

DOI: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2024-030>

Биомаркеры резистентности к анти-EGFR терапии у пациентов с левосторонним колоректальным раком: ретроспективный NGS анализ

А.А. Лебедева^{1,2}, М.М. Бяхова³, И.А. Покатаев³, Т.Г. Антонова³, М.В. Иванов^{1,2,4}, А.Б. Семенова³, Г.Г. Макиев⁵, Д.А. Кравчук⁶, В.И. Евдокимов^{6,7}, Е.А. Большакова³, О.А. Стативко³, П.С. Феоктистова⁸, М.А. Игнатьева⁸, Т.В. Григорьева^{1,2}, А.И. Кавун¹, Е.В. Белова^{1,2}, Е.М. Веселовский¹, В.А. Милейко^{1,2}, А.А. Трякин⁵, М.Ю. Федянин^{5,6,9}, В.Н. Галкин³

¹ ООО «Онкоатлас»; Россия, 119049 Москва, Ленинский проспект, 4с1А;

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

³ Онкологический центр №1 «Городской клинической больницы имени С.С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы»; Россия, 117152 Москва, Загородное шоссе, 18А;

⁴ ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»; Россия, 141701 Долгопрудный, Институтский переулок, 9;

⁵ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 23;

⁶ ГБУЗ «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 108814 Москва, п. Коммунарка, ул. Сосенский стан, 8;

⁷ Хозяйственное партнерство «Независимые медицинские партнеры»; Россия, 129281 Москва, Олонецкий пр-д, 4/2;

⁸ ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 111123 Москва, Новогиреевская ул., 1, корп. 1;

⁹ ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 105203, Москва, ул. Нижняя Первомайская, 70.

Контакты: Александра Артёмовна Лебедева lebedeva@oncoatlas.ru

Введение: на сегодняшний день для определения кандидатов для получения анти-EGFR терапии моноклональными антителами при колоректальном раке (КРР) используется анализ мутаций в генах KRAS, NRAS, BRAF p. V600, а также микросателлитной нестабильности (MSI) и амплификации HER2 (ERBB2). Недавние результаты исследований PRESSING и PARADIGM демонстрируют, что негативная гиперселекция пациентов по результатам анализа широкого спектра генов позволяет лучше прогнозировать эффективность анти-EGFR терапии.

Цель исследования: ретроспективная оценка встречаемости альтераций, ассоциированных с резистентностью, в образцах пациентов, получавших анти-EGFR терапию при левостороннем раке толстой кишки с диким типом генов RAS и BRAF.

Материалы и методы: в исследование были включены пациенты с морфологически подтвержденным левосторонним КРР, получившие анти-EGFR терапию в первой линии лечения в связи с отсутствием альтераций в генах KRAS/NRAS/BRAF V600 по результатам рутинной ПЦР диагностики, выполненной в различных лабораториях. FFPE образцы были проанализированы с использованием тест-системы Соло-тест Драйвер (38 генов + MSI) на основе секвенирования нового поколения (NGS). Для KRAS/NRAS/BRAF V600-положительных по результатам NGS образцов было выполнено повторное ПЦР-тестирование.

Результаты: в рамках исследования было проанализировано 111 образцов с использованием NGS. Альтерации в покрываемых панелью генах были выявлены у 96 (86,5%) пациентов. Всего было выявлено 172 соматических альтераций в 17 генах. Диапазон частот альтернативного аллеля (ЧАА) среди обнаруженных вариантов составил 1,3–93,0%. По результатам NGS-анализа у 29 (26,1%) пациентов были выявлены онкогенные варианты в генах KRAS (n = 24), NRAS (n = 3) или вариант BRAF p. V600E (n = 4). Повторное ПЦР-тестирование было проведено для 16 (51,6%) RAS/BRAF p. V600E-положительных пациентов (100% конкордантность между ПЦР и NGS). Среди RAS/BRAF V600E-отрицательных образцов в 10 (12,3%) образцах были выявлены другие альтерации (ERBB2 амплификация, n = 3; PIK3CA, n = 2; MSI, n = 1; BRAF мутация II класса, n = 1; ERBB3, n = 1). Среди всех проанализированных образцов в 11 (10%) образцах было выявлено более 1 мутации потенциальной резистентности. Мутации BRAF II/III класса встретились в 4 образцах. Мутации PIK3CA были выявлены у 17 (15,3%) пациентов, среди них в 5 образцах были выявлены варианты в 21 экзоне.

Выводы: описанные результаты демонстрируют высокую долю ложноотрицательных результатов по результатам рутинного ПЦР, что приводит к избыточному назначению таргетной терапии (~26% случаев). Расширение спектра

диагностируемых альтераций имеет потенциал для определения дополнительных 9% пациентов, опухоли которых могут быть резистентны к анти-EGFR терапии.

Ключевые слова: колоректальный рак, анти-EGFR терапия, биомаркеры резистентности, KRAS

Для цитирования: Лебедева А.А., Бяхова М.М., Покатаев И.А. и соавт. Биомаркеры резистентности к анти-EGFR терапии у пациентов с левосторонним колоректальным раком: ретроспективный NGS анализ. Злокачественные опухоли 2024;14(4):58–69. DOI: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2024-030>

Biomarkers of resistance to anti-EGFR therapy in patients with left-sided colorectal cancer: a retrospective NGS analysis

A. A. Lebedeva^{1,2}, M. M. Byakhova³, I. A. Pokataev³, T. G. Antonova³, M. V. Ivanov^{1,2,4}, A. B. Semenova³, G. G. Makiev⁵, D. A. Kravchuk⁶, V. I. Evdokimov^{6,7}, E. A. Bolshakova³, O. A. Stativko³, P. S. Feoktistova⁸, M. A. Ignateva⁸, T. V. Grigoreva^{1,2}, A. I. Kavun¹, E. V. Belova^{1,2}, E. M. Veselovskii¹, V. A. Mileyko^{1,2}, A. A. Tryakin⁵, M. Yu. Fedyanin^{5,6,9}, V. N. Galkin³

¹ OncoAtlas; Build. 1A, 4 Leninskiy Prospekt, Moscow 119049, Russia;

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Build. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russia;

³ Oncology Center No. 1 of the City Clinical Hospital named after S. S. Yudin of the Moscow Department of Health; 18A Zagorodnoe Shosse, Moscow 117152, Russia;

⁴ Moscow Institute of Physics and Technology; 9 Institutskii Pereulok, Dolgoprudny 141701, Moscow Region, Russia;

⁵ N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

⁶ Moscow Multidisciplinary Clinical Center "Kommunarka", Moscow Healthcare Department; 8 Sosenskiy Stan St., Moscow 108814, Russia;

⁷ Independent Medical Partners; 4/2 Olonetskii proezd, Moscow 129281, Russia;

⁸ A. S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow Healthcare Department; Build. 1, 1 Novogireevskaya St., Moscow 111123, Russia;

⁹ National Medical and Surgical Center named after N. I. Pirogov; 70 Nizhnyaya Pervomaiskaya St., Moscow 105203, Russia.

Contacts: Aleksandra Artemovna Lebedeva lebedeva@oncoatlas.ru

Background: Routine analysis of KRAS, NRAS, BRAF V600 mutations, as well as MSI and HER2 guides treatment selection in colorectal cancer (CRC). Recent findings from the PRESSING and PARADIGM trials have demonstrated that the negative hyperselection of patients based on the results of comprehensive genomic profiling results in better treatment outcomes following anti-EGFR therapy.

Study objective: The study aimed to retrospectively analyze the occurrence of alterations associated with potential resistance in samples from CRC patients treated with anti-EGFR therapy.

Materials and methods: Patients with confirmed left-sided CRC treated with anti-EGFR therapy due to the lack of RAS / BRAFV600 mutations as per routine PCR were included in the study. FFPE samples were analyzed via NGS (Solo-test Atlas Pro, 38 genes, MSI). Samples determined as RAS / BRAFV600-positive by NGS were validated with PCR.

Results: A total of 111 samples were analyzed via NGS. A total of 172 alterations in 17 genes were found; alterations in any of the genes covered by the panel were found in 96 (86.5%) samples. The variant allele frequency ranged 1.3–93.0%. NGS identified 29 (26.1%) samples with KRAS (n = 24), NRAS (n = 3) or BRAF p. V600E (n = 4) mutations. Confirmatory PCR testing of 16 RAS / BRAF p. V600E-positive samples resulted in 100% agreement with NGS. Among RAS / BRAFV600-negative samples, 10 (9%) samples harbored other alterations (ERBB2 amplification, n = 3; PIK3CA, n = 2; MSI, n = 1; BRAF class II mutation, n = 1; ERBB3, n = 1). A total of 11 samples harbored more than 1 alterations associated with potential resistance. BRAF class II / III mutations were found in 4 samples, PIK3CA mutations — in 17 (15.3%) samples (of those, 5 samples harbored mutations in exon 21).

Conclusions: The results of this retrospective analysis demonstrate that a high frequency of false-positive routine PCR results may lead to incorrect indication of anti-EGFR therapy in ~ 26% cases. Analysis of alterations beyond RAS / BRAFV600 might identify an additional 9% of patients whose tumors are potentially resistant to anti-EGFR therapy.

Key words: colorectal cancer, anti-EGFR therapy, resistance biomarkers, KRAS

For citation: Lebedeva A.A., Byakhova M.M., Pokataev I.A., et al. Biomarkers of resistance to anti-EGFR therapy in patients with left-sided colorectal cancer: a retrospective NGS analysis. Zlokachestvennie opuholi = Malignant Tumors 2024;14(4):58–69 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2024-030>

ВВЕДЕНИЕ

Распространенный или метастатический колоректальный рак (мКРР), включающий в себя рак ободочной кишки, рак прямой кишки и ректосигмоидного соединения, является вторым в структуре обоих полов по частоте ежегодной заболеваемости злокачественными новообразованиями, а также одной из ведущих причин смертности от рака как в РФ по данным за 2021 год [1], так и в мире по данным за 2022 год [2]. Алгоритм принятия решения о тактике лечения больных мКРР в последние годы претерпел значительные изменения и на текущий момент учитывает не только клинические характеристики опухоли, но и ее молекулярный профиль.

Активирующие мутации в генах KRAS/NRAS и BRAF V600E являются одними из наиболее распространенных драйверных нарушений в мКРР. Мутации KRAS обнаруживаются примерно в 40% опухолей пациентов с мКРР, а мутации NRAS — примерно в 4% случаев. Мутации BRAF встречаются у приблизительно 7% пациентов с мКРР, при этом наиболее распространенная миссенс-мутация BRAF V600E составляет до 80–95% всех мутаций BRAF [3–7]. В настоящее время тип KRAS/NRAS и BRAF является показателем к назначению анти-EGFR моноклональных антител (цетуксимаба, панитумумаба) в комбинации с химиотерапией. Такая опция наиболее эффективна для лечения пациентов с левосторонними опухолями, в то время как для пациентов с правосторонними опухолями предпочтительной опцией является терапия с добавлением бевацизумаба ввиду меньшего ожидаемого улучшения ВБП и ОВ на фоне анти-EGFR терапии у этих пациентов [8–10]. Однако, хотя для большинства пациентов развитие приобретенной резистентности к лечению неизбежно, у некоторых пациентов наблюдается первичная резистентность [11–14]. Онкогенная активация генов RAS и BRAF является известным механизмом устойчивости к анти-EGFR MAb у пациентов с мКРР [15], как показано в многочисленных клинических исследованиях [16–20]. В современной клинической практике решения о лечении моноклональными антителами против EGFR основываются на мутационном анализе генов RAS/BRAF [9,21].

Помимо мутаций RAS/BRAF, другие драйверные события также могут оказывать влияние на эффективность терапии анти-EGFR моноклональными антителами. Так, результаты исследований PRESSING [22] и PARADIGM [23] свидетельствуют о том, что одновременный скрининг различных генов, активность которых часто повышается при КРР, может быть наиболее эффективным подходом для отбора пациентов на терапию цетуксимабом или панитумумабом. Используемая в исследованиях негативная гиперселекция — то есть отбор пациентов на основании отсутствия у них не только активирующих вариантов в генах RAS и BRAF, но и других потенциально драйверных альтераций — позволила лучше прогнозировать результаты эффективности анти-EGFR терапии. В частности, гиперселектированные пациенты в PRESSING без альтераций достигли достоверно лучших результатов как в выживаемости без прогрессирования (ВБП), так и в общей выживаемости (ОВ). Аналогично,

в под-анализе исследования PARADIGM было показано, что медиана ОВ для пациентов без альтераций в драйверных генах выше при получении терапии анти-EGFR ингибиторами, в то время как в группе пациентов с онкогенными альтерациями стандартная химиотерапия с бевацизумабом является более эффективной опцией. Кроме того, последние литературные данные свидетельствуют о том, что исследование генов KRAS, BRAF с помощью секвенирования следующего поколения (NGS) позволяет увеличить частоту выявления мутаций более чем на 10% [24,25].

В этой работе мы описываем результаты ретроспективного анализа образцов пациентов с колоректальным раком (КРР), материал которых ранее был определен как RAS/BRAF V600E-отрицательный по результатам ПЦР-диагностики, получавших терапию анти-EGFR моноклональными антителами (цетуксимаб или панитумумаб), с использованием NGS.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Цель работы — исследование встречаемости биомаркеров в субпопуляции пациентов с левосторонним КРР с диким типом RAS/BRAF, которые могут быть основанием отказа от анти-EGFR терапии. Дизайн исследования — ретроспективное многоцентровое клиническое исследование. В исследование были включены пациенты с морфологически подтвержденным левосторонним КРР, проходившие лечение на базе филиала Онкологического центра №1 ГБУЗ «ГКБ им С.С. Юдина ДЗМ» г. Москвы, в период с 2019 по 2022 год. Все пациенты получали химиотерапию в режиме FOLFIRI/FOLFOX в комбинации с анти-EGFR терапией в первой линии и имели отрицательный статус генов KRAS, NRAS и BRAF по данным ПЦР-диагностики, проведенной в различных лабораториях РФ. Пациентам было проведено расширенное NGS-тестирование. В случаях, когда по результатам NGS были обнаружены активирующие варианты в генах KRAS, NRAS или вариант BRAF p. V600E, пациентам было проведено повторное ПЦР-тестирование на базе филиала Онкологического центра №1 ГБУЗ «ГКБ им С.С. Юдина ДЗМ» г. Москвы.

Выделение ДНК и секвенирование

ДНК была выделена из архивных FFPE блоков с использованием набора для выделения cobas® DNA Sample Preparation Kit (Roche, Швейцария) в соответствии с инструкцией производителя.

Амплификация целевых регионов была проведена с использованием тест-системы Соло-тест Драйвер (Онко-Атлас, Россия), позволяющей анализировать альтерации (генетические варианты, варианты числа копий) в 38 генах (AKT1, AKT2, AKT3, ALK, ARAF, BRAF, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ESR1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, H3F3A, HIST1H3B, HIST1H3C, HRAS, IDH1, IDH2, KIT, KRAS, MET, NRAS, POLE,

PDGFRA, PIK3CA, PTEN, RAC1, RAF1, RIT1, ROS1, STK11, TP53), а также микросателлитную нестабильность (MSI). Таким образом, выбранная панель позволяет в полной мере проводить анализ маркеров, выбранных для оценки статуса по гиперселекции.

Анализ данных секвенирования проводился с помощью программного обеспечения Solo AVEs (ОнкоАтлас, РФ). Амплификация гена считалась высокоуровневой при увеличении числа копий в 7 и более раз [26–30]. Интерпретация эффекта генетических вариантов проводилась в соответствии с руководствами профессиональных сообществ [31–32]. Учитывая фокус исследования на маркерах резистентности, мутации считались клинически значимыми вне зависимости от частоты альтернативного аллеля (ЧАА) [33]. Предел детектирования вариантов (аналитическая чувствительность) составил от 0,5% до 5% ЧАА в зависимости от конкретного варианта и образца.

Образцы считались положительными по генам гиперселекции (HSG+) в случае, если обнаруживались альтерации, приводящие к активации сигнальных каскадов PI3K/AKT/mTOR и/или Ras/Raf/MAPK. При этом не учитывались нарушения или классы нарушений, ранее продемонстрировавшие отсутствие ассоциации с влиянием на эффективность или резистентность к анти-EGFR терапии. Таким образом, молекулярные альтерации в списке следующих генов интерпретировались как HSG+: AKT1, AKT2, BRAF (варианты I и II классов, амплификация), EGFR (мутации в эктодоме), ERBB2, ERBB3, FGFR1, FGFR2, KRAS, MET, NRAS, PIK3CA (мутации в 21 экзоне), PTEN, RAC1, RAF1, RIT1. В дополнение к приведенному списку наличие MSI или альтераций POLE также интерпретировалось, как HSG+ [34–35]. В случае, если не было выявлено вышеперечисленных альтераций или MSI, образец считался HSG-отрицательным (HSG–). Нумерация экзонов PIK3CA приведена в соответствии с транскриптом ENST00000263967.3.

Повторное ПЦР-тестирование

Мутации KRAS/NRAS считались рутинными в случае, если все зарегистрированные в РФ диагностические тест-системы детектируют эти мутации [36].

Образцы, в которых по результатам NGS были выявлены мутации в генах KRAS, NRAS, BRAF p. V600, были перепроверены в лаборатории филиала Онкологического центра №1 ГБУЗ «ГКБ им С.С. Юдина ДЗМ» г. Москвы. Для определения основных мутаций в кодонах 12, 13 и 61 гена KRAS была использована тест-система cobas® KRAS Mutation (Roche, Швейцария). Для выявления мутаций гена BRAF в позиции p. V600 была использована тест-система cobas® 4800 BRAF V600 Mutation (Roche, Швейцария). Мутации в 12, 13 и 61 кодонах гена NRAS определялись с использованием тест-системы Real-time PCR NRAS 3R (БиоЛинк, Россия).

Статистический анализ

Доверительные интервалы встречаемости маркеров рассчитывались исходя из предположения о биномиаль-

ном распределении положительных случаев, сравнение с литературными данными осуществлялось с помощью теста Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследуемая популяция и материал

В рамках исследования были проанализированы образцы 113 пациентов, получавших терапию анти-EGFR моноклональными антителами (FFPE блоки, для каждого пациента по 1 образцу). NGS-тестирование было успешно выполнено для 111 (98,3%) образцов. Среднее покрытие составило 2036x (диапазон — от 419x до 6259x). Клинико-морфологические характеристики были доступны для 110 (97%) пациентов, включенных в исследование (табл. 1).

Таблица 1. Клинико-морфологические характеристики пациентов, включенных в исследование

Table 1. Clinical and morphological characteristics of the patients included in the study

		Количество пациентов (%)
Пол	Женский	48 (43,6%)
	Мужской	62 (56,4%)
Возраст (среднее ± стандартное отклонение)	65,2 ± 10,4	99 ¹
Возраст на момент постановки диагноза	61,7 ± 10,5	95 ¹
Сторона поражения	Правая	0 (0%)
	Левая	78 (70,9%)
	Прямая кишка	32 (29,1%)
Степень дифференцировки	G1	16 (14,6%)
	G2	54 (49,1%)
	G3	9 (8,2%)
	Нет данных	31 (28,2%)
Стадия заболевания	I	1 (0,9%)
	II	13 (11,8%)
	III	26 (23,6%)
	IV	70 (63,6%)
Гистологический подтип	Аденокарцинома	103 (93,6%)
	Перстневидноклеточный	4 (3,6%)
	Муцинозный	2 (1,8%)
	Нет данных	1 (0,9%)
Наличие метастазов на момент установки диагноза	Есть	69 (62,7%)
	Нет	40 (36,4%)
	Нет данных	1 (0,9%)

¹ Количество пациентов, для которых доступна информация

¹ Total number of patients with available information

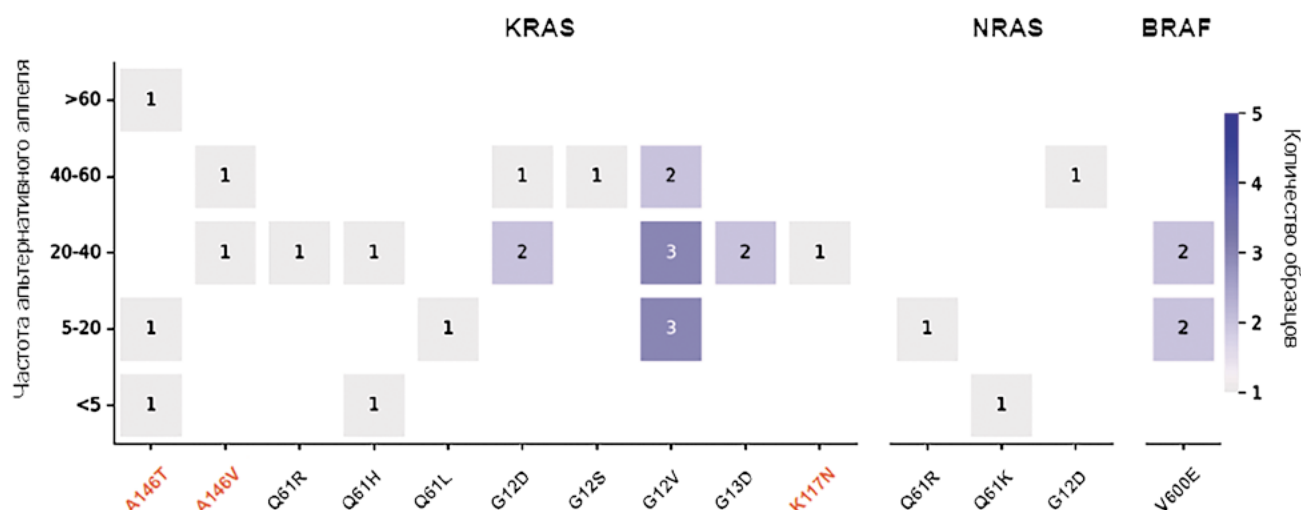


Рисунок 1. Частота альтернативного аллеля вариантов в генах KRAS, NRAS и варианта BRAF p. V600E, обнаруженных по результатам ретроспективного NGS-анализа материала пациентов, получавших анти-EGFR терапию. Красным отмечены добавочные варианты (см. «Методы»)

Figure 1. Variant allele frequencies of mutations in KRAS, NRAS and BRAF p. V600E observed in the retrospective NGS analysis of patients treated with anti-EGFR therapy. Rare mutations are highlighted in red (see “Methods”)

Частота объективного ответа (ЧОО) на анти-EGFR терапию в общей группе пациентов составила 39%. Медиана времени до прогрессирования составила 9,6 месяца. Медиана выживаемости без прогрессирования для первой линии терапии составила 9,5 месяца. Медиана ОВ не была достигнута, а 12-месячная ОВ составила 42,9% (95% ДИ, 0,25–0,60). Медиана наблюдения пациентов составила 20,8 месяца от старта первой линии терапии.

Альтерации в покрываемых панелью генах были выявлены у 96 (86,5%) пациентов. Всего было выявлено 172 соматических альтераций в 17 генах; наиболее часто обнаруживались мутации в гене TP53 (84 альтерации, 49%). Большинство генетических вариантов были повреждающими ($n = 83$, 48,3%) или активирующими ($n = 51$, 30,3%), реже встречались варианты неопределенного значения ($n = 19$, 10,7%) и вероятно повреждающие варианты ($n = 11$, 6,2% пациентов). Также было выявлено 7 (4%) амплификаций и 1 (0,6%) делеция. Дополнительно у 1 пациента была выявлена микросателлитная нестабильность (MSI).

Диапазон ЧАА среди обнаруженных вариантов составил 1,3%–93,0%. Медиана ЧАА всех обнаруженных вариантов составила 24,1%. Всего было обнаружено 10 генетических вариантов с ЧАА меньше 5%, при этом 3 из них были вариантами генов RAS.

Молекулярный профиль RAS/RAF

По результатам NGS-анализа у 29 пациентов (26,1% от всех включенных в ретроспективное исследование пациентов) были выявлены онкогенные варианты в генах KRAS/NRAS или вариант BRAF p. V600E. У 24 пациентов (21,6% от всех) были выявлены мутации в гене KRAS. Наиболее часто встречающимся вариантом KRAS был

вариант p. Gly12Val ($n = 8$, 33,3% от всех KRAS-положительных образцов). Рутинно встречающиеся характерные для KPP варианты KRAS были обнаружены в 19 образцах (79% от всех KRAS-положительных образцов), добавочные — в 5 (20,8%). Варианты KRAS обнаруживались с ЧАА в диапазоне 1,3–83,7% (медиана, 25,9%). У 3 (1,9%) пациентов были выявлены онкогенные варианты в гене NRAS — у 2 пациентов был вариант NRAS p. Q61R, у 1 — p. G12D. Варианты NRAS обнаруживались с ЧАА 1,57%, 12,14% и 42,32%. У 2 пациентов (1,3%) был выявлен вариант BRAF p. V600E (вариант BRAF I класса). Вариант BRAF p. V600E обнаруживался с ЧАА в 21% и 14% (рис. 1).

Для пациентов, у которых были выявлены ранее не задокументированные варианты в генах RAS или BRAF p. V600E, был проведен повторный ПЦР-анализ на базе ГБУЗ «ГКОБ № 1 ДЗМ» г. Москвы. Повторное ПЦР-тестирование было проведено для 16 (51,6%) RAS/BRAF p. V600E-положительных пациентов (12 KRAS+, 2 NRAS+, 2 BRAF+). При повторном анализе наблюдалось 100% согласие ПЦР и NGS.

Потенциальные маркеры резистентности помимо RAS/BRAFV600

Среди RAS/BRAF V600E-отрицательных образцов ($n = 82$), в 10 (9% от всех проанализированных образцов) образцах были выявлены другие альтерации, ассоциированные с потенциальной резистентностью к анти-EGFR терапии. При обнаружении как минимум одной клинически значимой альтерации в проанализированных генах образец считался положительным по гиперселекции. У 4 (3,6% от всей исследуемой популяции, 4,9% от RAS/BRAFV600-негативных образцов) пациентов были выявлены альтерации

помимо KRAS, NRAS и BRAF V600E, анализ которых также предписан клиническими руководствами по лечению пациентов с КРП. У 3 (2,7% от всей исследуемой популяции, 3,7% от RAS/BRAFV600-негативных образцов) пациентов были выявлены высокоуровневые амплификации ERBB2 (количество копий гена 11х, 16,5х и 48х). Еще у 1 (0,6% от всей исследуемой популяции, 1,2% от RAS/BRAFV600-негативных образцов) пациента была выявлена MSI.

В образцах других RAS/BRAF V600E-отрицательных HSG+ пациентов были выявлены и другие альтерации, анализ которых на сегодняшний момент не является стандартом клинической практики. У 3 (3,7% от RAS/BRAFV600-отрицательных) пациентов, включая 1 MSI-положительный образец, были выявлены повреждающие варианты PTEN. У еще 2 (2,4%) пациентов были выявлены активирующие варианты в 21 экзоне PIK3CA; оба обнаруженных варианта затрагивали позицию рекуррентного мутагенеза p. H1047. У 1 (1,2%) пациента был выявлен активирующий вариант в гене ERBB3, еще у одного (1,2%) — мутация II класса BRAF.

Таким образом, дополнительно к RAS/BRAF p. V600E-положительным пациентам, NGS-тестирование позволяет дополнительно выявить 9% пациентов, для которых анти-EGFR терапия потенциально неэффективна. При этом в нашем исследовании дополнительно у 4,9% пациентов, у которых по результатам NGS-анализа не было выявлено альтераций в генах RAS и варианта BRAF p. V600E, была выявлена высокоуровневая амплификация ERBB2 или MSI — биомаркеры, которые рутинно анализируются для паци-

ентов с КРП. Кроме того, среди всех проанализированных пациентов у 11,7% были обнаружены альтерации в прочих генах гиперселекции за пределами рутинных мутаций RAS, входящих в зарегистрированные в РФ ПЦП-панели, BRAF p. V600E, ERBB2 или MSI, либо были выявлены варианты RAS/BRAFV600 с низкой ЧАА. У 27% пациентов были обнаружены варианты, которые не детектируются одной или более зарегистрированными в РФ ПЦП тест-системами. У 7,3% пациентов дикого типа RAS/BRAFV600E/ERBB2/MSI были обнаружены прочие маркеры потенциальной резистентности к анти-EGFR терапии.

В образцах 11 HSG+ пациентов было выявлено более одного биомаркера потенциальной резистентности (9 образцов — 2 мутации, 2 образца — 3 мутации) к анти-EGFR терапии. Так, у 8 пациентов с KRAS мутациями (из 24 KRAS+ пациентов — 33%) были выявлены мутации в генах PIK3CA (n = 7), PTEN (n = 2) или амплификация ERBB2 (n = 1). В 8 PIK3CA-положительных образцах (активирующие мутации в любом экзоне PIK3CA) (из 14 PIK3CA+ образцов — 57%), помимо KRAS, были также выявлены мутации PTEN (n = 2), NRAS (n = 1). Помимо вышеописанного, в 4 PTEN-положительных образцах (из 7 PTEN+ образцов — 57%) также встречались мутации III класса BRAF (n = 1), MSI (n = 1). Наконец, в 1 KRAS-положительном образце было выявлено 2 варианта PIK3CA, включая 1 вариант в 21 экзоне.

При сравнении полученных результатов для KRAS/NRAS/BRAF V600-негативных пациентов с литературными данными (когорты MSK-MET [30], n = 910),

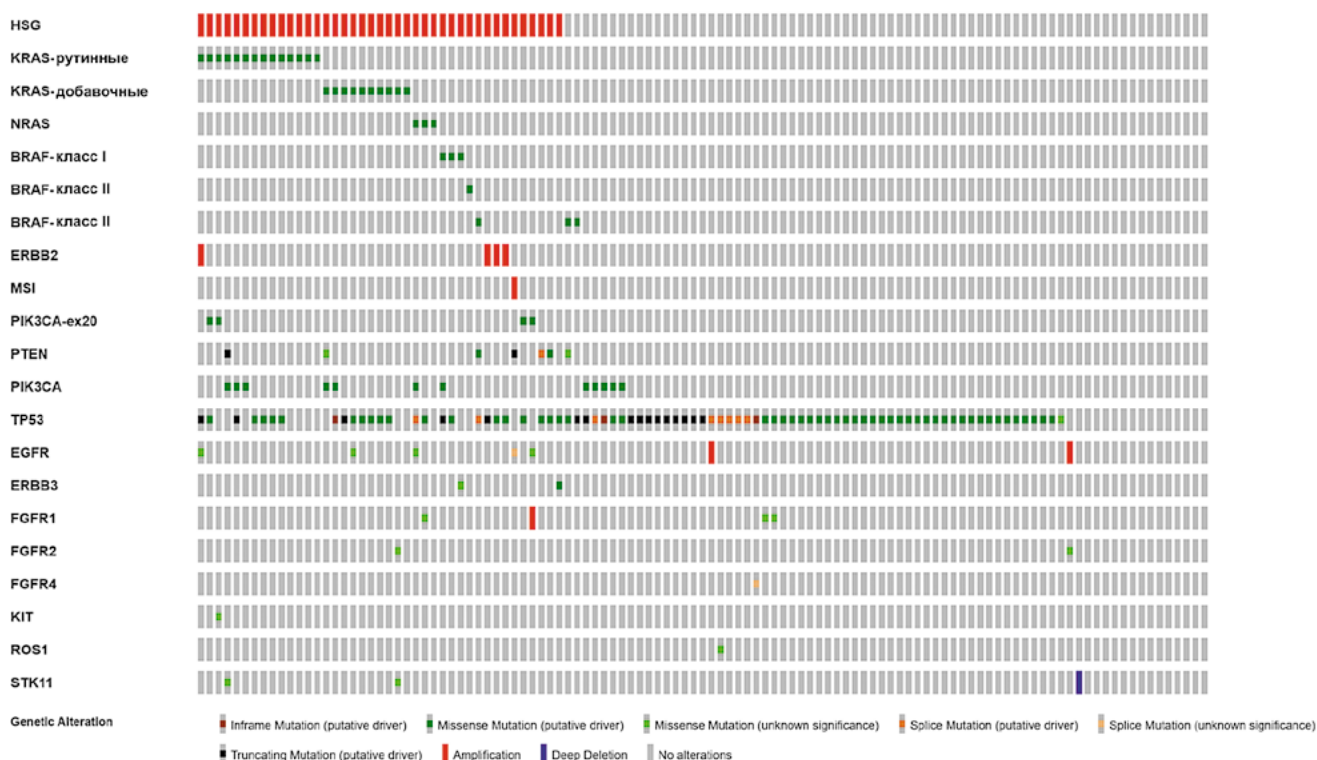


Рисунок 2. Молекулярно-генетическая эпидемиология ретроспективного исследования.

Figure 2. Epidemiology of genomic alterations observed in the retrospective study

Таблица 2. Сравнение частот встречаемости обнаруженных биомаркеров потенциальной резистентности к анти-EGFR терапии в KRAS/NRAS/BRAFV600-отрицательных образцах ретроспективного исследования (n = 82) с результатами проекта MSK-MET (n = 1960, из них 910 — KRAS/NRAS/BRAFV600-отрицательные) [37].

Table 2. Comparison between the frequencies of the observed biomarkers associated with the potential resistance to anti-EGFR therapy in KRAS/NRAS/BRAFV600-negative samples in our study (n = 82) with the results of the MSK-MET project (n = 1960, 910 of which were KRAS/NRAS/BRAFV600-negative) [37]

Биомаркер потенциальной резистентности	Количество пациентов, у которых выявлен биомаркер среди RAS/BRAFV600-негативных пациентов (частота, 95% ДИ)	Количество пациентов, у которых выявлен биомаркер среди RAS/BRAFV600-негативных пациентов (частота, 95% ДИ)	P-value
ERBB2 амплификация	3 (3,7%, 0,76–10,3%)	18 (2%, 1,07–2,88%)	0,411
PTEN драйверная мутация	2 (2,4%, 0,3–8,5%)	49 (5,4%, 3,92–6,85%)	0,425
PIK3CA p. H1047	2 (2,4%, 0,3–8,5%)	6 (0,7%, 0,13–6,85%)	0,1402
BRAF мутация II класса	1 (1,2%, 0,03–6,6%)	9 (1%, 0,35–1,63%)	0,5805
ERBB3 драйверная мутация	1 (1,2%, 0,03–6,6%)	13 (1,4%, 0,66–2,2%)	1
Микросателлитная нестабильность	1 (1,2%, 0,03–6,6%)	25 (2,7%, 1,69–3,81%)	0,716
ERBB2 драйверная мутация	0	21 (2,3%, 1,33–2,38%)	0,4048
KRAS амплификация	0	17 (1,9%, 0,99–2,75%)	0,3879
PTEN делеция	0	9 (1%, 0,35–1,63%)	1
MET амплификация	0	7 (0,8%, 0,2–1,34%)	1
EGFR драйверная мутация	0	6 (0,7%, 1,13–1,19%)	1
RAC1 амплификация	0	3 (0,3%, 0,00–0,7%)	1
POLE драйверная мутация	0	2 (0,2%, 0,00–0,52%)	1
NRAS амплификация	0	1 (0,1%, 0,00–0,33%)	1

частота HSG+ пациентов статистически не отличалась (10 из 82 (12,2%) против 172 из 910 (18,9%), $p = 0,232$). Детальное сравнение по обнаруженным биомаркерам приведено в таблице 2. В обеих популяциях не были выявлены пациенты с альтерациями, потенциально ассоциированными с резистентностью к анти-EGFR терапии, такими как RIT1 мутации/амплификации, BRAF амплификации, RAC1 мутации/амплификации, RAF1 мутации/амплификации, ARAF мутации/амплификации, AKT1 мутации/амплификации и ERBB3 амплификации.

Дополнительные результаты

Суммарно у 6 пациентов (5,4% от всех пациентов, включенных в исследование) были обнаружены варианты BRAF. За исключением 2 вариантов I класса (p. V600E), у 1 и 3 пациентов были выявлены варианты II и III класса соответственно. Мутации BRAF III класса не рассматривались как маркеры потенциальной резистентности, а обнаружение таких мутаций не приводило к классификации образца как HSG+ (см. «Материалы и методы»). К выявленным вариантам III класса относятся варианты p. D594G (n = 2), p. G466E (n = 1). У пациента с вариантом II класса был выявлен вариант p. G469V (табл. 3). Варианты II и III класса BRAF выявлялись с ЧАА 8–29% (медиана, 26,5%). Два (50%) образца с BRAF II/III класса считались положительными по генам гиперселекции: 1 образец с вариантом BRAF II класса и 1 вариант с вариантом III класса, в котором также был выявлен повреждающий вариант PTEN.

У 17 пациентов (15,3% от всех пациентов, включенных в исследование) были выявлены варианты PIK3CA, 16 из которых были активирующими, 1 — вариант неопределенного значения (рис. 3). Активирующие варианты PIK3CA вне 21-го экзона не рассматривались как маркеры потенциальной резистентности, а обнаружение таких мутаций не приводило к отнесению образца к подгруппе HSG+ (см. «Материалы и методы»). Среди активирующих вариантов 6 были локализованы в 10 экзоне, 5 — в 21 экзоне, 4 варианта были обнаружены во 2 экзоне, 1 — в 5 экзоне. В образцах двух пациентов было выявлено по 2 варианта PIK3CA: в одном образце было выявлено 2 варианта, затрагивающих 10 и 21 экзоны, в еще одном — активирующий вариант и вариант неопределенного значения, затрагивающие 2 экзон PIK3CA. В 8 образцах (50% от PIK3CA-положительных образцов), в которых был выявлен как

Таблица 3. Статистика по обнаруженным вариантам в гене BRAF в исследованных образцах

Table 3. BRAF mutations observed in the study

Класс варианта BRAF	Наблюдаемые варианты (количество образцов)
Класс I	p. V600E (n = 2)
Класс II	p. G469V (n = 1)
Класс III	p. D594G (n = 2) p. G466E (n = 1)

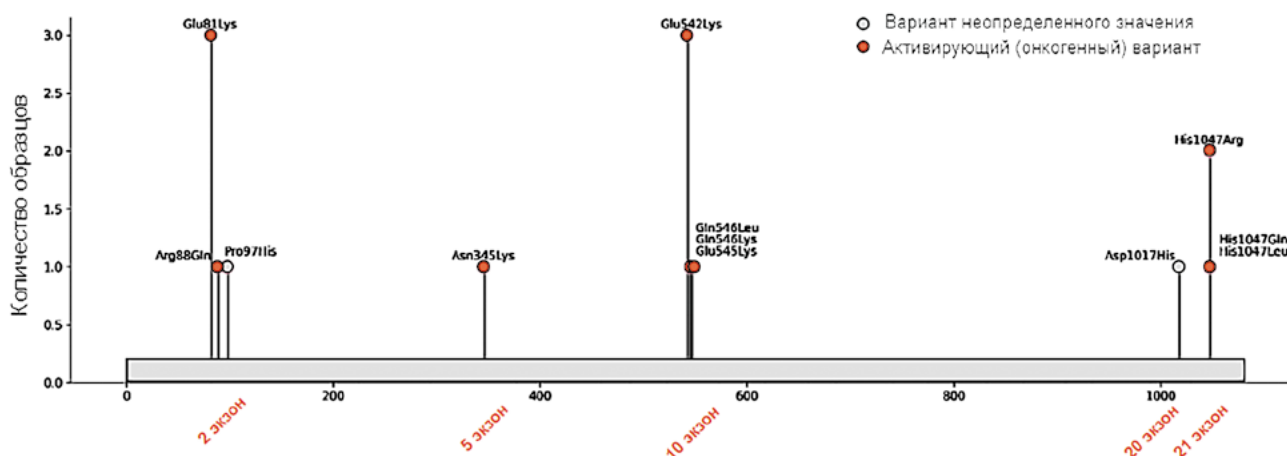


Рисунок 3. Встречаемость различных вариантов PIK3CA при ретроспективном анализе образцов пациентов. Номера экзонов приведены в соответствии с транскриптом ENST00000263967.3

Figure 3. PIK3CA mutations observed in the retrospective study. Exons are numbered according to the ENST00000263967.3 transcript

минимум один активирующий вариант PIK3CA, были также выявлены RAS-мутации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на наличие устоявшегося алгоритма принятия решений о назначении терапии анти-EGFR моноклональными антителами для пациентов с КРП, результаты последних исследований свидетельствуют о том, что проведение дополнительной гиперселекции позволяет отбирать пациентов, для которых такая терапия может быть наиболее эффективна. Такую гиперселекцию наиболее целесообразно проводить с использованием расширенных NGS-панелей, включающих известные биомаркеры резистентности к анти-EGFR терапии. Так, в ретроспективном исследовании PRESSING, в ходе которого была проанализирована эффективность анти-EGFR терапии в зависимости от наличия альтераций в генах HER2/MET (амплификации), ALK/ROS1/NTRKs/RET (перестройки), HER2/PIK3CA мутации 21 экзона/PTEN/AKT1/RAS и MSI, эффективность анти-EGFR терапии была выше в группе гиперселектированных пациентов: ЧОО 9,2% против 75,3% ($P = 0,030$), медиана ВБП 7,7 против 12,1 месяца ($P < 0,001$) и 2-летняя ОВ 48,1% против 68,1% ($P = 0,021$) [22]. Схожие результаты были получены в исследовании PANDA: медиана ВБП пациентов с альтерациями (7,6 против 12,8 месяца, $p < 0,001$), медиана ОВ (20,0 против 29,5 месяца, $p = 0,002$) и ЧОО (51% против 71%, $p = 0,02$) были ниже для пациентов с выявленными альтерациями в проанализированных генах относительно гиперселектированных пациентов [38].

Основываясь на опыте, полученном в международных исследованиях, мы провели ретроспективный анализ встречаемости альтераций у российских пациентов с мКРП, получавших терапию с добавлением анти-EGFR моноклональных антител. У всех проанализированных пациентов по

результатам изначального ПЦР-скрининга, проведенного в различных лабораториях, не было выявлено «классических» биомаркеров резистентности к анти-EGFR терапии, на основании чего пациентам была назначена такая терапия. Несмотря на это, ретроспективный анализ с использованием NGS выявил у 18,5% проанализированных пациентов наличие альтераций в генах RAS или BRAF p. V600E. При этом только 4 варианта KRAS, 2 варианта NRAS и 1 вариант BRAF p. V600E (24% от RAS/BRAF p. V600E-положительных образцов) были обнаружены с ЧАА более 15% — ЧАА, при которой чувствительности ПЦР достаточно для обнаружения вариантов. Кроме того, среди обнаруженных KRAS вариантов, 79% составляли рутинные KRAS варианты, входящие в зарегистрированные в РФ ПЦР-панели.

В исследовании Su et al. (2022) конкордантность между NGS против ПЦР при выявлении мутаций в генах KRAS/NRAS/BRAF составила 87,8–92,7% [39]. В другом исследовании Kothari et al. (2014) конкордантность составила 96% [40], а в исследовании Darwanto et al. (2017) достигла 100% [41]. Использование стандартного метода ПЦР может приводить к недовыявлению менее распространенных вариантов KRAS в кодонах 61, 117 и 146. Субклональность KRAS мутаций также может быть одной из причин ложноотрицательных результатов [42]. Таким образом, в нашем исследовании было показано, что использование расширенной панели NGS у пациентов с отрицательным статусом по ПЦР-диагностике, позволяет выявить не только ложноотрицательные случаи, но и дополнительные маркеры первичной резистентности. Следует отметить, что оценить причины ложноотрицательных результатов достаточно сложно, что может быть связано с рядом обстоятельств, таких как, например, использование различных тест-систем и методик в лабораториях. Учитывая то, что ранее не задокументированные мутации KRAS/NRAS/BRAF V600E, обнаруженные в ходе NGS анализа, были подтверждены повторным

ПЦР-тестированием в 100% проанализированных случаев, ранее полученные результаты можно рассматривать как ложноотрицательные, причиной которых может быть некорректная лабораторная методология, либо ошибки в ходе ведения медицинской документации.

Данные по эффективности анти-EGFR терапии в подгруппах HSG+ и HSG– будут представлены отдельно. Основываясь на результатах ретроспективного анализа, было инициировано собственное проспективное исследование по оценке эффективности терапии анти-EGFR в зависимости от наличия альтераций в генах гиперселекции по результатам NGS (NCT06226857).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описанные результаты ретроспективного анализа образцов пациентов с колоректальным раком, получавших анти-EGFR терапию, с использованием NGS, демонстрируют высокую долю ложноотрицательных результатов по результатам рутинной ПЦР-диагностики, что приводит к излишнему назначению таргетной терапии (~ 26% случаев). Расширение спектра диагностируемых альтераций имеет потенциал определить дополнительные 9% пациентов, опухоли которых могут быть резистентны к анти-EGFR терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022.252 с.
Malignant tumors in Russia in 2021 (morbidity and mortality). Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, A.O. Shachzadova. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMITS radiologii” Minzdrava Rossii, 2022.252 p (In Russ.)
2. Bray F., Laversanne M., Sung H., et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024;74(3):229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834> PMID: 38572751
3. Казаченко Е.А., Шубин В.П., Отставнов С.С. и соавт. Статус генов RAS/BRAF у пациентов с колоректальным раком (обзор литературы). *Колопроктология* 2024;23(3):112–125. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2024-23-3-112-125>.
Kazachenko E.A., Shubin V.P., Otstanov S.S., et al. The RAS/BRAF genes status in patients with colorectal cancer (review). *Koloproktologia.* 2024;23(3):112–125 (In Russ.). <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2024-23-3-112-125>
4. Davies H., Bignell G.R., Cox C., et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002;417(6892):949–954. <https://doi.org/10.1038/nature00766> PMID: 12068308
5. Barras D., Missiaglia E., Wirapati P., et al. BRAF V600E Mutant Colorectal Cancer Subtypes Based on Gene Expression. *Clin Cancer Res* 2017;23(1):104–115. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0140>
6. De Roock W., Claes B., Bernasconi D., et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol* 2010;11(8):753–762. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70130-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70130-3)
7. Cantwell-Dorris E.R., O’Leary J.J., Sheils O.M. BRAFV600E: implications for carcinogenesis and molecular therapy. *Mol Cancer Ther* 2011;10(3):385–394. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-10-0799>
8. Arnold D., Lueza B., Douillard J.Y., et al. Prognostic and predictive value of primary tumour side in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy and EGFR directed antibodies in six randomized trials. *Ann Oncol* 2017;28(8):1713–1729. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx175>
9. Cervantes A., Adam R., Roselló S., et al. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2023;34(1):10–32. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.10.003>
10. Sun H., Li Y., Su Y., et al. Efficacy and safety of anti-EGFR monoclonal antibodies combined with different chemotherapy regimens in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer: A meta-analysis. *J Evid Based Med* 2019;12(4):300–312. <https://doi.org/10.1111/jebm.12360>
11. Douillard J.Y., Siena S., Cassidy J., et al. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol* 2010;28(31):4697–4705. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.27.4860>
12. Peeters M., Price T.J., Cervantes A., et al. Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010;28(31):4706–4713. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.27.6055>
13. Van Cutsem E., Köhne C.H., Hitre E., et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009;360(14):1408–1417. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0805019>
14. Amado R.G., Wolf M., Peeters M., et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26(10):1626–1634. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.14.7116>

15. Misale S., Yaeger R., Hobor S., et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Nature* 2012;486(7404):532–536. <https://doi.org/10.1038/nature11156>
16. Venook A.P., Niedzwiecki D., Lenz H.J., et al. Effect of first-line chemotherapy combined with cetuximab or bevacizumab on overall survival in patients with KRAS wild-type advanced or metastatic colorectal cancer: a randomized clinical trial. *JAMA* 2017;317(23):2392–2401. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.7105>
17. Cremolini C., Antoniotti C., Lonardi S., et al. Activity and safety of cetuximab plus modified FOLFOXIRI followed by maintenance with cetuximab or bevacizumab for RAS and BRAF wild-type metastatic colorectal cancer: a randomized phase 2 clinical trial. *JAMA Oncol* 2018;4(4):529–536. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.5314>
18. Bokemeyer C., Köhne C.H., Ciardiello F., et al. FOLFOX4 plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2015;51(10):1243–1252. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.04.007>
19. Kim T.W., Elme A., Kusic Z., et al. A phase 3 trial evaluating panitumumab plus best supportive care vs best supportive care in chemorefractory wild-type KRAS or RAS metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2016;115(10):1206–1214. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.309> PMID: 27736842
20. Douillard J.Y., Oliner K.S., Siena S., et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med* 2013;369(11):1023–1034. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1305275>
21. Benson A.B., Venook A.P., Adam M., et al. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Colon Cancer Version 3.2024 — May 24, 2024. Available on: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf
22. Morano F., Corallo S., Lonardi S., et al. Negative hyperselection of patients with RAS and BRAF wild-type metastatic colorectal cancer who received panitumumab-based maintenance therapy. *J Clin Oncol* 2019;37(33):3099–3110. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.01254>
23. Watanabe J., Muro K., Shitara K., et al. Panitumumab vs bevacizumab added to standard first-line chemotherapy and overall survival among patients with RAS wild-type, left-sided metastatic colorectal cancer: a randomized clinical trial [published correction appears in *JAMA*. 2023 Jun 27;329(24):2196. *JAMA* 2023;329(15):1271–1282. <https://doi.org/10.1001/jama.2023.4428>
24. Vidal J., Bellosillo B., Santos Vivas C., et al. 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. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz005>
25. Ma W., Brodie S., Agersborg S., et al. Significant Improvement in Detecting BRAF, KRAS, and EGFR Mutations Using Next-Generation Sequencing as Compared with FDA-Cleared Kits. *Mol Diagn Ther* 2017;21(5):571–579. <https://doi.org/10.1007/s40291-017-0290-z>
26. Wolf J., Seto T., Han J.Y., et al. Capmatinib in MET Exon 14-Mutated or MET-Amplified Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2020;383(10):944–957. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002787>
27. Chen J., Xu C., Wang Q., et al. Exploration on the first-line treatment of ERBB2-altered advanced non-small cell lung cancer: A multicenter retrospective study. *Lung Cancer* 2023;183:107315. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2023.107315>
28. Song Z., Lv D., Chen S.Q., et al. Pyrotinib in patients with HER2-amplified advanced non-small cell lung cancer: a prospective, multicenter, single-arm trial. *Clin Cancer Res* 2022;28(3):461–467. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-2936>
29. Camidge D.R., Otterson G.A., Clark J.W., et al. Crizotinib in patients with MET-amplified NSCLC. *J Thorac Oncol* 2021;16(6):1017–1029. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.02.010>
30. Rodón J., Damian S., Furqan M., et al. Pemigatinib in previously treated solid tumors with activating FGFR1-FGFR3 alterations: phase 2 FIGHT-207 basket trial. *Nat Med* 2024;30(6):1645–1654. <https://doi.org/10.1038/s41591-024-02934-7>. Erratum in: *Nat Med*. 2024 Aug;30(8):2377. <https://doi.org/10.1038/s41591-024-03072-w>
31. Richards S., Aziz N., Bale S., et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17(5):405–424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
32. Horak P., Griffith M., Danos A.M., et al. Standards for the classification of pathogenicity of somatic variants in cancer (oncogenicity): Joint recommendations of Clinical Genome Resource (ClinGen), Cancer Genomics Consortium (CGC), and Variant Interpretation for Cancer Consortium (VICC) [published correction appears in *Genet Med*. 2022 Sep;24(9):1991. *Genet Med* 2022;24(5):986–998. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2022.01.001>
33. Van Cutsem E., Lenz H.J., Köhne C.H., et al. Fluorouracil, leucovorin, and irinotecan plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2015;33(7):692–700. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.59.4812>
34. Shitara K., Muro K., Watanabe J., et al. Baseline ctDNA gene alterations as a biomarker of survival after panitumumab and chemotherapy in metastatic colorectal cancer. *Nat Med* 2024;30(3):730–739. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02791-w>

35. Innocenti F., Ou F.S., Qu X., et al. Mutational analysis of patients with colorectal cancer in CALGB/SWOG 80405 identifies new roles of microsatellite instability and tumor mutational burden for patient outcome. *J Clin Oncol* 2019;37(14):1217–1227. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.01798>
36. Доступно по: <https://roszdravnadzor.gov.ru/>
37. Nguyen B., Fong C., Luthra A., et al. Genomic characterization of metastatic patterns from prospective clinical sequencing of 25,000 patients. *Cell* 2022;185(3):563–575.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.01.003>
38. Pietrantonio F., Bergamo F., Rossini D., et al. Negative hyperselection of elderly patients with RAS and BRAF wild-type metastatic colorectal cancer receiving initial panitumumab plus FOLFOX or 5-FU/LV. *Eur J Cancer* 2023;195:113396. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2023.113396>
39. Su W.C., Tsai Y.C., Tsai H.L., et al. Comparison of next-generation sequencing and polymerase chain reaction for personalized treatment-related genomic status in patients with metastatic colorectal cancer. *Curr Issues Mol Biol* 2022;44(4):1552–1563. <https://doi.org/10.3390/cimb44040106>
40. Kothari N., Schell M.J., Teer J.K., et al. Comparison of KRAS mutation analysis of colorectal cancer samples by standard testing and next-generation sequencing. *J Clin Pathol* 2014;67(9):764–767. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2014-202405>
41. Darwanto A., Hein A.M., Strauss S., et al. Use of the QIAGEN GeneReader NGS system for detection of KRAS mutations, validated by the QIAGEN Therascreen PCR kit and alternative NGS platform. *BMC Cancer* 2017;17(1):358. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3328-z>
42. Laurent-Puig P., Pekin D., Normand C., et al. Clinical relevance of KRAS-mutated subclones detected with picodroplet digital PCR in advanced colorectal cancer treated with anti-EGFR therapy. *Clin Cancer Res* 2015;21(5):1087–1097. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0983>

ВКЛАД АВТОРОВ

М.М. Бяхова, И.А. Покатаев, М.В. Иванов, М.Ю. Федянин, А.А. Трякин: дизайн исследования и контроль результатов исследования;

М.М. Бяхова, И.А. Покатаев, М.В. Иванов, Т.Г. Антонова, А.Б. Семенова, Г.Г. Макиев, Д.А. Кравчук, В.И. Евдокимов, Е.А. Большакова, О.А. Стативко, П.С. Феоктистова: сбор и обработка материалов исследования, проведение исследования;

А.А. Лебедева, М.М. Бяхова, М.В. Иванов, А.И. Кавун, М.Ю. Федянин, Т.В. Григорьева, Е.М. Веселовский,

В.А. Милейко: написание и редактирование текста;

Все авторы: анализ и интерпретация результатов

AUTHORS' CONTRIBUTION

M. M. Byakhova, I. A. Pokataev, M. V. Ivanov, M. Yu. Fedyanin, A. A. Tryakin: study design and control of study results;

M. M. Byakhova, I. A. Pokataev, M. V. Ivanov, T. G. Antonova, A. B. Semenova, G. G. Makiev, D. A. Kravchuk, V. I. Evdokimov, E. A. Bolshakova, O. A. Stativko, P. S. Feoktistova: collection and processing of research materials, conducting research;

A. A. Lebedeva, M. M. Byakhova, M. V. Ivanov, A. I. Kavun, M. Yu. Fedyanin, T. V. Grigoreva,

E. M. Veselovskii, V. A. Mileyko: writing and editing text;

All authors: analysis and interpretation of results

ORCID АВТОРОВ

Александра Артёмовна Лебедева
<https://orcid.org/0000-0003-1920-5076>

Мария Михайловна Бяхова
<https://orcid.org/0000-0002-5296-0068>

Илья Анатольевич Покатаев
<https://orcid.org/0000-0001-9864-3837>

Татьяна Галаяудиновна Антонова
<https://orcid.org/0009-0007-6646-7454>

Анна Борисовна Семенова
<https://orcid.org/0000-0002-8433-0837>

Георгий Георгиевич Макиев
<https://orcid.org/0000-0001-9732-4033>

Дарья Александровна Кравчук
<https://orcid.org/0000-0002-8780-6159>

Владимир Игоревич Евдокимов
<https://orcid.org/0000-0002-0591-7921>

ORCID OF AUTHORS

Aleksandra Artemovna Lebedeva
<https://orcid.org/0000-0003-1920-5076>

Mariya Mikhailovna Byakhova
<https://orcid.org/0000-0002-5296-0068>

Ilya Anatolevich Pokataev
<https://orcid.org/0000-0001-9864-3837>

Tatyana Galyautdinovna Antonova
<https://orcid.org/0009-0007-6646-7454>

Anna Borisovna Semenova
<https://orcid.org/0000-0002-8433-0837>

Georgii Georgievich Makiev
<https://orcid.org/0000-0001-9732-4033>

Darya Aleksandrovna Kravchuk
<https://orcid.org/0000-0002-8780-6159>

Vladimir Igorevich Evdokimov
<https://orcid.org/0000-0002-0591-7921>

Елена Алексеевна Большакова
<https://orcid.org/0009-0000-0321-618X>
Олеся Алексеевна Стативко
<https://orcid.org/0009-0002-1084-1551>
Полина Сергеевна Феоктистова
<https://orcid.org/0000-0002-0340-7119>
Татьяна Викторовна Григорьева
<https://orcid.org/0000-0001-9054-1481>
Александра Ивановна Кавун
<https://orcid.org/0000-0003-3861-5281>
Екатерина Владимировна Белова
<https://orcid.org/0000-0002-7701-8765>
Егор Михайлович Веселовский
<https://orcid.org/0009-0009-3631-6537>
Владислав Айкович Милейко
<https://orcid.org/0000-0002-0272-1747>
Алексей Александрович Трякин
<https://orcid.org/0000-0003-2245-214X>
Михаил Юрьевич Федянин
<https://orcid.org/0000-0001-5615-7806>
Всеволод Николаевич Галкин
<https://orcid.org/0000-0002-6619-6179>

Конфликт интересов. Лебедева А.А., Иванов М.В., Григорьева Т.В., Кавун А.И., Белова Е.В., Веселовский Е.М., Милейко В.А. являются сотрудниками ООО «Онкоатлас». Остальные авторы работы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Московского центра инноваций в здравоохранении (№2102–2/23).

Статья поступила в редакцию 04.06.2024,
прошла рецензирование 30.09.2024,
принята в печать 31.10.2024

Elena Alekseevna Bolshakova
<https://orcid.org/0009-0000-0321-618Kh>
Olesya Alekseevna Stativko
<https://orcid.org/0009-0002-1084-1551>
Polina Sergeevna Feoktistova
<https://orcid.org/0000-0002-0340-7119>
Tatyana Viktorovna Grigoreva
<https://orcid.org/0000-0001-9054-1481>
Aleksandra Ivanovna Kavun
<https://orcid.org/0000-0003-3861-5281>
Ekaterina Vladimirovna Belova
<https://orcid.org/0000-0002-7701-8765>
Egor Mikhailovich Veselovskii
<https://orcid.org/0009-0009-3631-6537>
Vladislav Aikovich Mileyko
<https://orcid.org/0000-0002-0272-1747>
Aleksei Aleksandrovich Tryakin
<https://orcid.org/0000-0003-2245-214X>
Mikhail Yurevich Fedyanin
<https://orcid.org/0000-0001-5615-7806>
Vsevolod Nikolaevich Galkin
<https://orcid.org/0000-0002-6619-6179>

Conflict of interest. Lebedeva A. A., Ivanov M. V., Grigorieva T. V., Kavun A. I., Belova E. V., Veselovsky E. M., Mileyko V. A. are employees of Onkoatlas LLC. The other authors of the work declare no conflict of interest.

Funding. The study was carried out with financial support from the Moscow Center for Innovations in Healthcare (No. 2102–2 / 23).