

## Прогностические биомаркеры неоплазии желудочно-кишечного тракта

С.Г. Щербак<sup>1,2</sup>, Д.А. Вологжанин<sup>3</sup>, Д.В. Гладышев<sup>1,2</sup>, О.С. Глотов<sup>1</sup>, А.С. Голота<sup>1</sup>, Т.А. Камилова<sup>3</sup>,  
Д.В. Лантухов<sup>3</sup>, С.А. Коваленко<sup>1</sup>, Д.Г. Лисовец<sup>1</sup>, А.М. Сарана<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>СПб ГБУЗ «Городская больница № 40 Курортного административного района»;

Россия, 197706 Санкт-Петербург, Сестрорецк, ул. Борисова, 9;

<sup>2</sup>Кафедра последипломного медицинского образования медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет»; Россия, 199034 Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7–9;

<sup>3</sup>Кафедра военно-полевой терапии ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России; Россия, 194044 Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

**Контакты:** Дмитрий Викторович Лантухов [lantuxov@yandex.ru](mailto:lantuxov@yandex.ru)

В эпоху персонализированного лечения онкологи стремятся адаптировать лечение к особенностям конкретного пациента, подчеркивая важность непрерывного поиска точных биомаркеров. Прогностические биомаркеры отражают сложную биологию, которая позволяет раковой опухоли прогрессировать. Внутриопухолевая гетерогенность включает в себя генетическую, эпигенетическую и функциональную. Генетическая внутриопухолевая гетерогенность является следствием клональной эволюции и причиной прогрессирования заболевания. В процессе онкогенеза постоянно накапливаются генетические aberrации, в результате чего раковые опухоли становятся генетически гетерогенными, с множеством сосуществующих клонов, меняющихся с течением времени. При этом специфические мутации ассоциированы с определенными стадиями развития опухоли, которые коррелируют с соответствующими гистопатологическими стадиями заболевания. Многие пациенты с колоректальным раком после резекции опухоли имеют рецидив заболевания, несмотря на проведение адъювантной терапии, в то время как у некоторых пациентов не происходит рецидива, несмотря на отсутствие лечения. Выявление надежных предикторов исхода после резекции остается важной проблемой, поэтому срочно необходимы переоценка существующих критериев и поиск новых прогностических и предиктивных биомаркеров для отбора пациентов, которые могли бы получить пользу от адъювантной химиотерапии.

Прогностический биомаркер отражает естественную историю развития опухоли и предоставляет информацию о вероятном исходе и прогнозе независимо от специфического лечения. Предиктивные биомаркеры указывают на чувствительность или резистентность опухоли к определенному лечению. Некоторые биомаркеры могут быть одновременно прогностическими и предиктивными. Генные мутации и эпигенетические aberrации, изменяющие внутриклеточные сигнальные пути, могут быть важными факторами онкогенеза. В этом контексте онкогены, гены-супрессоры опухолей и малые некодирующие молекулы РНК привлекают внимание в качестве потенциальных регуляторов и биомаркеров онкогенеза и оцениваются в клинических исследованиях.

**Ключевые слова:** колоректальный рак, прогностический биомаркер, внутриопухолевая гетерогенность, генетическая гетерогенность, эпигенетическая гетерогенность, адъювантная терапия, онкоген, ген-супрессор опухоли, мутация, гиперметилирование, микроРНК, онкогенез, клинические исследования

DOI: 10.17650/2220-3478-2017-7-4-20-30

### Prognostic biomarkers of gastrointestinal neoplasia

S.G. Scherbak<sup>1,2</sup>, D.A. Vologzhanin<sup>3</sup>, D.V. Gladyshev<sup>1,2</sup>, O.S. Glotov<sup>1</sup>, A.S. Golota<sup>1</sup>, T.A. Kamilova<sup>3</sup>,  
D.V. Lantukhov<sup>3</sup>, S.A. Kovalenko<sup>1</sup>, D.G. Lisovets<sup>1</sup>, A.M. Sarana<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>City Hospital No. 40 of Kurortny District; 9 Borisova St., Sestroretsk, Saint Petersburg 197706, Russia;

<sup>2</sup>Saint Petersburg State University, Department Postgraduate Medical Education of the Medical Faculty;  
7–9 Universitetskaya naberezhnaya, Saint Petersburg 199034, Russia;

<sup>3</sup>Department Military Therapy of S.M. Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of Russia;  
6 Akademika Lebedeva St., Saint Petersburg 194044, Russia

In the era of personalized treatment, oncologists are striving to tailor medical treatment to the characteristics of the individual patient, emphasizing the importance of a continuous search for accurate biomarkers. Prognostic biomarkers reflect the intricate underlying biology that enables cancer to progress. Intratumoral heterogeneity includes genetic, epigenetic and functional heterogeneity. Genetic intratumoral heterogeneity is a consequence of clonal evolution and a cause of disease progression. During the oncogenesis process, genetic aberrations accumulate continuously, result of this process is that tumors are genetically heterogeneous, with a plurality of coexisting clones that vary over time. Herewith specific mutations are associated with particular stages of tumor development, correlates with specific histopathological disease stages. Many patients with colorectal cancer have disease recurrence after resection of the tumor despite adjuvant therapy, while some patients don't have a relapse despite the absence of treatment. Identifying reliable predictors of outcome after resection is a universal prob-

lem. So the reassessment of the current criteria and better prognostic and predictive biomarkers for the selection of patients who might benefit from adjuvant chemotherapy are urgently needed.

A prognostic biomarker reflects the natural history of the tumor and provides information on the likely outcome and prognosis, independent of a specific treatment. Predictive biomarkers indicate the sensitivity or resistance of the tumor to a given treatment. Some markers can be both prognostic and predictive. Gene mutations and epigenetic aberrations that modify the intracellular signaling pathways may be important factors in oncogenesis. In this context, oncogenes, genes – tumor suppressors and small non-coding RNA have attracted attention as potential biomarkers and regulators of oncogenesis and evaluate in clinical trials.

**Key words:** colorectal cancer, prognostic biomarker, intratumoral heterogeneity, genetic heterogeneity, epigenetic heterogeneity, adjuvant therapy, oncogene, tumor suppressor gene, mutation, hypermethylation, microRNA, oncogenesis, clinical trials

## Введение

Колоректальный рак (КРР) является 3-м по распространенности видом рака во всем мире и 2-й ведущей причиной смерти от рака в Европе. Ежегодно 1,36 млн человек в мире получают диагноз КРР [1]. Если лечение начато достаточно рано, 5-летняя выживаемость для всех стадий КРР составляет от 65 до 90 %. Однако для пациентов, чье заболевание было диагностировано в метастатической стадии, 5-летняя выживаемость снижается до 8–10 % [2, 3]. На момент постановки диагноза КРР у 70–80 % пациентов имеется локализованное заболевание, поддающееся хирургическому лечению. После резекции, несмотря на проведение адъювантной терапии, у 40–50 % пациентов с КРР стадии III и стадии II высокого риска наблюдается рецидив за счет развития метастазов, преимущественно локализованных в печени.

КРР возникает в результате сложного взаимодействия между генетическими и эпигенетическими факторами, факторами образа жизни и окружающей среды. Генетические факторы объясняют около 35 % всех случаев КРР [4]. Молекулярная гетерогенность КРР является важным фактором изменчивости прогноза и ответа на лечение пациента, определяющим чувствительность или резистентность к отдельным видам терапии. Углубленное понимание молекулярной гетерогенности имеет важное значение для стратификации риска и реализации оптимальной терапевтической стратегии [2, 5, 6]. Несмотря на определенные успехи в лечении рака, химиотерапевтические препараты недостаточно эффективны по причине развития у пациентов имманентной или приобретенной резистентности. В связи с этим нужны предиктивные биомаркеры для выявления пациентов с низкой или высокой вероятностью ответа на химиотерапию.

Обоснованиями для введения в схему лечения адъювантной химиотерапии являются ликвидация микрометастазов и предотвращение рецидива рака. При I стадии болезни рецидив заболевания наблюдается менее чем у 10 % пациентов, и в этом случае проведение адъювантной терапии не рекомендуется, поскольку не дает никаких преимуществ. При II стадии резецированного КРР риск рецидивов возрастает до 20 %. Несмотря на имеющиеся рекомендации,

клиническое решение о необходимости адъювантной терапии конкретного пациента остается сложным по причине значительной изменчивости опухоли, не зависящей от стадии заболевания. Возникает потребность в прогностических биомаркерах, которые смогут показать, каким пациентам действительно грозит рецидив заболевания, а также в предиктивных биомаркерах, предоставляющих информацию о том, будет ли польза конкретному пациенту от определенного вида адъювантной терапии или она несет повышенный риск токсичности [2].

## Генетика колоректального рака

Секвенирование опухолевого генома КРР показало, что в каждой опухоли спонтанно возникает около 75 различных мутаций, и не менее 15 из них являются предикторами заболевания. При этом число мутаций, общих для различных первичных КРР, очень мало. Таким образом, становится очевидно, что таргетная терапия будет эффективной лишь у группы пациентов с определенным типом мутаций, для которых существуют препараты [7].

Подобно другим онкологическим заболеваниям, КРР характеризуется геномной, в том числе хромосомной, нестабильностью, которая наблюдается в 85 % случаев КРР [2, 8, 9] и отражает изменение числа хромосом или их крупных фрагментов, что приводит к изменению числа копий (copy number variation, CNV) ДНК и ассоциированных с ними онкогенов и генов-супрессоров опухолей (негативных регуляторов клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза) [10]. CNV затрагивает все хромосомы. Увеличение числа копий ДНК чаще обнаруживается в хромосомах (участках хромосом) 7, 8q, 13, 19, 20q и X, потери числа копий ДНК – в хромосомах (участках хромосом) 1p, 4, 8p, 15, 17p, 18, 19 и 22q. Численное значение CNV сильно варьирует в опухолевых образцах разных пациентов, подтверждая высокую молекулярную гетерогенность КРР. Например, увеличение числа копий локуса 8q21–24, где локализованы онкогены *c-MYC* (триггер WNT/ $\beta$ -катенин-зависимого сигнального пути, наиболее часто вовлеченного в колоректальный канцерогенез) и *EIF3H* (eukaryotic translation initiation factor 3 subunit H),

ассоциированный с пролиферацией, инвазией и онкогенностью, отмечается примерно в 70 % случаев КРР. Делеции хромосомы 18q (где находится опухолевый супрессор ген *DCC*) наблюдали в 64 % случаев [8]. Потери хромосомы 17p, на которой локализован ген-супрессор опухолей *TP53* (tumor protein 53), обнаруживаются в 75 % колоректальных карцином, но редко – при доброкачественных поражениях. В целом считается, что для полного развития КРР необходимы по меньшей мере 7 генетических «ударов» [6].

Профили генной экспрессии КРР отличаются от профилей нормальной слизистой оболочки. E. Bigagli и соавт. идентифицировали 3592 гена, которые дифференциально экспрессируются в КРР по сравнению с нормальной слизистой оболочкой, из них 2498 генов активированы и 1094 – репрессированы. Около 1400 генов (примерно 40 % всех дифференциально экспрессирующихся генов) ассоциированы с CNV (репрессированные гены локализованы в регионах с потерей числа копий, активированные – в регионах с увеличением числа копий). Большинство активированных генов являются элементами сигнальных путей регуляции клеточного цикла, гены с уменьшенным числом копий – элементами TGF- $\beta$ -зависимого и апоптозного путей. Анализ выживаемости пациентов позволил установить, что экспрессия 65 генов ассоциирована с прогнозом течения заболевания, особенно генов *ABCC2/ MRP2* (ATP binding cassette subfamily C member 2 mitochondrial 37S ribosomal protein), *IL17R* (interleukin-17 receptor) и *IGF2BP2* (insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 2) (отношение рисков – 11, 25 и 34 соответственно). Предполагается, что данные изменения можно использовать в качестве прогностических биомаркеров при определении стадии заболевания и прогнозировании клинического исхода у больных КРР [8].

Колоректальный канцерогенез приводится в действие молекулярными изменениями, активирующими пролиферативные и метастатические сигнальные пути, такие как EGFR-, WNT-, TP53- и TGF- $\beta$ -зависимые сигнальные пути [5]. Мутации, регулирующие клеточную пролиферацию, дифференцировку и апоптоз, накапливаются в опухолевых клетках, обеспечивая им преимущество в выживании по сравнению с окружающим нормальным кишечным эпителием. Эти мутации способствуют трансформации ткани кишечника в аденому, способную в результате еще ряда дополнительных генетических aberrаций полностью превратиться в инвазивную карциному. Порядок, в котором мутации накапливаются в процессе развития КРР, неслучаен. На самом раннем этапе формирования очагов aberrантных крипт мутации в гене *APC* (adenomatous polyposis coli) являются молекулярными детерминантами ранних полипоидных поражений. Для роста аденомы требуются дополнительная онкогенная мутация в гене *KRAS* и синергетическое

действие мутантных генов *APC* и *KRAS*, составляющее основу дисплазии и клональной экспансии в формирующейся колоректальной опухоли. Последующая злокачественная трансформация обусловлена дополнительными инактивирующими мутациями и аллельными потерями, затрагивающими гены-супрессоры опухолей *SMAD4* и *TP53*. Делеции хромосомы 18q в колоректальных опухолях включают в себя 2 важнейших гена-супрессора опухолей – *DCC* и *SMAD4* [7, 6, 11]. Белки семейства SMAD являются ключевыми внутриклеточными регуляторами пути TGF- $\beta$ /BMP, участвующими в дифференцировке, апоптозе и многих других клеточных процессах. Потеря гена *SMAD4* (10 % всех случаев КРР), кодирующего эти белки, является предиктором плохого ответа на терапию с использованием 5-фторурацила и плохого прогноза [12].

**Анти-EGFR-терапия.** Связывание рецептора EGFR (epidermal growth factor receptor) с лигандом активирует внутриклеточный сигнальный каскад через взаимосвязанные эффекторные сигнальные пути RAS-RAF-MAPK-MEK-ERK и PI3K-AKT-PTEN-mTOR. Оба сигнальных пути участвуют в нормальном росте, пролиферации и дифференцировке клеток, и нарушение регуляции этих путей способствует развитию и прогрессированию рака. Мутации в генах семейства онкогенов *RAS* (*KRAS*, *NRAS*, *HRAS*), *BRAF* и *PIK3CA*, кодирующих сигнальные белки, приводят к конститутивной активации путей независимо от нормальных лиганд-рецепторных взаимодействий. Мутации *KRAS* (30–60 % всех случаев КРР [5]) активируют и MAPK-, и PI3K/mTOR-пути, в то время как мутации гена *BRAF*, кодирующего непосредственную мишень гена *KRAS*, активируют только MAPK-путь, но не PI3K-mTOR-путь. Анти-EGFR-моноклональные антитела препарата цетуксимаб увеличивают продолжительность жизни пациентов с рефрактерным метастатическим КРР (мКРР), когда используются в виде монотерапии или в комбинации с химиотерапией. В настоящее время только мутации *RAS*-семейства представляют собой валидированные и широко используемые предиктивные биомаркеры для анти-EGFR-терапии мКРР [2].

Рандомизированное исследование фазы III CRYSTAL (Cetuximab Combined With Irinotecan in First-Line Therapy for Metastatic Colorectal Cancer – цетуксимаб в сочетании с иринотеканом в 1-й линии терапии мКРР) показало, что добавление цетуксимаба к химиотерапии в режиме FOLFIRI (5-фторурацил, лейковорин, иринотекан) значительно увеличивало общую выживаемость (ОВ), выживаемость без прогрессирования (ВБП) и частоту объективного ответа (полного или частичного регресса опухоли) у больных мКРР (преимущественно левосторонним), у которых опухолевые клетки не несли мутации во 2-м экзоне гена *KRAS*. Цетуксимаб не оказывал терапевтического эффекта, если клетки опухоли несли мутации во 2-м экзоне гена *KRAS* [13]. Таким образом, анти-EGFR-лечение

показано только пациентам с опухолями без мутаций *RAS*. Американское общество клинической онкологии (American Society of Clinical Oncology) и Европейское общество медицинской онкологии (European Society for Medical Oncology) рекомендуют тестировать экзоны 2, 3 и 4 в генах *KRAS* и *NRAS* у больных КРР, идентифицируя тем самым дополнительные 14,7–23,0 % пациентов, которые не смогут воспользоваться преимуществами анти-EGFR-терапии [14–16]. В настоящее время стандарт терапии 1-й линии больных мКРР, мутантным по гену *RAS*, состоит из 1-, 2- или 3-компонентной химиотерапии + бевацизумаб (анти-VEGF (vascular endothelial growth factor) антитело) [16]. Статус гена *RAS* может быть использован только как негативный предиктивный маркер, то есть мутация *RAS* является предиктором резистентности к анти-EGFR-терапии, но ее отсутствие не гарантирует положительный результат, так как только 40–60 % больных без мутаций во 2-м экзоне гена *KRAS* отвечают на анти-EGFR-терапию [2]. Это означает, что многие из этих пациентов могут иметь дополнительные мутации, объясняющие резистентность к анти-EGFR-терапии, и не обязательно в гене *KRAS*.

**Анти-BRAF-таргетная терапия.** Ген *BRAF* также является элементом сигнального пути MAPK/ERK. Мутантные по *BRAF* опухоли, как и следовало ожидать, проявляют такую же резистентность к анти-EGFR-терапии, как и мутантные по генам *RAS*. Мутация в гене *BRAF* (4–18 % всех случаев КРР) в 80 % случаев представляет собой замену валина-600 на глутамин (V600E, 1799\_1800del/insAA). Эта мутация приводит к активации работы гена и ассоциирована с резистентностью к ингибиторам EGFR и чувствительностью к синтетическим ингибиторам BRAF-киназы вемурафенибу (Зелбораф) и дабрафенибу (Тафинлар) [17]. Пациенты с мКРР, мутантным по гену *BRAF*, имеют крайне неблагоприятный прогноз [18]. Метаанализ 1035 пациентов с *BRAF*-мутантным КРР II/III стадии, получивших хирургическое лечение в сочетании с адьювантной химиотерапией, показал, что ОВ и ВБП у них была хуже, чем у пациентов без мутации *BRAF* [19].

Результаты метаанализов показали также отсутствие или недостаточную эффективность анти-EGFR-терапии у пациентов с *BRAF*-мутантными опухолями, что свидетельствует о нецелесообразности использования данного вида лечения в этой подгруппе [7]. Эффективность EGFR-ингибитора цетуксимаба отмечена только при левосторонних опухолях без мутаций *RAS/BRAF*, а при правосторонних опухолях эффект от препарата отсутствует [20]. На данный момент лучшие результаты у пациентов с *BRAF*-мутантным мКРР достигнуты при химиотерапии по схеме FOLFOXIRI (5-фторурацил, фолиевая кислота, оксалиплатин, иринотекан) + бевацизумаб [7]. При наличии в опухоли других мутаций в гене *BRAF* или мутаций протеинкиназы BRAF сигнальный каскад может быть ингибирован

с помощью ингибиторов киназы MEK — следующего компонента сигнального пути EGFR-RAS-RAF-MAPK-MEK-ERK. Комбинированное ингибирование киназ BRAF и MEK в *BRAF*-мутантном мКРР с помощью синтетических ингибиторов дабрафениба и траметиниба (Мекинист) приводит к подавлению киназы MAPK у всех больных [18, 21].

Фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K) способствует клеточной пролиферации как эффектор EGFR-пути. Мутации гена *PIK3CA* (каталитическая субъединица PI3K) присутствуют в 10–20 % всех случаев КРР, чаще проксимальной локализации [22]. Оценить прогностическую роль изолированной мутации *PIK3CA* трудно, так как до 50 % опухолей несут также мутации *BRAF* и еще 40 % имеют сопутствующую мутацию *RAS* [23, 24].

Активация WNT/ $\beta$ -катенин-сигнального пути. WNT — митогенный рецептор клеточной поверхности. WNT имеет ключевое значение для регуляции активности стволовых клеток в криптах кишечника и обновления эпителия. Опухолевый супрессор APC является негативным регулятором гена *CTNNB1*, кодирующего  $\beta$ -катенин, — ключевого элемента WNT-сигналинга [5]. Мутации опухолевого супрессора APC активируют сигнальный WNT-путь через индукцию  $\beta$ -катенина, который транслоцируется в ядро и активирует транскрипцию различных онкогенов [2]. Неконтролируемая активация WNT поддерживает пролиферацию и выживаемость клеток, ингибирует дифференцировку и смерть клеток, активирует развитие желудочно-кишечных полипов и карцином. Белки WNT/ $\beta$ -катенин-сигнального пути, активированного в большинстве колоректальных опухолей, могут быть таргетированы низкомолекулярными ингибиторами танкиразы (фермента посттрансляционной модификации). Ингибиторы танкиразы вызывают деградацию  $\beta$ -катенина и нарушение WNT-сигнальной трансдукции, тем самым подавляя пролиферацию опухолевых клеток [25].

Дерегуляция mTOR и его эффекторов (VEGF и др.) связана с плохим прогнозом, поэтому mTOR и VEGF рассматриваются в качестве лекарственных мишеней при рефрактерном мКРР. Ангиогенез играет важную роль в колоректальном канцерогенезе. В настоящее время лицензированы 4 антиангиогенных препарата для использования при мКРР: бевацизумаб (анти-VEGF-антитела) и рамуцизумаб (анти-VEGFR-антитела), зив-афлиберцепт (ингибитор VEGF) и регорафениб (ингибитор VEGFR) [2]. Комбинация химиотерапии с таргетной терапией против VEGF- и EGFR-зависимых сигнальных путей увеличила медиану ОВ до более чем 30 мес в клинических исследованиях с таргетными препаратами [26].

Транскрипционный фактор CDX2 (caudal type homeobox transcription factor 2) высокоспецифичен для зрелого (дифференцированного) кишечного эпителия. Отсутствие экспрессии CDX2 в КРР (7–13 %

всех случаев) означает низкокодифференцированный характер опухоли (очень незрелый фенотип опухолевых клеток) и коррелирует с неблагоприятным прогнозом. Адьювантная химиотерапия повышает выживаемость пациентов с CDX2-отрицательными опухолями стадий II и III [27]. Экспрессия CDX2 рассматривается как негативный прогностический биомаркер для определения КРР II стадии высокого риска и противопоказание к адьювантной терапии [2].

Мутации в гене-супрессоре опухолей *P53* содержат 50–70 % колоректальных опухолей. *P53wt* отвечает за индукцию апоптоза в ответ на повреждение ДНК клетки. Мутационный статус *TP53* – сильный независимый прогностический маркер эффективности адьювантной химиотерапии 5-фторурацилом при КРР с метастазами в лимфатических узлах: выживаемость повышается только у пациентов с КРР N1 *P53wt* [28].

Более 80 % 5-фторурацила (основа химиотерапии КРР в течение многих десятилетий) метаболизируются в печени ферментом дигидропиримидин дегидрогеназой (dihydropyrimidine dehydrogenase, *DPYD*). Частичный или полный дефицит *DPYD* в результате мутации в гене *DPYD* подвергает пациентов тяжелой или угрожающей жизни токсичности 5-фторурацила, поэтому *DPYD* считается надежным прогностическим маркером токсичности, связанной с этим препаратом. Тестирование пациента на предмет наличия дефицита *DPYD* может предотвратить чрезмерную и потенциально опасную для жизни токсичность терапии. В случае гомозиготного дефицита *DPYD* рекомендуется полный отказ от 5-фторурацила, в случае гетерозиготного – снижение дозы по меньшей мере на 50 %. В то же время высокий уровень экспрессии *DPYD* ассоциирован с плохим исходом у пациентов с IV стадией КРР [29].

Полиморфизм гена *UGT1A1* предложен в качестве прогностического биомаркера токсичности, связанной с иринотеканом. Адаптация дозы иринотекана в соответствии с генотипом *UGT1A1* не снижает эффективности лечения [30].

Резистентность к анти-EGFR-терапии может быть обусловлена амплификацией онкогена *HER2* (human epidermal growth factor receptor 2). У 5 % пациентов с мКРР, несущих *KRASwt* и резистентных к лечению цетуксимабом, амплифицирован *HER2*. В исследовании фазы II HERACLES двойной таргетной терапии, сочетающей трастузумаб (анти-*HER2*-антитела) и латаниб (анти-*HER1/EGFR*-антитела), у больных рефрактерным мКРР с *KRAS wt* и амплификацией и/или гиперэкспрессией *HER2*, 30 % пациентов достигли объективного ответа и еще 44 % – стабилизации заболевания [31, 32].

**Система репарации ошибок репликации (РОР) ДНК** (DNA mismatch repair) обеспечивает геномную стабильность за счет устранения ошибочно спаренных оснований и коротких шпилечных повторяющихся нуклеотидных последовательностей (микросател-

литов), возникающих в процессе репликации ДНК. Мутации в генах РОР способствуют возникновению и накоплению множества соматических мутаций, нестабильности генома, росту и диссеминации опухоли. Таким образом, носители мутации в одном из генов РОР имеют высокий риск развития КРР (60–90 %) [6]. Дефект РОР ДНК является критерием, который используется при отборе пациентов со II стадией рака толстой кишки высокого риска для адьювантной химиотерапии [7].

Пятнадцать процентов колоректальных опухолей характеризуются **микросателлитной нестабильностью (МСН)** – молекулярным маркером дефектной РОР и одним из наиболее информативных генетических признаков рака толстой кишки ранней стадии [33]. МСН обычно является результатом инактивации системы РОР ДНК в результате гиперметилирования (80 % спорадических случаев КРР МСН<sup>+</sup>) или мутаций (20 % случаев КРР МСН<sup>+</sup>) в генах *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* и *PMS2*. Инактивация работы этих генов приводит к накоплению ошибок репликации микросателлитных последовательностей в генах-супрессорах опухолей. Спорадический КРР МСН<sup>+</sup> в 40–60 % случаев несет мутацию *BRAFV600E*, чрезвычайно редкую при семейной форме КРР – синдроме Линча, поэтому для различения спорадических и наследственных форм КРР МСН<sup>+</sup> проводят анализ мутации *V600E* [34]. КРР с дефектной РОР имеет ряд клинико-функциональных особенностей в виде преобладания проксимальной локализации в толстой кишке, низкой дифференциации, муцинозной гистологии, интенсивной лимфоцитарной инфильтрации опухоли [2].

Статус МСН связан с принципиально иной биологией опухоли, по сравнению с другими случаями КРР, и имеет большое клиническое значение, поскольку пациенты с опухолями фенотипа МСН<sup>+</sup> на ранних стадиях имеют более благоприятный прогноз, чем пациенты с опухолями фенотипа МСН<sup>-</sup>. Частота рецидивов у пациентов с опухолями МСН<sup>+</sup> II стадии слишком мала, чтобы оправдать адьювантную химиотерапию для всех пациентов этой группы. Больным раком толстой кишки МСН<sup>+</sup> II и III стадий не следует назначать фторпиримидиновую монотерапию, так как эта стратегия для них неэффективна, в отличие от оксалиплатин-содержащей адьювантной терапии [35]. Добавление оксалиплатина к 5-фторурацилу, являющееся в настоящее время стандартом адьювантной терапии, значительно эффективнее при опухолях МСН<sup>+</sup> [36]. Таким образом, в настоящее время в клинической практике используется предиктивный биомаркер потенциальной эффективности адьювантной терапии КРР – фенотип МСН/ОР: пациентам с опухолями МСН<sup>+</sup> II стадии не стоит назначать адьювантную химиотерапию, а пациентам с опухолями МСН<sup>+</sup> III стадии следует проводить адьювантную химиотерапию на основе оксалиплатина, а не фторпиримидина. Пациенты с *KRAS*-мутант-

ным раком толстой кишки МСН<sup>-</sup> III стадии имеют плохой прогноз и характер диссеминации, ассоциированный с метастазами в легких [7, 37].

### Эпигенетика колоректального рака

**Метилирование ДНК.** Эпигенетическими изменениями в настоящее время считаются наследственные изменения экспрессии генов, не связанные с изменениями последовательности ДНК. Статус метилирования ДНК является одним из наиболее частых эпигенетических изменений, влияющих на регуляцию экспрессии генов. Возрастные эпигенетические изменения генов-супрессоров опухоли могут быть одним из самых ранних событий, предрасполагающих онкогенную трансформацию нормальной слизистой оболочки. Метилирование ДНК происходит по динуклеотидам CpG в промоторах генов. КРР характеризуется большим числом одновременно метилированных CpG-островков, что приводит к инактивации генов-супрессоров опухолей и генов системы репарации ДНК [6]. Группа КРР фенотипа CIMP<sup>+</sup> (CpG island methylator phenotype) обладает уникальными молекулярными и клинико-патологическими признаками, в том числе преобладанием проксимальной локализации в толстой кишке и муцинозной гистологией [11]. Идентификация метилированных генов в полипах толстой кишки позволяет использовать эти гены в качестве биомаркеров для раннего обнаружения КРР [38].

Фенотипы CIMP<sup>+</sup> и CIMP<sup>-</sup> (как и МСН<sup>+</sup> и МСН<sup>-</sup>) связаны с ответом на химиотерапию. Статус CIMP является одним из наиболее перспективных биомаркеров неблагоприятного прогноза у пациентов с КРР, особенно фенотипа МСН<sup>-</sup>. Безрецидивная выживаемость (БРВ) после лечения 5-фторурацилом больных КРР CIMP<sup>+</sup> снижена по сравнению с больными КРР CIMP<sup>-</sup>. Добавление иринотекана к адьювантной терапии (5-фторурацил + лейковорин) КРР III стадии увеличивает ОВ пациентов с опухолями толстой кишки CIMP<sup>+</sup> МСН<sup>-</sup> [38].

Добавление оксалиплатина к 5-фторурацилу эффективнее в опухолях фенотипа МСН<sup>+</sup>. Для опухолей МСН<sup>+</sup>, резистентных к 5-фторурацилу, фактором чувствительности к комбинации 5-фторурацил + оксалиплатин может быть гиперметилированный ген *GPX3*. Эпигенетическое ингибирование *GPX3* описано в различных типах опухолей, включая КРР. Ген *GPX3* кодирует глутатионпероксидазу-3 – селенопротеин с антиоксидантными функциями. Снижение экспрессии *GPX3* связано с оксидантным стрессом, повреждением ДНК и апоптозом, а также с изменением чувствительности к платиновым агентам, так как, кроме разрушения клеточных окислительно-восстановительных систем, эти препараты вызывают образование аддуктов платина – ДНК. Метилирование *GPX3* в сочетании с метилированием промотора гена *MLH1* проявляется МСН [36]. Если *GPX3* экспрессируется

на высоком уровне, опухоль может не реагировать на оксалиплатин и, следовательно, лучше назначить пациенту режим, содержащий не платину, а другой агент, такой как иринотекан. Таким образом, статус метилирования *GPX3* может иметь значение для выбора стратегии лечения [39].

Показана целесообразность использования гиперметилированных генов в качестве предиктивных биомаркеров ответа больных КРР на химиотерапию (*TFAP2E* – на 5-фторурацил, *SRBC* – на оксалиплатин) и идентификации пациентов, которым показаны виды терапии, неэффективные у нестратифицированных больных КРР. Метилированный ген *SEPT9* отличает больных КРР от здоровых лиц с чувствительностью 69 % и специфичностью 86 %. В настоящее время существуют скрининг-тесты на КРР, определяющие содержание метилированного *SEPT9* в крови: EpiProColon<sup>®</sup> 1.0 (Epigenomics, США), ColoVantage<sup>®</sup> (Quest Diagnostics, США), RealTime mS9 (Abbott Laboratories, США). Метилированный ген *SFRP2* идентифицирован в фекальной ДНК как диагностический биомаркер предраковых полипов толстой кишки и КРР с чувствительностью 77–90 % и специфичностью 77 %. Также для раннего обнаружения КРР идентифицированы еще несколько диагностических гиперметилированных биомаркеров крови: *ALX4*, *APC*, *CDKN2A*, *NDRG4*, *BMP3*, *VIM*, *HLTF*, *HPP1*, *MLH1*, *MGMT*, *NEUROG1*, *NGFR*, *RASSF2A*, *TFPI2*, *WIF1* [38].

**Некодирующие РНК.** Около 80 % генома транскрибируются в некодирующие РНК (non-coding RNA, ncRNA), малые (микроРНК длиной до 200 нуклеотидов) и длинные (длиной более 200 нуклеотидов) [38]. Оказалось, что некодирующие РНК не являются «фоновым транскрипционным шумом», возникающим из «мусорной» ДНК, а играют важную роль в регуляции онкогенов и генов-супрессоров опухолей при раке.

Функциональные различия между разными типами опухолей и стадиями рака связаны с дифференциальной экспрессией микроРНК (*miR*). Растущий интерес к микроРНК основан на их уникальных характеристиках:

- микроРНК удивительно стабильны в различных экспериментальных и лабораторных условиях;
- благодаря небольшому размеру и шпилечной структуре микроРНК защищены от деградации РНКазами и легко экстрагируются из образцов тканей, в том числе фиксированных формалином и залитых в парафин, и жидкостей организма, включая кровь, слюну, мочу, фекалии и т.д.;
- микроРНК активно секретируются раковыми клетками в кровеносную систему и желудочно-кишечный тракт.

МикроРНК участвуют в пролиферации, дифференцировке и апоптозе клеток путем взаимодействия

с матричными РНК (мРНК) генов-мишеней. Связывание микроРНК с мРНК-мишенью может привести к деградации мРНК-мишени или ингибированию ее трансляции в белок. Многие изменения в раковых клетках прямо или косвенно влияют на экспрессию микроРНК, в том числе геномные перестройки, мутации в генах микроРНК или белках, участвующих в их образовании, и изменения эпигенетической регуляции микроРНК. Под влиянием мутаций изменяются возможности соединения микроРНК с мРНК-мишенью, и эти измененные мРНК/микроРНК-взаимодействия нарушают процесс трансляции мРНК. В развитие КРР вовлечены следующие семейства микроРНК: let-7 (let-7a, b, g), miR-9, -17, -20a, -21, -30 (a, c), -31, -34a, -96, -124 (a, b), -125, -135a, -130a, -133, -135b, -137, -141, -142-3p, -143, -145, -154, -182, -183, -200 (a, b, c), -205, -214, -219, -299, -337, -342, -372, -370 [38].

Функция микроРНК, экспрессия которых подавлена в клетках КРР, состоит в ингибировании онкогенных мРНК. Например, miR-195 снижает жизнеспособность клеток, способствует апоптозу и подавляет онкогенез КРР. Эти противоопухолевые эффекты miR-195 обусловлены ингибированием экспрессии антиапоптозного белка Bcl-2, который индуцирует остановку клеточного цикла в фазе G0/G1 в клетках КРР и ингибирует инвазию опухолевых клеток. Ее мишенью является ДНК-метилтрансфераза, катализирующая метилирование ДНК. Потеря miR-143, -145 и let-7a активирует EGFR-путь сигнальной трансдукции и способствует колоректальному канцерогенезу. Мишенью miR-520a и -525a является сигнальный хаб PI3K/AKT – эффектор сигнального пути EGFR. Экспрессия miR-126, которая модулирует активность PI3K в эпителии толстой кишки, часто нарушена в КРР. мРНК гена *PTEN*, негативного регулятора PI3K/AKT, является мишенью miR-19, -21, -32 и -92-1-5p [5].

Сайт связывания мРНК опухолевого супрессора *TP53* содержат и транскрипционно активируют let-7i, miR-20a, -21, -25, -34a/b/c, -143, -145, -181a, -181b, -183, -195, -215, -451 и др. MiR-192 и -215 могут выступать в качестве эффекторов, а также регуляторов *TP53*. Среди *TP53*-регулируемых микроРНК семейство miR-200 играет важную роль в метастазировании. MiR-125b, -339-5p и -133a контролируют *TP53* в качестве негативных регуляторов [38].

Широкий спектр клеточных функций, таких как пролиферация, дифференцировка, апоптоз, миграция и взаимоотношения с микросредой, регулируется факторами семейства TGF- $\beta$ . Рецептор TGFBR2 – мишень микроРНК нескольких семейств, а именно miR-17-5p, -20a, -21, -23b, -106a, -301a. В регуляции TGFBR2-сигналинга участвуют miR-21, -130a, -301a, -454, онкогенные кластеры miR-17-92, -106a/363, -106b/25. Активация фактора SMAD7, известного

как негативный регулятор TGF- $\beta$ -сигналинга, усиливает инвазию и метастазирование в результате снижения экспрессии miR-25 [5].

Экспрессия микроРНК релевантна клиническим и биологическим характеристикам опухоли, таким как тип ткани, степень дифференцировки, инвазия и ответ на лечение. Использование микроРНК в качестве диагностических маркеров путем измерения их уровня в крови или опухолевой ткани информативно на ранних стадиях заболевания, в отличие от биопсии солидных опухолей, которая проводится, когда рак уже достиг значительного прогресса. Плазменные уровни miR-92a отличают КРР от воспалительных заболеваний кишечника, а фекальная экспрессия miR-92a позволяет дифференцировать пациентов с КРР или аденомой от пациентов с полипами и здоровых лиц. Эти результаты делают miR-92a полезным биомаркером для ранней диагностики КРР. MiR-21 – самое распространенное семейство микроРНК среди активированных при КРР. Это перспективный неинвазивный биомаркер для раннего выявления КРР, так как miR-21 является одной из наиболее высоко экспрессируемых микроРНК при КРР, секретируется раковыми клетками, и ее уровень может быть измерен в крови, слюне и фекалиях, а дисрегуляция miR-21 часто встречается на ранних стадиях КРР. Циркулирующая miR-21 опухолевого происхождения отличает пациентов с КРР от здоровых лиц с чувствительностью более 90 % и специфичностью более 90 % и позволяет идентифицировать пациентов с прогрессирующей аденомой. Высокая экспрессия miR-21 у больных КРР ассоциирована с низкой выживаемостью и в настоящее время имеет наибольший потенциал в качестве прогностического биомаркера КРР [38]. Уровни экспрессии miR-21 в плазме и слюне у больных КРР в 4 раза выше ( $p = 0,0001$  и  $10^{-12}$  соответственно), чем у здоровых лиц. Анализ слюны на miR-21 является идеальной неинвазивной процедурой с более высокой чувствительностью (97 %) и специфичностью (91 %), чем анализ плазмы (65 и 85 % соответственно) [40].

Использование панели из микроРНК, ассоциированных с 5-летней БРВ, – miR-103a, -215 и -143-5p – у пациентов с КРР II стадии с высоким риском показало, что 33 % пациентов могут быть классифицированы как группа высокого риска с БРВ 86 мес и 67 % пациентов – как группа низкого риска с БРВ 126 мес ( $p = 0,0002$ ). Эти различия сохранились, когда пациенты были разделены на получавших и не получавших адьювантную химиотерапию [37].

Резистентность к 5-фторурацилу детерминируют miR-10b, -19b, -20a, -21, -23a, -31, -34, -129, -140, -145, -192/-215, -200 и -497, к иринотекану – miR-21 254 и -451, к оксалиплатину – miR-20a, -21, -133a, -143, -153, -203 и -1915. Уровни экспрессии и метилирования miR-148a связаны с отсутствием ответа

на 5-фторурацил и оксалиплатин у пациентов с мКРР. У больных мКРР с *KRAS*wt, получавших анти-EGFR-терапию, негативным прогностическим фактором 5-летней ВБП является miR-31-3p [38]. Гиперэкспрессия miR-24-3p является значимым предиктором крайне неблагоприятного прогноза при КРР, в том числе у пациентов с локализованным КРР, а ее прогностическое значение не зависит от других прогностических факторов, клинико-патологических параметров и схемы лечения больных [41].

Повышенная опухолевая экспрессия miR-203 до операции связана с худшей выживаемостью после резекции метастазов КРР в печени. КРР и его метастазы в печени связаны также с дисрегуляцией экспрессии miR-145, -221, -18a и -27a. Экспрессия miR-483-5p и -551a подавлена при мКРР. Оба эти семейства микроРНК имеют общую метаболическую мишень — креатинкиназу СКВ (creatininekinase, brain-type), которая создает резервуар креатинфосфата для генерации аденозинтрифосфата, позволяющий опухолевым клеткам выживать в условиях гипоксии во время колонизации печени. Исследования показали, что нарушения регуляции экспрессии микроРНК, ассоциированных с КРР, связаны с прогрессией опухоли [42].

Прогрессирование рака можно предотвратить с помощью нескольких стратегий, включая ингибирование онкогенных микроРНК, отсечение их от мРНК-мишеней с помощью искусственных микроРНК, индукцию опухолесупрессорных микроРНК, а также снижение экспрессии микроРНК посредством эпигенетических факторов, таких как метилирование промотора. Для подавления экспрессии микроРНК могут быть использованы олигонуклеотиды, комплементарные данной микроРНК. Эпигенетические препараты, такие как ингибиторы ДНК-метилтрансфераз (5-аза-2-дезоксцитидин) или гистондеацетилаз (фенилмасляная кислота), увеличивают экспрессию микроРНК за счет снижения метилирования ДНК и повышения ацетилирования гистонов [5].

*Малые ядрышковые РНК (small nucleolar RNA, snoRNA)* — одноцепочечные некодирующие РНК длиной 60–300 нуклеотидов. Считается, что snoRNA выполняют критически важную роль в созревании рибосомных РНК. Однако в последнее время появились данные о ранее неизвестной роли snoRNA в контроле клеточной судьбы и онкогенеза. Было показано потенциальное прогностическое значение snoRNA (семейства SNORD76, SNORD78, ACA11 и SNORA42) в различных раковых опухолях. Уровни экспрессии всех этих семейств snoRNA в тканях КРР повышены по сравнению с нормальной слизистой оболочкой. При этом повышенная экспрессия SNORA42 отрицательно коррелирует с ОБ и позволяет идентифицировать пациентов с высоким риском рецидива и неблагоприятным прогнозом при КРР II стадии. SNORA42 является перспективным биомаркером

прогноза и потенциальной терапевтической мишенью при КРР [43].

#### Генетика синдромов, ассоциированных с колоректальным раком

Несколько колоректальных синдромов с доминантным менделевским наследованием (около 5 % всех случаев КРР) можно условно разделить на 2 основные группы: неполипозные и полипозные. В 30 % случаев КРР МСН<sup>+</sup> дисрегуляция системы РОР вызвана герминативными мутациями в генах РОР и фенотипически проявляется аутосомно-доминантным неполипозным КРР, известным как синдром Линча (Lynch) [34]. Более 90 % случаев КРР, ассоциированных с синдромом Линча, составляют КРР фенотипа МСН<sup>+</sup>. Начало заболевания при синдроме Линча приходится на молодой возраст: к 20 годам большинство пациентов имеют по меньшей мере 1 аденоматозный полип, а к 50 годам — аденокарциному [44]. Наследственная форма полипозного КРР вызвана герминативной мутацией в гене *APC*. У носителей таких мутаций неизбежно будет развиваться семейный аденоматозный полипоз (familial adenomatous polyposis, FAP). Другие ассоциированные с полипозом синдромы рака ободочной и прямой кишки включают в себя синдром Гарднера у пациентов с признаками FAP вне толстой кишки и синдром Турко, характеризующийся аденоматозным полипозом и ранним развитием опухолей центральной нервной системы (может быть вызван мутацией гена *APC* или биаллельной мутацией одного из генов РОР). Синдром *MUTYH*-ассоциированного полипоза имеет аутосомно-рецессивный тип наследования и является результатом биаллельных мутаций в гене *MUTYH* (mutY DNA glycosylase). Герминативные мутации в гене *LKB1/STK11* (liver kinase B1/serine/threoninekinase 11) являются причиной наследственного полипоза кишечника — синдрома Пейц–Егерса (Peutz–Jeghers), а мутации в генах *SMAD4* (suppressor of mothers against decapentaplegic) и *BMPRIA* (bone morphogenetic protein receptor type 1A) лежат в основе синдрома ювенильного полипоза [6]. Клиническое генетическое тестирование в настоящее время доступно для менделевских колоректальных синдромов, в том числе FAP (гены *APC*, *MUTYH*) и синдрома Линча (гены *MSH2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH6*, *PMS2*). Пациенты, несущие мутации в одном из этих высокопенетрантных генов, должны находиться под динамическим наблюдением [45].

#### Опухолевый транскриптом

Генетические aberrации способствуют опухолевой гетерогенности, но биология и клинические проявления опухоли формируются благодаря многим дополнительным особенностям, к которым, кроме эпигенетических aberrаций, относятся состав стромы,

Транскрипционно идентифицированные консенсусные молекулярные подтипы колоректального рака [7]

Transcriptionally identified consensus molecular subtypes of colorectal cancer [7]

Молекулярный подтип опухоли Molecular subtype of the tumor	Доля случаев, %* Proportion of cases, %*	Геномный признак Genetic characteristics	Генетический триггер Genetic trigger	Ассоциированные предшественники Progenitors	Профиль генной экспрессии Gene expression pattern	Прогноз Prognosis
CMS1 (MCH <sup>***</sup> /иммунный) CMS1 (MSI <sup>***</sup> /immune)	15	Гипермутабельный Hypermutable	<i>BRAF</i>	Зубчатые Serrated	Иммунный Immune	Средний Moderate
CMS2 (канонический) CMS2 (canonical)	40	Высокая частота соматических изменений числа копий High frequency of changes in the number of copies in the somatic cells	<i>APC</i>	Тубулярные Tubular	WNT/MYC	Хороший Good
CMS3 (метаболический) CMS3 (metabolic)	10	Гетерогенность по микросателлитной и хромосомной нестабильности Heterogeneity in terms of microsatellite and chromosomal instability	<i>KRAS</i>	Неизвестны Unknown	Метаболическая дисрегуляция Metabolic dysregulation	Средний Moderate
CMS4 (мезенхимальный) CMS4 (mesenchymal)	25	Высокая частота соматических изменений числа копий High frequency of changes in the number of copies in the somatic cells	Неизвестен Unknown	Зубчатые Serrated	Активация TGF-β-сигнального пути, эпителиально-мезенхимальная трансдифференцировка, сильная стромальная инфильтрация Activation of TGF-β signaling pathway, epithelial-mesenchymal transdifferentiation, severe stromal infiltration	Плохой Poor

\*Десять процентов случаев колоректального рака не отнесены ни к одному из опухолевых подтипов. \*\*MCH – микросателлитная нестабильность.

\*Ten percent of colorectal cancer cases could not be attributed to any of the described tumor subtypes. \*\*MSI – microsatellite instability.

местный иммунитет, степень васкуляризации и гипоксии. Все эти аспекты интегрированы в транскриптом опухоли. Исследование транскриптома на разных стадиях КРР используется для идентификации генов, экспрессия которых ассоциирована с исходом заболевания. Разработаны коммерческие аналитические наборы, которые облегчают использование профилей генной экспрессии в клинике: Oncotype DX 12-gene RT-PCR assay (Genomic Health, США) и ColoPrint 18-gene microarray-based classifier (Agenzia Inc., США). Изучение прогностической ценности и валидация этих инструментов продолжаются в настоящее время.

Для достижения консенсуса между используемыми системами классификации консорциум по субтипированию КРР объединил геномные данные 4151 опухолевого образца. Это привело к созданию класси-

фикации болезни на основе транскриптома, которая включила в себя 4 молекулярных подтипа (consensus molecular subtypes, CMS1–4) [2, 7] (см. таблицу). Подтип CMS1 представляет собой подгруппу КРР с более благоприятным прогнозом и сильной ассоциацией со статусом MCH. Подтип CMS2 включает опухоли с профилем генной экспрессии эпителиально-клеточного типа и высокой степенью хромосомной нестабильности. Подтип CMS3 отражает метаболическую дисрегуляцию. Для подтипа CMS4 характерны мезенхимальные особенности, стромальная инвазия и плохой прогноз. Учитывая обширные биологические различия между этими подтипами, их ответы на терапию также могут различаться. Например, метастатические опухоли мезенхимального подтипа проявляют резистентность к анти-EGFR-монотерапии независимо от статуса *RAS*-мутации [46].

Десять процентов образцов остались неклассифицированными. Возможно, они представляют собой переходный фенотип или демонстрируют внутриопухолевую гетерогенность.

Хотя классификатор CMS еще не применяется для принятия клинических решений, он обеспечивает надежной информацией о биологическом поведении групп КРР, которая должна быть использована в таргетной терапии в будущих исследованиях [2]. Предполагается использовать классификацию CMS для проспективной оценки новых лекарств и выбора варианта наиболее эффективной терапии [7].

### Заключение

Внутриопухолевая гетерогенность КРР обусловлена как генетически различными популяциями (клонами), присутствующими в опухоли, так и различной степенью клеточной дифференцировки.

Понимание различных путей развития КРР является принципиально важным, так как именно они непосредственно влияют на клиническое течение заболевания и ответ на различные виды терапии. Поэтому существует клиническая потребность в прогностических и предиктивных биомаркерах, позволяющих более точно определять пациентов с высоким риском рецидива заболевания и выбирать оптимальное лечение. Выявление модифицируемых сигнальных путей приводит к новым вариантам терапевтического вмешательства. Создание больших баз данных для сбора и хранения геномов пациентов, возможность дифференцировать подтипы КРР в прогностические группы с учетом генной экспрессии, доступность высокочувствительного секвенирования нового поколения позволяют транслировать эти достижения в клиническую практику и получить новые возможности терапии КРР.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-50-00069).

**Financing.** The work was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 14-50-00069).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** Authors declare no conflict of interest.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 2016;66(1):7–30. DOI: 10.3322/caac.21332.
2. Cuyle P.J., Prenen H. Current and future biomarkers in the treatment of colorectal cancer. *Acta Clin Belg* 2017;72(2):103–15. DOI: 10.1080/17843286.2016.1262996.
3. Tu C., Mojica W., Straubingeret R.M. et al. Quantitative proteomic profiling of paired cancerous and normal colon epithelial cells isolated freshly from colorectal cancer patients. *Proteomics Clin Appl* 2017;11(5–6). DOI: 10.1002/prca.201600155.
4. Yu J., Feng Q., Wong S.H. et al. Metagenomic analysis of faecal microbiomes a tool towards targeted non-invasive biomarkers for colorectal cancer. *Gut* 2017;66(1):70–8. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309800.
5. Mohammadi A., Mansoori B., Baradaran B. The role of microRNA in colorectal. *Biomed Pharmacother* 2016;84(4):705–13. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.09.099.
6. Van Kessel A.G., Venkatachalam R., Kuiper R.P. et al. Colorectal cancer. Genomic and personalized medicine (2<sup>nd</sup> edn.) 2013;69(5):722–32.
7. Punt C.J., Koopman M., Vermeulen L. From tumor heterogeneity to advances in precision treatment of colorectal cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2017;14(4):235–46. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.171.
8. Bigagli E., de Filippo C., Castagnini C. et al. DNA copy number alterations, gene expression changes and disease-free survival in patients with colorectal cancer: a 10 years' follow-up. *Cell Oncol* 2016;39(6):545–58. DOI: 10.1007/s13402-016-0299-z.
9. Tariq K., Ghias K. Colorectal cancer carcinogenesis: a review of mechanisms. *Cancer Biol Med* 2016;13(1):120–35. DOI: 10.28092/j.issn.2095-3941.2015.0103.
10. Müller M.F., Ibrahim A.E., Arends M.J. Molecular pathological classification of colorectal cancer. *Virchows Arch* 2016;469(2):125–34. DOI: 10.1007/s00428-016-1956-3.
11. Kudryavtseva A.V., Lipatova A.V., Zaretzky A.R. et al. Important molecular genetic markers of colorectal cancer. *Oncotarget* 2016;7(33):53959–83. DOI: 10.18632/oncotarget.9796.
12. Kozak M.M., von Eyben R., Pai J. et al. Smad inactivation predicts for worse prognosis and response to fluorouracil-based treatment in colorectal cancer. *J Clin Pathol* 2015;68(5):341–5. DOI: 10.1136/jclinpath-2014-202660.
13. Van Cutsem E., Lenz H.J., Kohne C.H. Fluorouracil, leucovorin and irinotecan plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2015;33(7):692–700. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.4812.
14. Allegra C.J., Rumble R.B., Schilsky R.L. Extended RAS gene mutation testing in metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy: American Society of Clinical Oncology Provisional Clinical Opinion Update 2015. *J Clin Oncol Pract* 2016;34(2):179–85. DOI: 10.1200/JCO.2015.63.9674.
15. Bokemeyer C., Köhne C.H., Ciardiello F. et al. FOLFOX4 plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2015;51(10):1243–52. DOI: 10.1016/j.ejca.2015.04.007.
16. Van Cutsem E., Cervantes A., Adam R. et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2016;27(9):1386–422. DOI: 10.1093/annonc/mdw235.

17. Barras D., Missiaglia E., Wirapati P. et al. BRAF V600E-mutant colorectal cancer subtypes based on gene expression. *Clin Cancer Res* 2017;23(1):104–15. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0140.
18. Mikhailenko D.S., Efremov G.D., Safonova N.Y. Detection of rare mutations by routine analysis of KRAS, NRAS and BRAF oncogenes. *Bull Exp Biol Med* 2017;162(3):375–8. DOI: 10.1007/s10517-017-3619-z.
19. Zhu L., Dong C., Cao Y. et al. Prognostic role of BRAF mutation in stage II/III colorectal cancer receiving curative resection and adjuvant chemotherapy: a meta-analysis based on randomized clinical trials. *PLoS One* 2016;11(5):154–9. DOI: 10.1371/journal.pone.0154795.
20. Moretto R., Cremolini C., Rossini D. Location of primary tumor and benefit from anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies in patients with RAS and BRAF wild-type metastatic colorectal cancer. *Oncologist* 2016;21(8):988–94. DOI: 10.1634/theoncologist.2016-0084.
21. Corcoran R.B., Atreya C.E., Falchook G.S. et al. Combined BRAF and MEK inhibition with dabrafenib and trametinib in BRAF V600 mutant colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2015;33(34):4023–31. DOI: 10.1200/JCO.2015.63.2471.
22. Lech G., Slotwinski R., Slodkowski M. et al. Colorectal cancer tumor markers and biomarkers: recent therapeutic advances. *World J Gastroenterol* 2016;22(5):1745–55. DOI: 10.3748/wjg.v22.i5.1745.
23. Shen Y., Han X., Wang J. et al. Prognostic impact of mutation profiling in patients with stage II and III colon cancer. *Sci Rep* 2016;6(2):243–50. DOI: 10.1038/srep24310.
24. Stintzing S., Stremtizer S., Sebio A. et al. Predictive and prognostic markers in the treatment of metastatic colorectal cancer (mKPP). *Hematol Oncol Clin North Am* 2015;29(1):43–60.
25. Thorvaldsen T.E., Pedersen N.M., Wenzel E.M. et al. Differential roles of AXIN1 and AXIN2 in tankyrase inhibitor-induced formation of degradasomes and  $\beta$ -catenin degradation. *PLoS One* 2017;12(1):170–75. DOI: 10.1371/journal.pone.0170508.
26. Gustavsson B., Carlsson G., Machover D.A. A review of the evolution of systemic chemotherapy in the management of colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2015;14(1):1–10. DOI: 10.1016/j.clcc.2014.11.002.
27. Dalerba P., Sahoo D., Paik S. CDX2 as a prognostic biomarker in stage II and stage III colon cancer. *N Engl J Med* 2016;374(3):211–22. DOI: 10.1056/NEJMoa1506597.
28. Kandioler D., Mittlböck M., Kappel S. et al. TP53 mutational status and prediction of benefit from adjuvant 5-fluorouracil in stage III colon cancer patients. *EBioMedicine* 2015;2(8):825–30. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.06.003
29. Kunicka T., Prochazka P., Krus I. et al. Molecular profile of 5-fluorouracil pathway genes in colorectal carcinoma. *BMC Cancer* 2016;16(1):795. DOI: 10.1186/s12885-016-2826-8.
30. Phelip J.M., Mineur L., de la Fouchardière C. et al. High resectability rate of initially unresectable colorectal liver metastases after UGT1A1-adapted high-dose irinotecan combined with LV5FU2 and cetuximab: a multicenter phase II study (ERBIFORT). *Ann Surg Oncol* 2016;23(7):2161–6. DOI: 10.1245/s10434-015-5072-4
31. Sartore-Bianchi A., Trusolino L., Martino C. et al. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17(6):738–46. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)00150-9.
32. Schmoll H.J. Targeting HER2: precision oncology for colorectal cancer. *Lancet Oncol* 2016;17(6):685–6. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30039-0.
33. Graham D.M., Coyle V.M., Kennedy R.D., Wilson R.H. Molecular subtypes and personalized therapy in metastatic colorectal cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep* 2016;12(6):141–50. DOI: 10.1007/s11888-016-0312-y.
34. Boissière-Michot F., Frugier H., Ho-Pun-Cheung H. et al. Immunohistochemical staining for p16 and BRAF V600E is useful to distinguish between sporadic and hereditary (Lynch syndrome-related) microsatellite instable colorectal carcinomas. *Virchows Arch* 2016;469(2):135–44. DOI: 10.1007/s00428-016-1958-1.
35. Andre T., de Gramont A., Vernerey D. et al. Adjuvant fluorouracil, leucovorin and oxaliplatin in stage II to III colon cancer: updated 10-year survival and outcomes according to BRAF mutation and mismatch repair status of the MOSAIC study. *J Clin Oncol* 2015;33(35):4176–87. DOI: 10.1200/JCO.2015.63.4238.
36. Tougeron D., Mouillet G., Trouilloud I. et al. Efficacy of adjuvant chemotherapy in colon cancer with microsatellite instability: a large multicenter AGE0 study. *J Nat Cancer Inst* 2016;108(7):76–81. DOI: 10.1093/jnci/djv438.
37. Caritg O., Navarro A., Moreno I. et al. Identifying high-risk stage II colon cancer patients: a three-microRNA-based score as a prognostic biomarker. *Clin Colorectal Cancer* 2016;15(4):175–82. DOI: 10.1016/j.clcc.2016.04.008.
38. Okugawa Y., Grady W.M., Goel A. Epigenetic alterations in colorectal cancer: emerging biomarkers. *Gastroenterology* 2015;149(5):1204–25. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.07.011.
39. Pelosof L., Yerram S., Armstrong T. et al. GPX3 promoter methylation predicts platinum sensitivity in colorectal cancer. *Epigenetics* 2017;12(7):540–50. DOI: 10.1080/15592294.2016.1265711.
40. Sazanov A.A., Kiselyova E.V., Zakharenko A.A. et al. Plasma and saliva miR-21 expression in colorectal cancer patients. *J Appl Genet* 2017;58(2):231–7. DOI: 10.1007/s13353-016-0379-9.
41. Kerimis D., Kontos C.K., Christodoulou S. et al. Elevated expression of miR-24-3p is a potentially adverse prognostic factor in colorectal adenocarcinoma. *Clin Biochem* 2017;50(6):285–92. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2016.
42. Kingham P.T., Nguyen H.C., Zheng J. et al. MicroRNA-203 predicts human survival after resection of colorectal liver metastasis. *Oncotarget* 2017;8(12):18821–31. DOI: 10.18632/oncotarget.13816.
43. Okugawa Y., Toiyama Y., Toden S. et al. Clinical significance of SNORA42 as an oncogene and a prognostic biomarker in colorectal cancer. *Gut* 2017;66(1):107–17. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309359.
44. Cruz-Correa M., Pérez-Mayoral J., Dutil J. et al. Hereditary cancer syndromes in Latino populations: genetic characterization and surveillance guidelines. *Hered Cancer Clin Pract* 2017;15(3):3. DOI: 10.1186/s13053-017-0063-z.
45. Nimptsch K., Aleksandrova K., Boeing H. et al. Association of CRP genetic variants with blood concentrations of C-reactive protein and colorectal cancer risk. *Int J Cancer* 2015;136(5):1181–92. DOI: 10.1002/ijc.29086.
46. Linnekamp J.F., Wang X., Medema J.P., Vermeulen L. Colorectal cancer heterogeneity and targeted therapy: a case for molecular disease subtypes. *Cancer Res* 2015;75(2):245–9. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-2240.