

*Научный медицинский  
исследовательский  
центр онкологии  
им. Н.Н. Петрова  
(Санкт-Петербург, Россия)*

# РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ В ПРАКТИЧЕСКОЙ ОНКОЛОГИИ\*

Е.Н. Имянитов

## THE ROLE OF MOLECULAR GENETIC DIAGNOSIS IN CLINICAL ONCOLOGY

*Е.Н. Имянитов*

*Доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН,  
НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России,  
197758, Россия, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Ленинградская, 68.  
E-mail: evgeny@imyanyitov.spb.ru.*

*E.N. Imyanitov*

*Doctor of Medicine, Professor,  
Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences,  
N.N. Petrov Institute of Oncology,  
197758, Russia, St. Petersburg, Pesochny, Leningradskaya St., 68.  
E-mail: evgeny@imyanyitov.spb.ru.*

Молекулярно-генетический анализ стал неотъемлемым компонентом практической онкологии. Наиболее разработанной и стандартизированной областью применения ДНК-тестов является диагностика наследственных опухолевых синдромов. Назначение целого ряда таргетных препаратов основывается на анализе соматических мутаций в опухолевой ткани. Интересным аспектом применения ДНК- и РНК-тестов является выяснение органной локализации опухолей с неизвестным первичным очагом. Большую популярность получила технология так называемой «жидкостной биопсии», направленная на идентификацию фрагментов опухолевых клеток (ДНК, РНК, белков и т. д.) в периферической крови и других жидкостях организма. Привлекательным компонентом персонализированной диагностики представляется получение опухолевых клеточных линий и ксенографтов от каждого онкологического пациента. Наиболее значимое событие нынешнего десятилетия – внедрение секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) в практическую онкологию.

**Ключевые слова:** молекулярно-генетический анализ, онкология, ДНК-тест, диагностика, таргетные препараты, опухоль, секвенирование нового поколения.

Molecular genetic analysis is a mandatory component of modern clinical oncology. The best developed area of application of DNA testing is related to the management of patients with hereditary cancer syndromes. Administration of a number of targeted drugs relies on the identification of somatic mutations in tumor tissue. There is a growing interest to so-called liquid biopsy, which is aimed at identification of tumor-specific fragments (DNA, RNA, proteins, cells etc.) in peripheral blood or other body fluids. Individual generation of tumor cell lines and xenografts is an attractive component of personalized cancer medicine. Incorporation of next generation sequencing in the management of cancer patients appears to be key event of this decade, which will significantly reshape daily medical practice in the near future.

**Keywords:** molecular genetic analysis, oncology, DNA test, diagnostics, targeted drugs, tumor, new generation sequencing.

\* Данная работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (гранты 17-00-00171, 18-515-45012 и 19-515-25001).

## Введение

**Т**рансформация нормальной клетки в опухолевую осуществляется в результате изменения нуклеотидной последовательности генов – мутаций. Это свойство является универсальным – все без исключения опухоли содержат генетические события, приводящие к активации онкогенов и инактивации супрессорных генов. Помимо качественных изменений в наследственном аппарате клетки, геном опухолей может подвергаться значительному репрограммированию уровня экспрессии генов, т. е. количественному изменению уровня их продуктов. Как качественные нарушения (мутации), так и количественные особенности (изменения уровня экспрессии) могут достоверно выявляться современными методами молекулярной генетики. Примечательно, что две самые известные технологии – полимеразная цепная реакция (ПЦР; polymerase chain reaction, PCR) и секвенирование нового поколения (NGS, next generation sequencing) – отличаются двумя крайне важными характеристиками. Во-первых, в отличие от методов иммуногистохимии (ИГХ) и серологических тестов, область применения которых ограничивается достаточно узким спектром коммерческих антител, ПЦР и NGS обладают универсальностью – их можно использовать для анализа любой генетической последовательности. Во-вторых, ПЦР и NGS многократно превосходят все другие технологии по своей чувствительности, специфичности и межлабораторной воспроизводимости. Соответственно, сфера медицинского применения ДНК- и РНК-тестов постоянно расширяется: современную онкологию невозможно представить без диагностики наследственных опухолевых синдромов, выявления предиктивных мутаций, анализа некоторых экспрессионных характеристик опухоли и т. д., и т. п. [24, 53, 54].

Существует несколько отдельных направлений молекулярной диагностики, которые в значительной мере перекрываются между собой. Если рассматривать эволюцию практической онкологии в историческом контексте, одним из первых значимых событий стала идентификация основных генов наследственного рака. Главным событием клинической онкологии прошлого десятилетия стало практически случайное обнаружение мутаций, ассоциированных с чувствительностью к ингибиторам тирозинкиназ. В настоящее время совершенствуются технологии, позволяющие уточнять диагноз для опухолей с невыявленным первичным очагом, осуществлять эффективный мониторинг течения заболевания и изменения свойств опухоли (жидкостная биопсия), выполнять различные биологические тесты с опухолевыми клетками. Данный обзор посвящён обсуждению достижений и перспектив молекулярной диагностики в онкологии [54].

## Наследственные опухолевые синдромы

Процесс злокачественной трансформации включает накопление нескольких мутаций в онкогенах или супрессорных генах. Клетки имеют колоссальный потенциал для защиты от трансформации, поэтому одна раковая мутация практически всегда компенсируется и не приводит к фенотипическим последствиям. Соответственно, если подобная мутация унаследована от одного из родителей, то человек длительное время остаётся здоровым, несмотря на присутствие одного патогенного аллеля в каждой клетке организма. Катастрофа наступает в том случае, если в одной из клеток органа-мишени происходит утрата оставшегося аллеля этого же гена. Вовлечённый ген теряет свою функцию – это считается ключевым процессом перерождения нормальной клетки в опухолевую [54].

Наиболее известным семейным опухолевым синдромом является наследственный рак молочной железы и яичника (табл. 1). Самая известная разновидность данного заболевания вызывается мутациями в генах BRCA1 и BRCA2. С мутациями этих генов ассоциированы до 5–7% случаев рака молочной железы и до 15–20% случаев карциномы яичника. Следует принимать во внимание, что фенотипические проявления дефектов BRCA1 и BRCA2 могут несколько различаться. Мутации в обоих генах заметно увеличивают индивидуальный риск возникновения опухолей молочной железы и яичника, в некоторой степени влияют на предрасположенность к раку желудка. При этом вклад в заболеваемость раком предстательной железы и поджелудочной железы характерен только для BRCA2, но не для BRCA1. Помимо BRCA1 и BRCA2, идентифицировано несколько новых генов предрасположенности к раку молочной железы (табл. 1). Наиболее доказана ассоциация с этим заболеванием для PALB2 и CHEK2, при этом пенетрантность (степень увеличения риска заболевания) гена CHEK2 заметно уступает таковой для BRCA1, BRCA2 и PALB2 [6, 8, 33, 48].

Вторым по социальной значимости семейным опухолевым синдромом является наследственный неполипозный рак толстой кишки (hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC). Он вызывается мутациями в генах репарации неспаренных оснований ДНК (DNA mismatch repair, MMR) – MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 и EPCAM. HNPCC ассоциирован преимущественно с карциномами толстой кишки и эндометрия – в странах Западной Европы и Северной Америки он отвечает примерно за 3% встречаемости этих опухолей. Несколько реже HNPCC проявляется в развитии опухолей желудка, яичника и некоторых других разновидностей новообразований [49, 51].

Основные наследственные опухолевые синдромы перечислены в таблице 1. Диагностика наследственных мутаций, ассоциированных с наследственной предрасположенностью, имеет большое значение

Таблица 1.

**Наследственные опухолевые синдромы**

Синдром	Ген	Опухоли	Комментарии
Семейный рак молочной железы и яичника	BRCA1, BRCA2, PALB2	Рак молочной железы, яичника, желудка (BRCA1, BRCA2); роль мутаций в гене PALB2 продемонстрирована преимущественно для опухолей молочной железы и поджелудочной железы; мутации BRCA2 характерны также для рака предстательной железы и поджелудочной железы	Опухоли характеризуются дефектом гомологичной рекомбинации ДНК
Семейный рак молочной железы: новые гены и/или гены с умеренной пенетрантностью	CHEK2, ATM, BARD1, BLM, BRIP1, NBS/NBN, MRE11, RAD50, RAD51C, RAD51D, FANCC, FANCM	Рак молочной железы	
Синдром Линча (наследственный неполипозный рак толстой кишки)	MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM	Карциномы толстой кишки, эндометрия, яичника, желудка, тонкой кишки, уротелия	Микросателлитная нестабильность в опухолевых клетках
Наследственный рак толстой кишки	POLE, POLD1	Полипоз толстой кишки, колоректальный рак	Очень высокая мутационная нагрузка в опухолевых клетках
Семейный аденоматозный полипоз	APC	Множественные (>100) аденомы толстой кишки, десмоидные опухоли, рак толстой кишки	
MUTYH-ассоциированный полипоз	MUTYH	Умеренное количество аденом толстой кишки, рак толстой кишки	Аутосомно-рецессивное наследование; высокая мутационная нагрузка в опухолевых клетках
NTHL1-ассоциированный полипоз	NTHL1	Полипоз толстой кишки, колоректальный рак	Аутосомно-рецессивное наследование
Ювенильный полипоз	SMAD4, BMPR1A	Полипоз толстой кишки, колоректальный рак, другие опухоли желудочно-кишечного тракта	
Синдром Peutz-Jeghers	STK11	Гамартомы, опухоли желудочно-кишечного тракта	
Наследственный рак желудка	CDH1	Рак желудка	
Синдром Li-Fraumeni	TP53	Саркомы мягких тканей, рак молочной железы, опухоли мозга, карциномы надпочечников	
Множественная эндокринная неоплазия, тип 1	MEN1	Опухоли паращитовидных желёз, гипофиза, желудка, тонкой кишки, поджелудочной железы	
Множественная эндокринная неоплазия, тип 2	RET	Медуллярный рак щитовидной железы, феохромоцитома	Активирующий характер наследственных мутаций
Синдром Von Hippel-Lindau	VHL	Светлоклеточные карциномы почки, гемангиобластомы, другие опухоли	
Синдром Cowden	PTEN	Множественные гамартомы, рак молочной железы, рак щитовидной железы	
Семейная ретинобластома	RB1	Билатеральная ретинобластома	
Семейная меланома	CDKN2A, CDK4	Меланомы	

\* Таблица составлена на основе работы [54].

для формирования групп риска. Носители подобных генных дефектов нуждаются в мероприятиях, направленных на раннюю диагностику и профилактику рака. В частности, при некоторых опухолевых синдромах, например, при наследственном раке молочной железы и яичника, рекомендуется выполнение профилактических операций, направленных на удаление органов-мишеней. Эффективность скрининга может заметно различаться в зависимости от типа новообразования. В частности, ранняя диагностика оказалась достаточно эффективной для предотвращения смертности от наследственного рака толстой кишки, но представляется относительно бесполезным мероприятием по отношению к наследственному раку яичника [29, 36, 37, 57].

Очень важно понимать, что наследственные опухоли относятся к достаточно дискретной группе новообразований – по своим свойствам они заметно отличаются от спорадических карцином. Например, BRCA1/2-ассоциированные раки характеризуются дефектом репарации ДНК по механизму гомологичной рекомбинации, поэтому они демонстрируют очень высокую чувствительность к производным платины и PARP-ингибиторам. Наследственный неполипозный рак толстой кишки сопровождается накоплением избыточного количества мутаций в опухолевой ткани – это приводит к повышенной антигенности новообразований и предопределяет их чувствительность к иммунотерапии. Сходные закономерности

отмечаются для карцином, ассоциированных с зародышевыми мутациями в гене MUTYH [27, 58].

Крайне существенно осознавать, что спектр наследственных раков в значительной мере зависит от этнических факторов [30]. Большинство исследований, выполненных в отношении семейных опухолевых синдромов, были осуществлены в США или Западной Европе. Соответственно, применение ДНК-тестов, разработанных в странах Запада, в отношении других регионов нашей планеты и/или этнических групп, может столкнуться с существенными трудностями. Крайне актуальной задачей является составление полноценного каталога наследственных заболеваний, отражающего особенности молекулярной эпидемиологии генетических патологий для разных стран и национальностей.

### Молекулярные тесты для выбора терапии

Случайное обнаружение мутаций в гене рецептора эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR), ассоциированных с ответом на терапию ингибиторами данной киназы, можно считать главным событием прошлого десятилетия в онкологии. Ингибиторы EGFR (гефитиниб и эрлотиниб) изначально рассматривались как «универсальные лекарства против рака», т. к. повышение экспрессии этих рецепторов оказалось характерным для большинства опухолей эпителиального происхождения.

Таблица 2.

*Молекулярные тесты для выбора терапии*

Препараты	Маркеры
Тамоксифен, ингибиторы ароматазы и т. д.	Экспрессия рецептора эстрогенов
HER2-специфическая терапия	Амплификация и гиперэкспрессия HER2
Ингибиторы ALK/ ROS1	Транслокации ALK и ROS1
Ингибиторы NTRK	Транслокации NTRK1, NTRK2, NTRK3
EGFR-специфическая терапия (чувствительность)	Мутации EGFR
EGFR-специфическая терапия (резистентность)	Мутации KRAS/ NRAS/ BRAF
Ингибиторы PARP	Мутации BRCA1/2, BRCAness
Препараты платины, митомицин	Мутации BRCA1/2, BRCAness
Антагонисты PD1 или PD-L1	Высокая экспрессия PD-L1
Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа	Большое совокупное количество мутаций (в т.ч. опухоли с микросателлитной нестабильностью)
Ингибиторы BRAF	Мутации BRAF
Ингибиторы mTOR	Мутации TSC1/2, мутации mTOR
Ингибиторы MET	Мутации MET, сопровождающиеся отсутствием экзона 14 в составе транскрипта
Ингибиторы PI3K	Мутации PIK3CA

\* Таблица составлена на основе работы [54].

Клинические испытания этих лекарственных препаратов, включающих больных с различными видами рака, продемонстрировали скромные результаты: вопреки надеждам, использование ингибиторов EGFR оказалось неспособным остановить рост новообразования у большинства пациентов. Исключения составили отдельные, достаточно редкие случаи карцином лёгкого, при которых наблюдался выраженный ответ на терапию [4, 26, 42].

Последующие клинические испытания, выполненные на обширных группах больных с раком лёгкого, подтвердили эффективность gefитиниба и эрлотиниба у некоторых индивидуумов. Однако, анализ клинико-биологических характеристик этих случаев не выявил каких-либо достоверных предиктивных факторов. Тогда исследователи выполнили анализ нуклеотидной последовательности гена EGFR в опухолях с эффектом от лечения и с отсутствием такового. Эти эксперименты выявили повторяющиеся внутригенные мутации, ассоциированные с феноменальной эффективностью gefитиниба и эрлотиниба. Парадокс заключается в том, что создатели этих ингибиторов EGFR не могли знать о существовании подобных мутаций, т. к. они не были известны в процессе разработки препаратов. Таким образом, препараты, изначально созданные для инактивации нормального EGFR, оказались почти бесполезными для лечения карцином без мутаций. По счастливой случайности эти же препараты оказались сверхэффективными по отношению к мутированному EGFR, причём сами эти мутации были открыты именно благодаря клиническим испытаниям перечисленных препаратов [34, 39, 40].

Не менее удивительная история произошла с разработкой ингибитора ALK – кризотиниба. Изначально этот препарат разрабатывался как антагонист рецепторной тирозинкиназы MET, активированной в некоторых разновидностях опухолей у человека. Клинические испытания, выполненные на пациентах с раком лёгкого, выявили всего один случай ответа на лечение, причём именно у этого пациента не было никаких признаков активации MET. Разработчики препарата знали, что у кризотиниба имеются побочные биохимические эффекты, а именно кросс-реактивность с тирозинкиназами ALK и ROS1. Именно во время этих клинических испытаний, но вне какой-либо зависимости от них, были открыты транслокации гена ALK у пациентов с раком лёгкого. Исследователи предположили, что ответ на кризотиниб у упомянутого пациента связан с перестройкой гена ALK, и их гипотеза подтвердилась в ходе последующего молекулярного тестирования. Последующие клинические испытания представили убедительные доказательства в пользу исключительной эффективности кризотиниба у пациентов с транслокациями ALK и ROS1 [31, 50].

История разработки ингибиторов мутированной киназы BRAF отличается от таковой для представ-

ленных выше препаратов. В отличие от мутаций EGFR и ALK, нуклеотидные замены в гене BRAF были открыты в результате направленного поиска молекулярных мишеней опухолей. Соответственно, появление вемурафениба и дабрафениба связано с абсолютно планомерной и хорошо продуманной стратегией разработки новых таргетных препаратов. Вопреки первоначальным ожиданиям, монотерапия перечисленными препаратами продемонстрировала лишь краткосрочные эффекты. Следует пояснить, что ингибиторы мутированного BRAF применяются преимущественно в комбинации с ингибиторами MEK – это значительно увеличивает длительность наблюдаемых эффектов [41].

В настоящее время рутинно применяются или находятся на стадии клинических испытаний целый ряд молекулярных тестов, ассоциированных с применением таргетных препаратов. В качестве примера можно привести мутации в генах RAS, MET, RET, NTRK и т. д. [53, 54].

### Жидкостная биопсия

Сама по себе идея диагностики и мониторинга рака по идентификации фрагментов опухоли, присутствующих в биологических жидкостях организма (плазме, крови, моче), далеко не нова: в повседневную практику вошли тесты, предназначенные для выявления опухоле-/ тканеспецифических белков, таких как простатический антиген, карциноэмбриональный антиген, СА-125 и т. д. Внедрение лабораторного тестирования серологических маркеров значительно облегчило диагностику рецидивов и мониторинга некоторых видов новообразований. Например, в случае рака простаты или рака яичников зачастую встречаются ситуации, когда определение размеров неопластических очагов представляется затруднительным. В подобных ситуациях практические врачи зачастую используют сведения об уровне простатического антигена или СА-125, соответственно, в качестве суррогата объёма опухолевой массы. Тем не менее, применение подобных маркеров имеет принципиальные ограничения: практически все «опухолеассоциированные» белки, выявляемые в диагностических целях, присутствуют в определённых количествах в нормальном организме, при этом повышение их количества характерно не только для онкологических процессов, но и для других патологических состояний, например, воспалительных процессов. Соответственно, белковые тесты имеют низкую чувствительность и специфичность [13].

Появление методов детекции нуклеиновых кислот предоставило совершенно иные возможности для данной разновидности диагностики. В отличие от белковых маркеров, мутированные гены представляются более специфическим событием для трансформированных клеток – они качественно отличают опухолевые клетки от нормальных. Во-вторых, неко-

торые методы молекулярно-генетического анализа, по крайней мере в теории, способны выявлять единичные копии нуклеиновых кислот – такие характеристики присущи, в первую очередь, полимеразной цепной реакции и секвенированию нового поколения. Соответственно, детекция мутированных генов практически не имеет предела чувствительности [54].

В настоящее время многие практикующие онкологи и лабораторные специалисты склонны преувеличивать возможности жидкостной биопсии. Следует понимать, что в реальной ситуации диагностика рака по анализу плазмы может достоверно применяться в том случае, если общая масса опухоли измеряется сотнями граммов. На этапе первичного обследования пациента в жидкостной биопсии, как правило, нет необходимости, т. к. сам по себе онкологический диагноз ставится на основе цитологического или морфологического анализа биопсийного материала. Таким образом сама опухолевая ткань, по определению, оказывается доступной для исследования. Совсем иная ситуация возникает в том случае, если необходим повторный анализ свойств опухоли для определения тактики лечения после исчерпания возможностей той или иной схемы терапии. В качестве примера можно привести мутацию EGFR T790M, которая может возникнуть в процессе применения гефитиниба или эрлотиниба и свидетельствует о приобретении опухолью чувствительности к осимертинибу. Регулярное выполнение повторных биопсий на фоне лечения онкологического заболевания представляется затруднительным, поэтому выполнение жидкостной биопсии для подобных больных может иметь определённый смысл: по крайней мере у некоторых пациентов этот метод позволяет сделать достоверное заключение о молекулярном статусе опухоли [20, 54].

Есть определённые попытки использовать жидкостную биопсию для ранней диагностики рака. В настоящее время разрабатываются комбинированные панели, в которых используются как белковые, так и молекулярно-генетические маркеры [10]. Перспективность подобных панелей нельзя считать очевидной: проблема заключается в том, что клетки с мутированными онкогенами могут выявлять и у относительно здоровых людей, т. е. сама по себе детекция мутации не является эквивалентом диагноза рака [59].

### **Выявление тканевой принадлежности опухолей неизвестных локализаций**

Наиболее стандартным подходом для диагностики тканевой и органной принадлежности карцином с невыявленным первичным очагом является иммуногистохимический анализ. Его суть сводится к детекции тканеспецифических белковых маркеров, экспрессирующихся опухолевыми клетками. Применение данной стратегии имеет свои ограничения. Во-первых, спектр диагностических антител ограничивается несколькими десятками молекул-мишеней.

Во-вторых, иммуногистохимический метод достаточно требователен к количеству белка, т. е. он может выявлять только те маркеры, которые экспрессируются на достаточном уровне. В-третьих, морфологический анализ отличается определённой долей субъективности [15, 16].

Молекулярно-генетические тесты могут представлять интересную альтернативу. Современные технологии позволяют достаточно быстро разработать тест-систему для любой молекулы РНК или для любой мутации – соответственно, спектр маркеров в данном случае значительно шире, чем при использовании традиционных методов диагностики. ПЦР обладает очень высокой чувствительностью, поэтому допускается разработка тест-систем к РНК с низким уровнем экспрессии, если подобные маркеры обладают достаточной информативностью. Анализ мутаций и экспрессии генов выполняется в полуавтоматическом режиме, поэтому молекулярно-генетический подход практически лишён субъективности [55].

Опубликованы десятки исследований, продемонстрировавших пригодность молекулярной диагностики для определения тканевой и органной принадлежности карцином с невыявленным первичным очагом. Следует прокомментировать, что клиническая эффективность подобных усилий не всегда очевидна: некоторые исследования показывают, что модификация схемы лечения на основе уточнённого гистологического диагноза подобных карцином не сопровождается улучшением результатов лечения [25].

### **Иммунотерапия**

Несколько отдельным сегментом клинической онкологии стало применение модуляторов контрольных точек иммунного ответа. Именно в рамках этого направления появились принципиально новые подходы как к лечению онкологических пациентов, так и к разработке тех или иных предиктивных тестов [2, 21, 23, 38].

Совершенно очевидно, что эффективность противоопухолевого иммунитета определяется не только свойствами самой опухоли, но и различными характеристиками организма. В этом контексте очень привлекательными представляются данные, которые демонстрируют, что ограниченный репертуар пептидов системы HLA класса I ассоциирован с пониженной вероятностью ответа опухоли на иммунотерапию [9, 44]. Другим необычным направлением является анализ микробного разнообразия кишечного содержимого – существует целый ряд сведений о том, что некоторые разновидности кишечных бактерий могут усиливать эффективность ингибиторов контрольных точек иммунного ответа [19, 22].

Наиболее общепринятым тестом для отбора пациентов на иммунотерапию является иммуногистохимическое определение уровня экспрессии PD-L1. Удивительно, что применение достаточно схожих

препаратов – различных терапевтических антител к PD1 или PD-L1 – ассоциировано с применением различных тест-систем, принципов подсчёта «позитивных» клеток, а также пороговых значений экспрессии. Помимо этого, в реальной практике наблюдается явно недостаточная межлабораторная воспроизводимость результатов PD-L1-тестирования [11, 35, 43, 45, 47]. С учётом того факта, что ни негативный, ни позитивный PD-L1-тесты не гарантируют отсутствия или наличия клинического эффекта, соответственно, перспективы этой лабораторной процедуры представляются неясными. Это предположение усиливается тем фактом, что сейчас появились препараты, например, атезолизумаб, применение которых, по крайней мере для некоторых разновидностей рака, не сопряжено с анализом экспрессии PD-L1 [46, 52].

Существует целый ряд молекулярно-генетических маркеров для прогнозирования эффективности иммунотерапии. Единственным утверждённым тестом является анализ опухоли на микросателлитную нестабильность – выявление этой характеристики является основанием для применения ингибиторов контрольных точек иммунного ответа вне зависимости от органной или гистологической принадлежности опухоли [32]. Другой известной характеристикой новообразований является общее количество мутаций – чем больше этот показатель, тем больше уровень антигенности опухоли, и, соответственно, тем значительнее вероятность активации противоопухолевого иммунитета под воздействием терапии. Анализ общей мутационной нагрузки представляется относительно затруднительным мероприятием, т. к. он требует секвенирования всей кодирующей последовательности генома (экзома) или анализа его репрезентативной части [7, 17, 18].

### Приобретенная резистентность опухолей к терапии

Изучение тех или иных характеристик первичной опухоли для выбора тактики лечения стало стандартной процедурой в современной онкологии. Недавние исследования показывают, что новообразования могут принципиально изменять свои биологические свойства в процессе терапии. Таким образом, анализ первичной опухоли, выполненный на этапе начальной диагностики новообразования, может оказаться недостаточно информативным для планирования лечения рецидивов заболевания или онкологического процесса, который спрессиоровал на фоне терапии. В качестве примера уже приводилась мутация EGFR790M. Эта мутация наблюдается примерно у половины пациентов с приобретённой резистентностью к гефитинибу, эрлотинибу или афатинибу. Если адаптация опухоли к лечению действительно протекает по этому механизму, то весьма перспективным представляется использование EGFR790M-специфического ингибитора – осимертиниба. На-

против, если резистентность возникла по другому механизму, то попытка назначения осимертиниба лишена всякого смысла [28].

Практика повторного анализа характеристик опухоли в процессе лечения постепенно входит как в структуру клинических испытаний, так и в повседневную деятельность врачей. Несомненно, это новый этап в развитии клинической онкологии, который демонстрирует, сколь комплексной процедурой становится лечение рака. Следует понимать, что повторные биопсии сталкиваются с этическими и техническими проблемами. Инвазивный анализ опухолевых тканей сопряжён с рискованными и неприятными для пациента хирургическими вмешательствами, при этом данная процедура не в полной мере учитывает возможную биологическую гетерогенность опухолевых поражений. Жидкостная биопсия, активно пропагандируемая в качестве альтернативного диагностического подхода, пока обладает неприемлемо низкой чувствительностью [1].

### Секвенирование нового поколения

Важнейшими событиями современной биомедицины стали успехи в разработке и внедрении секвенирования нового поколения. Этот метод основан на многократном случайном прочтении фрагментов нуклеотидных последовательностей с последующей биоинформатической сборкой исходного генома. Интенсивность использования NGS в диагностике онкологических заболеваний возрастает с каждым годом. Во-первых, этот метод является наиболее эффективным способом генетического обследования пациентов с подозрением на наследственный опухолевый синдром, т. к. он позволяет одновременно анализировать все гены-кандидаты. Во-вторых, секвенирование нового поколения стало методом выбора для анализа соматических мутаций в опухолевых клетках – опять же, его несомненным преимуществом является возможность исследования нескольких десятков или сотен значимых генов. В-третьих, NGS используется для выявления единичных опухолевых клеток в присутствии избытка нормальных тканей – данная задача может выполняться благодаря уникальной чувствительности данного метода. К недостаткам NGS следует отнести очень высокую стоимость, необходимость накопления биологических образцов для однократного запуска и относительную сложность выполнения данной методики [3, 18, 60].

### Клеточные линии и ксенографты

Тестирование отдельных биологических молекул не всегда удовлетворяет потребностям в определении спектра лекарственной чувствительности опухолей, т. к. оно изучает потенциальные лекарственные мишени вне биологического контекста новообразований. Вызывают колоссальный интерес попытки создания более физиологических моделей для выбора терапии

карцином. В частности, разрабатываются протоколы, предусматривающие получение клеточных линий из каждой индивидуальной опухоли с последующим их тестированием – эти анализы по своей сути напоминают бактериологические тесты, рутинно применяющиеся в клинической практике. Ещё больший интерес привлекают исследования, в которых опухоль от каждого пациента перевивается мышам. Считается, что анализ лекарственной чувствительности ксенографтов более приближен к физиологическим условиям по сравнению с экспериментами *in vitro* [5, 12, 54, 56].

## Заключение

Настоящий обзор не ставит перед собой целью представить систематическое описание молекулярно-генетических тестов, которые применяются или планируются к применению в клинической онкологии. В данной работе приведены лишь отдельные примеры, иллюстрирующие несомненную перспективность данного направления. Ожидается, что в предстоящие годы будет наблюдаться многократное возрастание востребованности молекулярной диагностики в повседневной медицинской практике.

## Список литературы

1. *Aleksakhina S.N., Kasbyap A., Imyanitov E.N.* Mechanisms of acquired tumor drug resistance // *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* – 2019. – Vol. 1872, № 2. – P. 1883-10.
2. *Arora S., Velichinskii R., Lesh R.W., Ali U., Kubiak M., Bansal P., Borghaei H., Edelman M.J., Boumber Y.* Existing and Emerging Biomarkers for Immune Checkpoint Immunotherapy in Solid Tumors // *Adv Ther.* – 2019. – Vol. 36, № 10. – P. 2638-2678.
3. *Avila M., Meric-Bernstam F.* Next-generation sequencing for the general cancer patient // *Clin Adv Hematol Oncol.* – 2019. – Vol. 17, № 8. – P. 447-454.
4. *Baselga J., Rischin D., Ranson M., Calvert H., Raymond E., Kieback D.G., Kaye S.B., Gianni L., Harris A., Bjork T., Averbuch S.D., Feyereislova A., Swaisland H., Rojo F., Albanell J.* Phase I safety, pharmacokinetic, and pharmacodynamic trial of ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with five selected solid tumor types // *J Clin Oncol.* – 2002. – Vol. 20, № 21. – P. 4292-302.
5. *Bleijs M., van de Wetering M., Clevers H., Drost J.* Xenograft and organoid model systems in cancer research // *EMBO J.* – 2019. – Vol. 38, № 15. – P. e101654.
6. *Bogdanova N., Helbig S., Dörk T.* Hereditary breast cancer: ever more pieces to the polygenic puzzle // *Hered Cancer Clin Pract.* – 2013. – Vol. 11, № 1. – P. 12.
7. *Budczies J., Allgauer M., Litchfield K., Rempel E., Christopoulos P., Kazdal D., Endris V., Thomas M., Fröbling S., Peters S., Swanton C., Schirmacher P., Stenzinger A.* Optimizing panel-based tumor mutational burden (TMB) measurement // *Ann Oncol.* – 2019. – Vol. 30, № 9. – P. 1496-1506.
8. *Catana A., Apostu A.P., Antemie R.G.* Multi gene panel testing for hereditary breast cancer – is it ready to be used? // *Med Pharm Rep.* – 2019. – Vol. 92, № 3. – P. 220-225.
9. *Chowell D., Morris L.G.T., Grigg C.M., Weber J.K., Samstein R.M., Makarov V., Kuo F., Kendall S.M., Requena D., Riaz N., Greenbaum B., Carroll J., Garon E., Hyman D.M., Zehir A., Solit D., Berger M., Zhou R., Rizvi N.A., Chan T.A.* Patient HLA class I genotype influences cancer response to checkpoint blockade immunotherapy // *Science.* – 2018. – Vol. 359, № 6375. – P. 582-587.
10. *Cohen J.D., Li L., Wang Y., Thoburn C., Afsari B., Danilova L., Douville C., Javed A.A., Wong F., Mattox A., Hruban R.H., Wolfgang C.L., Goggins M.G., Dal Molin M., Wang T.L., Roden R., Klein A.P., Ptak J., Dobbyn L., Schaefer J., Silliman N., Popoli M., Vogelstein J.T., Browne J.D., Schoen R.E., Brand R.E., Tie J., Gibbs P., Wong H.L., Mansfield A.S., Jen J., Hanash S.M., Falconi M., Allen P.J., Zhou S., Bettegowda C., Diaz L.A.Jr., Tomasetti C., Kinzler K.W., Vogelstein B., Lemon A.M., Papadopoulos N.* Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test // *Science.* – 2018. – Vol. 359, № 6378. – P. 926-930.
11. *Conroy J.M., Pabla S., Nesline M.K., Glenn S.T., Papanicolau-Sengos A., Burgher B., Andreas J., Giamo V., Wang Y., Lenzo F.L., Bsbara W., Khalil M., Dy G.K., Madden K.G., Shirai K., Dragnev K., Tafe L.J., Zhu J., Labriola M., Marin D., McCall S.J., Clarke J., George D.J., Zhang T., Zibelman M., Gbatalia P., Araujo-Fernandez I., de la Cruz-Merino L., Singavi A., George B., MacKinnon A.C., Thompson J., Singh R., Jacob R., Kasuganti D., Shah N., Day R., Galluzzi L., Gardner M., Morrison C.* Next generation sequencing of PD-L1 for predicting response to immune checkpoint inhibitors // *J Immunother Cancer.* – 2019. – Vol. 7, № 1. – P. 18.
12. *Drost J., Clevers H.* Organoids in cancer research // *Nat Rev Cancer.* – 2018. – Vol. 18, № 7. – P. 407-418.
13. *Duffy M.J.* Tumor markers in clinical practice: a review focusing on common solid cancers // *Med Princ Pract.* – 2013. – Vol. 22, № 1. – P. 4-11.
14. *Eckstein M., Wirtz R.M., Pfannstiel C., Wach S., Stoehr R., Breyer J., Erlmeier F., Günes C., Nitschke K., Weichert W., Otto W., Keck B., Eidt S., Burger M., Taubert H., Wullich B., Bolenz C., Hartmann A., Erben P.* A multicenter round robin test of PD-L1 expression assessment in urothelial bladder cancer by immunohistochemistry and RT-qPCR with emphasis on prognosis prediction after radical cystectomy. *Oncotarget* // 2018. – Vol. 9, № 19. – P. 15001-15014.
15. *Economopoulou P., Mountzios G., Pavlidis N., Pentheroudakis G.* Cancer of Unknown Primary origin in the genomic era: Elucidating the dark box of cancer // *Cancer Treat Rev.* – 2015. – Vol. 41, № 7. – P. 598-604.

16. *El Rassy E., Pavidis N.* The current evidence for a biomarker-based approach in cancer of unknown primary // *Cancer Treat Rev.* – 2018. – Vol. 67. – P. 21–28.
17. *Endris V., Buchhalter I., Allgäuer M., Rempel E., Lier A., Volckmar A.L., Kirchner M., von Winterfeld M., Leichsenring J., Neumann O., Penzel R., Weichert W., Glimm H., Fröbling S., Winter H., Herth F., Thomas M., Schirmacher P., Budczies J., Stenzinger A.* Measurement of tumor mutational burden (TMB) in routine molecular diagnostics: in silico and real-life analysis of three larger gene panels // *Int J Cancer.* – 2019. – Vol. 144, № 9. – P. 2303–2312.
18. *Fancellò L., Gandini S., Pelicci P.G., Mazzarella L.* Tumor mutational burden quantification from targeted gene panels: major advancements and challenges // *J Immunother Cancer.* – 2019. – Vol. 7, № 1. – P. 183.
19. *Fessler J., Matson V., Gajewski T.F.* Exploring the emerging role of the microbiome in cancer immunotherapy // *J Immunother Cancer.* – 2019. – Vol. 7, № 1. – P. 108.
20. *Geeurickx E., Hendrix A.* Targets, pitfalls and reference materials for liquid biopsy tests in cancer diagnostics // *Mol Aspects Med.* – 2019. – pii: S0098-2997(19)30084-6.
21. *Gibney G.T., Weiner L.M., Atkins M.B.* Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy // *Lancet Oncol.* – 2016. – Vol. 17, № 12. – P. e542–e551.
22. *Gopalakrishnan V., Helmink B.A., Spencer C.N., Reuben A., Wargo J.A.* The Influence of the Gut Microbiome on Cancer, Immunity, and Cancer Immunotherapy // *Cancer Cell.* – 2018. – Vol. 33, № 4. – P. 570–580.
23. *Havel J.J., Chowell D., Chan T.A.* The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy // *Nat Rev Cancer.* – 2019. – Vol. 19, № 3. – P. 133–150.
24. *Hanahan D., Weinberg R.A.* Hallmarks of cancer: the next generation // *Cell.* – 2011. – Vol. 144, № 5. – P. 646–74.
25. *Hayashi H., Kurata T., Takiguchi Y., Arai M., Takeda K., Akiyoshi K., Matsumoto K., Onoe T., Mukai H., Matsubara N., Minami H., Toyoda M., Onozawa Y., Ono A., Fujita Y., Sakai K., Koh Y., Takeuchi A., Obashi Y., Nishio K., Nakagawa K.* Randomized Phase II Trial Comparing Site-Specific Treatment Based on Gene Expression Profiling With Carboplatin and Paclitaxel for Patients With Cancer of Unknown Primary Site // *J Clin Oncol.* – 2019. – Vol. 37, № 7. – P. 570–579.
26. *Herbst R.S., Maddox A.M., Rothenberg M.L., Small E.J., Rubin E.H., Baselga J., Rojo F., Hong W.K., Swaisland H., Averbuch S.D., Ochs J., LoRusso P.M.* Selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 is generally well-tolerated and has activity in non-small-cell lung cancer and other solid tumors: results of a phase I trial // *J Clin Oncol.* – 2002. – Vol. 20, № 18. – P. 3815–25.
27. *Iyevleva A.G., Imyanitov E.N.* Cytotoxic and targeted therapy for hereditary cancers // *Hered Cancer Clin Pract.* – 2016. – Vol. 14, № 1. – P. 17.
28. *Jänne P.A., Yang J.C., Kim D.W., Planchard D., Obe Y., Ramalingam S.S., Abn M.J., Kim S.W., Su W.C., Horn L., Haggstrom D., Felip E., Kim J.H., Frewer P., Cantarini M., Brown K.H., Dickinson P.A., Gbiorgbiu S., Ranson M.* AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer // *N Engl J Med.* – 2015. – Vol. 372, № 18. – P. 1689–99.
29. *Järvinen H.J., Aarnio M., Mustonen H., Aktan-Collan K., Aaltonen L.A., Peltomäki P., De La Chapelle A., Mecklin J.P.* Controlled 15-year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer // *Gastroenterology.* – 2000. – Vol. 118, № 5. – P. 829–34.
30. *King J.R., Klugman S.* Ethnicity-Based Carrier Screening // *Obstet Gynecol Clin North Am.* – 2018. – Vol. 45, № 1. – P. 83–101.
31. *Kvak E.L., Bang Y.J., Camidge D.R., Shaw A.T., Solomon B., Maki R.G., Ou S.H., Dezube B.J., Jänne P.A., Costa D.B., Varella-Garcia M., Kim W.H., Lynch T.J., Fidias P., Stubbs H., Engelman J.A., Sequist L.V., Tan W., Gandhi L., Mino-Kenudson M., Wei G.C., Shreeve S.M., Ratain M.J., Settleman J., Christensen J.G., Haber D.A., Wilner K., Salgia R., Shapiro G.I., Clark J.W., Iafrate A.J.* Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer // *N Engl J Med.* – 2010. – Vol. 363, № 18. – P. 1693–703.
32. *Le D.T., Durban J.N., Smith K.N., Wang H., Bartlett B.R., Aulakh L.K., Lu S., Kemberling H., Wilt C., Luber B.S., Wong F., Azad N.S., Rucki A.A., Laheru D., Donehower R., Zabeer A., Fisher G.A., Crocenzi T.S., Lee J.J., Greten T.F., Duffy A.G., Ciombor K.K., Eyring A.D., Lam B.H., Joe A., Kang S.P., Holdhoff M., Danilova L., Cope L., Meyer C., Zhou S., Goldberg R.M., Armstrong D.K., Bever K.M., Fader A.N., Taube J., Housseau F., Spetzler D., Xiao N., Pardoll D.M., Papadopoulos N., Kinzler K.W., Esbleman J.R., Vogelstein B., Anders R.A., Diaz L.A.Jr.* Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade // *Science.* – 2017. – Vol. 357, № 6349. – P. 409–413.
33. *Litton J.K., Burstein H.J., Turner N.C.* Molecular Testing in Breast Cancer // *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* – 2019. – Vol. 39. – P. e1–e7.
34. *Lynch T.J., Bell D.W., Sordella R., Gurubagavatula S., Okimoto R.A., Brannigan B.W., Harris P.L., Haserlat S.M., Supko J.G., Haluska F.G., Louis D.N., Christiani D.C., Settleman J., Haber D.A.* Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib // *N Engl J Med.* – 2004. – Vol. 350, № 21. – P. 2129–39.
35. *Marchetti A., Barberis M., Franco R., De Luca G., Pace M.V., Staibano S., Volante M., Buttitta F., Guerini-Rocco E., Righi L., D'antuono T., Scagliotti G.V., Pinto C., De Rosa G., Papotti M.* Multicenter Comparison of 22C3 Pharm Dx (Agilent) and SP263 (Ventana) Assays to Test PD-L1 Expression for NSCLC Patients to Be Treated with Immune Checkpoint Inhibitors // *J Thorac Oncol.* – 2017. – Vol. 12, № 11. – P. 1654–1663.
36. *Mau C., Untch M.* Prophylactic Surgery: For Whom, When and How? // *Breast Care (Basel).* – 2017. – Vol. 12, № 6. – P. 379–384.

37. Møller P., Stormorken A., Jonsrud C., Holmen M.M., Hagen A.I., Clark N., Vabø A., Sun P., Narod S.A., Mæhle L. Survival of patients with BRCA1-associated breast cancer diagnosed in an MRI-based surveillance program // *Breast Cancer Res Treat.* – 2013. – Vol. 139, № 1. – P. 155–61.
38. Otsobi T., Nagano T., Tachibara M., Nishimura Y. Possible Biomarkers for Cancer Immunotherapy // *Cancers (Basel).* – 2019. – Vol. 11, № 7. – P. pii: E935.
39. Paez J.G., Janne P.A., Lee J.C., Tracy S., Greulich H., Gabriel S., Herman P., Kaye F.J., Lindeman N., Boggon T.J., Naoki K., Sasaki H., Fujii Y., Eck M.J., Sellers W.R., Johnson B.E., Meyerson M. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy // *Science.* – 2004. – Vol. 304, № 5676. – P. 1497–500.
40. Pao W., Miller V., Zakowski M., Doherty J., Politi K., Sarkaria I., Singh B., Heelan R., Rusch V., Fulton L., Mardis E., Kupfer D., Wilson R., Kris M., Varmus H. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from «never smokers» and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2004. – Vol. 101, № 36. – P. 13306–11.
41. Planchard D., Smit E.F., Groen H.J.M., Mazieres J., Besse B., Helland Å., Giannone V., D'Amelio A.M.Jr., Zbang P., Mookerjee B., Johnson B.E. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAF (V600E)-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial // *Lancet Oncol.* – 2017. – Vol. 18, № 10. – P. 1307–1316.
42. Ranson M., Hammond L.A., Ferry D., Kris M., Tullio A., Murray P.I., Miller V., Averbuch S., Ochs J., Morris C., Feyereislova A., Swaisland H., Rowinsky E.K. ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, is well tolerated and active in patients with solid, malignant tumors: results of a phase I trial // *J Clin Oncol.* – 2002. – Vol. 20, № 9. – P. 2240–50.
43. Ratcliffe M.J., Sharpe A., Midha A., Barker C., Scott M., Scorer P., Al-Masri H., Rebelatto M.C., Walker J. Agreement between Programmed Cell Death Ligand-1 Diagnostic Assays across Multiple Protein Expression Cutoffs in Non-Small Cell Lung Cancer // *Clin Cancer Res.* – 2017. – Vol. 23, № 14. – P. 3585–3591.
44. Refae S., Gal J., Brest P., Milano G. Germinal immunogenetics as a predictive factor for immunotherapy // *Crit Rev Oncol Hematol.* – 2019. – Vol. 141. – P. 146–152.
45. Rimm D.L., Han G., Taube J.M., Yi E.S., Bridge J.A., Flieder D.B., Homer R., West W.W., Wu H., Roden A.C., Fujimoto J., Yu H., Anders R., Kowalewski A., Rivard C., Rebman J., Batencbuk C., Burns V., Hirsch F.R., Wistuba I.I. A Prospective, Multi-institutional, Pathologist-Based Assessment of 4 Immunohistochemistry Assays for PD-L1 Expression in Non-Small Cell Lung Cancer // *JAMA Oncol.* – 2017. – Vol. 3, № 8. – P. 1051–1058.
46. Rittmeyer A., Barlesi F., Waterkamp D., Park K., Ciardiello F., von Pawel J., Gadgeel S.M., Hida T., Kowalski D.M., Dols M.C., Cortinovis D.L., Leach J., Polikoff J., Barrios C., Kabbinarav F., Frontera O.A., De Marinis F., Turna H., Lee J.S., Ballinger M., Kowanetz M., He P., Chen D.S., Sandler A., Gandara D.R.; OAK Study Group. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial // *Lancet.* – 2017. – Vol. 389, № 10066. – P. 255–265.
47. Rizk E.M., Gartrell R.D., Barker L.W., Esancy C.L., Finkel G.G., Bordbar D.D., Saenger Y.M. Prognostic and Predictive Immunohistochemistry-Based Biomarkers in Cancer and Immunotherapy // *Hematol Oncol Clin North Am.* – 2019. – Vol. 33, № 2. – P. 291–299.
48. Samadder N.J., Giridhar K.V., Baffy N., Riegert-Johnson D., Couch F.J. Hereditary Cancer Syndromes-A Primer on Diagnosis and Management. Part 1: Breast-Ovarian Cancer Syndromes // *Mayo Clin Proc.* – 2019. – Vol. 94, № 6. – P. 1084–1098.
49. Samadder N.J., Baffy N., Giridhar K.V., Couch F.J., Riegert-Johnson D. Hereditary Cancer Syndromes-A Primer on Diagnosis and Management. Part 2: Gastrointestinal Cancer Syndromes // *Mayo Clin Proc.* – 2019. – Vol. 94, № 6. – P. 1099–1116.
50. Shaw A.T., Ou S.H., Bang Y.J., Camidge D.R., Solomon B.J., Salgia R., Riely G.J., Varella-Garcia M., Shapiro G.I., Costa D.B., Doebele R.C., Le L.P., Zheng Z., Tan W., Stephenson P., Shreeve S.M., Tye L.M., Christensen J.G., Wilner K.D., Clark J.W., Iafrate A.J. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer // *N Engl J Med.* – 2014. – Vol. 371, № 21. – P. 1963–71.
51. Snyder C., Hampel H. Hereditary Colorectal Cancer Syndromes // *Semin Oncol Nurs.* – 2019. – Vol. 35, № 1. – P. 58–78.
52. Socinski M.A., Jotte R.M., Cappuzzo F., Orlandi F., Stroyakovskiy D., Nogami N., Rodriguez-Abreu D., Moro-Sibilot D., Thomas C.A., Barlesi F., Finley G., Kelsch C., Lee A., Coleman S., Deng Y., Shen Y., Kowanetz M., Lopez-Chavez A., Sandler A., Reck M.; IM power 150 Study Group. Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC // *N Engl J Med.* – 2018. – Vol. 378, № 24. – P. 2288–2301.
53. Sokolenko A.P., Imyanitov E.N. Molecular Tests for the Choice of Cancer Therapy // *Curr Pharm Des.* – 2017. – Vol. 23, № 32. – P. 4794–4806.
54. Sokolenko A.P., Imyanitov E.N. Molecular Diagnostics in Clinical Oncology // *Front Mol Biosci.* – 2018. – Vol. 5. – P. 76.
55. Suspišin E., Yanus G., Imyanitov E. Diagnosis for carcinoma of unknown primary site with the aid of simple PCR tests: a single-center experience // *Neoplasma.* – 2018. – Vol. 65, № 3. – P. 461–468.
56. Tuveson D., Clevers H. Cancer modeling meets human organoid technology // *Science.* – 2019. – Vol. 364, № 6444. – P. 952–955.
57. Van der Velde N.M., Mourits M.J., Arts H.J., de Vries J., Leegte B.K., Dijkhuis G., Oosterwijk J.C., de Bock G.H. Time to stop ovarian cancer screening in BRCA1/2 mutation carriers? // *Int J Cancer.* – 2009. – Vol. 124, № 4. – P. 919–23.

58. Volkov N.M., Yanus G.A., Ivantsov A.O., Moiseenko F.V., Matorina O.G., Bizin I.V., Moiseyenko V.M., Imyanitov E.N. Efficacy of immune checkpoint blockade in MUTYH-associated hereditary colorectal cancer // Invest New Drugs. – 2019 (in press).

59. Yizhak K., Aguet F., Kim J., Hess J.M., Kübler K., Grimsby J., Frazer R., Zhang H., Haradbvala N.J., Rosebrock D., Livitz D., Li X., Arich-Landkof E., Shores N., Stewart C., Segre A.V., Branton P.A., Polak P., Ardlie K.G., Getz G. RNA sequence analysis reveals macroscopic somatic clonal expansion across normal tissues // Science. – 2019. – Vol. 364, № 6444. – P. pii: eaaw0726.

60. Zeng J., Johnson A., Shufean M.A., Kable M., Yang D., Woodman S.E., Vu T., Moorthy S., Holla V., Meric-Bernstam F. Operationalization of Next-Generation Sequencing and Decision Support for Precision Oncology // JCO Clin Cancer Inform. – 2019. – Vol. 3. – P. 1–12.

## References

1. Aleksakhina S.N., Kashyap A., Imyanitov E.N. Mechanisms of acquired tumor drug resistance. Biochim Biophys Acta Rev Cancer. 2019 Dec; 1872(2): 188310.

2. Arora S., Velichinskii R., Lesh R.W., Ali U., Kubiak M., Bansal P., Borghaei H., Edelman M.J., Bumber Y. Existing and Emerging Biomarkers for Immune Checkpoint Immunotherapy in Solid Tumors. Adv Ther. 2019 Oct; 36(10): 2638-2678. doi: 10.1007/s12325-019-01051-z.

3. Avila M., Meric-Bernstam F. Next-generation sequencing for the general cancer patient. Clin Adv Hematol Oncol. 2019 Aug; 17(8): 447-454.

4. Baselga J., Rischin D., Ranson M., Calvert H., Raymond E., Kieback D.G., Kaye S.B., Gianni L., Harris A., Bjork T., Averbuch S.D., Feyereislova A., Swaisland H., Rojo F., Albanell J. Phase I safety, pharmacokinetic, and pharmacodynamic trial of ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with five selected solid tumor types. J Clin Oncol. 2002 Nov 1; 20(21): 4292-302.

5. Bleijs M., van de Wetering M., Clevers H., Drost J. Xenograft and organoid model systems in cancer research. EMBO J. 2019 Aug 1; 38(15): e101654. doi: 10.15252/embj.2019101654.

6. Bogdanova N., Helbig S., Dörk T. Hereditary breast cancer: ever more pieces to the polygenic puzzle. Hered Cancer Clin Pract. 2013 Sep 11; 11(1): 12.

7. Budczies J., Allgauer M., Litchfield K., Rempel E., Christopoulos P., Kazdal D., Endris V., Thomas M., Fröbling S., Peters S., Swanton C., Schirmacher P., Stenzinger A. Optimizing panel-based tumor mutational burden (TMB) measurement. Ann Oncol. 2019 Sep 1; 30(9): 1496-1506.

8. Catana A., Apostu A.P., Antemie R.G. Multi gene panel testing for hereditary breast cancer – is it ready to be used? Med Pharm Rep. 2019 Jul; 92(3): 220-225. doi: 10.15386/mpr-1083.

9. Chowell D., Morris L.G.T., Grigg C.M., Weber J.K., Samstein R.M., Makarov V., Kuo F., Kendall S.M., Requena D., Riaz N., Greenbaum B., Carroll J., Garon E., Hyman D.M., Zehir A., Solit D., Berger M., Zhou R., Rizvi N.A., Chan T.A. Patient HLA class I genotype influences cancer response to checkpoint blockade immunotherapy. Science. 2018 Feb 2; 359(6375): 582-587.

10. Cohen J.D., Li L., Wang Y., Thoburn C., Afsari B., Danilova L., Douville C., Javed A.A., Wong F., Mattox A., Hruban R.H., Wolfgang C.L., Goggins M.G., Dal Molin M., Wang T.L., Roden R., Klein A.P., Ptak J., Dobbyn L., Schaefer J., Silliman N., Popoli M., Vogelstein J.T., Browne J.D., Schoen R.E., Brand R.E., Tie J., Gibbs P., Wong H.L., Mansfield A.S., Jen J., Hanash S.M., Falconi M., Allen P.J., Zhou S., Bettegowda C., Diaz L.A. Jr., Tomasetti C., Kinzler K.W., Vogelstein B., Lennon A.M., Papadopoulos N. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. Science. 2018 Feb 23; 359(6378): 926-930.

11. Conroy J.M., Pabla S., Nesline M.K., Glenn S.T., Papanicolaou-Sengos A., Burgher B., Andreas J., Giamo V., Wang Y., Lenzo F.L., Bshara W., Khalil M., Dy G.K., Madden K.G., Shirai K., Dragnev K., Tafe L.J., Zhu J., Labriola M., Marin D., McCall S.J., Clarke J., George D.J., Zhang T., Zibelman M., Ghatalia P., Araujo-Fernandez I., de la Cruz-Merino L., Singavi A., George B., MacKinnon A.C., Thompson J., Singh R., Jacob R., Kasuganti D., Shah N., Day R., Galluzzi L., Gardner M., Morrison C. Next generation sequencing of PD-L1 for predicting response to immune checkpoint inhibitors. J Immunother Cancer. 2019 Jan 24; 7(1): 18. doi: 10.1186/s40425-018-0489-5.

12. Drost J., Clevers H. Organoids in cancer research. Nat Rev Cancer. 2018 Jul; 18(7): 407-418.

13. Duffy M.J. Tumor markers in clinical practice: a review focusing on common solid cancers. Med Princ Pract. 2013; 22(1): 4-11.

14. Eckstein M., Wirtz R.M., Pfannstiel C., Wach S., Stoehr R., Breyer J., Erlmeier F., Günes C., Nitschke K., Weichert W., Otto W., Keck B., Eidt S., Burger M., Taubert H., Wullich B., Bolenz C., Hartmann A., Erben P. A multicenter round robin test of PD-L1 expression assessment in urothelial bladder cancer by immunohistochemistry and RT-qPCR with emphasis on prognosis prediction after radical cystectomy. Oncotarget. 2018 Feb 19; 9(19): 15001-15014.

15. Economopoulou P., Mountzios G., Pavlidis N., Pentheroudakis G. Cancer of Unknown Primary origin in the genomic era: Elucidating the dark box of cancer. Cancer Treat Rev. 2015 Jul; 41(7): 598-604.

16. El Rassy E., Pavlidis N. The current evidence for a biomarker-based approach in cancer of unknown primary. Cancer Treat Rev. 2018 Jun; 67: 21-28. doi: 10.1016/j.ctrv.2018.04.011.

17. Endris V., Buchhalter I., Allgauer M., Rempel E., Lier A., Volckmar A.L., Kirchner M., von Winterfeld M., Leichsenring J., Neumann O., Penzel R., Weichert W., Glimm H., Fröbling S., Winter H., Herth F., Thomas M., Schirmacher P., Budczies J., Stenzinger A. Measurement of tumor mutational burden (TMB) in routine molecular diagnostics: in silico and real-life analysis of three larger gene panels. Int J Cancer. 2019 May 1; 144(9): 2303-2312.

18. Fancelli L., Gandini S., Pelicci P.G., Mazzarella L. Tumor mutational burden quantification from targeted gene panels: major advancements and challenges. *J Immunother Cancer*. 2019 Jul 15; 7(1): 183.
19. Fessler J., Matson V., Gajewski T.F. Exploring the emerging role of the microbiome in cancer immunotherapy. *J Immunother Cancer*. 2019 Apr 17; 7(1): 108.
20. Geurickx E., Hendrix A. Targets, pitfalls and reference materials for liquid biopsy tests in cancer diagnostics. *Mol Aspects Med*. 2019; pii: S0098-2997(19)30084-6. doi: 10.1016/j.mam.2019.10.005.
21. Gibney G.T., Weiner L.M., Atkins M.B. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *Lancet Oncol*. 2016 Dec; 17(12): e542-e551.
22. Gopalakrishnan V., Helmink B.A., Spencer C.N., Reuben A., Wargo J.A. The Influence of the Gut Microbiome on Cancer, Immunity, and Cancer Immunotherapy. *Cancer Cell*. 2018 Apr 9; 33(4): 570-580.
23. Havel J.J., Chowell D., Chan T.A. The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2019 Mar; 19(3): 133-150.
24. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4; 144(5): 646-74.
25. Hayashi H., Kurata T., Takiguchi Y., Arai M., Takeda K., Akiyoshi K., Matsumoto K., Onoe T., Mukai H., Matsubara N., Minami H., Toyoda M., Onozawa Y., Ono A., Fujita Y., Sakai K., Koh Y., Takeuchi A., Ohashi Y., Nishio K., Nakagawa K. Randomized Phase II Trial Comparing Site-Specific Treatment Based on Gene Expression Profiling With Carboplatin and Paclitaxel for Patients With Cancer of Unknown Primary Site. *J Clin Oncol*. 2019 Mar 1; 37(7): 570-579.
26. Herbst R.S., Maddox A.M., Rothenberg M.L., Small E.J., Rubin E.H., Baselga J., Rojo F., Hong W.K., Swaisland H., Averbuch S.D., Ochs J., LoRusso P.M. Selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 is generally well-tolerated and has activity in non-small-cell lung cancer and other solid tumors: results of a phase I trial. *J Clin Oncol*. 2002 Sep 15; 20(18): 3815-25. doi: 10.1200/JCO.2002.03.038.
27. Iyevleva A.G., Imyanitov E.N. Cytotoxic and targeted therapy for hereditary cancers. *Hered Cancer Clin Pract*. 2016 Aug 23; 14(1): 17.
28. Jänne P.A., Yang J.C., Kim D.W., Planchard D., Obe Y., Ramalingam S.S., Abn M.J., Kim S.W., Su W.C., Horn L., Haggstrom D., Felip E., Kim J.H., Frewer P., Cantarini M., Brown K.H., Dickinson P.A., Gbiorgbiu S., Ranson M. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015 Apr 30; 372(18): 1689-99.
29. Järvinen H.J., Aarnio M., Mustonen H., Aktan-Collan K., Aaltonen L.A., Peltomäki P., De La Chapelle A., Mecklin J.P. Controlled 15-year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2000 May; 118(5): 829-34.
30. King J.R., Klugman S. Ethnicity-Based Carrier Screening. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2018 Mar; 45(1): 83-101.
31. Kwak E.L., Bang Y.J., Camidge D.R., Shaw A.T., Solomon B., Maki R.G., Ou S.H., Dezube B.J., Jänne P.A., Costa D.B., Varella-Garcia M., Kim W.H., Lynch T.J., Fidias P., Stubbs H., Engelman J.A., Sequist L.V., Tan W., Gandhi L., Mino-Kenudson M., Wei G.C., Shreeve S.M., Ratain M.J., Settleman J., Christensen J.G., Haber D.A., Wilner K., Salgia R., Shapiro G.I., Clark J.W., Iafrate A.J. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2010 Oct 28; 363(18): 1693-703. doi: 10.1056/NEJMoa1006448.
32. Le D.T., Durham J.N., Smith K.N., Wang H., Bartlett B.R., Aulakb L.K., Lu S., Kemberling H., Wilt C., Lubner B.S., Wong F., Azad N.S., Rucki A.A., Laberu D., Donehower R., Zabeer A., Fisher G.A., Crocenzi T.S., Lee J.J., Greten T.F., Duffy A.G., Ciombor K.K., Eyring A.D., Lam B.H., Joe A., Kang S.P., Holdhoff M., Danilova L., Cope L., Meyer C., Zhou S., Goldberg R.M., Armstrong D.K., Bever K.M., Fader A.N., Taube J., Housseau F., Spetzler D., Xiao N., Pardoll D.M., Papadopoulos N., Kinzler K.W., Eshleman J.R., Vogelstein B., Anders R.A., Diaz L.A.Jr. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017 Jul 28; 357(6349): 409-413.
33. Litton J.K., Burstein H.J., Turner N.C. Molecular Testing in Breast Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2019 Jan; 39: e1-e7.
34. Lynch T.J., Bell D.W., Sordella R., Gurubagavatula S., Okimoto R.A., Brannigan B.W., Harris P.L., Haserlat S.M., Supko J.G., Haluska F.G., Louis D.N., Christiani D.C., Settleman J., Haber D.A. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004 May 20; 350(21): 2129-39.
35. Marchetti A., Barberis M., Franco R., De Luca G., Pace M.V., Staibano S., Volante M., Buttitta F., Guerini-Rocco E., Righi L., D'antuono T., Scagliotti G.V., Pinto C., De Rosa G., Papotti M. Multicenter Comparison of 22C3 Pharm Dx (Agilent) and SP263 (Ventana) Assays to Test PD-L1 Expression for NSCLC Patients to Be Treated with Immune Checkpoint Inhibitors. *J Thorac Oncol*. 2017 Nov; 12(11): 1654-1663.
36. Mau C., Untch M. Prophylactic Surgery: For Whom, When and How? *Breast Care (Basel)*. 2017 Dec; 12(6): 379-384. doi: 10.1159/000485830.
37. Møller P., Stormorken A., Jonsrud C., Holmen M.M., Hagen A.I., Clark N., Vabø A., Sun P., Narod S.A., Mæhle L. Survival of patients with BRCA1-associated breast cancer diagnosed in an MRI-based surveillance program. *Breast Cancer Res Treat*. 2013 May; 139(1): 155-61.
38. Otoshi T., Nagano T., Tachibara M., Nishimura Y. Possible Biomarkers for Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel)*. 2019 Jul 3; 11(7). pii: E935.
39. Paez J.G., Jänne P.A., Lee J.C., Tracy S., Greulich H., Gabriel S., Herman P., Kaye F.J., Lindeman N., Boggon T.J., Naoki K., Sasaki H., Fujii Y., Eck M.J., Sellers W.R., Johnson B.E., Meyerson M. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004 Jun 4; 304(5676): 1497-500.
40. Pao W., Miller V., Zakowski M., Doherty J., Politi K., Sarkaria I., Singh B., Heelan R., Rusch V., Fulton L., Mardis E., Kupfer D., Wilson R., Kris M., Varmus H. EGFR receptor gene mutations are common in lung cancers from

«never smokers» and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. Proc Natl Acad Sci USA. 2004 Sep 7; 101(36): 13306-11. doi: 10.1073/pnas.0405220101.

41. *Planchard D., Smit E.F., Groen H.J.M., Mazieres J., Besse B., Helland A., Giannone V., D'Amelio A.M.Jr., Zhang P., Mookerjee B., Johnson B.E.* Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAF (V600E)-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial. Lancet Oncol. 2017 Oct; 18(10): 1307-1316.

42. *Ranson M., Hammond L.A., Ferry D., Kris M., Tullo A., Murray P.I., Miller V., Averbuch S., Ochs J., Morris C., Feyereislova A., Swaisland H., Rowinsky E.K.* ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, is well tolerated and active in patients with solid, malignant tumors: results of a phase I trial. J Clin Oncol. 2002 May 1; 20(9): 2240-50.

43. *Ratcliffe M.J., Sharpe A., Midha A., Barker C., Scott M., Scorer P., Al-Masri H., Rebelatto M.C., Walker J.* Agreement between Programmed Cell Death Ligand-1 Diagnostic Assays across Multiple Protein Expression Cutoffs in Non-Small Cell Lung Cancer. Clin Cancer Res. 2017 Jul 15; 23(14): 3585-3591.

44. *Refae S., Gal J., Brest P., Milano G.* Germinal immunogenetics as a predictive factor for immunotherapy. Crit Rev Oncol Hematol. 2019 Sep; 141: 146-152. doi: 10.1016/j.critrevonc.2019.06.013.

45. *Rimm D.L., Han G., Taube J.M., Yi E.S., Bridge J.A., Flieder D.B., Homer R., West W.W., Wu H., Roden A.C., Fujimoto J., Yu H., Anders R., Kowalewski A., Rivard C., Rebman J., Batenchuk C., Burns V., Hirsch F.R., Wistuba I.I.* A Prospective, Multi-institutional, Pathologist-Based Assessment of 4 Immunohistochemistry Assays for PD-L1 Expression in Non-Small Cell Lung Cancer. JAMA Oncol. 2017 Aug 1; 3(8): 1051-1058.

46. *Rittmeyer A., Barlesi F., Waterkamp D., Park K., Ciardiello F., von Pawel J., Gadgeel S.M., Hida T., Kowalski D.M., Dols M.C., Cortinovis D.L., Leach J., Polikoff J., Barrios C., Kabbinar F., Frontera O.A., De Marinis F., Turna H., Lee J.S., Ballinger M., Kowanetz M., He P., Chen D.S., Sandler A., Gandara D.R.;* OAK Study Group. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. Lancet. 2017 Jan 21; 389(10066): 255-265.

47. *Rizk E.M., Gartrell R.D., Barker L.W., Esancy C.L., Finkel G.G., Bordbar D.D., Saenger Y.M.* Prognostic and Predictive Immunohistochemistry-Based Biomarkers in Cancer and Immunotherapy. Hematol Oncol Clin North Am. 2019 Apr; 33(2): 291-299.

48. *Samadder N.J., Giridhar K.V., Baffy N., Riegert-Johnson D., Couch F.J.* Hereditary Cancer Syndromes-A Primer on Diagnosis and Management. Part 1: Breast-Ovarian Cancer Syndromes. Mayo Clin Proc. 2019 Jun; 94(6): 1084-1098. doi: 10.1016/j.mayocp.2019.02.017.

49. *Samadder N.J., Baffy N., Giridhar K.V., Couch F.J., Riegert-Johnson D.* Hereditary Cancer Syndromes-A Primer on Diagnosis and Management. Part 2: Gastrointestinal Cancer Syndromes. Mayo Clin Proc. 2019 Jun; 94(6): 1099-1116.

50. *Shaw A.T., Ou S.H., Bang Y.J., Camidge D.R., Solomon B.J., Salgia R., Riely G.J., Varela-Garcia M., Shapiro G.I., Costa D.B., Doebele R.C., Le L.P., Zeng Z., Tan W., Stephenson P., Shreeve S.M., Tye L.M., Christensen J.G., Wilner K.D., Clark J.W., Jafrate A.J.* Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. N Engl J Med. 2014 Nov 20; 371(21): 1963-71.

51. *Snyder C., Hampel H.* Hereditary Colorectal Cancer Syndromes. Semin Oncol Nurs. 2019 Feb; 35(1): 58-78. doi: 10.1016/j.soncn.2018.12.011.

52. *Socinski M.A., Jotte R.M., Cappuzzo F., Orlandi F., Stroyakovskiy D., Nogami N., Rodriguez-Abreu D., Moro-Sibilot D., Thomas C.A., Barlesi F., Finley G., Kelsch C., Lee A., Coleman S., Deng Y., Shen Y., Kowanetz M., Lopez-Chavez A., Sandler A., Reck M.;* IM power 150 Study Group. Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. N Engl J Med. 2018 Jun 14; 378(24): 2288-2301.

53. *Sokolenko A.P., Imyanitov E.N.* Molecular Tests for the Choice of Cancer Therapy. Curr Pharm Des. 2017; 23(32): 4794-4806.

54. *Sokolenko A.P., Imyanitov E.N.* Molecular Diagnostics in Clinical Oncology. Front Mol Biosci. 2018 Aug 27; 5: 76.

55. *Suspitsin E., Yanus G., Imyanitov E.* Diagnosis for carcinoma of unknown primary site with the aid of simple PCR tests: a single-center experience. Neoplasma. 2018 Mar 14; 65(3): 461-468. doi: 10.4149/neo\_2018\_170423N304.

56. *Tuveson D., Clevers H.* Cancer modeling meets human organoid technology. Science. 2019 Jun 7; 364(6444): 952-955.

57. *Van der Velde N.M., Mourits M.J., Arts H.J., de Vries J., Leegte B.K., Dijkhuis G., Oosterwijk J.C., de Bock G.H.* Time to stop ovarian cancer screening in BRCA1/2 mutation carriers? Int J Cancer. 2009 Feb 15; 124(4): 919-23.

58. *Volkov N.M., Yanus G.A., Ivantsov A.O., Moiseenko F.V., Matorina O.G., Bizin I.V., Moiseyenko V.M., Imyanitov E.N.* Efficacy of immune checkpoint blockade in MUTYH-associated hereditary colorectal cancer. Invest New Drugs. 2019 (in press).

59. *Yizhak K., Aguet F., Kim J., Hess J.M., Kübler K., Grimsby J., Frazer R., Zhang H., Haradhvala N.J., Rosebrock D., Livitz D., Li X., Arich-Landkof E., Shores N., Stewart C., Segrè A.V., Branton P.A., Polak P., Ardlie K.G., Getz G.* RNA sequence analysis reveals macroscopic somatic clonal expansion across normal tissues. Science. 2019 Jun 7; 364(6444). pii: eaaw0726. doi: 10.1126/science.aaw0726.

60. *Zeng J., Johnson A., Shufean M.A., Kable M., Yang D., Woodman S.E., Vu T., Moorthy S., Holla V., Meric-Bernstam F.* Operationalization of Next-Generation Sequencing and Decision Support for Precision Oncology. JCO Clin Cancer Inform. 2019 Sep; 3: 1-12. doi: 10.1200/CCI.19.00089.