
ОБЗОРЫ

УДК: 616-006-07-08:576.3:577.21:615.277.3

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ДЛЯ НАЗНАЧЕНИЯ ТАРГЕТНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ОНКОЛОГИИ

П.А. Гервас¹, Н.В. Литвяков^{1,4}, Н.О. Попова¹, А.Ю. Добродеев¹,
А.С. Тарасова¹, Е.Л. Юмов¹, Ф.Г. Иванова², О.В. Черемисина¹, С.Г. Афанасьев¹,
В.Е. Гольдберг¹, Н.В. Чердынцева^{1,3,4}

ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск¹

ГБУ РС(Я) «Якутский республиканский онкологический диспансер», г. Якутск²

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Томск³

Томский государственный университет, г. Томск⁴

634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5,

e-mail: nvch@oncology.tomsk.ru¹

В последнее десятилетие молекулярно-нацеленная, или таргетная, терапия заняла доминирующее место в онкологии. В качестве основных мишеней могут выступать многочисленные элементы сигнальных путей, связанные с регуляцией клеточного цикла и апоптоза, нарушение которых ассоциировано со злокачественным ростом. Одной из мишеней выступает рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), активация которого происходит при раке лёгкого, колоректальном раке, плоскоклеточном раке головы и шеи, раке молочной железы, меланоме и др. Для блокирования EGFR-опосредованного онкогенного сигнального пути созданы низкомолекулярные тирозинкиназные ингибиторы, пептид-ассоциированные цитотоксины и моноклональные антиEGFR антитела. Однако в ряде исследований (FLEX, SATURN, INTEREST, IPASS) было показано, что клиническая эффективность применения таргетных препаратов оказалась ниже ожидаемой, в первую очередь, не произошло увеличения такого показателя, как время до прогрессирования опухоли. Причиной этого несоответствия может быть отсутствие селекции больных с учетом дополнительных молекулярных маркеров чувствительности и/или резистентности в результате мутаций или генетического полиморфизма. Ведущая роль в несовпадении реального и ожидаемого эффекта таргетных препаратов отводится феномену внутриопухолевой гетерогенности, т.е. сосуществованию в пределах одной опухоли клеток с различными биологическими свойствами, которые обусловлены генетическими, эпигенетическими, фенотипическими особенностями опухолевых клонов. Для повышения эффективности таргетной терапии необходим поиск новых драйверных мишеней и создание препаратов, направленных против них, а также разработка мультитаргетного подхода. Кроме того, чрезвычайно важным является вопрос об использовании генетического тестирования для мониторинга эффективности проводимого лечения, поскольку терапия сама по себе служит мощным фактором клональной эволюции, приводящей к появлению резистентных клонов опухолевых клеток.

Ключевые слова: рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), молекулярное тестирование, таргетная терапия, внутриопухолевая гетерогенность.

PROBLEM AND PERSPECTIVE TO IMPROVE MOLECULAR TESTING TO CHOOSE APPROPRIATE TARGET THERAPY

P.A. Gervas¹, N.V. Litviakov^{1,4}, N.O. Popova¹, A.Yu. Dobrodeev¹, A.S. Tarasova¹, E.L. Yumov¹, F.G. Ivanova², O.V. Cheremisina¹,
S.G. Afanasyev¹, V.E. Goldberg¹, N.V. Cherdyntseva^{1,3,4}

Cancer Research Institute, Siberian Branch of the RAMS, Tomsk¹

Yakutsk Republic Oncologic Dispensary, Yakutsk, Sakha Republic²

Siberian State Medical University, Tomsk³

National Research Tomsk State University, Tomsk⁴

5, Kooperativny Street, 63405-Tomsk, Russia, e-mail: nvch@oncology.tomsk.ru¹

In the last decade, molecularly-targeted therapy is the most intensively developing treatment modalities in oncology. The main targets for this therapy are many elements of apoptosis signaling pathways and cell cycle regulation, the damage of which is associated with a malignant growth. One of the available molecular targets is the epidermal growth factor receptor (EGFR), which activation occurs in lung cancer, colorectal cancer, squamous cell carcinoma of the head and neck, breast cancer, melanomas, etc. To block oncogenic EGFR signaling, target drug as small molecule tyrosine kinase inhibitors, peptide associated cytotoxins and antiEGFR monoclonal antibodies were created. However, there are a number of studies (FLEX, SATURN, INTEREST, IPASS), where the expected and observed clinical cure rates of target drugs are not the same, including primary goal - increasing time to tumor progression. As the cause of inconsistency of treatment results may be lack the selection of patients with the additional molecular damages (mutations or genetic polymorphisms), providing the sensitivity and /or resistance to therapeutic agent. The most important reason for discrepancy between the real and the expected treatment effect of target drugs is the phenomenon of intratumoral heterogeneity, that is manifested as coexist of cells with different biological properties, due to genetic, epigenetic, phenotypic peculiarities of tumor clones within the tumor. Search for new driver targets and the creation of drugs directed against them, development of multitarget approach are perspective to improve the effectiveness of targeted therapy. In addition, it is important to use molecular testing to monitor the treatment efficacy, because therapy can drive the tumor clonal evolution, leading to the emergence of resistant cell clones.

Key words: epidermal growth factor receptor (EGFR), molecular testing, target therapy, intratumor heterogeneity.

В последнее десятилетие молекулярно-нацеленная, или таргетная, терапия занимает доминирующее место в мировых исследованиях в области онкологии [5, 18, 25, 26, 34, 40]. Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США FDA (Food and Drug Administration, USA) одобрено более 40 таргетных препаратов (<http://nci.org.au/>). Новые препараты ежегодно изучаются в сотнях доклинических и клинических программ. Апробируются различные схемы, в которых таргетные препараты назначаются в монорежиме, в комбинациях друг с другом, в сочетании с химиопрепаратами. Таргетная терапия, по сравнению с конвенциональной химиотерапией, имеет ряд преимуществ: индивидуализация назначения, более низкая токсичность, таблетированные формы большинства препаратов исключают необходимость госпитализации и позволяют больным радикально не менять образ жизни. Использование таргетных препаратов позволяет улучшить клиническую эффективность лечения в целевых группах, а также снизить его себестоимость за счет отказа от заведомо неэффективных вмешательств [23, 24, 27, 29].

В настоящее время на территории РФ под патронажем общества химиотерапевтов RUSSCO осуществляется программа «Совершенствование молекулярно-генетической диагностики в РФ» для назначения таргетных препаратов, которая предусматривает создание и развитие сети лабораторий молекулярной диагностики по всей территории России. Любой врач-онколог, желающий выполнить тест на мутацию EGFR/RAS/ALK,

должен заполнить анкету и зарегистрировать заявку на сайте www.cancergenome.ru или по телефону «горячей» линии. Отправка материала, тест на мутацию и доставка ответа осуществляются бесплатно. Благодаря действующей программе при наличии соответствующей мутации врач может персонализированно назначить пациенту лечение таргетным препаратом.

Сигнальный путь эпидермального фактора роста EGFR как мишень для таргетной терапии

В качестве основных мишеней целенаправленной терапии могут выступать многочисленные элементы сигнальных путей, связанные с регуляцией клеточного цикла и апоптоза, нарушение которых ассоциировано со злокачественным ростом. Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), или HER1, – трансмембранный гликопротеин с молекулярной массой 170 kD, обладающий тирозинкиназной активностью, является наиболее хорошо изученной мишенью. EGFR экспрессируется на поверхности как нормальных, так и трансформированных эпителиальных клеток и участвует в регуляции клеточного роста и дифференцировки. EGFR состоит из трех участков: внеклеточного лиганд-связывающего домена, трансмембранного гидрофобного участка и внутриклеточного тирозинкиназного домена. В роли лигандов выступают экскретируемые нормальными и/или опухолевыми клетками ростовые факторы EGF (epidermal growth factor) и TGF-a (transforming growth factor-a), которые аутокринным и/или паракринным путем регулируют активность рецептора. Активация

EGFR происходит после связывания одного из специфических лигандов с внеклеточным доменом, последовательных конформационных изменений в виде гомо- или гетеродимеризации рецептора и реакции фосфорилирования тирозиновых остатков внутриклеточного домена, что приводит к значительному усилению внутриклеточных сигнальных импульсов. В результате всех этих взаимодействий активированная тирозинкиназа через специальные белки запускает целый каскад внутриклеточных процессов, передающих импульс к ядру клетки, тем самым инициируя клеточную пролиферацию и ряд других биологических эффектов, ответственных за опухолевую прогрессию: адгезию и инвазию трансформированных клеток, включение антиапоптотических механизмов. Более того, лиганды EGFR – TGF-а и EGF могут индуцировать процессы опухолевого ангиогенеза за счет гиперэкспрессии васкулярного эндотелиального фактора роста (VEGF, vascular endothelium growth factor) [11, 16]. Основные механизмы активации EGFR-зависимых сигнальных путей в опухолевых клетках обеспечиваются: 1) мутацией тирозинкиназного домена гена EGFR и, как следствие этого, его аутоактивацией при отсутствии факторов роста, приводящей к неконтролируемой пролиферации; 2) гиперэкспрессией EGFR; 3) избыточной продукцией факторов роста – лигандов EGFR (TGF-а, EGF) [7].

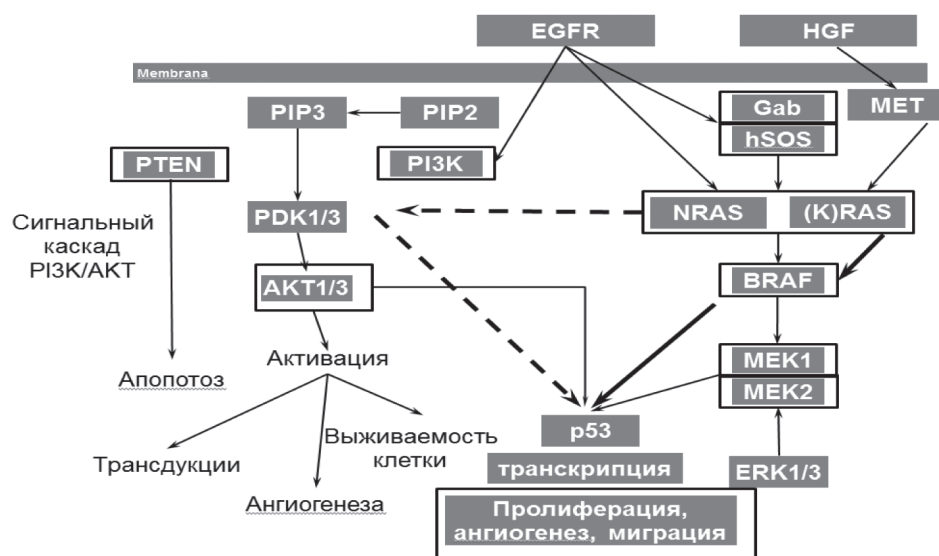
EGFR активирован во многих опухолях человека: раке лёгкого, колоректальном раке, плоскоклеточном раке головы и шеи, раке молочной железы, меланомах и др. Существует несколько вариантов блокирования онкогенного эффекта, реализуемого через активированный EGFR: 1) использование низкомолекулярных ингибиторов, способных воздействовать на внутриклеточный, несущий мутацию домен EGFR, и прерывать процесс тирозинкиназного фосфорилирования; 2) применение рекомбинантных пептидных лигандов EGF и/или TGF-а, конъюгированных с проникающими внутрь клетки цитотоксинами; 3) использование моноклональных антител, связывающих экстраклеточный участок рецептора или образующих неактивный комплекс с его лигандами EGF и TGF-а. В настоящее время к клиническому применению разрешены 9 ингибиторов передачи сигнала в клетки (иматиниб, сунитиниб, сорафениб, лапатиниб, gefitinib, эрлотиниб, дазатиниб, нилотиниб, пазопаниб) и 5 моноклональных антител (тра-

стузумаб, ритуксимаб, бевацизумаб, цетуксимаб, панитумумаб) [10].

Ингибиторы тирозинкиназ в лечении немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ): возможные причины резистентности

Низкомолекулярный тирозинкиназный ингибитор gefitinib (Иресса) одобрен в 2003 г. FDA для лечения химиорезистентного диссеминированного НМРЛ. Доказана эффективность назначения этого препарата при наличии у пациентов мутаций в 18–21 экзонах гена *EGFR* [12, 28]. Следует отметить, что частота активирующих мутаций *EGFR*, которые обуславливают чувствительность к ингибиторам тирозинкиназ (ИТК), существенно варьирует в разных популяциях. Так, активирующие *EGFR* мутации в европейской популяции встречаются примерно у 5–15 % пациентов с аденокарциномами, в Азии – у 40–50 % пациентов, в России этот показатель достигает 20 % [4]. Ответ на терапию gefitinibом в популяции пациентов НМРЛ с мутацией гена *EGFR* выявил невиданную ранее, практически 100 %, частоту объективных ответов, а медиана времени до прогрессирования опухоли почти вдвое превышала исторический контроль [6, 33, 35].

Большинство таргетных препаратов, применяемых в том числе при местнораспространенном и метастатическом НМРЛ, зарегистрированы на основании результатов больших рандомизированных клинических исследований III фазы. Однако существует ряд исследований (FLEX, SATURN, INTEREST, IPASS), где ожидаемые и наблюдаемые клинические показатели эффективности лечения таргетными препаратами не совпадают, включая первичную цель – увеличение времени до прогрессирования опухоли [6]. Причинами для столь различных результатов эффективности препаратов, обладающих одинаковым механизмом действия, могут быть ошибки дизайна исследований, различия в дозах назначаемых препаратов, потенциальный антагонизм с цитостатическими препаратами, также может иметь значение отсутствие селекции больных с учетом дополнительных молекулярных маркеров чувствительности в результате мутаций или генетического полиморфизма. Очевидно, сегодня найдены далеко не все биомаркеры, которые могли бы предсказать эффект от таких препаратов, и не известно, есть ли для всех (или большинства) пациентов относительно небольшая польза или

Рис. 1. Сигнальные пути гена *EGFR* (адаптировано из [34])

существенный эффект наблюдается у какой-то незначительной части больных, но он «растворяется» в общей группе.

С другой стороны, уже на начальных клинических этапах тестирования ИТК многими исследователями было отмечено, что развитие выраженного эффекта при НМРЛ наиболее вероятно у женщин, лиц азиатской расы, больных с опухолью железистого и, в частности, бронхоалоальвеолярного строения, а также никогда не куривших пациентов [2]. Следовательно, на основании более чем 10-летнего изучения особенностей НМРЛ с мутацией *EGFR* в настоящее время можно говорить о необходимости изучения клинической эффективности назначения таргетных препаратов с учетом дополнительных маркеров чувствительности (резистентности), расовой принадлежности пациентов, включенных в исследование. Отсутствие эффекта ИТК при наличии целевой мутации рецептора *EGFR* может быть обусловлено тем, что клеточные сигнальные пути могут быть активированы не только вследствие мутации в тирозинкиназном домене соответствующего рецептора, но и включения сигнальных путей в результате повреждения других участников внутриклеточного каскада. Чаще всего это происходит в результате мутаций онкогенов, кодирующих или регулирующих соответствующие элементы киназных каскадов: фосфатидилинозит-3-киназу (PI3K), *gas*-белок, *gaf*-киназу, митогенактивированную

протеинкиназу (MAPK), PTEN (рис. 1). Вполне логично, что сигнальные пути, стимулированные таким образом, не поддаются коррекции с помощью ингибиторов тирозинкиназ *EGFR*. В этих случаях для остановки или ослабления митогенного сигнала должны быть использованы ингибиторы перечисленных выше сигнальных белков. Встречаются единичные сообщения об одновременном выявлении мутации в генах *EGFR* и *KRAS*, которые ассоциируются со снижением чувствительности к ИТК *EGFR*, так как мутации гена *KRAS* запускают *EGFR*-опосредованный путь через Ras/MAPK каскад вне зависимости от наличия мутации *EGFR*, обеспечивая неконтролируемое клеточное деление (рис. 1) [11].

Амплификация гена *MET*, кодирующего рецептор фактора роста гепатоцитов (HGFR, hepatocyte growth factor receptor), ассоциируется со вторичной резистентностью к ингибиторам тирозинкиназ *EGFR*. Амплификация *MET* обнаружена в 20 % образцов опухолей легкого, резистентных к таргетной химиотерапии ИТК, причем данные по частоте ее выявления широко варьируют – от 1,4 до 21 %, в зависимости от метода определения и пороговых значений, выбранных исследователями. Амплификация *MET* выявляется при плоскоклеточном раке и аденокарциноме легкого, независимо от наличия мутаций *KRAS* и *EGFR* [2, 31]. Также могут возникать генетические нарушения, отменяющие

ответ на ИТК. Например, в ходе лечения НМРЛ гефитинибом более чем у половины пациентов регистрируется селекция клеток, содержащих вторую мутацию гена *EGFR* 20 экзона – Т790М, эта замена ассоциирована с конформационными изменениями рецептора и приводит к резистентности к терапии ИТК. Установлено, что новый необратимый ингибитор мутированного *EGFR* – Афатиниб (afatinib, Gilotrif, Tomtovok, Tovok) может проявлять активность по отношению к опухолям с мутацией Т790М [9].

Таким образом, для повышения эффективности лечения пациентов с НМРЛ необходимы поиск новых мишеней и создание направленных против них препаратов. Кроме того, чрезвычайно важным является вопрос о возможности использования генетического тестирования для мониторинга эффективности проводимой терапии, которая сама по себе служит мощным фактором клональной эволюции, приводящей к появлению резистентных клонов опухолевых клеток (новых драйверных мутаций), что может сделать необходимым назначение другого препарата [15].

Перспективы мультитаргетного подхода к терапии злокачественных новообразований

Необходимо помнить, что механизм внутриклеточной передачи сигнала – это сложный комплексный процесс, а НМРЛ является гетерогенным заболеванием со множеством молекулярных нарушений на различных уровнях сигнального пути. Все это обосновывает целесообразность клинического использования «мультитаргетного» подхода, подразумевающего одновременное назначение нескольких таргетных препаратов или применение одного препарата, действующего сразу на несколько мишеней. Так, с учетом имеющихся на данный момент знаний о патогенетически значимых нарушениях в сигнальном каскаде *EGFR* на 14-й Всемирной конференции по вопросам лечения рака легкого (ASCO, 2012) испанская группа по изучению рака легкого представила алгоритм лечения больных с НМРЛ, который может появиться в клинической практике в ближайшем будущем [22]. На первом этапе у пациента оценивается мутация гена *EGFR*, при положительном результате рекомендуются ингибиторы *EGFR* (гефитиниб или эрлотиниб), в случае отсутствия мутации *EGFR* проводится поиск транслокации *ALK* и/или мутации *KRAS*. При положительном тесте на *ALK* назначается кризо-

тиниб, при отрицательном – оценивается мутация *HER2* и при ее наличии рассматривается лечение афатинибом. При выявлении мутации *KRAS* можно рассмотреть возможность лечения ингибиторами *MEK*, а при отсутствии мутации *KRAS* оценивается мутация в гене *BRAF* с последующими рекомендациями назначения ингибиторов *RAF*.

ALK-мутация – это внутривхромосомная перестройка (транслокация) короткого плеча 2-й хромосомы, ведущая к образованию химерного онкогена *EML4/ALK*. Понимание роли *ALK*-мутации в развитии немелкоклеточного рака легкого стало одним из важнейших шагов в дальнейшей расшифровке генома этого заболевания и расширении возможностей персонализации его лечения. В ходе «Программы совершенствования молекулярно-генетической диагностики в РФ» RUSSCO предоставляется возможность выявления *ALK*-транслокации методом *FISH*-тестирования как единственным методом, одобренным FDA, Международной ассоциацией по изучению рака легкого (IASLC) и Ассоциацией молекулярных патологов (США) [39, 44].

Raf-киназа – серин-треониновая киназа, представленная тремя изоформами (*ARAF*, *BRAF*, *CRAF*), участвует в передаче сигнала от рецептора к ядру клетки по тому же сигнальному пути *ras/raf/MEK/MAPK* (рис. 1). Ген *BRAF* кодирует серин-треониновую киназу, участвующую в передаче сигналов пролиферативного каскада. В норме активация белков семейства *RAF* происходит только при поступлении к клетке сигнала к делению. Активация данного сигнального пути в трансформированных клетках наблюдается в результате мутации вышележащего *ras*-белка (*K-Ras*) либо вследствие мутации непосредственно самой *raf*-киназы (*BRAF*), которые отмечаются в небольшой подгруппе больных НМРЛ. Как правило, мутации *EGFR* и *KRAS* – взаимоисключающие события. Появление первого специфического ингибитора мутированного *BRAF* – препарата «Вемурафениб» – пробудило интерес к систематическому выявлению мутации 1799Т > А, приводящей к замене валина на глутаминовую кислоту в позиции 600 (V600E) гена *BRAF*. В дальнейшем было установлено, что до 15–20 % активирующих событий гена *BRAF* составляют точечные замены V600K, V600R, V600D и V600M [23, 30].

Таким образом, может быть выделена дополнительная популяция больных НМРЛ, в которой

целесообразно проведение терапии ингибиторами *raf*-киназы, а не ингибиторами EGFR. Это обстоятельство требует отдельных исследований для прояснения вопроса об эффективности назначения вемурафениба при вышеупомянутых нуклеотидных заменах.

Моноклональные антитела против EGFR в таргетной терапии

Другой путь активации EGFR-зависимых сигнальных путей в опухолевых клетках обусловлен гиперэкспрессией гена *EGFR* за счет амплификации его локуса. Подобная амплификация локуса *EGFR* отмечается при колоректальном раке (КРР) и плоскоклеточных опухолях головы и шеи. Гиперэкспрессия EGFR опухолевыми клетками, как правило, ассоциируется с поздними стадиями и метастатическим фенотипом заболевания и, соответственно, коррелирует с плохим прогнозом [1, 37]. Моноклональные антитела (Mab) к рецепторам EGFR-семейства блокируют рецептор, прикрепляясь к его внеклеточному домену, и конкурируют при этом с естественными лигандами – факторами роста EGF, TGF-а и др. В этих условиях стимуляции рецептора и инициации дальнейшей передачи сигнала внутрь клетки не происходит, а рецептор подвергается деградации. Цетуксимаб (Эрбитукс) – химерное моноклональное антитело, специфичное к EGFR, уже одобрено к клиническому использованию у больных метастатическим колоректальным раком (мКРР), резистентным к химиотерапии иринотеканом, а также у пациентов с опухолями головы и шеи в комбинации с лучевой терапией [4, 13]. При мКРР происходит активация EGFR-RAS/MAPK сигнального пути. В Ras-зависимом сигнальном пути ключевую роль играют белки семейства Ras.

Суперсемейство Ras включает H-Ras, K-Ras, N-Ras гомологичные белки. Прикрепленные к внутренней стороне клеточной мембраны белки Ras являются первыми членами каскада киназ, которые приводят к активации тирозинкиназных сигнальных путей с последующей транскрипцией генов. Доказано, что активация генов семейства Ras, за счет мутаций сводит на нет эффект ингибирования EGFR моноклональными антителами при терапии мКРР (рис. 1) [4, 17, 36, 43]. Мутации в гене *KRAS* в опухолях толстой кишки встречаются в 30–60 % случаев. Наиболее часто мутации *KRAS* определяются в экзоне 2, кодонах 12 и 13. Однако описаны мутации в экзоне 3, кодоне 61 и в экзоне 4, кодонах

117 и 146. Мутации в гене *NRAS* (в идентичных экзонах и кодонах) при КРР составляют до 5 %. Мутации в гене *HRAS* при аденокарциноме толстой кишки не описаны. Самым изученным биомаркером в таргетной анти-EGFR терапии пациентов с мКРР является статус мутаций кодонов 12 и 13 гена *KRAS*. Наличие мутантных аллелей гена *KRAS* является независимым предсказательным маркером эффективности терапии ингибиторами EGFR. Поэтому моноклональные антитела назначают только больным мКРР с диким типом гена *KRAS* [19, 20].

Предиктивное значение мутаций в разных генах семейства RAS неодинаково, и отсутствие результатов крупных проспективных рандомизированных исследований пока не позволяет применять дифференцированный подход при обнаружении разных видов мутаций. Так, опубликованы данные о зависимости эффективности лечения метастатического колоректального рака от статуса мутации *KRAS*. У пациентов с G13D мутацией цетуксимаб в сочетании с химиотерапией достоверно улучшал, по сравнению с химиотерапией, частоту ответов и выживаемость без прогрессирования. У пациентов с G12V и другими типами мутаций подобных отличий не выявлено [41, 42]. Влияние мутаций гена *NRAS* и *BRAF* на эффективность таргетной терапии анти-EGFR моноклональными антителами (панитумумаб) изучалось у пациентов с мКРР, и было показано их негативное влияние на результаты лечения [32, 36]. Активация мутированного пути Ras проявляется в том, что активированный K-Ras приводит к гиперпролиферации, а активированный NRAS подавляет апоптоз, что полностью нивелирует терапевтический эффект антител [32, 38].

Внутриопухолевая гетерогенность как фактор ограничения эффективности таргетной терапии

При внедрении в клиническую практику таргетной терапии считалось, что для любого таргетного агента можно будет определить мишень на опухолевых клетках конкретного больного, а наличие или отсутствие такой мишени будет четко коррелировать с клинической эффективностью, что оказалось не совсем верным. Одной из причин несовпадения реального и ожидаемого эффекта таргетных препаратов является феномен внутриопухолевой гетерогенности – сосуществование в пределах одной опухоли клеток с различными биологическими свойствами, которые обусловлены генетическими,

эпигенетическими, фенотипическими особенностями опухолевых клонов [3, 8, 15].

Внутриопухолевая гетерогенность является одной из важнейших причин, ограничивающих эффективность таргетной терапии, и оказывается главным препятствием на путях ее развития. Внутриопухолевая гетерогенность предполагает наличие клеток с уникальными геномами и разными свойствами, обеспечивающими разные потенции к прогрессированию и резистентности к терапии, в пределах одной опухоли, а также предполагает различия между клетками первичных и вторичных опухолей и обеспечивает их разную чувствительность к терапии. Отсутствие мутаций в клетках первичной опухоли не гарантирует, что их не будет в клетках метастазов. Внутриопухолевая гетерогенность является существенным фактором снижения эффективности диагностики (ввиду невозможности иметь образцы со всех участков опухоли при постановке диагноза), поэтому могут быть получены некорректные результаты молекулярного тестирования об отсутствии мутации или о наличии мутации при низкой представленности мутантных клонов в опухоли и на этом основании приняты ошибочные решения о назначении таргетной терапии [8, 14, 15]. Одной из современных методологий изучения внутриопухолевой гетерогенности является лазерная микродиссекция, позволяющая прицельно выделять из тканей морфологически различающиеся клеточные варианты, что позволяет характеризовать свойства отдельных клонов опухоли как основу внутриопухолевой гетерогенности. Сотрудники НИИ онкологии имеют многолетний опыт работы на оборудовании фирмы Carl Zeiss, Germany (лазерный микродиссектор (PALM MicroBeam), микроскопы Axio Scope A1 и Axio Star plus), что позволило получить оригинальные результаты о функционально-генетических особенностях морфологической гетерогенности опухолей, которые являются основой для разработки персонализированных подходов к диагностике и лечению [3].

Представления о феномене внутриопухолевой гетерогенности указывают на существование различных механизмов чувствительности к таргетным препаратам в различных участках опухоли, которые могут быть и не связаны с известными мутациями генов-мишеней таргетных препаратов [14, 21]. Следует особо отметить, что лекарственная терапия является одним из мощных факторов клональной

эволюции опухолей, приводящей к изменению ее популяционного состава и, соответственно, изменению чувствительности (резистентности) к назначенному таргетному препарату в процессе терапии [21, 25]. При появлении рецидивов и отдаленных метастазов молекулярное тестирование позволяет прояснить, какие мишени могут быть объектом воздействия на этапах лечения.

Поскольку развитие фундаментальных представлений о разнообразии молекулярных механизмов опухолевой прогрессии идет практически вровень с последними достижениями молекулярно-генетических технологий, для многих вновь выявленных мишеней нет стандартных методов и тест-систем детекции, поэтому необходима постоянная оптимизация технических условий и организационных алгоритмов молекулярного тестирования. В этих условиях чрезвычайно важным является контроль качества исследований лабораторий, вовлеченных в программу совершенствования молекулярной диагностики в России, который систематически проводит RUSSCO в тесном сотрудничестве с известными зарубежными специалистами.

Таким образом, очевидна потребность клинического внедрения и расширения возможностей технологии молекулярного тестирования для эффективного принятия решений о назначении молекулярно-направленной терапии онкологических больных. При этом необходима оптимизация подходов на основе учета популяционной специфики, объективных условий, связанных с наличием внутриопухолевой гетерогенности, а также организационно-технических возможностей. Все это внесет значимый вклад в совершенствование молекулярно-генетической диагностики в онкологии.

Работа поддержана грантом компании ОПТЭК № 9/2013.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артамонова Е.В. Новые возможности в лечении рака прямой кишки // Современная онкология. 2011. № 13 (3). С. 29–32.
2. Борисова Е.И., Гуторов С.Л. Рациональное лекарственное лечение немелкоклеточного рака легкого // Современная онкология. 2011. № 13 (3). С. 45–49.
3. Геращенко Т.С., Денисов Е.В., Литвяков Н.В., Завьялова М.В., Вторушин С.В., Цыганов М.М., Перельмутер В.М., Чердынцева Н.В. Внутриопухолевая гетерогенность: природа и биологическое значение // Биохимия. 2013. № 78 (11). С. 1531–1549.
4. Имяитов Е.Н. Клинико-молекулярные аспекты колоректального рака: этиопатогенез, профилактика, индивидуализация лечения // Практическая онкология. 2005. № 6 (2). С. 65–68.

5. *Имянитов Е.Н.* Молекулярная патология рака легкого: клинические аспекты // Практическая онкология. 2006. № 7 (3). С. 131–137.
6. *Моисеенко Ф.В., Имянитов Е.Н., Мацко Д.Е., Семенов И.И., Левченко Е.В., Моисеенко В.М., Проценко С.А., Чубенко В.А., Брежнев Н.В., Иевлева А.Г., Иванцов А.О., Абдулова Н.Х.* Роль gefitiniba в лечении больных немелкоклеточным раком легкого с мутацией в гене рецептора эпидермального фактора роста // Современная онкология. 2011. № 13 (3). С. 50–55.
7. *Носов Д.А.* Таргетная терапия при диссеминированном раке почки: успехи и перспективы // Практическая онкология. 2010. № 11 (3). С. 171–181.
8. *Перельмутер В.М., Завьялова М.В., Вторушин С.В., Слонимская Е.М., Савенкова О.В.* Взаимосвязь морфологической гетерогенности инфильтрирующего протокового рака молочной железы с различными формами опухолевой прогрессии // Сибирский онкологический журнал. 2007. № 3. С. 58–63.
9. *Поляков И.С., Имянитов Е.Н.* Молекулярная патология рака лёгкого: клинические аспекты // Сибирский онкологический журнал. 2013. № 6 (60). С. 48–55.
10. *Проценко С.А.* Таргетная терапия при меланоме, гастроинтестинальных стромальных опухолях, дерматофибросаркоме протуберанс // Практическая онкология. 2010. № 11 (3). С. 162–170.
11. *Снеговой А.В., Манзюк Л.В.* Значение биомаркеров для определения тактики лечения и прогноза злокачественных опухолей // Практическая онкология. 2011. № 12 (4). С. 166–170.
12. *Тюляндин С.А.* Первые результаты клинического применения ингибиторов передачи внутриклеточных сигналов // Практическая онкология. 2010. № 11 (3). С. 236–245.
13. *Трякин А.А.* Таргетная терапия колоректального рака, рака желудка и поджелудочной железы // Практическая онкология. 2010. № 11 (3). С. 143–150.
14. *Bedard P.L., Hansen A.R., Ratain M.J., Siu L.L.* Tumour heterogeneity in the clinic // *Nature*. 2013. 501 (7467). P. 355–364. doi: 10.1038/nature12627.
15. *Bhatia S., Frangioni J.V., Hoffman R.M., Iafrate A.J., Polyak K.* The challenges posed by cancer heterogeneity // *Nat. Biotechnol.* 2012. Vol. 30. P. 604–610. doi: 10.1038/nbt.2294
16. *Cherdyntseva N.V., Gervas P.A., Litvyakov N.V., Stakcheeva M.N., Ponomaryeva A.A., Dobrodeev A.Y., Denisov E.V., Belyavskaya V.A., Choinzonov E.L.* Age-related function of tumor suppressor gene tp53: contribution to cancer risk and progression // *Exp. Oncol.* 2010. Vol. 32 (3). P. 205–208.
17. *De Roock W., Jonker D.J., Di Nicolantonio F., Sartore-Bianchi A., Tu D., Siena S., Lamba S., Arena S., Frattini M., Piessevaux H., Van Cutsem E., O'Callaghan C.J., Khambata-Ford S., Zalberg J.R., Simes J., Karapetis C.S., Bardelli A., Tejpar S.* Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab // *JAMA*. 2010. Vol. 304 (16). P. 1812–1820. doi: 10.1001/jama.2010.1535.
18. *Duffy M.J., Crown J.* Precision treatment for cancer: role of prognostic and predictive markers // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2014. Vol. 51 (1). P. 30–45. doi: 10.3109/10408363.2013.865700.
19. *Ebos J.M., Lee C.R., Kerbel R.S.* Tumor and host-mediated pathways of resistance and disease progression in response to antiangiogenic therapy // *Clin. Cancer Res.* 2009. Vol. 15 (16). P. 5020–5025. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0095.
20. *Ellis L.M., Hicklin D.J.* Pathways mediating resistance to vascular endothelial growth factor-targeted therapy // *Clin. Cancer Res.* 2008. Vol. 14 (20). P. 6371–6375. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5287.
21. *Fisher R., Puzstai L., Swanton C.* Cancer heterogeneity: implications for targeted therapeutics // *Br. J. Cancer*. 2013. Vol. 108 (3). P. 479–485. doi: 10.1038/bjc.2012.581.
22. *Gold K.A., Wistuba I.I., Kim E.S.* New strategies in squamous cell carcinoma of the lung: identification of tumor drivers to personalize therapy // *Clin. Cancer Res.* 2012. Vol. 18 (11). P. 3002–3007. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2055.
23. *Greaves W.O., Verma S., Patel K.P., Davies M.A., Barkoh B.A., Galbincea J.M., Yao H., Lazar A.J., Aldape K.D., Medeiros L.J., Luthra R.* Frequency and spectrum of BRAF mutations in a retrospective, single-institution study of 1112 cases of melanoma // *J. Mol. Diagn.* 2013. Vol. 15 (2). P. 220–226. doi: 10.1016/j.jmoldx.2012.10.002.
24. *Gridelli C., De Marinis F., Di Maio M., Cortinovis D., Cappuzzo F., Mok T.* Gefitinib as first-line treatment for patients with advanced non-small-cell lung cancer with activating Epidermal Growth Factor Receptor mutation: implications for clinical practice and open issues // *Lung Cancer*. 2011. Vol. 72 (1). P. 3–8. doi: 10.1016/j.lungcan.2010.12.009
25. *Imyanitov E.N.* Molecular diagnosis in oncology // *Mol. Biol.* 2008. Vol. 42 (5). P. 772–785.
26. *Linardou H., Briasoulis E., Dahabreh I.J., Mountzios G., Papadimitriou C., Papadopoulos S., Bafaloukos D., Kosmidis P., Murray S.* All about KRAS for clinical oncology practice: gene profile, clinical implications and laboratory recommendations for somatic mutational testing in colorectal cancer // *Cancer Treat. Rev.* 2011. Vol. 37 (3). P. 221–233. doi: 10.1016/j.ctrv.2010.07.008
27. *Lindeman N.I., Cagle P.T., Beasley M.B., Chitale D.A., Dacic S., Giaccone G., Jenkins R.B., Kwiatkowski D.J., Saldivar J.S., Squire J., Thunnissen E., Ladanyi M.* Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology // *J. Mol. Diagn.* 2013. Vol. 15 (4). P. 415–453. doi: 10.1016/j.jmoldx.2013.03.001.
28. *Maemondo M., Inoue A., Kobayashi K., Sugawara S., Oizumi S., Isobe H., Gemma A., Harada M., Yoshizawa H., Kinoshita I., Fujita Y., Okinaga S., Hirano H., Yoshimori K., Harada T., Ogura T., Ando M., Miyazawa H., Tanaka T., Saijo Y., Hagiwara K., Morita S., Nukiwa T.* Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR // *N. Engl. J. Med.* 2010. Vol. 362 (25). P. 2380–2388. doi: 10.1056/NEJMoa0909530.
29. *Medves S., Demoulin J.B.* Tyrosine kinase gene fusions in cancer: translating mechanisms into targeted therapies // *J. Cell Mol. Med.* 2012. Vol. 16 (2). P. 237–248. doi: 10.1111/j.1582-4934.2011.01415.x.
30. *Moreau S., Saiag P., Aegerter P., Bosset D., Longvert C., Hélias-Rodzewicz Z., Marin C., Peschard F., Chagnon S., Zimmermann U., Clerici T., Emile J.F.* Prognostic value of BRAF (V600) mutations in melanoma patients after resection of metastatic lymph nodes // *Ann. Surg. Oncol.* 2012. Vol. 19 (13). P. 4314–4321. doi: 10.1245/s10434-012-2457-5
31. *Ng K.P., Hillmer A.M., Chuah C.T., Juan W.C., Ko T.K., Teo A.S., Ariyaratne P.N., Takahashi N., Sawada K., Fei Y., Soh S., Lee W.H., Huang J.W., Allen J.C. Jr., Woo X.Y., Nagarajan N., Kumar V., Thalambath A., Poh W.T., Ang A.L., Mya H.T., How G.F., Yang L.Y., Koh L.P., Chowbay B., Chang C.T., Nadarajan V.S., Chng W.J., Than H., Lim L.C., Goh Y.T., Zhang S., Poh D., Tan P., Seet J.E., Ang M.K., Chau N.M., Ng Q.S., Tan D.S., Soda M., Isobe K., Nöthen M.M., Wong T.Y., Shahab A., Ruan X., Cacheux-Rataboul V., Sung W.K., Tan E.H., Yatabe Y., Mano H., Soo R.A., Chin T.M., Lim W.T., Ruan Y., Ong S.T.* A common BIM deletion polymorphism mediates intrinsic resistance and inferior responses to tyrosine kinase inhibitors in cancer // *Nat. Med.* 2012. Vol. 18. P. 521–528. doi: 10.1038/nm.2713.
32. *Oliner K., Douillard J.Y., Siena S. et al.* Analysis of KRAS/NRAS and BRAF mutations in the phase III PRIME study of panitumumab plus FOLFOX versus FOLFIRI as first-line treatment for metastatic colorectal cancer (mCRC) // *ASCO*, 2013 (poster discussion): 3511.
33. *Pao W.* New approaches to targeted therapy in lung cancer // *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2012. Vol. 9 (2). P. 72–73. doi: 10.1513/pats.201112-054MS.
34. *Peeters M., Oliner K.S., Parker A., Siena S., Van Cutsem E., Huang J., Humblet Y., Van Laethem J.L., André T., Wizezorek J., Reese D., Patterson S.D.* Massively parallel tumor multigene sequencing to evaluate response to panitumumab in a randomized phase III study of metastatic colorectal cancer // *Clin. Cancer Res.* 2013. Vol. 19 (7). P. 1902–1912. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1913.
35. *Rosell R., Carcereny E., Gervais R., Vergnenegre A., Massuti B., Felip E., Palmero R., Garcia-Gomez R., Pallares C., Sanchez J.M., Porta R., Cobo M., Garrido P., Longo F., Moran T., Insa A., De Marinis F., Corre R., Bover I., Illiano A., Dansin E., de Castro J., Milella M., Reguart N., Altavilla G., Jimenez U., Provencio M., Moreno M.A., Terrasa J., Muñoz-Langa J., Valdivia J., Isla D., Domine M., Molinier O., Mazieres J., Baize N., Garcia-Campelo R., Robinet G., Rodriguez-Abreu*

- D., Lopez-Vivanco G., Gebbia V., Ferrera-Delgado L., Bombaron P., Bernabe R., Bearz A., Artal A., Cortesi E., Rolfo C., Sanchez-Ronco M., Drozdowskyj A., Queralt C., de Aguirre I., Ramirez J.L., Sanchez J.J., Molina M.A., Taron M., Paz-Ares L. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EORTC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial // *Lancet Oncol.* 2012. Vol. 13 (3). P. 239–246. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70393-X.
36. Roth A.D., Tejpar S., Delorenzi M., Yan P., Fiocca R., Klingbiel D., Dietrich D., Biesmans B., Bodoky G., Barone C., Aranda E., Nordlinger B., Cisar L., Labianca R., Cunningham D., Van Cutsem E., Bosman F. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial // *J. Clin. Oncol.* 2010. Vol. 28 (3). P. 466–474. doi: 10.1200/JCO.2009.23.3452.
37. Salomon D.S., Brandt R. Epidermal growth factor related peptides and their receptors in human malignancies // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 1995. Vol. 19. P. 183–232.
38. Schwartzberg L.S., Rivera F., Karthaus M. et al. A randomized phase II study of mFOLFOX6 with either panitumumab or bevacizumab as first-line treatment in patients with unresectable wild type (WT) KRAS metastatic colorectal cancer (mCRC) // *J. Clin. Oncol.* 2013. Vol. 30 (Suppl. 34). P. 446.
39. Soda M., Choi Y.L., Enomoto M., Takada S., Yamashita Y., Ishikawa S., Fujiwara S., Watanabe H., Kurashina K., Hatanaka H., Bando M., Ohno S., Ishikawa Y., Aburatani H., Niki T., Sohara Y., Sugiyama Y., Mano H. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer // *Nature.* 2007. Vol. 448 (7153). P. 561–566.
40. Tamkovic S.N., Litviakov N.V., Bryzgunova O.E., Dobrodeev A.Y., Rykova E.Y., Tuzikov S.A., Zav'jalov A.A., Vlassov V.V., Cherdynseva N.V., Laktionov P.P. Cell-surface-bound circulating DNA as a prognostic factor in lung cancer // *Ann. NY Acad. Sci.* 2008. Vol. 1137. C. 214–217. doi: 10.1196/annals.1448.042.
41. Tejpar S., Celik I., Schlichting M., Sartorius U., Bokemeyer C., Van Cutsem E. Association of KRAS G13D tumor mutations with outcome in patients with metastatic colorectal cancer treated with first-line chemotherapy with or without cetuximab // *J. Clin. Oncol.* 2012. Vol. 30 (29). P. 3570–3577. doi: 10.1200/JCO.2012.42.2592.
42. Thiel A., Heinonen M., Kantonen J., Gylling A., Lahtinen L., Korhonen M., Kytölä S., Mecklin J.P., Orpán A., Peltomäki P., Ristimäki A. BRAF mutation in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome // *Virchows Arch.* 2013. Vol. 463 (5). P. 613–621. doi: 10.1007/s00428-013-1470-9.
43. Tie J., Lipton L., Desai J., Gibbs P., Jorissen R.N., Christie M., Drummond K.J., Thomson B.N., Usatoff V., Evans P.M., Pick A.W., Knight S., Carne P.W., Berry R., Polglase A., McMurrick P., Zhao Q., Busam D., Strausberg R.L., Domingo E., Tomlinson I.P., Midgley R., Kerr D., Sieber O.M. KRAS mutation is associated with lung metastasis in patients with curatively resected colorectal cancer // *Clin. Cancer Res.* 2011. Vol. 17 (5). P. 1122–1130. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1720.
44. Zhang X., Zhang S., Yang X., Yang J., Zhou Q., Yin L., An S., Lin J., Chen S., Xie Z., Zhu M., Zhang X., Wu Y.L. Fusion of EML4 and ALK is associated with development of lung adenocarcinomas lacking EGFR and KRAS mutations and is correlated with ALK expression // *Mol. Cancer.* 2010. Vol. 13 (9). P. 188. doi: 10.1186/1476-4598-9-188.
4. Imjanitov E.N. Клинико-молекулярные аспекты колоректального рака: этиопатогенез, профилактика, индивидуализация лечения // *Prakticheskaja onkologija.* 2005. Vol. 6 (2). P. 65–68. [in Russian]
5. Imjanitov E.N. Молекулярная патология рака легкого: клинические аспекты // *Prakticheskaja onkologija.* 2006. Vol. 7 (3). P. 131–137. [in Russian]
6. Moiseenko F.V., Imjanitov E.N., Macko D.E., Semenov I.I., Levchenko E.V., Moiseenko V.M., Procenko C.A., Chubenko V.A., Brezhnev N.V., Ievleva A.G., Ivancov A.O., Abduloeva N.H. The role of gefitinib in the treatment of inoperable NSCLC carrying EGFR-mutation // *Sovremennaja onkologija.* 2011. Vol. 13 (3). P. 50–55. [in Russian]
7. Nosov D.A. Таргетная терапия при диссеминированном раке почки: успехи и перспективы // *Prakticheskaja onkologija.* 2010. Vol. 11 (3). P. 171–181. [in Russian]
8. Perel'muter V.M., Zav'jalova M.V., Vtorushin S.V., Slonimskaja E.M., Savenkova O.V. Interaction between morphologic heterogeneity of infiltrating ductal breast carcinoma and various forms of tumor progression // *Sibirskij onkologicheskij zhurnal.* 2007. № 3. P. 58–63. [in Russian]
9. Poljakov I.S., Imjanitov E.N. Molecular pathology of lung cancer: clinical aspects // *Sibirskij onkologicheskij zhurnal.* 2013. № 6. P. 48–55. [in Russian]
10. Procenko S.A. Таргетная терапия при меланоме, гастроинтестинальных стромальных опухолях, дерматофибросаркоме протуберанс // *Prakticheskaja onkologija.* 2010. Vol. 11 (3). P. 162–170. [in Russian]
11. Snegovoj A.V., Manjuk L.V. Значение биомаркеров для определения тактики лечения и прогноза злокачественных опухолей // *Prakticheskaja onkologija.* 2011. Vol. 12 (4). P. 166–170. [in Russian]
12. Tjuljandin S.A. Первые результаты клинического применения ингибиторов передачи внутриклеточных сигналов // *Prakticheskaja onkologija.* 2010. № 11 (3). C. 236–245. [in Russian]
13. Trjakin A.A. Таргетная терапия колоректального рака, рака желудка и поджелудочной железы // *Prakticheskaja onkologija.* 2010. Vol. 11 (3). P. 143–150. [in Russian]
14. Bedard P.L., Hansen A.R., Ratain M.J., Siu L.L. Tumour heterogeneity in the clinic // *Nature.* 2013. 501 (7467). P. 355–364. doi: 10.1038/nature12627.
15. Bhatia S., Frangioni J.V., Hoffman R.M., Iafrate A.J., Polyak K. The challenges posed by cancer heterogeneity // *Nat. Biotechnol.* 2012. Vol. 30. P. 604–610. doi: 10.1038/nbt.2294
16. Cherdynseva N.V., Gervas P.A., Litviakov N.V., Stakcheva M.N., Ponomaryeva A.A., Dobrodeev A.Y., Denisov E.V., Belyavskaya V.A., Choinzonov E.L. Age-related function of tumor suppressor gene tp53: contribution to cancer risk and progression // *Exp. Oncol.* 2010. Vol. 32 (3). P. 205–208.
17. De Roock W., Jonker D.J., Di Nicolantonio F., Sartore-Bianchi A., Tu D., Siena S., Lamba S., Arena S., Frattini M., Piessevaux H., Van Cutsem E., O'Callaghan C.J., Khambata-Ford S., Zalberg J.R., Simes J., Karapetis C.S., Bardelli A., Tejpar S. Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab // *JAMA.* 2010. Vol. 304 (16). P.1812–1820. doi: 10.1001/jama.2010.1535.
18. Duffy M.J., Crown J. Precision treatment for cancer: role of prognostic and predictive markers // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2014. Vol. 51 (1). P. 30–45. doi: 10.3109/10408363.2013.865700.
19. Ebos J.M., Lee C.R., Kerbel R.S. Tumor and host-mediated pathways of resistance and disease progression in response to antiangiogenic therapy // *Clin. Cancer Res.* 2009. Vol. 15 (16). P. 5020–5025. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0095.
20. Ellis L.M., Hicklin D.J. Pathways mediating resistance to vascular endothelial growth factor-targeted therapy // *Clin. Cancer Res.* 2008. Vol. 14 (20). P. 6371–6375. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5287.
21. Fisher R., Puzstai L., Swanton C. Cancer heterogeneity: implications for targeted therapeutics // *Br. J. Cancer.* 2013. Vol. 108 (3). P. 479–485. doi: 10.1038/bjc.2012.581.

Поступила 21.02.14

REFERENCES

1. Artamonova E.V. New possibilities of treatment of locally advanced rectal cancer // *Sovremennaja onkologija.* 2011. Vol. 13 (3). P. 29–34. [in Russian]
2. Borisova E.I., Gutorov S.L. Rational drug therapy of non-small cell lung cancer // *Sovremennaja onkologija.* 2011. Vol. 13 (3). P. 45–50. [in Russian]
3. Gerashchenko T.S., Denisov E.V., Litviakov N.V., Zav'jalova M.V., Vtorushin S.V., Cyganov M.M., Perel'muter V.M., Cherdynseva N.V. Intratumoral Heterogeneity: Nature and Biological Significance (review) // *Biohimija.* 2013. Vol. 78 (11). P. 1531–1549. [in Russian]

22. Gold K.A., Wistuba I.I., Kim E.S. New strategies in squamous cell carcinoma of the lung: identification of tumor drivers to personalize therapy // *Clin. Cancer Res.* 2012. Vol. 18 (11). P. 3002–3007. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2055.
23. Greaves W.O., Verma S., Patel K.P., Davies M.A., Barkoh B.A., Galbincea J.M., Yao H., Lazar A.J., Aldape K.D., Medeiros L.J., Luthra R. Frequency and spectrum of BRAF mutations in a retrospective, single-institution study of 1112 cases of melanoma // *J. Mol. Diagn.* 2013. Vol. 15 (2). P. 220–226. doi: 10.1016/j.jmoldx.2012.10.002.
24. Gridelli C., De Marinis F., Di Maio M., Cortinovis D., Cappuzzo F., Mok T. Gefitinib as first-line treatment for patients with advanced non-small-cell lung cancer with activating Epidermal Growth Factor Receptor mutation: implications for clinical practice and open issues // *Lung Cancer.* 2011. Vol. 72 (1). P. 3–8. doi: 10.1016/j.lungcan.2010.12.009
25. Imianitov E.N. Molecular diagnosis in oncology // *Mol. Biol.* 2008. Vol. 42 (5). P. 772–785.
26. Linardou H., Briasoulis E., Dahabreh I.J., Mountzios G., Papadimitriou C., Papadopoulos S., Bafaloukos D., Kosmidis P., Murray S. All about KRAS for clinical oncology practice: gene profile, clinical implications and laboratory recommendations for somatic mutational testing in colorectal cancer // *Cancer Treat. Rev.* 2011. Vol. 37 (3). P. 221–233. doi: 10.1016/j.ctrv.2010.07.008
27. Lindeman N.I., Cagle P.T., Beasley M.B., Chitale D.A., Dacic S., Giaccone G., Jenkins R.B., Kwiatkowski D.J., Saldivar J.S., Squire J., Thunnissen E., Ladanyi M. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology // *J. Mol. Diagn.* 2013. Vol. 15 (4). P. 415–453. doi: 10.1016/j.jmoldx.2013.03.001.
28. Maemondo M., Inoue A., Kobayashi K., Sugawara S., Oizumi S., Isobe H., Gemma A., Harada M., Yoshizawa H., Kinoshita I., Fujita Y., Okinaga S., Hirano H., Yoshimori K., Harada T., Ogura T., Ando M., Miyazawa H., Tanaka T., Saijo Y., Hagiwara K., Morita S., Nukiwa T. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR // *N. Engl. J. Med.* 2010. Vol. 362 (25). P. 2380–2388. doi: 10.1056/NEJMoa0909530.
29. Medves S., Demoulin J.B. Tyrosine kinase gene fusions in cancer: translating mechanisms into targeted therapies // *J. Cell Mol. Med.* 2012. Vol. 16 (2). P. 237–248. doi: 10.1111/j.1582-4934.2011.01415.x.
30. Moreau S., Saïg P., Aegerter P., Bosset D., Longvert C., Hélias-Rodzewicz Z., Marin C., Peschoud F., Chagnon S., Zimmermann U., Clerici T., Emile J.F. Prognostic value of BRAF (V600) mutations in melanoma patients after resection of metastatic lymph nodes // *Ann. Surg. Oncol.* 2012. Vol. 19 (13). P. 4314–4321. doi: 10.1245/s10434-012-2457-5
31. Ng K.P., Hillmer A.M., Chuah C.T., Juan W.C., Ko T.K., Teo A.S., Ariyaratne P.N., Takahashi N., Sawada K., Fei Y., Soh S., Lee W.H., Huang J.W., Allen J.C. Jr., Woo X.Y., Nagarajan N., Kumar V., Thalamuthu A., Poh W.T., Ang A.L., Mya H.T., How G.F., Yang L.Y., Koh L.P., Chowbay B., Chang C.T., Nadarajan V.S., Chng W.J., Than H., Lim L.C., Goh Y.T., Zhang S., Poh D., Tan P., Seet J.E., Ang M.K., Chau N.M., Ng Q.S., Tan D.S., Soda M., Isobe K., Nöthen M.M., Wong T.Y., Shahab A., Ruan X., Cacheux-Rataboul V., Sung W.K., Tan E.H., Yatabe Y., Mano H., Soo R.A., Chin T.M., Lim W.T., Ruan Y., Ong S.T. A common BIM deletion polymorphism mediates intrinsic resistance and inferior responses to tyrosine kinase inhibitors in cancer // *Nat. Med.* 2012. Vol. 18. P. 521–528. doi: 10.1038/nm.2713.
32. Oliner K., Douillard J.Y., Siena S. Analysis of KRAS/NRAS and BRAF mutations in the phase III PRIME study of panitumumab plus FOLFOX versus FOLFOX as first-line treatment for metastatic colorectal cancer (mCRC) // *ASCO*, 2013 (poster discussion): 3511.
33. Pao W. New approaches to targeted therapy in lung cancer // *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2012. Vol. 9 (2). P. 72–73. doi: 10.1513/pats.201112-054MS.
34. Peeters M., Oliner K.S., Parker A., Siena S., Van Cutsem E., Huang J., Humblet Y., Van Laethem J.L., André T., Wizezorek J., Reese D., Patterson S.D. Massively parallel tumor multigene sequencing to evaluate response to panitumumab in a randomized phase III study of metastatic colorectal cancer // *Clin. Cancer Res.* 2013. Vol. 19 (7). P. 1902–1912. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1913.
35. Rosell R., Carcereny E., Gervais R., Vergnenegre A., Massuti B., Felip E., Palmero R., Garcia-Gomez R., Pallares C., Sanchez J.M., Porta R., Cobo M., Garrido P., Longo F., Moran T., Insa A., De Marinis F., Corre R., Bover I., Illiano A., Dansin E., de Castro J., Milella M., Reguart N., Altavilla G., Jimenez U., Provencio M., Moreno M.A., Terrasa J., Muñoz-Langa J., Valdivia J., Isla D., Domine M., Molinier O., Mazieres J., Baize N., Garcia-Campelo R., Robinet G., Rodriguez-Abreu D., Lopez-Vivanco G., Gebbia V., Ferrera-Delgado L., Bombaron P., Bernabe R., Bearz A., Artal A., Cortesi E., Rolfo C., Sanchez-Ronco M., Drozdowskyj A., Queralt C., de Aguirre I., Ramirez J.L., Sanchez J.J., Molina M.A., Taron M., Paz-Ares L. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EORTC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial // *Lancet Oncol.* 2012. Vol. 13 (3). P. 239–246. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70393-X.
36. Roth A.D., Tejpar S., Delorenzi M., Yan P., Fiocca R., Klingbiel D., Dietrich D., Biesmans B., Bodoky G., Barone C., Aranda E., Nordlinger B., Cisar L., Labianca R., Cunningham D., Van Cutsem E., Bosman F. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial // *J. Clin. Oncol.* 2010. Vol. 28 (3). P. 466–474. doi: 10.1200/JCO.2009.23.3452.
37. Salomon D.S., Brandt R. Epidermal growth factor related peptides and their receptors in human malignancies // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 1995. Vol. 19. P. 183–232.
38. Schwartzberg L.S., Rivera F., Karthaus M. et al. A randomized phase II study of mFOLFOX6 with either panitumumab or bevacizumab as first-line treatment in patients with unresectable wild type (WT) KRAS metastatic colorectal cancer (mCRC) // *J. Clin. Oncol.* 2013. Vol. 30 (Suppl. 34). P. 446.
39. Soda M., Choi Y.L., Enomoto M., Takada S., Yamashita Y., Ishikawa S., Fujiwara S., Watanabe H., Kurashina K., Hatanaka H., Bando M., Ohno S., Ishikawa Y., Aburatani H., Niki T., Sahara Y., Sugiyama Y., Mano H. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer // *Nature.* 2007. Vol. 448 (7153). P. 561–566.
40. Tamkovic S.N., Litviakov N.V., Bryzgunova O.E., Dobrodeev A.Y., Rykova E.Y., Tuzikov S.A., Zav'yalov A.A., Vlassov V.V., Cherdyntseva N.V., Laktionov P.P. Cell-surface-bound circulating DNA as a prognostic factor in lung cancer // *Ann. NY Acad. Sci.* 2008. Vol. 1137. C. 214–217. doi: 10.1196/annals.1448.042.
41. Tejpar S., Celik I., Schlichting M., Sartorius U., Bokemeyer C., Van Cutsem E. Association of KRAS G13D tumor mutations with outcome in patients with metastatic colorectal cancer treated with first-line chemotherapy with or without cetuximab // *J. Clin. Oncol.* 2012. Vol. 30 (29). P. 3570–3577. doi: 10.1200/JCO.2012.42.2592.
42. Thiel A., Heinonen M., Kantonen J., Gylling A., Lahtinen L., Korhonen M., Kytölä S., Mecklin J.P., Orpana A., Peltomäki P., Ristimäki A. BRAF mutation in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome // *Virchows Arch.* 2013. Vol. 463 (5). P. 613–621. doi: 10.1007/s00428-013-1470-9.
43. Tie J., Lipton L., Desai J., Gibbs P., Jorissen R.N., Christie M., Drummond K.J., Thomson B.N., Usatoff V., Evans P.M., Pick A.W., Knight S., Carne P.W., Berry R., Polglase A., McMurrick P., Zhao Q., Busam D., Strausberg R.L., Domingo E., Tomlinson I.P., Midgley R., Kerr D., Sieber O.M. KRAS mutation is associated with lung metastasis in patients with curatively resected colorectal cancer // *Clin. Cancer Res.* 2011. Vol. 17 (5). P. 1122–1130. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1720.
44. Zhang X., Zhang S., Yang X., Yang J., Zhou Q., Yin L., An S., Lin J., Chen S., Xie Z., Zhu M., Zhang X., Wu Y.L. Fusion of EML4 and ALK is associated with development of lung adenocarcinomas lacking EGFR and KRAS mutations and is correlated with ALK expression // *Mol. Cancer.* 2010. Vol. 13 (9). P. 188. doi: 10.1186/1476-4598-9-188.