004;22:77-85.
- Spano JP, Lagorce C, Atlan D, et al. Impact of EGFR expression on colorectal cancer patient prognosis and survival. *Ann Oncol* 2005;16:102-108.
- Spaulding DC, Spaulding BO. Epidermal growth factor receptor expression and measurement in solid tumors. *Semin Oncol* 2002;29:45-54.
- Spitz FR, Giacco GG, Hess K, et al. p53 immunohistochemical staining predicts residual disease after chemoradiation in patients with high-risk rectal cancer. *Clin Cancer Res* 1997; 3:1685-1690.

- Stea B, Falsey RR, Carey SS, Martinez JD. Growth inhibition and radiosensitization of glioblastoma multiforme by the tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (Iressa). *Proc Am Assoc Cancer Res* 2002;43:787.
- Steel GG. Cell survival as a determinant of tumor response. In: Steel GG. *Basic clinical radiobiology*, 3rd ed. London, Arnold; 2002, p. 52-63.
- Sunpaweravong P, Sunpaweravong S, Puttawibul P, et al. Epidermal growth factor receptor and cyclin D1 are independently amplified and overexpressed in esophageal squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005;131:111-119.
- Suzuki T, Sadahiro S, Fukasawa M, et al. Predictive factors of tumor shrinkage and histological regression in patients who received preoperative radiotherapy for rectal cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2004; 34:740-746.
- Takehana T, Kunitomo K, Suzuki S, et al. Expression of epidermal growth factor receptor in gastric carcinomas. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003;1:438-45.
- Takeuchi H, Ozawa S, Ando N, Kitagawa Y, Ueda M, Kitajima M. Cell-cycle regulators and the Ki-67 labeling index can predict the response to chemoradiotherapy and the survival of patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the esophagus. *Ann Surg Oncol* 2003; 10:792-800.
- Talaev MI, Starinskij VV, Kovalev BN, et al. Results of combined treatment of cancer of the gastric antrum and gastric body. *Vopr Onkol* 1990;36:1485-1488.
- Tan LK, Ogden GR. p53 over-expression in laryngeal carcinoma is not predictive of response to radiotherapy. *Oral Oncol* 1997; 33:177-181.
- Tang X, Shigematsu H, Bekele BN, et al. EGFR tyrosine kinase domain mutations are detected in histologically normal respiratory epithelium in lung cancer patients. *Cancer Res* 2005;65:7568-7572.
- Taremi M, Rinqash J, Dawson LA. Upper abdominal malignancies: intensity-modulated radiation therapy. *Front Radiat Ther Oncol* 2007;40:272-288.
- Thomas SM, Grandis JR. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of EGFR inhibitors under clinical investigation. *Cancer Treat Rev* 2004;30:255-268.
- Tokunaga A, Onda M, Okuda T, et al. Clinical significance of epidermal growth factor (EGF), EGF receptor, and c-erbB-2 in human gastric cancer. *Cancer* 1995;75:1418-25.
- Toulany M, Dittmann K, Baumann M, Rodemann HP. Inhibition of AKT/protein kinase b but not mitogen activated protein kinase/ERK modulates radiation response by EGFR antagonist. *Radiother Oncol* 2003;67:S20.
- Toulany M, Dittmann K, Kruger M, Baumann M, Rodemann HP. Radioresistance of K-Ras mutated human tumor cells is mediated through EGFR-dependent activation of PI3K-AKT pathway. *Radiother Oncol* 2005;76:143-150.
- Toulany M, Kasten-Pisula U, Brammer I, et al. Blockage of epidermal growth factor receptor-phosphatidylinositol 3-kinase-AKT signaling increases radiosensitivity of K-RAS mutated human tumor cells in vitro by affecting DNA repair. *Clin Cancer Res* 2006;12:4119-4126.
- Toyoda H, Komurasaki T, Uchida D, Morimoto S. Distribution of mRNA for human epiregulin, a differentially expressed member of the epidermal growth factor family. *Biochem J* 1997;326:69-75.
- Turner T, Chen P, Goodly LJ, Wells A. EGF receptor signaling enhances in vivo invasiveness of DU-145 human prostate carcinoma cells. *Clin Exp Metastasis* 1996;14:409-418.
- Uegaki K, Nio Y, Inoue Y, et al. Clinicopathological significance of epidermal growth factor and its receptor in human pancreatic cancer. *Anticancer Res* 1997;17:3841-3847.
- Ullrich A, Schlessinger J. Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. *Cell* 1990;61:203-212.

- Verbeek BS, Andriaansen-Slot SS, Vroom TM, Beckers T, Rijksen G. Overexpression of EGFR and c-erbB2 causes enhanced cell migration in human breast cancer cells and NIH3T3 fibroblasts. *FEBS Lett* 1998;425:145-150.
- Viloria-Petit A, Rak J, Hung MC, et al. Neutralizing antibodies against epidermal growth factor and ErbB-2/neu receptor tyrosine kinases down-regulate vascular endothelial growth factor production by tumor cells in vitro and in vivo: angiogenic implications for signal transduction therapy of solid tumors. *Am J Pathol* 1997;151:1523-1530.
- Vokes EE, Choy H. Targeted therapies for stage III non-small cell lung cancer: integration in the combined modality setting. *Lung Cancer* 2003;41(suppl 1):S115-S121.
- Waldman T, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Uncoupling of S phase and mitosis induced by anticancer agents in cells lacking p21. *Nature* 1996; 381:713-716.
- Walker RA, Dearing SJ. Expression of epidermal growth factor receptor mRNA and protein in primary breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 1999;53:167-176.
- Watanabe M, Isobe K, Takisima H, et al. Intrafractional gastric motion and interfractional stomach deformity during radiation therapy. *Radiother Oncol* 2008;87:425-431.
- Watanabe T, Shintani A, Nakata M, et al. Recombinant human betacellulin. Molecular structure, biological activities, and receptor interaction. *J Biol Chem* 1994;269:9966-9973.
- Wagh MG, Hsuan JJ. EGF receptors as transcription factors: ridiculous or sublime? *Nat Cell Biol* 2001;3:E209-E211.
- Wells A. EGF receptor. *Int J Bioch Cell Biol* 1999;31:637-643.
- Wells A. Tumor invasion: role of growth factor-induced cell motility. *Adv Cancer Res* 2000;78:31-101.
- Whittington R, Coia LR, Haller DG, Rubenstein JH, Rosato EF. Adenocarcinoma of the esophagus and esophago-gastric junction: The effects of single and combined modalities on the survival and patterns of failure following treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1990;19:593-603.
- Wiley HS. Trafficking of the ErbB receptors and its influence on signaling. *Exp Cell Res* 2003;284:78-88.
- Willett CG, Tepper JE, Orlow E, Shipley WU. Renal complications secondary to radiation treatment of upper abdominal malignancies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1986;12:1601-1604.
- Williams KJ, Telfer BA, Stratford IJ, Wedge SR. ZD1839 ('Iressa'), a specific oral epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, potentiates radiotherapy in a human colorectal cancer xenograft model. *Br J Cancer* 2002;86:1157-1161.
- Wilson GD, Richman PI, Dische S, et al. p53 status of head and neck cancer: relation to biological characteristics and outcome of radiotherapy. *Br J Cancer* 1995; 71:1248-1252.
- Withers HR, Taylor JM, Maciejewski B. The hazard of accelerated tumor clonogen repopulation during radiotherapy. *Acta Oncol* 1988;27:131-146.
- Wong AJ, Ruppert JM, Bigner SH, et al. Structural alterations of the epidermal growth factor receptor gene in human gliomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:2965-2969.
- Woodburn JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 1999;82:241-250.
- Wouters BG, Giaccia AJ, Denko NC, Brown JM. Loss of p21Waf1/Cip1 sensitizes tumors to radiation by an apoptosis-independent mechanism. *Cancer Res* 1997; 57:4703-4706.
- Wrann MM, Fox CF. Identification of epidermal growth factor receptors in a hyperproducing human epidermoid carcinoma cell line. *J Biol Chem* 1979;254:8083-8086.
- Wydanski J, Suwinski R, Poltorak S, et al. The tolerance and efficacy of preoperative chemoradiotherapy followed by gastrectomy in operable gastric cancer, a phase II study. *Radiother Oncol* 2007;82(2):132-136.

- Xie H, Turner T, Wang MH, Singh RK, Siegal GP, Wells A. In vitro invasiveness of DU-145 human prostate carcinoma cells is modulated by EGF receptor-mediated signals. *Clin Exp Metastasis* 1995;13:407-419.
- Yang XD, Jia XC, Corvalan JR, Wang P, Davis CG, Jakobovits A. Eradication of established tumors by a fully human monoclonal antibody to the epidermal growth factor receptor without concomitant chemotherapy. *Cancer Res* 1999;59:1236-1243.
- Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer signalling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Can* 2001;37(Suppl 4):S3-S8.
- Yoshida K, Hosoya Y, Sumi S, et al. Studies of the expression of epidermal growth factor receptor in human renal cell carcinoma: a comparison of immunohistochemical method versus ligand binding assay. *Oncology* 1997;54:220-225.
- Zhang ZX, Gu XZ, Yin WB, Huang GJ, Zhang DW, Zhang RG. Randomized clinical trial on the combination of preoperative irradiation and surgery in the treatment of adenocarcinoma of gastric cardia (AGC) – report on 370 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;42:929-934.
- Zhu A, Shaeffer J, Kolm P, El-Mahdi AM. Epidermal growth factor receptor: an independent predictor of survival in astrocytic tumors given definitive irradiation. *Int J Radiat Oncol Phys* 1996;34:809-815.
- Zips D, Baumann M. Anti-VEGF strategies in combination with radiotherapy. In: Nieder C, Milas L, Ang K. *Modification of radiation response*, Berlin, Springer; 2003, p.179-188.
- Zips D, Krause M, Yaromina A, et al. Epidermal growth factor receptor inhibitors for radiotherapy: biological rationale and preclinical results. *J Pharm Pharmacol* 2008;60:1019-1028.

## 11. PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA

### 1. Monografie a kapitoly v monografiích

### 2. Původní články a statě ve sbornících

#### Původní články:

- Sirák I**, Petera J, Odrážka K, Doležel M, Zoul Z, Vaculíková M. Význam intenzity chemoterapie v konkomitantní chemoradioterapii lokálně pokročilého karcinomu čípku děložního. *Ceska Gynekol* 2006;4:308-311.
- Petera J, Odrážka K, Doležel M, Zoul Z, Vaculíková M, Šefrová J, **Sirák I**. Radioterapie velkými poli a brachyterapie s vysokým dávkovým příkonem s konkomitantní chemoterapií u pacientek s lokálně pokročilým cervikálním karcinomem. *Ceska Gynekol* 2007;2:126-130.
- Sirák I**, Petera J, Zoul Z. The Influence of Cisplatin Dose upon Survival in Concurrent Chemoradiotherapy of Locally Advanced Cervical Carcinoma with Weekly Cisplatin. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2008;51:95-99.
- Sirák I**, Petera J, Hatlová J, Vošmik M, Melichar B, Dvořák J, Tyčová V, Zoul Z, Leško M. Expression of p53, p21 and p16 does Not Correlate with Response to Preoperative Chemoradiation in Gastric Carcinoma. Článek přijat v roce 2008 k publikaci do *Hepatogastroenterology* [IF = 0.904]
- Sirák I**, Petera J, Hatlová J, Vošmik M, Melichar B, Dvořák J, Zoul Z, Tyčová V, Leško M, Hajdúch M. Epidermal Growth Factor Receptor as a Predictor of Tumor Response to Preoperative Chemoradiation in Locally Advanced Gastric Carcinoma. *Strahlenther Onkol* 2008;184:592-597. [IF = 3.357]

Petera J, Matula P, Paluska P, **Sirák I**, Mačingová Z, Kašaová L, Frgala T, Hodek M, Vošmik M. High dose rate versus low dose rate brachytherapy in the treatment of tongue carcinoma - a radiobiological study. Neoplasma 2009; 56(2):163-168. [IF = 1.208]

#### **Statě ve sbornících:**

**Sirák I**, Petera J, Odrážka K, Doležel M, Zoul Z, Vaculíková M. Tolerance konkomitantní radiochemoterapie u lokálně pokročilého cervikálního karcinomu. Radiační onkologie 2006, Sborník příspěvků 2. Konference Společnosti Radiační Onkologie, Biologie a Fyziky, str.243-246.

Petera J, Odrážka K, Doležel M, Zoul Z, Vaculíková M, Šefrová J, **Sirák I**. Radioterapie paraaortálními poli a brachyterapie s vysokým dávkovým příkonem s konkomitantní chemoterapií u pacientek s lokálně pokročilým cervikálním karcinomem. Radiační onkologie 2007, Sborník příspěvků 3. Konference Společnosti Radiační Onkologie, Biologie a Fyziky, str. 100-106.

**Sirák I**, Petera J, Hatlová J, Vošmik M, Melichar B, Dvořák J, Tyčová V, Zoul Z, Leško M. Receptor pro epidermální růstový faktor jako prediktor léčebné odpovědi u lokálně pokročilých karcinomů žaludku léčených předoperační chemoradioterapií. Radiační onkologie 2008, Sborník příspěvků 4. Konference Společnosti Radiační Onkologie, Biologie a Fyziky, str. 56-58.

Petera J, Matula P, Paluska P, Mačingová Z, **Sirák I**. Hyperfrakcionovaná brachyterapie s vysokým dávkovým příkonem versus kontinuální brachyterapie s nízkým dávkovým příkonem u nádorů hlavy a krku – radiobiologická studie. Edukační sborník XXXII. Brněnské onkologické dny, str.230.

Dvořák J, Bedrošová J, Kašaová L, Zouhar M, Paluska P, **Sirák I**, Zoul Z, Lukešová Š, Strzondala W, Petera J. Paliativní radioterapie mozkových metastáz karcinomu ledvin. Sborník přednášek, XV. Jihočeské Onkologické dny, 2008, str.126.

**Sirák I**, Vošmik M, Vošmiková H, Petera J. Radiorezistence spojená s aktivací EGFR. Radiační onkologie 2009, Sborník příspěvků 5. Konference Společnosti Radiační Onkologie, Biologie a Fyziky, str. 42-45.

Dvořák J, Petera J, Bedrošová J, Kašaová L, Zouhar M, Paluska P, **Sirák I**, Reichertová M, Sedláčková M, Nováková Š, Gebrt M. Brachyterapie karcinomu jícnu. Radiační onkologie 2009, Sborník příspěvků 5. Konference Společnosti Radiační Onkologie, Biologie a Fyziky, str.113-115.

**Sirák I**, Petera J, Hatlová J, Vošmik M, Dvořák J, Tyčová V, Zoul Z, Jansa J, Zouhar M. Imunohistochemická exprese proteinů p53, p21 a p16 nekoreluje s léčebnou odpovědí karcinomu žaludku k předoperační chemoradioterapii. Radiační onkologie 2009, Sborník příspěvků 5. Konference Společnosti Radiační Onkologie, Biologie a Fyziky, str. 116-119.

#### **3. Přehledové články**

**Sirák I**, Hatlová J, Petera J, Vošmik M, Ryška A, Vošmiková H. Receptor pro epidermální růstový faktor a jeho úloha v radioterapii. Klinická onkologie 2008,21:300-309.

#### **4. Přednášky na odborných setkáních**

**Sirák I**, Petera J, Hatlová J, Vošmik M, Melichar B, Dvořák J, Tyčová V, Zoul Z, Leško M. Receptor pro epidermální růstový faktor jako prediktor léčebné odpovědi u lokálně pokročilých karcinomů žaludku léčených předoperační chemoradioterapií. 4. Konference Společnosti Radiační Onkologie, Biologie a Fyziky.

**Sirák I**, Vošmik M, Vošmiková H, Petera J. Radiorezistence spojená s aktivací EGFR. 5. Konference Společnosti Radiační Onkologie, Biologie a Fyziky, 2009.