

**Aus der Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie
der Medizinischen Fakultät Mannheim
Direktor: Prof. Dr. med. Frank Giordano**

**Bedeutung des HPV-Status
bei Analkarzinomen für den Therapieerfolg
und die Prognose unter
definitiver Radiochemotherapie**

**Inauguraldissertation
zur Erlangung des medizinischen Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät Mannheim
der Ruprecht-Karls-Universität zu Heidelberg**

**vorgelegt von
Sebastian Severa
aus
München
2023**

Dekan: Herr Prof. Dr. med. Sergij Goerd
Referentin: Frau Priv.-Doz. Dr. med. Sabine Kathrin Mai

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
1.1	Allgemein	5
1.2	Ätiologie	5
1.3	Anatomie	7
1.4	Histologie	8
1.5	Staging	9
1.6	Metastasierung	10
1.7	Prognosefaktoren	10
1.8	Therapie	11
1.9	Toxizität	12
1.10	Nachsorge	13
2	Fragestellung	14
3	Material und Methoden	14
3.1	Patientendaten	14
3.2	Radiochemotherapie	15
3.3	HPV-Analyse	15
3.4	Nachsorge	16
3.5	Follow-up	16
3.6	Statistik	16

4	Ergebnisse	18
4.1	Patientencharakteristika	18
4.2	Lokale Kontrolle	20
4.3	Gesamtüberleben	24
4.4	Multivariate Analyse	27
5	Diskussion	29
5.1	Kollektiv	29
5.2	HPV/p16	29
5.3	Geschlecht	32
5.4	T-Stadium	32
5.5	Lokalrezidiv	33
5.6	Tumorlokalisierung	33
5.7	Schlussfolgerung	33
6	Zusammenfassung	35
7	Literaturverzeichnis	37
8	Lebenslauf	48
9	Danksagung	49

1. Einleitung

1.1 Allgemein

Analkarzinome sind seltene Tumore. Ihr Anteil beträgt ca. 1% aller gastrointestinalen Tumore (1). Die Inzidenz ist relativ niedrig mit 1 bis 2 / 100.000 (2).

In den letzten Jahrzehnten konnte ein Anstieg der Inzidenz beobachtet werden.

In England beispielsweise zeigte sich eine Erhöhung der Inzidenz des Analkarzinoms von 1990 bis 2010 um 69 % (3). Auch in anderen Ländern konnte eine Erhöhung der Inzidenz festgestellt werden (4, 5). Dieser Anstieg hat mehrere Gründe. Er kann unter anderem durch eine Erhöhung der Inzidenz von HIV-positiven Männern, die Geschlechtsverkehr mit Männern haben, erklärt werden, da unter diesen die Infektionsrate mit dem humanen Papillomavirus (HPV), dem wichtigsten ätiologischen Faktor, besonders hoch ist (6).

Auch in anderen Ländern finden sich ähnliche Zahlen zur Inzidenz. In den USA lag die Inzidenz von Karzinomen von Anus, Analkanal und Anorektum bei 1,8 Fällen pro 100.000 in den Jahren 2008 – 2012. Für das Jahr 2015 rechnete man mit 7.270 neuen Fällen. Von allen Krebsarten macht das Analkarzinom 0,4 % aus (7). In Deutschland lag die Inzidenz in bestimmten untersuchten Regionen in einer ähnlichen Größenordnung. Der Anteil der Frauen war hier stets höher als der der Männer (8, 9).

Frauen haben ein höheres Risiko an einem Analkarzinom zu erkranken als Männer (10).

Das Erkrankungsalter ist relativ hoch. In den Jahren 2008 – 2012 betrug das durchschnittliche Alter bei Diagnosestellung 61 Jahre. Laut der Statistik der amerikanischen Krebsgesellschaft erkrankten die meisten Menschen zwischen 55 und 64 Jahren bei einem mittleren Erkrankungsalter von 61 Jahren (11). Insgesamt zeigt sich jedoch ein Trend zu einem jüngeren Erkrankungsalter (12).

1.2 Ätiologie

Die wichtigste Ursache für die Entstehung eines Analkarzinoms ist die maligne Transformation nach Infektion mit dem humanen Papillomavirus (HPV). Besonders die Typen HPV16 und HPV18 bergen ein erhöhtes Risiko für eine maligne Entartung. HPV ist weit verbreitet. Über 600.000 aller neuen Fälle oder 5 % aller Tumorerkrankungen sind auf eine Infektion mit HPV zurückzuführen, wobei 24.000 davon Analkarzinome

sind (13, 14). Unter allen 530.000 Zervixkarzinomen sind 100 % auf HPV zurückzuführen, während die HPV-Rate unter allen 85.000 Karzinomen des Oropharyngealtraktes bei 26 % liegt (15).

Bezüglich Übertragungsmechanismus, betroffener Zelltypen und Risikofaktoren ähneln sich Analkarzinom und Zervixkarzinom (16). Bereits 1991 konnte ein Zusammenhang zwischen beiden Tumortypen festgestellt werden (17).

Beim Analkarzinom ist der Anteil der HPV-Tumore relativ hoch. 71 % der Analkarzinome sind HPV-assoziiert. Die Prävalenz der Hochrisikotypen 16 und 18 liegt beim Analkarzinom bei 72 %, ähnlich dem Zervixkarzinom (18, 19). HPV ist relativ weit verbreitet. Eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2009 berichtet von einer HPV-Prävalenz von 84,3 % (20). Eine Studie aus Frankreich aus dem Jahr 2011 hat sogar mit knapp 97 % eine HPV-Prävalenz der Analkarzinome höher als die der Zervixkarzinome gezeigt, wobei hier eine sensitivere Analyseverfahren verwendet wurde (21).

Karzinome des Analkanals sind hierbei mehr HPV-assoziiert als diejenigen der Perianalhaut (22).

Zu einer Neoplasie kommt es durch die im Virus enthaltenen Onkogene E6 und E7. Diese inaktivieren die Tumorsuppressorproteine p53 und Retinoblastomprotein (RB), wodurch es zu einer ungehinderten Zellproliferation kommt (23). Eine weitere Folge ist die Überexpression des Tumorsuppressorgens p16, dessen herabregulierende Wirkung durch die Inaktivierung des Retinoblastomproteins zwar kompensiert wird, das jedoch als Surrogatmarker verwendet werden kann (24-26).

Studien über HPV-assoziierte Tumore im Kopf-Hals-Bereich zeigten, dass HPV-positive und p16-positive Neoplasien eine günstigere Prognose und ein höheres Gesamtüberleben aufweisen als HPV- und p16-negative Entartungen (27, 28). Bezüglich der Behandlung dieser Tumore durch eine Radiochemotherapie konnte gezeigt werden, dass sich HPV- und p16-Positivität günstig auf den Therapieerfolg auswirken (29-31). Eine Studie aus dem Jahr 2011 hat gezeigt, dass HPV-positive Analkarzinome ein besseres progressionsfreies Überleben sowie Gesamtüberleben aufweisen als HPV-negative Karzinome (32).

Ein weiterer wichtiger Risikofaktor ist das Rauchen. Nikotinkonsum wirkt genotoxisch auf die anale Schleimhaut (33).

Die Anzahl der täglichen Zigaretten scheint mit der Prävalenz von HPV zu korrelieren. Ehemalige Raucher scheinen kein erhöhtes Risiko zu haben. Jedoch besteht eine erhöhte Prävalenz von HPV unter aktuellen Rauchern (34).

Weitere begünstigende Faktoren sind vor allem das Sexualverhalten, sexuell übertragbare Krankheiten, wechselnde Sexualpartner, bestehende gynäkologische Neoplasien und Immunsuppression im Sinne eines positiven HIV-Status (12, 35-39).

Frauen mit Tumoren von Cervix, Vulva oder Vagina haben ein erhöhtes Risiko ein Analkarzinom zu entwickeln, wobei hier wiederum die Patientinnen mit einer in situ Neoplasie der Vulva das höchste Risiko für ein Analkarzinom hatten (40).

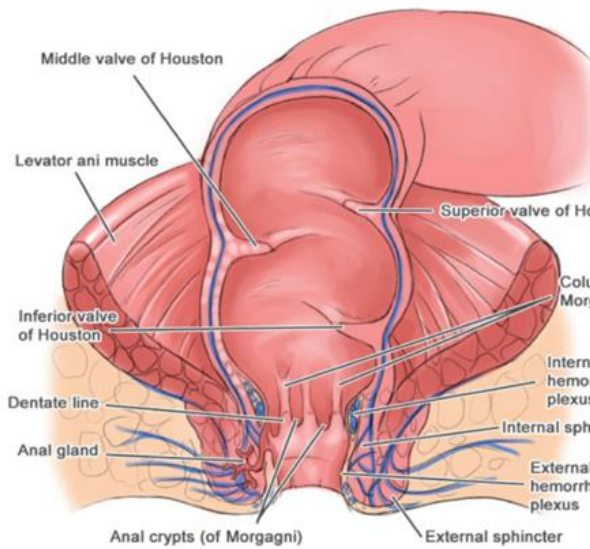
Die Hypothese, dass gutartige anale Läsionen oder chronisch entzündliche Darmerkrankungen zu einem erhöhten Risiko für ein Analkarzinom führen, konnte bisher nicht bestätigt werden. Gutartige Läsionen werden eher als Folge denn als Ursache angesehen (41). Eine systematische Übersichtsarbeit aus dem Jahr 2013 lässt andererseits vermuten, dass Plattenepithelkarzinome bei Patienten mit Morbus Chron sich in einem jüngeren Alter manifestieren und ein schlechteres Outcome aufweisen (42).

Frauen sind im Gegensatz zu Männern vermehrt betroffen, haben jedoch auch eine bessere Überlebensrate(4). Auf der anderen Seite kommen Carcinoma in situ bei Männern häufiger vor (43). Ein eindeutiger Peak wie beim Cervix-Carzinom um die 45 Jahre kann beim Analkarzinom nicht beobachtet werden (44).

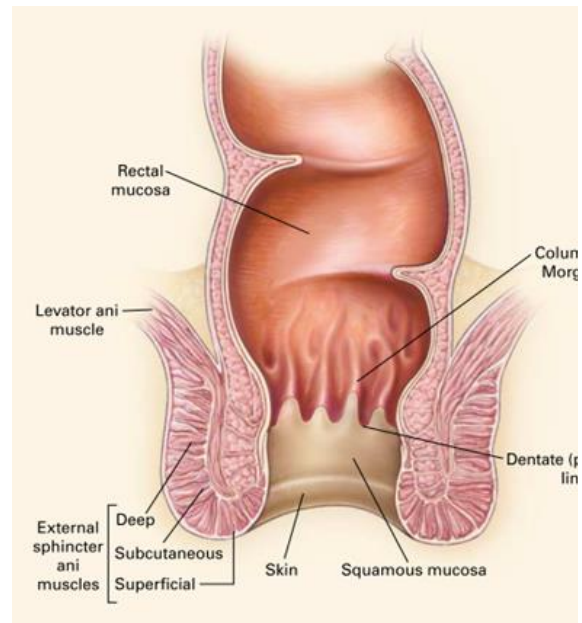
1.3 Anatomie

Der ca. 4 cm lange Analkanal liegt zwischen dem Analrand und der Rektumschleimhaut und besteht zum größten Teil aus Plattenepithel, welches am proximalen Ende des Analkanals innerhalb der Übergangszone über der Linea dentata in das Drüsenepithel des Rektums übergeht. Tumore innerhalb dieser Übergangszone werden den nicht-verhornenden Plattenepithelkarzinomen zugerechnet, wohingegen Tumore des distalen Analkanals zu den verhornenden Plattenepithelkarzinomen zählen (39, 45). Der venöse Abfluss erfolgt oberhalb der Linea dentata über die Vena mesenterica inferior und das Portalsystem und unterhalb über die Vena iliaca interna. Der lymphatische Abfluss wird ebenfalls durch Linea Dentata unterteilt. Unterhalb wird in die inguinalen und femoralen Lymphknoten drainiert und oberhalb in die perirektalen und paravertebralen Lymphknoten (siehe Abbildung 1) (46).

Abbildung 1



(46)



(47)

1.4 Histologie

Das Analkarzinom ist histologisch in den meisten Fällen entweder ein Plattenepithelkarzinom oder ein Adenokarzinom, wobei erstere Variante mit über 70 % am häufigsten vorkommt (2).

Neben dem Plattenepithelkarzinom und dem Adenokarzinom kommen noch das Basalzellkarzinom, das Paget-Karzinom und andere wie das Papillom, das Keratoakanthom und neuroendokrine Tumore vor (48).

In einer Studie mit 386 Patienten aus dem Jahr 1999 konnte festgestellt werden, dass Plattenepithelkarzinome bei Frauen und homosexuellen Männer meistens im Analkanal liegen, bei Männern ohne homosexuelle Erfahrung gibt es keinen (56 %) signifikanten Unterschied bezüglich der Lokalisation (49).

Bezüglich der Lokalisation gibt es die Unterteilung in Analkanal- und Analrandkarzinome. Tumore des Analkanals sind hier fünfmal häufiger als die des Analrands (50). Der Anteil des Analkanalkarzinoms an allen anorektalen Neoplasien beträgt 5 % (51).

1.5 Staging

Das Staging des Analkarzinoms erfolgt nach dem American Joint Committee on Cancer (AJCC, siehe Tabelle 1) (52). Begonnen wird nicht-invasiv mit einer Inspektion und Palpation des Analbereichs. Für die Infiltrationstiefe und die Tumorgöße wird ein endoanaler Ultraschall bzw. eine Rektoskopie durchgeführt (53). Nach einer Biopsie erfolgt schließlich die Bildgebung mittels CT (Thorax bis Becken) und MRT Becken, wobei das PET-CT in Zukunft wahrscheinlich eine größere Rolle beim Staging spielen wird (54). Mehrere Studien haben gezeigt, dass das PET-CT zur Evaluierung des Lymphknotenstatus ebenfalls gut geeignet ist, dessen praktischer Nutzen sich jedoch noch zeigen muss (55, 56). Die computertomographische Untersuchung von Thorax bis Becken dient ebenfalls der Suche nach Fernmetastasen (57).

Tabelle 1: Staging des Analkanalkarzinoms (58)

Primärtumor	
T0	Kein nachweisbarer Tumor
T1	Tumor < 2 cm in größter Ausdehnung
T2	Tumor > 2 cm und < 5 cm in größter Ausdehnung
T3	Tumor > 5 cm in größter Ausdehnung
T4	Infiltration anliegender Organe (Vagina, Urethra, Blase) (direkte Invasion der Rektalwand, der perirektalen Haut, des subkutanen Gewebes oder der Sphinctermuskulatur zählt nicht als T4)
Regionale Lymphknoten	
N0	Keine regionalen Lymphknoten betroffen
N1	Metastasen in perirektalen Lymphknoten
N2	Metastasen in unilateralen iliakal internen und / oder inguinalen Lymphknoten
N3	Metastasen in perirektalen und inguinalen Lymphknoten und / Oder bilateral iliakal internalen und / oder inguinalen Lymphknoten
Fernmetastasen	
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

1.6 Metastasierung

Insgesamt kommt es bei 10 % der Patienten zu Organmetastasierungen. Leber und Lunge sind am häufigsten von Metastasen betroffen, wobei es jedoch nicht selten zu einer multiplen Streuung in mehr als ein Organ kommt. Oft liegen multiple Metastasen in mehr als einem Organsystem vor (59). Die 5-Jahres-Überlebensrate ist dann gering. Sie liegt bei Männern bei 10 %, bei Frauen bei 20 % (60).

Beim metastasierten Analkarzinom wird ein Chemotherapieschema bestehend aus Fluoruracil und Cisplatin verwendet, wobei das mediane Überleben hier bei durchschnittlich 12 Monaten liegt (61). Aufgrund guter Erfolge bei Karzinomen im Kopf-Hals-Bereich wurde eine Therapie mit Taxol, Ifosfamide und Platinium untersucht und stellte sich als vielversprechende Alternative heraus (62). Ein Therapieschema für metastasierte Analkarzinome, bestehend aus MAP (Mitomycin, Adriamycin, Cisplatin) gefolgt von Bleomycin und CCNU, hat sich in einer anderen Phase-II-Studie als erfolgversprechend dargestellt (63).

1.7 Prognosefaktoren

Als Prognosefaktoren spielen die Tumorgröße und der Lymphknotenbefall sowie das Alter eine wichtige Rolle für das Outcome. Patienten mit T 2-3 und N0 sowie T2 und N+ scheinen demnach eine bessere Prognose zu haben als Patienten mit T4 und N0 oder T 3-4 und N+ (64). Jaffer A. Ajani et al. konnten bestätigen, dass männliches Geschlecht, ein positiver Lymphknotenstatus und ein Tumordurchmesser von mindestens 5 cm mit einem schlechteren krankheitsfreien Überleben und einem schlechteren Gesamtüberleben vergesellschaftet sind (65). Eine Studie über die Radiosensitivität von Kopf-Hals-Tumoren hat ergeben, dass HPV-positive Tumore besser auf eine Radiotherapie ansprechen als HPV-negative Tumore (66). Auch beim Analkarzinom werden HPV-DNA und p16 als positive prognostische Marker angesehen (67). Ein positiver p16-Status kann als unabhängiger prognostischer Faktor bezüglich des Gesamtüberlebens und des krankheitsspezifischen Überlebens angesehen werden (68).

Es wurde außerdem gezeigt, dass sich eine vor Beginn der Therapie bestehende Leukozytose negativ auf das Gesamtüberleben auswirkt und ein niedriger Hämoglobinwert vor Therapiebeginn mit einer schlechteren Prognose einhergeht. (69, 70). Rauchen während der Therapie scheint den Effekt zu schmälern (71). Rödel et al. fanden

heraus, dass die Höhe der Expression des Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) ebenfalls eine Rolle zu spielen scheint (72).

1.8 Therapie

Eine erste Alternative zur ursprünglich rein operativen Therapie des Analkarzinoms beschrieb eine Studie von Nigro et al. 1974 (73). In dieser Studie bekamen drei Patienten mit Analkarzinom eine neoadjuvante Radiochemotherapie mit einer Gesamtdosis von 30 Gy, sowie 5-Fluoruracil (5-FU) und Mitomycin C (MMC) als Zytostatika. Bei zwei der Patienten wurde im Operationspräparat kein Tumor nachgewiesen. Eine Patientin verweigerte die Operation, jedoch fand sich kein Hinweis auf ein Rezidiv nach 14 Monaten.

Der Erfolg dieses Behandlungsschemas bezüglich Überlebensrate, lokaler Kontrolle und des Erhalts der Sphinkterfunktion konnte von Cummings et al. bestätigt werden (74). Weitere spätere Studien konnten die Effektivität der kombinierten Radiochemotherapie bestätigen (75). In einer randomisierten Studie des United Kingdom Coordination Committee for Cancer Research (UKCCCR) mit 585 Patienten konnte der Vorteil der kombinierten Radiochemotherapie gegenüber der alleinigen Bestrahlung gezeigt werden, was im Rahmen eines follow-up von 577 dieser Patienten nach 13 Jahren bestätigt werden konnte (76, 77). Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Remissionsrate bei der kombinierten Radiochemotherapie im Vergleich zur alleinigen Radiotherapie um fast 30 % gesteigert werden konnte (78). Auch bei einer Studie aus dem Jahr 2014 konnte an 105 Patienten, von denen 37 mit einer 3D-konformalen Bestrahlungstechnik (3D-CRT) und 68 mit intensitätsmodulierter Strahlentherapie (IMRT) behandelt wurden, der Vorteil von IMRT bezüglich Nebenwirkungen an Haut und dem Gastrointestinaltrakt gezeigt werden. Keine Auswirkungen hat IMRT hierbei jedoch auf das Gesamtüberleben, das progressionsfreie Überleben, die lokale Kontrolle und das kolostomiefreie Überleben (79).

Die Standardtherapie des Analkarzinoms besteht heute weiterhin aus einer kombinierten Radiochemotherapie mit 5-FU und MMC (80).

Cisplatin als Alternative zu Mitomycin einzusetzen hat sich nicht als erfolgversprechender herausgestellt (81). Dies konnte in einer randomisierten Phase-III-Studie mit 649 Patienten besonders für das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben bestätigt werden (82).

In einer Studie mit 5-FU und Cisplatin konnte kein signifikanter Vorteil einer Induktionstherapie oder einer erhöhten Bestrahlungsdosis bezüglich des kolostomiefreien Überlebens festgestellt werden (83).

Trotz der Effektivität der Radiochemotherapie besteht bei 30 % der Patienten eine Indikation zur abdominoperinealen Resektion aufgrund von Persistenz oder Rekurrenz des Primärtumors. Eine besonders schlechte Prognose haben hierbei Patienten mit einem Tumor im Stadium T3 oder T4 (84). Die Verwendung von Cisplatin anstelle von Mitomycin zeigte keine signifikante Verbesserung (85). Eine Phase-II-Studie, bei der die zusätzliche Gabe von Cetuximab zur Radiochemotherapie mit Fluorouracil und Cisplatin untersucht wurde, musste aufgrund einer hohen Rate an unerwünschten Ereignissen abgebrochen werden (86). Ein Therapieschema für metastasierte Analkarzinome – wie bereits unter Punkt 1.6 beschrieben - bestehend aus MAP (Mitomycin, Adriamycin, Cisplatin) gefolgt von Bleomycin und CCNU hat sich als erfolgversprechend dargestellt (63).

Eine therapeutische Option bietet der Inhibitor des Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR). In Kombination mit einer Radiochemotherapie zeigt sich hier zwar eine starke Toxizität, jedoch konnte dies in neueren Studien mit einer niedrigeren Bestrahlungsdosis bereits relativiert werden (87).

Ein neuer Therapieansatz findet sich in der Immuntherapie (88). Beispielsweise der PD-L1-Inhibitor Pembrolizumab, der eine begünstigende Antitumoraktivität bei Patienten mit PDL1-positivem Analkarzinom aufweist (89, 90). In einer aktuellen Multicenter-Studie aus dem Jahr 2020 konnte gezeigt werden, dass Durvalumab, ebenfalls ein PD-L1-Inhibitor, die 3-Jahres-Überlebensrate bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem Analkarzinom verbessert (91).

1.9 Toxizität

Zur Akuttoxizität zählt insbesondere die Strahlendermatitis (92). Durch die Bestrahlung kommt es zu einer Schädigung der sich schnell teilenden Zellen von Epidermis, Talgdrüsen und Haarfollikeln. Die Stärke der Strahlendermatitis hängt von der verabreichten Dosis, der Größe des Bestrahlungsfeldes sowie der anatomischen Lokalisation ab. Zu besonders stark betroffenen Stellen kann es kommen, wenn Hautfalten im Bestrahlungsfeld liegen oder die Strahlendosis ungleich verteilt ist (93). Bei einer

höhergradigen Dermatitis (Grad 3 – 4) kann es zu schweren Desquamationen über Ulzerationen bis hin zu Nekrosen kommen, welche eine Hauttransplantation nötig machen (94).

Die häufigste gastrointestinale Akuttoxizität ist die Diarrhoe (94). Zu den wichtigsten strahlenbedingten pathophysiologischen Ursachen hierfür zählen eine bakterielle Überwucherung (besonders durch gramnegative Bakterien), eine Gallensäure-Malabsorption, eine Kohlenhydrat-Malabsorption sowie eine Veränderung der gastrointestinalen Transitzeit (95). Außerdem kann es zu rektalen Blutungen kommen. Durch die Bestrahlung kommt es zu einer endothelialen Dysfunktion, welche eine vaskuläre Sklerosierung und eine Fibrosierung nach sich zieht. Hierdurch kommt es zu Gefäßverschlüssen, Thrombosen der kleinen Arterien und Arteriolen und zunehmender Ischämie (96).

Eine wichtige Nebenwirkung der Strahlentherapie stellt auch beim Analkarzinom die Myelosuppression dar (97). Da bis zu 40 % des hämatopoetisch aktiven Knochenmarks in der Beckenregion und somit im Bestrahlungsfeld liegen, sind die hämatologischen Nebenwirkungen nicht zu unterschätzen (98). Therapieassoziierte Todesfälle aufgrund einer leukopenischen Sepsis sind beschrieben (99) (100).

Als wichtigste Spätfolgen sind die Kontrolle des analen Sphinkters sowie die Kontrolle der täglichen Stuhlfrequenz zu nennen. Eine adäquate Sphinkterkontrolle trägt maßgeblich zu einer hohen Lebensqualität bei (101).

1.10 Nachsorge

Die Nachsorge besteht aus einer körperlichen Untersuchung, einer Rektoskopie mit Endosonographie sowie einer Computertomographie des Beckens. Alle 6-12 Monate wird ein Röntgen oder eine CT des Thorax durchgeführt. Die erste Nachsorgeuntersuchung findet 6 Wochen nach der Radiochemotherapie statt. Anschließend für die ersten 2 Jahre alle 3 Monate und danach alle 6 Monate für 5 Jahre. Nach diesen 5 Jahren wird eine jährliche Nachsorgeuntersuchung empfohlen. Bei Verdacht auf ein Rezidiv wird eine Biopsie mit erneutem Staging empfohlen.

2. Fragestellung

Zwar ist die Rolle von HPV bei der Ätiologie des Analkarzinoms weitestgehend untersucht, welche genaue Rolle der HPV-Status bei der Prognose spielt, ist jedoch noch unklar.

Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss des HPV-Infektions- und Transformationsstatus auf das Ansprechen auf primäre Radiochemotherapie beim Analkarzinom zu untersuchen. Die Endpunkte stellen hierbei die lokale Kontrolle und das Gesamtüberleben dar. Zusätzlich wurde der Einfluss weiterer gesicherter und potenzieller Prognosefaktoren untersucht.

3. Material und Methoden

3.1 Patientendaten

Für die vorliegende Arbeit wurden die klinischen Daten von Patienten erhoben, die von 1990 bis zum Jahr 2012 in der Abteilung für Strahlentherapie und Radioonkologie des Universitätsklinikums Mannheim eine definitive Radiochemotherapie aufgrund eines Analkarzinoms erhalten haben. Die Daten wurden nach Durchsicht der Patientenakten erfasst und in einer Excel-Tabelle zusammengefasst.

Weiterhin wurden histologische Proben des Tumorgewebes, welche bereits vor Beginn der Therapie entnommen worden waren, zusammengetragen und in die Abteilung für angewandte Tumorbiologie des pathologischen Instituts der Universität Heidelberg auf das Vorhandensein von HPV-DNA und eine p16-Überexpression überprüft.

Allgemeine Informationen über die Patienten bestanden aus Geschlecht, Alter, Raucherstatus und weiteren Erkrankungen neben dem Analkarzinom. Bei den Nichtrauchern wurde ebenfalls erhoben, ob diese früher einmal geraucht hatten. Es wurden außerdem relevante Komorbiditäten und Nebendiagnosen erfasst.

Als Tumorparameter wurde erhoben, ob der Tumor am Analrand oder im Analkanal lokalisiert war. Der T- und N-Status wurde nach der geläufigen TNM-Klassifikation erfasst. Des Weiteren wurde betrachtet, ob bereits initial ein Rezidiv vorlag. Außerdem wurde erfasst, wo diese Rezidive vorlagen. Es wurde erfasst, ob das Analkarzinom vor Therapiebeginn operiert wurde. Dazu wurde erfasst, welche Art von Operation durchgeführt wurde.

Schließlich wurde der Einfluss von HPV/p16-Status, Geschlecht, Voroperationen, T-Stadium, N-Status und Tumorlokalisation auf die lokale Kontrolle sowie das Gesamtüberleben untersucht.

3.2 Radiochemotherapie

Im Rahmen der Radiotherapie erhielten die Patienten eine Gesamtdosis von 50.4 Gy bei T1 oder T2 bzw. von 54 Gy bei T3, T4 und N+. Bei Patienten mit adjuvanter Therapie nach R0-Resektion betrug die Dosis 45 Gy.

Die Lymphknoten wurden elektiv mit 36 Gy (inguinal) bzw. mit 45 Gy (pelvin) behandelt. Im Anschluss erfolgte eine Dosisaufsättigung im Bereich des Primärtumors bis 50.4 bzw. 54 Gy. Im PET positive Lymphknoten erhielten eine Bestrahlungsdosis von 54 Gy. Die Chemotherapie bestand aus Mitomycin C 10mg/m² an Tag 1 und Tag 29 sowie 5-Fluoruracil 1000 mg/m² über 24 Stunden von Tag 1 bis 4 sowie von Tag 29 bis 32. (siehe Abbildung 2).



Abbildung 2 (102)

3.3 HPV-Analyse

Die Analyse des HPV- und p16-Status wurde am Institut für angewandte Tumorbologie in Heidelberg mit Hilfe des Multiplex HPV Genotyping Kit for Research in Epidemiology durchgeführt. Der Nachweis und die Genotypisierung der HPV-DNA erfolgte mittels bead based multiplex hybridisation. Diese Methode erlaubt den Nachweis von 15 Hochrisiko-Papillomavirus-Typen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82), 3 mutmaßlichen Hochrisiko-Typen (26, 53, 66) und 6 Niedrigrisiko-Typen (6, 11, 52, 43, 44, 70). Die für den Test verwendete DNA wurde mittels DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) aus den in Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Geweben extrahiert.

Die p16-Expression wurde immunhistochemisch aus den in Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten analysiert. Die Probe wurde als p16-positiv eingestuft, wenn eine diffuse, kontinuierliche klonale Expression in den basalen und parabasalen Tumorzellschichten und in unterschiedlichem Ausmaß kontinuierlich im restlichen Tumorgewebe nachweisbar war.

3.4 Nachsorge

Die Nachsorge bestand aus einer körperlichen Untersuchung, einer Rektoskopie mit Endosonographie sowie einer Computertomographie des Beckens. Alle 6-12 Monate wurde ein Röntgen oder ein CT des Thorax durchgeführt. Die erste Nachsorgeuntersuchung fand 6 Wochen nach der Radiochemotherapie statt. Anschließend für die ersten 2 Jahre alle 3 Monate und danach alle 6 Monate für 5 Jahre. Nach diesen 5 Jahren wurde eine jährliche Nachsorgeuntersuchung empfohlen. Bestand der Verdacht auf ein Rezidiv, wurde eine Biopsie mit erneutem Staging durchgeführt.

3.5 Follow-up

Die Daten der Patienten bezüglich der Radiochemotherapie wurden von Beginn der Therapie bis zum Zeitpunkt der letzten Nachsorgeuntersuchung erhoben. Für das Follow-up wurde bei Patienten, deren letzter Nachsorgetermin bereits länger zurücklag, der Rezidivstatus und allgemeine Beschwerden in Verbindung mit der Erkrankung und ihrer Therapie telefonisch erfragt. Bei einigen wenigen fraglichen verstorbenen Patienten wurden die zuständigen Einwohnermeldeämter kontaktiert. Es wurde der Zeitpunkt der letzten Nachsorge sowie die gesamte Zeit nach Therapie in Monaten erfasst.

3.6 Statistik

Die statistischen Endpunkte waren die lokale Kontrolle sowie das Gesamtüberleben über 5 Jahre.

Bezüglich der lokalen Kontrolle wurde betrachtet, ob ein Tumorresiduum nach Primärtherapie vorlag oder ob es während der Follow-up-Periode zu einem lokalen Rezidiv kam. Bei Endpunkt Gesamtüberleben wurde gemessen, wie lange die Patienten

nach der Radiochemotherapie leben und wie viele Patienten therapieassoziiert versterben.

Untersucht wurden auch der Einfluss von Geschlecht, zuvor durchgeführter Operation, initialem Rezidiv, T-Status, N-Status und Tumorlokalisierung (Analkanal oder Analrand). Die lokale Kontrolle wurde berechnet vom Behandlungsbeginn bis zum Zeitpunkt des ersten Lokalrezidives oder bis zum Zeitpunkt des Todes (unabhängig von der Todesursache) oder bis zum letzten Nachsorgetermin ohne Rückfall bei noch lebenden Patienten, welche zensiert wurden. Das Gesamtüberleben wurde berechnet vom Behandlungsbeginn bis zum Zeitpunkt des Todes (unabhängig von der Todesursache) oder bis zum letzten Nachsorgetermin bei noch lebenden Patienten, welche zensiert wurden.

Für die statistische Analyse wurde die SPSS Software (Version 20, IBM Crop., Armonk, NY) benutzt. Die Kurven für die lokale Kontrolle und das Gesamtüberleben wurden mit der Kaplan-Meier-Methode erarbeitet. Patienten, die der Nachbeobachtung verlorengegangen waren (lost to Follow-up), wurden ab dem Zeitpunkt der letzten Beobachtung zensiert.

Die Abhängigkeit von lokaler Kontrolle und Gesamtüberleben vom HPV/p16-Status wurde mittels log-rank-Test (Mantel-Cox) oder generalisiertem Wilcoxon-Test abgeschätzt.

Um die unabhängigen Prognosefaktoren für die lokale Kontrolle und das Gesamtüberleben zu bestimmen, wurde eine Analyse mittels univariater und multivariater Cox-Regression angewandt. Patienten mit unvollständigen Daten wurden von der Analyse ausgeschlossen.

Risikofaktoren mit $p < 0.1$ in der univariaten Analyse wurden der multivariaten Cox-Regression hinzugefügt. Für alle Analysen, außer der multivariaten Cox-Regression, wurde ein zweiseitiger p-Wert von < 0.05 als statistisch signifikant festgesetzt. Das Signifikanzniveau für den Ausschluss wurde auf 0.1 gesetzt. Die Assoziation zwischen den HPV/p16-Gruppen und anderen Patientencharakteristika wurde durch den Chi-Quadrat-Test oder den Fisher-exact-test, sofern erforderlich, überprüft. Der Einfluss von Lokalrezidiv auf das Gesamtüberleben wurde mit einer zeitabhängigen Kovariate ($X [t]Z_{time}$ Z 0 [kein Lokalrezidiv] zum Zeitpunkt t und $X [t]Z_1$ [Lokalrezidiv] zum Zeitpunkt t) bewertet. Für alle Analysen wurde ein zweiseitiger P-Wert von < 0.05 als statistisch signifikant festgesetzt.

4. Ergebnisse

4.1 Patientencharakteristika

Untersucht wurden die Daten von insgesamt 106 Patienten, deren schriftliches Einverständnis vorlag. Darunter befanden sich 63 Frauen und 43 Männer. Das mediane Alter betrug 59,5 Jahre. Die Spannweite ging hierbei von 31 Jahren bis 86 Jahre. 30 % waren unter 50 Jahre alt, 70 % mindestens 50 Jahre alt. Bei der lokalen Kontrolle betrug der Median der Follow-up-Zeit 48 Monate und beim Gesamtüberleben 54 Monate. Von allen Patienten hatten 19 % einen Tumor im Stadium T1, 56 % Stadium T2, 18 % T3 und 8 % T4. Bezüglich des Lymphknotenstatus hatten 66 % der Patienten negative Lymphknoten und 34 % positive Lymphknoten. Als Voroperation hatten 14 % eine R0-Resektion. 4 % hatten ein initiales Rezidiv. Bei 76 % der Patienten war der Tumor am Analkanal lokalisiert, bei 24 % der Patienten am Analrand. 74 % der Patienten hatten ein PET-Staging. Bei insgesamt 2 % lag eine HIV-Infektion vor (siehe Tabelle 2).

72 Patienten (68 %) waren HPV-positiv (51 davon weiblich und 21 männlich), 34 (32 %) HPV-negativ (12 weiblich und 22 männlich). Bei 74 Patienten (70 %) konnte eine Überexpression von p16 nachgewiesen werden (51 weiblich und 23 männlich), wohingegen 32 Patienten (30 %) p16-negativ waren (12 davon weiblich und 20 männlich). Von den HPV-positiven Patienten waren 62 (86 %) lediglich positiv auf HPV-16, 8 (11 %) positiv auf HPV 16 und 18 und 2 Patienten negativ auf HPV-16. Von diesen 2 Patienten war einer nur HPV-18-positiv, der andere nur HPV-45-positiv. Bezüglich des HPV-Status und der p16-Expression kann das Patientenkollektiv in vier Untergruppen eingeteilt werden. Zur ersten Gruppe gehören diejenigen, bei denen HPV- und p16-Positivität nachgewiesen werden konnte. Insgesamt waren das 63 Patienten (59 %). Zur zweiten Gruppe zählen diejenigen Patienten, die zwar einen positiven HPV-Status haben, jedoch p16-negativ sind. Hierzu können 9 Patienten (8 %) gerechnet werden. Die dritte Gruppe besteht aus Patienten mit negativem HPV-Status und positivem p16-Status. Hier kann man 11 Patienten (11 %) einordnen. Die vierte und letzte Gruppe sind Patienten, die sowohl HPV- als auch p16-negativ sind. Auf 23 Patienten (22 %) traf dies zu (siehe Tabelle 3).

Tabelle 2:

	N (%)
Alter < 50 ≥	32 (30):74 (70)
Geschlecht w:m	63 (59):43 (41)
OP ja vs. nein	15 (14):91 (86)
Init. Rezidiv ja vs. nein	4 (4):102 (96)
Lokalisation Kanal vs.Rand	81 (76):25 (24)
Rauchen ja vs nein	39 (53):56 (37)
T-Stadium T1/2 vs T3/4	79 (75):27 (25)
N-Status N0 vs N+	70 (66):36 (34)
CHT 2 vs. 4Zyklen	79 (25):22 (21)

Tabelle 3 HPV/p16 Status

	p16+	p16-	
HPV +	63 (59%) (Gruppe 1)	9 (8%) (Gruppe 2)	72
HPV-	11 (11%) (Gruppe 3)	23 (22%) (Gruppe 4)	34
	74	32	

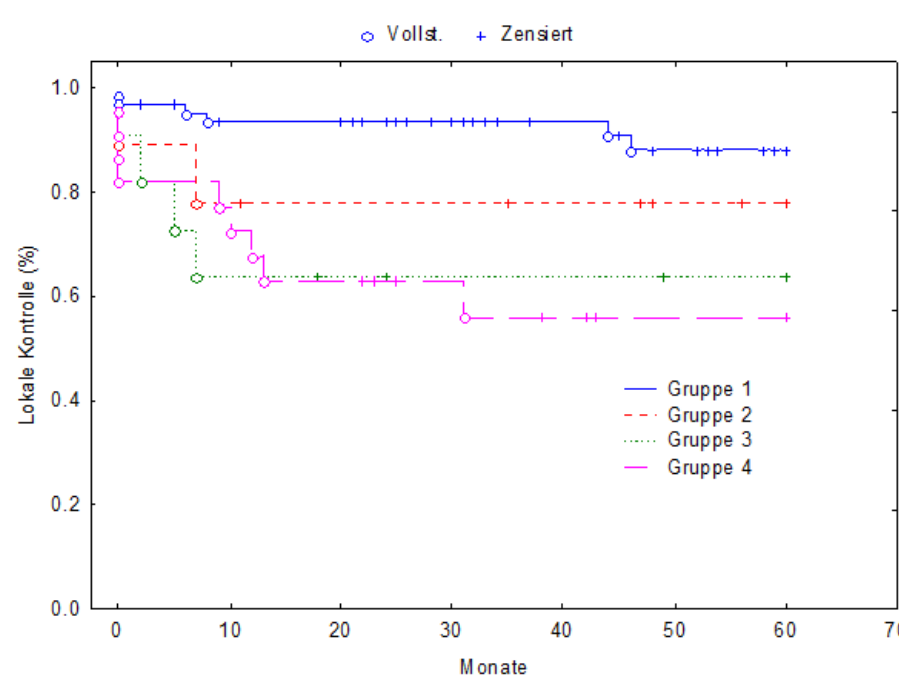
4.2 Lokale Kontrolle

Ein Patient verstarb unmittelbar nach Therapieende und wurde von der Auswertung der lokalen Kontrolle ausgeschlossen. 21 von 105 Patienten erlitten ein Rezidiv. Bei 18 von 21 Patienten mit Rezidiv trat dies innerhalb von 2 Jahren nach Therapieende auf. 19 von diesen 21 Patienten hatten das Rezidiv im Bereich des Primärtumors. Bei 8 von diesen Patienten persistierte der Primärtumor. 2 Patienten hatten Metastasen in den inguinalen und pelvinen Lymphknoten. 5 Patienten mit einem Lokalrezidiv unterzogen sich einer erfolgreichen Salvage-Operation mit abdominoperinealer Resektion und Kolostomie (4 Patienten) oder lediglich lokaler Exzision (1 Patient). 13 Patienten hatten Fernmetastasen.

Betrachtet man das Gesamtkollektiv so zeigt sich eine lokale Kontrolle von 77,9 % bezogen auf 5 Jahre.

HPV/p16-Status

Abbildung 3

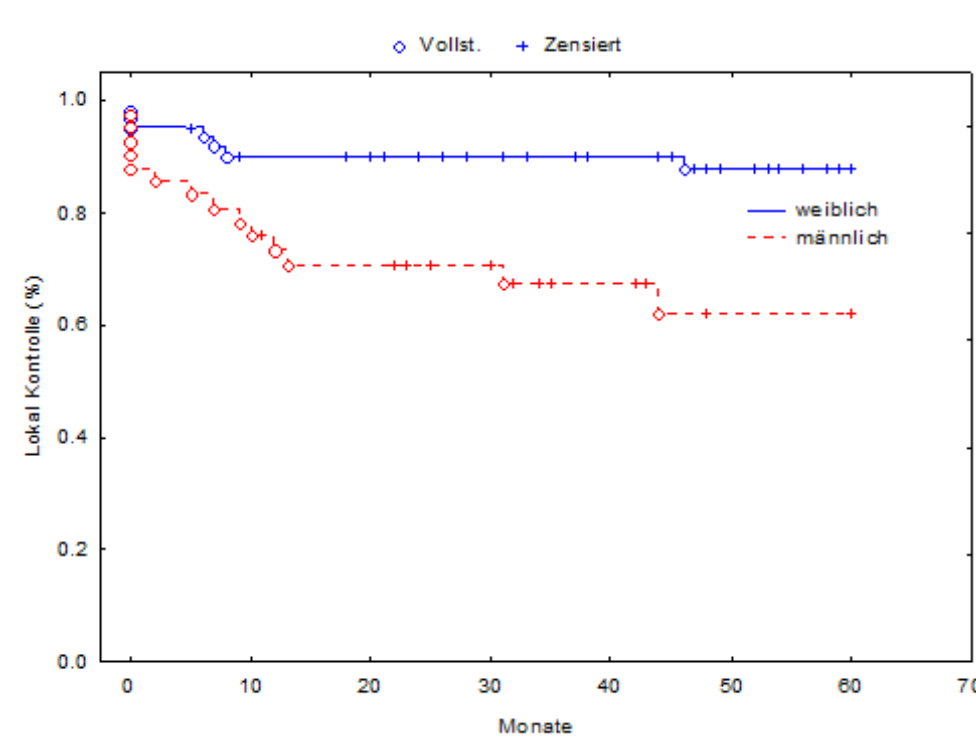


Für die einzelnen Gruppen ergab sich eine lokale Kontrolle von 88,1 % vs. 77,8 % vs. 63,6 % vs. 55,8 % für Gruppe 1 vs. Gruppe 2 vs. Gruppe 3 vs. Gruppe 4. Vergleicht man die vier oben genannten Gruppen (HPV+/p16+, HPV+/p16-, HPV-/p16+, HPV-/p16-) untereinander in Bezug auf die lokale Kontrolle, so ergibt sich lediglich ein signifikanter Unterschied bei Gruppe 1 (88,1 %) gegenüber Gruppe 3 (63,6 %) mit $p < 0,021$ und bei Gruppe 1 gegenüber Gruppe 4 (55,8 %) mit $p < 0,002$. Beim Vergleich

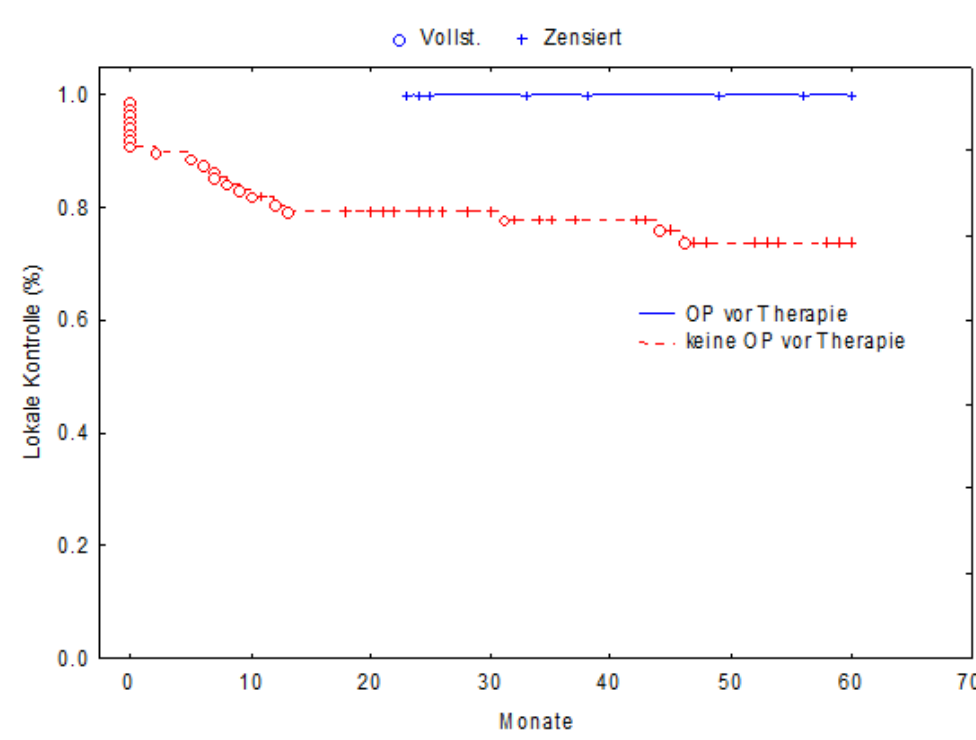
der übrigen Gruppen besteht kein signifikanter Unterschied ($p > 0,270$). Der Unterschied zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 war statistisch nicht signifikant ($p = 0,270$), ebenso wenig wie der Unterschied zwischen den Gruppen 2, 3 und 4. Bei der lokalen Kontrolle bezüglich HPV-/p16-Status in Abhängigkeit vom T-Stadium erhält man bei den Tumoren im Stadium T1 oder T2 Werte von 97,4 %, 85,7 %, 75 % und 62,5 % für die Gruppen 1 bis 4. Bei Tumoren im Stadium T3 und T4 erhält man 58 %, 50 %, 33 % und 25 %.

Geschlecht

Abbildung 4



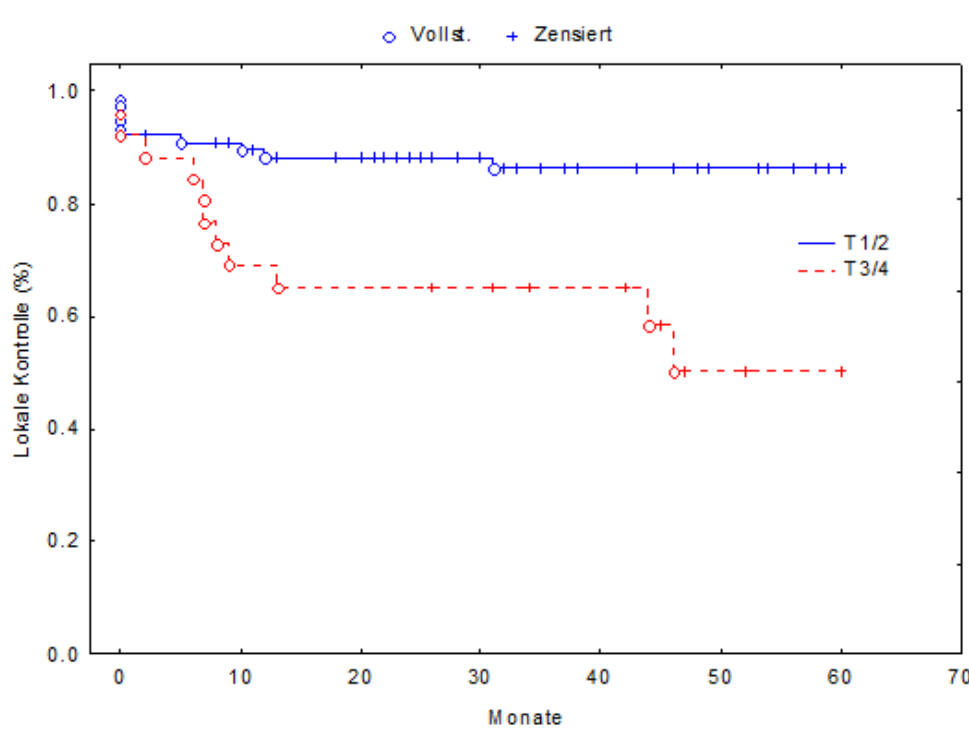
Betrachtet man das Gesamtkollektiv bezüglich der lokalen Kontrolle und des Unterschieds bei den Geschlechtern, so zeigt sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied ($p = 0,008$) von 87,8 % bei Frauen und 62,3 % bei Männern.



Bei 15 Patienten wurde der Tumor vor Beginn der Radiochemotherapie komplett reseziert. Von diesen Tumoren waren 4 im Stadium T1, 10 im Stadium T2 und einer im Stadium T4. Bei letzterem wurde eine abdominoperineale Resektion durchgeführt. Betrachtet man die lokale Kontrolle, so besteht ein signifikanter Unterschied von 100 % bei den operierten Patienten im Vergleich zu 74 % bei den Patienten ohne OP ($p=0.030$).

T-Stadium

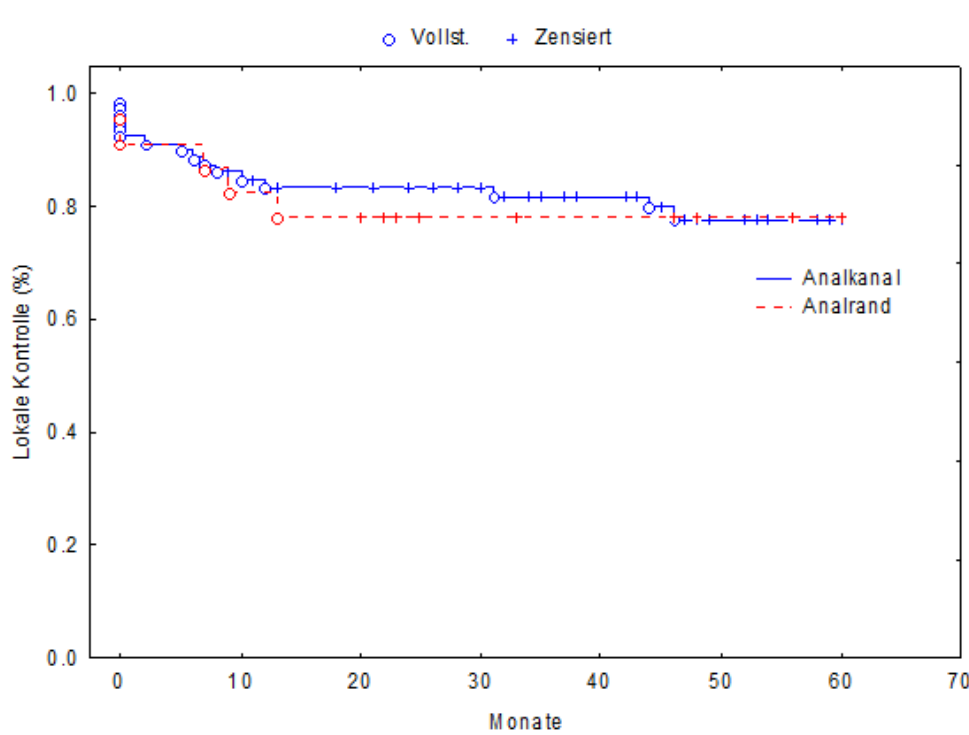
Abbildung 6



Vergleicht man die lokale Kontrolle bezüglich des T-Stadiums, so zeigt sich ein signifikanter Unterschied ($p = 0,003$) von 86,6 % bei Tumoren im Stadium T1 oder T2 gegenüber 50,3 % bei Tumoren im Stadium T3 oder T4.

Tumorlokalisation

Abbildung 7



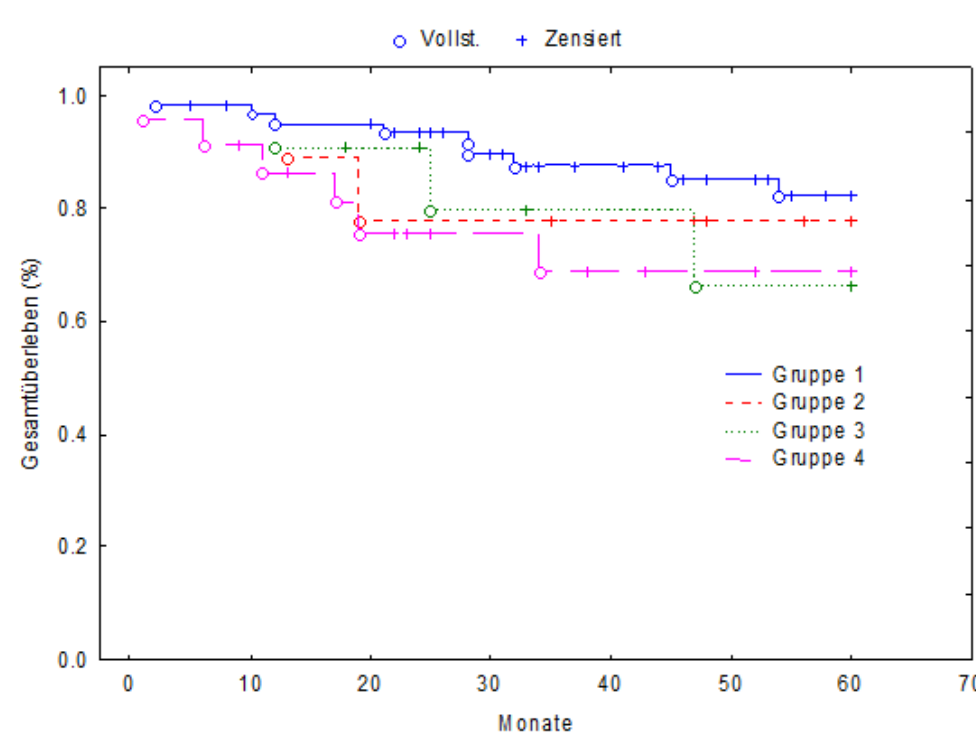
Kein signifikanter Unterschied ($p=0,863$) ergab sich bei der Tumorlokalisation mit 78 % (Analkanal) und 78,6 % (Analrand).

4.3 Gesamtüberleben

83 Patienten waren zum Zeitpunkt der Erhebung am Leben. Von den 23 verstorbenen Patienten sind insgesamt 15 aufgrund einer Krankheitsprogression verstorben. 1 Patient starb therapieassoziiert an einer leukopenischen Sepsis. 1 Patient verstarb an kardiovaskulären Problemen. 1 Patient verstarb an einer Pneumonie. 1 Patient verstarb an einer Lungenembolie. Bei den übrigen 4 Patienten konnte die letztendliche Todesursache nicht eindeutig geklärt werden. Bezogen auf das Gesamtkollektiv ergab sich somit ein Gesamtüberleben von 76,7 %.

HPV-/p16-Status

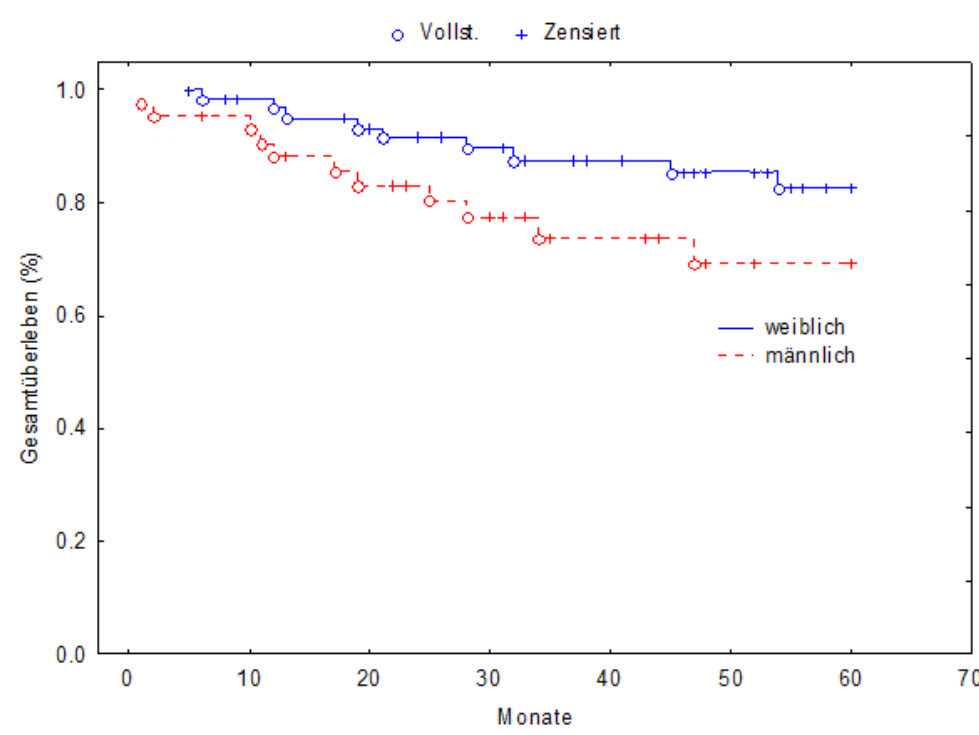
Abbildung 8



Betrachtet man das Gesamtüberleben in Abhängigkeit von HPV- und p16-Status, so ergibt sich lediglich beim Vergleich von Gruppe 1 (HPV positiv / p16 positiv) zu Gruppe 4 (HPV negativ / p16 negativ) ein signifikanter Unterschied ($p = 0.138$). Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug hier 81,1 % für Gruppe 1 gegenüber 68,8 % für Gruppe 4. Vergleicht man die restlichen Gruppen untereinander, so ist der Unterschied nicht signifikant. Das Gesamtüberleben in Gruppe 2 beträgt 77,8 %, das in Gruppe 3 66,3 %.

Geschlecht

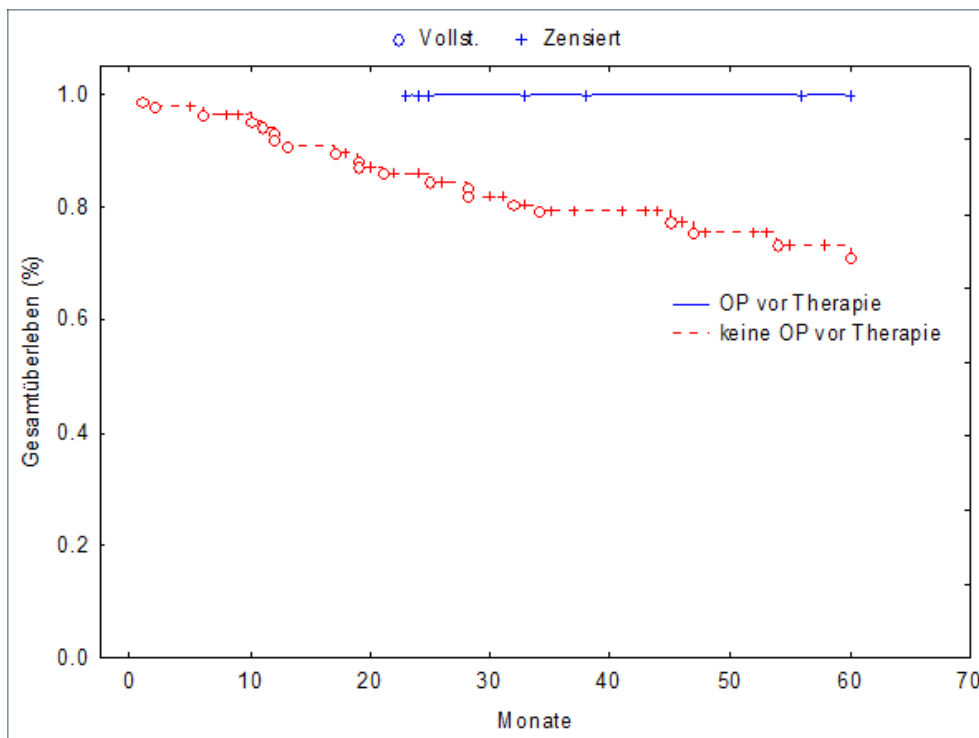
Abbildung 9



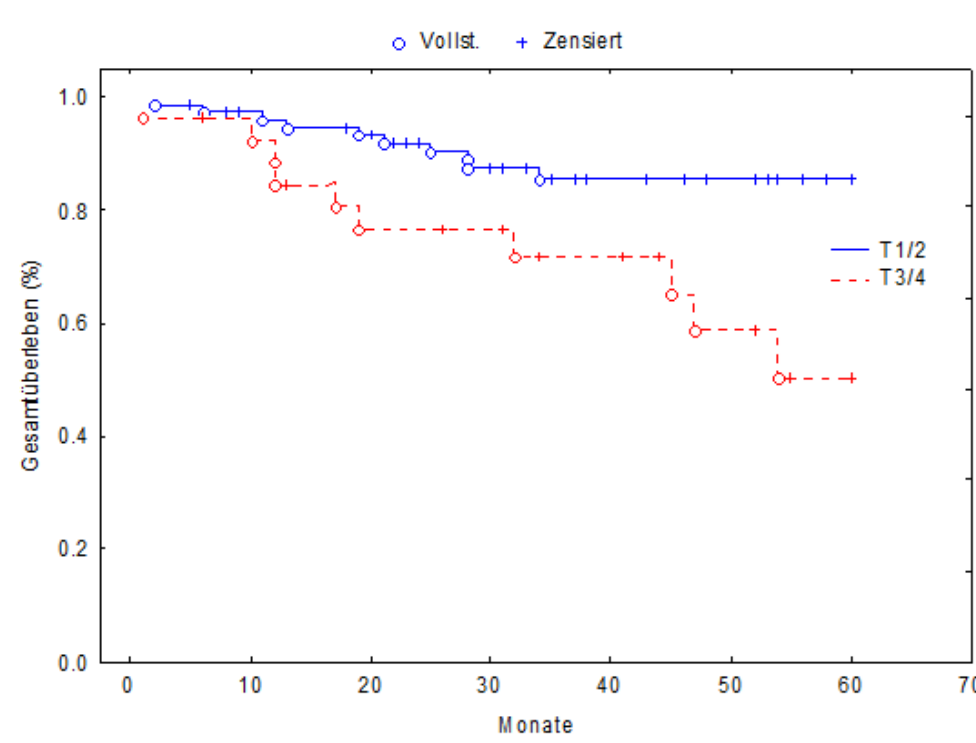
Beim Geschlecht ergab sich ein Gesamtüberleben von 81,5 % bei den Frauen gegenüber 69,3 % bei den Männern. Der Unterschied ist nicht signifikant.

Voroperation

Abbildung 10



Das Gesamtüberleben bei Patienten mit Operation vor Therapie betrug 100 % gegenüber 72,7 % bei Patienten ohne Operation.



Beim Gesamtüberleben ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,024$) bezüglich des T-Stadiums.

Von den Patienten mit Tumoren im Stadium T1 und T2 überlebten 84,6 % gegenüber 50,4 % mit dem Stadium T3 und T4. Bei Patienten mit Stadium T1/2 überlebten ohne Lokalrezidiv 93,7 % gegenüber 26,7 % mit Rezidiv ($p < 0,0001$). Bei den Stadien T3/4 lag die Überlebensrate ohne Rezidiv bei 83 % gegenüber 0 % mit Lokalrezidiv ($p = 0,001$).

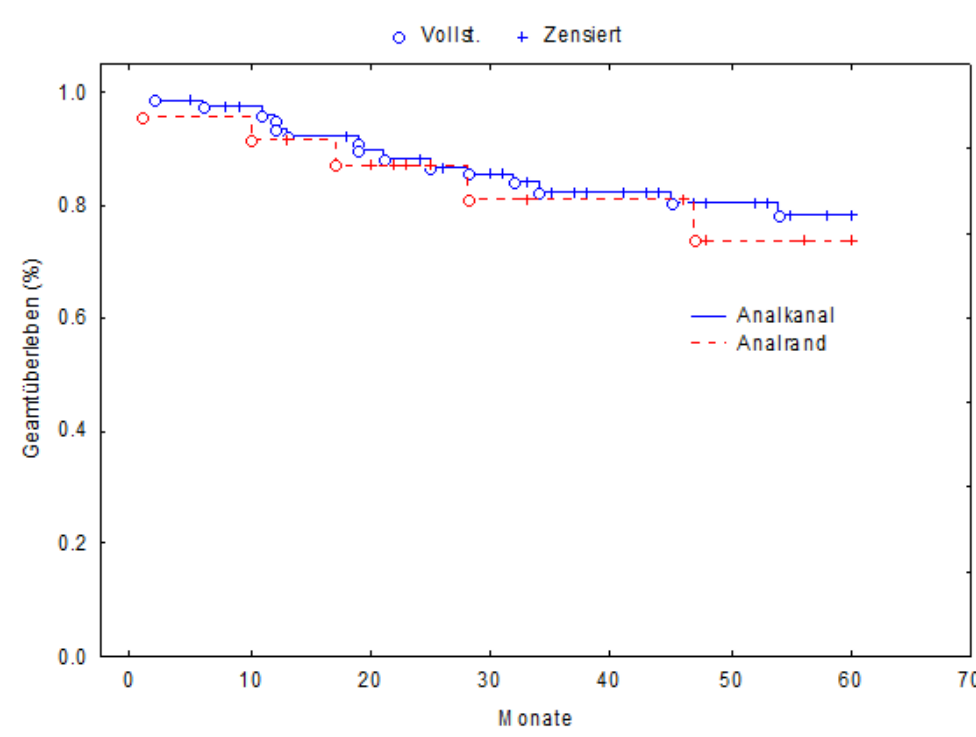
Lokalrezidiv

Beim Gesamtüberleben ergab sich ein hochsignifikanter Unterschied ($p < 0,0001$) bezüglich des Auftretens eines Lokalrezidivs. Von den Patienten, bei denen ein Lokalrezidiv im Verlauf auftrat, überlebte keiner. Ohne Lokalrezidiv lag die Überlebensrate bei 91,9 %. Vergleicht man in den einzelnen Gruppen die Patienten mit Rezidiv und ohne Rezidiv hinsichtlich des Gesamtüberlebens, so ergibt sich durchweg ein signifikanter Unterschied. Am signifikantesten ist der Unterschied bei den HPV-positiven und p16-positiven Patienten mit 89,4 % Gesamtüberleben ohne Rezidiv gegenüber 0 % mit Rezidiv, als auch bei den Patienten, die sowohl HPV- als auch p16-negativ sind. Hier ergibt sich ein Gesamtüberleben von 100 % ohne Rezidiv gegenüber 30,5 % mit Rezidiv. Bei beiden Gruppen ergibt sich ein Signifikanzwert von $p = 0,001$. In den beiden anderen Gruppen steht einer Überlebenswahrscheinlichkeit von 100 % ohne Rezidiv

jeweils eine von 0 % mit Rezidiv gegenüber. Die P-Werte ergaben hier 0,002 für die HPV-positiven und p16-negativen und 0,007 für die HPV-negativen und p16-positiven Patienten.

Tumorlokalisation

Abbildung 12



Bei der Tumorlokalisation ergab sich ein Gesamtüberleben von 78,4 % bei Tumoren im Analkanal gegenüber 70,7 % bei Tumoren am Analrand ($p=0,702$).

4.4 Multivariate Analyse

In der multivariaten Analyse zeigte sich bei der lokalen Kontrolle bei Tumorstadium 3 und 4 mit 50,3 % eine schlechtere 5-Jahres lokale Kontrolle als bei Stadium 1 und 2 mit 86,6 %. Es zeigte sich eine Hazard Ratio von 0,22, ein 95%-Konfidenzintervall von 0,09-0,53 und $p < 0,001$.

Vergleicht man Gruppe 1 mit Gruppe 3, erhält man eine Hazard Ratio von 4,73 und ein 95%-Konfidenzintervall von 1,33 – 16,82 mit $p = 0,016$. Der Vergleich von Gruppe 1 mit Gruppe 4 zeigt eine Hazard Ratio von 6,40 und ein 95%-Konfidenzintervall von 2,23 – 18,35 mit $p < 0,001$.

Beim 5-Jahres-Gesamtüberleben war der einzige unabhängige prognostische Faktor in der multivariaten Analyse das Lokalrezidiv und wurde als zeitabhängige Kovariate analysiert.

Die Ergebnisse der multivariaten und univariaten Analyse sind in der folgenden Tabelle zusammenfassend dargestellt:

Tabelle 4

Lokale Kontrolle						Gesamtüberleben								
Risikofaktor	Univariate Cox Regression					Stufenweise Multivariate Cox Regression			Univariate Cox Regression					
	5-Jahres-Lokale-Kontrolle (%) [95% KI]	n	HR	95% KI	p	HR	95% KI	p	5-Jahres-Gesamtüberleben (%) [95% KI]	n	HR	95% KI	p	
HPV/p16														
Gruppe 1	88,1 [78,89 – 97,31]	63	1			1			81,1 [70,12 – 92,08]	63	1			
Gruppe 2	77,8 [50,56 – 105,04]	9	2,46	0,50 - 12,20	0,270	2,70	0,54 – 13,41	0,225	77,8 [50,56 – 105,04]	9	1,35	0,30 – 6,18		0,696
Gruppe 3	63,6 [35,18 – 92,02]	11	4,47	1,26 to 15,86	0,021	4,73	1,33 – 16,82	0,016	66,3 [34,35 – 98,25]	11	1,80	0,49 – 6,53		0,374
Gruppe 4	55,8 [33,46 – 78,14]	22	5,13	1,82 - 14,,50	0,002	6,40	2,23 – 18,35	<0,001	68,8 [47,44 – 90,16]	23	2,16	0,78 – 5,95		0,138
Alter in Jahren														
< 50	84,2 [71,46 – 96,94]	32	0,67	0,25 – 1,84	0,440				85,2 (71,68 – 98,72)	32	0,49	0,16 – 1,45		0,198
≥ 50	75,0 [64,02 – 85,98]	73	1						73,0 (61,63 – 84,37)	74	1			
Geschlecht														
Weiblich	87,8 [79,18 – 96,42]	63	0,29	0,12 – 0,72	0,008				81,5 (70,92 – 92,08)	63	0,53	0,23 – 1,26		0,152
Männlich	62,3 [45,64 – 78,96]	42	1						69,3 (53,42 – 85,18)	43	1			
Voroperation														
R0 Resektion	100,0	15	0,04	0,00 – 5,72	0,201				100,0	15	0,04	0,00 – 5,68		0,200
Keine R0 Resektion	74,0 [64,00 – 84,00]	90	1						72,7 [62,31 – 83,09]	91	1			
Initialrezidiv														
Rezidiv	100,0	4	0,05	0,00 – 457,18	0,513				100,0	4	0,05	0,00 – 385,53		0,505
Kein Rezidiv	77,0 [67,98 – 86,02]	101	1						75,7 (66,29 – 85,11)	102	1			
T-Stadium														
T1/2	86,6 [78,76 – 94,44]	79	0,27	0,12 – 0,64	0,003	0,22	0,09 – 0,53	<0,001	84,6 (76,17 – 93,03)	79	0,33	0,14 – 0,78		0,011
T3/4	50,3 [26,98 – 73,62]	26	1			1			50,4 (26,10 – 74,70)	27	1			
N-Stadium														
N0	76,0 [65,22 – 86,78]	69	1,37	0,53 – 3,53	0,517				77,3 (66,52 – 88,08)	70	1,01	0,41 – 2,51		0,981
N+	81,5 [67,78 – 95,22]	36	1						75,6 (59,14 – 92,06)	36	1			
Tumor-lokalisierung														
Analkanal	77,9 [67,90 – 87,90]	81	0,93	0,34 – 2,54	0,889				78,4 (68,40 – 88,40)	81	0,69	0,27 – 1,77		0,437
Analrand	78,6 [61,94 – 95,26]	24	1						70,7 (49,92 – 91,48)	25	1			
Lokalrezidiv*	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A*	N/A*	1,04	1,01 – 1,07		0,017

* Miteinbezogen als ein zeitabhängiger Prädiktor. Bei der multivariaten Analyse war der einzige unabhängige prognostische Faktor für das Gesamtüberleben das Lokalrezidiv.

5. Diskussion

5.1 Kollektiv

Bei der Altersverteilung zeigten sich mit 70 % deutlich mehr Patienten mit mindestens 50 Jahren.

Außerdem zeigte sich mit einem Verhältnis von 1,5:1 eine Frauenlastigkeit. Ein ähnliches Verhältnis zeigt sich auch in anderen Studien (103, 104). Eine Schätzung von Neuerkrankungen von Analkarzinomen für das Jahr 2016 in Amerika geht von einem Frauenanteil von 60 % aus (105). Der Anteil an T-Stadien 1 und 2 war mit 79 % deutlich häufiger vertreten. In vergleichbaren Studien lag dieser Anteil bei 59 % bis 70 % (32, 69, 103). In diesen Studien lag der Anteil der N0-Patienten zwischen 60 % und 70 % im Vergleich zu 66 % in der vorliegenden Arbeit. In einer Metaanalyse von Sun et al., in der die vorliegende Arbeit mit 3 weiteren Studien zum Thema HPV und p16 verglichen wurde, lag die Prävalenz von HPV zwischen 67,9 % und 95,8 %, die von p16 zwischen 65,3 % und 90,7 % (106). Mit 67,9 % für HPV und 69,8 % für p16 zeigt sich somit bei uns eine vergleichsweise niedrige Prävalenz. Dies könnte daran liegen, dass die Datenerhebung in den beiden Studien mit hoher Prävalenz für p16 und HPV erst ab dem Jahr 2000 bzw. 2003 begonnen wurde. Unsere Daten wurden jedoch ab dem Jahr 1990 erhoben.

5.2 HPV/p16

In diversen Studien konnte der Zusammenhang zwischen HPV und Cervix-Karzinomen bzw. Karzinomen des Oropharyngealtraktes festgestellt werden (107-109). Daher ist ebenjener Zusammenhang bei Analkarzinomen ebenfalls interessant.

Es gibt über 130 verschiedene Subtypen von HPV. HPV p16 ist der häufigste Subtyp und kommt bei bis zu 89% der Patienten mit Analkarzinom vor (32, 69, 110). Dies konnte auch in dieser Studie gezeigt werden, obwohl die Prävalenz von HPV mit 68 % und von HPV + p16 mit 57 % recht niedrig ist. Diese Variabilität der HPV-Prävalenz kann durch unterschiedliche Alters- bzw. Geschlechtsverteilung, HIV-Prävalenz oder geographische und methodische Unterschiede der einzelnen Studien begründet sein. In früheren Studien gab es widersprüchliche Ergebnisse bezüglich der prognostischen Bedeutung von HPV und des p16-Status bei Analkarzinomen (111, 112). Dies kann auf die geringe Anzahl des Patientenkollektivs zurückgeführt werden. In neueren

Studien konnte jedoch der positive Effekt des HPV-Status auf die Prognose gezeigt werden (32, 69, 110).

Die günstige Prognose von HPV- und p16-positiven Tumoren wurde in dieser Studie nachgewiesen. Wir sind zu dem Ergebnis gekommen, dass ein positiver HPV-Status sowie ein positiver p16-Status mit einer signifikant besseren lokalen Kontrolle einhergeht, verglichen mit den HPV-negativen Tumoren. Eine besonders schlechte lokale Kontrolle, verglichen mit den HPV-positiven/p16-positiven Tumoren, haben diejenigen Tumore, die neben einer HPV-Negativität auch eine p16-Negativität aufweisen. Bei HPV- und p16-positiven Tumoren konnte außerdem ein verbessertes Gesamtüberleben verglichen mit HPV- und p16-negativen Tumoren nachgewiesen werden. In der vorliegenden Studie waren 10 % der Patienten p16-positiv, jedoch HPV-negativ. In früheren Studien lag dieser Anteil bei Patienten mit Analkarzinom zwischen 4 % und 13 % (32, 69). Bei Oropharyngealkarzinomen zeigte sich für diese Konstellation eine schlechte Prognose im Vergleich zu HPV-positiven Patienten (113). Für das Analkarzinom lieferten Serup-Hansen et al. bereits Daten zur Prognose von HPV- und p16-Status (69).

Die genaue Analyse der Prognose für Patienten mit Analkarzinom und möglichen Kombinationen von HPV-Status und p16-Status ist Bestandteil der vorliegenden Studie.

Die Daten bezüglich des Einflusses des HPV-Status auf die Prognose sind durchaus vereinbar mit der Literatur. Eine Studie von Rödel et al. konnte ebenfalls eine positive Korrelation zwischen positivem HPV/p16-Status und einer besseren Prognose feststellen (103).

Eine Studie von Meulendijks et al. aus dem Jahr 2015 (114) verglich ebenfalls unter anderem die lokale Kontrolle und das Gesamtüberleben, jedoch nach 3 Jahren und bezogen auf den HPV- und p-16-Status. Patienten mit HPV-negativen/p16-negativen Tumoren hatten mit 15 % eine signifikant geringere 3-Jahres-Lokale-Kontrolle, als Patienten mit HPV-positiven/p16-positiven Tumoren (82%, $p < 0,001$) und HPV-negativen/p16-positiven Tumoren (75%, $p = 0,078$). Für die HPV- und p16-positiven Patienten ergab sich bei uns mit 88,1 % eine etwas höhere lokale Kontrolle, jedoch über 5 Jahre hinweg. Für die HPV-negativen/p16-positiven lag die lokale Kontrolle bei uns mit 63,6 % niedriger. Die lokale Kontrolle für die HPV-negativen/p16-negativen Tumore war bei uns 55,8 %. Der Unterschied zwischen Gruppe 1 und Gruppe 4 war bei uns ebenfalls

signifikant. Der Vergleich zwischen Gruppe 4 und Gruppe 3, wie bei Meulendijks, zeigte bei uns keine Signifikanz.

In der Studie von Meulendijks zeigte sich ein 3-Jahres-Überleben von 35 % bei HPV-negativen/p16-negativen („Gruppe 4“) Patienten, verglichen mit HPV-positiven/p16-positiven Patienten („Gruppe 1“) mit 87 % ($p < 0,001$) sowie mit HPV-negativen/p16-positiven Patienten („Gruppe 3“) mit 75 % ($p = 0,219$).

In unserer Studie lag das 5-Jahres-Gesamtüberleben in Gruppe 1 bei 81,1 % und bei Gruppe 4 bei 68,8 %. Lediglich der Vergleich dieser beiden Gruppen zeigte eine Signifikanz. Das Gesamtüberleben in Gruppe 3 lag bei 66,3 %.

In einer Studie von Koerber et al. aus dem Jahr 2015 (68) fand sich ein Gesamtüberleben bei einem medianen Follow-up von 48,6 Monaten von 77,1 % für HPV-positiv/p16-positive Tumore im Vergleich zu 51,4 % für Patienten, bei denen einer oder beide Parameter negativ sind ($p = 0,005$). Insgesamt zeigte sich eine signifikante Verbesserung bei HPV-positiven gegenüber HPV-negativen Tumoren beim Gesamtüberleben (75,8 % vs. 48 %, $p = 0,007$). Bezüglich der p16-Expression fand sich zwar kein statistisch signifikant verbessertes Überleben, was jedoch auf die geringe Anzahl an analysierten Biopsien zurückgeführt wird. Eine genaue Aufteilung in mehrere Gruppen, wie bei uns, gab es nicht, es wurde lediglich HPV-positiv/p16-positiv gegenüber allen anderen Konstellationen zusammengefasst.

Bei Rödel et al. aus dem Jahr 2015 (103) zeigt sich ein 5-Jahres-Versagen von 22,9 %, verglichen mit einer lokalen Kontrolle von 77,9 % bei unserer Studie. Ein hoher Anteil an HPV-DNA bzw. eine hohe p16-Rate waren mit einer signifikanten Reduktion des lokalen Versagens verbunden ($p = 0,023$ respektive $p = 0,021$). In der univariaten Analyse hatten T-Stadium, N-Stadium und Geschlecht signifikante Auswirkungen auf das lokale Versagen. In der multivariaten Analyse waren HPV-16-Anteil, Geschlecht und N-Stadium unabhängige signifikante Faktoren für das lokale Versagen. Betrachtet man das Gesamtüberleben, so korreliert dies in der univariaten Analyse signifikant mit HPV-16-DNA, Geschlecht und T-/N-Stadium. In der multivariaten Analyse sind HPV-16-DNA, Geschlecht sowie N-Stadium unabhängige signifikante prognostische Faktoren.

Eine Studie aus dem Jahr 2014 konnte bereits zeigen, dass HPV-positive Analkarzinome prognostisch günstig sind. Allerdings bestand das Patientenkollektiv hier nur aus 50 Patienten (115). Für eine Bestätigung dieser Ergebnisse sind prospektive Studien

oder Kohortenstudien nötig. Ebenso sind die genauen molekularen Mechanismen bei HPV-negativen Tumoren mit oder ohne p16 noch unklar, obwohl es bereits Studien gibt, die dies beim Oropharyngealkarzinom (109) und dem Analkarzinom (110, 116-118) untersucht haben.

5.3 Geschlecht

Ein höheres Gesamtüberleben bei Frauen konnte auch in anderen Studien nachgewiesen werden. In unserer Auswertung zeigte sich eine lokale Kontrolle von knapp 88 % bei Frauen im Gegensatz zu 62,3 % bei Männern, beim Gesamtüberleben ergab sich ein Unterschied von 81,5 % zu 69,3 %. In einem Review von Valvo et al. war das 5-Jahres-Überleben ebenfalls signifikant besser bei Frauen (65 %) als bei Männern (58 %)(104). Auch bei Johnsson et al. war das weibliche Geschlecht mit einer signifikant besseren lokalen Kontrolle assoziiert (119). Das Geschlecht kann als unabhängiger prognostischer Faktor für die lokale Kontrolle angesehen werden.

5.4 T-Stadium

Es konnte in unserer Studie gezeigt werden, dass die Prognose durch eine kleine Tumorgöße von T1 oder T2 günstig beeinflusst wird. Die lokale Kontrolle liegt hier bei 86,6 %, das Gesamtüberleben 84,6 %. Auf der anderen Seite haben Patienten mit Tumoren in den Stadien T3 oder T4 eine deutlich schlechtere Prognose. Die lokale Kontrolle liegt hier bei lediglich 50,3 %, das Gesamtüberleben bei 50,4 %.

Der Einfluss der Tumorgöße auf die Prognose ist mit den Ergebnissen in der Literatur vereinbar. Hier zeigt sich ein Überleben von weniger als 50 % für Tumore größer oder gleich 5 cm im Vergleich zu 80 % für Tumore kleiner oder gleich 2 cm (120). In einer Studie mit 128 Patienten mit Analkarzinom zeigte sich, dass über 90 % der Karzinome bei Diagnosestellung bereits eine Größe von über 1 cm haben und dass die Hälfte bereits bei einer äußerlichen Untersuchung des Anus sichtbar waren (121). Eine frühe Diagnosestellung bei noch kleiner Tumorgöße stellt somit einen wichtigen Faktor für eine günstige Prognose dar. Das T-Stadium kann als unabhängiger prognostischer Faktor für die lokale Kontrolle angesehen werden.

5.5 Lokalrezidiv

In der vorliegenden Arbeit konnten die Ergebnisse von früheren Studien bestätigt werden, nämlich dass Patienten mit einem Lokalrezidiv ein deutlich niedrigeres Langzeitüberleben aufweisen. (32, 110). Die Überlebensrate lag bei 91,9 %, was mit $p < 0,0001$ einen hochsignifikanten Unterschied darstellt. Im Vergleich der verschiedenen Konstellationen von HPV- und p16 zeigte sich bei HPV-positiven und p16-positiven der signifikanteste Unterschied. Als unabhängiger prognostischer Faktor für das Gesamtüberleben konnte das Auftreten eines Lokalrezidivs ermittelt werden.

5.6 Tumorlokalisierung

Für die lokale Kontrolle ergab sich in unserer Studie mit 78,6 % gegenüber 78 % kein signifikanter Unterschied zwischen Analrand und Analkanal. Beim Gesamtüberleben war der Unterschied mit 78,4 % beim Analkanal gegenüber 70,7 % beim Analrand ebenfalls nicht signifikant. In einer Studie aus dem Jahr 2005 wurde ein signifikant besseres Gesamtüberleben bei Tumoren des Analkanals im Gegensatz zu solchen des Analrandes festgestellt (122). In einer weiteren Studie zeigte sich bei Tumoren des Analkanals ein signifikant höheres Gesamtüberleben als bei Tumoren des Analrandes (101). In anderen Studien gibt es jedoch wie bei unserer Studie keinen signifikanten Unterschied (69, 71). Insgesamt kann die Studienlage bezüglich der Prognose in Abhängigkeit von der Tumorlokalisierung als noch recht heterogen beschrieben werden.

5.7 Schlussfolgerung

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass der HPV-Status das Ansprechen auf die Therapie beim Analkarzinom beeinflusst. HPV-positive Karzinome sprechen besser auf eine Radiochemotherapie an als HPV-negative. Die Therapie richtet sich aktuell jedoch weiterhin allein nach dem TMN-Stadium. Hier fließt der HPV-Status noch nicht ein (123). Im Gegensatz dazu wird bei den oropharyngealen Karzinomen beispielsweise der HPV-Status separat betrachtet. Hier gibt es eine eigene TNM-Klassifikation für HPV-positive Karzinome (HPV+ OPC) (124). Aufgrund der guten Prognose bei HPV-assoziierten Analkarzinomen wäre eine Therapiedeeskalation möglicherweise mit einem schlechteren Ergebnis vergesellschaftet. Hierzu sind noch weitere Studien

nötig. Für HPV negative Analkarzinome wären möglicherweise der Einsatz von Immuncheckpoint-Inhibitoren, wie sie bereits seit 2018 für das metastasierte Analkarzinom empfohlen werden (125), eine Option.

6. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Dissertation war eine Untersuchung des Einflusses des HPV-Infektions- und Transformationsstatus bei Patienten mit Analkarzinom auf das Ansprechen auf die primäre Radiochemotherapie.

Die Studienpopulation umfasste insgesamt 106 Patienten. Diese wurden je nach HPV- und p16 Status in 4 Gruppen eingeteilt. Gruppe 1 bestand aus HPV-positiven und p16-positiven Patienten, Gruppe 4 aus HPV-negativen und p16-negativen Patienten. In den anderen beiden Gruppen waren HPV- und p16-Status jeweils unterschiedlich (Gruppe 2: HPV+/p16-, Gruppe 3: HPV-/p16+). Die Endpunkte umfassten die lokale Kontrolle sowie das Gesamtüberleben jeweils bezogen auf 5 Jahre.

Das Gesamtkollektiv zeigte eine lokale Kontrolle von 77,9 %. Bezogen auf den HPV/p16-Status ergab sich ein signifikanter Unterschied von Gruppe 1, mit einer höheren lokalen Kontrolle (88,1%), jeweils gegenüber Gruppe 3 (63,3%) mit $p < 0,021$ und Gruppe 4 (55,8 %) mit $p < 0,002$. Bezieht man das T-Stadium zusätzlich mit ein, so zeigen Tumore mit T1 und T2 mit 97,4 % - 62,5 % in den 4 Gruppen eine höhere lokale Kontrolle als Tumore mit T3 oder T4 mit 58 % - 25 % in den 4 Gruppen. Betrachtet man das Geschlecht, so ist die lokale Kontrolle bei Frauen mit 87,8 % und $p = 0,008$ signifikant höher als bei Männern mit 62,3 %. Bei voroperierten Patienten liegt die lokale Kontrolle bei 100 %, bei nicht operierten bei 74 %. Hier zeigt sich ein $p = 0,030$. Betrachtet man nur das T-Stadium, so zeigt sich ein signifikanter Unterschied mit $p = 0,003$ mit einer höheren lokalen Kontrolle bei T1- und T2-Tumoren (86,6%) im Vergleich zu T3- und T4-Tumoren (50,3 %). Bei der Tumorlokalisation besteht mit 78 % (Analkanal) gegenüber 78,6 % (Analrand) kein signifikanter Unterschied.

Im Gesamtkollektiv ergab sich ein Gesamtüberleben von 76,7 %. Hier liegt bei den vier Gruppen lediglich ein signifikanter Unterschied beim Vergleich von Gruppe 1 mit 81,1 % gegenüber Gruppe 4 mit 68,8 %. Hier zeigte sich ein $p = 0,138$. Ein höheres Gesamtüberleben bei Frauen von 81,5% im Vergleich zu 69,3 % bei Männern zeigte sich nicht signifikant. Bei Tumoren im Stadium T1 und T2 lag das Gesamtüberleben mit 84,6 % und $p < 0,024$ signifikant höher, als bei Tumoren im Stadium T3 und T4 mit 50,4 %. Betrachtet man die Patienten mit Lokalrezidiv so ist das Gesamtüberleben bei

Patienten ohne Lokalrezidiv mit 91,9% signifikant ($p < 0,0001$) höher als bei Patienten ohne Lokalrezidiv mit keinem Überlebenden.

Insgesamt konnte eine günstige Prognose von HPV- und p16-positiven Tumoren nachgewiesen und somit die bisherige Literatur bestätigt werden. Bezüglich des Geschlechts bestätigte das höhere Gesamtüberleben sowie die höhere lokale Kontrolle bei Frauen ebenfalls die bisherigen Studien hierzu. Die Ergebnisse bezüglich des Einflusses des T-Stadiums auf Gesamtüberleben und lokale Kontrolle unterstreicht die Wichtigkeit einer frühen Diagnose und somit eines niedrigen T-Stadiums auf die Prognose. Beim Lokalrezidiv konnte ebenfalls die bisherige Studienlage mit einem deutlich niedrigeren Langzeitüberleben bei Patienten mit Lokalrezidiv bestätigt werden. Bei der Tumorlokalisation (Analrand vs. Analkanal) zeigt sich eine gemischte Studienlage, weshalb unser Ergebnis mit einem nicht signifikanten Unterschied hinsichtlich lokaler Kontrolle und Gesamtüberleben hier nicht klar eingeordnet werden kann.

Quintessenz dieser Arbeit ist der positive Einfluss von HPV- und P16-Status auf den Therapieerfolg unter definitiver Radiochemotherapie in dem Sinne, dass HPV/p16-positive Analkarzinome besser auf diese ansprechen. Diese Erkenntnis sollte in künftige Therapieentscheidungen miteinbezogen und auch bei der Tumorklassifikation berücksichtigt werden. Andererseits sollten für HPV- bzw. p16-negative Analkarzinome alternative Behandlungsmethoden besser erforscht werden.

7. Literaturverzeichnis

1. Anwar S, Welbourn H, Hill J, Sebag-Montefiore D. Adenocarcinoma of the anal canal - a systematic review. *Colorectal Dis.* 2013;15(12):1481-1488. doi:10.1111/codi.12325
2. Grulich AE, Poynten IM, Machalek DA, Jin F, Templeton DJ, Hillman RJ. The epidemiology of anal cancer. *Sex Health.* 2012;9(6):504-508. doi:10.1071/SH12070
3. Wilkinson JR, Morris EJ, Downing A, et al. The rising incidence of anal cancer in England 1990-2010: a population-based study. *Colorectal Dis.* 2014;16(7):O234-O239. doi:10.1111/codi.12553
4. Johnson LG, Madeleine MM, Newcomer LM, Schwartz SM, Daling JR. Anal cancer incidence and survival: the surveillance, epidemiology, and end results experience, 1973-2000. *Cancer.* 2004;101(2):281-288. doi:10.1002/cncr.20364
5. Frisch M, Melbye M, Møller H. Trends in incidence of anal cancer in Denmark. *BMJ.* 1993;306(6875):419-422. doi:10.1136/bmj.306.6875.419
6. Van der Zee RP, Richel O, de Vries HJ, Prins JM. The increasing incidence of anal cancer: can it be explained by trends in risk groups?. *Neth J Med.* 2013;71(8):401-411
7. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Garshell J, Miller D, Altekruse SF, Kosary CL, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2012, National Cancer Institute. Bethesda, MD, https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2012/, based on November 2014 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2015
8. Gemeinsames Krebsregister (Hrsg.), *Krebsinzidenz und Krebsmortalität 2007-2008 (Jahresbericht)*, Berlin, 1/2012.
Abrufbar von: <https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:kobv:109-opus-222194>.
9. München TMaT. Basis-Statistiken C21: Analkarzinom [aktualisiert 19.05.2015].
Abrufbar von: http://www.tumorregister-muenchen.de/facts/base/base_C21_G.pdf.
10. American Cancer Society: Key Statistics for Anal Cancer.
<https://www.cancer.org/cancer/types/anal-cancer/about/what-is-key-statistics.html>.
Abgerufen am 20.06.2015
11. SEER Cancer Stat Facts: Anal Cancer. National Cancer Institute. Bethesda, MD, <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/anus.html>. Abgerufen am 20.06.2015
12. Daling JR, Madeleine MM, Johnson LG, et al. Human papillomavirus, smoking, and sexual practices in the etiology of anal cancer. *Cancer.* 2004;101(2):270-280. doi:10.1002/cncr.20365
13. Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet.* 2013;382(9895):889-899. doi:10.1016/S0140-6736(13)60022-7

14. de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol.* 2012;13(6):607-615. doi:10.1016/S1470-2045(12)70137-7
15. Gillison ML, Castellsagué X, Chaturvedi A, et al. Eurogin Roadmap: comparative epidemiology of HPV infection and associated cancers of the head and neck and cervix. *Int J Cancer.* 2014;134(3):497-507. doi:10.1002/ijc.28201
16. Alemany L, Saunier M, Alvarado-Cabrero I, et al. Human papillomavirus DNA prevalence and type distribution in anal carcinomas worldwide. *Int J Cancer.* 2015;136(1):98-107. doi:10.1002/ijc.28963
17. Melbye M, Sprøgel P. Aetiological parallel between anal cancer and cervical cancer. *Lancet.* 1991;338(8768):657-659. doi:10.1016/0140-6736(91)91233-k
18. Hoots BE, Palefsky JM, Pimenta JM, Smith JS. Human papillomavirus type distribution in anal cancer and anal intraepithelial lesions. *Int J Cancer.* 2009;124(10):2375-2383. doi:10.1002/ijc.24215
19. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer.* 2007;121(3):621-632. doi:10.1002/ijc.22527
20. De Vuyst H, Clifford GM, Nascimento MC, Madeleine MM, Franceschi S. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: a meta-analysis. *Int J Cancer.* 2009;124(7):1626-1636. doi:10.1002/ijc.24116
21. Abramowitz L, Jacquard AC, Jaroud F, et al. Human papillomavirus genotype distribution in anal cancer in France: the EDiTH V study. *Int J Cancer.* 2011;129(2):433-439. doi:10.1002/ijc.25671
22. Frisch M, Fenger C, van den Brule AJ, et al. Variants of squamous cell carcinoma of the anal canal and perianal skin and their relation to human papillomaviruses. *Cancer Res.* 1999;59(3):753-757.
23. Leemans CR, Braakhuis BJ, Brakenhoff RH. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(1):9-22. doi:10.1038/nrc2982
24. McLaughlin-Drubin ME, Park D, Munger K. Tumor suppressor p16INK4A is necessary for survival of cervical carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(40):16175-16180. doi:10.1073/pnas.1310432110
25. Reuschenbach M, Seiz M, von Knebel Doeberitz C, et al. Evaluation of cervical cone biopsies for coexpression of p16INK4a and Ki-67 in epithelial cells. *Int J Cancer.* 2012;130(2):388-394. doi:10.1002/ijc.26017
26. Psyrri A, DiMaio D. Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer. *Nat Clin Pract Oncol.* 2008;5(1):24-31. doi:10.1038/ncponc0984

27. Smith EM, Rubenstein LM, Hoffman H, Haugen TH, Turek LP. Human papillomavirus, p16 and p53 expression associated with survival of head and neck cancer. *Infect Agent Cancer*. 2010;5:4. Published 2010 Feb 11. doi:10.1186/1750-9378-5-4
28. Stephen JK, Divine G, Chen KM, Chitale D, Havard S, Worsham MJ. Significance of p16 in Site-specific HPV Positive and HPV Negative Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Clin Oncol*. 2013;2(1):51-61. doi:10.5539/cco.v2n1p51
29. Lassen P, Eriksen JG, Hamilton-Dutoit S, Tramm T, Alsner J, Overgaard J. Effect of HPV-associated p16INK4A expression on response to radiotherapy and survival in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol*. 2009;27(12):1992-1998. doi:10.1200/JCO.2008.20.2853
30. Kumar B, Cordell KG, Lee JS, et al. EGFR, p16, HPV Titer, Bcl-xL and p53, sex, and smoking as indicators of response to therapy and survival in oropharyngeal cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(19):3128-3137. doi:10.1200/JCO.2007.12.7662
31. Fakhry C, Westra WH, Li S, et al. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100(4):261-269. doi:10.1093/jnci/djn011
32. Yhim HY, Lee NR, Song EK, et al. The prognostic significance of tumor human papillomavirus status for patients with anal squamous cell carcinoma treated with combined chemoradiotherapy. *Int J Cancer*. 2011;129(7):1752-1760. doi:10.1002/ijc.25825
33. Phillips DH, Hewer A, Scholefield JH, Skinner P. Smoking-related DNA adducts in anal epithelium. *Mutat Res*. 2004;560(2):167-172. doi:10.1016/j.mrgentox.2004.02.014
34. Vaccarella S, Herrero R, Snijders PJ, et al. Smoking and human papillomavirus infection: pooled analysis of the International Agency for Research on Cancer HPV Prevalence Surveys. *Int J Epidemiol*. 2008;37(3):536-546. doi:10.1093/ije/dyn033
35. Hillman RJ, Garland SM, Gunathilake MP, et al. Human papillomavirus (HPV) genotypes in an Australian sample of anal cancers. *Int J Cancer*. 2014;135(4):996-1001. doi:10.1002/ijc.28730
36. Daling JR, Weiss NS, Hislop TG, et al. Sexual practices, sexually transmitted diseases, and the incidence of anal cancer. *N Engl J Med*. 1987;317(16):973-977. doi:10.1056/NEJM198710153171601
37. Daling JR, Sherman KJ, Hislop TG, et al. Cigarette smoking and the risk of anogenital cancer. *Am J Epidemiol*. 1992;135(2):180-189. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a116270
38. Tseng HF, Morgenstern H, Mack TM, Peters RK. Risk factors for anal cancer: results of a population-based case-control study. *Cancer Causes Control*. 2003;14(9):837-846. doi:10.1023/b:caco.0000003837.10664.7f

39. Ryan DP, Compton CC, Mayer RJ. Carcinoma of the anal canal. *N Engl J Med*. 2000;342(11):792-800. doi:10.1056/NEJM200003163421107
40. Saleem AM, Paulus JK, Shapter AP, Baxter NN, Roberts PL, Ricciardi R. Risk of anal cancer in a cohort with human papillomavirus-related gynecologic neoplasm [published correction appears in *Obstet Gynecol*. 2013 Apr;121(4):881]. *Obstet Gynecol*. 2011;117(3):643-649. doi:10.1097/AOG.0b013e31820bfb16
41. Frisch M, Olsen JH, Bautz A, Melbye M. Benign anal lesions and the risk of anal cancer. *N Engl J Med*. 1994;331(5):300-302. doi:10.1056/NEJM199408043310504
42. Slessor AA, Bhangu A, Bower M, Goldin R, Tekkis PP. A systematic review of anal squamous cell carcinoma in inflammatory bowel disease. *Surg Oncol*. 2013;22(4):230-237. doi:10.1016/j.suronc.2013.08.002
43. Nelson RA, Levine AM, Bernstein L, Smith DD, Lai LL. Changing patterns of anal canal carcinoma in the United States. *J Clin Oncol*. 2013;31(12):1569-1575. doi:10.1200/JCO.2012.45.2524
44. Melbye M, Frisch M. The role of human papillomaviruses in anogenital cancers. *Semin Cancer Biol*. 1998;8(4):307-313. doi:10.1006/scbi.1998.0081
45. Ryan DP, Mayer RJ. Anal carcinoma: histology, staging, epidemiology, treatment. *Curr Opin Oncol*. 2000;12(4):345-352. doi:10.1097/00001622-200007000-00011
46. Gami B, Kubba F, Ziprin P. Human papilloma virus and squamous cell carcinoma of the anus. *Clin Med Insights Oncol*. 2014;8:113-119. Published 2014 Sep 17. doi:10.4137/CMO.S13241
47. Ryan DP, Compton CC, Mayer RJ. Carcinoma of the anal canal. *N Engl J Med*. 2000;342(11):792-800. doi:10.1056/NEJM200003163421107
48. Hamilton SR, Aaltonen LA. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. World Health Organization Classification of Tumours. 2000. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System WHO Classification of Tumours, 3rd Edition, Volume 2, ISBN-13: 978-92-832-2410-5
49. Frisch M, Fenger C, van den Brule AJ, et al. Variants of squamous cell carcinoma of the anal canal and perianal skin and their relation to human papillomaviruses. *Cancer Res*. 1999;59(3):753-757.
50. Jiang Y, Ajani JA. Anal margin cancer: current situation and ongoing trials. *Curr Opin Oncol*. 2012;24(4):448-453. doi:10.1097/CCO.0b013e328354cc4d
51. Lintzeris I, Agrogianni X, Prigouris P, et al. Malignancies of the anal canal. *Tech Coloproctol*. 2011;15 Suppl 1:S87-S89. doi:10.1007/s10151-011-0753-x
52. Shridhar R, Shibata D, Chan E, Thomas CR. Anal cancer: current standards in care and recent changes in practice. *CA Cancer J Clin*. 2015;65(2):139-162. doi:10.3322/caac.21259

53. Glynne-Jones R, Nilsson PJ, Aschele C, et al. Anal cancer: ESMO-ESSO-ESTRO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Radiother Oncol*. 2014;111(3):330-339. doi:10.1016/j.radonc.2014.04.013
54. Benson AB 3rd, Arnoletti JP, Bekaii-Saab T, et al. Anal Carcinoma, Version 2.2012: featured updates to the NCCN guidelines. *J Natl Compr Canc Netw*. 2012;10(4):449-454. doi:10.6004/jnccn.2012.0046
55. Wells IT, Fox BM. PET/CT in anal cancer - is it worth doing?. *Clin Radiol*. 2012;67(6):535-540. doi:10.1016/j.crad.2011.10.030
56. Bhuvu NJ, Glynne-Jones R, Sonoda L, Wong WL, Harrison MK. To PET or not to PET? That is the question. Staging in anal cancer. *Ann Oncol*. 2012;23(8):2078-2082. doi:10.1093/annonc/mdr599
57. Glynne-Jones R, Northover J, Oliveira J; ESMO Guidelines Working Group. Anal cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2009;20 Suppl 4:57-60. doi:10.1093/annonc/mdp129
58. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(6):1471-1474. doi:10.1245/s10434-010-0985-4
59. Cummings BJ. Metastatic anal cancer: the search for cure. *Onkologie*. 2006;29(1-2):5-6. doi:10.1159/000090747
60. Dewdney A, Rao S. Metastatic squamous cell carcinoma of the anus: time for a shift in the treatment paradigm?. *ISRN Oncol*. 2012;2012:756591. doi:10.5402/2012/756591
61. Ghosn M, Kourie HR, Abdayem P, Antoun J, Nasr D. Anal cancer treatment: current status and future perspectives. *World J Gastroenterol*. 2015;21(8):2294-2302. doi:10.3748/wjg.v21.i8.2294
62. Golub DV, Civelek AC, Sharma VR. A regimen of taxol, Ifosfamide, and platinum for recurrent advanced squamous cell cancer of the anal canal. *Chemother Res Pract*. 2011;2011:163736. doi:10.1155/2011/163736
63. Jhawer M, Mani S, Lefkopoulou M, et al. Phase II study of mitomycin-C, adriamycin, cisplatin (MAP) and Bleomycin-CCNU in patients with advanced cancer of the anal canal: An eastern cooperative oncology group study E7282. *Invest New Drugs*. 2006;24(5):447-454. doi:10.1007/s10637-006-7667-x
64. Gunderson LL, Moughan J, Ajani JA, et al. Anal carcinoma: impact of TN category of disease on survival, disease relapse, and colostomy failure in US Gastrointestinal Intergroup RTOG 98-11 phase 3 trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2013;87(4):638-645. doi:10.1016/j.ijrobp.2013.07.035
65. Ajani JA, Winter KA, Gunderson LL, et al. Prognostic factors derived from a prospective database dictate clinical biology of anal cancer: the intergroup trial (RTOG 98-11). *Cancer*. 2010;116(17):4007-4013. doi:10.1002/cncr.25188

66. Kimple RJ, Smith MA, Blitzer GC, et al. Enhanced radiation sensitivity in HPV-positive head and neck cancer. *Cancer Res.* 2013;73(15):4791-4800. doi:10.1158/0008-5472.CAN-13-0587
67. Koerber SA, Schoneweg C, Slynko A, et al. Influence of human papillomavirus and p16(INK4a) on treatment outcome of patients with anal cancer. *Radiother Oncol.* 2014;113(3):331-336. doi:10.1016/j.radonc.2014.11.013
68. Serup-Hansen E, Linnemann D, Skovrider-Ruminski W, Høgdall E, Geertsen PF, Havsteen H. Human papillomavirus genotyping and p16 expression as prognostic factors for patients with American Joint Committee on Cancer stages I to III carcinoma of the anal canal. *J Clin Oncol.* 2014;32(17):1812-1817. doi:10.1200/JCO.2013.52.3464
69. Kapacee ZA, Susnerwala S, Wise M, Biswas A, Danwata F, Scott N. Chemoradiotherapy for squamous cell anal carcinoma: a review of prognostic factors. *Colorectal Dis.* 2016;18(11):1080-1086. doi:10.1111/codi.13342
70. Banerjee R, Roxin G, Eliasziw M, et al. The prognostic significance of pretreatment leukocytosis in patients with anal cancer treated with radical chemoradiotherapy or radiotherapy. *Dis Colon Rectum.* 2013;56(9):1036-1042. doi:10.1097/DCR.0b013e31829ab0d4
71. Mai SK, Welzel G, Haegele V, Wenz F. The influence of smoking and other risk factors on the outcome after radiochemotherapy for anal cancer. *Radiat Oncol.* 2007;2:30. Published 2007 Aug 21. doi:10.1186/1748-717X-2-30
72. Fraunholz I, Rödel F, Kohler D, et al. Epidermal growth factor receptor expression as prognostic marker in patients with anal carcinoma treated with concurrent chemoradiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013;86(5):901-907. doi:10.1016/j.ijrobp.2013.03.039
73. Nigro ND, Vaitkevicius VK, Considine B Jr. Combined therapy for cancer of the anal canal: a preliminary report. *Dis Colon Rectum.* 1974;17(3):354-356. doi:10.1007/BF02586980
74. Cummings BJ, Keane TJ, O'Sullivan B, Wong CS, Catton CN. Epidermoid anal cancer: treatment by radiation alone or by radiation and 5-fluorouracil with and without mitomycin C. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1991;21(5):1115-1125. doi:10.1016/0360-3016(91)90265-6
75. Flam M, John M, Pajak TF, et al. Role of mitomycin in combination with fluorouracil and radiotherapy, and of salvage chemoradiation in the definitive nonsurgical treatment of epidermoid carcinoma of the anal canal: results of a phase III randomized intergroup study. *J Clin Oncol.* 1996;14(9):2527-2539. doi:10.1200/JCO.1996.14.9.2527

76. Epidermoid anal cancer: results from the UKCCCR randomised trial of radiotherapy alone versus radiotherapy, 5-fluorouracil, and mitomycin. UKCCCR Anal Cancer Trial Working Party. UK Co-ordinating Committee on Cancer Research. *Lancet*. 1996;348(9034):1049-1054.
77. Northover J, Glynne-Jones R, Sebag-Montefiore D, et al. Chemoradiation for the treatment of epidermoid anal cancer: 13-year follow-up of the first randomised UKCCCR Anal Cancer Trial (ACT I). *Br J Cancer*. 2010;102(7):1123-1128. doi:10.1038/sj.bjc.6605605
78. Bartelink H, Roelofsen F, Eschwege F, et al. Concomitant radiotherapy and chemotherapy is superior to radiotherapy alone in the treatment of locally advanced anal cancer: results of a phase III randomized trial of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Radiotherapy and Gastrointestinal Cooperative Groups. *J Clin Oncol*. 1997;15(5):2040-2049. doi:10.1200/JCO.1997.15.5.2040
79. Koerber SA, Slynko A, Haefner MF, et al. Efficacy and toxicity of chemoradiation in patients with anal cancer--a retrospective analysis. *Radiat Oncol*. 2014;9:113. Published 2014 May 13. doi:10.1186/1748-717X-9-113
80. Grabenbauer GG. RCT mit 5-FU und Mitomycin C mit 28 Fraktionen á 1,8 Gy einer externen Strahlentherapie bleibt Behandlungsstandard beim Analkarzinom [RCT with 5-FU and mitomycin C with 28 fractions of 1.8 Gy external radiotherapy remains standard treatment of squamous-cell carcinoma of the anus]. *Strahlenther Onkol*. 2013;189(11):982-983. doi:10.1007/s00066-013-0448-5
81. Ajani JA, Winter KA, Gunderson LL, et al. Fluorouracil, mitomycin, and radiotherapy vs fluorouracil, cisplatin, and radiotherapy for carcinoma of the anal canal: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2008;299(16):1914-1921. doi:10.1001/jama.299.16.1914
82. Gunderson LL, Winter KA, Ajani JA, et al. Long-term update of US GI intergroup RTOG 98-11 phase III trial for anal carcinoma: survival, relapse, and colostomy failure with concurrent chemoradiation involving fluorouracil/mitomycin versus fluorouracil/cisplatin. *J Clin Oncol*. 2012;30(35):4344-4351. doi:10.1200/JCO.2012.43.8085
83. Peiffert D, Tournier-Rangéard L, Gérard JP, et al. Induction chemotherapy and dose intensification of the radiation boost in locally advanced anal canal carcinoma: final analysis of the randomized UNICANCER ACCORD 03 trial [published correction appears in *J Clin Oncol*. 2012 Nov 1;30(31):3903]. *J Clin Oncol*. 2012;30(16):1941-1948. doi:10.1200/JCO.2011.35.4837
84. Lefèvre JH, Corte H, Tiret E, et al. Abdominoperineal resection for squamous cell anal carcinoma: survival and risk factors for recurrence. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(13):4186-4192. doi:10.1245/s10434-012-2485-1

85. James RD, Glynn-Jones R, Meadows HM, et al. Mitomycin or cisplatin chemoradiation with or without maintenance chemotherapy for treatment of squamous-cell carcinoma of the anus (ACT II): a randomised, phase 3, open-label, 2 × 2 factorial trial. *Lancet Oncol*. 2013;14(6):516-524. doi:10.1016/S1470-2045(13)70086-X
86. Deutsch E, Lemanski C, Pignon JP, et al. Unexpected toxicity of cetuximab combined with conventional chemoradiotherapy in patients with locally advanced anal cancer: results of the UNICANCER ACCORD 16 phase II trial. *Ann Oncol*. 2013;24(11):2834-2838. doi:10.1093/annonc/mdt368
87. Casadei Gardini A, Passardi A, Fornaro L, et al. Treatment of squamous cell carcinoma of the anal canal: A new strategies with anti-EGFR therapy and immunotherapy. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2018;123:52-56. doi:10.1016/j.critrevonc.2018.01.007
88. Sclafani F, Rao S. Systemic Therapies for Advanced Squamous Cell Anal Cancer. *Curr Oncol Rep*. 2018;20(7):53. Published 2018 May 4. doi:10.1007/s11912-018-0698-6
89. Ott PA, Piha-Paul SA, Munster P, et al. Safety and antitumor activity of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab in patients with recurrent carcinoma of the anal canal. *Ann Oncol*. 2017;28(5):1036-1041. doi:10.1093/annonc/mdx029
90. Stein A, Moehler M, Trojan J, Goekkurt E, Vogel A. Immuno-oncology in GI tumours: Clinical evidence and emerging trials of PD-1/PD-L1 antagonists. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2018;130:13-26. doi:10.1016/j.critrevonc.2018.07.001
91. Martin D, Balermipas P, Gollrad J, et al. RADIANCE - Radiochemotherapy with or without Durvalumab in the treatment of anal squamous cell carcinoma: A randomized multicenter phase II trial. *Clin Transl Radiat Oncol*. 2020;23:43-49. Published 2020 May 1. doi:10.1016/j.ctro.2020.04.010
92. Milano MT, Jani AB, Farrey KJ, Rash C, Heimann R, Chmura SJ. Intensity-modulated radiation therapy (IMRT) in the treatment of anal cancer: toxicity and clinical outcome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2005;63(2):354-361. doi:10.1016/j.ijrobp.2005.02.030
93. Fogh S, Yom SS. Symptom management during the radiation oncology treatment course: a practical guide for the oncology clinician. *Semin Oncol*. 2014;41(6):764-775. doi:10.1053/j.seminoncol.2014.09.020
94. Ludmir EB, Kachnic LA, Czito BG. Evolution and Management of Treatment-Related Toxicity in Anal Cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2017;26(1):91-113. doi:10.1016/j.soc.2016.07.004
95. Andreyev J. Gastrointestinal symptoms after pelvic radiotherapy: a new understanding to improve management of symptomatic patients. *Lancet Oncol*. 2007;8(11):1007-1017. doi:10.1016/S1470-2045(07)70341-8

96. Fuccio L, Guido A, Andreyev HJ. Management of intestinal complications in patients with pelvic radiation disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10(12):1326-1334.e4. doi:10.1016/j.cgh.2012.07.017
97. Mell LK, Schomas DA, Salama JK, Devisetty K, Aydogan B, Miller RC, et al. Association between bone marrow dosimetric parameters and acute hematologic toxicity in anal cancer patients treated with concurrent chemotherapy and intensity-modulated radiotherapy. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2008;70(5):1431-7. doi: 10.1016/j.ijrobp.2007.08.074
98. Franco P, Ragona R, Arcadipane F, et al. Dosimetric predictors of acute hematologic toxicity during concurrent intensity-modulated radiotherapy and chemotherapy for anal cancer. *Clin Transl Oncol*. 2017;19(1):67-75. doi:10.1007/s12094-016-1504-2
99. Mai SK, Grieger J, Lachmann R, Bohrer M, Tiefenbacher U, Wenz F. Radiochemotherapy for anal carcinoma - effectivity and late toxicity. *Onkologie*. 2002;25(1):55-59. doi:10.1159/000055203
100. Mai SK, Welzel G, Hermann B, Bohrer M, Wenz F. Long-term outcome after combined radiochemotherapy for anal cancer - retrospective analysis of efficacy, prognostic factors, and toxicity. *Onkologie*. 2008;31(5):251-257. doi:10.1159/000121362
101. Vordermark D, Sailer M, Flentje M, Thiede A, Kölbl O. Impaired sphincter function and good quality of life in anal carcinoma patients after radiotherapy: a paradox?. *Front Radiat Ther Oncol*. 2002;37:132-139. doi:10.1159/000061309
102. Mai Sabine: *Die kombinierte Radiochemotherapie des Analkarzinoms, Habilitationsschrift*, medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg, 2011
103. Rödel F, Wieland U, Fraunholz I, et al. Human papillomavirus DNA load and p16INK4a expression predict for local control in patients with anal squamous cell carcinoma treated with chemoradiotherapy. *Int J Cancer*. 2015;136(2):278-288. doi:10.1002/ijc.28979
104. Valvo F, Ciurlia E, Avuzzi B, et al. Cancer of the anal region. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019;135:115-127. doi:10.1016/j.critrevonc.2018.12.007
105. Nelson VM, Benson AB 3rd. Epidemiology of Anal Canal Cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2017;26(1):9-15. doi:10.1016/j.soc.2016.07.001
106. Sun G, Dong X, Tang X, Qu H, Zhang H, Zhao E. The prognostic value of HPV combined p16 status in patients with anal squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;9(8):8081-8088. Published 2017 Dec 21. doi:10.18632/oncotarget.23545
107. Agrawal N, Frederick MJ, Pickering CR, et al. Exome sequencing of head and neck squamous cell carcinoma reveals inactivating mutations in NOTCH1. *Science*. 2011;333(6046):1154-1157. doi:10.1126/science.1206923

108. Banister CE, Liu C, Pirisi L, Creek KE, Buckhaults PJ. Identification and characterization of HPV-independent cervical cancers. *Oncotarget*. 2017;8(8):13375-13386. doi:10.18632/oncotarget.14533
109. Gaykalova DA, Mambo E, Choudhary A, Houghton J, Buddavarapu K, Sanford T, et al. Novel insight into mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *PloS one*. 2014;9(3):e93102. doi:10.1371/journal.pone.0093102
110. Gilbert DC, Williams A, Allan K, et al. p16INK4A, p53, EGFR expression and KRAS mutation status in squamous cell cancers of the anus: correlation with outcomes following chemo-radiotherapy. *Radiother Oncol*. 2013;109(1):146-151. doi:10.1016/j.radonc.2013.08.002
111. Ajani JA, Wang X, Izzo JG, et al. Molecular biomarkers correlate with disease-free survival in patients with anal canal carcinoma treated with chemoradiation. *Dig Dis Sci*. 2010;55(4):1098-1105. doi:10.1007/s10620-009-0812-6
112. Bruland O, Fluge O, Immervoll H, et al. Gene expression reveals two distinct groups of anal carcinomas with clinical implications. *Br J Cancer*. 2008;98(7):1264-1273. doi:10.1038/sj.bjc.6604285
113. Perrone F, Gloghini A, Cortelazzi B, Bossi P, Licitra L, Pilotti S. Isolating p16-positive/HPV-negative oropharyngeal cancer: an effort worth making. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(5):774-778. doi:10.1097/PAS.0b013e3182116a45
114. Meulendijks D, Tomaso NB, Dewit L, et al. HPV-negative squamous cell carcinoma of the anal canal is unresponsive to standard treatment and frequently carries disruptive mutations in TP53. *Br J Cancer*. 2015;112(8):1358-1366. doi:10.1038/bjc.2015.20
115. Ravenda PS, Magni E, Botteri E, et al. Prognostic value of human papillomavirus in anal squamous cell carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2014;74(5):1033-1038. doi:10.1007/s00280-014-2582-x
116. Casadei Gardini A, Capelli L, Ulivi P, et al. KRAS, BRAF and PIK3CA status in squamous cell anal carcinoma (SCAC). *PLoS One*. 2014;9(3):e92071. Published 2014 Mar 18. doi:10.1371/journal.pone.0092071
117. Prigge ES, Urban K, Stiegler S, et al. No evidence of oncogenic KRAS mutations in squamous cell carcinomas of the anogenital tract and head and neck region independent of human papillomavirus and p16(INK4a) status. *Hum Pathol*. 2014;45(11):2347-2354. doi:10.1016/j.humpath.2014.08.001
118. Thomas LK, Bermejo JL, Vinokurova S, et al. Chromosomal gains and losses in human papillomavirus-associated neoplasia of the lower genital tract - a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2014;50(1):85-98. doi:10.1016/j.ejca.2013.08.022
119. Johnsson A, Leon O, Gunnlaugsson A, Nilsson P, Höglund P. Determinants for local tumour control probability after radiotherapy of anal cancer. *Radiother Oncol*. 2018;128(2):380-386. doi:10.1016/j.radonc.2018.06.007

120. Ries LAG, Young JL, Keel GE, Eisner MP, Lin YD, Horner M-J (editors). SEER Survival Monograph: Cancer Survival Among Adults: U.S. SEER Program, 1988-2001, Patient and Tumor Characteristics. National Cancer Institute, SEER Program, NIH Pub. No. 07-6215, Bethesda, MD, 2007
121. Read TR, Huson KL, Millar JL, et al. Size of anal squamous cell carcinomas at diagnosis: a retrospective case series. *Int J STD AIDS*. 2013;24(11):879-882. doi:10.1177/0956462413486776
122. Grabenbauer GG, Kessler H, Matzel KE, Sauer R, Hohenberger W, Schneider IH. Tumor site predicts outcome after radiochemotherapy in squamous-cell carcinoma of the anal region: long-term results of 101 patients. *Dis Colon Rectum*. 2005;48(9):1742-1751. doi:10.1007/s10350-005-0098-5
123. Siegel R, Werner RN, Koswig S, Gaskins M, Rödel C, Aigner F, on behalf of the German Anal Cancer Guideline Group: Clinical practice guideline: Anal cancer—diagnosis, treatment and follow-up. *Dtsch Arztebl Int* 2021; 118: 217–24. DOI: 10.3238/arztebl.m2021.0027
124. Huang SH, O'Sullivan B. Overview of the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer. *Curr Treat Options Oncol*. 2017 Jul;18(7):40. doi: 10.1007/s11864-017-0484-y. PMID: 28555375.
125. Phuong L, Rajdev L. Immunotherapy in Anal Cancer. *Curr Oncol Rep*. 2020 Jul 11;22(9):94. doi: 10.1007/s11912-020-00946-3. PMID: 32651760

8. Lebenslauf

PERSONALIEN

Name und Vorname: Severa Sebastian
Geburtsdatum: 26.12.1986
Geburtsort: München

SCHULISCHER WERDEGANG

1993 – 1997 Killermann-Grundschule, Regensburg
1997 – 2003 Albertus-Magnus-Gymnasium, Regensburg
2003 – 2006 Willibald-Gluck-Gymnasium, Neumarkt i.d.OPf.
30. Juni 2006 Erlangung der allgemeinen Hochschulreife

UNIVERSITÄRER WERDEGANG

WS 2009/10 Beginn des Studiums der Humanmedizin
an der medizinischen Fakultät Mannheim
der Universität Heidelberg
05. September 2011 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (M1)
16. April 2015 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung (M2)
31. Mai 2016 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung (M3)

9. Danksagung

Ich danke

Frau Dr. PD Mai für die Möglichkeit, diese Doktorarbeit anfertigen und fertigstellen zu können, für die sehr gute wissenschaftliche Betreuung, auch über einen längeren Zeitraum und dafür, dass sie stets für alle Fragen und Probleme ansprechbar war und diese schnell geklärt werden konnten,

meiner Frau Sarah und meiner Tochter Eleni für ihre Geduld und ihr Verständnis während der Fertigstellung meiner Arbeit und dafür, dass sie mich stets aufgemuntert und motiviert haben,

meiner Mutter Ulrike Severa, ohne deren Unterstützung mir das Studium der Medizin nicht möglich gewesen wäre.