

Циркулирующая в крови опухолевая ДНК как маркер резидуальной болезни при раке толстой кишки

М.Ю. Федянин¹, Х.Х.-М. Эльснукеева¹, В.А. Алиев¹, Т.С. Айрапетян¹, А.В. Поляков¹, Е.В. Мороз¹, В.А. Уйманов¹, У.А. Боярских², А.А. Кечин², М.Л. Филипенко², С.А. Тюляндин¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН»; Россия, 630090 Новосибирск, проспект Акад. Лаврентьева, 8

Контакты: Михаил Юрьевич Федянин fedianinmi@mail.ru

На рак толстой кишки приходится 3-е место по заболеваемости злокачественными новообразованиями в мире и 4-е место по смертности от них. При этом в большинстве случаев опухоль диагностируется на II–IV стадиях заболевания, что говорит о необходимости изучения маркеров прогрессирования, особенно после радикального лечения. В связи с этим в последние годы появился интерес к изучению в качестве маркера резидуальной опухоли при раке толстой кишки циркулирующей в крови опухолевой ДНК. В 2018 г. ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» совместно с ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН» при координации ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» в рамках экспериментального государственного задания Минздрава России инициировали научно-исследовательскую работу «Разработка тест-системы для диагностики и мониторинга эффективности проводимого лечения злокачественных новообразований различной локализации на основе анализа циркулирующей в крови пациентов опухолевой ДНК». В настоящей статье описываются теоретические предпосылки к инициации данного исследования и сообщается, на каком этапе находится выполнение работы.

Ключевые слова: рак толстой кишки, циркулирующая в крови опухолевая ДНК, жидкостная биопсия, прогноз

Для цитирования: Федянин М.Ю., Эльснукеева Х.Х.-М., Алиев В.А. и др. Циркулирующая в крови опухолевая ДНК как маркер резидуальной болезни при раке толстой кишки. Онкологическая колопроктология 2018;8(3):11–6.

DOI: 10.17650/2220-3478-2018-8-3-11-16

Circulating tumor DNA as a marker of residual tumor in colon cancer

M. Yu. Fedyanin¹, Kh. Kh.-M. Elsnukaeva¹, V. A. Aliev¹, T. S. Ayrapetyan¹, A. V. Polyakov¹, E. V. Moroz¹, V. A. Uymanov¹, U. A. Boyarskikh², A. A. Kechin², M. L. Filipenko², S. A. Tjulandin¹

¹N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 8 Akad. Lavrentyeva St., Novosibirsk 630090, Russia

Colon cancer is the 3rd most common malignant neoplasm and the 4th leading cause of mortality from them. The majority of patients are diagnosed at stages II–IV, which indicates the need for markers that can predict disease progression, especially after surgical treatment. Recently, there has been a growing interest in exploring circulating tumor DNA as a marker of residual tumor in colon cancer. In 2018, the N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology together with the Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine under the coordination of the Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks initiated a research project entitled “Development of an assay for the diagnosis of various malignant tumors and treatment efficacy monitoring based on the analysis of circulating tumor DNA from patient blood”. This article provides a theoretical background for the project and a report on its progress made so far.

Key words: colon cancer, circulating tumor DNA, liquid biopsy, prognosis

For citation: Fedyanin M. Yu., Elsnukaeva Kh. Kh.-M., Aliev V. A. et al. Circulating tumor DNA as a marker of residual tumor in colon cancer. *Onkologicheskaya Koloproktologiya = Colorectal Oncology* 2018;8(3):11–6.

По опубликованным статистическим данным, в РФ в 2016 г. было диагностировано 31 720 случаев рака толстой кишки (РТК), 70–75 % из них – на стадиях I–III [1], при которых основным методом

лечения является хирургический. Однако после операции прогрессирование разовьется примерно у 30 % больных с диагностированной III стадией болезни, у 20 % – со II стадией и у 5 % – с I стадией [2]; также

более чем у 50 % пациентов после метастазэктомии при IV стадии следует ожидать рецидива [3]. Это определяет необходимость назначения в рутинной клинической практике адъювантной химиотерапии у большинства пациентов и внедрения программ наблюдения с целью выявления прогрессирования заболевания на ранних этапах, что потенциально позволит части больных повторно выполнить радикальную программу лечения.

К сожалению, клинически факторы не позволяют полностью диагностировать высокий риск прогрессирования. Это говорит о необходимости поиска маркеров резидуальной болезни после радикального лечения при РТК.

За последние несколько лет возрос интерес ученых и клиницистов к изучению такого сурrogата опухолевой ткани, как циркулирующая в крови опухолевая ДНК (цДНК), в том числе и при РТК [4]. При этом в данной нозологии тесты по выделению цДНК в стуле или плазме крови к настоящему времени уже зарегистрированы в качестве методов скрининга РТК (Cologuard, EPIproColon) [5, 6].

По результатам ряда исследований цДНК стали рассматривать в качестве потенциального маркера опухоли или резидуальной болезни и фактора прогноза после проведенного лечения. Так, у больных метастатическим РТК ($n = 100$), получавших 2-ю линию химиотерапии, уровень цДНК в плазме крови был значимо выше по сравнению со здоровыми добровольцами ($n = 100$) и пациентами с аденомами толстой кишки ($n = 70$). При этом уровень цДНК влиял на медиану времени до прогрессирования и продолжительность жизни: 2,1 мес против 6,5 мес (отношение рисков (ОР) 2,53; $p < 0,0001$) и 7,4 мес против 13,8 мес (ОР 2,52; $p < 0,0001$) соответственно [7]. Такие же обнадеживающие данные по возможности использования опухолевой цДНК в качестве биомаркера выявления РТК и его прогрессирования получили и S. Pucciarelli и соавт., изучив различия концентраций опухолевой цДНК у здоровых добровольцев ($n = 55$), пациентов с аденомами толстой кишки ($n = 24$) и больных РТК различных стадий ($n = 136$). При пороговом значении уровня опухолевой цДНК 4,86 нг/мл чувствительность и специфичность метода в выявлении больных РТК составили 78,52 и 86,08 % соответственно [8]. В более новой работе при анализе мутационного статуса генов *TP53*, *APC*, *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, *FBXW7* и *SMAD4* в цДНК и в опухолевом материале 19 больных метастатическим РТК у 84,2 % пациентов в опухоли обнаружилась хотя бы 1 мутация в одном из перечисленных генов. Во всех случаях она была подтверждена и в цДНК (7 *KRAS*, 3 *TP53*, 3 *BRAF*, 2 *APC* и 1 *PIK3CA*). Как и в других исследованиях, более высокая концентрация цДНК здесь также была ассоциирована с низкими показателями общей выживаемости (при пороговом значении 2,5 нг/мл): 6,9 мес против 12,2 мес, $p = 0,0086$ [9].

Аналогичные результаты были получены и другими исследовательскими группами [10–15].

Однако нас интересует возможность использования цДНК в качестве предиктора прогрессирования после радикального лечения. Одной из первых работ, посвященных данному вопросу, явилось исследование F. Diehl и соавт., которые в 2008 г. опубликовали результаты мутационного анализа генов *APC*, *KRAS*, *PIK3CA* цДНК из 168 образцов крови от 18 больных РТК. Во всех образцах опухолевая цДНК определялась до хирургического лечения. У всех пациентов с выявляемой опухолевой цДНК в процессе наблюдения после операции в дальнейшем отмечено прогрессирование заболевания [14].

В исследовании T. Huang и соавт. применялась 85-генная панель для выявления цДНК в плазме крови у 30 больных до и после проведения хирургического лечения. Части пациентов проводилась адъювантная химиотерапия. Чаще всего мутации встречались в 4 генах: *TP53*, *APC*, *PIK3CA* и *KRAS*. В 83 % случаев отмечалось совпадение мутационного статуса цДНК первичной опухоли. До операции драйверные мутации были выявлены у 83 % пациентов, у всех после операции отмечено значимое снижение уровня опухолевой цДНК. У 5 больных мутации в цДНК не выявлены ни до, ни после хирургического лечения. Отмечена корреляция наличия цДНК в плазме крови с наличием после операции резидуальной опухоли [15].

J. Tie и соавт. со своей технологической платформой MPS (Safe-SeqS) решили проспективно оценить прогностическое значение мутационных изменений опухолевой цДНК, взятой через 4–10 нед после операции, у 250 больных РТК II стадии. При этом у 175 пациентов удалось взять образцы цДНК еще и через 3 мес после хирургического лечения. Предварительные результаты оценки были доложены в 2014 и 2015 гг. Хотя бы 1 мутация в перечисленных генах была обнаружена у всех больных. У 7 (77,8 %) из 9 пациентов с положительной цДНК после оперативного лечения развилось прогрессирование заболевания, тогда как в случае отсутствия цДНК в плазме крови после хирургического вмешательства прогрессирование заболевания развилось лишь у 7 (6,8 %) из 103 больных. Данная закономерность выявлялась независимо от степени инвазии опухолью стенки кишки (показатель «Т»). При этом у 50 % пациентов с прогрессированием заболевания опухолевая цДНК выявлялась в процессе наблюдения после операции. Также наличие опухолевой цДНК было значимо ассоциировано с короткой безрецидивной выживаемостью (ОР 25,7; $p < 0,001$). Авторы работы сделали вывод о возможности оценки уровня опухолевой цДНК в крови пациента в процессе наблюдения за развитием рецидива болезни [16].

Исследователи продолжили работу в этом направлении и в 2018 г. представили результаты по изучению прогностической роли цДНК при III стадии РТК.

Среди 98 пациентов, включенных в исследование и получивших адъювантную химиотерапию, у 20 % развилось прогрессирование заболевания при медиане наблюдения 21,1 мес. Также у 20 % больных после хирургического лечения цДНК продолжала определяться в крови; выживаемость таких пациентов была значимо ниже (ОР 3,52; $p = 0,004$). При наличии цДНК в крови пациентов после завершения адъювантной химиотерапии риск прогрессирования болезни был в 7 раз выше в сравнении с пациентами с отрицательной цДНК (ОР 7,14; $p < 0,001$) [17].

О прогностическом значении цДНК при III стадии РТК первыми сообщили М. Diehn и соавт. еще в 2017 г., исследовав существенную выборку больных. Для детекции цДНК у 145 больных РТК (86 – со II стадией, 59 – с III стадией) применялся метод секвенирования следующего поколения на платформе AVENIO (197 генов). Положительным тестом на цДНК в плазме крови считался вариант, когда в крови выявлялись мутации в генах, аналогичных первичной опухоли. Такой подход позволил выявить цДНК у 99 % больных. Циркулирующая в крови опухолевая ДНК после операции была выявлена только у 12 пациентов, из них у 11 (92 %) развилось прогрессирование заболевания, тогда как среди больных без цДНК прогрессирование заболевания развилось только у 9 (7 %). При медиане наблюдения 32,1 мес двухлетняя безрецидивная выживаемость составила 17 % в группе цДНК⁺ и 88 % в группе цДНК⁻ (ОР 10,3; 95 % доверительный интервал (ДИ) 2,3–46,9; $p < 0,00001$). Аналогичные прогностические показатели получены и в отношении времени до развития рецидива (ОР 20,6; 95 % ДИ 3,1–139,0; $p < 0,00001$) и общей выживаемости (ОР 3,4; 95 % ДИ 0,5–25,8; $p = 0,041$). Отрицательное прогностическое значение детекции цДНК после операции в отношении времени до развития рецидива проявлялось независимо от стадии болезни: при II стадии – ОР 23,1; 95 % ДИ 0,28–1900,4; $p < 0,00001$; при III стадии – ОР 17,9; 95 % ДИ 2,7–117,3; $p < 0,00001$ [18].

В другом исследовании также подтверждена прогностическая роль цДНК при резектабельных стадиях РТК, но не для опухолей с микросателлитной нестабильностью. В этой группе больных в 5 (62,5 %) из 8 наблюдений определялась цДНК после операции, и только у 1 пациента было зарегистрировано прогрессирование болезни [19].

В 2017 г. были представлены результаты проспективного многоцентрового исследования по изучению прогностической роли цДНК у больных местно-распространенным РТК, которым проводилась предоперационная химиолучевая терапия (ХЛТ). Всего в исследование было включено 159 пациентов со стадией Т3–4 или N⁺, забор крови на цДНК проводился перед началом ХЛТ, перед операцией и через 4–10 нед после операции. Адъювантная терапия была назначена

102 (64,1 %) пациентам. У 122 (77 %) больных цДНК выявлялась до начала предоперационного лечения, после операции – только у 19 (11,9 %), и у 11 (58 %) из них в дальнейшем развилось прогрессирование болезни при медиане наблюдения 22 мес. В группе пациентов с отрицательным результатом теста на цДНК после операции прогрессирование болезни развилось только у 12 (8,6 %) из 140 (ОР 12, $p < 0,001$). Авторы исследования заметили, что, несмотря на проведение адъювантной химиотерапии, положительные значения цДНК после операции демонстрируют значимый предиктивный эффект в отношении развития прогрессирования болезни (ОР 10, $p < 0,001$ – в группе адъювантной химиотерапии и ОР 16, $p < 0,001$ – в группе наблюдения). Аналогичные предикторные свойства цДНК отмечены и в группе полного патоморфологического эффекта (ОР 14, $p = 0,014$) и среди пациентов с N⁺ (ОР 11, $p < 0,001$) [20]. На ASCO-2018 L. Yang и соавт. лишь частично подтвердили результаты предыдущего исследования. Авторы из Китая также оценили прогностическую роль цДНК при раке прямой кишки, у пациентов, которым проводилась предоперационная ХЛТ. Оказалось, что уровень цДНК перед началом ХЛТ не помогает предсказать ответ на предоперационный этап лечения, однако определение цДНК в плазме крови после 2-го этапа – хирургического лечения – помогало значимо предсказать высокий риск прогрессирования болезни [21].

Высокий потенциал цДНК по выявлению резидуальной болезни отмечен и в популяции больных метастатическим РТК после резекций печени. Выделение цДНК в плазме крови 54 больных с помощью метода секвенирования следующего поколения панели из 30 генов до и после операции по удалению метастазов в печени показало положительные результаты у 80 % пациентов до операции и у 44 % – после нее. В последнем случае медиана доли мутантных аллелей генов от всей цДНК составила 0,16 % (от 0,01 до 20 %). При минимальном сроке наблюдения 12 мес чувствительность теста по выявлению резидуальной болезни по цДНК составила 58 % (95 % ДИ 41–74), а специфичность – 100 % (95 % ДИ 66–100). Среди 43 пациентов после радикальной (R0) операции положительный тест по цДНК в послеоперационном периоде значимо коррелировал с безрецидивной выживаемостью (ОР 3,1; 95 % ДИ 1,7–9,1; $p = 0,002$): двухлетняя безрецидивная выживаемость составила 0 % в группе цДНК⁺ и 47 % в группе цДНК⁻ [22]. Аналогично группа авторов из Австралии в 2016 г. представила результаты по ухудшению безрецидивной выживаемости при выявлении цДНК после удаления метастазов в печени (ОР 13; 95 % ДИ 19–325; $p < 0,001$). При этом цДНК обнаруживалась на 3 мес раньше выявления радиологического прогрессирования [23].

Другой подход к детекции цДНК после хирургического лечения – не по мутациям, а по меткам

метиляции генов *BCAT1* или *IKZF1* – был проспективно изучен D. Murray и соавт. Авторы определяли цДНК по данным маркерам у 172 больных РТК в течение 12 мес с момента радикального лечения. При медиане наблюдения 37,1 мес у 23 (13,4 %) пациентов выявлено прогрессирование заболевания, а 10 (5,8 %) человек погибли от РТК. У 16 % больных выявлялась цДНК после операции. Наличие по данному фактору резидуальной опухоли оказалось независимым прогностическим признаком в отношении выживаемости без прогрессирования (ОР 3,8; 95 % ДИ 1,5–9,5; $p = 0,004$), т.е. риск прогрессирования при положительном тесте на цДНК был в 3,8 раза выше, чем при отрицательном [24].

В систематическом обзоре исследований, посвященных изучению прогностической роли цДНК при РТК, включившем данные 2541 пациента из 22 исследований [25], было показано следующее. Во-первых, в качестве генов, в которых определялись мутации в цДНК, в 6 работах фигурировал только ген *KRAS*, чаще встречались комбинации генов – *RAS*, *BRAF*, *TP53* и *APC*. В качестве эпигенетических маркеров цДНК превалировали исследования с метилированием генов *HLTF* и *HPP1*. Другие панели включали *HPP1*, *HLTF* и *hMLH1* – в исследовании M. Wallner и соавт.; *APC*, *hMLH1* и *HLTF* – в исследовании W.K. Leung и соавт.; *TAC1*, *SEPT9* и *NELL1* – в работе С. Tham и соавт.; *AGBL4*, *FL11* и *TWIST1* – в работе P.C. Lin и соавт., *SST* – в исследовании Y. Liu и соавт., *APC* и *RASSF1A* – в работе D. Matthaios и соавт. [26–31]. Во-вторых, в 10 исследованиях в качестве источника цДНК изучалась плазма крови, в 7 – сыворотка, в 5 исследованиях об источнике не сообщалось. Преобладающим методом детекции мутаций являлась полимеразная цепная реакция, изучения метилирования – methylation-specific полимеразная цепная реакция и MethyLight. Авторы обзорной статьи также отметили, что в работе В.М. Руан и соавт. по результатам многофакторного анализа наличие мутаций в гене *KRAS* в плазме крови в послеоперационном периоде обладало большей прогностической силой в отношении безрецидивной выживаемости, чем стадия заболевания [32]. С другой стороны, если выделять цДНК только по мутации в гене *KRAS*, взяв кровь на 3-и сутки после операции по поводу I–III стадий болезни, не всегда получается выявить корреляцию данного параметра с риском прогрессирования заболевания, как это отмечено в исследовании U. Lindfors и соавт. [33]. Это может быть связано как с коротким временным интервалом между заборами крови для анализа цДНК (всего 3 дня), так и с ограничением панели генов только мутациями *KRAS*. Увеличение диагностической панели до 3 генов (*APC*, *KRAS*, *TP53*) позволило подтвердить значимость корреляции ($p < 0,001$) положительного значения теста на цДНК и развития прогрессирования после хирургического лечения

пациентов с I–III стадиями [34]. Группа исследователей под руководством J. Tie, о работе которых уже было написано выше, попыталась ограничить панель для детекции цДНК также 3 генами – *APC*, *KRAS*, *TP53*. Им удалось подтвердить при II стадии болезни значимую зависимость безрецидивной выживаемости и наличия цДНК в плазме крови ($p < 0,01$) даже на ограниченной диагностической панели. При этом по результатам многофакторного анализа наличие цДНК обладало значимым отрицательным прогностическим влиянием независимо от значения параметра T, числа удаленных лимфатических узлов, стадии, наличия лимфоваскулярной инвазии [35].

Применение тест-систем, основанных на определении метилирования генов, в качестве средства детекции цДНК по результатам метаанализа также подтвердило корреляцию безрецидивной выживаемости и наличия цДНК при РТК I–III стадий, а также независимое влияние цДНК на выживаемость по данным многофакторного анализа, если изучается метилирование как минимум 2 генов [26, 36], но не одного гена *SEPT9* [37]. Исключением могут являться работы Y. Liu и соавт., P.C. Lin и соавт. В 1-й работе при применении тест-системы по детекции цДНК, основываясь на результатах метилирования 6 генов, только метилирование гена *SST* в плазме крови после хирургического лечения обладало независимым влиянием на прогноз во всей группе больных. Однако после разделения пациентов на подгруппы в зависимости от стадии заболевания (II и III) влияние данного фактора на прогноз было потеряно [30]. Во 2-й работе также не удалось подтвердить прогностическое значение цДНК, когда ее выделяли, основываясь лишь на метилировании генов *AGBL4*, *FL11* и *TWIST1* [29].

Таким образом, исследования опухолевой цДНК показывают обнадеживающие результаты применения последней в качестве маркера резидуальной опухоли при РТК. Наилучшие результаты в данной группе больных демонстрируют методы детекции цДНК, основанные на изучении мутационного статуса генов, а не на выявлении эпигенетических нарушений (метиляции).

В 2018 г. ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России совместно с ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН» при координации ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» в рамках экспериментального государственного задания Минздрава России инициировали научно-исследовательскую работу «Разработка тест-системы для диагностики и мониторинга эффективности проводимого лечения злокачественных новообразований различной локализации на основе анализа циркулирующей в крови пациентов опухолевой ДНК». В основе тест-системы

лежит принцип выделения цДНК, основанный на идентификации наиболее частых соматических мутаций, специфичных для той или иной нозологии. В задачи по валидации тест-системы входит определение не только конкордантности мутационного статуса опухолевого материала цДНК в плазме крови, но и прогностического значения применения тест-системы при различных стадиях болезни. В рамках данной работы одна из подгрупп пациентов включает больных РТК.

Статистическая гипотеза проекта состоит из 2 этапов:

- 1) с целью улучшения конкордантности с 80 до 93 % при $\alpha = 0,01$ и мощности исследования 90 % необходимо сравнить первичную опухоль и цДНК как минимум у 90 больных с одной нозологией. Учитывая необходимость изучения данной тест-системы у пациентов 8 нозологий, общее число больных должно составить 720;
- 2) с целью подтверждения прогностического влияния наличия в крови цДНК на выживаемость без прогрессирования для подсчета статистической гипотезы необходимо принять во внимание тот факт, что число больных, положительных по цДНК, составит 10 % от всей популяции; для получения различий в показателях однолетней выживаемости без прогрессирования с 60 до 90 % при длительности исследования 2 года, $\alpha = 0,01$, мощности исследования 90 % и потере данных 10 % пациентов необходимо включение в исследование 265 больных с одной нозологией. Учитывая интерес в отношении 8 нозологий, общее число пациентов для данной работы составит 2120.

Для подтверждения конкордантности мутационного статуса опухоли и цДНК в программу включали пациентов с любой стадией заболевания, которым не проводилось специфического противоопухолевого лечения и чей гистологический материал был доступен для мутационного анализа, для изучения прогностического значения цДНК – пациентов с любой стадией заболевания, которым выполнено хирургическое удаление всех проявлений болезни.

На момент написания статьи (июнь 2018 г.) материал по группе больных РТК собран у 310 пациентов с различными стадиями заболевания (I–III стадии – 210 пациентов, IV стадия – 100, из них 55 – после метастазэктомии в печени). Таким образом, в анализ по определению прогностического значения цДНК войдет 265 пациентов с I–III стадиями и после метастазэктомии. Результаты работы ожидаются в конце 2019 г. При подтверждении прогностических способностей и регистрации данной тест-системы онкологи получат удобный инструмент выделения подгруппы пациентов, которым не требуется или, наоборот, обязательно проведение адьювантной химиотерапии. Определение чувствительности тест-системы при различных стадиях РТК позволит оценить потенциальные скрининговые возможности данного подхода.

В заключение хочется сказать, что развитие молекулярной генетики позволило значимо улучшить результаты лечения пациентов со злокачественными опухолями. И радует то, что в РФ увеличивается число генетических лабораторий, которые работают с онкологами не только при выполнении стандартных тестов на определение различных молекулярно-генетических биомаркеров, но и при проведении клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. 250 с. [Malignant tumors in Russia in 2016 (morbidity and mortality). Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow: MNIIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU "NMITS radiologii" Minzdrava Rossii, 2018. 250 p. (In Russ.)].
2. Gunderson L.L., Jessup J.M., Sargent D.J. et al. Revised TN categorization for colon cancer based on national survival outcomes data. *J Clin Oncol* 2010;28(2):264–71. PMID: 19949014. DOI: 10.1200/JCO.2009.24.0952.
3. Adam R., Aloia T., Figueras J. et al. Liver-MetSurvey: analysis of clinicopathologic factors associated with the efficacy of preoperative chemotherapy in 2,122 patients with colorectal liver metastases. *J Clin Oncol* 2006;24(18 Suppl):3521.
4. Siravegna G., Mussolin B., Buscarino M. et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nat Med* 2015;21(7):827. PMID: 26151329. DOI: 10.1038/nm0715-827b.
5. Hamzehzadeh L., Yousefi M., Ghafari S.H. Colorectal cancer screening: a comprehensive review to recent non-invasive methods. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2017;11(3):250–61. PMID: 28989593.
6. Dickinson B.T., Kissiel J., Ahlquist D.A., Grady W.M. Molecular markers for colorectal cancer screening. *Gut* 2015;64(9):1485–94. PMID: 25994221. DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308075.
7. Spindler K.L.G., Appelt A.L., Pallisaard N. et al. Cell-free DNA levels in colorectal cancer patients treated with irinotecan, healthy controls, and non-cancer patients with comorbidity. *J Clin Oncol* 2014; 32(5 Suppl):3559.
8. Pucciarelli S., Enzo M., Agostini M. et al. Cell-free circulating DNA as a promising marker of colorectal cancer detection and progression. *J Clin Oncol* 2009; 27(15 Suppl):11059.
9. Tie J., Kinde I., Wang Y. et al. Circulating tumor DNA (ctDNA) as a marker of recurrence risk in stage II colon cancer (CC). *J Clin Oncol* 2014;32(5 Suppl):11015.
10. Diehl F., Li M., Dressman D. et al. Detection and quantification of mutations in the plasma of patients with colorectal tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:16368–73. PMID: 16258065. DOI: 10.1073/pnas.0507904102.

11. Danese E., Montagnana M., Minicozzi A.M. et al. Real-time polymerase chain reaction quantification of free DNA in serum of patients with polyps and colorectal cancers. *Clin Chem Lab Med* 2010;48(11):1665–8. PMID: 20704532. DOI: 10.1515/CCLM.2010.301.
12. Frattini M., Gallino G., Signoroni S. et al. Quantitative and qualitative characterization of plasma DNA identifies primary and recurrent colorectal cancer. *Cancer Lett* 2008;263:170–81. PMID: 18395974. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.03.021.
13. Kopreski M.S., Benko F.A., Borys D.J. et al. Somatic mutation screening: identification of individuals harboring K-ras mutations with the use of plasma DNA. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(11):918–23. PMID: 10841827
14. Diehl F., Schmidt K., Choti M.A. et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* 2008;14(9):985–90.
15. Huang T., Xia L., Xu M. et al. Dynamic monitoring of driver gene mutation profiles in plasma cfDNA using an 85 gene panel for postoperative prognosis in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2018;36(Suppl):e15536.
16. Tie J., Wang Y., Kinde I. et al. Circulating tumor DNA (ctDNA) in nonmetastatic colorectal cancer (CRC): potential role as a screening tool. *J Clin Oncol* 2015; 33(3 Suppl):518.
17. Tie J., Cohen J., Wang Y. et al. Serial circulating tumor DNA (ctDNA) analysis as a prognostic marker and a real-time indicator of adjuvant chemotherapy (CT) efficacy in stage III colon cancer (CC). *J Clin Oncol* 2018;36(Suppl):3516.
18. Diehn M., Alizadeh A.A., Adams H.-P. et al. Early prediction of clinical outcomes in resected stage II and III colorectal cancer (CRC) through deep sequencing of circulating tumor DNA (ctDNA). *J Clin Oncol* 2017;35(15 Suppl):3591.
19. Li L., Zhou W., Li C. et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor disease status in colorectal cancer after surgery. *J Clin Oncol* 2018;36(Suppl):e15583.
20. Tie J., Cohen J., Wang Y. et al. The potential of circulating tumor DNA (ctDNA) to guide adjuvant chemotherapy decision making in locally advanced rectal cancer (LARC). *J Clin Oncol* 2017;35(Suppl):3521.
21. Yang L., Wang Y., Shen L. et al. Predicting treatment outcome of rectal cancer patients underwent neoadjuvant chemoradiotherapy by ctDNA: the potential use of ctDNA monitoring as organ-sparing approach. *J Clin Oncol* 2018;36(Suppl): 3608.
22. Overman M.J., Vauthey J.-N., Aloia T.A. et al. Circulating tumor DNA (ctDNA) utilizing a high-sensitivity panel to detect minimal residual disease post liver hepatectomy and predict disease recurrence. *J Clin Oncol* 2017;35(Suppl):3522.
23. Tie J., Wang Y., Springer S. et al. Serial circulating tumor DNA (ctDNA) and recurrence risk in patients (pts) with resectable colorectal liver metastasis (CLM). *J Clin Oncol* 2016;34(Suppl):e15131.
24. Murray D., Young G.P., Pedersen S.K. et al. A prospective cohort study in colorectal cancer assessing the relationship between post-surgery detection of methylated BCAT1 or IKZF1 ctDNA and risk for residual disease and survival. *J Clin Oncol* 2018;36(Suppl):3596.
25. Fan G., Zhang K., Yang X. et al. Prognostic value of circulating tumor DNA in patients with colon cancer: Systematic review. *PLoS One* 2017;12(2):e0171991. PMID: 28187169. DOI: 10.1371/journal.pone.0171991.
26. Tham C., Chew M., Soong R. et al. Post-operative serum methylation levels of TAC1 and SEPT9 are independent predictors of recurrence and survival of patients with colorectal cancer. *Cancer* 2014;120(20):3131–41. PMID: 24925595. DOI: 10.1002/cncr.28802.
27. Leung W.K., To K.F., Man E.P.S. et al. Quantitative detection of promoter hypermethylation in multiple genes in the serum of patients with colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 2005;100(10):2274–9. PMID: 16181380. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.50412.x.
28. Wallner M., Herbst A., Behrens A. et al. Methylation of serum DNA is an independent prognostic marker in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12(24): 7347–52. PMID: 17189406. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1264.
29. Lin P.-C., Lin J.-K., Lin C.-H. et al. Clinical relevance of plasma DNA methylation in colorectal cancer patients identified by using a genome-wide high-resolution array. *Ann Surg Oncol* 2015; 3(Suppl):1419–27.
30. Liu Y., Chew M.H., Tham C.K. Methylation of serum SST gene is an independent prognostic marker in colorectal cancer. *Am J Cancer Res* 2016;6(9):2098–108. PMID: 27725914.
31. Matthaios D., Balgouranidou I., Karayiannakis A. et al. Methylation status of the APC and RASSF1 a promoter in cell-free circulating DNA and its prognostic role in patients with colorectal cancer. *Oncol Lett* 2016;12(1):748–56. PMID: 27347211. DOI: 10.3892/ol.2016.4649.
32. Ryan B.M., Lefort F., McManus R. et al. A prospective study of circulating mutant KRAS2 in the serum of patients with colorectal neoplasia: strong prognostic indicator in postoperative follow up. *Mol Pathol* 2003;56(3):172–9.
33. Lindfors U., Zetterquist H., Papadogiannakis N., Olivecrona H. Persistence of KRAS mutations in plasma after colorectal tumor resection. *Anticancer Res* 2005;25:657–61.
34. Wang J.-Y., Hsieh J.-S., Chang M.-Y. et al. Molecular detection of APC, KRAS, and p53 mutations in the serum of colorectal cancer patients as circulating biomarkers. *World J Surg* 2004;28(7):721–6. PMID: 15185002. DOI: 10.1007/s00268-004-7366-8.
35. Tie J., Wang Y., Tomasetti C. et al. Circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer. *Sci Transl Med* 2016;8(346):346ra92. PMID: 27384348. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaf6219.
36. Herbst A., Wallner M., Rahmig K. et al. Methylation of helicase-like transcription factor in serum of patients with colorectal cancer is an independent predictor of disease recurrence. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009;21(5):565–9. PMID: 19282772. DOI: 10.1097/MEG.0b013e328318ecf2.
37. Lee H.S., Hwang S.M., Kim T.S. et al. Circulating methylated septin 9 nucleic acid in the plasma of patients with gastrointestinal cancer in the stomach and colon. *Transl Oncol* 2013;6(3):290–6. PMID: 23730408.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

ORCID авторов/ORCID of authors

М.Ю. Федянин/M. Yu. Fedyanin: <https://orcid.org/0000-0001-5615-7806>

С.А. Тюляндин/S.A. Tjulandin: <https://orcid.org/0000-0001-9807-2229>

Статья поступила: 31.08.2018. **Принята к публикации:** 03.10.2018.

Article received: 31.08.2018. **Accepted for publication:** 03.10.2018.