



Обзор

Молекулярно-генетическое тестирование рака толстой кишки: клинические аспекты

Мартьянов А.С.¹ • Кулигина Е.Ш.¹ • Романько А.А.^{1,2} • Имянитов Е.Н.^{1,2}

Мартьянов Александр Сергеевич – аспирант, научная лаборатория молекулярной онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7690-8328>. E-mail: aleksandr.s.martianov@gmail.com

Кулигина Екатерина Шотовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр., научная лаборатория молекулярной онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2396-6540>

✉ 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68, Российская Федерация. Тел.: +7 (812) 439 95 28. E-mail: kate.kuligina@gmail.com

Романько Александр Андреевич – лаборант-исследователь, научная лаборатория молекулярной онкологии¹; аспирант, медицинский лаборант, кафедра общей и молекулярной медицинской генетики²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6549-8378>. E-mail: romanko.aleksandr.a@gmail.com

Имянитов Евгений Наумович – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, заведующий научным отделом биологии опухолевого роста¹; заведующий кафедрой общей и молекулярной медицинской генетики²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>. E-mail: evgeny@imyanyitov.spb.ru

Молекулярно-генетическая диагностика – неотъемлемый элемент планирования лечения пациентов с раком толстой кишки (РТК). Выбор системной терапии при РТК невозможен без молекулярного тестирования опухоли. Так, оценка статуса генов *KRAS* и *NRAS* обязательна при рассмотрении вопроса о назначении анти-EGFR терапии. Опухоли с мутацией *BRAF* V600E характеризуются агрессивным поведением, необходимостью использования интенсивных режимов цитостатической терапии, а также чувствительностью к комбинированной терапии ингибиторами *BRAF* и *EGFR*. Инактивация генов системы репарации неспаренных оснований ДНК (англ. mismatch repair, MMR), гена *MUTYH* или ДНК-полимеразы эпсилон (*POLE*) приводит к чрезмерной мутационной нагрузке опухоли; такие виды РТК обладают высокой иммуногенностью и поэтому отвечают на лечение ингибиторами контрольных точек иммунного ответа. У некоторых колоректальных карцином отмечается гиперэкспрессия онкогена *HER2*, что определяет их чувствительность к соответствующей таргетной терапии. Существуют РТК с клиническими признаками наследственной предрасположенности к этому заболеванию – в таких случаях для выявления наследственных форм необходимо проведение

генетического тестирования. Сегодня молекулярная диагностика РТК претерпевает серьезные изменения в связи с повсеместным внедрением секвенирования нового поколения (англ. next-generation sequencing, NGS) и сверхчувствительных модификаций полимеразной цепной реакции (например, цифровой капельной, ddPCR). Неинвазивная жидкостная биопсия – еще одно крайне полезное нововведение, которое имеет растущее значение при скрининге РТК, контроле эффективности хирургического вмешательства и мониторинге течения заболевания.

Ключевые слова: рак толстой кишки, колоректальный рак, таргетная терапия, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *HER2*, микросателлитная нестабильность, *MUTYH*, наследственный раковый синдром

Для цитирования: Мартьянов АС, Кулигина ЕШ, Романько АА, Имянитов ЕН. Молекулярно-генетическое тестирование рака толстой кишки: клинические аспекты. Альманах клинической медицины. 2022;50. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-002.

Поступила 27.11.2021; доработана 10.01.2022; принята к публикации 31.01.2022; опубликована онлайн 17.02.2022

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2, Российская Федерация

Рак толстой кишки (РТК) занимает третье место в структуре онкологической заболеваемости: ежегодно в мире регистрируется приблизительно 1,8 млн новых случаев. Примерно половина пациентов с диагнозом РТК умирает от этого заболевания [1]. Опухоли толстой кишки принято классифицировать на правосторонние (проксимальные), поражающие слепую кишку, восходящую ободочную кишку, печеночный изгиб и поперечную ободочную кишку,

и левосторонние (дистальные), расположенные на селезеночном изгибе, нисходящей ободочной, сигмовидной и прямой кишке. Правосторонние и левосторонние РТК имеют различное эмбриологическое происхождение. Правосторонние РТК более характерны для женщин, часто дают метастазы в брюшину. Левосторонние опухоли чаще встречаются у мужчин и обычно метастазируют в печень и легкие. Разное биологическое поведение лево- и правосторонних опухолей, по крайней



мере отчасти, объясняется различиями в спектре опухоль-ассоциированных (драйверных) мутаций [2, 3].

Большинство РТК – генетически стабильные опухоли. Карциномы с высоким уровнем микросателлитной нестабильности (англ. high level microsatellite instability, MSI-H) встречаются значительно реже. Существует особая категория «гиперметилированных» РТК – такие неоплазмы характеризуются избыточным метилированием CpG-островков, расположенных, как правило, в промоторных областях генов (англ. CpG island methylator phenotype, CIMP). Некоторые классификации РТК основываются на транскрипционных профилях опухолей. К наиболее характерным молекулярным особенностям РТК относят нарушения сигнальных путей MAPK и WNT, хромосомные дисбалансы в локусах 1p, 5q, 17p, 18p, 18q, 20p и 22q, мутации в онкогенах KRAS, NRAS или BRAF, активацию ферментов PI3-киназ и повреждение гена TP53 [4–7]. Согласно данным недавних исследований, на молекулярный патогенез РТК также влияет микробиом кишечника [8, 9].

Раннее выявление колоректального рака значительно улучшает показатели продолжительности жизни пациентов [3]. К сожалению, во многих случаях первичная опухоль успевает распространить метастазы на самых ранних, не поддающихся диагностике с помощью современных методов, стадиях [10].

В данном обзоре обобщены актуальные сведения об особенностях наследственных и приобретенных РТК, которые могут быть использованы в клинической практике для индивидуализации подбора терапевтических схем. Поиск литературы велся в базе PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) по ключевым словам “colorectal cancer”, “driver mutations”, “MSI”, “predictive markers”, “hereditary mutations”, “liquid biopsy”.

Маркеры для выбора системной терапии

Анализ мутаций в генах семейства RAS для назначения анти-EGFR терапии

В большинстве РТК активирован сигнальный путь MAPK – мультифункциональный онкогенный каскад, главными компонентами которого являются рецепторные тирозинкиназы (EGFR, HER2), белки семейства Ras/Raf и MAP-киназы (MEK1/2, ERK1/2). Причиной аномальной активации MAPK-пути в ряде случаев служит гиперэкспрессия рецепторных тирозинкиназ (как правило, рецептора эпидермального фактора роста, EGFR). Полагают, что примерно треть неоплазм EGFR-зависимые. Остальные случаи вызваны либо

активацией альтернативных каскадов (например, амплификация HER2 имеет место в 2–5% РТК), либо мутационными событиями, затрагивающими гены RAS или RAF (>60% случаев РТК). Опухоли, вызванные активацией EGFR, отличаются чувствительностью к таргетной терапии антителами к EGFR – панитумумабом или цетуксимабом; напротив, пациенты с EGFR-независимыми опухолями к этим препаратам резистентны [3, 11–13].

Применение цетуксимаба и панитумумаба в сочетании со стандартными схемами цитотоксической химиотерапии может значительно улучшить исход заболевания для РТК с нормальным статусом генов RAS/RAF. Это особенно актуально для левосторонних опухолей, тогда как для правосторонних, по-видимому, эффект от применения ингибиторов EGFR менее выражен [14, 15]. В случаях резистентности к стандартной химиотерапии панитумумаб и цетуксимаб могут использоваться в режиме монотерапии. Описаны попытки применить монотерапию анти-EGFR препаратами в качестве первой линии лечения, чтобы отсрочить назначение цитотоксических препаратов, однако полученные результаты показали лишь умеренные клинические эффекты [16]. Таким образом, комбинирование анти-EGFR антител и цитотоксических препаратов в первой линии терапии у пациентов, не имеющих мутаций в генах RAS/RAF, на данный момент признается предпочтительным вариантом лечения. Этот подход оставляет возможность для повторного назначения цетуксимаба или панитумумаба на поздних этапах лечения данной категории пациентов [14, 15].

Технические нюансы молекулярно-генетического тестирования онкогенов KRAS и NRAS заслуживают отдельного обсуждения. Определение мутационного статуса генов семейства RAS имеет решающее значение для судьбы пациентов: некоторые данные указывают на то, что ошибочное назначение анти-EGFR терапии пациентам с активирующими мутациями генов RAS, которые присутствовали в опухолевой ткани, но были пропущены из-за лабораторных ошибок, может привести к ускорению роста опухоли [17]. Оба локуса – KRAS и NRAS – необходимо проверять как минимум на наличие мутаций в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146 [18], при этом каждый из этих кодонов может быть затронут несколькими различными нуклеотидными заменами. Важно, что некоторые редкие варианты не выявляются коммерческими наборами для полимеразной цепной реакции (ПЦР) [19]. В ранних клинических исследованиях для анализа экзонов 2, 3 и 4 использовалось



стандартное секвенирование ДНК, однако этот метод не позволяет добиться надежного выявления мутаций, если в образце опухоли присутствует большое количество нормальных клеток. Эти недостатки могут быть преодолены при помощи секвенирования нового поколения (англ. next-generation sequencing, NGS), которое применяет множественные прочтения к каждому анализируемому геномному фрагменту и, следовательно, выявляет единичные мутантные копии даже на фоне избытка нормальной ДНК [20]. NGS – чрезвычайно дорогостоящий метод; кроме того, для одного запуска NGS обычно требуется накопление множества образцов, что может увеличить время выполнения анализа [21].

«Классическая» модель развития РТК, предложенная в 1990 г. E.R. Fearon и В. Vogelstein, предполагает, что появление мутаций в генах *RAS* дает пролиферативное преимущество развивающемуся опухолевому клону, вследствие чего он быстро вытесняет своих предшественников с «нормальным» аллелем *RAS* и полностью заполняет опухолевую массу [22]. Обычно результаты молекулярно-генетического анализа колоректальных карцином подтверждают эту концепцию, но существуют и исключения. Так, в диагностической практике нередко встречаются случаи РТК, которые относят к *RAS*-негативным на основании стандартного ПЦР-теста, однако последующее применение ультрачувствительных методов цифровой капельной ПЦР (ddPCR) или NGS выявляет единичные *RAS*-мутантные клетки. В отношении таких неоплазм применение анти-EGFR терапии вполне эффективно, поскольку критическая масса злокачественных клеток, образующих опухоль, остается уязвимой к ингибированию EGFR [23, 24]. Подобные случаи свидетельствуют о том, что для принятия правильного клинического решения зачастую требуется количественное определение доли мутантного аллеля *RAS* в опухоли [25, 26]. Более того, обнаружено, что изначально *RAS*-негативные опухоли приобретают резистентность к ингибиторам EGFR именно из-за появления клонов с мутациями в этих генах. Одним из механизмов, способствующих приобретению неопластическими клетками активирующих замен в онкогенах *RAS*, может быть угнетение репарации ДНК вследствие подавления активности EGFR и, как следствие, ускоренное накопление соматических мутаций [27]. Оказалось, что после прекращения анти-EGFR терапии доля вновь возникших клонов с мутациями *RAS* часто снижается, а это служит основанием для повторного назначения цетуксимаба или панитумумаба [14, 15].

В совокупности эти данные говорят о том, что концепция «эволюционного» преимущества *RAS*-мутированных клеток является сильным упрощением и не всегда отражает естественную динамику развития РТК. Некоторые опухоли представляют собой пример «экосистемы», где *RAS*-мутантные клоны соседствуют со злокачественными клетками, которые отличаются нормальным статусом гена *RAS*. Сосуществование клеток с различным статусом драйверных мутаций было обнаружено и в других типах опухолей. Есть основания полагать, что эта внутриопухолевая гетерогенность не результат случайной экспансии отдельных злокачественных клонов, а фундаментальное биологическое свойство, гарантирующее пластичность опухоли и адаптацию к давлению внешних факторов [28, 29].

Мутации *BRAF*

Примерно 5–10% опухолей толстой кишки содержат активирующую мутацию V600E в онкогене *BRAF*. Киназа *BRAF* является участником сигнального каскада MAPK, поэтому возникающие в ней активирующие мутации, как и в случае с генами *RAS*, с большой вероятностью обеспечивают независимость опухоли от функционального состояния тирозинкиназы EGFR. Совокупный анализ имеющихся клинических исследований в целом подтверждает эту концепцию [30]. Вместе с тем есть некоторые, пока необъяснимые, клинические наблюдения, которые свидетельствуют о том, что добавление анти-EGFR антител к отдельным схемам химиотерапии может увеличить эффективность лечения пациентов с мутацией *BRAF* [31]. Следует отметить, что при проведении клинических испытаний с участием больных с мутациями *BRAF* возникают затруднения в плане набора достаточного числа пациентов из-за редкости этого генетического события [12, 30].

Опухоли с мутацией *BRAF* V600E отличаются агрессивным поведением и плохим прогнозом. Лечение этих РТК рекомендуется начинать с интенсивной химиотерапии в сочетании с таргетным ингибитором фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) – бевацизумабом [12, 30]. Монотерапия ингибиторами *BRAF* оказалась малоэффективной, поскольку опухоли адаптируются к этому воздействию путем активации коллатеральных путей каскада EGFR-MAPK [32]. Некоторые исследования подтвердили эффективность комбинированного применения ингибиторов EGFR и *BRAF* V600E, при этом добавление ингибитора MEK в качестве третьего препарата не привело к значимому с медицинской точки зрения улучшению



результатов лечения [33, 34]. Двойная терапия, состоящая из цетуксимаба и энкорафениба, недавно была одобрена Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (The United States Food and Drug Administration, FDA) [30].

Некоторые виды РТК содержат «необычные» мутации *BRAF*, затрагивающие кодоны 594, 596, 597 или 601 [35]. Микромутации в позициях 594 и 596 не активируют фермент, тогда как замены, затрагивающие кодоны 597 или 601, приводят к активации киназы *BRAF* [36]. Описаны случаи клинического ответа на ингибитор *BRAF*-киназы вемурафениб в опухолях с заменами в кодоне 597 [37, 38]; напротив, опухоли с мутациями в позиции 601 не являются мишенью для специфических *BRAF*-ингибиторов [39]. Анализ активирующих мутаций *BRAF* представляет собой довольно простую процедуру: как правило, его выполняют с помощью коммерческих наборов для аллель-специфической ПЦР или стандартного секвенирования ДНК по Сэнгеру.

Микросателлитная нестабильность

Некоторые РТК накапливают большое количество точечных мутаций из-за дефицита системы репарации неспаренных оснований ДНК (англ. mismatch repair, MMR). Такие опухоли содержат многочисленные генетические изменения в повторяющихся нуклеотидных последовательностях, называемых микросателлитами (например, ...AAAAAA... или ...CACACACA... и т.д.). Данная генетическая аномалия получила название микросателлитной нестабильности высокого уровня (англ. high-level microsatellite instability, MSI-H).

Исторически сложилось так, что об открытии феномена микросателлитной нестабильности одновременно сообщили несколько исследовательских групп, при этом критерии для описания этого фенотипа различались в зависимости от лаборатории. Доктор Мануэль Перучо (Manuel Perucho), чья группа, по-видимому, первой представила к публикации статью, описывающую фенотип MSI, предложил сосредоточиться на изменении длины моноклеотидных маркеров; в других работах подчеркивалась роль динуклеотидных повторов. В результате совместных усилий была разработана аналитическая ПЦР-панель Bethesda, состоящая из двух моно- и трех динуклеотидных маркеров (BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346, D17S250) [40–43]. Для данной панели была предложена трехуровневая классификация РТК: MSS («микросателлитно-стабильный» фенотип), MSI-H (неоплазмы, содержащие

изменения в большинстве анализируемых маркеров) и MSI-L (промежуточное состояние, когда изменены единичные маркеры) [41]. В дальнейшем выяснилось, что фенотип MSI-H имеет наибольшее клиническое значение и что использование моноклеотидных, но не динуклеотидных маркеров является предпочтительным для надежной дискриминации между MSI-H и MSS/MSI-L опухолями. Для практического внедрения теста оказалось немаловажным и то обстоятельство, что динуклеотидные маркеры по своей природе высокополиморфны, и поэтому необходим анализ нормальной ДНК, полученной от того же пациента, тогда как некоторые квазимонорфные моноклеотидные микросателлиты могут быть проанализированы без сравнения с контрольным образцом ДНК [44–46]. Тест на MSI-H включает в себя электрофоретическую оценку длины анализируемых маркеров – дополнительную, относительно сложную манипуляцию, проводимую после ПЦР-амплификации. К счастью, этот фенотип можно также выявить с помощью иммуногистохимического (ИГХ) окрашивания ключевых белков, участвующих в репарации неспаренных оснований ДНК. Фенотип MMR-D (англ. DNA mismatch repair (MMR) deficiency) проявляется в отсутствие экспрессии белков MLH1, MSH2, MSH6 или PMS2. Эти репарационные белки образуют гетеродимеры (MLH1/PMS2 и MSH2/MSH6), поэтому инактивация гена *MLH1* обычно приводит к одновременной потере PMS2; аналогично, инактивация *MSH2* сопровождается отсутствием окрашивания MSH6. Изолированная потеря экспрессии MSH6 и PMS2 указывает на инактивацию генов *MSH6* или *PMS2* соответственно [47]. Считается, что результаты анализа MSI-H/MMR-D с помощью ПЦР и ИГХ имеют высокую конкордантность, однако необходимо помнить, что обе процедуры подвержены ошибкам и, следовательно, необходим строгий контроль качества [48, 49]. В дополнение к ПЦР или ИГХ фенотип MSI-H/MMR-D может быть надежно выявлен с помощью NGS [43].

Открытие MSI-H первоначально рассматривалось как прогресс в фундаментальном понимании патогенеза опухолей, а клиническое применение тестирования MSI-H ограничивалось выявлением пациентов, которым требовалось генетическое тестирование по поводу синдрома Линча. Впоследствии выяснилось, что фенотип MSI-H/MMR-D связан с рядом клинически важных параметров РТК: снижением риска рецидива после операции, а также чувствительностью опухоли к ингибиторам контрольных точек иммунного



ответа. Таким образом, феномен MSI-H/MMR-D в настоящее время приобрел огромное медицинское значение, а значит, правильное использование этого теста – важнейший компонент лечения РТК [43, 47, 50].

Выраженная микросателлитная нестабильность относится к обязательным признакам наследственных РТК, возникающих у людей с синдромом Линча. Обычно это пациенты с относительно ранней манифестацией заболевания (<50 лет), имеющие семейный анамнез колоректального, эндометриального и некоторых других видов рака. Причиной MSI-H/MMR-D может также выступать соматическая инактивирующая мутация в одном из генов *MMR* (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) либо гиперметилирование промотора *MLH1* – такие РТК обычно возникают в пожилом возрасте [43, 47, 50].

В исследованиях, проведенных в западных странах, обнаружено, что фенотип MSI-H/MMR-D имеют 10–15% РТК; эти частоты могут быть значительно ниже в некоторых других выборках пациентов [51]. Данный феномен более характерен для пациентов с локализованными формами РТК по сравнению с метастатическими [43, 47, 50]. Фенотип MSI-H/MMR-D обычно коррелирует с пониженным риском рецидива у пациентов, получивших хирургическое лечение. Анализ многочисленных исследований показал, что при наличии микросателлитной нестабильности в РТК стадии II следует воздержаться от послеоперационного лекарственного лечения [43, 47, 50].

Дефицит системы MMR приводит к накоплению различных микромутаций: мутационная нагрузка опухоли (англ. tumor mutation burden, TMB) в этих новообразованиях может на два порядка превышать количество мутаций, наблюдаемых в «стабильных» опухолях. Высокий уровень TMB проявляется в обилии опухолевых антигенов (неоантигенов), что обеспечивает иммуногенность MSI-H/MMR-D опухолей и их чувствительность к иммуномодулирующим препаратам. Действительно, существует несколько клинических исследований, в которых показана высокая эффективность иммунной терапии по отношению к РТК с микросателлитной нестабильностью. В частности, ингибитор иммунных контрольных точек пембролизумаб был одобрен для лечения MSI-H/MMR-D РТК как в первой линии, так и в отношении опухолей, ранее подвергавшихся воздействию цитотоксических препаратов [52, 53]. Кроме того, лечение РТК с дефицитом системы репарации MMR, резистентных к химиотерапии, может проводиться с использованием ингибитора

PD-1 ниволумаба в качестве монотерапии или в комбинации с ингибитором CTLA-4 ипилимумабом [54].

Сочетание мутации *BRAF*V600E

и микросателлитной нестабильности

Почти половина опухолей с мутацией *BRAF*V600E, наблюдаемых у пожилых пациентов (старше 70 лет), имеют фенотип MSI-H, и наоборот – почти 50% спорадических РТК с поздним дебютом, имеющих фенотип MSI-H, содержат мутацию *BRAF*V600E [55, 56]. Закономерно предположить, что опухоли, сочетающие обе генетические аномалии, потенциально чувствительны как к ингибированию *BRAF*V600E, так и к блокаде контрольных точек иммунного ответа. На данный момент опыт лечения таких новообразований ограничивается применением только одного из этих вариантов [34, 52]. Однако уже получены доказательства перекрестного взаимодействия между путями EGFR-BRAF-MAPK и иммунными сигнальными каскадами [57]. Возможно, что комбинированное ингибирование EGFR/BRAF и контрольных точек иммунного ответа приведет к резкому улучшению результатов лечения этой категории РТК. В настоящее время проводится испытание комбинации цетуксимаба, энкорафениба и ниволумаба при колоректальном раке с сочетанием *BRAF*V600E и MSI-H (NCT04017650).

Гиперэкспрессия *HER2*

Примерно 5% РТК с *RAS/RAF* «дикого типа» обусловлены гиперактивацией онкогена *HER2*. Первоначально *HER2* изучали в качестве драйвера рака молочной железы. На примере рака этой локализации было неоднократно показано, что амплификация *HER2* почти всегда сопровождается гиперэкспрессией гена, поэтому было предложено использовать FISH и ИГХ как взаимозаменяемые тесты [58]. Между тем биология опухоли молочной железы и колоректального рака имеет некоторые различия. Оказалось, что у отдельных видов РТК есть дополнительные копии гена *HER2*, которые не приводят к повышенной продукции белка *HER2*. Эта «непродуктивная» амплификация *HER2* не является взаимоисключающей с другими активирующими генетическими событиями в сигнальном каскаде MAPK и не связана с клинической эффективностью ингибиторов *HER2* [59].

«Подлинная» активация *HER2*, которая обычно проявляется сочетанием амплификации и гиперэкспрессии *HER2*, связана с отсутствием реакции опухоли на анти-EGFR терапию. Существует несколько успешных клинических исследований,



выполненных на *HER2*-ассоциированном РТК, в которых блокада *HER2* достигалась при помощи комбинации двух анти-*HER2* препаратов. Например, A. Sartore-Bianchi и соавт. показали высокую эффективность комбинации трастузумаба и лапатиниба [60]; F. Meric-Bernstam и соавт. получили хорошие результаты применения комбинации пертузумаба и трастузумаба [59]. В настоящее время проводится ряд клинических испытаний с использованием различных новых терапевтических схем, нацеленных на инактивацию тирозинкиназы *HER2* [61, 62].

Новые молекулярные маркеры и терапевтические подходы

Более чем в половине случаев РТК встречаются мутации в онкогенах *KRAS* или *NRAS*. Этим пациентам противопоказана анти-EGFR терапия, и потому они имеют ограниченные возможности для лечения. Разработка специфических ингибиторов мутантных белков RAS очень сложна из-за их небольшого размера и высокого сродства к их ферментативному субстрату, гуанозинтрифосфату. На данный момент только ингибиторы мутантного белка *KRAS* с заменой глицина на цистеин в кодоне 12 (*KRAS* G12C) смогли выйти на заключительные фазы клинических испытаний. Мутация *KRAS* G12C встречается примерно в 15% немелкоклеточных опухолей легкого, в основном у курильщиков [63], но относительно редко при РТК. Частота этой замены среди метастатического РТК составляет около 4%, на ее долю приходится примерно 1 из 12 мутаций *KRAS* [64]. Недавнее исследование ингибитора *KRAS* G12C соторасиба (AMG 510) включало 42 пациента с РТК; у 3 (7%) пациентов наблюдался частичный ответ, а в 28 (67%) случаях зарегистрирована стабилизация заболевания [65]. Доклинические исследования показывают, что комбинированная инактивация *KRAS* G12C и EGFR может предотвратить резистентность РТК к монотерапии ингибитором *KRAS* [66].

Мутации RAS приводят к повышению активности киназы MEK, однако, вопреки ожиданиям, ингибиторы MEK не показывают значительной клинической эффективности в отношении RAS-мутированных опухолей. Некоторые данные говорят о том, что резистентность опухоли к ингибированию MEK может быть связана с особым механизмом программируемой клеточной смерти – аутофагией. Как установлено в доклинических экспериментах с участием пациентов с *KRAS*-ассоциированным раком поджелудочной железы, добавление ингибитора аутофагии

гидроксихлорохина может повысить эффективность антагонистов MEK [67, 68]. Описан случай хорошего ответа РТК, несущего мутацию *KRAS* G12D, на комбинацию биниметиниба, гидроксихлорохина и бевацизумаба [69]. С учетом того, что почти у миллиона человек в мире ежегодно развивается RAS-ассоциированный РТК, этот новый подход может оказаться крайне востребованным.

Микросателлитная нестабильность, вызванная инактивацией генов системы репарации неспаренных оснований, выступает наиболее частой причиной избыточной мутационной нагрузки опухоли и, соответственно, ее чувствительности к иммунной терапии. Существуют и другие разновидности РТК, вызванные инактивацией репарации ДНК. Например, *MUTYH*-ассоциированный РТК – редкий пример рецессивного наследственного опухолевого синдрома, который характеризуется дефицитом эксцизионной репарации оснований ДНК. Карциномы с биаллельной инактивацией гена *MUTYH* накапливают огромное количество трансверсий G:C>T:A. Эти опухоли реагируют на блокаду контрольных точек иммунного ответа [64]. У пациентов с биаллельной инактивацией гена *MUTYH* возникновение РТК происходит путем активации RAS-пути через замену *KRAS* G12C, поэтому весьма целесообразно проводить скрининг людей с *KRAS* G12C-позитивным РТК на наличие герминальных мутаций в гене *MUTYH* [64, 70].

POLE-ассоциированный РТК – еще один пример редкой разновидности неоплазм со сверхвысокой мутационной нагрузкой. Мутации в экзонуклеазном домене гена *POLE* приводят к чрезмерному количеству ошибок, возникающих при репликации ДНК. Существуют опухоли, развивающиеся вследствие наследования патогенного аллеля *POLE*, а также спорадические случаи РТК с соматической инактивацией гена *POLE*. Дефицит *POLE* связан с ответом опухоли на ингибиторы контрольных точек иммунного ответа [71, 72].

Активирующие перестройки с участием рецепторных тирозинкиназ характерны в основном для немелкоклеточных карцином легкого, а также некоторых опухолей у детей [73, 74]. Было неоднократно продемонстрировано, что активация киназ вследствие слияния генов может происходить в опухолях толстой кишки с микросателлитной нестабильностью, возникающей в результате соматического метилирования промотора гена *MLH1* [75–77]. Опухоли, несущие активирующие перестройки, реагируют на введение соответствующих таргетных препаратов [78, 79].



Наследственная предрасположенность к раку толстой кишки

Приблизительно 3% случаев РТК развиваются из-за наследственных мутаций в генах системы репарации неспаренных оснований (*MMR*). Это заболевание называется синдромом Линча и становится причиной наследственного неполипозного рака толстой кишки (ННРТК). Синдром Линча связан с наследственными патогенными вариантами, затрагивающими гены *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* или *PMS2*. Пятый ген ННРТК *EPCAM* участвует в патогенезе заболевания опосредованно, через инактивацию гена *MSH2*. Исследования наследственных детерминант ННРТК изначально были сосредоточены на анализе крупных «раковых» родословных, в этих работах пенетрантность мутаций в вышеупомянутых генах расценивалась как очень высокая. Изобретение NGS привело к повышению доступности скрининга полного спектра мутаций в генах ННРТК, были исследованы большие когорты пациентов с РТК и здоровых индивидуумов. Сегодня считается, что индивидуальный риск развития РТК у носителей наследственных вариантов в генах *MLH1* и *MSH2* находится в диапазоне от 40 до 80%. Наследование мутаций в генах *MSH6* и *PMS2* ассоциируется с 10–20% вероятностью развития РТК в течение жизни, что всего в 2–4 раза выше, чем в среднем в популяции. Вклад синдрома Линча в структуру заболеваемости РТК существенно различается в зависимости от страны [80–84].

Опухоли, ассоциированные с синдромом Линча, всегда имеют фенотип MSI. В настоящее время всем пациентам с РТК проводят тестирование на фенотип MSI-H/MMR-D; следовательно, этот анализ одновременно служит скрининговым тестом на ННРТК. При анализе наследственных вариантов в генах *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* и *EPCAM* следует рассматривать как точечные мутации (транквирующие или патогенные миссенс-мутации), так и крупные генные перестройки. Сегодня анализ генетических вариантов, ассоциированных с синдромом Линча, почти всегда проводится методом NGS [85, 86].

Зарегистрированы многочисленные случаи семейных колоректальных опухолей, не имеющих фенотип MSI-H/MMR-D и не связанных с патогенными вариантами *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* или *EPCAM*. Несмотря на интенсивные исследовательские усилия, пока доказана достоверная ассоциация с ННРТК только одного гена – *RPS20*. Наследственные мутации в гене *RPS20* встречаются исключительно редко, и их распространение ограничено определенными этническими

группами [81, 84]. Кроме того, существует ряд генов, связанных с полипозом толстой кишки и последующим развитием РТК. Доминантные мутации в гене *APC* – наиболее изученная причина этого заболевания. Другие генетические причины полипоза и РТК встречаются относительно редко и включают изменения в генах *MUTYH*, *POLE*, *POLD1*, *NTHL1*, *MSH3*, *STK11*, *SMAD4*, *PTEN*, *GERM1* и некоторых других [81–83].

Жидкостная биопсия

У многих онкологических больных в плазме крови обнаруживается бесклеточная опухолевая ДНК, что, вероятно, связано с распадом злокачественных клеток и последующим выходом ДНК в кровоток. Как показывают некоторые исследования, сверхчувствительное обнаружение мутаций в генах, характерных для РТК, может облегчить скрининг опухолей толстой кишки, особенно в сочетании с использованием других маркеров [87, 88]. Анализ циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК) может быть использован для контроля эффективности хирургического лечения опухоли. Предполагается, что пациенты, у которых не обнаруживается цоДНК после операции, имеют хороший долгосрочный прогноз и не нуждаются в адъювантной терапии, в то время как пациенты с остаточной цоДНК в кровотоке нуждаются в лекарственном лечении для снижения риска рецидива заболевания [89–91]. Послеоперационный мониторинг на наличие специфических для РТК мутаций может способствовать раннему выявлению рецидива опухоли [92]. Успешная лекарственная терапия сопровождается быстрым снижением концентрации цоДНК, а сохранение стабильного уровня цоДНК свидетельствует об отсутствии эффективности лечения [93]. Жидкостная биопсия позволяет обнаружить вторичные мутации, которые связаны с приобретенной устойчивостью опухоли к терапии [94]. Исчезновение этих «циркулирующих» мутаций из крови дает основание для повторного применения того же таргетного препарата [95]. Различные варианты применения анализа цоДНК стали объектом изучения во многих текущих клинических испытаниях [96].

Заключение

Рак толстой кишки был первым видом рака, молекулярное тестирование которого стало обязательным компонентом терапевтических решений. Действительно, оценка мутационного статуса *KRAS* была включена в протоколы назначения панитумумаба и цетуксимаба уже в 2009 г., то есть за



некоторое время до включения анализа мутации *EGFR* в рекомендации по лечению немелкоклеточного рака легкого. В настоящее время все случаи РТК подвергаются комплексному генетическому анализу соматических мутаций, а некоторым

пациентам проводится анализ наследственных генетических вариантов. Быстрое распространение технологии NGS, вероятно, существенно повлияет на процедуры скрининга, диагностики, лечения и мониторинга РТК. 

Дополнительная информация

Финансирование

Данная работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 20-315-90097.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Все авторы внесли равный вклад в написание статьи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
2. Baran B, Mert Ozupek N, Yerli Tetik N, Acar E, Bekcioglu O, Baskin Y. Difference between left-sided and right-sided colorectal cancer: A focused review of literature. *Gastroenterology Res.* 2018;11(4):264–273. doi: 10.14740/gr1062w.
3. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet.* 2019;394(10207):1467–1480. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0.
4. Farooqi AA, de la Roche M, Djamgoz MBA, Siddik ZH. Overview of the oncogenic signaling pathways in colorectal cancer: Mechanistic insights. *Semin Cancer Biol.* 2019;58:65–79. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.01.001.
5. Koncina E, Haan S, Rauh S, Letellier E. Prognostic and predictive molecular biomarkers for colorectal cancer: Updates and challenges. *Cancers (Basel).* 2020;12(2):319. doi: 10.3390/cancers12020319.
6. Raskov H, Søby JH, Troelsen J, Bojesen RD, Gøgenur I. Driver Gene Mutations and Epigenetics in Colorectal Cancer. *Ann Surg.* 2020;271(1):75–85. doi: 10.1097/SLA.0000000000003393.
7. Testa U, Castelli G, Pelosi E. Genetic alterations of metastatic colorectal cancer. *Biomedicines.* 2020;8(10):414. doi: 10.3390/biomedicines8100414.
8. Dziubańska-Kusibab PJ, Berger H, Battistini F, Bouwman BAM, Iftekhar A, Katainen R, Cajuoso T, Crossetto N, Orozco M, Aaltonen LA, Meyer TF. Colibactin DNA-damage signature indicates mutational impact in colorectal cancer. *Nat Med.* 2020;26(7):1063–1069. doi: 10.1038/s41591-020-0908-2.
9. Janney A, Powrie F, Mann EH. Host-microbiota maladaptation in colorectal cancer. *Nature.* 2020;585(7826):509–517. doi: 10.1038/s41586-020-2729-3.
10. Hu Z, Ding J, Ma Z, Sun R, Seoane JA, Scott Shaffer J, Suarez CJ, Berghoff AS, Cremolini C, Falcone A, Loupakis F, Birner P, Preusser M, Lenz HJ, Curtis C. Quantitative evidence for early metastatic seeding in colorectal cancer. *Nat Genet.* 2019;51(7):1113–1122. doi: 10.1038/s41588-019-0423-x.
11. Patel JN, Fong MK, Jagosky M. Colorectal cancer biomarkers in the era of personalized medicine. *J Pers Med.* 2019;9(1):3. doi: 10.3390/jpm9010003.
12. Taieb J, Jung A, Sartore-Bianchi A, Peeters M, Seligmann J, Zaanan A, Burdon P, Montagut C, Laurent-Puig P. The evolving biomarker landscape for treatment selection in metastatic colorectal cancer. *Drugs.* 2019;79(13):1375–1394. doi: 10.1007/s40265-019-01165-2.
13. Sveen A, Kopetz S, Lothe RA. Biomarker-guided therapy for colorectal cancer: strength in complexity. *Nat Rev Clin Oncol.* 2020;17(1):11–32. doi: 10.1038/s41571-019-0241-1.
14. Martinelli E, Ciardiello D, Martini G, Troiani T, Cardone C, Vitiello PP, Normanno N, Rachiglio AM, Maiello E, Latiano T, De Vita F, Ciardiello F. Implementing anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) therapy in metastatic colorectal cancer: challenges and future perspectives. *Ann Oncol.* 2020;31(1):30–40. doi: 10.1016/j.annonc.2019.10.007.
15. Martini G, Ciardiello D, Vitiello PP, Napolitano S, Cardone C, Cuomo A, Troiani T, Ciardiello F, Martinelli E. Resistance to anti-epidermal growth factor receptor in metastatic colorectal cancer: What does still need to be addressed? *Cancer Treat Rev.* 2020;86:102023. doi: 10.1016/j.ctrv.2020.102023.
16. Moiseyenko VM, Moiseyenko FV, Yanus GA, Kuligina ES, Sokolenko AP, Bizin IV, Kudriavtsev AA, Aleksakhina SN, Volkov NM, Chubenko VA, Kozyreva KS, Kramchaninov MM, Zhuravlev AS, Shelekhova KV, Pashkov DV, Ivantsov AO, Venina AR, Sokolova TN, Preobrazhenskaya EV, Mitiushkina NV, Togo AV, Iyevleva AG, Imyaninov EN. First-line cetuximab monotherapy in KRAS/NRAS/BRAF mutation-negative colorectal cancer patients. *Clin Drug Investig.* 2018;38(6):553–562. doi: 10.1007/s40261-018-0629-1.
17. Douillard JY, Oliner KS, Siena S, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, Humblet Y, Bodoky G, Cunningham D, Jassem J, Rivera F, Kocáková I, Ruff P, Błasińska-Morawiec M, Šmakal M, Canon JL, Rother M, Williams R, Rong A, Wietzorek J, Sidhu R, Patterson SD. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2013;369(11):1023–1034. doi: 10.1056/NEJMoa1305275.
18. Sepulveda AR, Hamilton SR, Allegra CJ, Grody W, Cushman-Vokoun AM, Funkhouser WK, Kopetz SE, Lieu C, Lindor NM, Minsky BD, Monzon FA, Sargent DJ, Singh VM, Willis J, Clark J, Colasacco C, Rumble RB, Temple-Smolkin R, Ventura CB, Nowak JA. Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer: Guideline From the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol.* 2017;35(13):1453–1486. doi: 10.1200/JCO.2016.71.9807.
19. Lakatos G, Köhne CH, Bodoky G. Current therapy of advanced colorectal cancer according to RAS/RAF mutational status. *Cancer Metastasis Rev.* 2020;39(4):1143–1157. doi: 10.1007/s10555-020-09913-7.
20. Udar N, Lofton-Day C, Dong J, Vavrek D, Jung AS, Meier K, Iyer A, Slaughter R, Gutekunst K, Bach BA, Peeters M, Douillard JY. Clinical validation of the next-generation sequencing-based Extended RAS Panel assay using metastatic colorectal cancer patient samples from the phase 3 PRIME study. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2018;144(10):2001–2010. doi: 10.1007/s00432-018-2688-3.
21. Del Vecchio F, Mastroiaco V, Di Marco A, Compagnoni C, Capece D, Zazzeroni F, Capalbo C, Alesse E, Tessitore A. Next-generation sequencing: recent applications to the analysis of colorectal cancer. *J Transl Med.* 2017;15(1):246. doi: 10.1186/s12967-017-1353-y.



22. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61(5):759–767. doi: 10.1016/0092-8674(90)90186-i.
23. Van Cutsem E, Lenz HJ, Köhne CH, Heinemann V, Tejpar S, Melezínek I, Beier F, Stroh C, Rougier P, van Krieken JH, Ciardiello F. Fluorouracil, leucovorin, and irinotecan plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2015;33(7):692–700. doi: 10.1200/JCO.2014.59.4812.
24. Normanno N, Rachiglio AM, Lambiasi M, Martinelli E, Fenizia F, Esposito C, Roma C, Troiani T, Rizzi D, Tatangelo F, Botti G, Maiello E, Colucci G, Ciardiello F; CAPRI-GOIM investigators. Heterogeneity of KRAS, NRAS, BRAF and PIK3CA mutations in metastatic colorectal cancer and potential effects on therapy in the CAPRI GOIM trial. *Ann Oncol*. 2015;26(8):1710–1714. doi: 10.1093/annonc/mdv176.
25. Santos C, Azuara D, Viéitez JM, Páez D, Falcó E, Élez E, López-López C, Valladares M, Robles-Díaz L, García-Alfonso P, Bugés C, Durán G, Salud A, Navarro V, Capellá G, Aranda E, Salazar R. Phase II study of high-sensitivity genotyping of KRAS, NRAS, BRAF and PIK3CA to ultra-select metastatic colorectal cancer patients for panitumumab plus FOLFIRI: the ULTRA trial. *Ann Oncol*. 2019;30(5):796–803. doi: 10.1093/annonc/mdz082.
26. Vidal J, Bellosillo B, Santos Vivas C, García-Alfonso P, Carrato A, Cano MT, García-Carbonero R, Élez E, Losa F, Massutí B, Valladares-Ayerbes M, Viéitez JM, Manzano JL, Azuara D, Gallego J, Pairet S, Capellá G, Salazar R, Taberero J, Aranda E, Montagut C. Ultra-selection of metastatic colorectal cancer patients using next-generation sequencing to improve clinical efficacy of anti-EGFR therapy. *Ann Oncol*. 2019;30(3):439–446. doi: 10.1093/annonc/mdz005.
27. Russo M, Crisafulli G, Sogari A, Reilly NM, Arena S, Lamba S, Bartolini A, Amodio V, Magri A, Novara L, Sarotto I, Nagel ZD, Pietti CG, Amatu A, Sartore-Bianchi A, Siena S, Bertotti A, Trusolino L, Corigliano M, Gherardi M, Lagomarsino MC, Di Nicolantonio F, Bardelli A. Adaptive mutability of colorectal cancers in response to targeted therapies. *Science*. 2019;366(6472):1473–1480. doi: 10.1126/science.aav4474.
28. Aleksakhina SN, Kashyap A, Imyaniov EN. Mechanisms of acquired tumor drug resistance. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2019;1872(2):188310. doi: 10.1016/j.bbcan.2019.188310.
29. Sokolenko AP, Bizin IV, Preobrazhenskaya EV, Gorodnova TV, Ivantsov AO, Iyevleva AG, Savonevich EL, Kotiv KB, Kuligina ES, Imyaniov EN. Molecular profiles of BRCA1-associated ovarian cancer treated by platinum-based therapy: Analysis of primary, residual and re-lapsed tumors. *Int J Cancer*. 2020;146(7):1879–1888. doi: 10.1002/ijc.32776.
30. Johnson B, Kopetz S. Applying precision to the management of BRAF-mutant metastatic colorectal cancer. *Target Oncol*. 2020;15(5):567–577. doi: 10.1007/s11523-020-00747-5.
31. Modest DP, Martens UM, Riera-Knorrenschild J, Greeve J, Florschütz A, Wessendorf S, Ettrich T, Kanzler S, Nörenberg D, Ricke J, Seidensticker M, Held S, Buechner-Stuedel P, Atzpodien J, Heinemann V, Seufferlein T, Tannapfel A, Reinacher-Schick AC, Geissler M. FOLFOXIRI Plus Panitumumab As First-Line Treatment of RAS Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer: The Randomized, Open-Label, Phase II VOLFI Study (AIO KRK0109). *J Clin Oncol*. 2019;37(35):3401–3411. doi: 10.1200/JCO.19.01340.
32. Prahallad A, Sun C, Huang S, Di Nicolantonio F, Salazar R, Zecchin D, Beijersbergen RL, Bardelli A, Bernards R. Unresponsiveness of colon cancer to BRAF(V600E) inhibition through feedback activation of EGFR. *Nature*. 2012;483(7387):100–103. doi: 10.1038/nature10868.
33. Corcoran RB, André T, Atreya CE, Schellens JHM, Yoshino T, Bendell JC, Hollebecque A, McRee AJ, Siena S, Middleton G, Muro K, Gordon MS, Taberero J, Yaeger R, O'Dwyer PJ, Humblet Y, De Vos F, Jung AS, Brase JC, Jaeger S, Bettinger S, Mookerjee B, Rangwala F, Van Cutsem E. Combined BRAF, EGFR, and MEK Inhibition in Patients with BRAFV600E-mutant colorectal cancer. *Cancer Discov*. 2018;8(4):428–443. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-1226.
34. Kopetz S, Grothey A, Yaeger R, Van Cutsem E, Desai J, Yoshino T, Wasan H, Ciardiello F, Loupakis F, Hong YS, Steeghs N, Guren TK, Arkenau HT, Garcia-Alfonso P, Pfeiffer P, Orlov S, Lonardi S, Elez E, Kim TW, Schellens JHM, Guo C, Krishnan A, Dekervel J, Morris J, Calvo Ferrandiz A, Tarpgaard LS, Braun M, Gollerkeri A, Keir C, Maharry K, Pickard M, Christy-Bittel J, Anderson L, Sandor V, Taberero J. Encorafenib, binimetinib, and cetuximab in BRAF V600E-mutated colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2019;381(17):1632–1643. doi: 10.1056/NEJMoa1908075.
35. Jones JC, Renfro LA, Al-Shamsi HO, Schrock AB, Rankin A, Zhang BY, Kasi PM, Voss JS, Leal AD, Sun J, Ross J, Ali SM, Hubbard JM, Kipp BR, McWilliams RR, Kopetz S, Wolff RA, Grothey A. Non-V600 BRAF Mutations Define a Clinically Distinct Molecular Subtype of Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 2017;35(23):2624–2630. doi: 10.1200/JCO.2016.71.4394.
36. Schirripa M, Biason P, Lonardi S, Pella N, Pino MS, Urbano F, Antoniotti C, Cremolini C, Corallo S, Pietrantonio F, Gelsomino F, Cascinu S, Orlandi A, Munari G, Malapelle U, Saggio S, Fontanini G, Rugge M, Mescoli C, Lazzi S, Reggiani Bonetti L, Lanza G, Dei Tos AP, De Maggio G, Martini M, Bergamo F, Zagonel V, Loupakis F, Fassin M. Class 1, 2, and 3 BRAF-mutated metastatic colorectal cancer: A detailed clinical, pathologic, and molecular characterization. *Clin Cancer Res*. 2019;25(13):3954–3961. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0311.
37. Bahadoran P, Allegra M, Le Duff F, Long-Mira E, Hofman P, Giaccherio D, Passeron T, Lacour JP, Balotti R. Major clinical response to a BRAF inhibitor in a patient with a BRAF L597R-mutated melanoma. *J Clin Oncol*. 2013;31(19):e324–e326. doi: 10.1200/JCO.2012.46.1061.
38. Hallmeyer S, Gonzalez R, Lawson DH, Cranmer LD, Linette GP, Puzanov I, Taback B, Cowey CL, Ribas A, Daniels GA, Moore T, Gibney GT, Tawbi H, Whitman E, Lee G, Mun Y, Liu S, Hamid O. Vemurafenib treatment for patients with locally advanced, unresectable stage IIIC or metastatic melanoma and activating exon 15 BRAF mutations other than V600E. *Melanoma Res*. 2017;27(6):585–590. doi: 10.1097/CMR.0000000000000398.
39. Moiseyenko FV, Egorenkov VV, Kramchaninov MM, Artemieva EV, Aleksakhina SN, Holmatov MM, Moiseyenko VM, Imyaniov EN. Lack of Response to Vemurafenib in Melanoma Carrying BRAF K601E Mutation. *Case Rep Oncol*. 2019;12(2):339–343. doi: 10.1159/000500481.
40. Maddox J. Competition and the death of science. *Nature*. 1993;363(6431):667. doi: 10.1038/363667a0.
41. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, Meltzer SJ, Rodriguez-Bigas MA, Fodde R, Ranzani GN, Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 1998;58(22):5248–5257.
42. Perucho M. Correspondence re: C.R. Boland et al., A National Cancer Institute workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 58: 5248-5257, 1998. *Cancer Res*. 1999;59(1):249–256.
43. Sun BL. Current Microsatellite Instability Testing in Management of Colorectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer*. 2021;20(1):e12–e20. doi: 10.1016/j.clcc.2020.08.001.
44. Suraweera N, Duval A, Reperant M, Vauiry C, Furlan D, Leroy K, Seruca R, Iacopetta B, Hamelin R. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. *Gastroenterology*. 2002;123(6):1804–1811. doi: 10.1053/gast.2002.37070.
45. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, Fishel R, Lindor NM, Burgart LJ, Hamelin R, Hamilton SR, Hiatt RA, Jass J, Lindblom A, Lynch HT, Peltomaki P, Ramsey SD, Rodriguez-Bigas MA, Vasen HF, Hawk ET, Barrett JC, Freedman AN, Srivastava S. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(4):261–268. doi: 10.1093/jnci/djh034.



46. Buhard O, Lagrange A, Guilloux A, Colas C, Chouchène M, Wanherdrick K, Coulet F, Guillerme E, Dorard C, Marisa L, Bokhari A, Greene M, El-Murr N, Bodo S, Muleris M, Sourouille I, Svrcek M, Cervera P, Blanché H, Lefevre JH, Parc Y, Lepage C, Chapusot C, Bouvier AM, Gaub MP, Selves J, Garrett K, Iacopetta B, Soong R, Hamelin R, Garrido C, Lascols O, André T, Fléjou JF, Collura A, Duval A. HSP110T17 simplifies and improves the microsatellite instability testing in patients with colorectal cancer. *J Med Genet.* 2016;53(6):377–384. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103518.
47. Vilar E, Gruber SB. Microsatellite instability in colorectal cancer—the stable evidence. *Nat Rev Clin Oncol.* 2010;7(3):153–162. doi: 10.1038/nrclinonc.2009.237.
48. Chen W, Frankel WL. A practical guide to biomarkers for the evaluation of colorectal cancer. *Mod Pathol.* 2019;32(Suppl 1):1–15. doi: 10.1038/s41379-018-0136-1.
49. Cohen R, Hain E, Buhard O, Guilloux A, Bardier A, Kaci R, Bertheau P, Renaud F, Bibeau F, Fléjou JF, André T, Svrcek M, Duval A. Association of Primary Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors in Metastatic Colorectal Cancer With Misdiagnosis of Microsatellite Instability or Mismatch Repair Deficiency Status. *JAMA Oncol.* 2019;5(4):551–555. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.4942.
50. Battaglin F, Naseem M, Lenz HJ, Salem ME. Microsatellite instability in colorectal cancer: overview of its clinical significance and novel perspectives. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2018;16(11):735–745.
51. Yanus GA, Belyaeva AV, Ivantsov AO, Kuligina ESh, Suspitsin EN, Mitiushkina NV, Aleksakhina SN, Iyevleva AG, Zaitseva OA, Yatsuk OS, Gorodnova TV, Strelkova TN, Efreмова SA, Lepenchuk AY, Ochir-Garyaev AN, Paneyah MB, Matsko DE, Togo AV, Imyanitov EN. Pattern of clinically relevant mutations in consecutive series of Russian colorectal cancer patients. *Med Oncol.* 2013;30(3):686. doi: 10.1007/s12032-013-0686-5.
52. André T, Shiu KK, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt C, Smith D, Garcia-Carbonero R, Benavides M, Gibbs P, de la Fouchardiere C, Rivera F, Elez E, Bendell J, Le DT, Yoshino T, Van Cutsem E, Yang P, Farooqui MZH, Marinello P, Diaz LA Jr; KEYNOTE-177 Investigators. Pembrolizumab in microsatellite-instability-high advanced colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2020;383(23):2207–2218. doi: 10.1056/NEJMoa2017699.
53. Le DT, Kim TW, Van Cutsem E, Geva R, Jäger D, Hara H, Burge M, O'Neil B, Kavan P, Yoshino T, Guimbaud R, Taniguchi H, Elez E, Al-Batran SE, Boland PM, Crocenzi T, Atreya CE, Cui Y, Dai T, Marinello P, Diaz LA Jr, André T. Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164. *J Clin Oncol.* 2020;38(1):11–19. doi: 10.1200/JCO.19.02107.
54. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, Lenz HJ, Gelsomino F, Aglietta M, Morse MA, Van Cutsem E, McDermott R, Hill A, Sawyer MB, Hendlitz A, Neyns B, Svrcek M, Moss RA, Ledezine JM, Cao ZA, Kamble S, Kopetz S, André T. Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(8):773–779. doi: 10.1200/JCO.2017.76.9901.
55. Lochhead P, Kuchiba A, Imamura Y, Liao X, Yamauchi M, Nishihara R, Qian ZR, Morikawa T, Shen J, Meyerhardt JA, Fuchs CS, Ogino S. Microsatellite instability and BRAF mutation testing in colorectal cancer prognostication. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(15):1151–1156. doi: 10.1093/jnci/djt173.
56. Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS, Smith CG, Cheadle JP, Fisher D, Kaplan R, Quirke P, Seymour MT, Richman SD, Meijer GA, Ylstra B, Heideman DA, de Haan AF, Punt CJ, Koopman M. Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies. *Clin Cancer Res.* 2014;20(20):5322–5330. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0332.
57. Giordano G, Remo A, Porras A, Pancione M. Immune Resistance and EGFR antagonists in colorectal cancer. *Cancers (Basel).* 2019;11(8):1089. doi: 10.3390/cancers11081089.
58. Sauter G, Lee J, Bartlett JM, Slamon DJ, Press MF. Guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: biologic and methodologic considerations. *J Clin Oncol.* 2009;27(8):1323–1333. doi: 10.1200/JCO.2007.14.8197.
59. Meric-Bernstam F, Hurwitz H, Raghav KPS, McWilliams RR, Fakih M, VanderWalde A, Swanton C, Kurzrock R, Burris H, Sweeney C, Bose R, Spigel DR, Beattie MS, Blotner S, Stone A, Schulze K, Cuchelkar V, Hainsworth J. Pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer (MyPathway): an updated report from a multicentre, open-label, phase 2a, multiple basket study. *Lancet Oncol.* 2019;20(4):518–530. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30904-5.
60. Sartore-Bianchi A, Trusolino L, Martino C, Ben-cardino K, Lonardi S, Bergamo F, Zagonel V, Leone F, Depetris I, Martinelli E, Troiani T, Ciardiello F, Racca P, Bertotti A, Siravegna G, Torri V, Amatu A, Ghezzi S, Marrapese G, Palmeri L, Val-torta E, Cassingena A, Lauricella C, Vanzulli A, Regge D, Veronese S, Comoglio PM, Bardelli A, Marsoni S, Siena S. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(6):738–746. doi: 10.1016/S1470-2045(16)00150-9.
61. De Cuyper A, Van Den Eynde M, Machiels JP. HER2 as a Predictive Biomarker and Treatment Target in Colorectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2020;19(2):65–72. doi: 10.1016/j.clcc.2020.02.007.
62. Nowak JA. HER2 in Colorectal Carcinoma: Are We There yet? *Surg Pathol Clin.* 2020;13(3):485–502. doi: 10.1016/j.path.2020.05.007.
63. Mitiushkina NV, Kholmatov MM, Venina AR, Tiurin VI, Yanus GA, Sokolova TN, Yatsuk OS, Zaitseva OA, Ivantsov AO, Kuligina ES, Togo AV, Imyanitov EN. PCR-based detection of EGFR, ALK, KRAS and BRAF mutations in Russian patients with lung adenocarcinoma: a single-center experience. *Neoplasma.* 2018;65(6):972–979. doi: 10.4149/neo_2018_171225N843.
64. Volkov NM, Yanus GA, Ivantsov AO, Moiseenko FV, Matorina OG, Bizin IV, Moiseyenko VM, Imyanitov EN. Efficacy of immune checkpoint blockade in MUTYH-associated hereditary colorectal cancer. *Invest New Drugs.* 2020;38(3):894–898. doi: 10.1007/s10637-019-00842-z.
65. Hong DS, Fakih MG, Strickler JH, Desai J, Durm GA, Shapiro GI, Falchook GS, Price TJ, Sacher A, Denlinger CS, Bang YJ, Dy GK, Krauss JC, Kuboki Y, Kuo JC, Coveler AL, Park K, Kim TW, Barlesi F, Munster PN, Ramalingam SS, Burns TF, Meric-Bernstam F, Henary H, Ngang J, Ngarmchamnarnrith G, Kim J, Houk BE, Canon J, Lipford JR, Friberg G, Lito P, Govindan R, Li BT. KRASG12C inhibition with sotorasib in advanced solid tumors. *N Engl J Med.* 2020;383(13):1207–1217. doi: 10.1056/NEJMoa1917239.
66. Amodio V, Yaeger R, Arcella P, Celliere C, Lamba S, Lorenzato A, Arena S, Montone M, Mussolin B, Bian Y, Whaley A, Pinnelli M, Murciano-Goroff YR, Vakiani E, Valeri N, Liao WL, Bhalkikar A, Thyparambil S, Zhao HY, de Stanchina E, Marsoni S, Siena S, Bertotti A, Trusolino L, Li BT, Rosen N, Di Nicolantonio F, Bardelli A, Misale S. EGFR blockade reverts resistance to KRASG12C inhibition in colorectal cancer. *Cancer Discov.* 2020;10(8):1129–1139. doi: 10.1158/2159-8290.CD-20-0187.
67. Kinsey CG, Camolotto SA, Boespflug AM, Guillen KP, Foth M, Truong A, Schuman SS, Shea JE, Seipp MT, Yap JT, Burrell LD, Lum DH, Whisenant JR, Gilcrease GW 3rd, Cavalieri CC, Rehbein KM, Cutler SL, Affolter KE, Welm AL, Welm BE, Scaife CL, Snyder EL, McMahon M. Protective autophagy elicited by RAF→MEK→ERK inhibition suggests a treatment strategy for RAS-driven cancers. *Nat Med.* 2019;25(4):620–627. doi: 10.1038/s41591-019-0367-9.
68. Xavier CB, Marchetti KR, Castria TB, Jardim DLF, Fernandes GS. Trametinib and Hydroxychloroquine (HCQ) combination treatment in KRAS-mutated advanced pancreatic adenocarcinoma: detailed description of two cases. *J Gastrointest Cancer.* 2021;52(1):374–380. doi: 10.1007/s12029-020-00556-z.
69. Orlov SV, Urtenova MA, Sviridenko MA, Nesterov DV, Sokolova TN, Imyanitov EN. Rapid



- improvement of the performance status and reduction of the tumor size in KRAS-mutated colorectal cancer patient receiving binimetinib, hydroxychloroquine, and bevacizumab. *Case Rep Oncol.* 2020;13(2):985–989. doi: 10.1159/000509241.
70. van Puijjenbroek M, Nielsen M, Tops CM, Halfwerk H, Vasen HF, Weiss MM, van Wezel T, Hes FJ, Morreau H. Identification of patients with (atypical) MUTYH-associated polyposis by KRAS2 c.34G>T prescreening followed by MUTYH hotspot analysis in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Clin Cancer Res.* 2008;14(1):139–142. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1705.
71. Gong J, Wang C, Lee PP, Chu P, Fakhri M. Response to PD-1 Blockade in Microsatellite Stable Metastatic Colorectal Cancer Harboring a POLE Mutation. *J Natl Compr Canc Netw.* 2017;15(2):142–147. doi: 10.6004/jccn.2017.0016.
72. Wang C, Gong J, Tu TY, Lee PP, Fakhri M. Immune profiling of microsatellite instability-high and polymerase ϵ (POLE)-mutated metastatic colorectal tumors identifies predictors of response to anti-PD-1 therapy. *J Gastrointest Oncol.* 2018;9(3):404–415. doi: 10.21037/jgo.2018.01.09.
73. Imyanитov EN, Iyevleva AG, Levchenko EV. Molecular testing and targeted therapy for non-small cell lung cancer: Current status and perspectives. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2021;157:103194. doi: 10.1016/j.critrevonc.2020.103194.
74. Preobrazhenskaya EV, Iyevleva AG, Suleymanova AM, Tiurin VI, Mitiushkina NV, Bizin IV, Ivanstov AO, Gorustovich OA, Shelekhova KV, Kachanov DY, Varfolomeeva SR, Roschin VY, Kazakova AN, Litvinov DV, Shamanskaya TV, Savelov NA, Suspitsin EN, Imyanитov EN. Gene rearrangements in consecutive series of pediatric inflammatory myofibroblastic tumors. *Pediatr Blood Cancer.* 2020;67(5):e28220. doi: 10.1002/pbc.28220.
75. Pietrantonio F, Di Nicolantonio F, Schrock AB, Lee J, Tejpar S, Sartore-Bianchi A, Hechtman JF, Christiansen J, Novara L, Tebbutt N, Cucà G, Antoniotti C, Kim ST, Murphy D, Berenato R, Morano F, Sun J, Min B, Stephens PJ, Chen M, Lazzari L, Miller VA, Shoemaker R, Amatu A, Milione M, Ross JS, Siena S, Bardelli A, Ali SM, Falcone A, de Braud F, Cremolini C. ALK, ROS1, and NTRK rearrangements in metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2017;109(12). doi: 10.1093/jnci/djx089.
76. Cocco E, Benhamida J, Middha S, Zehir A, Mullaney K, Shia J, Yaeger R, Zhang L, Wong D, Villafania L, Nafa K, Scaltriti M, Drilon A, Saltz L, Schram AM, Stadler ZK, Hyman DM, Benayed R, Ladanyi M, Hechtman JF. Colorectal carcinomas containing hypermethylated MLH1 promoter and wild-type BRAF/KRAS are enriched for targetable kinase fusions. *Cancer Res.* 2019;79(6):1047–1053. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-3126.
77. Sato K, Kawazu M, Yamamoto Y, Ueno T, Kojima S, Nagae G, Abe H, Soda M, Oga T, Kohsaka S, Sai E, Yamashita Y, Inuma H, Fukayama M, Aburatani H, Watanabe T, Mano H. Fusion kinases identified by genomic analyses of sporadic microsatellite instability-high colorectal cancers. *Clin Cancer Res.* 2019;25(1):378–389. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1574.
78. Pagani F, Randon G, Guarini V, Raimondi A, Prisciandaro M, Lobefaro R, Di Bartolomeo M, Sozzi G, de Braud F, Gasparini P, Pietrantonio F. The landscape of actionable gene fusions in colorectal cancer. *Int J Mol Sci.* 2019;20(21):5319. doi: 10.3390/ijms20215319.
79. Singh H, Li YY, Spurr LF, Shinagare AB, Abhyankar R, Reilly E, Brais LK, Nag A, Ducar MD, Thorner AR, Shapiro GI, Keller RB, Siletti C, Clark JW, Farago AF, Lin JJ, Demetri GD, Gujrathi R, Kulke MH, MacConaill LE, Ligon AH, Sicinska E, Meyerson ML, Meyerhardt JA, Cherniack AD, Wolpin BM, Ng K, Giannakis M, Hornick JL, Cleary JM. Molecular characterization and therapeutic targeting of colorectal cancers harboring receptor tyrosine kinase fusions. *Clin Cancer Res.* 2021;27(6):1695–1705. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4073.
80. Snyder C, Hampel H. Hereditary Colorectal Cancer Syndromes. *Semin Oncol Nurs.* 2019;35(1):58–78. doi: 10.1016/j.soncn.2018.12.011.
81. Valle L, de Voer RM, Goldberg Y, Sjursen W, Försti A, Ruiz-Ponte C, Caldés T, Garré P, Olsen MF, Nordling M, Castellvi-Bel S, Hemminki K. Update on genetic predisposition to colorectal cancer and polyposis. *Mol Aspects Med.* 2019;69:10–26. doi: 10.1016/j.mam.2019.03.001.
82. Valle L, Vilar E, Tavtigian SV, Stoffel EM. Genetic predisposition to colorectal cancer: syndromes, genes, classification of genetic variants and implications for precision medicine. *J Pathol.* 2019;247(5):574–588. doi: 10.1002/path.5229.
83. Clark SK. Management of genetically determined colorectal cancer. *Surgeon.* 2019;17(3):165–171. doi: 10.1016/j.surge.2019.03.003.
84. Terradas M, Capellá G, Valle L. Dominantly inherited hereditary nonpolyposis colorectal cancer not caused by MMR genes. *J Clin Med.* 2020;9(6):1954. doi: 10.3390/jcm9061954.
85. Soares BL, Brant AC, Gomes R, Pastor T, Schneider NB, Ribeiro-Dos-Santos A, de Assumpção PP, Achatz MIW, Ashton-Prola P, Moreira MAM. Screening for germline mutations in mismatch repair genes in patients with Lynch syndrome by next generation sequencing. *Fam Cancer.* 2018;17(3):387–394. doi: 10.1007/s10689-017-0043-5.
86. Yanus GA, Akhapkina TA, Iyevleva AG, Kornilov AV, Suspitsin EN, Kuligina ES, Ivantsov AO, Aleksakhina SN, Sokolova TN, Sokolenko AP, Togo AV, Imyanитov EN. The spectrum of Lynch syndrome-associated germ-line mutations in Russia. *Eur J Med Genet.* 2020;63(3):103753. doi: 10.1016/j.ejmg.2019.103753.
87. Cohen JD, Li L, Wang Y, Thoburn C, Afsari B, Danilova L, Douville C, Javed AA, Wong F, Mattox A, Hruban RH, Wolfgang CL, Goggins MG, Dal Molin M, Wang TL, Roden R, Klein AP, Ptak J, Dobblyn L, Schaefer J, Silliman N, Popoli M, Vogelstein JT, Browne JD, Schoen RE, Brand RE, Tie J, Gibbs P, Wong HL, Mansfield AS, Jen J, Hanash SM, Falconi M, Allen PJ, Zhou S, Bettingowda C, Diaz LA Jr, Tomasetti C, Kinzler KW, Vogelstein B, Lennon AM, Papadopoulos N. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science.* 2018;359(6378):926–930. doi: 10.1126/science.aar3247.
88. Lennon AM, Buchanan AH, Kinde I, Warren A, Honushefsky A, Cohain AT, Ledbetter DH, Sanfilippo F, Sheridan K, Rosica D, Adonizio CS, Hwang HJ, Lahouel K, Cohen JD, Douville C, Patel AA, Hagmann LN, Rolston DD, Malani N, Zhou S, Bettingowda C, Diehl DL, Urban B, Still CD, Kann L, Woods JI, Salvati ZM, Vadakara J, Leeming R, Bhattacharya P, Walter C, Parker A, Lengauer C, Klein A, Tomasetti C, Fishman EK, Hruban RH, Kinzler KW, Vogelstein B, Papadopoulos N. Feasibility of blood testing combined with PET-CT to screen for cancer and guide intervention. *Science.* 2020;369(6499):eabb9601. doi: 10.1126/science.abb9601.
89. Reinert T, Henriksen TV, Christensen E, Sharma S, Salari R, Sethi H, Knudsen M, Nordentoft I, Wu HT, Tin AS, Heilskov Rasmussen M, Vang S, Shchegrova S, Frydendahl Boll Johansen A, Srinivasan R, Assaf Z, Balcioglu M, Olson A, Dashner S, Hafez D, Navarro S, Goel S, Rabinowitz M, Billings P, Sigurjonsson S, Dyrskjot L, Swenerton R, Aleshin A, Laurberg S, Husted Madsen A, Kannerup AS, Stribolt K, Palmelund Krag S, Iversen LH, Gotschalck Sunesen K, Lin CJ, Zimmermann BG, Lindbjerg Andersen C. Analysis of plasma cell-free DNA by ultra-deep sequencing in patients with stages I to III colorectal cancer. *JAMA Oncol.* 2019;5(8):1124–1131. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.0528.
90. Tarazona N, Gimeno-Valiente F, Gambardella V, Zuñiga S, Rentero-Garrido P, Huerta M, Roselló S, Martínez-Ciarpaglini C, Carbonell-Asins JA, Carrasco F, Ferrer-Martínez A, Bruixola G, Fleitas T, Martín J, Tébar-Martínez R, Moro D, Castillo J, Espi A, Roda D, Cervantes A. Targeted next-generation sequencing of circulating-tumor DNA for tracking minimal residual disease in localized colon cancer. *Ann Oncol.* 2019;30(11):1804–1812. doi: 10.1093/annonc/mdz390.
91. Tie J, Cohen JD, Wang Y, Christie M, Simons K, Lee M, Wong R, Kosmider S, Ananda S, Mc Kendrick J, Lee B, Cho JH, Faragher I, Jones IT, Ptak J, Schaeffer MJ, Silliman N, Dobblyn L, Li L, Tomasetti C, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Gibbs P. Circulating tumor DNA analyses as markers of recurrence risk and benefit of adjuvant therapy for stage III colon



- cancer. *JAMA Oncol.* 2019;5(12):1710–1717. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.3616.
92. Wang Y, Li L, Cohen JD, Kinde I, Ptak J, Popoli M, Schaefer J, Silliman N, Dobbyn L, Tie J, Gibbs P, Tomasetti C, Kinzler KW, Papadopoulos N, Vogelstein B, Olsson L. Prognostic Potential of Circulating Tumor DNA measurement in postoperative surveillance of non-metastatic colorectal cancer. *JAMA Oncol.* 2019;5(8):1118–1123. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.0512.
93. Max Ma X, Bendell JC, Hurwitz HI, Ju C, Lee JJ, Lovejoy A, Mancao C, Nicholas A, Price R, Sommer N, Tikoo N, Yao L, Yang SJ, Palma JF. Disease monitoring using post-induction circulating tumor DNA analysis following first-line therapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(15):4010–4017. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1209.
94. Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, Corti G, Cassingena A, Crisafulli G, Ponzetti A, Cremonini C, Amatu A, Lauricella C, Lamba S, Hobor S, Avallone A, Valtorta E, Rospo G, Medico E, Motta V, Antoniotti C, Tatangelo F, Bellosillo B, Veronese S, Budillon A, Montagut C, Racca P, Marsoni S, Falcone A, Corcoran RB, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Siena S, Sartore-Bianchi A, Bardelli A. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nat Med.* 2015;21(7):795–801. doi: 10.1038/nm.3870.
95. Parseghian CM, Loree JM, Morris VK, Liu X, Clifton KK, Napolitano S, Henry JT, Pereira AA, Vilar E, Johnson B, Kee B, Raghav K, Dasari A, Wu J, Garg N, Raymond VM, Banks KC, Tala-saz AA, Lanman RB, Strickler JH, Hong DS, Corcoran RB, Overman MJ, Kopetz S. Anti-EGFR-resistant clones decay exponentially af-

- ter progression: implications for anti-EGFR re-challenge. *Ann Oncol.* 2019;30(2):243–249. doi: 10.1093/annonc/mdy509.
96. Dasari A, Morris VK, Allegra CJ, Atreya C, Benson AB 3rd, Boland P, Chung K, Copur MS, Corcoran RB, Deming DA, Dwyer A, Diehn M, Eng C, George TJ, Gollub MJ, Goodwin RA, Hamilton SR, Hechtman JF, Hochster H, Hong TS, Innocenti F, Iqbal A, Jacobs SA, Kennecke HF, Lee JJ, Lieu CH, Lenz HJ, Lindwasser OW, Montagut C, Odisio B, Ou FS, Porter L, Raghav K, Schrag D, Scott AJ, Shi Q, Strickler JH, Venook A, Yaeger R, Yothers G, You YN, Zell JA, Kopetz S. ctDNA applications and integration in colorectal cancer: an NCI Colon and Rectal-Anal Task Forces whitepaper. *Nat Rev Clin Oncol.* 2020;17(12):757–770. doi: 10.1038/s41571-020-0392-0.

Molecular genetic testing in colon cancer: clinical aspects

A.S. Martianov¹ • E.Sh. Kuligina¹ • A.A. Romanko^{1,2} • E.N. Imyanitov^{1,2}

Molecular genetic diagnostics is an essential element to plan for management of colorectal cancer (CRC) patients. The choice of systemic treatment for CRC is impossible without molecular testing of the tumor. For instance, the assessment of the *KRAS* and *NRAS* genes is mandatory for consideration of anti-EGFR agents. Tumors with *BRAF* V600E mutation are characterized by aggressive behavior, the necessity of intensive cytostatic regimens, as well as by sensitivity to combination therapy with *BRAF* and EGFR inhibitors. Inactivation of the DNA mismatch repair, the *MUTYH* gene or DNA polymerase epsilon (*POLE*) leads to an excessive tumor mutational burden; these CRC types are highly immunogenic and therefore respond to immune checkpoint inhibitors. Some colorectal carcinomas are characterized by overexpression of the *HER2* oncogene, which make them sensitive to corresponding target therapies. There are CRCs with clinical signs of hereditary predisposition, which require germline genetic testing. Nowadays

the molecular diagnosis of CRC is being seriously modified due to worldwide implementation of the next-generation sequencing (NGS) and hypersensitive variants of polymerase chain reaction, for example, droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR). Non-invasive liquid biopsy is an example of another highly useful innovation that has growing importance for CRC screening, control of surgical intervention efficacy and monitoring of the disease course.

Key words: colon cancer, colorectal cancer, target therapy, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *HER2*, microsatellite instability, *MUTYH*, hereditary cancer syndrome

For citation: Martianov AS, Kuligina ESh, Romanko AA, Imyanitov EN. Molecular genetic testing in colon cancer: clinical aspects. *Almanac of Clinical Medicine.* 2022;50. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-002.

Received 27 November 2021; revised 10 January 2022; accepted 31 January 2022; published online 17 February 2022

Aleksandr S. Martianov – Postgraduate Student, Laboratory of Molecular Oncology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7690-8328>. E-mail: aleksandr.s.martianov@gmail.com

Ekaterina Sh. Kuligina – PhD (in Biol.), Senior Research Fellow, Laboratory of Molecular Oncology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2396-6540> ✉ 68 Leningradsкая ul., Pesochnyy poselok, Saint Petersburg, 197758, Russian Federation. Tel.: +7 (812) 439 95 28. E-mail: kate.kuligina@gmail.com

Alexandr A. Romanko – Clinical Research Assistant, Laboratory of Molecular Oncology¹; Postgraduate Student, Medical Technologists, Chair of General and Molecular Medical Genetics²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6549-8378>. E-mail: romanko.aleksandr.a@gmail.com

Evgeny N. Imyanitov – MD, PhD, Professor, Corr. Member of Russ. Acad. Sci., Head of Science Department of Tumor Growth Biology¹; Head of Chair of General and Molecular Medical Genetics²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>. E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru

Funding

The work was financed from the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) grant No. 20-315-90097.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Authors' contributions

All the authors authors have equally contributed to the manuscript. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

¹N.N. Petrov National Medicine Research Center of Oncology; 68 Leningradsкая ul., Pesochnyy poselok, Saint Petersburg, 197758, Russian Federation

²St. Petersburg State Pediatric Medical University; 2 Litovskaya ul., Saint Petersburg, 194100, Russian Federation