



*Е.Ш. Кулигина¹, Г.А. Янус^{1,2}, А.С. Мартьянов^{1,2}, Ю.А. Горгуль¹,
 Е.О. Степанова³, Ф.В. Моисеенко³, Е.Н. Имянитов^{1,2,4}*

Циркулирующие опухолевые ДНК как экспресс-маркер эффективности таргетной терапии и химиотерапии

¹ФБГУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург
²ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России, Санкт-Петербург
³ГБУЗ «СПб КНпЦСВМП(о) имени Н.П. Напалкова», Санкт-Петербург
⁴ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург

*E.S. Kuligina¹, G.A. Yanus^{1,2}, A.S. Martianov^{1,2}, J.A. Gorgul¹, E.O. Stepanova³,
 F.V. Moiseenko³, E.N. Imyanitov^{1,2,4}*

Circulating Tumor DNA as an Early Biomarker of Efficacy of Targeted and Chemotherapy

¹N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg, the Russian Federation
²St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, the Russian Federation
³St. Petersburg Clinical Research and Practical Center of Specialized Types of Medical Care (Oncologic), St. Petersburg, the Russian Federation
⁴North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, the Russian Federation

Концентрация циркулирующих опухолевых ДНК (цоДНК) в крови является чувствительным и специфичным маркером для мониторинга в режиме реального времени динамики опухолевой массы. Количественный анализ цоДНК дает возможность оценить ответ опухоли на терапию на самых ранних этапах воздействия, а неинвазивный характер подобной процедуры («жидкостной биопсии») делает ее незаменимой в случаях малой доступности и множественности опухолевых очагов. Важно, что изменение спектра «циркулирующих» мутаций достаточно полно отражает эволюцию неопластических клонов и механизмы молекулярной адаптации клеток к воздействию препаратов — эта информация крайне ценна для своевременной коррекции терапевтической схемы на стадиях, предшествующих клинической манифестации прогрессирования. Многочисленные клинические испытания динамики цоДНК у пациентов, получающих таргетные или химиотерапевтические препараты, продемонстрировали как прогностическую, так и предиктивную ценность данного подхода. Эти усилия подчеркивают растущую роль жидкостной биопсии при выборе тактики на всех этапах лечения с момента постановки диагноза: в отборе пациентов для таргетной или иммунотерапии на основании молекулярных свойств опухоли, мониторинге эффективности препаратов, определении оптимальной продолжительности терапии, диагностике рецидивов. Данный обзор суммирует накопленные к настоящему моменту сведения об успехах и ограничениях использования цоДНК в роли клинически значимого экспресс-маркера для оценки эффективности противоопухолевой терапии на примере основных онкологических локализаций: рака толстой кишки, рака легкого, рака молочной железы, яичника, простаты и т. д.

Ключевые слова: жидкостная биопсия; прогностический маркер; циркулирующая опухолевая ДНК; химиотерапия; таргетная терапия; опухолевый ответ

Circulating tumor DNA (ctDNA) concentration in the blood is a sensitive and specific marker for real-time monitoring of tumor dynamics. Quantitative ctDNA analysis allows early assessment of the tumor's response to therapy, with the non-invasive procedure (liquid biopsy) being crucial in cases of limited accessibility or multiple tumor sites. Notably, changes in «circulating» mutations comprehensively reflect neoplastic clone evolution and cell adaptation to drug treatment, facilitating timely therapeutic adjustments before clinical progression. Numerous clinical trials on ctDNA dynamics in patients receiving targeted or chemotherapy have highlighted its prognostic and predictive value. This emphasizes the increasing role of liquid biopsy in guiding choice of strategy at all stages of treatment: from diagnosis to patient selection for targeted or immunotherapy based on tumor molecular properties, drug efficacy monitoring, determination of the optimal duration of therapy and diagnosis of recurrence. This review summarizes the current data on ctDNA benefits and limitations as a clinically significant rapid biomarker for assessing anti-tumor therapy efficacy in major cancer sites such as colorectal, lung, breast, ovarian, prostate cancers, etc.

Keywords: liquid biopsy; prognostic marker; circulating tumor DNA (ctDNA); chemotherapy; targeted therapy; tumor response

Для цитирования: Кулигина Е.Ш., Янус Г.А., Мартянов А.С., Горгуль Ю.А., Степанова Е.О., Моисеенко Ф.В., Имянитов Е.Н. Циркулирующие опухолевые ДНК как экспресс-маркер эффективности таргетной терапии и химиотерапии. Вопросы онкологии. 2023;69(5):796-804. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-5-796-804

For citation: Kuligina ES, Yanus GA, Martianov AS, Gorgul JA, Stepanova EO, Moiseenko FV, Imyanitov EN. Circulating tumor DNA as an early biomarker of efficacy of targeted and chemotherapy. *Voprosy Onkologii*. 2023;69(5):796-804 (In Russ.). doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-5-796-804

✉ Контакты: Кулигина Екатерина Шотовна, kate.kuligina@gmail.com

Введение

Циркулирующая бесклеточная ДНК (cell-free DNA, cfDNA) высвобождается в кровеносное русло из разрушающихся в ходе апоптоза, некроза или фагоцитоза клеток, прежде всего, гемопозитического происхождения [1, 2]. Известны также примеры активной секреции нуклеиновых кислот, которые затем дрейфуют в кровотоке, защищенные белковыми или мембранными оболочками; на долю таких структур приходится небольшая доля общей циркулирующей ДНК: их назначение не всегда понятно, хотя, по всей видимости, они могут нести биологически значимую функцию межклеточной коммуникации [3]. Только небольшая часть (0,01–10 %) свободно циркулирующих в плазме нуклеиновых кислот имеет опухолевое происхождение и называется циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК) [4, 5]. Концентрация циркулирующей ДНК в крови у больных со злокачественными опухолями в целом выше, чем у здоровых лиц и варьирует в пределах 0–1000 ng/mL (в среднем, 180 ng/mL) [6, 7]; этот показатель сильно зависит от локализации и клинико-патологических свойств опухоли, стадии заболевания, физиологического фона, интенсивности кровоснабжения органа, воспалительных процессов и ряда других индивидуальных характеристик пациента [8, 9]. Например, хорошо известно, что у пациентов с метастатическими формами рака концентрация цоДНК в плазме значительно выше, чем у пациентов с локализованным процессом [10]. Прежде чем попасть в кровоток, опухолевая ДНК в составе фрагментов погибших клеток или апоптотических телец поглощается макрофагами и затем фрагментируется с шагом 140–180 пар оснований (п.о.) [11, 12]. Пиковый размер фрагмента цоДНК апоптотического происхождения составляет 167 п.о., что соответствует длине оборота ДНК вокруг одной нуклеосомы (147 п.о.), защищающей ДНК от расщепления, и линкерного «хвоста» (20 п.о.) [9]. Наряду с низкомолекулярными фракциями, в периферической крови могут обнаруживаться и гигантские цоДНК размером до 21 000 п.о., которые, по-видимому, образуются в результате некроза неопластических клеток [13]. Математическое моделирование показывает, что в случае, например, рака легкого опухолевые

клетки выбрасывают в кровоток 0,014 % своей ДНК за одну клеточную смерть. Согласно этим расчетам, объем опухоли прямо пропорционален концентрации цоДНК, выраженной в эквивалентах гаплоидного генома (hGE) на 1 мл плазмы, 1 см³ опухоли при этом соответствует 0,21 hGE/ml [14]. Время жизни в периферической крови цоДНК в среднем составляет 15 мин. — 2,5 ч., что делает этот показатель очень привлекательным маркером для мониторинга динамики опухоли в режиме реального времени [15, 16].

В ряде случаев, на фоне активного распада опухоли, доля цоДНК может составлять 90–100 % от всего пула свободных нуклеиновых кислот и выявляться с легкостью стандартными ПЦР-методами. Однако в большинстве случаев анализ динамики цоДНК сопряжен с большими методическими трудностями из-за крайне низких концентраций фрагментов цоДНК, циркулирующих в плазме на фоне избытка ДНК «нормального» происхождения. Необходимость применения очень чувствительных и прецизионных методов на основе секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) и цифровой-капельной ПЦР (droplet digital PCR, ddPCR), затрудняют внедрение в повседневную клиническую практику жидкостной биопсии. Хитрые усовершенствования этих технологий, разработанные в последние десятилетия, сделали возможным исследование всевозможных изменений в цоДНК, включая микромутации [17], нарушения копийности [18], хромосомные перестройки [19], аберрантное метилирование [20], профили фрагментации [21], позиционирование нуклеосом [22], паттерны интеграции вирусных геномов [23].

Полагают, что при анализе циркулирующих фрагментов ДНК с заметной частотой могут выявляться соматические альтерации, которые возникли в «нормальных» стволовых клетках крови и распространились в популяции лейкоцитов в результате клонального гемопоэза. Химиотерапия нередко провоцирует такие события, и впоследствии они могут быть ошибочно расценены в ходе жидкостной биопсии как опухоль-специфические [24]. Использование усовершенствованных NGS-технологий (например, ультраглубокого секвенирования) и особых биоинформатических алгоритмов позволяет избавляться от подобного «биологического

шума» и выполнять поиск клинически-важных драйверных мутаций без априорного знания о генетических свойствах «материнской» опухоли [25].

Прогресс в понимании патофизиологических механизмов высвобождения и кинетики цоДНК, стремительное развитие и удешевление NGS-технологий, а также стандартизация лабораторных алгоритмов на всех этапах — от сбора биоматериала до процессинга данных — позволили вплотную прийти к внедрению жидкостной биопсии в рутинную клиническую практику. По данным базы ClinicalTrials.gov [https://clinicaltrials.gov/] с начала 2018 г. было зарегистрировано более 350 клинических испытаний, задачей которых являлась оценка возможностей жидких биоптатов в качестве прогностических, фармакодинамических биомаркеров и суррогатных конечных точек (end-points) эффективности терапии, пригодных для неинвазивного мониторинга опухолей разных локализаций.

Ниже представлен обзор актуальных данных о применении цоДНК в роли молекулярного маркера для оценки эффективности разных видов противоопухолевой терапии.

Серийный анализ цоДНК как метод мониторинга ответа опухоли на терапию: общие принципы и примеры. Тот факт, что динамика концентрации цоДНК в крови, в целом, коррелирует с изменением опухолевой массы, не вызывает сомнений, поэтому совершенно закономерной представляется идея использовать этот показатель в роли суррогатного маркера для мониторинга эффективности терапии [14]. Важно добавить, что возможность без ущерба для пациента сколь угодно часто получать «жидкостные» биоптаты дает уникальный доступ к информации о молекулярных механизмах формирования резистентности, начиная с первых дней воздействия лекарства [26]. Необходимость принятия клинически важных решений требует с особой ответственностью отнестись к вопросу интерпретации результатов таких тестов: в каких временных точках и насколько выраженное количественное изменение цоДНК, действительно, служит предиктором ответа, а когда эти вариации носят случайный характер, и их нужно расценивать с осторожностью. Для ответа на эти вопросы выполняют клинические исследования по следующей схеме: у пациентов берут серийные образцы плазмы до начала лечения и в нескольких временных точках спустя, а затем соотносят направление динамики цоДНК с изменением объема опухоли по данным контрольных обследований КТ (по критериям RECIST), а также с показателями выживаемости пациента — безрецидивной (БРВ,

ДИЗАЙН КЛИНИЧЕСКОГО ИСПЫТАНИЯ

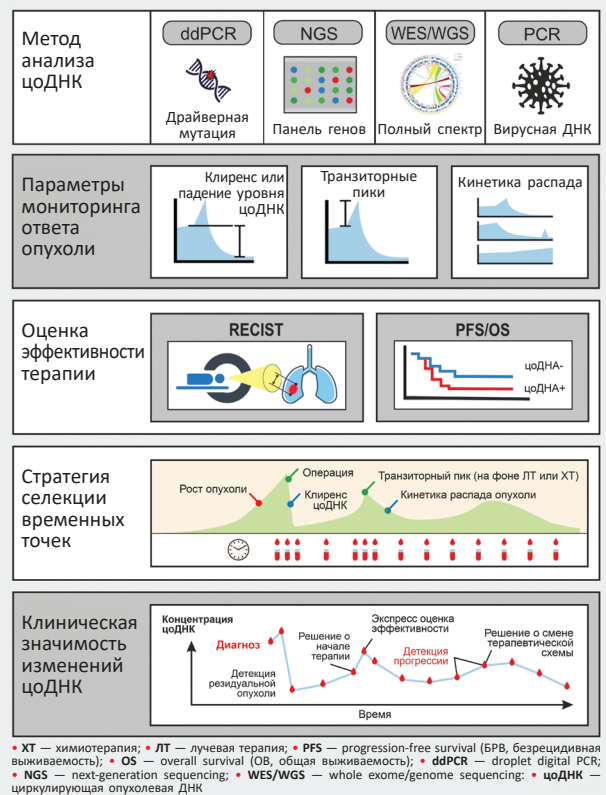


Рис. 1. Принципы выбора дизайна клинических испытаний для оценки возможностей применения цоДНК в онкологической практике. Адаптировано из Sanz-García и соавт., 2022 [45]

progression free survival, PFS) и/или общей (ОВ, overall survival, OS). Стратегия выбора дизайна испытания и временных точек проиллюстрирована на рис. 1.

Оценка эффективности химиотерапии. Множество исследований, выполненных на пациентах с разными локализациями (раком прямой кишки, молочной железы, яичника, простаты, поджелудочной железы), фиксируют снижение концентрации цоДНК в течение первых дней после начала химиотерапии (ХТ). Это обстоятельство не всегда коррелирует с радиологическим ответом, однако, по общему мнению, более значительное снижение предвещает более благоприятный прогноз [2, 27–31]. В некоторых случаях падение уровня цоДНК происходит немедленно после первой дозы ХТ [29, 30], в других ему предшествует один или несколько транзиторных пиков [28, 32]. Предполагается, что присутствие таких точечных выбросов опухолевых нуклеиновых кислот может быть ассоциировано с хорошим рентгенографическим ответом опухоли. Так, в проспективном мониторинге цоДНК 52 пациентов с колоректальным раком (КРР) у четырех наблюдались транзиторные пики на третий день, и у трех из них впоследствии был зафиксирован отличный ответ на стандартную химиотерапию первой линии [32].

Таблица 1. Анализ ранней динамики цоДНК в роли предиктивного фактора ответа опухоли на химиотерапию

Исследование	Число пациентов	Локализация, стадия	Метод детекции цоДНК	Временные точки оценки цоДНК	Заключение
Christenson et al., 2022 [60]	12	Аденокарцинома поджелудочной железы, стадия IV	Таргетное NGS (KRAS, TP53)	Базовый уровень vs. 2 месяца (2 цикла)	Клиренс KRAS+ и TP53+ цоДНК после 2-х циклов ХТ ассоциирован с достоверным увеличением показателей выживаемости БРВ и ОВ
Parikh et al., 2020 [36]	101	Гастроинтестинальная карцинома, стадия IV	ddPCR (мутации, обнаруженные с помощью NGS)	Базовый уровень vs. 4 недели	Процентное снижение уровня цоДНК к концу 4-ой недели ассоциировано с клинической выгодой (частичный регресс + стабилизация)
					Снижение цоДНК на > 30 % прогнозирует более продолжительную безрецидивную выживаемость
Tie et al., 2015 [32]	53	Колоректальный рак, стадия IV	Safe-SeqS	Базовый уровень vs. 2 недели	Кратное снижение уровня цоДНК относительно базового уровня лучше отражает радиологический ответ, чем абсолютный уровень цоДНК
					74 % пациентов, у которых уровень цоДНК снизился в 10 раз и более, демонстрировали выраженный радиологический ответ при первом контрольном измерении
Wei et al., 2019 [41]	17	Аденокарцинома поджелудочной железы, стадия IV	Таргетное NGS (560 генов)	Базовый уровень vs. 2 недели	Относительное снижение цоДНК в интервале до начала 2-го цикла ХТ ассоциировано с лучшим ответом опухоли. По результатам первой радиологической оценки, у всех пациентов с прогрессированием наблюдалось увеличение уровня цоДНК, в то же время у 91 % пациентов со стабилизацией или ответом наблюдалось снижение цоДНК
Parkinson et al., 2016 [27]	32	Серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности	ddPCR (мутация TP53)	Базовый уровень vs. 21/28 день	Снижение цоДНК на 60 % и более после 2-х циклов ХТ ассоциировано с большим временем до прогрессирования (ТТР) вне зависимости от объема опухоли
Kurtz et al., 2018 [44]	217	Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома	CAPP-seq	Базовый уровень vs. середина 1-го цикла/ 2-го цикла (28 дней)/ 3-го цикла	Падение уровня цоДНК к середине 1-го цикла ХТ достоверно предсказывало ответ опухоли
					100-кратное снижение цоДНК перед началом 2-го или 3-го цикла ХТ коррелировало с увеличением показателей выживаемости БРВ и ОВ
Osumi et al., 2018 [43]	29	Колоректальный рак, стадия IV	Таргетное NGS (14 генов)	Базовый уровень vs. 2 недели/ 8 недель	Изменение уровней цоДНК через 2 недели может служить предиктором безрецидивной выживаемости (БРВ), в то время как изменение уровней цоДНК через 8 недель предсказывает и безрецидивную (БРВ) и общую выживаемость (ОВ)
Almodovar et al., 2018 [42]	25	Мелкоклеточный РЛ, стадия IV	Таргетное NGS (14 генов)	Базовый уровень vs. конец 1-го цикла/ 2-го цикла	Падение уровня цоДНК к концу 2-го или 3-го цикла ХТ ассоциировано с радиологическим ответом, но не с показателями выживаемости
Perets et al., 2018 [39]	5	Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы, стадия IV	ddPCR (KRAS)	Базовый уровень vs. 4 недели	Обнаружена отрицательная корреляция между наклоном динамики цоДНК и временем выживания: резкое падение цоДНК за короткое время коррелирует с более длительной общей выживаемостью (ОВ), тогда как стремительный рост цоДНК предсказывает более короткую общую выживаемость

Интервал времени от начала ХТ до точки самой низкой концентрации цоДНК (надира) заслуживает отдельного рассмотрения; этот показатель сам по себе может служить прогностическим маркером; к тому же такие сведения полезны для оптимизации выбора информативных временных точек оценки цоДНК. Созданию единых стандартов в этом направлении препятствуют значительные межлабораторные вариации в сроках забора крови и методах определения цоДНК. По разным оценкам, длительность периода от первой дозы до надир варьирует от 10 дней до 5 недель в зависимости от локализации опухоли и терапевтической схемы [27, 28, 33, 34].

В качестве наиболее надежного биомаркера ответа и выживаемости у пациентов, получающих химиотерапию, предлагается использовать клиренс цоДНК, т. е. полное исчезновение опухолевых фрагментов из кровотока [26, 35]. Обнаружено, что отсутствие клиренса цоДНК в течение первых недель после начала ХТ указывает на высокую вероятность рецидива при саркоме Юинга, раке легкого, желудка, прямой кишки [33, 36, 37]. Ситуация усложняется тем, что клиренс цоДНК может быть отсроченным или неполным [38].

Табл. 1 иллюстрирует различные подходы к анализу и интерпретации ранней кинетики цоДНК в плане прогнозирования результатов химиотерапевтического лечения. Ограничением многих из этих экспериментов является то, что зачастую они разработаны строго под конкретную драйверную мутацию — наиболее частую для данной локализации: *KRAS* при раке поджелудочной железы или прямой кишки [39, 40], *TP53* при раке яичников [27] и т. п. Для анализа таких альтераций обычно используют высокочувствительные тесты на основе ddPCR, что само по себе замечательно, поскольку данная технология дает максимально точную количественную оценку концентрации мутантной цоДНК, однако значительная доля опухолей, не имеющих этих мутаций, остаются «невидимыми» для мониторинга. Границы применимости метода значительно раздвигаются при переходе к таргетному NGS [41–43], глубокому параллельному секвенированию (CAPP-seq) [44] или панели пересечений опухоль-плазма [36]. Такие подходы позволяют увеличить количество молекулярных маркеров и, следовательно, охватить максимальное число пациентов с разными драйверными событиями.

Одним из основных препятствий для использования кинетики цоДНК в качестве прогностического фактора является отсутствие ясности относительно оптимальной временной точки для фиксации изменений — этот момент сильно

варьирует в зависимости от биологии опухоли или механизма действия препарата. Результаты исследования Н. Osumi и соавт. [43] указывают на важный компромисс: более ранние временные точки могут способствовать принятию оперативных клинических решений, но ценой снижения чувствительности в прогнозировании возможного ответа на лечение или прогрессирования. Клиническое испытание ВЕЕСН — рандомизированное исследование 2 фазы, оценивающее паклитаксел в сочетании с ингибитором АКТ при метастатическом ER+ раке молочной железы (РМЖ), предлагает инновационный подход к выбору наилучшей временной точки для анализа цоДНК [34]. В этом исследовании была создана «обучающая» когорта (n = 16), в которой забор плазмы проводился 6 раз в течение первых 4 недель после первой дозы. Было установлено, что 28 день является оптимальной временной точкой для прогнозирования БРВ, что впоследствии было подтверждено в когорте валидации (n = 50).

Серийный анализ концентрации цоДНК может помочь в прогнозировании ответа на неоадьювантную химиотерапию (НАХТ). В клиническом исследовании I-SPY-2 оценивалась кинетика цоДНК у 58 пациентов с ранней стадией РМЖ, получавших НАХТ (антрациклины, паклитаксел) ± ингибитор АКТ [35]. В процессе лечения доля «плазма-позитивных» пациенток снизилась с 73 % до 35 % через три недели после начала терапии, до 14 % — в конце приема антрациклинов и до 9 % — по окончании полного курса ХТ. Клиренс цоДНК к концу третьей недели был ассоциирован с большей вероятностью полного патологического ответа (48 % против 17 %) и более длительным периодом БРВ. Напротив, присутствие в крови цоДНК после окончания НАХТ само по себе предсказывало развитие в будущем метастатического рецидива независимо от направления динамики цоДНК. Эти результаты позволяют предположить, что даже в тех случаях, когда цоДНК незначительно снижается на первых этапах лечения, может быть правомочен вопрос о модификации лечения или введения дополнительных препаратов.

В заключение следует отметить, что ранняя кинетика цоДНК, содержащей опухоль-специфические микромутации, действительно, с высокой достоверностью предсказывает исход ХТ, однако для этих целей можно использовать и другие молекулярные маркеры цоДНК. В качестве альтернативы на эту роль недавно были предложены паттерны метилирования цоДНК у пациентов с КРР [45] или фрагменты цоДНК, содержащие вирусные последовательности, например, вируса Эпштейна-Барра при некоторых лимфомах и назофарингеальном раке [46].

Оценка эффективности таргетной терапии. Наиболее значимые исследования динамики цоДНК на фоне таргетной терапии, были проведены у пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), получающих ингибиторы рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). Кинетика цоДНК на фоне таргетных препаратов имеет много общих черт с теми, что описаны в предыдущем разделе для химиотерапии. В работе Ф.В. Моисеенко с соавт., выполненной на пациентах с EGFR-мутированном НМРЛ, динамика цоДНК оценивалась в самые первые часы после начала терапии. Оказалось, что падение уровня EGFR+ цоДНК спустя 48 часов (но не раньше) с высокой вероятностью предсказывает более продолжительную безрецидивную выживаемость [47]. Интенсивный серийный анализ «циркулирующих» мутаций EGFR в течение первой недели лечения ингибиторами тирозинкиназ продемонстрировал различные паттерны изменения цоДНК у «чувствительных» и «резистентных» пациентов. Так у пациента, ответившего на препарат, наблюдался 11-кратный пик через 26 часов после начала терапии, за которым последовало постепенное снижение цоДНК в течение следующих двух дней. Напротив, у «резистентного» пациента, уровень EGFR+ цоДНК резко повысился на 5-й день, а затем незначительно снизился, но конечный уровень все равно остался выше исходного [48]. Аналогичная кинетика была отмечена у пациентов с BRAF-мутантной меланомой, получавших лечение ингибиторами BRAF и MEK [49]. Снижение цоДНК через 2-4 недели после начала терапии ингибиторами EGFR (эрлотинибом и гефитинибом) коррелировало с увеличением медианы общей выживаемости (ОВ) примерно на 7 мес. [50], а также с благоприятным радиологическим ответом по шкале RECIST [51]. В ряде случаев эти закономерности были справедливы только в отношении конкретных мутаций EGFR (L858R), и в отношении других мутаций EGFR требуется подтверждение [52].

Для удобства интерпретации динамики цоДНК некоторые NGS исследования используют нормализованные индексы, которые отражают отношение абсолютного количества или частоты мутантных «прочтений» (ридов) в момент лечения к исходным показателям, например, MART (mutation allele ratio in therapy) или CDR (circulating DNA ratio). По данным К. Kato и соавт. [53], при EGFR-мутантном НМРЛ в 100 % случаев с прогрессированием индекс MART превышал 0,1, в то время как среди «ответивших» пациентов подобный результат наблюдался только у 22 %. Более того, среди всех пациентов с MART > 0,1, у «прогрессирующих» пациентов была зафиксиро-

вана более высокая концентрация мутантных фрагментов в плазме по данным ПЦР. Таким образом, сочетание этих двух количественных показателей, концентрации цоДНК и MART, может стать более информативным подходом для прогнозирования эффективности таргетной терапии. Аналогичным образом, CDR на 15-й день оценивался у пациенток с ER+ РМЖ, включенных в исследование PALOMA-3 и получавших ингибитор CDK4/6 палбоциклиб в комбинации с антиэстрогеном фулвестрантом [54]. Динамику цоДНК оценивали с помощью подсчета индекса CDR «циркулирующих» мутаций PI3KCA на 15-й день терапии. Обнаружено, что снижение CDR PI3KCA в этой точке достоверно коррелировало с увеличением периода БРВ.

Как и в случае ХТ, многие из перечисленных исследований используют для «отслеживания» цоДНК узконаправленные подходы, которые базируются на априорных знаниях о наборе драйверных мутаций «материнской» опухоли. В задачи таких проектов не входит выявление вновь приобретенных мутаций резистентности, что является, в действительности, важнейшей задачей, обладающей большой клинической значимостью. Если молекулярный механизм сопротивления опухоли в общих чертах известен, то целесообразным представляется включить в панель для серийного тестирования и подтвержденные мутации резистентности, такие как T790M в EGFR-мутированных НМРЛ [55, 56]. В тех случаях, когда молекулярный механизм резистентности мало изучен, рекомендуется использовать скрининговые методы на базе NGS [57].

Заключение

Результаты многочисленных клинических испытаний показывают, что анализ цоДНК крови может со временем заменить или дополнить стандартные методы визуализации состояния опухолевых очагов на фоне противоопухолевой терапии, а также обеспечить мониторинг молекулярной эволюции опухолей без повторных травмирующих биопсий. Многократно подтверждены преимущества и информативность жидкостных биопсий в качестве суррогатных конечных точек для оценки ответа на таргетную и химиотерапию, высокая прогностическая значимость жидкостной биопсии в случае большинства наиболее частых и социально значимых локализаций рака легкого, молочной железы, яичника, прямой кишки, поджелудочной железы, простаты и др. Например, математическое моделирование мониторинга цоДНК при раке легкого показало, что использование

жидкостной биопсии для ранней диагностики рецидива может выявить прогрессирование на 140 дней раньше, чем радиологические методы визуализации [14]. Помимо очевидных последствий такого сверхточного выявления прогрессирования, это может помочь реализовать идеи прерывистого назначения таргетных препаратов, учитывающие эволюцию опухоли и резко снижающие вероятность формирования значимого количества резистентных клеток. Пока эти подходы, кажущиеся сугубо экспериментальными, оказались эффективны лишь в опытах на лабораторных животных, но сверхраннее выявление роста резистентного клона может помочь сделать подобные стратегии по управлению эволюции рака клинической реальностью [58, 59]. Несмотря на необходимость дальнейшей валидации и стандартизации с привлечением больших выборок пациенток с разными онкологическими заболеваниями, серийный мониторинг цоДНК уже сегодня может облегчить разработку адаптивных клинических испытаний для наиболее распространенных видов рака. Такая практика призвана помочь врачам принимать более персонализированные решения для ранней оптимизации терапии, ограничения стоимости и токсичности лекарственных схем и более быстрого перехода к потенциально эффективным методам лечения.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда № 18-75-10070.

Funding

The research was supported by a grant from the Russian Science Foundation, grant number 18-75-10070.

ЛИТЕРАТУРА

- Thierry AR, El Messaoudi S, Gahan PB, et al. Origins, structures, and functions of circulating DNA in oncology. *Cancer Metastasis Rev.* 2016;35(3):347-376. <https://doi.org/10.1007/s10555-016-9629-x>.
- Caputo V, Ciardiello F, Corte CMD, et al. Diagnostic value of liquid biopsy in the era of precision medicine: 10 years of clinical evidence in cancer. *Explor Target Antitumor Ther.* 2023;4:102-138. <https://doi.org/10.37349/etat.2023.00125>.
- García-Silva S, Gallardo M, Peinado H. DNA-Loaded extracellular vesicles in liquid biopsy: Tiny players with big potential? *Front Cell Dev Biol.* 2021;8:622579. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.622579>.
- Lanman RB, Mortimer SA, Zill OA, et al. Analytical and clinical validation of a digital sequencing panel for quantitative, highly accurate evaluation of cell-free circulating tumor DNA. *PLoS One.* 2015;10(10):e0140712. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140712>.
- Elazezy M, Joosse SA. Techniques of using circulating tumor DNA as a liquid biopsy component in cancer management. *Comput Struct Biotechnol J.* 2018;16:370-378. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2018.10.002>.
- van der Pol Y, Mouliere F. Toward the early detection of cancer by decoding the epigenetic and environmental fingerprints of cell-free DNA. *Cancer Cell.* 2019;36:350-368. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.09.003>.
- Cervena K, Vodicka P, Vymetalkova V. Diagnostic and prognostic impact of cell-free DNA in human cancers: Systematic review. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2019;781:100-129. <https://doi.org/10.1016/j.mrrrev.2019.05.002>.
- Kuligina ES, Meerovich R, Zagorodnev KA, et al. Content of circulating tumor DNA depends on the tumor type and the dynamics of tumor size, but is not influenced significantly by physical exercise, time of the day or recent meal. *Cancer Genet.* 2021;256-257:165-178. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2021.05.014>.
- Stejskal P, Goodarzi H, Srovnal J, et al. Circulating tumor nucleic acids: biology, release mechanisms, and clinical relevance. *Mol Cancer.* 2023;22(1):15. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01710-w>.
- Bettgowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med.* 2014;6(224):224ra24. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007094>.
- C Choi JJ, Reich CF 3rd, Pisetsky DS. The role of macrophages in the in vitro generation of extracellular DNA from apoptotic and necrotic cells. *Immunology.* 2005;115(1):55-62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2005.02130.x>.
- Nguyen VC, Nguyen TH, Phan TH, et al. Fragment length profiles of cancer mutations enhance detection of circulating tumor DNA in patients with early-stage hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer.* 2023;23(1):233. <https://doi.org/10.1186/s12885-023-10681-0>.
- Qi T, Pan M, Shi H, et al. Cell-Free DNA fragmentomics: The novel promising biomarker. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1503. <https://doi.org/10.3390/ijms24021503>.
- Avanzini S, Kurtz DM, Chabon JJ, et al. A mathematical model of ctDNA shedding predicts tumor detection size. *Sci Adv.* 2020;6:eabc4308. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abc4308>.
- Kustanovich A, Schwartz R, Peretz T, et al. Life and death of circulating cell-free DNA. *Cancer Biol Ther.* 2019;20:1057-1067. <https://doi.org/10.1080/15384047.2019.1598759>.
- Khier S, Lohan L. Kinetics of circulating cell-free DNA for biomedical applications: critical appraisal of the literature. *Future Sci OA.* 2018;4(4):FSO295. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0140>.
- Calapre L, Giardina T, Beasley AB, et al. Identification of TP53 mutations in circulating tumour DNA in high grade serous ovarian carcinoma using next generation sequencing technologies. *Sci Rep.* 2023;13:278. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27445-2>.
- Bonner ER, Harrington R, Eze A, et al. Circulating tumor DNA sequencing provides comprehensive mutation profiling for pediatric central nervous system tumors. *NPJ Precis Oncol.* 2022;6:63. <https://doi.org/10.1038/s41698-022-00306-3>.
- Shah AT, Azad TD, Breese MR, et al. A comprehensive circulating tumor DNA assay for detection of translocation and copy-number changes in pediatric sarcomas. *Mol Cancer Ther.* 2021;20:2016-2025. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-20-0987>.

20. Hai L, Li L, Liu Z, et al. Whole-genome circulating tumor DNA methylation landscape reveals sensitive biomarkers of breast cancer. *MedComm* (2020). 2022;3(3):e134. <https://doi.org/10.1002/mco2.134>.
21. Foda ZH, Annapragada AV, Boyapati K, et al. detecting liver cancer using cell-free DNA fragmentomes. *Cancer Discov*. 2023;13:616-631. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-22-0659>.
22. Shtumpf M, Piroeva KV, Agrawal SP, et al. NucPosDB: a database of nucleosome positioning in vivo and nucleosomics of cell-free DNA. *Chromosoma*. 2022;131(1-2):19-28. <https://doi.org/10.1007/s00412-021-00766-9>.
23. Li L, Yeh H, Chen J. Circulating virus-host chimera DNAs in the clinical monitoring of virus-related cancers. *Cancers*. 2022;14(10). <https://doi.org/10.3390/cancers14102531>.
24. Huang F, Yang Y, Chen X, et al. Chemotherapy-associated clonal hematopoiesis mutations should be taken seriously in plasma cell-free DNA KRAS/NRAS/BRAF genotyping for metastatic colorectal cancer. *Clin Biochem*. 2021;92:46-53. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.03.005>.
25. Chan HT, Chin YM, Nakamura Y, et al. Clonal hematopoiesis in liquid biopsy: From biological noise to valuable clinical implications. *Cancers (Basel)*. 2020;12:2277. <https://doi.org/10.3390/cancers12082277>.
26. Sanz-Garcia E, Zhao E, Bratman SV, et al. Monitoring and adapting cancer treatment using circulating tumor DNA kinetics: Current research, opportunities, and challenges. *Sci Adv*. 2022;8:eabi8618. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abi8618>.
27. Parkinson CA, Gale D, Piskorz AM, et al. Exploratory analysis of TP53 mutations in circulating tumour DNA as biomarkers of treatment response for patients with relapsed high-grade serous ovarian carcinoma: A retrospective study. *PLoS Med*. 2016;13(12):e1002198. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002198>.
28. Kruger S, Heinemann V, Ross C, et al. Repeated mutKRAS ctDNA measurements represent a novel and promising tool for early response prediction and therapy monitoring in advanced pancreatic cancer. *Ann Oncol*. 2018;29:2348-2355. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy417>.
29. Patsch K, Matasci N, Soundararajan A, et al. Monitoring dynamic cytotoxic chemotherapy response in castration-resistant prostate cancer using plasma cell-free DNA (cfDNA). *BMC Res Notes*. 2019;12:275. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4312-2>.
30. Moser T, Waldispuehl-Geigl J, Belic J, et al. On-treatment measurements of circulating tumor DNA during FOLFOX therapy in patients with colorectal cancer. *NPJ Precis Oncol*. 2020;4:30. <https://doi.org/10.1038/s41698-020-00134-3>.
31. Callesen LB, Hamfjord J, Boysen AK, et al. Circulating tumour DNA and its clinical utility in predicting treatment response or survival in patients with metastatic colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer*. 2022;127:500-513. <https://doi.org/10.1038/s41416-022-01816-4>.
32. Tie J, Kinde I, Wang Y, et al. Circulating tumor DNA as an early marker of therapeutic response in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2015;26(8):1715-22. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv177>.
33. Krumbholz M, Hellberg J, Steif B, et al. Genomic EWSR1 fusion sequence as highly sensitive and dynamic plasma tumor marker in ewing sarcoma. *Clin Cancer Res*. 2016;22:4356-4365. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-3028>.
34. Hrebien S, Citi V, Garcia-Murillas I, et al. Early ctDNA dynamics as a surrogate for progression-free survival in advanced breast cancer in the BEECH trial. *Ann Oncol*. 2019;30:945-952. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz085>.
35. Magbanua MJM, Swigart LB, Wu HT, et al. Circulating tumor DNA in neoadjuvant-treated breast cancer reflects response and survival. *Ann Oncol*. 2021;32:229-239. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.11.007>.
36. Parikh AR, Mojtahed A, Schneider JL, et al. Serial ctDNA monitoring to predict response to systemic therapy in metastatic gastrointestinal cancers. *Clin Cancer Res*. 2020;26:1877-1885. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-3467>.
37. Alvarez J, Cercek A, Mohan N, et al. Circulating tumor DNA (ctDNA) for response assessment in patients with anal cancer treated with definitive chemoradiation. *J Clin Oncol*. 2023;41(4 suppl):1-1. https://doi.org/10.1200/JCO.2023.41.4_suppl.1.
38. Moati E, Blons H, Taly V, et al. Plasma clearance of RAS mutation under therapeutic pressure is a rare event in metastatic colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2020;147(4):1185-1189. <https://doi.org/10.1002/ijc.32657>.
39. Perets R, Greenberg O, Shentzer T, et al. Mutant KRAS circulating tumor DNA is an accurate tool for pancreatic cancer monitoring. *Oncologist*. 2018;23:566-572. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2017-0467>.
40. Cremolini C, Rossini D, Dell'Aquila E, et al. Rechallenge for patients with RAS and BRAF wild-type metastatic colorectal cancer with acquired resistance to first-line Cetuximab and Irinotecan: A phase 2 single-arm clinical trial. *JAMA Oncol*. 2019;5:343-350. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.5080>.
41. Wei T, Zhang Q, Li X, et al. Monitoring tumor burden in response to FOLFIRINOX chemotherapy via profiling circulating cell-free DNA in pancreatic cancer. *Mol. Cancer Ther*. 2019;18:196-203. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-17-1298>.
42. Almodovar K, Iams WT, Meador CB, et al. Longitudinal cell-free DNA analysis in patients with small cell lung cancer reveals dynamic insights into treatment efficacy and disease relapse. *J Thorac Oncol*. 2018;13:112-123. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2017.09.1951>.
43. Osumi H, Shinozaki E, Yamaguchi K, et al. Early change in circulating tumor DNA as a potential predictor of response to chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Sci Rep*. 2019;9:17358. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53711-3>.
44. Kurtz DM, Scherer F, Jin MC, et al. Circulating tumor DNA measurements as early outcome predictors in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2018;36:2845-2853. <https://doi.org/10.1200/JCO.2018.78.5246>.
45. Raunkilde L, Hansen TF, Andersen RF, et al. NPY gene methylation in circulating tumor DNA as an early biomarker for treatment effect in metastatic colorectal cancer. *Cancers (Basel)*. 2022;14:4459. <https://doi.org/10.3390/cancers14184459>.
46. Lupo J, Truffot A, Andreani J, et al. Virological markers in Epstein-Barr virus-associated diseases. *Viruses*. 2023;15(3):656. <https://doi.org/10.3390/v15030656>.
47. Moiseyenko FV, Kuligina ES, Zhabina AS, et al. Changes in the concentration of EGFR-mutated plasma DNA in the first hours of targeted therapy allow the prediction of tumor response in patients with EGFR-driven lung cancer. *Int J Clin Oncol*. 2022;27:850-862. <https://doi.org/10.1007/s10147-022-02128-6>.
48. Riediger AL, Dietz S, Schirmer U, et al. Mutation analysis of circulating plasma DNA to determine response to EGFR

- tyrosine kinase inhibitor therapy of lung adenocarcinoma patients. *Sci Rep.* 2016;6:33505. <https://doi.org/10.1038/srep33505>.
49. Schreuer M, Meersseman G, van Den Herrewegen S, et al. Applications for quantitative measurement of BRAF V600 mutant cell-free tumor DNA in the plasma of patients with metastatic melanoma. *Melanoma Res.* 2016;26(2):157-63. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000224>.
 50. He J, Tan W, Tang X, et al. Variations in EGFR ctDNA correlates to the clinical efficacy of Afatinib in non-small cell lung cancer with acquired resistance. *Pathol Oncol Res.* 2017;23:307-315. <https://doi.org/10.1007/s12253-016-0097-y>.
 51. Taus Á, Camacho L, Rocha P, et al. Dynamics of EGFR mutation load in plasma for prediction of treatment response and disease progression in patients with EGFR-mutant lung adenocarcinoma. *Clin Lung Cancer.* 2018;19:387-394.e2. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2018.03.015>.
 52. Zhou Q, Yang JJ, Chen ZH, et al. Serial cfDNA assessment of response and resistance to EGFR-TKI for patients with EGFR-L858R mutant lung cancer from a prospective clinical trial. *J Hematol Oncol.* 2016;9(1):86. <https://doi.org/10.1186/s13045-016-0316-8>.
 53. Kato K, Uchida J, Kukita Y, et al. Numerical indices based on circulating tumor DNA for the evaluation of therapeutic response and disease progression in lung cancer patients. *Sci Rep.* 2016;6:29093. <https://doi.org/10.1038/srep29093>.
 54. O'Leary B, Hrebien S, Morden JP, et al. Early circulating tumor DNA dynamics and clonal selection with palbociclib and fulvestrant for breast cancer. *Nat Commun.* 2018;9:896. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03215-x>.
 55. Passiglia F, Rizzo S, Di Maio M, et al. The diagnostic accuracy of circulating tumor DNA for the detection of EGFR-T790M mutation in NSCLC: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2018;8:13379. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30780-4>.
 56. Dal Maso A, Del Bianco P, Cortiula F, et al. EGFR T790M testing through repeated liquid biopsy over time: a real-world multicentric retrospective experience. *J Thorac Dis.* 2022;14(9):3364-3375. <https://doi.org/10.21037/jtd-22-745>.
 57. Heitzer E, van den Broek D, Denis MG, et al. Recommendations for a practical implementation of circulating tumor DNA mutation testing in metastatic non-small-cell lung cancer. *ESMO Open.* 2022;7(2):100399. <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2022.100399>.
 58. Jin H, Wang L, Bernards R. Rational combinations of targeted cancer therapies: background, advances and challenges. *Nat Rev Drug Discov.* 2023;22(3):213-234. <https://doi.org/10.1038/s41573-022-00615-z>.
 59. Yaeger R, Mezzadra R, Sinopoli J, et al. Molecular characterization of acquired resistance to KRASG12C-EGFR inhibition in colorectal cancer. *Cancer Discov.* 2023;13:41-55. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-22-0405>.
 60. Christenson ES, Lim SJ, Durham J, et al. Cell-free DNA predicts prolonged response to multiagent chemotherapy in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Res Commun.* 2022;2:1418-1425. <https://doi.org/10.1158/2767-9764.CRC-22-0343>.

Поступила в редакцию 20.04.2023
 Прошла рецензирование 22.05.2023
 Принята в печать 15.06.2023

Сведения об авторах

Кулигина Екатерина Шотовна / Kuligina Ekaterina Shotovna / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2396-6540>, эл. почта: kate.kuligina@gmail.com.

Янус Григорий Аркадьевич / Yanus Grigoriy Arkadevich / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9844-4536>.

Мартыанов Александр Сергеевич / Martianov Aleksandr Sergeevich / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7690-8328>.

Горгуль Юлий Андреевич / Gorgul Yuliy Andreevich

Степанова Екатерина Олеговна / Stepanova Ekaterina Olegovna / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4013-181X>.

Моисеенко Федор Владимирович / Moiseenko Fedor Vladimirovich / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2544-9042>.

Имянитов Евгений Наумович / Imyanitov Evgeny Naumovich / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>.