

Анализ циркулирующей опухолевой ДНК и новые возможности использования анти-EGFR моноклональных антител у пациентов с метастатическим колоректальным раком

М. С. Рубан, Л. В. Болотина, Ю. Б. Карагодина, Т. И. Дешкина, А. Л. Корниецкая, А. А. Феденко

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Москва

РЕЗЮМЕ

В настоящее время исследование биоптата опухолевой ткани с целью определения альтераций в генах RAS/BRAF, оценки статуса микросателлитной нестабильности, а также определения амплификации/гиперэкспрессии гена HER-2/neu является золотым стандартом диагностики и позволяет осуществить выбор оптимальной молекулярно-направленной терапии при рассмотрении стратегий лечения пациентов с метастатическим колоректальным раком. Однако биопсия не позволяет в полной мере отразить существующую внутриопухолевую гетерогенность и клональную эволюцию опухолевых клеток, что, зачастую, может быть причиной терапевтических неудач. В последние годы жидкостная биопсия привлекает все большее внимание как дополнительный и потенциально альтернативный неинвазивный инструмент молекулярного профилирования опухоли. Оценка циркулирующей опухолевой ДНК позволяет отслеживать изменения генетического статуса опухоли, а также динамически измерять «бремя» болезни в режиме реального времени. Благодаря развитию технологий жидкостной биопсии появились новые многообещающие стратегии ведения пациентов с метастатическим колоректальным раком на поздних линиях терапии. Стандартный лекарственный арсенал у данной группы больных ограничен или повторным назначением ранее эффективной терапии или регорафенибом и комбинацией трифлуридин/типирацила с бевацизумабом, которые характеризуются ограниченной клинической активностью. Однако, благодаря открытию феномена NeoRAS wild-type и стратегии rechallenge анти-EGFR моноклональных антител, основанных на изучении клональной селекции и эволюции опухолевых клеток, назначение ингибиторов эпидермального фактора роста в молекулярно-отобранной посредством жидкостной биопсии популяции сопровождается хорошей переносимостью и эффективностью. В настоящий момент продолжаются многочисленные клинические исследования, направленные на дальнейшее понимание механизмов резистентности опухоли и разработку новых научно обоснованных лечебных подходов с целью реализации концепции персонализированной медицины.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: колоректальный рак, жидкостная биопсия, циркулирующая опухолевая ДНК, таргетная терапия, резистентность.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Circulating tumour DNA analysis and new uses of anti-EGFR monoclonal antibodies in patients with metastatic colorectal cancer

M. S. Ruban, L. V. Bolotina, Y. B. Karagodina, T. I. Deshkina, A. L. Kornietskaya, A. A. Fedenko

Moscow Research Institute n.a. P. A. Herzen – a Branch of the National Medical Research Centre of Radiology, Moscow, Russia

SUMMARY

Currently, tumour tissue biopsy to determine RAS/BRAF gene alterations, assess microsatellite instability status, and determine HER-2/neu gene amplification/hyperexpression is the gold standard of diagnosis and allows the selection of optimal molecularly targeted therapy when considering treatment strategies for patients with metastatic colorectal cancer. However, biopsy does not fully reflect the existing intratumoural heterogeneity and clonal evolution of tumour cells, which can often be the cause of therapeutic failures. In recent years, liquid biopsy has attracted increasing attention as an additional and potentially alternative non-invasive tool for molecular tumour profiling. Assessment of circulating tumour DNA allows changes in the genetic status of the tumour to be monitored and the «burden» of disease to be measured dynamically in real time. Advances in liquid biopsy technology have led to promising new strategies for the management of patients with metastatic colorectal cancer in late-line therapy. The standard drug arsenal in this group of patients is limited to either repeat administration of previously effective therapy or regorafenib and the combination of trifluridine/tipiracil with bevacizumab, which are characterized by limited clinical activity. However, thanks to the discovery of the NeoRAS wild-type phenomenon and the rechallenge strategy of anti-EGFR monoclonal antibodies based on the study of clonal selection and evolution of tumour cells, the administration of epidermal growth factor inhibitors in a molecularly selected by liquid biopsy population is accompanied by good tolerability and efficacy. Numerous clinical studies are ongoing to further understand the mechanisms of tumour resistance and to develop new evidence-based treatment approaches in order to realise the concept of personalised medicine.

KEYWORDS: colorectal cancer, liquid biopsy, circulating tumour DNA, targeted therapy, resistance.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Колоректальный рак (КРР) представляет собой значимую и актуальную медико-социальную проблему здравоохранения во всем мире. Согласно базе данных

GLOBOCAN 2020 года в структуре онкологической заболеваемости мужчин и женщин КРР по-прежнему занимает третье и второе место соответственно. По прогнозам

Международного агентства по изучению рака к 2040 году заболеваемость колоректальным раком увеличится до 3,2 млн новых случаев в год (прирост на 63 %), а смертность до 1,6 млн (прирост на 73 %) [1, 2].

В последние два десятилетия отмечаются значительные изменения в терапии метастатического колоректального рака (мКРР) благодаря достижениям в области молекулярной биологии, а также внедрению новых химиотерапевтических, иммунных и таргетных препаратов. Использование геномного профилирования продемонстрировало, что КРР представляет собой гетерогенное заболевание, характеризующееся множеством генных перестроек, которые обуславливают дисрегуляцию разнообразных сигнальных путей, что приводит к пролиферации и инвазии опухолевых клеток. Высокая меж- и внутриопухолевая неоднородность на различных генетических уровнях подчеркивает сложную молекулярную биологию колоректального рака, что, в свою очередь, определяет ответ на терапию и выживаемость пациентов [3–5].

Первым успешным шагом в развитии персонализированного подхода к терапии мКРР стало определение различных вариантов и последовательностей методов лечения, основанных на молекулярной стратификации опухоли. Однако, несмотря на большое генетическое разнообразие в настоящее время золотым стандартом для выбора наиболее подходящей стратегии лечения мКРР является определение альтераций в генах RAS, BRAF, а также оценка статуса микросателлитной нестабильности. Также в стандарты вошло определение амплификации/ гиперэкспрессии гена HER-2/neu [6].

На сегодняшний день использование анти-EGFR моноклональных антител возможно лишь у отдельных пациентов с диссеминированным колоректальным раком. Этот отбор основан на предикторных молекулярных биомаркерах «отсутствия ответа» (т.е. наличие RAS-активирующих или BRAF-активирующих мутаций), а не на наличии положительных предикторных маркеров противоопухолевой активности и эффективности лечения [7–9]. Цетуксимаб или панитумумаб используют в комбинации со стандартными схемами химиотерапии (ХТ) в качестве первой линии терапии для пациентов с опухолями RAS/BRAF дикого типа [10]. Также в результате анализа множества клинических исследований было установлено, что анти-EGFR агенты были наиболее эффективны у пациентов, у которых первичная опухоль локализовалась в левой половине толстой кишки. В этой связи установлено, что мКРР изначально возникший в правой половине толстой кишки, имеет различные генетически альтерации и профили экспрессии генов, определяющие сниженную чувствительность к ингибированию EGFR [11]. Однако, согласно данным мета-анализа, проведенного Wang и соавт., таргетная терапия (ТТ) анти-EGFR агентами может быть вариантом лечения и для пациентов с правосторонними опухолями при отсутствии мутаций RAS [12]. Подобная концепция была подтверждена в ряде исследований, что свидетельствует о несовершенстве существующих стандартных подходов к выбору персонализированной стратегии терапии мКРР [13, 14]. В последние годы значительное внимание уделено изучению молекулярных подтипов

колоректального рака, которые позволяют отразить обширную биологическую гетерогенность данного заболевания [15]. В отношении использования бевацизумаба во многих клинических исследованиях было продемонстрировано, что он эффективен вне зависимости от мутационного статуса или локализации первичной опухоли [16–18].

Таким образом, согласно современным отечественным и зарубежным клиническим рекомендациям RUSSCO (Российское общество клинической онкологии), АОР (Ассоциация онкологов России) и NCCN (National Comprehensive Cancer Network) при лечении мКРР выбор ТТ должен основываться на наличии/отсутствии мутаций в генах RAS/BRAF, локализации первичной опухоли, оценке амплификации/ гиперэкспрессии HER-2/neu, а также статусе микросателлитной нестабильности. Также в стандартах установлена определенная последовательность применения таргетных агентов. Так при использовании в первой линии цетуксимаба или панитумумаба у пациентов с диким типом генов RAS и BRAF, во второй линии рекомендовано назначение анти-VEGF агентов бевацизумаба, афлиберцепта или рамцизумаба. При правосторонней локализации или наличии мутаций в генах RAS, BRAF рекомендовано использовать бевацизумаб. Если прогрессирование заболевания произошло на фоне ТТ бевацизумабом, оптимальным является продолжение во второй линии антиангиогенной терапии со сменой химиотерапевтического режима [16, 17, 19].

Данная последовательность принята, в том числе и на основании установленных механизмов «ускользания» от ингибирования EGFR. Примерно у одной трети пациентов это вызвано появлением RAS-мутантных и реже BRAF-мутантных или эктодоменных EGFR-мутантных клонов раковых клеток [10]. Фактически, лечение анти-EGFR препаратами устраняет чувствительные клоны с RAS/BRAF дикого типа, тогда как приобретенные RAS-мутантно-резистентные клоны становятся преобладающей популяцией [20]. Это обуславливает то, что терапия второй линии обычно заключается в смене режима химиотерапии с добавлением анти-VEGF агентов, которые эффективны вне зависимости от мутационного статуса. Однако все большее число клинических исследований указывает на возможность повторного назначения анти-EGFR препаратов [21–23]. Вероятнее всего это связано с тем, что в процессе второй линии лечения без ингибиторов EGFR приобретенные резистентные RAS-мутантные клоны постепенно разрушаются, восстанавливая чувствительность опухоли к блокаторам рецептора эпидермального фактора роста [24]. Подобный феномен в настоящее время активно изучается [25].

Семейство генов RAS и его мутации

Семейство RAS включает в себя 3 различных гена, кодирующих 4 белка: HRAS, NRAS, а также KRAS 4A и KRAS 4B, которые являются двумя изоформами, образующимися путем альтернативного сплайсинга. Они функционируют как «молекулярные переключатели», передающие внеклеточные стимулы на транскрипционные факторы и белки клеточного цикла в ядре, что способствует росту, дифференцировке, пролиферации и выживанию клеток [26].

В нормальных физиологических условиях RAS (KRAS и NRAS) непрерывно меняется между активным состоянием, связанным с гуанозинтрифосфатом (ГТФ), и неактивным, связанным с гуанозиндифосфатом (ГДФ), в зависимости от клеточного контекста и воздействия сигнальных стимулов. Подобные внеклеточные стимулы активируют в первую очередь трансмембранные тирозинкиназные рецепторы, которые задействуют адаптерные белки, катализирующие гидролиз ГДФ до ГТФ. После активации RAS рекрутирует ряд эффекторов сложных сигнальных путей, включая Raf/MEK/ERK путь митоген-активированной протеинкиназы (MAPK), фосфоинозитид-3-киназу PI3K/Akt и белки Ral-GEF. Мутации, определяющие конститутивную активацию RAS в ГТФ-связанном состоянии, способствуют онкогенезу и модулируют микроокружение опухоли, индуцируя ускользание от иммунного ответа [27]. При метастатическом колоректальном раке мутации гена KRAS по данным литературы встречаются примерно в 40% случаев, в основном в 12 (70–80%) и 13 (15–20%) кодонах 2 экзона [28]. Аберрации в гене NRAS, как правило, исключают мутации KRAS и присутствуют в среднем у 3–10% больных КРР, преимущественно в 61 кодоне (60%) 3 экзона [29]. Нарушения в HRAS представляют собой крайне редкое событие и практически не встречаются при мКРР [30, 31].

Установлено, что мутации гена KRAS наиболее часто затрагивают один из четырех «горячих» кодонов – 12, 13, 61 или 146 [26]. Согласно обзору Miller и соавт. ряд исследований продемонстрировал существенное разнообразие в биохимических и сигнальных свойствах среди различных вариантов аберраций [32]. В частности, мутации в кодонах 12, 13 и 61 снижают скорость внутреннего и/или ГТФаза-опосредованного гидролиза ГТФ, а мутации в 13 и 61, но не в 12, кодонах также повышают скорость обмена нуклеотидов [33,34]. С другой стороны, мутации 146 кодона не влияют на гидролиз гуанозинтрифосфата, но способствуют ускорению метаболизма ГДФ [35, 36]. Вероятно, подобная гетерогенность обуславливает различие терапевтических ответов и клинических исходов у пациентов с КРР [37]. Ретроспективный мета-анализ, проведенный de Roock и соавт., показал, что у пациентов с мКРР при наличии мутации KRAS G13D отмечался хороший ответ на анти-EGFR терапию, которая обычно не рекомендуется для KRAS-мутантных опухолей [38]. Достоверно известно, что аберрация KRAS G12C ассоциирована со значительно более низкой выживаемостью без прогрессирования (ВБП) и общей выживаемостью (ОВ) [39, 40]. Так в крупном японском многоцентровом исследовании, куда вошло 696 пациентов с мКРР и наличием мутации во 2 экзоне гена KRAS, при медиане наблюдения в 64,8 месяца было продемонстрировано, что KRAS G12C обуславливает более короткую ВБП (9,4 против 10,8 месяца; $p = 0,015$) и ОВ (21,1 против 27,3 месяца; $p = 0,015$) в сравнении с другими вариантами мутантных аллелей [41]. В то же время, несмотря на низкую частоту встречаемости (в 3–5% случаев мКРР), G12C является единственным вариантом мутации KRAS, для которого была продемонстрирована эффективность таргетной монотерапии соторасибом (исследование CodeBreaK 101) или адаграсибом (протокол KRYSTAL-1), а также их комбинации с анти-EGFR агентами [42, 43]. Ранее

основной гипотезой о причине клинических различий было предположение о гетерогенности биологических свойств мутантных вариантов гена KRAS, однако в настоящее время также предполагается наличие аллель-специфических генетических взаимодействий. Точное понимание механизмов, лежащих в основе данных процессов, является одним из важных условий для более персонализированного подхода к лечению пациентов с мКРР [31, 37].

Жидкостная биопсия

В настоящее время биопсия опухолевой ткани является золотым стандартом молекулярного профилирования, которому в то же время свойственен ряд ограничений, в частности потенциальные осложнения, трудности при проведении повторных процедур из-за инвазивности вмешательства, вероятные сложности в заборе достаточного количества материала или невозможность выполнения биопсии из-за анатомических причин [17, 44]. Кроме того, полученный результат зачастую не отражает существующей внутри- и межопухолевой гетерогенности [45]. Так метастатические очаги могут иметь отличные от первичной опухоли генетические профили, что является возможной причиной терапевтической неудачи, если решение о лечении основано на результатах единичной биопсии [46]. Кроме того, выявление приобретенной резистентности к проводимой терапии, характерной чертой которой является появление резистентных субклонов либо в пределах одного очага, либо в различных метастатических участках, с помощью повторных биопсий затруднено и нецелесообразно [47]. В связи с этим жидкостная биопсия (ЖБ) привлекает все большее внимание как дополнительный и потенциально альтернативный неинвазивный инструмент, позволяющий обойти данные ограничения [48–50].

В последние годы знания о циркулирующей опухолевой ДНК (цОДНК), а также циркулирующих опухолевых клетках (ЦОК) экспоненциально росли, однако концепция ЖБ не является новой [51]. Впервые ЦОК были описаны в 1869 году Ashworth, который предположил, что эти клетки попадают в системный кровоток отделяясь от первичной опухоли [52]. Спустя столетие была обнаружена внеклеточная ДНК (вкДНК), которая в настоящее время является объектом активных исследований [53]. Само определение «жидкостная биопсия» является несколько неточным, поскольку в действительности биопсия не проводится, однако этот термин охватывает любой компонент опухоли, обнаруженный в биологических жидкостях [47]. Циркулирующая опухолевая ДНК, циркулирующие опухолевые клетки, микроРНК, а также экзосомы являются наиболее распространенными опухолевыми биомаркерами, которые возможно оценить при ЖБ [54, 55]. Среди них анализ цОДНК, заключающийся в выделении фрагментов ДНК из крови пациентов, уже продемонстрировал свой потенциал для отражения молекулярной гетерогенности КРР в сочетании с такими техническими преимуществами как минимальная инвазивность и быстрота выполнения [5]. Оценка геномных изменений, связанных с опухолью, в режиме реального времени и выбор тактики лечения могут быть основаны на мониторинге цОДНК как при неметастатическом, так и при мКРР [51]. С учетом данного факта большинство из доступных в клинике платформ для ЖБ основаны на оценке именно циркулирующей опухолевой ДНК [47].

Однако, несмотря на большие клинические возможности, открывающиеся благодаря анализу цоДНК при КРР, существуют определенные ограничения, сдерживающие его широкое применение. Одной из основных причин является материально-техническая, которая заключается в первую очередь в осуществимости ЖБ вне научных или специализированных онкологических центров, поскольку для её проведения требуется специальное дорогостоящее оборудование, которое не может быть установлено во всех онкологических медицинских учреждениях [56]. С другой стороны, при существующем множестве платформ и методов для оценки цоДНК их сравнительные анализы в одних и тех же условиях не позволяют однозначно определить наиболее предпочтительную технологию [57]. При данных условиях требуются дополнительные исследования поиска баланса между чувствительностью, необходимой для решения клинического вопроса и широкой доступностью метода [51, 58].

Циркулирующая опухолевая ДНК при колоректальном раке

Среди различных биомаркеров, которые могут быть оценены при ЖБ, наиболее широко используемым является циркулирующая опухолевая ДНК, представляющая собой небольшую часть внеклеточной ДНК, механизм образования которой в настоящее время недостаточно ясен [59].

Mouliere и соавт. исследовали вкДНК у пациентов с КРР, происходящую из опухоли, ее микроокружения, а также из нормальных клеток, выявив три основных возможных источника образования данного маркера: некроз, апоптоз и активная секреция [60]. Было установлено, что у здоровых людей концентрация вкДНК колеблется в пределах 0–100 нг/мл (в среднем 13 ± 3 нг/мл). Напротив, у онкологических пациентов она несколько больше и составляет 180 ± 38 нг/мл [61]. Циркулирующая опухолевая ДНК представляет собой фрагмент ДНК, источником которого являются именно опухолевые клетки, причем количество высвобождаемой цоДНК возрастает с увеличением стадии заболевания и численности метастатических очагов [62].

Период полураспада циркулирующей опухолевой ДНК составляет около 2 часов, что позволяет оценивать изменения генетического статуса опухоли, а также динамически измерять «бремя» болезни в режиме реального времени [63]. Появляется все больше доказательств использования цоДНК при КРР в качестве эффективного и точного маркера для прогнозирования ответа на терапию и риска рецидива после завершения лечения, а также выявления минимальной остаточной болезни [47].

Существующие в настоящее время платформы для анализа ЖБ основаны на полимеразной цепной реакции (ПЦР) или секвенировании следующего поколения (Next-generation sequencing – NGS) [64–66].

Тесты на основе ПЦР могут выявлять только мишени с известными драйверными мутациями, однако они не способны обнаружить сложные геномные изменения. Наиболее эффективными и высокочувствительными платформами на основе ПЦР являются цифровая капельная ПЦР (цкПЦР) и технология BEAMing [67]. ЦкПЦР представляет собой точный и надежный метод количественной оценки уровня

экспрессии генов, выявляющий также и их низкочастотные варианты путем амплификации отдельных молекул ДНК. Секвенирование ампликонов и гибридационный захват снижают уровень возможной фоновой погрешности [68]. Так предел обнаружения для цкПЦР составляет 0,01–0,10% [69]. BEAMing – это метод, сочетающий в себе эмульсионную ПЦР и проточную цитометрию для идентификации и количественного определения конкретных соматических мутаций, присутствующих в ДНК [70]. Одним из наиболее часто используемых в настоящее время является набор OncoBEAM RAS CRC Kit, представляющий собой платформу для выявления аберраций RAS в плазме крови, основанный на данной технологии. С его помощью возможно обнаружить 34 мутации в KRAS/NRAS 12, 13, 59, 61, 117 и 146 кодонах. OncoBEAM RAS CRC Kit выявляет изменения с частотой аллелей 0,01% [71]. В нескольких исследованиях, в которых сравнивались четыре коммерческие платформы для выявления мутаций KRAS/NRAS в цоДНК, технология BEAMing и цкПЦР продемонстрировали более высокую чувствительность, чем IdyllaTM KRAS Mutation Test и NGS [72, 73].

Метод секвенирования следующего поколения применим для анализа большого количества генов – от сотен до тысяч и позволяет выявить многочисленные типы генетических изменений, включая инделы, перестройки и изменения числа копий, как в известных, так и в неизвестных генах-драйверах [74]. Главными ограничениями NGS являются его относительно низкая чувствительность и высокая стоимость, однако в последнее десятилетие наблюдается значительный прогресс в расширении возможностей и доступности методики [75]. Guardant360 и FoundationOne Liquid в настоящее время являются одними из самых популярных тестов для исследования цоДНК на основе NGS, однако при мКРР они используются крайне редко [46].

Rechallenge анти-EGFR моноклональных антител

При прогрессировании мКРР после химиотерапии первой линии последующие линии лечения становятся все менее эффективными [10, 76, 77]. В течение последнего десятилетия мультитargetный ингибитор регорафениб и комбинация трифлуридин/типирацил были единственными утвержденными препаратами в качестве третьей и более поздних линий лечения рефрактерного метастатического колоректального рака. В многочисленных проведенных исследованиях оба препарата продемонстрировали ограниченную клиническую активность, при этом медиана выживаемости без прогрессирования составляла около 2 месяцев, а общая выживаемость – 6–8 месяцев. Более того, регрессия опухоли была незначительной, а частота объективного ответа (ЧОО) составляла 1–4%. Оба препарата характеризуются выраженной токсичностью, в частности для трифлуридина/типирацила это гастроинтестинальные и гематологические побочные эффекты, а для регорафениба – ладонно-подошвенный синдром, астения, диарея и гипертония [78–80]. Таким образом, в настоящее время существует необходимость поиска новых и более эффективных вариантов терапии.

Одной из предложенных многообещающих стратегий является концепция повторного назначения анти-EGFR моноклональных антител [81]. Впервые она была представлена в работе Santini и соавт., в которой изучалась эффективность

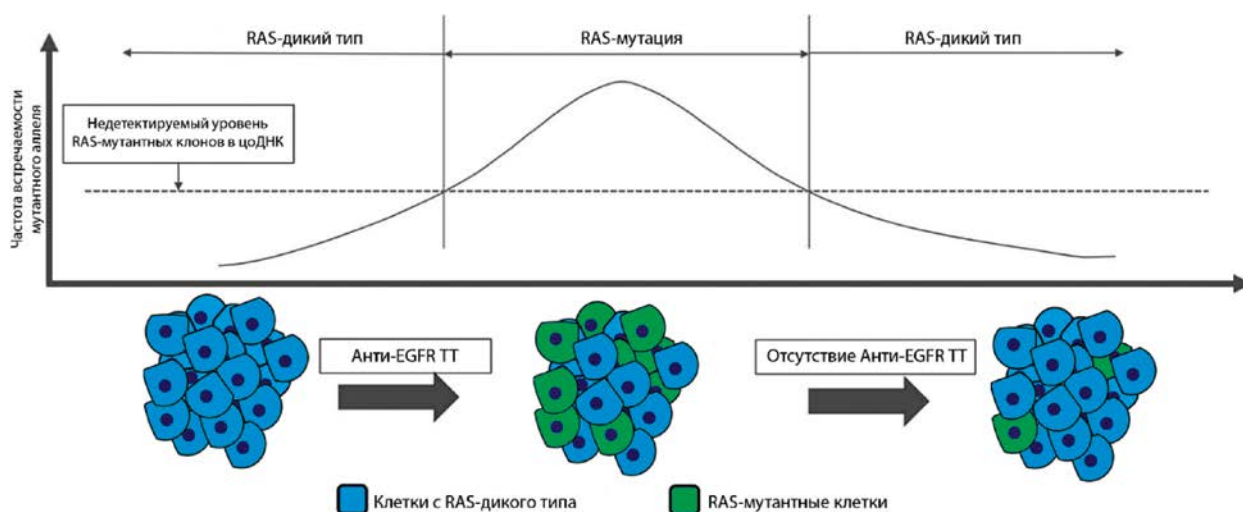


Рисунок 1. Механизм возникновения мутаций RAS в процессе анти-EGFR терапии.

повторного назначения цетуксимаба у пациентов с мКРР. Всего в исследование было включено 39 пациентов с метастатическим колоректальным раком, у которых была отмечена клиническая эффективность после одной линии лечения на основе цетуксимаба и иринотекана с последующим подтвержденным прогрессированием заболевания. Среднее количество терапевтических линий до включения в протокол составило четыре. Медиана времени между последним циклом первого лечения на основе цетуксимаба и первым циклом его повторного назначения равнялась 6 месяцам. В исследовании были получены многообещающие результаты: ЧОО составила 53,8 %, а медиана ВБП – 6,6 месяцев [21]. Однако исследователи не проводили различий между стратегиями rechallenge и reintroduction анти-EGFR ТТ. Rechallenge подразумевает повторное назначение анти-EGFR моноклональных антител после периода их отсутствия у пациентов с возникшей на фоне лечения резистентностью. С другой стороны, reintroduction представляет повторное назначение анти-EGFR агентов после прекращения их приема у пациентов без наличия резистентности [46]. Также недавно Avallone и соавт. в своей работе продемонстрировали, что интермиттирующее применение панитумумаба с ХТ сопровождается более длительной ВБП на фоне лечения (17,6 против 12,6 месяцев) и меньшей кожной токсичностью, чем стандартная непрерывная терапия [82]. Дальнейшее развитие данных стратегий лечения требует выяснения возможных механизмов устойчивости к анти-EGFR агентам [46].

Появление мутаций RAS в опухолях с изначально RAS дикого типа является хорошо известным механизмом приобретенной резистентности к анти-EGFR терапии [83]. Тем не менее, остается неясным, приобретаются ли эти мутации *de novo* или первоначально необнаруживаемые мутантные субклоны пролиферируют посредством клональной селекции и эволюции [46]. Предполагается, что мутации RAS, скорее всего, изначально присутствуют на недетектируемом уровне до введения анти-EGFR агентов, однако после начала терапии количество клеток с мутантным RAS увеличивается до определяемого количества [84]. Также установлено, что терапия второй линии без ингибиторов эпидермального фактора роста приводит к уменьшению или исчезновению данных субклонов. Одна из гипотез, объясняющих это

наблюдение, заключается в том, что таргетная терапия оказывает селективное воздействие на гетерогенные опухоли, включая неопределяемые популяции RAS-мутантных клеток, которые выживают. Однако количество подобных «резистентных» клеток изначально небольшое, поэтому мутации RAS могут существовать как субклональные мутации с низкой частотой аллелей. Период полураспада мутантных клеток после отмены анти-EGFR агентов составляет приблизительно 3–4 месяца, за время которого чувствительность к данной терапии может восстановиться [24]. Отслеживание динамики резистентных субклональных популяций посредством анализа цоДНК позволяет выявить пациентов, которые могут быть кандидатами для повторного назначения ингибиторов эпидермального фактора роста [85].

Внутриопухолевая гетерогенность мКРР и динамика клональной эволюции под воздействием селективного давления в процессе лечения представлена на рисунке. Возникновение мутаций RAS в процессе анти-EGFR ТТ – известный механизм приобретенной резистентности, однако после отмены данных препаратов чувствительность к блокаде EGFR восстанавливается, так как мутантные клоны постепенно разрушаются (рис. 1).

Первым исследованием, подтвердившим эффективность данной стратегии на основании анализа цоДНК было многоцентровое проспективное исследование II фазы CRICKET. В протоколе проводилась оценка пользы повторного применения цетуксимаба в комбинации с иринотеканом в качестве третьей линии лечения у пациентов с мКРР RAS и BRAF дикого типа, у которых была отмечена клиническая эффективность как минимум в виде частичного ответа на терапию первой линии на основе цетуксимаба и иринотекана, а показатель ВБП составлял не менее 6 месяцев с последующим развитием резистентности к лечению. Интервал между окончанием терапии первой линии и началом третьей линии составлял 4 месяца и более. Жидкостная биопсия для анализа цоДНК выполнялась на начальном этапе, до повторного назначения анти-EGFR ТТ. Показатель ЧОО составил 21 %. У четырех пациентов с подтвержденным частичным клиническим ответом мутации RAS обнаружены не были. В ходе ретроспективного анализа исследователи установили, что пациенты с RAS дикого типа по цоДНК (13 человек)

Таблица 1
Исследования стратегии *rechallenge* анти-EGFR моноклональных антител

Исследование	Фаза исследования	Метод анализа цоДНК	Количество пациентов, включенных в исследование	Первичная конечная точка	Проводимое лечение	ЧОО (%)	Медина ВБП (месяцы)	Медiana ОВ (месяцы)
CRICKET	Однорукавное, 2 фаза	Цифровая капельная ПЦР	25	ЧОО	Цетуксимаб + Иринотекан	21	3,4	9,8
E-Rechallenge	Однорукавное, 2 фаза	Цифровая капельная ПЦР	24	ЧОО	Панитумумаб + Иринотекан	15,2	2,9	8,7
JACCRO CC-08/09AR	Однорукавное, 2 фаза	BEAMing (OncoBEAM RAS CRC Kit)	16	3-месячная ВБП	Цетуксимаб + Иринотекан (08) Панитумумаб + Иринотекан (09)	2,9(08);8,3(09)	2,4	8,2
CAVE	Однорукавное, 2 фаза	ПЦР в реальном времени	67	ОВ	Авелумаб + Цетуксимаб	7,8	3,6	11,6
CHRONOS	Однорукавное, 2 фаза	Цифровая капельная ПЦР	27	ЧОО	Панитумумаб	30	4,0	12,8
PURSUIT	Однорукавное, 2 фаза	BEAMing (OncoBEAM RAS CRC Kit)	50	ЧОО	Панитумумаб + Иринотекан	14	3,6	не определено
VELO	Рандомизированное, 2 фаза	ПЦР в реальном времени (IdyllaTM)	62	ВБП	Панитумумаб + Трифлуридин/типирацил против Трифлуридин/типирацила	9,7	4,0 против 2,5	не определено

имели значительно более длительную ВБП (4,0 против 1,9 месяцев), чем пациенты с мутантным RAS (12 человек). Аналогичная тенденция наблюдалась и в отношении ОВ (12,5 против 5,2 месяцев) [22]. Несмотря на небольшое число включенных пациентов протокол CRICKET продемонстрировал возможную эффективность повторного применения анти-EGFR агентов в молекулярно-отобранной посредством жидкостной биопсии популяции.

Множество последующих исследований данной стратегии (табл. 1) продемонстрировали хорошую переносимость и эффективность повторного назначения ингибиторов эпидермального фактора роста, а также подтвердили необходимость определения мутационного статуса посредством анализа цоДНК. Оптимальный интервал между первоначальным введением и повторным началом терапии анти-EGFR агентами остается неясным, однако на основании

имеющихся данных адекватным считается перерыв в лечении не менее четырех месяцев [23, 81, 86–89].

Феномен NeoRAS wild-type

Согласно данным статистики для 40–55% пациентов с мКРР при начальной постановке диагноза характерно наличие мутаций RAS, что определяет неэффективность назначения анти-EGFR агентов. Однако за последнее время все больше данных свидетельствует о том, что на фоне проводимого лечения возможен переход от мутантного RAS к RAS дикого типа [25, 90, 91]. Этот феномен получил название NeoRAS wild-type, механизм которого в настоящий момент остается неясным. Существует предположение, что эволюционное давление, оказываемое микроокружением опухоли и реализуемым лечением, приводит к изменению количественного уровня RAS-мутантных клонов вследствие их отрицательной селекции (рис. 2) [92].

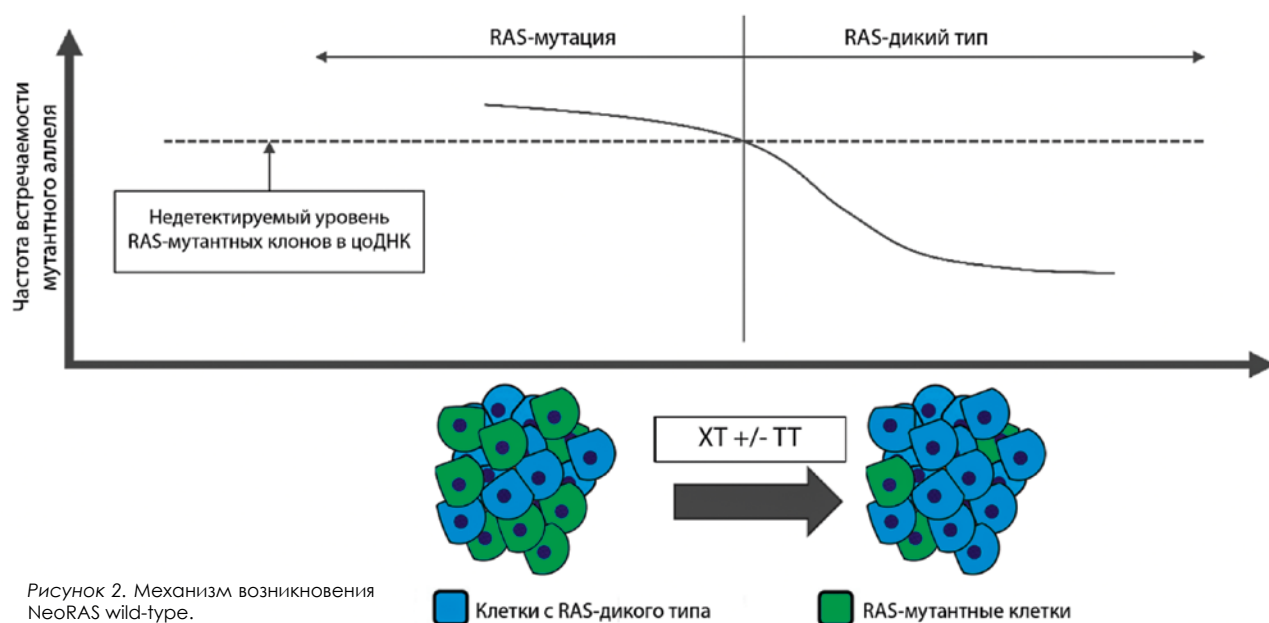


Рисунок 2. Механизм возникновения NeoRAS wild-type.

В процессе лечения мКРП частота мутантного аллеля RAS становится ниже порога обнаружения, в результате чего формируется феномен NeoRAS wild-type (рис. 2).

Первоначально конверсия мутаций RAS была описана при гематологических злокачественных новообразованиях, в основном при лейкозах у детей, при этом мутации RAS присутствовали при постановке диагноза, но часто исчезали при рецидиве, что подтверждает гипотезу о негативном отборе онкогенных драйверов [93]. Согласно данным различных исследований частота встречаемости NeoRAS wild-type при мКРП оценивается в 5–69% [92, 94–96]. Подобная вариативность может быть обусловлена такими факторами как малый размер выборки и отсутствие консенсуса по определению данного феномена [46]. Принятие решения о наличии NeoRAS wild-type на основе анализа цоДНК ограничено ложноотрицательными результатами. Влияние данного фактора возможно минимизировать путем использования NGS и анализа метилирования [94]. Обнаружение при помощи секвенирования нового поколения хотя бы одной соматической мутации, кроме RAS, является показателем достаточного количества цоДНК в образце, а анализ метилирования WIF1-промотора (Wnt inhibitory factor 1 – белок, препятствующий активации сигнального пути Wnt) представляет собой характерный биомаркер КРП, также применяемый для определения уровня цоДНК, присутствующей в плазме [91]. Так согласно данным работы Nicolazzo и соавт., среди 18 пациентов с отсутствием мутаций RAS/BRAF в образцах цоДНК плазмы «истинная» конверсия RAS произошла у 15 пациентов, что было подтверждено с помощью NGS и анализа метилирования [97]. Открытие данного феномена способствовало возникновению концепции, что у таких пациентов возможной опцией является назначение ингибиторов эпидермального фактора роста [46]. В пилотном исследовании, проведенном Bouchahda и соавт., оценивалась эффективность и безопасность применения анти-EGFR ТТ в сочетании с химиотерапией по схеме FOLFIRI у пациентов с мКРП NeoRAS wild-type. Всего в протоколе участвовало 16 пациентов, из которых все ранее получали ХТ, включая фторурацил (100% больных), иринотекан (69%), оксалиплатин (81%), бевацизумаб (69%) и афлиберцепт (56%). По результатам мутационного анализа цоДНК было выделено две группы: в 1 группу вошли 7 пациентов (44%), у которых отмечалось наличие мутации RAS, группу 2 составили девять пациентов (56%) с RAS wild-type. Частота объективного ответа во второй группе составила 55,6% по сравнению с 42,9% в первой группе, ВБП – 13,3 месяца против 3,5 месяцев соответственно [98]. В настоящий момент продолжаются многочисленные клинические исследования в отношении лечения пациентов с мКРП NeoRAS wild-type [25, 46].

Появляется все больше данных свидетельствующих, что при колоректальном раке переход от RAS-мутантного статуса к RAS дикого типа является частым событием, вопрос о том, может ли этот переход быть обусловлен конкретным лечением, до сих пор остается открытым [25, 99, 100]. Nicolazzo и соавт. в своей работе сравнили влияние бевацизумаба на скорость конверсии RAS в дикий тип. Всего в исследование было включено 72 пациента с мКРП, ранее не получавших лечения, с наличием RAS/BRAF мутации, конкордантных в первичной опухолевой ткани и образцах плазмы на момент постановки диагноза. Количество больных с первичной опухолью в левой

половине толстой кишки составило 48, из них 20 локализовались в прямой кишке. Пациенты получали химиотерапию первой линии по схеме FOLFIRI, FOLFOX, FOLFOXIRI или 5-фторурацилом (5-FU) с (50 пациентов) или без добавления (22 пациента) бевацизумаба. В общей популяции у 29 пациентов (40%) мутационный статус RAS в последующем не изменился, а конверсия RAS в дикий тип наблюдалась в 43 случаях (60%). При исчезновении мутации RAS в плазме образцы дополнительно анализировали на характерный для рака толстой кишки признак метилирования или с помощью NGS, чтобы подтвердить присутствие в кровотоке ДНК опухолевого происхождения. В 36 из 43 случаев, при которых отмечалась конверсия RAS в дикий тип, присутствие цоДНК было подтверждено с помощью NGS (27 случаев) и теста на метилирование (9 случаев), в остальных 7 случаях количество образцов плазмы было недостаточным для проведения дальнейшего анализа. Мутации RAS стали неопределяемыми через 3, 6, 9 и 12 месяцев у 37%, 32%, 21% и 10% пациентов соответственно. В группе из 22 пациентов, получавших только химиотерапию, у 2 пациентов (9%) через 6 месяцев после начала лечения в плазме крови определялась RAS дикого типа. У остальных 20 больных (91%) мутационный статус RAS не изменился. Наоборот, в группе из 50 пациентов, получавших химиотерапию в сочетании с бевацизумабом, у 41 пациента (82%) была отмечена конверсия RAS в дикий тип, а у остальных 9 больных (18%) мутационный статус не изменился. В группе с бевацизумабом, медиана ВБП была значительно выше при наличии конверсии в сравнении с сохранением RAS-мутации (9,3 против 5,9 месяцев). Данное исследование демонстрирует, что использование бевацизумаба в терапии первой линии является наиболее значимым фактором, способствующим конверсии RAS в дикий тип, причем данная конверсия происходила в разные моменты времени независимо от пола, сайта метастазирования, стороны первичной опухоли, типа мутации и клинического ответа [100]. Полученные результаты также согласуются с работами Sunakawa (2018 г.), Raimondi (2019 г.), Garcia de Santiago (2021 г.) [92, 101, 102]. Однако небольшое количество пациентов в данных исследованиях и отсутствие сравнительной группы, получавшей только химиотерапию, не позволяют сделать окончательные выводы.

В настоящее время точно неизвестно, как именно бевацизумаб связан с изменением мутационного статуса RAS. Тем не менее, это, вероятно, согласуется с концепцией воздействия селективного давления, оказываемого микроокружением [100]. В частности, при колоректальном раке RAS-мутантные и с RAS дикого типа клетки всегда сосуществуют в некоем равновесии в пределах одного и того же микроокружения опухоли, конкурируя за пространство и ресурсы [103]. Специфическое селективное давление, которое внезапно изменяет опухолевое микроокружение, объясняет скорость появления и исчезновения RAS-мутантных и диких клонов в течение времени [100]. Хотя Epistolio и соавт. в своей работе предлагают рассматривать воспаление и неоангиогенез в качестве основных механизмов селективного давления, Nicolazzo предполагает, что оно может зависеть от способности бевацизумаба максимально усиливать окислительный стресс [100, 104]. В действительности несмотря на то, что опухоли, обусловленные RAS, сильно зависят от повышенной продукции активных форм кислорода (АФК), массивное внутриклеточное увеличение АФК

недостаточно эффективно утилизируется в RAS-мутантных клетках, что приводит к их селективному ферроптозу – своего рода окислительной смерти [105, 106]. Таким образом, поскольку опухолевые клетки, управляемые RAS, особенно привержены поддержанию уровня АФК в определенных пределах, которые не должны быть превышены, эффективной стратегией воздействия на RAS-мутантные клетки является их сенсibilизация к экзогенным индукторам АФК, сдвигающая окислительно-восстановительное состояние [92]. Подобная сенсibilизация лежит в основе механизма действия многих лекарственных препаратов, включая бевацизумаб [107].

Выводы

1. Последние достижения в области геномного профилирования позволили выявить основные генетические альтерации, приводящие к образованию злокачественных опухолей, и способствовали разработке персонализированных методов лечения. Однако несмотря на то, что новейшие терапевтические стратегии позволили добиться значительного прогресса в лечении пациентов с мКРР, возникающая резистентность к современным таргетным лекарственным препаратам и отсутствие прогностических биомаркеров по-прежнему остаются серьезной проблемой в условиях клинической практики.
2. Дальнейшее понимание механизмов резистентности и поиск новых биомаркеров, вероятнее всего, позволит предсказать эффективность, а, возможно, и токсичность лечения, а также разработать новые научно обоснованные лечебные подходы, расширить возможности терапии и реализовать концепцию персонализированной медицины.
3. В последние годы все большее внимание уделяется технологии жидкостной биопсии, которая лишена недостатков стандартной биопсии и позволяет отразить генетическую гетерогенность опухоли с ее изменчивостью в течение времени. Однако широкая доступность данного метода пока ограничена, преимущественно вследствие материально-технических причин, а также отсутствия убедительного сравнительного анализа различных методов ЖБ. Это делает очевидным необходимость разработки стандартизированных протоколов для сбора образцов и оценки данных.
4. С учетом ограниченности выбора, а также недостаточной эффективности схем лечения третьей и последующих линий при мКРР существует реальная необходимость разработки новых терапевтических стратегий. Одной из многообещающих концепций является rechallenge анти-EGFR моноклональных антител, которая основана на данных многочисленных исследований, демонстрирующих возможность восстановления чувствительности опухоли к ингибиторам эпидермального фактора роста вследствие клональной селекции и эволюции.
5. Недавние сообщения об открытии феномена NeoRAS wild-типе позволили расширить терапевтические возможности в лечении пациентов с мКРР при изначальном наличии RAS-мутации. Установлено, что на фоне проводимой терапии возможен переход от мутантного RAS к RAS дикого типа, вероятно, вследствие отрицательной селекции RAS-мутированных клонов путем эволюционного давления, оказываемого микроокружением опухоли и реализуемым лечением.

Список литературы / References

1. Sung H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries // *CA. Cancer J. Clin.* 2021. Vol. 71, No 3. P. 209–249.
2. Global Burden of Disease 2019 Cancer Collaboration. Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life Years for 29 Cancer Groups From 2010 to 2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 // *JAMA Oncol.* 2022. Vol. 8, No 3. P. 420–444.
3. B.V. et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development // *N. Engl. J. Med. N Engl J Med*, 1988. Vol. 319, No 9.
4. Jy B., A.T., Jo M. Exploring and modelling colon cancer inter-tumour heterogeneity: opportunities and challenges // *Oncogenesis*. Oncogenesis, 2020. Vol. 9, No 7.
5. F.D.N. et al. Precision oncology in metastatic colorectal cancer – from biology to medicine // *Nat. Rev. Clin. Oncol. Nat Rev Clin Oncol*, 2021. Vol. 18, No 8.
6. Van Cutsem E. et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer // *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 2016. Vol. 27, No 8. P. 1386–1422.
7. Martini G. et al. Resistance to anti-epidermal growth factor receptor in metastatic colorectal cancer: What does still need to be addressed? // *Cancer Treat. Rev.* 2020. Vol. 86, P. 102023.
8. Parseghian C.M. et al. Mechanisms of Innate and Acquired Resistance to Anti-EGFR Therapy: A Review of Current Knowledge with a Focus on Rechallenge Therapies // *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 2019. Vol. 25, No 23. P. 6899–6908.
9. Van Cutsem E. et al. Fluorouracil, leucovorin, and irinotecan plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer // *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2015. Vol. 33, No 7. P. 692–700.
10. Ciardiello F. et al. Clinical management of metastatic colorectal cancer in the era of precision medicine // *CA. Cancer J. Clin.* 2022. Vol. 72, No 4. P. 372–401.
11. Arnold D. et al. Prognostic and predictive value of primary tumour side in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy and EGFR directed antibodies in six randomized trials // *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 2017. Vol. 28, No 8. P. 1713–1729.
12. Wang Z.-X. et al. Chemotherapy With or Without Anti-EGFR Agents in Left- and Right-Sided Metastatic Colorectal Cancer: An Updated Meta-Analysis // *J. Natl. Compr. Canc. Netw. National Comprehensive Cancer Network*, 2019. Vol. 17, No 7. P. 805–811.
13. Sunakawa Y. et al. No benefit from the addition of anti-EGFR antibody in all right-sided metastatic colorectal cancer? // *Ann. Oncol. Elsevier*, 2017. Vol. 28, No 8. P. 2030–2031.
14. ten Hoon S. et al. Molecular subtype-specific efficacy of anti-EGFR therapy in colorectal cancer is dependent on the chemotherapy backbone: 8 // *Br. J. Cancer. Nature Publishing Group*, 2021. Vol. 125, No 8. P. 1080–1088.
15. Guinney J. et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer: 11 // *Nat. Med. Nature Publishing Group*, 2015. Vol. 21, No 11. P. 1350–1356.
16. Benson A.B. et al. Rectal Cancer, Version 2.2022. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology // *J. Natl. Compr. Canc. Netw. National Comprehensive Cancer Network*, 2022. Vol. 20, No 10. P. 1139–1167.
17. Benson A.B. et al. Colon Cancer, Version 2.2021. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology // *J. Natl. Compr. Canc. Netw. National Comprehensive Cancer Network*, 2021. Vol. 19, No 3. P. 329–359.
18. R.G. et al. Second-line angiogenesis inhibition in metastatic colorectal cancer patients: Straightforward or overcomplicated? // *Crit. Rev. Oncol. Hematol. Crit Rev Oncol Hematol*, 2016. Vol. 100.
19. Федянин М.Ю. et al. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака ободочной кишки, ректосигмоидального соединения и прямой кишки: 352–1 // *Злокачественные Опухоли*, 2022. Vol. 12, No 352–1. P. 401–454.
20. Fedyanin M. Yu. et al. Practical recommendations for drug treatment of cancer of the colon, rectosigmoid junction and rectum: 352–1 // *Malignant Tumors*, 2022. Vol. 12, No 352–1. P. 401–454.
21. Misale S. et al. Resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer: from heterogeneity to convergent evolution // *Cancer Discov.* 2014. Vol. 4, No 11. P. 1269–1280.
22. Santini D. et al. Cetuximab rechallenge in metastatic colorectal cancer patients: how to come away from acquired resistance? // *Ann. Oncol.* 2012. Vol. 23, No 9. P. 2313–2318.
23. Cremonini C. et al. Rechallenge for Patients With RAS and BRAF Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer With Acquired Resistance to First-Line Cetuximab and Irinotecan: A Phase 2 Single-Arm Clinical Trial // *JAMA Oncol.* 2019. Vol. 5, No 3. P. 343–350.
24. Sunakawa Y. et al. RAS Mutations in Circulating Tumor DNA and Clinical Outcomes of Rechallenge Treatment With Anti-EGFR Antibodies in Patients With Metastatic Colorectal Cancer // *JCO Precis. Oncol. Walters Kluwer*, 2020. No 4. P. 898–911.
25. Parseghian C.M. et al. Anti-EGFR-resistant clones decay exponentially after progression: implications for anti-EGFR re-challenge // *Ann. Oncol.* 2019. Vol. 30, No 2. P. 243–249.
26. Osumi H. et al. NeoRAS wild-type in metastatic colorectal cancer: Myth or truth?—Case series and review of the literature // *Eur. J. Cancer. Elsevier*, 2021. Vol. 153. P. 86–95.
27. Simanshu D.K., Missley D.V., McCormick F. RAS Proteins and Their Regulators in Human Disease // *Cell*, 2017. Vol. 170, No 1. P. 17–33.
28. Dias Carvalho P. et al. KRAS Oncogenic Signaling Extends beyond Cancer Cells to Orchestrate the Microenvironment // *Cancer Res.* 2018. Vol. 78, No 1. P. 7–14.
29. Ros J. et al. The Evolving Role of Consensus Molecular Subtypes: a Step Beyond Inpatient Selection for Treatment of Colorectal Cancer // *Curr. Treat. Options Oncol.* 2021. Vol. 22, No 12. P. 113.
30. Irahara N. et al. NRAS mutations are rare in colorectal cancer // *Diagn. Mol. Pathol. Am. J. Surg. Pathol. Part B*, 2010. Vol. 19, No 3. P. 157–163.
31. Bos J.L. et al. Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers // *Nature*, 1987. Vol. 327, No 6120. P. 293–297.
32. Cefali M. et al. Research progress on KRAS mutations in colorectal cancer // *J. Cancer Metastasis Treat. OAE Publishing Inc.*, 2021. Vol. 7. P. 26.
33. Miller M.S., Miller L.D. RAS Mutations and Oncogenesis: Not all RAS Mutations are Created Equally // *Front. Genet.* 2012. Vol. 2. P. 100.
34. Hunter J.C. et al. Biochemical and Structural Analysis of Common Cancer-Associated KRAS Mutations // *Mol. Cancer Res. MCR*, 2015. Vol. 13, No 9. P. 1325–1335.
35. Smith M.J., Neel B.G., Ikura M. NMR-based functional profiling of RASopathies and oncogenic RAS mutations // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2013. Vol. 110, No 12. P. 4574–4579.
36. Feig L.A., Cooper G.M. Relationship among guanine nucleotide exchange, GTP hydrolysis, and transforming potential of mutated ras proteins // *Mol. Cell. Biol.* 1988. Vol. 8, No 6. P. 2472–2478.
37. Janakiraman M. et al. Genomic and biological characterization of exon 4 KRAS mutations in human cancer // *Cancer Res.* 2010. Vol. 70, No 14. P. 5901–5911.
38. Cook J.H. et al. The origins and genetic interactions of KRAS mutations are allele- and tissue-specific: 1 // *Nat. Commun. Nature Publishing Group*, 2021. Vol. 12, No 1. P. 1808.
39. De Rook W. et al. Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab // *JAMA*, 2010. Vol. 304, No 16. P. 1812–1820.
40. Serebriiskii I.G. et al. Comprehensive characterization of RAS mutations in colon and rectal cancers in old and young patients // *Nat. Commun.* 2019. Vol. 10, No 1. P. 3722.
41. Goebel L. et al. KRAS G12C inhibitors in clinical trials: a short historical perspective // *RSC Med. Chem. RSC*, 2020. Vol. 11, No 7. P. 760–770.
42. Chida K. et al. The Prognostic Impact of KRAS G12C Mutation in Patients with Metastatic Colorectal Cancer: A Multicenter Retrospective Observational Study // *The Oncologist*, 2021. Vol. 26, No 10. P. 845–853.
43. Masuishi T. et al. 444TIP Trial in progress: A phase Ib study of sotorasib, a selective KRAS G12C inhibitor, in combination with panitumumab and FOLFIRI in treatment naïve and previously treated metastatic colorectal cancer (CodeBreak 101) // *Ann. Oncol. Elsevier*, 2022. Vol. 33. P. S737–S738.
44. Yaeger R. et al. Adagrasib with or without Cetuximab in Colorectal Cancer with Mutated KRAS G12C // *N. Engl. J. Med.* 2023. Vol. 388, No 1. P. 44–54.
45. Overman M.J. et al. Use of research biopsies in clinical trials: are risks and benefits adequately discussed? // *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2013. Vol. 31, No 1. P. 17–22.
46. Venesio T. et al. Liquid Biopsies for Monitoring Temporal Genomic Heterogeneity in Breast and Colon Cancers // *Pathobiology. Karger Publishers*, 2018. Vol. 85, No 1–2. P. 146–154.
47. Udagawa S. et al. Circulating Tumor DNA: The Dawn of a New Era in the Optimization of Chemotherapeutic Strategies for Metastatic Colo-Rectal Cancer Focusing on RAS Mutation: 5 // *Cancers. Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 2023. Vol. 15, No 5. P. 1473.
48. Malla M. et al. Using Circulating Tumor DNA in Colorectal Cancer: Current and Evolving Practices // *J. Clin. Oncol. Walters Kluwer*, 2022. Vol. 40, No 24. P. 2846–2857.

48. Patelli G. et al. Liquid Biopsy for Prognosis and Treatment in Metastatic Colorectal Cancer: Circulating Tumor Cells vs Circulating Tumor DNA // *Target. Oncol.* 2021. Vol. 16, № 3. P. 309–324.
49. Nagayama S. et al. Precision Medicine for Colorectal Cancer with Liquid Biopsy and Immunotherapy: 19 // *Cancers. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.* 2021. Vol. 13, № 19. P. 4803.
50. Mazouji O. et al. Updates on Clinical Use of Liquid Biopsy in Colorectal Cancer Screening, Diagnosis, Follow-Up, and Treatment Guidance // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. Vol. 9. P. 660924.
51. Mauri G. et al. Liquid biopsies to monitor and direct cancer treatment in colorectal cancer: 3 // *Br. J. Cancer. Nature Publishing Group.* 2022. Vol. 127, № 3. P. 394–407.
52. Tr A. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death // *Aust Med J.* 1869. Vol. 14. P. 146.
53. Stroun M. et al. Neoplastic Characteristics of the DNA Found in the Plasma of Cancer Patients // *Oncology. Karger Publishers.* 1989. Vol. 46, № 5. P. 318–322.
54. Diaz L.A., Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA // *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2014. Vol. 32, № 6. P. 579–586.
55. Sravegna G. et al. Integrating liquid biopsies into the management of cancer // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2017. Vol. 14, № 9. P. 531–548.
56. Downing A. et al. High hospital research participation and improved colorectal cancer survival outcomes: a population-based study // *Gut.* 2017. Vol. 66, № 1. P. 89–96.
57. Antonioff C. et al. Circulating Tumor DNA Analysis in Colorectal Cancer: From Dream to Reality // *JCO Precis. Oncol.* 2019. Vol. 3. P. 1–14.
58. Wan J.C.M. et al. ctDNA monitoring using patient-specific sequencing and integration of variant reads // *Sci. Transl. Med.* 2020. Vol. 12, № 548. P. eaaz8084.
59. Chen Q. et al. Circulating Cell-Free DNA or Circulating Tumor DNA in the Management of Ovarian and Endometrial Cancer // *OncoTargets Ther.* 2019. Vol. 12. P. 11517–11530.
60. Mouliere F., Thierry A.R. The importance of examining the proportion of circulating DNA originating from tumor, microenvironment and normal cells in colorectal cancer patients // *Expert Opin. Biol. Ther.* 2012. Vol. 12 Suppl 1. P. S209–215.
61. Leon S.A. et al. Free DNA in the Serum of Cancer Patients and the Effect of Therapy // *Cancer Res.* 1977. Vol. 37, № 3. P. 646–650.
62. Beftegowda C. et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies // *Sci. Transl. Med.* 2014. Vol. 6, № 224. P. 224a024.
63. Avanzini S. et al. A mathematical model of ctDNA shedding predicts tumor detection size // *Sci. Adv. American Association for the Advancement of Science.* 2020. Vol. 6, № 50. P. eab4308.
64. Forshaw T. et al. Noninvasive identification and monitoring of cancer mutations by targeted deep sequencing of plasma DNA // *Sci. Transl. Med.* 2012. Vol. 4, № 136. P. 136a68.
65. Buono G. et al. Circulating tumor DNA analysis in breast cancer: Is it ready for prime-time? // *Cancer Treat. Rev.* 2019. Vol. 73. P. 73–83.
66. Barlebo Ahlbom L., Østrup O. Toward liquid biopsies in cancer treatment: application of circulating tumor DNA // *APMIS Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* 2019. Vol. 127, № 5. P. 329–336.
67. Wu J. et al. Tumor circRNA in the liquid biopsies for cancer diagnosis and prognosis // *Theranostics.* 2020. Vol. 10, № 10. P. 4544–4556.
68. Osumi H. et al. Clinical utility of circulating tumor DNA for colorectal cancer // *Cancer Sci.* 2019. Vol. 110, № 4. P. 1148–1155.
69. Li H. et al. Circulating tumor DNA detection: A potential tool for colorectal cancer management (Review) // *Oncol. Lett. Spandidos Publications.* 2019. Vol. 17, № 2. P. 1409–1416.
70. Nikanjam M., Kato S., Kurzack R. Liquid biopsy: current technology and clinical applications // *J. Hematol. Oncol. J Hematol Oncol.* 2022. Vol. 15, № 1. P. 131.
71. García-Foncillas J. et al. Prospective multicenter real-world RAS mutation comparison between OncoBEAM-based liquid biopsy and tissue analysis in metastatic colorectal cancer: 12 // *Br. J. Cancer. Nature Publishing Group.* 2018. Vol. 119, № 12. P. 1464–1470.
72. Vessies D.C.L. et al. Performance of four platforms for KRAS mutation detection in plasma cell-free DNA: ddPCR, Idylla, COBAS 2480 and BEAMing // *Sci. Rep.* 2020. Vol. 10, № 1. P. 8122.
73. Garcia J. et al. Cross-platform comparison for the detection of RAS mutations in ctDNA (ddPCR Biorad detection assay, BEAMing assay, and NGS strategy) // *Oncotarget.* 2018. Vol. 9, № 30. P. 21122–21131.
74. Sravegna G. et al. How liquid biopsies can change clinical practice in oncology // *Ann. Oncol.* 2019. Vol. 30, № 10. P. 1580–1590.
75. Kamps R. et al. Next-Generation Sequencing in Oncology: Genetic Diagnosis, Risk Prediction and Cancer Classification: 2 // *Int. J. Mol. Sci. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.* 2017. Vol. 18, № 2. P. 308.
76. Bennoun J. et al. Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): a randomised phase 3 trial // *Lancet Oncol.* 2013. Vol. 14, № 1. P. 29–37.
77. Ciardiello D. et al. Pretreatment Plasma Circulating Tumor DNA RAS/BRAF Mutational Status in Refractory Metastatic Colorectal Cancer Patients Who Are Candidates for Anti-EGFR Rechallenge Therapy: A Pooled Analysis of the CAVE and VELO Clinical Trials: 7 // *Cancers. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.* 2023. Vol. 15, № 7. P. 2117.
78. Grothey A. et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial // *The Lancet.* 2013. Vol. 381, № 9863. P. 303–312.
79. Mayer R.J. et al. Randomized Trial of TAS-102 for Refractory Metastatic Colorectal Cancer // *N. Engl. J. Med. Massachusetts Medical Society.* 2015. Vol. 372, № 20. P. 1909–1919.
80. Li J. et al. Regorafenib plus best supportive care versus placebo plus best supportive care in Asian patients with previously treated metastatic colorectal cancer (CONCUR): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial // *Lancet Oncol.* 2015. Vol. 16, № 6. P. 619–629.
81. Ciardiello D. et al. Biomarker-Guided Anti-EGFR Rechallenge Therapy in Metastatic Colorectal Cancer: 8 // *Cancers. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.* 2021. Vol. 13, № 8. P. 1941.
82. Avallone A. et al. Randomized intermittent or continuous panitumumab plus FOLFIRI (FOLFIRI/PAN) for first-line treatment of patients (pts) with RAS/BRAF wild-type (wt) metastatic colorectal cancer (mCRC): The IMPROVE study. // *J. Clin. Oncol. Wolters Kluwer.* 2022. Vol. 40, № 16, suppl. P. 3503–3503.
83. Misale S. et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer: 7404 // *Nature. Nature Publishing Group.* 2012. Vol. 486, № 7404. P. 532–536.
84. Diaz Jr L.A. et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers: 7404 // *Nature. Nature Publishing Group.* 2012. Vol. 486, № 7404. P. 537–540.
85. Cremolini C. et al. Rechallenge with anti-EGFR therapy to extend the continuum of care in patients with metastatic colorectal cancer // *Front. Oncol.* 2023. Vol. 12.
86. Osawa H. et al. Phase II study of cetuximab rechallenge in patients with ras wild-type metastatic colorectal cancer: E-rechallenge trial // *Ann. Oncol. Elsevier.* 2018. Vol. 29. P. viii161.
87. Marlinelli E. et al. Cetuximab Rechallenge Plus Avelumab in Pretreated Patients With RAS Wild-type Metastatic Colorectal Cancer: The Phase 2 Single-Arm Clinical CAVE Trial // *JAMA Oncol.* 2021. Vol. 7, № 10. P. 1529–1535.
88. Sartore-Bianchi A. et al. Circulating tumor DNA to guide rechallenge with panitumumab in metastatic colorectal cancer: the phase 2 CHRONOS trial: 8 // *Nat. Med. Nature Publishing Group.* 2022. Vol. 28, № 8. P. 1612–1618.
89. Kagawa Y. et al. Plasma RAS dynamics and anti-EGFR rechallenge efficacy in patients with RAS/BRAF wild-type metastatic colorectal cancer: REMARRY and PURSUIT trials. // *J. Clin. Oncol. Wolters Kluwer.* 2022. Vol. 40, № 16, suppl. P. 3518–3518.
90. Sugimachi K. et al. Serial mutational tracking in surgically resected locally advanced colorectal cancer with neoadjuvant chemotherapy: 4 // *Br. J. Cancer. Nature Publishing Group.* 2018. Vol. 119, № 4. P. 419–423.
91. Klein-Scory S. et al. Evolution of RAS Mutational Status in Liquid Biopsies During First-Line Chemotherapy for Metastatic Colorectal Cancer // *Front. Oncol.* 2020. Vol. 10.
92. Raimondi C. et al. Transient Disappearance of RAS Mutant Clones in Plasma: A Counterintuitive Clinical Use of EGFR Inhibitors in RAS Mutant Metastatic Colorectal Cancer: 1 // *Cancers. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.* 2019. Vol. 11, № 1. P. 42.
93. Ma X. et al. Rise and fall of subclones from diagnosis to relapse in pediatric B-acute lymphoblastic leukaemia: 1 // *Nat. Commun. Nature Publishing Group.* 2015. Vol. 6, № 1. P. 6604.
94. Nicolazzo C. et al. Circulating Methylated DNA to Monitor the Dynamics of RAS Mutation Clearance in Plasma from Metastatic Colorectal Cancer Patients: 12 // *Cancers. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.* 2020. Vol. 12, № 12. P. 3633.
95. Moatli E. et al. Plasma clearance of RAS mutation under therapeutic pressure is a rare event in metastatic colorectal cancer // *Int. J. Cancer.* 2020. Vol. 147, № 4. P. 1185–1189.
96. Henry J. et al. NeoRAS: Incidence of RAS reversion from RAS mutated to RAS wild type. // *J. Clin. Oncol. Wolters Kluwer.* 2020. Vol. 38, № 4, suppl. P. 180–180.
97. Nicolazzo C. et al. True conversions from RAS mutant to RAS wild-type in circulating tumor DNA from metastatic colorectal cancer patients as assessed by methylation and mutational signature // *Cancer Lett.* 2021. Vol. 507. P. 89–96.
98. Bouchahda M. et al. Undetectable RAS-Mutant Clones in Plasma: Possible Implication for Anti-EGFR Therapy and Prognosis in Patients With RAS-Mutant Metastatic Colorectal Cancer // *JCO Precis. Oncol. Wolters Kluwer.* 2020. Vol. 4. P. 1070–1079.
99. Sunakawa Y. et al. Dynamic changes in RAS gene status in circulating tumour DNA: a phase II trial of first-line FOLFIRI plus bevacizumab for RAS-mutant metastatic colorectal cancer (JACCRO CC-11) // *ESMO Open.* 2022. Vol. 7, № 3. P. 100512.
100. Nicolazzo C. et al. RAS Mutation Conversion in Bevacizumab-Treated Metastatic Colorectal Cancer Patients: A Liquid Biopsy Based Study // *Cancers.* 2022. Vol. 14, № 3. P. 802.
101. Sunakawa Y. et al. Gene mutation status in circulating tumor DNA (ctDNA) and first-line FOLFIRI plus bevacizumab (bev) in metastatic colorectal cancer (mCRC) harboring RAS mutation // *Ann. Oncol. Elsevier.* 2018. Vol. 29. P. viii181–viii182.
102. De Santiago B. G. et al. RAS Mutational Status in Advanced Colorectal Adenocarcinoma Treated With Anti-angiogenics: Preliminary Experience With Liquid Biopsy // *Vivo Athens Greece.* 2021. Vol. 35, № 5. P. 2841–2844.
103. Parsons B.L., Myers M.B. Personalized cancer treatment and the myth of KRAS wild-type colon tumors // *Discov. Med.* 2013. Vol. 15, № 83. P. 259–267.
104. Epistilio S. et al. Occurrence of RAS reversion in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab // *Oncotarget.* 2021. Vol. 12, № 11. P. 1046–1056.
105. Bartolacci C. et al. Lipid Metabolism Regulates Oxidative Stress and Ferroptosis in RAS-Driven Cancers: A Perspective on Cancer Progression and Therapy // *Front. Mol. Biosci.* 2021. Vol. 8. P. 706650.
106. Lim J.K.M., Leprieve G. The impact of oncogenic RAS on redox balance and implications for cancer development: 12 // *Cell Death Dis. Nature Publishing Group.* 2019. Vol. 10, № 12. P. 1–9.
107. Xu W., Trepel J., Neckers L. Ras, ROS and proteotoxic stress: a delicate balance // *Cancer Cell.* 2011. Vol. 20, № 3. P. 281–282.

Статья поступила / Received 11.01.24
Получена после рецензирования / Revised 28.02.24
Принята в печать / Accepted 01.03.24

Сведения об авторах:

Рубан Максим Сергеевич, врач-аспирант отделения химиотерапии отдела лекарственного лечения опухолей. E-mail: ruban.m.s@yandex.ru. SPIN-код: 2319–2693. AuthorID: 1170985. ORCID: 0000–0002–1016–2009.

Болотина Лариса Владимировна, д.м.н., зав. отделением химиотерапии отдела лекарственного лечения опухолей. E-mail: lbolotina@yandex.ru. SPIN-код: 2787–5414. AuthorID: 594953. ORCID: 0000–0003–4879–2687.

Карагодина Юлия Борисовна, научный сотрудник отдела лекарственного лечения опухолей. E-mail: yuliaborisovnakaragodina@gmail.com. SPIN-код: 2409–7696. AuthorID: 1170902. ORCID: 0000–0003–3196–1368.

Дешкина Татьяна Игоревна, к.м.н., старший научный сотрудник отдела лекарственного лечения опухолей. E-mail: rew9@yandex.ru. SPIN-код: 5950–5474. AuthorID: 878173. ORCID: 0000–0002–3371–7548.

Корницкая Анна Леонидовна, к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела лекарственного лечения опухолей. E-mail: kornietskaya@mail.ru. SPIN-код: 2651–7158. AuthorID: 951395. ORCID: 0000–0003–0092–0459.

Феденко Александр Александрович, д.м.н., профессор, рук. отдела лекарственного лечения опухолей. E-mail: fedenko@eesg.ru. SPIN-код: 9847–7668. AuthorID: 823233. ORCID: 0000–0003–4927–5585.

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Москва

Автор для переписки: Рубан Максим Сергеевич. E-mail: ruban.m.s@yandex.ru

Для цитирования: Рубан М.С., Болотина Л.В., Карагодина Ю.Б., Дешкина Т.И., Корницкая А.А., Феденко А.А. Анализ циркулирующей опухолевой ДНК и новые возможности использования анти-EGFR моноклональных антител у пациентов с метастатическим колоректальным раком. Медицинский алфавит. 2024; (7): 46–54. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-7-46-54>

About authors

Ruban Maxim S., postgraduate student at Dept of Chemotherapy, Systemic Treatment of Solid Tumors Dept. E-mail: ruban.m.s@yandex.ru. SPIN- code: 2319–2693. AuthorID: 1170985. ORCID: 0000–0002–1016–2009.

Bolotina Larisa V., DM Sci (habil.), head of the chemotherapy Dept, Systemic Treatment of Solid Tumors Dept. E-mail: lbolotina@yandex.ru. SPIN-code: 2787–5414. AuthorID: 594953. ORCID: 0000–0003–4879–2687.

Karagodina Yulia B., researcher at Systemic Treatment of Solid Tumors Dept. E-mail: yuliaborisovnakaragodina@gmail.com SPIN-code: 2409–7696. AuthorID: 1170902. ORCID: 0000–0003–3196–1368

Deshkina Tatyana I., PhD Med, senior researcher at Systemic Treatment of Solid Tumors Dept. E-mail: rew9@yandex.ru. SPIN: 5950–5474. AuthorID: 878173. ORCID: 0000–0002–3371–7548.

Kornietskaya Anna L., PhD Med, leading researcher at Systemic Treatment of Solid Tumors Dept. E-mail: kornietskaya@mail.ru. SPIN-code: 2651–7158. AuthorID: 951395. ORCID: 0000–0003–0092–0459.

Fedenko Alexander A., DM Sci (habil.), professor, head of Systemic Treatment of Solid Tumors Dept. E-mail: fedenko@eesg.ru. SPIN-code: 9847–7668. AuthorID: 823233. ORCID: 0000–0003–4927–5585.

Moscow Research Institute n.a. P. A. Herzen – a Branch of the National Medical Research Centre of Radiology, Moscow, Russia

Corresponding author: Ruban Maxim S. E-mail: ruban.m.s@yandex.ru

For citation: Ruban M.S., Bolotina L.V., Karagodina Y.B., Deshkina T.I., Kornietskaya A.L., Fedenko A.A. Circulating tumour DNA analysis and new uses of anti-EGFR monoclonal antibodies in patients with metastatic colorectal cancer. Medical alphabet. 2024; (7): 46–54. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-7-46-54>

