

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И РЕЗИСТЕНТНОСТИ КАРЦИНОМ ТОЛСТОЙ КИШКИ К ТЕРАПИИ АНТАГОНИСТАМИ EGFR

**А.О. Иванцов^{1,2}, Г.А. Янус^{1,2}, Е.Н. Суспицын^{1,2}, Е.И. Анисимова²,
Е.Н. Имянитов^{1,2,3}**

НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, г. Санкт-Петербург¹

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, г. Санкт-Петербург²

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург³

197758, г. Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68, e-mail: evgeny@imyanyitov.spb.ru¹

Аннотация

Таргетная терапия метастатического рака толстой кишки отличается отсутствием молекулярных маркеров, позволяющих предсказать наличие выраженной чувствительности к специфическому лечению. Вместе с тем для анти-EGFR антител известны надежные маркеры резистентности к терапии. Их определение стало обязательной процедурой, предшествующей назначению соответствующих лекарственных препаратов. «Золотым стандартом» сегодняшнего дня, обозначенным в различных клинических рекомендациях, является анализ всей кодирующей последовательности генов KRAS и NRAS в опухолевой ткани. Мутации в KRAS и NRAS встречаются в 45–65 % карцином толстой кишки. Тем не менее исключение пациентов, в чьих опухолях были обнаружены мутации KRAS и NRAS, не решает полностью проблему отбора больных. Это стимулирует поиск новых предиктивных маркеров. К настоящему моменту практически доказана предиктивная роль мутаций V600E в гене BRAF. Интенсивно изучается роль мутаций и/или нарушений экспрессии генов PIK3CA, PTEN, EREG, AREG, IGF2, а также амплификаций HER2/neu и MET. Ожидается, что работы в данном направлении позволят существенно повысить клиническую и экономическую эффективность лечения рака толстой кишки.

Ключевые слова: аденокарцинома, рак толстой кишки, анти-EGFR антитела, предиктивные маркеры, KRAS, NRAS, BRAF.

Современная онкология располагает широким спектром лекарственных средств для лечения метастатического рака толстой кишки (РТК) [11, 13]. В частности, РТК зачастую демонстрирует заметную чувствительность к цитостатикам: фторурацилу, оксалиплатину и иринотекану. В комбинации с химиотерапией применяются модуляторы ангиогенеза: бевацизумаб и афлиберцепт. Клиническое использование анти-EGFR антител (цетуксимаба, панитумумаба) основывается на представлениях о роли активации данного рецептора в патогенезе рака толстой кишки. Именно внедрение антагонистов EGFR в терапию РТК послужило отправной точкой для интеграции молекулярно-генетических тестов в практическую онкологию.

Статус гена EGFR

Цетуксимаб и панитумумаб взаимодействуют с EGFR, препятствуя его связыванию с лигандом и способствуя быстрой интернализации и

деградации рецептора. Основная часть эффекта моноклональных анти-EGFR антител связана с ослаблением онкогенного сигнала, передающегося от мембраны к ядру. Первоначально обоснованием для применения этих препаратов служило обнаружение признаков выраженной экспрессии EGFR в большинстве случаев РТК (60–80 %) [43]. Предполагалось, что определение уровня экспрессии рецептора посредством иммуногистохимического (ИГХ) анализа послужит надежным предиктивным маркером ответа на терапию цетуксимабом или панитумумабом. Однако уже в ходе первых клинических испытаний терапевтических анти-EGFR антител стало понятно, что данное предположение не соответствует истине: ни присутствие, ни степень выраженности экспрессии EGFR не коррелировали с ответом на терапию [9, 43]. Следует отметить, что отчасти отсутствие предиктивной значимости ИГХ может быть обусловлено не только биологическими, но и методическими причинами [21].

Предпринимались попытки связать ответ на цетуксимаб с наличием мутаций в гене EGFR. Установлено, что мутации тирозинкиназного домена EGFR встречаются при РТК редко – в 0,5–1 % случаев [5, 8]. В то же время вплоть до 10–20 % первоначально отвечающих на терапию цетуксимабом больных РТК становятся вторично резистентны к ней в результате появления мутаций во внеклеточном домене EGFR [4, 34, 35]. Эти вновь приобретённые мутации препятствуют связыванию EGFR с цетуксимабом. Практически важно, что частая повторяющаяся мутация p.S492R, обеспечивая устойчивость к цетуксимабу, не ассоциирована с резистентностью опухоли к другому анти-EGFR антителу – панитумумабу [34].

Помимо точковых мутаций в EGFR, в ранних работах оценивалось наличие амплификации этой молекулы. Предполагалось, что амплификация EGFR, подобно амплификации гена HER2/neu при раке молочной железы и раке желудка, может быть ассоциирована с чувствительностью к терапии цетуксимабом. Действительно, амплификация EGFR встречается при РТК [37]. Как правило, опухоли с этой абберацией гетерогенны, амплификация наблюдается не во всех клетках и мало коррелирует с экспрессией EGFR на уровне белка [1, 37, 41]. Достоверное выявление этой аномалии представляется методически непростой задачей [44]. Так или иначе, амплификация EGFR не является обязательным условием для ответа на анти-EGFR терапию [22], хотя данное событие действительно ассоциировано с большей чувствительностью к лечению [23, 50]. Несмотря на длительную историю изучения статуса EGFR [36], тест на амплификацию данного гена пока не стандартизирован и не готов к внедрению в рутинную клиническую практику [23, 44, 50]. Некоторые исследования указывают на роль гиперэкспрессии лигандов EGFR – амфигулина (AREG) и эфирегулина (EREG) – в формировании ответа на лечение [26, 32]. Эти сведения не согласуются с наблюдениями, полученными в ходе лабораторных экспериментов [19]. Возможно, негативной предиктивной ролью обладает экспрессия IGF2, который взаимодействует с рецепторной тирозинкиназой IGF1R, последняя, подобно EGFR, способна запускать онкогенные сигнальные каскады PI3K/Akt и RAS-MAPK [54].

Мутации в генах семейства RAS

Гены семейства RAS (KRAS, NRAS, HRAS) являются ключевыми участниками пролиферативного каскада RAS-MAPK. Мутации в KRAS встречаются при РТК в 30–45 % случаев [8, 15] и ассоциированы с отсутствием эффективности анти-EGFR терапии [3, 24, 30]. Необходимо упомянуть, что ошибочное назначение анти-EGFR терапии больным с мутациями в генах RAS может ухудшать показатели общей и безрецидивной продолжительности жизни пациентов [47]. Наиболее

часто мутации выявляются во втором экзоне гена KRAS – в кодонах 12 и 13, поэтому первоначально тестирование проводилось только по этим позициям. Приблизительно в 6–11 % случаев РТК мутации приходятся на другие кодоны гена, в основном на 59, 61, 117 и 146 [8, 40, 47]. Среди гомологов KRAS, обладающих онкогенными свойствами, в РТК встречаются мутации в NRAS. Частота этих мутаций составляет 4–10 % [8, 15, 47]. Мутации чаще всего находятся в кодонах 61, 12 и 13. «Дополнительные» мутации в генах RAS также являются маркерами резистентности, поэтому «золотым стандартом» считается исследование всей кодирующей последовательности этих двух генов [11, 18, 33, 38, 47]. Малоизученным остается редкий феномен амплификации гена KRAS. Они встречаются менее чем в 1 % РТК, но, возможно, также обеспечивают устойчивость к терапии анти-EGFR антителами [48].

Мутации в гене BRAF

Другим участником каскада RAS-MAPK является онкоген BRAF. Мутации BRAF наблюдаются в 10–12 % РТК [8, 15]. Наиболее частая мутация в этом онкогене — p.V600E. Около 60 % случаев РТК с мутациями p.V600E приходятся на опухоли с микросателлитной нестабильностью и так называемым метилиаторным фенотипом. Эти опухоли, как правило, расположены на правой стороне толстой кишки. Они чаще возникают у женщин и у больных пожилого возраста. Подобно другим опухолям с микросателлитной нестабильностью, эти новообразования в целом характеризуются благоприятным прогнозом. Оставшиеся 40 % BRAF-мутированных РТК развиваются вне связи с микросателлитной нестабильностью и отличаются очень агрессивным течением [46]. Предположение о предиктивной роли мутаций в гене BRAF сделано давно [7, 11, 33]. Оно превосходно укладывается в существующие теоретические представления о пролиферативных сигнальных каскадах. Однако подтвердить роль мутаций в гене BRAF в формировании резистентности к антагонистам EGFR представляется сложным вследствие относительной редкости данного события. Даже опубликованные метаанализы ответа BRAF-мутированных опухолей несколько расходятся по своим выводам: в то время как одни авторы говорят о полной резистентности BRAF-мутированных опухолей к анти-EGFR антителам, другие указывают лишь на уменьшение степени выраженности ответа опухоли на терапию [39, 42]. На небольших сериях больных РТК с мутацией BRAF p.V600E показан выраженный терапевтический эффект комбинации ингибиторов EGFR и мутированного BRAF [2].

Интересно, что роль собственно микросателлитной нестабильности как потенциального предиктивного или прогностического маркера анти-EGFR терапии остаётся неизученной, и

стратификации мутаций BRAF по этому признаку также не проводилось. Известно, что иммунный статус микроокружения опухолей с микросателлитной нестабильностью обладает отличительными особенностями [31]. В то же время эффект терапии анти-EGFR антителами, по крайней мере отчасти, принято объяснять так называемой антителозависимой цитотоксичностью [45]. Потенциально ответ на терапию может различаться в зависимости от наличия или отсутствия микросателлитной нестабильности и соответствующего иммунного статуса микроокружения опухоли.

Мутации p.V600E являются наиболее частым повреждением BRAF при РТК, однако у некоторых больных обнаруживается другая аминокислотная замена – p.D594G [52]. Между тем, возможно, она вызывает уменьшение киназной активности BRAF, связана с благоприятным прогнозом и не способствует резистентности к анти-EGFR терапии [10, 11].

PIK3CA, PTEN, HER2 и MET

В 14–18 % РТК выявляют мутации PIK3CA. Этот ген – каталитическая субъединица киназы PI3K из каскада PI3K/AKT. Чаще всего встречаются мутации в экзоне 9 – p.E542K и p.E545K (~70 %), а также в экзоне 20 – p.H1047R (~30 %) [8, 15]. Мутации в экзоне 9 активируют каталитическую субъединицу PIK3CA вне зависимости от статуса тирозинкиназ, но оставляют возможность ее дополнительной модификации при взаимодействии с RAS белками. Мутации в экзоне 20, наоборот, активируют этот белок независимо от взаимодействия с RAS белками, но допускают дополнительную активацию со стороны тирозинкиназ [14]. Исходя из этого, кажется логичным, что мутации в экзоне 9 обычно встречаются в сочетании с мутациями генов RAS, а генетические повреждения в экзоне 20 возникают независимо [11]. Согласно недавнему метаанализу, мутации в экзоне 20 способствуют резистентности к анти-EGFR терапии, а изолированные дефекты в экзоне 9 могут быть с ней не связаны [20].

В 6–10 % случаев РТК встречаются инактивирующие мутации в гене PTEN – негативном регуляторе каскада PI3K/Akt [8, 15]. Еще чаще наблюдают сниженную экспрессию PTEN. Прогностическая роль сниженной экспрессии и/или инактивирующих мутаций PTEN является предметом интенсивного изучения и дискуссии [16, 32, 51]. В недавно опубликованном метаанализе показана прогностическая значимость утраты экспрессии гена PTEN [51]. Тем не менее тесты на определение статуса PIK3CA и PTEN пока не стали компонентом клинической практики как вследствие недостатка фактической информации, так и по причине недостаточной стандартизации соответствующих лабораторных методик.

Хотя активация гена HER2/neu в РТК открыта много лет назад [37], лишь недавно этот аспект стал

активно изучаться в онкологической колопроктологии. Действительно, примерно в 7 % РТК наблюдаются амплификации или активирующие точковые мутации HER2/neu. Судя по экспериментальным данным, они ассоциированы с резистентностью РТК к анти-EGFR терапии [53]. С другой стороны, активация HER2 может обеспечивать чувствительность опухоли к ингибиторам этого рецептора, в частности к трастузумабу [12] или так называемым малым молекулам [25]. Точковые мутации HER2 встречаются примерно в 15 % РТК, развившихся на фоне синдрома Линча или в результате соматических мутаций в генах, ассоциированных с этим синдромом [28]. Следует заметить, что многие из этих мутаций могут не иметь самостоятельного биологического значения, а отражать «мутационный шум». Еще одна вероятная причина как первичной, так и вторичной резистентности к анти-EGFR терапии – амплификация рецепторной тирозинкиназы MET. Это событие наблюдается в РТК достаточно редко, поэтому его изучение сопряжено со значительными трудностями [6].

Заключение

Детекция кодирующих мутаций в онкогенах KRAS и NRAS стала неотъемлемой частью лабораторного исследования опухолей толстой кишки. Выявление других маркеров пока остаётся предметом экспериментальных исследований, хотя многие из соответствующих тестов имеют шансы на клиническое применение. Продолжают совершенствоваться методические аспекты молекулярной диагностики РТК. Первоначально KRAS/NRAS-тестирование основывалось на аллель-специфической ПЦР [3]. Эта методика отличается уникальной чувствительностью, однако способна выявлять лишь небольшой спектр повторяющихся мутаций. Появление новых требований к анализу полной кодирующей последовательности генов KRAS и NRAS привело к более частому использованию секвенирования по Сэнгеру и/или пиросеквенирования [49]. Однако «классические» методы секвенирования требуют достаточно высокого содержания опухолевых клеток в исследуемом материале – выявить подобные участки опухоли удастся не во всех образцах, поступающих на молекулярное тестирование. Появление принципиально новых методов ДНК-анализа, в частности секвенирования нового поколения, позволило многократно повысить чувствительность детекции мутантных аллелей [17, 27]. Недавние работы указывают на тот факт, что некоторые РТК содержат значимые мутации лишь в небольшом проценте опухолевых клеток, т.е. обладают значительной внутриопухолевой гетерогенностью [17, 29]. Клиническое значение мозаичных мутаций нуждается в дальнейшем изучении [29].

*Данная работа поддержана
грантом РНФ 14-25-00111.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Ålgars A., Lintunen M., Carpén O., Ristamäki R., Sundström J. EGFR gene copy number assessment from areas with highest EGFR expression predicts response to anti-EGFR therapy in colorectal cancer // *Br. J. Cancer*. 2011. Vol. 105 (2). P. 255–262. doi: 10.1038/bjc.2011.223.
2. Ahronian L.G., Sennott E.M., Van Allen E.M., Wagle N., Kwak E.L., Faris J.E., Godfrey J.T., Nishimura K., Lynch K.D., Mermel C.H., Lockerman E.L., Kalsy A., Gurski J.M. Jr., Bahl S., Anderka K., Green L.M., Lennon N.J., Huynh T.G., Mino-Kenudson M., Getz G., Dias-Santagata D., Iafrate A.J., Engelman J.A., Garraway L.A., Corcoran R.B. Clinical Acquired Resistance to RAF Inhibitor Combinations in BRAF-Mutant Colorectal Cancer through MAPK Pathway Alterations // *Cancer Discov*. 2015. Vol. 5 (4). P. 358–367. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-1518.
3. Amado R.G., Wolf M., Peeters M., Van Cutsem E., Siena S., Freeman D.J., Juan T., Sikorski R., Suggs S., Radinsky R., Patterson S.D., Chang D.D. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer // *J. Clin. Oncol*. 2008. Vol. 26 (10). P. 1626–1634. doi: 10.1200/JCO.2007.14.7116.
4. Arena S., Bellosillo B., Siravegna G., Martínez A., Cañadas I., Lazari L., Ferruz N., Russo M., Misale S., González I., Iglesias M., Gavilan E., Corti G., Hobor S., Crisafulli G., Salido M., Sánchez J., Dalmases A., Bellmunt J., De Fabritiis G., Rovira A., Di Nicolantonio F., Albanell J., Bardelli A., Montagut C. Emergence of Multiple EGFR Extracellular Mutations during Cetuximab Treatment in Colorectal Cancer // *Clin. Cancer Res*. 2015. Vol. 21 (9). P. 2157–2166. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2821.
5. Barber T.D., Vogelstein B., Kinzler K.W., Velculescu V.E. Somatic mutations of EGFR in colorectal cancers and glioblastomas // *N. Engl. J. Med*. 2004. Vol. 351 (27). P. 2883.
6. Bardelli A., Corso S., Bertotti A., Hobor S., Valtorta E., Siravegna G., Sartore-Bianchi A., Scala E., Cassingena A., Zecchin D., Apicella M., Migliardi G., Galimi F., Lauricella C., Zanon C., Perera T., Veronese S., Corti G., Amatu A., Gambacorta M., Diaz L.A. Jr., Sausen M., Velculescu V.E., Comoglio P., Trusolino L., Di Nicolantonio F., Giordano S., Siena S. Amplification of the MET receptor drives resistance to anti-EGFR therapies in colorectal cancer // *Cancer Discov*. 2013. Vol. 3 (6). P. 658–673. doi: 10.1158/2159-8290.
7. Benvenuti S., Sartore-Bianchi A., Di Nicolantonio F., Zanon C., Moroni M., Veronese S., Siena S., Bardelli A. Oncogenic activation of the RAS/RAF signaling pathway impairs the response of metastatic colorectal cancers to anti-epidermal growth factor receptor antibody therapies // *Cancer Res*. 2007. Vol. 67 (6). P. 2643–2648.
8. *Cancer Genome Atlas Network*. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer // *Nature*. 2012. Vol. 487 (7407). P. 330–337. doi: 10.1038/nature11252.
9. Chung K.Y., Shia J., Kemeny N.E., Shah M., Schwartz G.K., Tse A., Hamilton A., Pan D., Schrag D., Schwartz L., Klimstra D.S., Fridman D., Kelsen D.P., Saltz L.B. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry // *J. Clin. Oncol*. 2005. Vol. 23 (9). P. 1803–1810.
10. Cremolini C., Di Bartolomeo M., Amatu A., Antoniotti C., Moretto R., Berenato R., Perrone F., Tamborini E., Aprile G., Lonardi S., Sartore-Bianchi A., Fontanini G., Milione M., Lauricella C., Siena S., Falcone A., de Braud F., Loupakis F., Pietrantonio F. BRAF codons 594 and 596 mutations identify a new molecular subtype of metastatic colorectal cancer at favorable prognosis // *Ann. Oncol*. 2015. Vol. 26 (10). P. 2092–2097. doi: 10.1093/annonc/mdv290.
11. De Roock W., Claes B., Bernasconi D., De Schutter J., Biesmans B., Fountzilas G., Kalogeras K.T., Kotoula V., Papamichael D., Laurent-Puig P., Penault-Llorca F., Rougier P., Vincenzi B., Santini D., Tonini G., Cappuzzo F., Frattini M., Molinari F., Saletti P., De Dosso S., Martini M., Bardelli A., Siena S., Sartore-Bianchi A., Tabernero J., Macarulla T., Di Fiore F., Gangloff A.O., Ciardiello F., Pfeiffer P., Qvortrup C., Hansen T.P., Van Cutsem E., Piessevaux H., Lambrechts D., Delorenzi M., Tejpar S. 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. Vol. 11 (8). P. 753–762. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70130-3.
12. Disel U., Germain A., Yilmaz B., Abali H., Bolat F.A., Yelensky R., Elvin J.A., Lipson D., Chmielecki J., Wang K., Stephens P.J., Ross J.S., Miller V.A., Ali S.M., George T.J. Jr. Durable clinical benefit to trastuzumab and chemotherapy in a patient with metastatic colon adenocarcinoma harboring ERBB2 amplification // *Oncoscience*. 2015. Vol. 2 (6). P. 581–584.
13. Fakih M.G. Metastatic colorectal cancer: current state and future directions // *J. Clin. Oncol*. 2015. Vol. 33 (16). P. 1809–1824. doi: 10.1200/JCO.2014.59.7633.
14. Flanagan J.U., Shepherd P.R. Structure, function and inhibition of the phosphoinositide 3-kinase p110α enzyme // *Biochem. Soc. Trans*. 2014. Vol. 42 (1). P. 120–124. doi: 10.1042/BST20130255.
15. Forbes S.A., Beare D., Gunasekaran P., Leung K., Bindal N., Boutselakis H., Ding M., Bamford S., Cole C., Ward S., Kok C.Y., Jia M., De T., Teague J.W., Stratton M.R., McDermott U., Campbell P.J. COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer // *Nucleic Acids Res*. 2015. Vol. 43 (Database issue). P. D805–811. doi: 10.1093/nar/gku1075.
16. Frattini M., Saletti P., Romagnani E., Martin V., Molinari F., Ghisletta M., Camponovo A., Etienne L.L., Cavalli F., Mazzucchelli L. PTEN loss of expression predicts cetuximab efficacy in metastatic colorectal cancer patients // *Br. J. Cancer*. 2007. Vol. 97 (8). P. 1139–1145.
17. Haley L., Tseng L.H., Zheng G., Dudley J., Anderson D.A., Azad N.S., Gocke C.D., Eshleman J.R., Lin M.T. Performance characteristics of next-generation sequencing in clinical mutation detection of colorectal cancers // *Mod. Pathol*. 2015. Vol. 28 (10). P. 1390–1399. doi: 10.1038/modpathol.2015.86.
18. Hecht J.R., Douillard J.Y., Schwartzberg L., Grothey A., Kopetz S., Rong A., Oliner K.S., Sidhu R. Extended RAS analysis for anti-epidermal growth factor therapy in patients with metastatic colorectal cancer // *Cancer Treat. Rev*. 2015. Vol. 41 (8). P. 653–659. doi: 10.1016/j.ctrv.2015.05.008.
19. Hobor S., Van Emburgh B.O., Crowley E., Misale S., Di Nicolantonio F., Bardelli A. TGFα and amphiregulin paracrine network promotes resistance to EGFR blockade in colorectal cancer cells // *Clin. Cancer Res*. 2014. Vol. 20 (24). P. 6429–6438. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0774.
20. Huang L., Liu Z., Deng D., Tan A., Liao M., Mo Z., Yang X. Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody-based therapy for metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of the effect of PIK3CA mutations in KRAS wild-type patients // *Arch. Med. Sci*. 2014. Vol. 10 (1). P. 1–9. doi: 10.5114/aoms.2014.40728.
21. Hutchinson R.A., Adams R.A., McArt D.G., Salto-Tellez M., Jasani B., Hamilton P.W. Epidermal growth factor receptor immunohistochemistry: new opportunities in metastatic colorectal cancer // *J. Transl. Med*. 2015. Vol. 13. P. 217. doi: 10.1186/s12967-015-0531-z.
22. Italiano A., Follana P., Caroli F.X., Badetti J.L., Benchimol D., Garnier G., Gugenheim J., Haudebourg J., Kessler F., Lesbats G., Lledo G., Roussel J.F., Pedetout F., François E. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors for which FISH analysis does not detect an increase in EGFR gene copy number // *Ann. Surg. Oncol*. 2008. Vol. 15 (2). P. 649–654.
23. Jiang Z., Li C., Li F., Wang X. EGFR gene copy number as a prognostic marker in colorectal cancer patients treated with cetuximab or panitumumab: a systematic review and meta analysis // *PLoS One*. 2013. Vol. 8, № 2. P. e56205. doi: 10.1371/journal.pone.0056205.
24. Karapetis C.S., Khambata-Ford S., Jonker D.J., O'Callaghan C.J., Tu D., Tebbutt N.C., Simes R.J., Chalchal H., Shapiro J.D., Robitaille S., Price T.J., Shepherd L., Au H.J., Langer C., Moore M.J., Zalcberg J.R. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer // *N. Engl. J. Med*. 2008. Vol. 359 (17). P. 1757–1765. doi: 10.1056/NEJMoa0804385.
25. Kavuri S.M., Jain N., Galimi F., Cottino F., Leto S.M., Migliardi G., Searleman A.C., Shen W., Monsey J., Trusolino L., Jacobs S.A., Bertotti A., Bose R. HER2 Activating Mutations Are Targets for Colorectal Cancer Treatment // *Cancer Discov*. 2015. Vol. 5 (8). P. 832–841. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-1211.
26. Khambata-Ford S., Garrett C.R., Meropol N.J., Basik M., Harbison C.T., Wu S., Wong T.W., Huang X., Takimoto C.H., Godwin A.K., Tan B.R., Krishnamurthi S.S., Burris H.A. 3rd, Poplin E.A., Hidalgo M., Baselga J., Clark E.A., Mauro D.J. Expression of epiregulin and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab // *J. Clin. Oncol*. 2007. Vol. 25 (22). P. 3230–3237.
27. Kidess E., Heirich K., Wiggan M., Vysotskaia V., Visser B.C., Marziali A., Wiedenmann B., Norton J.A., Lee M., Jeffrey S.S., Poultides G.A. Mutation profiling of tumor DNA from plasma and tumor tissue of colorectal cancer patients with a novel, high-sensitivity multiplexed mutation detection platform // *Oncotarget*. 2015. Vol. 6 (4). P. 2549–2561.
28. Kloth M., Ruessler V., Engel C., Koenig K., Pfeiffer M., Mariotti E., Kuenstlinger H., Florin A., Rommerscheidt-Fuss U., Koitzsch U., Wodtke C., Ueckerthof F., Holzapfel S., Aretz S., Propping P., Loeffler M., Merkelbach-Bruse S., Odenthal M., Friedrichs N., Heukamp L.C., Zander T., Buettner R. Activating ERBB2/HER2 mutations indicate susceptibility to pan-HER inhibitors in Lynch and Lynch-like colorectal cancer // *Gut*. 2015. pii: gutjnl-2014-309026. doi: 10.1136/gutjnl-2014-309026.
29. Laurent-Puig P., Pekin D., Normand C., Kotsopoulos S.K., Nizard P., Perez-Toralla K., Rowell R., Olson J., Srinivasan P., Le Corre D., Hor T., El Harrak Z., Li X., Link D.R., Bouché O., Emile J.F., Landi B., Boige V., Hutchison J.B., Taly V. Clinical relevance of KRAS-mutated subclones detected with picodroplet digital PCR in advanced colorectal cancer treated with anti-EGFR therapy // *Clin. Cancer Res*. 2015. Vol. 21 (5). P. 1087–1097. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0983.

30. Lièvre A., Bachet J.B., Le Corre D., Boige V., Landi B., Emile J.F., Côté J.F., Tomicic G., Penna C., Ducreux M., Rougier P., Penault-Llorca F., Laurent-Puig P. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer // *Cancer Res.* 2006. Vol. 66 (8). P. 3992–3995.
31. Llosa N.J., Cruise M., Tam A., Wicks E.C., Hechenbleikner E.M., Taube J.M., Blosser R.L., Fan H., Wang H., Lubner B.S., Zhang M., Papadopoulos N., Kinzler K.W., Vogelstein B., Sears C.L., Anders R.A., Pardoll D.M., Housseau F. The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable colon cancer is balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints // *Cancer Discov.* 2015. Vol. 5 (1). P. 43–51. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0863.
32. Llovet P., Sastre J., Ortega J.S., Bando I., Ferrer M., García-Alfonso P., Donnay O., Carrato A., Jiménez A., Aranda E., León A., Grávalos C., Cámara J.C., Feliú J., Sanchiz B., Caldés T., Diaz-Rubio E. Prognostic Value of BRAF, PI3K, PTEN, EGFR Copy Number, Amphiregulin and Epiregulin Status in Patients with KRAS Codon 12 Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer Receiving First-Line Chemotherapy with Anti-EGFR Therapy // *Mol. Diagn. Ther.* 2015. Vol. 19 (6). P. 397–408. doi: 10.1007/s40291-015-0165-0.
33. Loupakis F., Ruzzo A., Cremolini C., Vincenzi B., Salvatore L., Santini D., Masi G., Stasi I., Canestrari E., Rulli E., Floriani I., Bencardino K., Galluccio N., Catalano V., Tonini G., Magnani M., Fontanini G., Basolo F., Falcone A., Graziano F. KRAS codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecan in KRAS codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer // *Br. J. Cancer.* 2009. Vol. 101 (4). P. 715–721. doi: 10.1038/sj.bjc.6605177.
34. Montagut C., Dalmases A., Bellosillo B., Crespo M., Pairet S., Iglesias M., Salido M., Gallen M., Marsters S., Tsai S.P., Minoche A., Ses-hagiri S., Serrano S., Himmelbauer H., Bellmunt J., Rovira A., Settleman J., Bosch F., Albanell J. Identification of a mutation in the extracellular domain of the Epidermal Growth Factor Receptor conferring cetuximab resistance in colorectal cancer // *Nat. Med.* 2012. Vol. 18 (2). P. 221–223. doi: 10.1038/nm.2609.
35. Morelli M.P., Overman M.J., Dasari A., Kazmi S.M., Mazard T., Vilar E., Morris V.K., Lee M.S., Herron D., Eng C., Morris J., Kee B.K., Janku F., Deaton F.L., Garrett C., Maru D., Diehl F., Angenendt P., Kopetz S. Characterizing the patterns of clonal selection in circulating tumor DNA from patients with colorectal cancer refractory to anti-EGFR treatment // *Ann. Oncol.* 2015. Vol. 26 (4). P. 731–736. doi: 10.1093/annonc/mdv005.
36. Moroni M., Veronese S., Benvenuti S., Marrapese G., Sartore-Bianchi A., Di Nicolantonio F., Gambacorta M., Siena S., Bardelli A. Gene copy number for epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to antiEGFR treatment in colorectal cancer: a cohort study // *Lancet Oncol.* 2005. Vol. 6 (5). P. 279–286.
37. Ooi A., Takehana T., Li X., Suzuki S., Kunitomo K., Iino H., Fujii H., Takeda Y., Dobashi Y. Protein overexpression and gene amplification of HER-2 and EGFR in colorectal cancers: an immunohistochemical and fluorescent in situ hybridization study // *Mod. Pathol.* 2004. Vol. 17 (8). P. 895–904.
38. Peeters M., Douillard J.Y., Van Cutsem E., Siena S., Zhang K., Williams R., Wizeorek J. Mutant KRAS codon 12 and 13 alleles in patients with metastatic colorectal cancer: assessment as prognostic and predictive biomarkers of response to panitumumab // *J. Clin. Oncol.* 2013. Vol. 31 (6). P. 759–765. doi: 10.1200/JCO.2012.45.1492.
39. Pietrantonio F., Petrelli F., Coiu A., Di Bartolomeo M., Borgonovo K., Maggi C., Cabiddu M., Iacovelli R., Bossi I., Lonati V., Ghilardi M., de Braud F., Barni S. Predictive role of BRAF mutations in patients with advanced colorectal cancer receiving cetuximab and panitumumab: a meta-analysis // *Eur. J. Cancer.* 2015. Vol. 51 (5). P. 587–594. doi: 10.1016/j.ejca.2015.01.054.
40. Piton N., Lonchamp E., Nowak F., Sabourin J.C., KRAS group. Real-Life Distribution of KRAS and NRAS Mutations in Metastatic Colorectal Carcinoma from French Routine Genotyping // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2015. Vol. 24 (9). P. 1416–1418. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0059.
41. Razis E., Pentheroudakis G., Rigakos G., Bobos M., Kouvatsas G., Tzaida O., Makatsoris T., Papakostas P., Bai M., Goussia A., Samantas E., Papamichael D., Romanidou O., Efstratiou I., Tsolaki E., Psyrri A., De Rooch W., Bafaloukos D., Klouvas G., Tejpar S., Kalogeris K.T., Pectasides D., Fountzilas G. EGFR gene gain and PTEN protein expression are favorable prognostic factors in patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with cetuximab // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2014. Vol. 140 (5). P. 737–748. doi: 10.1007/s00432-014-1626-2.
42. Rowland A., Dias M.M., Wiese M.D., Kichenadasse G., McKinnon R.A., Karapetis C.S., Sorich M.J. Meta-analysis of BRAF mutation as a predictive biomarker of benefit from anti-EGFR monoclonal antibody therapy for RAS wild-type metastatic colorectal cancer // *Br. J. Cancer.* 2015. Vol. 112 (12). P. 1888–1894. doi: 10.1038/bjc.2015.173.
43. Saltz L.B., Meropol N.J., Loehrer P.J. Sr., Needle M.N., Kopit J., Mayer R.J. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor // *J. Clin. Oncol.* 2004. Vol. 22 (7). P. 1201–1208.
44. Sartore-Bianchi A., Fieuws S., Veronese S., Moroni M., Personeni N., Frattini M., Torri V., Cappuzzo F., Vander Borgh S., Martin V., Skokan M., Santoro A., Gambacorta M., Tejpar S., Varela-Garcia M., Siena S. Standardisation of EGFR FISH in colorectal cancer: results of an international interlaboratory reproducibility ring study // *J. Clin. Pathol.* 2012. Vol. 65 (3). P. 218–223. doi: 10.1136/jclinpath-2011-200353.
45. Seo Y., Ishii Y., Ochiai H., Fukuda K., Akimoto S., Hayashida T., Okabayashi K., Tsuruta M., Hasegawa H., Kitagawa Y. Cetuximab-mediated ADCC activity is correlated with the cell surface expression level of EGFR but not with the KRAS/BRAF mutational status in colorectal cancer // *Oncol. Rep.* 2014. Vol. 31 (5). P. 2115–2122. doi: 10.3892/or.2014.3077.
46. Seppälä T.T., Böhm J.P., Friman M., Lahtinen L., Väyrynen V.M., Liipo T.K., Ristimäki A.P., Kairaluoma M.V., Kellokumpu I.H., Kuopio T.H., Mecklin J.P. Combination of microsatellite instability and BRAF mutation status for subtyping colorectal cancer // *Br. J. Cancer.* 2015. Vol. 112 (12). P. 1966–1975. doi: 10.1038/bjc.2015.160.
47. Sorich M.J., Wiese M.D., Rowland A., Kichenadasse G., McKinnon R.A., Karapetis C.S. Extended RAS mutations and anti-EGFR monoclonal antibody survival benefit in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of randomized, controlled trials // *Ann Oncol.* 2015. Vol. 26 (1). P. 13–21. doi: 10.1093/annonc/mdu378.
48. Valtorta E., Misale S., Sartore-Bianchi A., Nagtegaal I.D., Paraf F., Lauricella C., Dimartino V., Hobor S., Jacobs B., Ercolani C., Lamba S., Scala E., Veronese S., Laurent-Puig P., Siena S., Tejpar S., Mottolese M., Punt C.J., Gambacorta M., Bardelli A., Di Nicolantonio F. KRAS gene amplification in colorectal cancer and impact on response to EGFR-targeted therapy // *Int. J. Cancer.* 2013. Vol. 133 (5). P. 1259–1265. doi: 10.1002/ijc.28106.
49. Westwood M., van Asselt T., Ramaekers B., Whiting P., Joore M., Armstrong N., Noake C., Ross J., Severens J., Kleijnen J. KRAS mutation testing of tumours in adults with metastatic colorectal cancer: a systematic review and cost-effectiveness analysis // *Health Technol. Assess.* 2014. Vol. 18 (62). P. 1–132. doi: 10.3310/hta18620.
50. Yang Z.Y., Shen W.X., Hu X.F., Zheng D.Y., Wu X.Y., Huang Y.F., Chen J.Z., Mao C., Tang J.L. EGFR gene copy number as a predictive biomarker for the treatment of metastatic colorectal cancer with anti-EGFR monoclonal antibodies: a meta-analysis // *J. Hematol. Oncol.* 2012. Vol. 5. P. 52.
51. Yang Z.Y., Wu X.Y., Huang Y.F., Di M.Y., Zheng D.Y., Chen J.Z., Ding H., Mao C., Tang J.L. Promising biomarkers for predicting the outcomes of patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies: a systematic review with meta-analysis // *Int. J. Cancer.* 2013. Vol. 133 (8). P. 1914–1925. doi: 10.1002/ijc.28153.
52. Yanus G.A., Belyaeva A.V., Ivantsov A.O., Kuligina E.Sh., Suspit-sin E.N., Mitushkina N.V., Aleksakhina S.N., Iyevleva A.G., Zaitseva O.A., Yatsuk O.S., Gorodnova T.V., Strelkova T.N., Efremova S.A., Lepenchuk A.Y., Ochir-Garyayev A.N., Paneyah M.B., Matsko D.E., Togo A.V., Imyanitov E.N. Pattern of clinically relevant mutations in consecutive series of Russian colorectal cancer patients // *Med. Oncol.* 2013. Vol. 30 (3). P. 686. doi: 10.1007/s12032-013-0686-5.
53. Yonesaka K., Zejnullahu K., Okamoto I., Satoh T., Cappuzzo F., Souglakos J., Ercan D., Rogers A., Roncalli M., Takeda M., Fujisaka Y., Philips J., Shimizu T., Maenishi O., Cho Y., Sun J., Destro A., Taira K., Takeda K., Okabe T., Swanson J., Itoh H., Takada M., Lifshits E., Okuno K., Engelman J.A., Shivasani R.A., Nishio K., Fukuoka M., Varela-Garcia M., Nakagawa K., Jänne P.A. Activation of ERBB2 signaling causes resistance to the EGFR-directed therapeutic antibody cetuximab // *Sci. Transl. Med.* 2011. Vol. 3 (99). P. 99ra86. doi: 10.1126/scitranslmed.3002442.
54. Zanella E.R., Galimi F., Sassi F., Migliardi G., Cottino F., Leto S.M., Lupo B., Erriquez J., Isella C., Comoglio P.M., Medico E., Tejpar S., Budinská E., Trusolino L., Bertotti A. IGF2 is an actionable target that identifies a distinct subpopulation of colorectal cancer patients with marginal response to anti-EGFR therapies // *Sci. Transl. Med.* 2015. Vol. 7 (272). P. 272ra12. doi: 10.1126/scitranslmed.3010445.

Поступила 9.11.15

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Иванцов Александр Олегович, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник научной лаборатории морфологии опухолей, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова (г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). SPIN-код: 8347-0332

Янус Григорий Аркадьевич, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова (г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: octave-doctor@yandex.ru.

Суспицын Евгений Николаевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова (г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: evgeny.suspitsin@gmail.com. SPIN-код: 2362-6304

Анисимова Е.И., Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова (г. Санкт-Петербург, Российская Федерация).

Имянитов Евгений Наумович, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела биологии опухолевого роста, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова (г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: evgeny@imyanyitov.spb.ru. SPIN-код: 1909-7323

MOLECULAR MARKERS OF SENSITIVITY AND RESISTANCE OF COLORECTAL CANCER TO ANTI-EGFR THERAPY

A.O. Ivantsov^{1,2}, G.A. Yanus^{1,2}, E.N. Suspitsin^{1,2}, E.I. Anisimova², E.N. Imyanitov^{1,2,3}

St-Petersburg Pediatric Medical University, Saint-Petersburg¹

N.N. Petrov Institute of Oncology, Saint-Petersburg²

I.I. Mechnikov North-Western Medical University, Saint-Petersburg³

68, Leningradskaya Str., Pesochny, 197758-Saint-Petersburg, Russia,

e-mail: evgeny@imyanyitov.spb.ru¹

Abstract

Targeted therapy of metastatic colorectal cancer lacks predictive markers with positive predictive value, i.e. the selection of potentially responsive patients remains highly complicated. In contrast, there are very reliable markers indicating resistance to the therapy by anti-EGFR antibodies. Assessment of such markers is mandatory when EGFR targeting is considered. An analysis of tumor DNA for mutations in coding regions of KRAS and NRAS genes has become a standard procedure; the occurrence of these mutations is within 45-65%. Nevertheless, exclusion of KRAS/NRAS-mutated cases remains insufficient for the reliable selection of potential responders. There is a continuing search for novel predictive biomarkers. Multiple evidences support the role of BRAF V600E mutation in determining non-response to anti-EGFR therapy. Some data suggest an impact of PIK3CA, PTEN, EREG, AREG, IGF2 mutations and/or expression changes, as well as the significance of MET and HER2/neu gene amplifications. Further progress in this field is expected to improve clinical and economic efficacy of colorectal cancer treatment.

Key words: adenocarcinoma, colorectal cancer, anti-EGFR antibodies, predictive markers, KRAS, NRAS, BRAF.

REFERENCES

1. Ålgars A., Lintunen M., Carpén O., Ristamäki R., Sundström J. EGFR gene copy number assessment from areas with highest EGFR expression predicts response to anti-EGFR therapy in colorectal cancer // *Br. J. Cancer*. 2011. Vol. 105 (2). P. 255–262. doi: 10.1038/bjc.2011.223.
2. Ahnirion L.G., Sennott E.M., Van Allen E.M., Wagle N., Kwak E.L., Faris J.E., Godfrey J.T., Nishimura K., Lynch K.D., Mermel C.H., Lockerman E.L., Kalsy A., Gurski J.M. Jr., Bahl S., Anderka K., Green L.M., Lennon N.J., Huynh T.G., Mino-Kenudson M., Getz G., Dias-Santagata D., Iafrate A.J., Engelman J.A., Garraway L.A., Corcoran R.B. Clinical Acquired Resistance to RAF Inhibitor Combinations in BRAF-Mutant Colorectal Cancer through MAPK Pathway Alterations // *Cancer Discov*. 2015. Vol. 5 (4). P. 358–367. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-1518.
3. Amado R.G., Wolf M., Peeters M., Van Cutsem E., Siena S., Freeman D.J., Juan T., Sikorski R., Suggs S., Radinsky R., Patterson S.D., Chang D.D. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer // *J. Clin. Oncol*. 2008. Vol. 26 (10). P. 1626–1634. doi: 10.1200/JCO.2007.14.7116.
4. Arena S., Bellosillo B., Siravegna G., Martínez A., Cañadas I., Lazzari L., Ferruz N., Russo M., Misale S., González I., Iglesias M., Gavilan E., Corti G., Hobor S., Crisafulli G., Salido M., Sánchez J., Dalmases A., Bellmunt J., De Fabritiis G., Rovira A., Di Nicolantonio F., Albanell J., Bardelli A., Montagut C. Emergence of Multiple EGFR Extracellular Mutations during Cetuximab Treatment in Colorectal Cancer // *Clin. Cancer Res*. 2015. Vol. 21 (9). P. 2157–2166. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2821.
5. Barber T.D., Vogelstein B., Kinzler K.W., Velculescu V.E. Somatic mutations of EGFR in colorectal cancers and glioblastomas // *N. Engl. J. Med*. 2004. Vol. 351 (27). P. 2883.
6. Bardelli A., Corso S., Bertotti A., Hobor S., Valtorta E., Siravegna G., Sartore-Bianchi A., Scala E., Cassingena A., Zecchin D., Apicella M., Migliardi G., Galimi F., Lauricella C., Zanon C., Perera T., Veronese S., Corti G., Amatu A., Gambacorta M., Diaz L.A. Jr., Sausen M., Velculescu V.E., Comoglio P., Trusolino L., Di Nicolantonio F., Giordano S., Siena S. Amplification of the MET receptor drives resistance to anti-EGFR therapies in colorectal cancer // *Cancer Discov*. 2013. Vol. 3 (6). P. 658–673. doi: 10.1158/2159-8290.
7. Benvenuti S., Sartore-Bianchi A., Di Nicolantonio F., Zanon C., Moroni M., Veronese S., Siena S., Bardelli A. Oncogenic activation of the RAS/RAF signaling pathway impairs the response of metastatic colorectal cancers to anti-epidermal growth factor receptor antibody therapies // *Cancer Res*. 2007. Vol. 67 (6). P. 2643–2648.
8. *Cancer Genome Atlas Network*. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer // *Nature*. 2012. Vol. 487 (7407). P. 330–337. doi: 10.1038/nature11252.

9. Chung K.Y., Shia J., Kemeny N.E., Shah M., Schwartz G.K., Tse A., Hamilton A., Pan D., Schrag D., Schwartz L., Klimstra D.S., Fridman D., Kelsen D.P., Saltz L.B. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry // *J. Clin. Oncol.* 2005. Vol. 23 (9). P. 1803–1810.
10. Cremolini C., Di Bartolomeo M., Amatu A., Antoniotti C., Moretto R., Berenato R., Perrone F., Tamborini E., Aprile G., Lonardi S., Sartore-Bianchi A., Fontanini G., Milione M., Lauricella C., Siena S., Falcone A., de Braud F., Loupakis F., Pietrantonio F. BRAF codons 594 and 596 mutations identify a new molecular subtype of metastatic colorectal cancer at favorable prognosis // *Ann. Oncol.* 2015. Vol. 26 (10). P. 2092–2097. doi: 10.1093/annonc/mdv290.
11. De Roock W., Claes B., Bernasconi D., De Schutter J., Biesmans B., Fountzilas G., Kalogeras K.T., Kotoula V., Papamichael D., Laurent-Puig P., Penault-Llorca F., Rougier P., Vincenzi B., Santini D., Tonini G., Cappuzzo F., Frattini M., Molinari F., Saletti P., De Dosso S., Martini M., Bardelli A., Siena S., Sartore-Bianchi A., Tabernero J., Macarulla T., Di Fiore F., Gangloff A.O., Ciardiello F., Pfeiffer P., Qvortrup C., Hansen T.P., Van Cutsem E., Piessevaux H., Lambrechts D., Delorenzi M., Tejpar S. 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. Vol. 11 (8). P. 753–762. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70130-3.
12. Disel U., Germain A., Yilmaz B., Abali H., Bolat F.A., Yelensky R., Elvin J.A., Lipson D., Chmielecki J., Wang K., Stephens P.J., Ross J.S., Miller V.A., Ali S.M., George T.J. Jr. Durable clinical benefit to trastuzumab and chemotherapy in a patient with metastatic colon adenocarcinoma harboring ERBB2 amplification // *Oncoscience.* 2015. Vol. 2 (6). P. 581–584.
13. Fakih M.G. Metastatic colorectal cancer: current state and future directions // *J. Clin. Oncol.* 2015. Vol. 33 (16). P. 1809–1824. doi: 10.1200/JCO.2014.59.7633.
14. Flanagan J.U., Shepherd P.R. Structure, function and inhibition of the phosphoinositide 3-kinase p110 α enzyme // *Biochem. Soc. Trans.* 2014. Vol. 42 (1). P. 120–124. doi: 10.1042/BST20130255.
15. Forbes S.A., Beare D., Gunasekaran P., Leung K., Bindal N., Boutselakis H., Ding M., Bamford S., Cole C., Ward S., Kok C.Y., Jia M., De T., Teague J.W., Stratton M.R., McDermott U., Campbell P.J. COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer // *Nucleic Acids Res.* 2015. Vol. 43 (Database issue). P. D805–811. doi: 10.1093/nar/gku1075.
16. Frattini M., Saletti P., Romagnani E., Martin V., Molinari F., Ghisletta M., Camponovo A., Etienne L.L., Cavalli F., Mazzucchelli L. PTEN loss of expression predicts cetuximab efficacy in metastatic colorectal cancer patients // *Br. J. Cancer.* 2007. Vol. 97 (8). P. 1139–1145.
17. Haley L., Tseng L.H., Zheng G., Dudley J., Anderson D.A., Azad N.S., Gocke C.D., Eshleman J.R., Lin M.T. Performance characteristics of next-generation sequencing in clinical mutation detection of colorectal cancers // *Mod. Pathol.* 2015. Vol. 28 (10). P. 1390–1399. doi: 10.1038/modpathol.2015.86.
18. Hecht J.R., Douillard J.Y., Schwartzberg L., Grothey A., Kopetz S., Rong A., Oliner K.S., Sidhu R. Extended RAS analysis for anti-epidermal growth factor therapy in patients with metastatic colorectal cancer // *Cancer Treat. Rev.* 2015. Vol. 41 (8). P. 653–659. doi: 10.1016/j.ctrv.2015.05.008.
19. Hobor S., Van Emburgh B.O., Crowley E., Misale S., Di Nicolantonio F., Bardelli A. TGF α and amphiregulin paracrine network promotes resistance to EGFR blockade in colorectal cancer cells // *Clin. Cancer Res.* 2014. Vol. 20 (24). P. 6429–6438. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0774.
20. Huang L., Liu Z., Deng D., Tan A., Liao M., Mo Z., Yang X. Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody-based therapy for metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of the effect of PIK3CA mutations in KRAS wild-type patients // *Arch. Med. Sci.* 2014. Vol. 10 (1). P. 1–9. doi: 10.5114/aoms.2014.40728.
21. Hutchinson R.A., Adams R.A., McArt D.G., Salto-Tellez M., Jasani B., Hamilton P.W. Epidermal growth factor receptor immunohistochemistry: new opportunities in metastatic colorectal cancer // *J. Transl. Med.* 2015. Vol. 13. P. 217. doi: 10.1186/s12967-015-0531-z.
22. Italiano A., Follana P., Caroli F.X., Badetti J.L., Benchimol D., Garnier G., Gugenheim J., Haudebourg J., Keslair F., Lesbats G., Lledo G., Roussel J.F., Pedetout F., François E. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors for which FISH analysis does not detect an increase in EGFR gene copy number // *Ann. Surg. Oncol.* 2008. Vol. 15 (2). P. 649–654.
23. Jiang Z., Li C., Li F., Wang X. EGFR gene copy number as a prognostic marker in colorectal cancer patients treated with cetuximab or panitumumab: a systematic review and meta-analysis // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, № 2. P. e56205. doi: 10.1371/journal.pone.0056205.
24. Karapetis C.S., Khamata-Ford S., Jonker D.J., O'Callaghan C.J., Tu D., Tebbutt N.C., Simes R.J., Chalchal H., Shapiro J.D., Robitaille S., Price T.J., Shepherd L., Au H.J., Langer C., Moore M.J., Zalcberg J.R. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer // *N. Engl. J. Med.* 2008. Vol. 359 (17). P. 1757–1765. doi: 10.1056/NEJMoa0804385.
25. Kavuri S.M., Jain N., Galimi F., Cottino F., Leto S.M., Migliardi G., Searleman A.C., Shen W., Monsey J., Trusolino L., Jacobs S.A., Bertotti A., Bose R. HER2 Activating Mutations Are Targets for Colorectal Cancer Treatment // *Cancer Discov.* 2015. Vol. 5 (8). P. 832–841. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-1211.
26. Khamata-Ford S., Garrett C.R., Meropol N.J., Basik M., Harbison C.T., Wu S., Wong T.W., Huang X., Takimoto C.H., Godwin A.K., Tan B.R., Krishnamurthi S.S., Burris H.A. 3rd, Poplin E.A., Hidalgo M., Baselga J., Clark E.A., Mauro D.J. Expression of epiregulin and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab // *J. Clin. Oncol.* 2007. Vol. 25 (22). P. 3230–3237.
27. Kidess E., Heirich K., Wiggin M., Vysotskaia V., Visser B.C., Marziali A., Wiedenmann B., Norton J.A., Lee M., Jeffrey S.S., Poultsides G.A. Mutation profiling of tumor DNA from plasma and tumor tissue of colorectal cancer patients with a novel, high-sensitivity multiplexed mutation detection platform // *Oncotarget.* 2015. Vol. 6 (4). P. 2549–2561.
28. Kloth M., Ruesseler V., Engel C., Koenig K., Peifer M., Mariotti E., Kuenstlinger H., Florin A., Rommerscheidt-Fuss U., Koitzsch U., Wodtke C., Ueckerth F., Holzapfel S., Aretz S., Propping P., Loeffler M., Merkelbach-Bruse S., Odenthal M., Friedrichs N., Heukamp L.C., Zander T., Buetner R. Activating ERBB2/HER2 mutations indicate susceptibility to pan-HER inhibitors in Lynch and Lynch-like colorectal cancer // *Gut.* 2015. pii: gutjnl-2014-309026. doi: 10.1136/gutjnl-2014-309026.
29. Laurent-Puig P., Pekin D., Normand C., Kotsopoulos S.K., Nizard P., Perez-Toralla K., Rowell R., Olson J., Srinivasan P., Le Corre D., Hor T., El Harrak Z., Li X., Link D.R., Bouché O., Emile J.F., Landi B., Boige V., Hutchison J.B., Taly V. Clinical relevance of KRAS-mutated subclones detected with picodroplet digital PCR in advanced colorectal cancer treated with anti-EGFR therapy // *Clin. Cancer Res.* 2015. Vol. 21 (5). P. 1087–1097. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0983.
30. Lièvre A., Bachet J.B., Le Corre D., Boige V., Landi B., Emile J.F., Côté J.F., Tomas G., Penna C., Ducreux M., Rougier P., Penault-Llorca F., Laurent-Puig P. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer // *Cancer Res.* 2006. Vol. 66 (8). P. 3992–3995.
31. Llosa N.J., Cruise M., Tam A., Wicks E.C., Hechenbleikner E.M., Taube J.M., Blosser R.L., Fan H., Wang H., Lubber B.S., Zhang M., Papadopoulos N., Kinzler K.W., Vogelstein B., Sears C.L., Anders R.A., Pardoll D.M., Housseau F. The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable colon cancer is balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints // *Cancer Discov.* 2015. Vol. 5 (1). P. 43–51. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0863.
32. Llovet P., Sastre J., Ortega J.S., Bando I., Ferrer M., García-Alfonso P., Donnay O., Carrato A., Jiménez A., Aranda E., León A., Grávalos C., Cámara J.C., Feliú J., Sanchiz B., Caldés T., Díaz-Rubio E. Prognostic Value of BRAF, PI3K, PTEN, EGFR Copy Number, Amphiregulin and Epiregulin Status in Patients with KRAS Codon 12 Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer Receiving First-Line Chemotherapy with Anti-EGFR Therapy // *Mol. Diagn. Ther.* 2015. Vol. 19 (6). P. 397–408. doi: 10.1007/s40291-015-0165-0.
33. Loupakis F., Ruzzo A., Cremolini C., Vincenzi B., Salvatore L., Santini D., Masi G., Stasi I., Canestrari E., Rulli E., Floriani I., Bencardino K., Galluccio N., Catalano V., Tonini G., Magnani M., Fontanini G., Basolo F., Falcone A., Graziano F. KRAS codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecan in KRAS codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer // *Br. J. Cancer.* 2009. Vol. 101 (4). P. 715–721. doi: 10.1038/sj.bjc.6605177.
34. Montagut C., Dalmases A., Bellosillo B., Crespo M., Pairet S., Iglesias M., Salido M., Gallen M., Marsters S., Tsai S.P., Minoche A., Sesagiri S., Serrano S., Himmelbauer H., Bellmunt J., Rovira A., Settleman J., Bosch F., Albanell J. Identification of a mutation in the extracellular domain of the Epidermal Growth Factor Receptor conferring cetuximab resistance in colorectal cancer // *Nat. Med.* 2012. Vol. 18 (2). P. 221–223. doi: 10.1038/nm.2609.
35. Morelli M.P., Overman M.J., Dasari A., Kazmi S.M., Mazard T., Vilar E., Morris V.K., Lee M.S., Herron D., Eng C., Morris J., Kee B.K., Janku F., Deaton F.L., Garrett C., Maru D., Diehl F., Angenendt P., Kopetz S. Characterizing the patterns of clonal selection in circulating tumor DNA from patients with colorectal cancer refractory to anti-EGFR treatment // *Ann. Oncol.* 2015. Vol. 26 (4). P. 731–736. doi: 10.1093/annonc/mdv005.
36. Moroni M., Veronese S., Benvenuti S., Marrapese G., Sartore-Bianchi A., Di Nicolantonio F., Gambacorta M., Siena S., Bardelli A. Gene copy number for epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to anti-EGFR treatment in colorectal cancer: a cohort study // *Lancet Oncol.* 2005. Vol. 6 (5). P. 279–286.

37. Ooi A., Takehana T., Li X., Suzuki S., Kunitomo K., Iino H., Fujii H., Takeda Y., Dobashi Y. Protein overexpression and gene amplification of HER-2 and EGFR in colorectal cancers: an immunohistochemical and fluorescent in situ hybridization study // *Mod. Pathol.* 2004. Vol. 17 (8). P. 895–904.
38. Peeters M., Douillard J.Y., Van Cutsem E., Siena S., Zhang K., Williams R., Wizek J. Mutant KRAS codon 12 and 13 alleles in patients with metastatic colorectal cancer: assessment as prognostic and predictive biomarkers of response to panitumumab // *J. Clin. Oncol.* 2013. Vol. 31 (6). P. 759–765. doi: 10.1200/JCO.2012.45.1492.
39. Pietrantonio F., Petrelli F., Coinu A., Di Bartolomeo M., Borgonovo K., Maggi C., Cabiddu M., Iacovelli R., Bossi L., Lonati V., Ghilardi M., de Braud F., Barni S. Predictive role of BRAF mutations in patients with advanced colorectal cancer receiving cetuximab and panitumumab: a meta-analysis // *Eur. J. Cancer.* 2015. Vol. 51 (5). P. 587–594. doi: 10.1016/j.ejca.2015.01.054.
40. Piton N., Lonchamp E., Nowak F., Sabourin J.C.; KRAS group. Real-Life Distribution of KRAS and NRAS Mutations in Metastatic Colorectal Carcinoma from French Routine Genotyping // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2015. Vol. 24 (9). P. 1416–1418. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0059.
41. Razis E., Penteroudakis G., Rigakos G., Bobos M., Kouvatseas G., Tzaida O., Makatsoris T., Papakostas P., Bai M., Goussia A., Samantas E., Papamichael D., Romanidou O., Efstratiou I., Tsolaki E., Psyrris A., De Roock W., Bafaloukos D., Klouvas G., Tejpar S., Kalogeris K.T., Pectasides D., Fountzilas G. EGFR gene gain and PTEN protein expression are favorable prognostic factors in patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with cetuximab // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2014. Vol. 140 (5). P. 737–748. doi: 10.1007/s00432-014-1626-2.
42. Rowland A., Dias M.M., Wiese M.D., Kichenadasse G., McKinnon R.A., Karapetis C.S., Sorich M.J. Meta-analysis of BRAF mutation as a predictive biomarker of benefit from anti-EGFR monoclonal antibody therapy for RAS wild-type metastatic colorectal cancer // *Br. J. Cancer.* 2015. Vol. 112 (12). P. 1888–1894. doi: 10.1038/bjc.2015.173.
43. Saltz L.B., Meropol N.J., Loehrer P.J. Sr., Needle M.N., Kopit J., Mayer R.J. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor // *J. Clin. Oncol.* 2004. Vol. 22 (7). P. 1201–1208.
44. Sartore-Bianchi A., Fieuws S., Veronese S., Moroni M., Personeni N., Frattini M., Torri V., Cappuzzo F., Vander Borcht S., Martin V., Skokan M., Santoro A., Gambacorta M., Tejpar S., Varella-Garcia M., Siena S. Standardisation of EGFR FISH in colorectal cancer: results of an international interlaboratory reproducibility ring study // *J. Clin. Pathol.* 2012. Vol. 65 (3). P. 218–223. doi: 10.1136/jclinpath-2011-200353.
45. Seo Y., Ishii Y., Ochiai H., Fukuda K., Akimoto S., Hayashida T., Okabayashi K., Tsuruta M., Hasegawa H., Kitagawa Y. Cetuximab-mediated ADCC activity is correlated with the cell surface expression level of EGFR but not with the KRAS/BRAF mutational status in colorectal cancer // *Oncol. Rep.* 2014. Vol. 31 (5). P. 2115–2122. doi: 10.3892/or.2014.3077.
46. Seppälä T.T., Böhm J.P., Friman M., Lahtinen L., Väyrynen V.M., Liipo T.K., Ristimäki A.P., Kairaluoma M.V., Kellokumpu I.H., Kuopio T.H., Mecklin J.P. Combination of microsatellite instability and BRAF mutation status for subtyping colorectal cancer // *Br. J. Cancer.* 2015. Vol. 112 (12). P. 1966–1975. doi: 10.1038/bjc.2015.160.
47. Sorich M.J., Wiese M.D., Rowland A., Kichenadasse G., McKinnon R.A., Karapetis C.S. Extended RAS mutations and anti-EGFR monoclonal antibody survival benefit in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of randomized, controlled trials // *Ann Oncol.* 2015. Vol. 26 (1). P. 13–21. doi: 10.1093/annonc/mdl378.
48. Valtorta E., Misale S., Sartore-Bianchi A., Nagtegaal I.D., Paraf F., Lauricella C., Dimartino V., Hobor S., Jacobs B., Ercolani C., Lamba S., Scala E., Veronese S., Laurent-Puig P., Siena S., Tejpar S., Mottolese M., Punt C.J., Gambacorta M., Bardelli A., Di Nicolantonio F. KRAS gene amplification in colorectal cancer and impact on response to EGFR-targeted therapy // *Int. J. Cancer.* 2013. Vol. 133 (5). P. 1259–1265. doi: 10.1002/ijc.28106.
49. Westwood M., van Asselt T., Ramaekers B., Whiting P., Joore M., Armstrong N., Noake C., Ross J., Severens J., Kleijnen J. KRAS mutation testing of tumours in adults with metastatic colorectal cancer: a systematic review and cost-effectiveness analysis // *Health Technol. Assess.* 2014. Vol. 18 (62). P. 1–132. doi: 10.3310/hta18620.
50. Yang Z.Y., Shen W.X., Hu X.F., Zheng D.Y., Wu X.Y., Huang Y.F., Chen J.Z., Mao C., Tang J.L. EGFR gene copy number as a predictive biomarker for the treatment of metastatic colorectal cancer with anti-EGFR monoclonal antibodies: a meta-analysis // *J. Hematol. Oncol.* 2012. Vol. 5. P. 52.
51. Yang Z.Y., Wu X.Y., Huang Y.F., Di M.Y., Zheng D.Y., Chen J.Z., Ding H., Mao C., Tang J.L. Promising biomarkers for predicting the outcomes of patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies: a systematic review with meta-analysis // *Int. J. Cancer.* 2013. Vol. 133 (8). P. 1914–1925. doi: 10.1002/ijc.28153.
52. Yanus G.A., Belyaeva A.V., Ivantsov A.O., Kuligina E.Sh., Susptsin E.N., Mitushkina N.V., Aleksakhina S.N., Iyevleva A.G., Zaitseva O.A., Yatsuk O.S., Gorodnova T.V., Strelkova T.N., Efremova S.A., Lepenchuk A.Y., Ochir-Garyayev A.N., Paneyah M.B., Matsko D.E., Togo A.V., Imyanitov E.N. Pattern of clinically relevant mutations in consecutive series of Russian colorectal cancer patients // *Med. Oncol.* 2013. Vol. 30 (3). P. 686. doi: 10.1007/s12032-013-0686-5.
53. Yonesaka K., Zejnullahu K., Okamoto I., Satoh T., Cappuzzo F., Souglakos J., Ercan D., Rogers A., Roncalli M., Takeda M., Fujisaka Y., Philips J., Shimizu T., Maenishi O., Cho Y., Sun J., Destro A., Taira K., Takeda K., Okabe T., Swanson J., Itoh H., Takada M., Lifshits E., Okuno K., Engelmann J.A., Shivdasani R.A., Nishio K., Fukuoaka M., Varella-Garcia M., Nakagawa K., Jänne P.A. Activation of ERBB2 signaling causes resistance to the EGFR-directed therapeutic antibody cetuximab // *Sci. Transl. Med.* 2011. Vol. 3 (99). P. 99ra86. doi: 10.1126/scitranslmed.3002442.
54. Zanella E.R., Galimi F., Sassi F., Migliardi G., Cottino F., Leto S.M., Lupo B., Erriquez J., Isella C., Comoglio P.M., Medico E., Tejpar S., Budinská E., Trusolino L., Bertotti A. IGF2 is an actionable target that identifies a distinct subpopulation of colorectal cancer patients with marginal response to anti-EGFR therapies // *Sci. Transl. Med.* 2015. Vol. 7 (272). P. 272ra12. doi: 10.1126/scitranslmed.3010445.

ABOUT THE AUTHORS

Ivantsov Alexandr O., MD, PhD, Researcher, Laboratory of Tumor Morphology, N.N. Petrov Institute of Oncology (St.-Petersburg). Russia. SPIN-code: 8347-0332

Yanus Grigory A. N.N. Petrov Institute of Oncology (St.-Petersburg). Russia. E-mail: octavedoctor@yandex.ru.

Sysnitsin Evgeny N., MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov Institute of Oncology (St.-Petersburg). Russia. E-mail: evgeny.susnitsin@gmail.com. SPIN-code: 2362-6304.

Anisimova E.I., St-Petersburg State Pediatric Medical University, N.N. Petrov Institute of Oncology (St.-Petersburg). Russia.

Imyanitov Evgeny N., MD, Professor, Head of Department of Biology of Tumor Growth, N.N. Petrov Institute of Oncology (St.-Petersburg). Russia. E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru. SPIN-code: 1909-7323.