

<https://doi.org/10.35401/2500-0268-2021-23-3-57-63>

© **Е.А. Пасечникова<sup>1\*</sup>, В.Н. Бодня<sup>1,2</sup>, С.В. Шаров<sup>3</sup>,  
Д.В. Кадомцев<sup>3</sup>, А.Ю. Георгиева<sup>1</sup>, А.И. Стукань<sup>3</sup>**



## ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

<sup>1</sup> Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского, Краснодар, Россия

<sup>3</sup> Клинический онкологический диспансер № 1, Краснодар, Россия

✉ \* Е.А. Пасечникова, Кубанский государственный медицинский университет, 350063, Краснодар, ул. Седина, 4, pasechnikovali@rambler.ru

Поступила в редакцию 16 февраля 2021 г. Исправлена 30 мая 2021 г. Принята к печати 16 августа 2021 г.

|                        |  |
|------------------------|--|
| <b>Актуальность</b>    | Жидкостная биопсия (ЖБ) является перспективным методом диагностики злокачественных новообразований. Она позволяет определить уровень свободно циркулирующих опухолевых клеток – микрометастазов, опухолевой ДНК, микроРНК и экзосом в плазме крови, а также выявить различные генетические изменения. В рамках данной работы проведен литературный обзор актуальных научных публикаций, посвященных методике жидкостной биопсии, индексированных в PubMed.   |
| <b>Цель</b>            | Оценка эффективности и особенностей проведения данной методики, в сравнении со стандартными методами морфологической верификации онкологических заболеваний, а также целесообразность ее применения в клинической практике.<br>По сравнению с тканевой биопсией, ЖБ имеет следующие преимущества: простоту и скорость исследования, легкую повторяемость и малоинвазивность, возможность динамического мониторинга прогрессирования – общей клональной трансформации опухоли, а также появления резистентности к лечению.<br>К недостаткам данного метода относят низкую чувствительность, сложность правильной интерпретации биомаркеров и определения их специфичности, высокий риск ложноположительных и ложноотрицательных результатов из-за присутствия dormantных опухолевых клеток. |
| <b>Заключение</b>      | На данный момент в рамках клинической практики анализ с применением метода жидкостной биопсии нуждается в стандартизации и непрерывной апробации.  |
| <b>Ключевые слова:</b> | жидкостная биопсия, диагностика, биомаркер, микрометастазы   |
| <b>Цитировать:</b>     | Пасечникова Е.А., Бодня В.Н., Шаров С.В., Кадомцев Д.В., Георгиева А.Ю., Стукань А.И. Жидкостная биопсия: современное состояние проблемы. <i>Инновационная медицина Кубани</i> . 2021;(3):57–63. <a href="https://doi.org/10.35401/2500-0268-2021-23-3-57-63">https://doi.org/10.35401/2500-0268-2021-23-3-57-63</a>   |

© **Elizaveta A. Pasechnikova<sup>1\*</sup>, Vadim N. Bodnya<sup>1,2</sup>, Sergey V. Sharov<sup>3</sup>,  
Dmitry V. Kadomtsev<sup>3</sup>, Anastasiya Y. Georgieva<sup>1</sup>, Anastasiya I. Stukan<sup>3</sup>**

## LIQUID BIOPSY: THE CURRENT STATE OF THE ISSUE

<sup>1</sup> Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

<sup>2</sup> Research Institute – Ochapovsky Regional Hospital no. 1, Krasnodar, Russian Federation

<sup>3</sup> Clinical Oncology Dispensary no. 1, Krasnodar, Russian Federation

✉ \* E.A. Pasechnikova, Kuban State Medical University, 4, M. Sedina str, Krasnodar, 350063, pasechnikovali@rambler.ru

Received: February 16, 2021. Received in revised form: May 30, 2021. Accepted: August 16, 2021.

|                   |   |
|-------------------|---|
| <b>Background</b> | Liquid biopsy is a promising method of diagnosing malignant tumors. It allows determining the level of free circulating tumor cells – micrometastases, tumor DNA, microRNA and exosomes in blood plasma, as well as detecting various genetic changes. This work included a literature review of current scientific publications on liquid biopsy techniques indexed in PubMed.   |
| <b>Objective</b>  | The aim of the study was to evaluate the efficacy and peculiarities of this technique in comparison with standard methods of morphological verification of oncological diseases, as well as the feasibility of its use in clinical practice.<br>Compared to tissue biopsy LB has the following advantages: simplicity and speed of examination, easy repeatability and low invasiveness, possibility of dynamic monitoring of tumor progression – general clonal transformation as well as the appearance of resistance to treatment.<br>The disadvantages of this method include low sensitivity, difficulty in proper interpretation of biomarkers and determination of their specificity, high risk of false positive and false negative results due to the presence of dormant tumor cells. |
| <b>Conclusion</b> | Currently, liquid biopsy analysis in clinical practice requires standardization and continuous validation.  |



Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0.

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 License.

**Keywords:**

liquid biopsy, diagnostics, biomarker, micrometastases

**Cite this article as:**

Pasechnikova E.A., Bodnya V.N., Sharov S.V., Kadomtsev D.V., Georgieva A.Y., Stukan A.I. Liquid biopsy: the current state of the issue. *Innovative Medicine of Kuban*. 2021;(3):57–63. <https://doi.org/10.35401/2500-0268-2021-23-3-57-63>

**ВВЕДЕНИЕ**

Своевременная диагностика злокачественных новообразований является предиктором успешного лечения. Согласно клиническим рекомендациям, тканевая биопсия представляет собой общепринятый стандарт определения морфологического типа опухоли [1]. Однако она доступна только при обнаружении первичного опухолевого очага. Другим многообещающим диагностическим методом является жидкостная биопсия (ЖБ), позволяющая определить уровень свободно циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), опухолевой ДНК (цодНК), микроРНК и экзосом в плазме крови, а также выявить различные генетические изменения, например, точечные мутации [2]. Свободные ЦОК, цодНК и микроРНК попадают в кровоток в результате некроза, апоптоза, лизиса опухолевых клеток; экзосомы же выделяются из нормальных и опухолевых клеток и содержат белки, нуклеиновые кислоты и липиды [3].

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Анализ российской и зарубежной литературы за последние 10 лет с целью оценки возможностей и перспектив применения ЖБ в клинической практике.

Циркулирующие в кровотоке единичные или сгруппированные ЦОК представляют собой микрометастазы. Согласно исследованию [4], они являются прогностически неблагоприятным фактором для больного. У пациентов с метастатической формой болезни определяется до 10 клеток/мл [5].

ЖБ является легкоповторимым и минимально инвазивным методом, что позволяет использовать ее для выявления ранних метастазов, характеристики фенотипа опухоли и определения минимального остаточного заболевания [6]. Кроме того, данный вид биопсии может применяться в динамическом мониторинге прогрессирования опухоли, а также для определения резистентности к лечению. К биомаркерам, выявляемым методом ЖБ, относят:

- Рецептор эстрогена *ESR1*, онкоген *HER2* и *PDL1* при раке молочной железы [7];
- 8 вариант сплайсинга 7-го гена *AR* и рецепторы андрогена *AR* при раке предстательной железы [8];
- Мутации *EGFR* в цДНК при раке легких [9];
- Мутации *KRAS* в ЦОК при колоректальном раке [10];
- Мутации *ESR* и *PIK3CA* в ДНК и ЦОК при раке молочной железы [11];

- Амплификации и мутации *AR* в ЦОК и цДНК при раке простаты [12];

- Мутации *BRAF* в ЦОК и ДНК при меланоме [13].

К самым главным достоинствам ЖБ относят легкость и безопасность получения материала. Так, Yu. Sakuma и соавт. (2019) в своей статье раскрывают потенциал данного метода биопсии и описывают его преимущества, которые в сравнении с рутинной тканевой биопсией, заключаются в простоте, скорости проведения и чувствительности [14].

Другим неоспоримым преимуществом ЖБ, по мнению Т. Seremet и соавт. (2019), является возможность мониторинга заболевания и коррекция проводимой терапии, благодаря быстрому повтору процедуры. Так, в данном исследовании были отобраны образцы 85 человек. После наблюдения в течение 84 недель проанализировано 457 образцов плазмы от 85 пациентов, получавших терапию анти-PD1 для количественной оценки ДНК мутаций *BRAFV600* и *NRASQ61/G12/G13*. У пациентов без цодНК была отмечена более высокая безрецидивная (отношение рисков (HR) = 0,47, медиана – 26 недель против 9 недель,  $p = 0,01$ ) и общая выживаемость (HR = 0,37, медиана не достигнута, по сравнению с 21,3 неделями,  $p = 0,005$ ), чем у больных с цодНК. Уровень цодНК > 1 ед/мл до начала лечения коррелировал с плохим клиническим исходом и в полной мере отражал опухолевую нагрузку [15].

При невозможности проведения повторной тканевой биопсии ЖБ является единственным методом диагностики. Так, в исследовании L. Dal Maso, M. Lorenzi и соавт., благодаря использованию данного метода с целью мониторинга опухолевого процесса была проведена оценка корреляции наличия *T790M* мутации и первичного ответа на терапию при немелкоклеточном раке легких у 235 пациентов. Клиническая валидность мутаций *EGFR*, полученных при ЖБ, не уступает таковой при тканевой [16].

Методика ЖБ перспективна, так как представляет собой малоинвазивную возможность определения иммуногистохимического статуса опухоли, необходимо для клинического применения таргетной терапии. Это обеспечивает быструю и динамическую оценку механизмов возникающей резистентности, которые могут использоваться для принятия решений о лечении. Например, технологии обнаружения *EGFR* сенсибилизации в периферической крови у пациентов с

немелкоклеточным раком легкого показывают высокие результаты, что свидетельствует о необходимости их внедрения в клиническую практику. Однако, согласно мнению С. Rolfo, нельзя забывать о возможности ложноотрицательных результатов, так как даже самые чувствительные платформы для определения опухолевой ДНК при поздних стадиях немелкоклеточного рака легкого достигают чувствительности, равной приблизительно 85% [17]. Следовательно, отрицательный результат определения цоДНК следует считать неинформативным. Как правило, он должен сопровождаться тканевой биопсией опухоли. При невозможности ее получения клиническая польза от сочетания жидкой и тканевой биопсий является значительной для обнаружения мутации *T790M* [17]. Таким образом, ЖБ позволяет определить появление резистентности к ингибиторам тирозинкиназы, что служит крайне важным клиническим достижением в лечении пациентов с немелкоклеточным раком легкого [18].

В исследовании М. Tamminga проводилась оценка корреляции и показаний уровня ЦОК в плазме крови у больных немелкоклеточным раком легкого, которые принимали ингибиторы тирозинкиназы, в определении развития резистентности к проводимой терапии [19]. В анализ были включены 86 пациентов, которым назначали ингибиторы тирозинкиназы (у 34 человек присутствовали циркулирующие опухолевые клетки, их уровень был определен методом Cell Search). У пациентов с ЦОК показатели ответа на проводимую терапию были ниже (ОШ = 0,22,  $p < 0,01$ , с учетом оценки эффективности и статуса курения). В период лечения значимого уменьшения уровня циркулирующих опухолевых клеток у больных не наблюдалось ( $p = 0,42$  для *PFS* и  $p = 0,83$  для *OS*). Таким образом, определение ЦОК в плазме крови служило плохим прогностическим фактором у пациентов с немелкоклеточным раком легкого [19]. Однако F. Diehl утверждает, что ЖБ является эффективным методом мониторинга. Падение титра циркулирующей опухолевой ДНК свидетельствует об эффективности проводимой терапии и положительной динамике лечебного процесса [20].

Способность цоДНК точно отражать опухолевую нагрузку позволяет использовать ЖБ для отслеживания реакции на лечение пациентов с метастатической меланомой. Исследования показывают, что уровень цоДНК коррелирует с уменьшением опухолевой нагрузки в ответ на проводимую терапию. S.C. Tsao и соавт. продемонстрировали, что снижение уровня циркулирующей опухолевой ДНК точно отражает статус заболевания, а также реакцию на иммунотерапию [21]. И наоборот, его повышение во время лечения является точным показателем прогрессирования болезни [22].

E.S. Gray и соавт. утверждают, что рост цоДНК может предшествовать рентгенологическому свидетельству развития заболевания и приобретенной резистентности к терапии [23]. Недавнее исследование Т. Nonaka и D.T. Wong показало, что в качестве дополнительного способа функциональной визуализации для мониторинга опухолевой нагрузки в режиме реального времени выступает количественная оценка цоДНК [24].

Вышеуказанные работы позволяют отметить такие важные практические свойства ЖБ, как легковоспроизводимость, малоинвазивность и возможность определения резистентности к проводимому лекарственному лечению у пациентов с онкологическими заболеваниями. Последнее обеспечивает индивидуальный подход к реализации медикаментозной терапии.

Кроме того, метод ЖБ позволяет адекватно оценить эффективность элиминации опухоли, а, следовательно, и радикальность операции путем определения уровня мутированной ДНК в кровотоке. В исследовании Р. Pisapia и соавт. ЖБ проводилась пациентам с аденокарциномой и мелкоклеточным раком легкого ранних стадий до и после операции. Отсутствие ЦОК в кровотоке коррелировало с благоприятными клиническими прогнозами [25].

По мнению J. Vidal и соавт., ЖБ позволяет оценить гетерогенность опухолевых очагов, что является крайне важным аспектом для определения наилучшего клинического и терапевтического подхода к лечению пациентов со злокачественными новообразованиями. Точная характеристика геномного строения является обязательной, так как опухолевые клетки постоянно приспосабливаются к внешнему воздействию – системному лечению путем увеличения числа резистентных клеток и появлению гетерогенных перекрывающихся устойчивых изменений генома. ЖБ позволяет оценить гетерогенность опухоли и клональную динамику опухолевых клеток [26].

Считается, что секвенирование образца опухолевой ДНК, полученного путем рутинной тканевой биопсии, является ключом к определению клональной эволюции опухолевых клеток. В наши дни становится очевидным, что ЖБ с определением цоДНК в плазме может дать более полное представление об общей клональной трансформации опухоли, чем локальный опухолевый очаг [27]. В исследовании М. Gerlinger демонстрируется не только геномная вариабельность нескольких метастатических очагов опухоли, но и геномные различия в одном и том же опухолевом узле [28]. Разовая тканевая биопсия не может дать общее представление о разнообразии геномного ландшафта злокачественного новообразования, в то время как ЖБ позволяет обнаруживать гетерогенные геномные

изменения, присутствующие в отдельных субклонах опухоли или различных опухолевых очагах путем определения цоДНК, которая выделяется всеми раковыми клетками [29]. Метод жидкой биопсии раскрывает информацию о совокупном геномном статусе опухоли и ее воздействии на организм, а не о выборке конкретного участка опухолевого очага, как это делает рутинная тканевая биопсия [30].

К достоинствам ЖБ также можно отнести сохранность ДНК, которая не обрабатывается формалином, как ткани при стандартной биопсии, что, по мнению L. Venot и соавт., может вызвать лизис клеток [31].

Несмотря на все вышеописанные преимущества ЖБ, нельзя не упомянуть о ее недостатках. К существенным минусам данного метода относится низкая чувствительность, в сравнении с тканевой биопсией. В исследовании M. Reck и соавт. было проведено проспективное генотипирование активирующих мутаций *EGFR* (1162 пациента, 56 центров). Средняя чувствительность при жидкой биопсии составляла 46% (вариабельность 15,8–68,4%), при тканевой – более 90% [32]. Согласно исследованию R. Esposito Abate, чувствительность выявления *EGFR* при ЖБ была 69% – трансмембранный рецептор выявлен у 20 из 29 пациентов [33].

В контексте обсуждения ряда слабых сторон ЖБ необходимо выделить, что информативность данного метода прямо пропорциональна размеру опухолевого очага и при некоторых нозологических формах, например меланоме, не доказывает свою эффективность [34].

В своем исследовании Tara C. Gangadhar оценивала корреляцию концентрации ДНК, выделенной из образцов плазмы 25 пациентов, имеющих меланому, с объемом солидных опухолей. Диапазон измерений варьировал от 0,6 до 390,0 нг/мл (медиана = 7,8 нг/мл). Объем солидных злокачественных новообразований был оценен с помощью ретроспективного обзора снимков КТ или ПЭТ. По шкале RECIST 1.1 была рассчитана опухолевая нагрузка, которая составляла от 0,6 до 48,5 см. Количество злокачественных новообразований у пациентов варьировало от 1 до 12, размер некоторых из них был от 1,0 до 18,1 см. С помощью шкалы Спирмена измерено соотношение между опухолевой нагрузкой и концентрацией цоДНК (Spearman rho = 0,5435, p = 0,0363), что предполагает прямую корреляцию между ЖБ и опухолевой нагрузкой [35].

Другими существенными недостатками жидкой биопсии являются сложность правильной интерпретации биомаркеров и определение их специфичности для соответствующей онкологической патологии. По мнению С. Mannelli и соавт., ЖБ – многообещающая экспериментальная система, еще не внедренная в клиническую практику, и в сравнении с тканевой би-

опсией, она приносит менее надежные результаты. Возможны как ложноположительные случаи, связанные с низкой аллельностью (аллельность менее 2% считается артефактом, результат не учитывается), так и ложнонегативные, возникающие при сложных нарушениях генотипа, взятии пробы на фоне химиотерапии или после нее, появлении новых aberrаций, связанных с другой онкологической патологией. Ложнонегативные результаты обусловлены тем, что в условиях большого количества разрушенных нормальных клеток определяется огромное число нормальной ДНК, среди избыточной массы которой невозможно выявить мутацию. В таких сложных случаях единственным решением остается тканевая биопсия [36].

Еще одним значимым недостатком ЖБ, по мнению J.D. Merker и соавт., является тот факт, что уровень концентрации мутантной ДНК в плазме гораздо меньше, чем в ткани [37]. Так, в исследовании AURA была проведена оценка образцов опухоли и плазмы 216 пациентов. В ходе анализа обнаружено, что аллельность в плазме была гораздо ниже, что значительно затрудняет диагностику. Мутантную ДНК можно выявить при гематогежном метастазировании или наличии микрометастазов, следовательно, данный метод нецелесообразен для выявления опухоли у пациентов с ранними стадиями рака [38].

ЖБ позволяет находить фрагменты мутантной цоДНК, но не все мутации, определяемые данным методом, эквивалентны раковым клеткам, поэтому велик риск получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Самые частые повреждения, затрудняющие возможность диагностики методом ЖБ, – двухцепочечные разрывы ДНК, приводящие к делециям, транслокациям и соматическим мутациям. Таким образом, при текущем состоянии проблемы ЖБ не должна быть единственным методом диагностики в клинической практике [39].

Главным ограничением данной методики является неспособность цоДНК использоваться в качестве биомаркера для отслеживания эволюции опухолей, которые метастазируют в мозг. Считается, что гематоэнцефалический барьер влияет на высвобождение цоДНК в системный кровоток, поэтому их определение в спинномозговой жидкости служит значимым направлением развития ЖБ, и, возможно, диагностическим критерием для оценки метастазирования опухолей в головной мозг и динамики опухолевого роста [40]. Кроме того, ЖБ не может быть универсальным методом диагностики, потому что в костном мозге пациентов есть вероятность присутствия dormantных опухолевых клеток. Их невозможно определить с помощью данного способа, так как большинство диссеминированных опухолевых клеток находятся в состо-

янии покоя (то есть в непролиферативной стадии) и не экспрессируют *HER2* и цоДНК [41]. Тем не менее дормантные клетки несут угрозу рецидива, что после многих лет ремиссии остается серьезной медицинской проблемой, поэтому необходимо вырабатывать новые более чувствительные и специфичные методы ЖБ, способные распознать диссеминированные опухолевые клетки [42].

В обобщение результатов данного обзора литературы, необходимо отметить преимущества методики ЖБ, в сравнении с рутинной тканевой биопсией: легкость повторного исследования, минимальная инвазивность, возможность мониторинга заболевания и коррекции проводимой терапии (определение резистентности к ингибиторам тирозинкиназы, обнаружение *EGFR* сенсibilизации), определение ответа на проводимое лечение (изменение уровня ЦОК при иммунотерапии и таргетной терапии), оценка эффективности элиминации опухоли и гетерогенности опухолевых очагов, сохранность ДНК при ЖБ. Недостатками данной методики являются: низкая чувствительность, в сравнении с тканевой биопсией, плохая информативность при малом размере опухолевого очага, сложность правильной интерпретации биомаркеров и определения их специфичности для соответствующей онкологической патологии, ложноотрицательные и ложноположительные результаты исследования, появившиеся из-за присутствия дормантных опухолевых клеток.

На данный момент в рамках клинической практики анализ с применением ЖБ нуждается в стандартизации и непрерывной апробации. Несомненно, демонстрация диагностической значимости решений, принимаемых на основе результатов, полученных с помощью описанного метода в рандомизированных клинических исследованиях, также представляется актуальной. Перспективным направлением для модернизации технологии ЖБ является создание *in vitro* культуры ЦОК и ЦОК-эксплантатов, полученных из образцов плазмы. Модели на основе эксплантатов из циркулирующих опухолевых клеток создаются непосредственно из ЦОК-обогащенных образцов крови больных; они были разработаны для рака молочной железы, мелкоклеточного рака легких и меланомы. Из-за длительного времени культивирования данные модели не могут в точности скопировать исходную опухоль, однако обеспечивают достоверную платформу для выявления новых терапевтических мишеней и тестирования методов лечения [43].

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Савостикова М.В., Соколова В.К., Кудайбергенова А.Г., Фурминская Е.Ю., Федосеева Е.С. Цитоморфологическая диагностика рака молочной железы. *Онкогинекология*. 2015;1:22–33.

Savostikova MV, Sokolova VK, Kudaibergenova AG, Furminskaya EY, Fedoseeva ES. Cytomorphological diagnosis of breast cancer. *Oncogynecology*. 2015;1:22–33. (In Russ.)

2. Захаренко А.А., Зайцев Д.А., Беляев М.А., Трушин А.А., Тен О.А., Натха А.С. Возможности жидкостной биопсии при раке желудка. *Вопросы онкологии*. 2016;62(4):379–385.

Zakharenko AA, Zaitsev DA, Belyaev MA, Trushin AA, Ten OA, Natkha AS. Possibilities of liquid biopsy in gastric cancer. *Questions of oncology*. 2016;62(4):379–385. (In Russ.)

3. Alix-Panabières C, Pantel K. Clinical applications of circulating tumor cells and circulating tumor DNA as liquid biopsy. *Cancer discovery*. 2016;6(5):479–491. PMID: 26969689. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1483>

4. An T, Qin S, Xu Y, Tang Y, et al. Exosomes serve as tumour markers for personalized diagnostics owing to their important role in cancer metastasis. *Journal of extracellular vesicles*. 2015;4:27522. PMID: 26095380. PMID: PMC4475684. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.27522>

5. Elshimali YI, Khaddour H, Sarkissyan M, Wu Y, Vadgama JV. The clinical utilization of circulating cell free DNA (CCFDNA) in blood of cancer patients. *Int J Mol Sci*. 2013;14(9):18925–18958. PMID: 24065096. PMID: PMC3794814. <https://doi.org/10.3390/ijms140918925>

6. Baldacchino S, Grech G. Somatic copy number aberrations in metastatic patients: the promise of liquid biopsies. *Semin Cancer Biol*. 2020;60:302–310. PMID: 31891778. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.12.014>

7. Janni WJ, Rack B, Terstappen LW, Pierga J-Y, et al. Pooled analysis of the prognostic relevance of circulating tumor cells in primary breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2016;22(10):2583–2593. PMID: 26733614. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-1603>

8. Antonarakis ES, Lu C, Wang H, et al. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *N Engl J Med*. 2014;371(11):1028–1038. PMID: 25184630. PMID: PMC4201502. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1315815>

9. Taniguchi K, Uchida J, Nishino K, et al. Quantitative detection of EGFR mutations in circulating tumor DNA derived from lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res*. 2011;17(24):7808–7815. PMID: 21976538. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1712>

10. Siravegna G, Bardelli A. Blood circulating tumor DNA for non-invasive genotyping of colon cancer patients. *Molecular oncology*. 2016;10(3):475–480. PMID: 26774880. PMID: PMC5528968. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2015.12.005>

11. De Mattos-Arruda L, Caldas C. Cell-free circulating tumour DNA as a liquid biopsy in breast cancer. *Molecular oncology*. 2016;10(3):464–474. PMID: 26776681. PMID: PMC5528975. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2015.12.001>

12. Riaz IB, Wang L, Kohli M. Liquid biopsy approach in the management of prostate cancer. *Transl Res*. 2018;201:60–70. PMID: 29936077. PMID: PMC6631037. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2018.05.004>

13. Gaiser MR, von Bubnoff N, Gebhardt C, et al. Liquid biopsy to monitor melanoma patients. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2018;16(4):405–414. PMID: 29512873. <https://doi.org/10.1111/ddg.13461>

14. Sakuma Y, Fujii K, Han J, Takahashi R-U. Recent advances in liquid biopsy based on circulating tumor DNA. *Journal of clinical medicine*. 2019;8(11):1957. PMID: 31766189. PMID: PMC6912642. <https://doi.org/10.3390/jcm8111957>

15. Seremet T, Jansen Y, Planken S, et al. Undetectable circulating tumor DNA (ctDNA) levels correlate with favorable



outcome in metastatic melanoma patients treated with anti-PD1 therapy. *J Transl Med.* 2019;17(1):303. PMID: 31488153. PMCID: PMC6727487. <https://doi.org/10.1186/s12967-019-2051-8>

16. Dal Maso A, Lorenzi M, Roca E, et al. Clinical features and progression pattern of acquired T790M-positive compared with T790M-negative EGFR mutant non-small-cell lung cancer: catching tumor and clinical heterogeneity over time through liquid biopsy. *Clin Lung Cancer.* 2020;21(1):1–14.e3. PMID: 31601525. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2019.07.009>

17. Rolfo C, Mack PC, Scagliotti GV, et al. Liquid biopsy for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): a statement paper from the IASLC. *Journal of thoracic oncology.* 2018;13(9):1248–1268. PMID: 29885479. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.05.030>

18. Thompson JC, Yee SS, Troxel AB, et al. Detection of therapeutically targetable driver and resistance mutations in lung cancer patients by next-generation sequencing of cell-free circulating tumor DNA. *Clin Cancer Res.* 2016;22(23):5772–5782. PMID: 27601595. PMCID: PMC5448134. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1231>

19. Tamminga M, de Wit S, Schuurin E, et al. Circulating tumor cells in lung cancer are prognostic and predictive for worse tumor response in both targeted- and chemotherapy. *Transl Lung Cancer Res.* 2019;8(6):854–861. PMID: 32010564. PMCID: PMC6976367. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2019.11.06>

20. Diehl F, Schmidt K, Choti MA, et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nature medicine.* 2008;14(9):985–990. PMID: 18670422. PMCID: PMC2820391. <https://doi.org/10.1038/nm.1789>

21. Tsao SC, Weiss J, Hudson C, et al. Monitoring response to therapy in melanoma by quantifying circulating tumour DNA with droplet digital PCR for BRAF and NRAS mutations. *Scientific reports.* 2015;5:11198. PMID: 26095797. PMCID: PMC4476039. <https://doi.org/10.1038/srep11198>

22. Girotti MR, Gremel G, Lee R, et al. Application of sequencing, liquid biopsies, and patient-derived xenografts for personalized medicine in melanoma. *Cancer Discov.* 2016;6(3):286–299. PMID: 26715644. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1336>

23. Gray ES, Rizos H, Reid AL, et al. Circulating tumor DNA to monitor treatment response and detect acquired resistance in patients with metastatic melanoma. *Oncotarget.* 2015;6(39):42008–42018. PMID: 26524482. PMCID: 4747205. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5788>

24. Nonaka T, Wong D. Liquid Biopsy in Head and Neck Cancer: Promises and Challenges. *Journal of dental research.* 2018;97(6):701–708. <https://doi.org/10.1177/0022034518762071>

25. Pisapia P, Malapelle U, Troncone G. Liquid biopsy and lung cancer. *Acta cytological.* 2019;63(6):489–496. PMID: 30566947. <https://doi.org/10.1159/000492710>

26. Vidal J, Taus A, Montagut C. Dynamic treatment stratification using ctDNA. *Recent Results Cancer Res.* 2020;215:263–273. PMID: 31605234. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-26439-0\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-030-26439-0_14)

27. Haber DA, Velculescu VE. Blood-based analyses of cancer: circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Cancer discovery.* 2014;4(6):650–661. PMID: 24801577. PMCID: PMC4433544. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-13-1014>

28. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med.* 2012;366(10):883–892. PMID: 22397650. PMCID: PMC4878653. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal113205>

29. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, et al. Cancer genome landscapes. *Science.* 2013;339(6127):1546–58.

PMID: 23539594. PMCID: PMC3749880. <https://doi.org/10.1126/science.1235122>

30. McGranahan N, Swanton C. Biological and therapeutic impact of intratumor heterogeneity in cancer evolution. *Cancer Cell.* 2015;27(1):15–26. PMID: 25584892. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2014.12.001>

31. Benoit L, Favoulet P, Collin F, et al. Prélèvements anatomopathologiques en cancérologie: règles de bonnes pratiques au bloc opératoire [Histological and cytopathological cancer specimens: good practice in operating room]. *Ann Chir.* 2003;128(9):637–641. <https://doi.org/10.1016/j.anchir.2003.09.010>

32. Reck M, Hagiwara K, Han B, et al. ctDNA Determination of EGFR mutation status in European and Japanese patients with advanced NSCLC: the ASSESS study. *J Thorac Oncol.* 2016;11(10):1682–1689. PMID: 27468938. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.05.036>

33. Esposito AR, Pasquale R, Sacco A, et al. Liquid biopsy testing can improve selection of advanced non-small-cell lung cancer patients to rechallenge with gefitinib. *Cancers (Basel).* 2019;11(10):1431. PMID: 31557965. PMCID: PMC6826724. <https://doi.org/10.3390/cancers11101431>

34. Pinzani P, Salvianti F, Zaccara S, et al. Circulating cell-free DNA in plasma of melanoma patients: qualitative and quantitative considerations. *Clin Chim Acta.* 2011;412(23–24):2141–5. PMID: 21839068. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.07.027>

35. Gangadhar TC, Savitch SL, Yee SS, et al. Feasibility of monitoring advanced melanoma patients using cell-free DNA from plasma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2018;31(1):73–81. PMID: 28786531. PMCID: PMC5742050. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12623>

36. Mannelli C. Tissue vs liquid biopsies for cancer detection: Ethical issues. *Journal of bioethical inquiry.* 2019;16(4):551–557. PMID: 31729685. <https://doi.org/10.1007/s11673-019-09944-y>

37. Sato Y, Matoba R, Kato K. Recent advances in liquid biopsy in precision oncology research. *Biol Pharm Bull.* 2019;42(3):337–342. PMID: 30828064. <https://doi.org/10.1248/bpb.b18-00804>

38. Merker JD, Oxnard GR, Compton C, et al. Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 2018;142(10):1242–1253. <https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0901-SA>

39. Alix-Panabières C, Pantel K. Clinical applications of circulating tumor cells and circulating tumor DNA as liquid biopsy. *Cancer discovery.* 2016;6(5):479–491. PMID: 26969689. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1483>

40. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer.* 2009;45(2):228–247. PMID: 19097774. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.10.026>

41. Calapre L, Warburton L, Millward M, et al. Circulating tumour DNA (ctDNA) as a liquid biopsy for melanoma. *Cancer letters.* 2017;404:62–69. PMID: 28687355. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.06.030>

42. Pantel K, Alix-Panabières C. Bone marrow as a reservoir for disseminated tumor cells: a special source for liquid biopsy in cancer patients. *Bonekey Rep.* 2014;3:584. PMID: 25419458. PMCID: PMC4238319. <https://doi.org/10.1038/bonekey.2014.79>

43. Hodgkinson CL, Morrow CJ, Li Y, Metcalf RL, et al. Tumorigenicity and genetic profiling of circulating tumor cells in small-cell lung cancer. *Nat Med.* 2014;20(8):897–903. PMID: 24880617. <https://doi.org/10.1038/nm.3600>

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ**

**Пасечникова Елизавета Александровна**, аспирант кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФПК и ППС, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0001-7337-4618>

**Бодня Вадим Николаевич**, д. м. н., врач-онколог, НИИ – ККБ № 1 им. проф. С.В. Очаповского, доцент кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФПК и ППС, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0003-3169-9558>

**Шаров Сергей Викторович**, к. м. н., заместитель главного врача по лекарственному обеспечению, Клинический онкологический диспансер № 1 (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0002-8715-2992>

**Кадомцев Дмитрий Вадимович**, врач-онколог, Клинический онкологический диспансер № 1 (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0001-9610-5525>

**Георгиева Анастасия Юрьевна**, аспирант кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФПК и ППС, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0001-5166-047X>

**Стукань Анастасия Игоревна**, к. м. н., врач-онколог, Клинический онкологический диспансер № 1 (Краснодар, Россия). <https://orcid.org/0000-0002-0698-7710>

**Финансирование**

*Исследование не имело спонсорской поддержки.*

**Конфликт интересов**

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

**AUTHOR CREDENTIALS**

**Elizaveta A. Pasechnikova**, Postgraduate Student of the Department of Oncology with a Course of Thoracic Surgery, Faculty of Advanced Training and Professional Retraining of Specialists, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0001-7337-4618>

**Vadim N. Bodnya**, Dr. of Sci. (Med.), Oncologist, Research Institute – Ochapovsky Regional Hospital no. 1, Associate Professor of the Department of Oncology with a Course of Thoracic Surgery, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0003-3169-9558>

**Sergey V. Sharov**, Cand. of Sci. (Med.), Deputy Chief Physician for Pharmaceutical Provision, Clinical Oncology Dispensary no. 1 (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-8715-2992>

**Dmitry V. Kadomtsev**, Oncologist, Clinical Oncology Dispensary no. 1 (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0001-9610-5525>

**Anastasiya Y. Georgieva**, Postgraduate Student of the Department of Oncology with a Course of Thoracic Surgery, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0001-5166-047X>

**Anastasiya I. Stukan**, Cand. of Sci. (Med.), Oncologist, Clinical Oncology Dispensary no. 1 (Krasnodar, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-0698-7710>

**Funding:** *the study was not sponsored.*

**Conflict of interest:** *none declared.*