

*Национальный медицинский
исследовательский центр
онкологии
им. Н.Н. Блохина
Минздрава РФ
(Москва, Россия)*

РОЛЬ ЖИДКОСТНОЙ БИОПСИИ В ВЫБОРЕ ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

**К.К. Лактионов, А.М. Казаков, К.А. Саранцева, Е.В. Реутова,
А.Л. Арзуманян, Н.М. Москалюк**

THE ROLE OF LIQUID BIOPSY IN THE CHOICE OF TACTICS FOR THE TREATMENT OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

К.К. Лактионов

*Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий отделением
химиотерапии №17,
НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина
Минздрава России,
115478, Москва, Каширское шоссе, 24.*

А.М. Казаков

*Клинический резидент,
отделение химиотерапии №17.
e-mail: Kazakovich873@gmail.com.
ORCID: 0000-0002-9534-2729.*

К.А. Саранцева

*Кандидат медицинских наук, врач,
Отделение химиотерапии №17.*

Е.В. Реутова

*Кандидат медицинских наук,
старший научный сотрудник,
Отделение химиотерапии №17.*

А.Л. Арзуманян

*Кандидат медицинских наук,
старший научный сотрудник,
Отделение химиотерапии №17.*

Н.М. Москалюк

*Аспирант,
отделение химиотерапии №17.*

К.К. Laktionov

*Doctor of Medicine,
Professor,
Head of the Chemotherapy Department
No. 17,
N.N. Blokhin National Medical Research
Center of Oncology,
115478, Moscow, Kashirskoe shosse, 23.*

A.M. Kazakov

*Clinical Resident,
Chemotherapy Department No. 17.
e-mail: Kazakovich873@gmail.com.
ORCID: 0000-0002-9534-2729.*

K.A. Sarantseva

*Candidate of Medicine, Doctor,
Chemotherapy Department No. 17.*

E.V. Reutova

*Candidate of Medicine, Senior Researcher,
Chemotherapy Department No. 17.*

A.L. Arzumanyan

*Candidate of Medicine,
Senior Researcher,
Chemotherapy Department No. 17.*

N.M. Moskalyuk

*Postgraduate student,
Chemotherapy Department No. 17.*

В данной статье описываются потенциальные возможности применения жидкостной биопсии при немелкоклеточном раке легкого в качестве метода определения мутационного профиля, а также минимальной резидуальной болезни после радикального хирургического лечения. Описаны преимущества и недостатки данного метода по сравнению с традиционной тканевой биопсией. Представлены потенциальные возможности применения жидкостной биопсии для персонализации лечения.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, жидкостная биопсия, мутационный профиль, минимальная резидуальная болезнь.

This article describes the potential uses of liquid biopsy for non-small cell lung cancer as a method for determining the mutational profile, as well as minimal residual disease after radical surgical treatment. This paper describes the advantages and disadvantages of this method compared to tissue biopsy. Presented potential applications of liquid biopsy to personalize treatment.

Keywords: *non-small cell lung cancer, fluid biopsy, mutation profile, minimal residual disease.*

Введение

Рак легкого является одной из наиболее часто встречаемых злокачественных опухолей. По данным American Cancer Society, рак легкого по распространенности в США среди мужчин и женщин занимает второе место, уступая только раку предстательной железы и раку молочной железы соответственно. В Европе же, по данным ВОЗ за 2018 год, рак легкого по частоте встречаемости у мужчин (311 843 новых случаев) уступает только раку простаты, а среди женщин (158 196 новых случаев) – раку молочной железы и колоректальному раку [1]. Около 80% опухолей легкого приходится на немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ). НМРЛ является чрезвычайно гетерогенной группой, в которой обнаруживается множество генетических альтераций (EGFR, ALK/ROS1, BRAF, KRAS и др.), что дает возможность использовать достаточно широкий спектр таргетной терапии при лечении распространенных форм заболевания [2]. На данный момент «золотым стандартом» для обнаружения мутаций при НМРЛ является молекулярный анализ материала, полученного путем тканевой биопсии, однако данный метод имеет ряд недостатков, а именно: определенный риск, связанный с его выполнением (кровотечение, пневмоторакс и др.), трудность или невозможность проведения повторных биопсий, связанные с соматическим состоянием пациента, локализацией опухоли и др., невозможность в полной мере отразить гетерогенность опухоли, невозможность периодического проведения забора материала для оценки ответа на лечение [3]. В связи с этим, все больше растет интерес к перспективному альтернативному методу определения генетических нарушений при большом количестве опухолей, в том числе и при НМРЛ – жидкостной биопсии. Данный метод лишен недостатков, присущих традиционной тканевой биопсии, однако на данный момент не является полноценной его заменой, поскольку не существует четких стандартов для его проведения и оценки его результатов, что также отражено в клинических рекомендациях по лечению НМРЛ NCCN 2019 года.

Жидкостная биопсия как альтернативный метод определения мутационного профиля опухоли

Жидкостная биопсия – минимально инвазивный метод получения материала для определения генетического паспорта опухоли при помощи циркулирующих опухолевых ДНК (цодНК), циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), микроРНК и экзосом,

тромбоцитов [4]. Наиболее изученным является анализ мутаций в цодНК и ЦОК, хотя в клинических рекомендациях NCCN в качестве метода определения мутационного профиля отражено использование только цодНК. На опухолевую ДНК приходится от 0,01 до 90% от всей циркулирующей внеклеточной ДНК, в зависимости от размера опухоли, ее васкуляризации, биологических свойств. Опухолевая ДНК попадает в кровоток в результате апоптоза, некроза, фагоцитоза опухолевых клеток, а также в процессе целенаправленного выделения опухолевыми клетками. Время полураспада цодНК в кровеносном русле составляет от 16 минут до 2,5 часов, что позволяет использовать ее как биомаркер, отражающий опухолевую нагрузку «real time» [6]. Исследование циркулирующих опухолевых клеток на данный момент является более дорогостоящим методом, а технология его осуществления нуждается в доработке. Однако, в перспективе, исследование ЦОК позволит не только получать данные о наличии генетических мутаций и приобретении вторичной резистентности, но и судить о метастатическом потенциале опухоли и о возможной диссеминации болезни [7]. Получение данной информации возможно благодаря определению признаков эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) – увеличение агрессивности опухоли, усилением инвазии и метастатического потенциала за счет потери адгезивных свойств, полярности и изменений цитоскелета в ЦОК [8]. Кроме того, в ЦОК также могут быть выявлены маркеры стволовых клеток опухоли (СКО), наличие которых может влиять на резистентность к лечению, и как следствие, на прогноз [7]. Выделение ЦОК в перспективе позволит культивировать данные клетки с последующим иммуногистохимическим анализом экспрессии PD-L1 [9]. Что же касается использования экзосом, микроРНК и тромбоцитов, данные методы в настоящее время находятся в состоянии разработки и работы, посвященные им, имеют больше исследовательский, нежели прикладной характер.

Определение мутации EGFR

Мутации в гене EGFR характерны для аденокарциномы НМРЛ и ассоциируется с женским полом, отсутствием курения в анамнезе, а также преобладанием у пациентов из Восточной Азии [10]. Наиболее часто встречающимися мутациями EGFR являются делеция в 19 экзоне (около 50%) и замена аргинина на лейцин в 21 экзоне (около 40%). Кроме того, существуют и более редкие мутации, такие как тройная R670W/H835L/L833V в 17 и 21 экзонах, которая также

чувствительна к терапии ингибиторами тирозинкиназы [11]. Помимо вышеперечисленных, существуют и мутации, связанные с первичной (de novo) и приобретенной в ходе лечения резистентностью опухоли к таргетной терапии. Мутация T790M чаще всего (около 50% пациентов с мутацией EGFR) выявляется на фоне лечения ингибиторами тирозинкиназы 1–2 поколения и вызывает резистентность к последним, однако может встречаться и de novo в 2–14% случаев, что является неблагоприятным прогностическим фактором, связанным с уменьшением безрецидивной (БРВ) и общей выживаемости (ОВ) [6, 12, 13]. В отличие от T790M, инсерция в 20 экзоне является только de novo мутацией, встречающейся примерно в 2–14% НМРЛ и характеризуется отсутствием чувствительности к ингибиторам тирозинкиназ 1, 2, 3 поколения [14].

Все из вышеперечисленных мутаций, как ассоциирующиеся с возможностью применения таргетной терапии, так и придающие опухоли свойства резистентности, можно определить при помощи жидкостной биопсии [15, 16].

Это подтверждается большим количеством работ, в которых группам пациентов проводилась жидкостная биопсия одновременно с биопсией опухолевой ткани до начала лечения для определения конкордантности результатов двух методов, а также чувствительности и специфичности жидкостной биопсии. В качестве примера можно привести два крупных международных исследования: IGNITE и ASSESS, в которых оценивалась жидкостная биопсия на основе определения мутаций EGFR в цДНК. В исследование IGNITE было включено 3382 пациента, из которых 2581 была проведена одновременно жидкостная и тканевая биопсия с оценкой мутации EGFR. Результат исследования – конкордантность двух методов – 80,5%, чувствительность жидкостной биопсии – 46,9%, специфичность – 95,6% [17]. Исследование ASSESS включало 1162 пациента с проведением жидкостной и тканевой биопсии, результат – конкордантность двух методов – 89,1%, чувствительность жидкостной биопсии – 46%, специфичность – 97,4% [18]. Если посмотреть на результаты данных исследований, то можно заметить, что чувствительность жидкостной биопсии в обоих из них ниже 50%, что безусловно мало для диагностического метода. Подгрупповой анализ показал, что чувствительность в различных центрах, участвовавших в данных исследованиях, составляла от 30 до 100%. Такое различие объясняется использованием различных методов детекции мутации EGFR, использовавшихся в различных лабораториях. Наилучшие результаты показало использование Therascreen RGQ на основе ПЦР в реальном времени с использованием зондов Scorpion и технологии ARMS (amplification-refractory mutation system): конкордантность – 95%, чувствительность жидкостной биопсии – 73%, специфичность – 99%, и The Cobas EGFR Mutation Test v2: конкордантность – 96%, чувствительность жидкост-

ной биопсии – 75%, специфичность – 100% [19]. Таким образом, использование оптимальных методов определения мутаций повышает чувствительность, а также влияет на конкордантность результатов жидкостной и тканевой биопсии. Степень конкордантности между жидкостной и тканевой биопсией зависит не только от чувствительности метода детекции, но и от опухолевой нагрузки и распространенности болезни. Так, в исследовании Chia-Yu Kuo и др., было показано, что у больных с N1-3, отдаленными метастазами в кости и мозг, а также IV стадией заболевания конкордантность двух методов была значительно выше и составляла 82% в случае N+ и 100% в случае M1. Кроме того, конкордантность результатов жидкостной и тканевой биопсии статически значимо коррелировала с ухудшением БРВ на фоне терапии ингибиторами тирозинкиназы [20] (рис. 1).

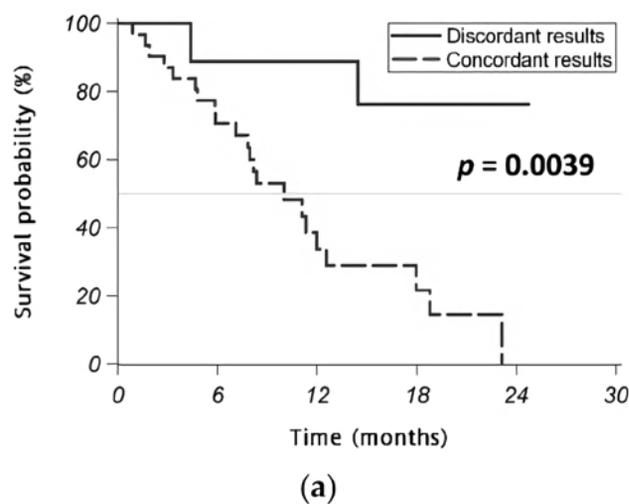


Рис. 1. Безрецидивная выживаемость у пациентов с конкордантными и дискордантными результатами жидкостной и тканевой биопсии, получавшие в 1 линию ингибиторы EGFR [20]

В проспективном исследовании Adrian G. Sacher et al., в которое входили 120 пациентов, оценивалась жидкостная биопсия для определения мутаций EGFR в 19, 21 экзонах, а также T790M. По итогам исследования, чувствительность жидкостной биопсии для делеции в 19 экзоне составила 82%, для L858R и T790M – 74% и 77%, соответственно. Чувствительность, показанная в данном исследовании, превышает такую в IGNITE и ASSESS, что вероятно связано с тем, что 95% пациентов, входивших в данную работу, имели IV стадию заболевания. Подгрупповой анализ показал, что чувствительность повышалась при увеличении количества отдаленных метастазов, достигая 100% при их количестве 4 и более [21] (рис. 2).

Хотя чувствительность жидкостной биопсии в целом уступает таковой при тканевой биопсии, в ряде случаев мутации, например T790M, могут быть обнаружены в цДНК и отсутствовать в опухолевой ткани. Данный феномен связан с опухолевой гетерогенно-

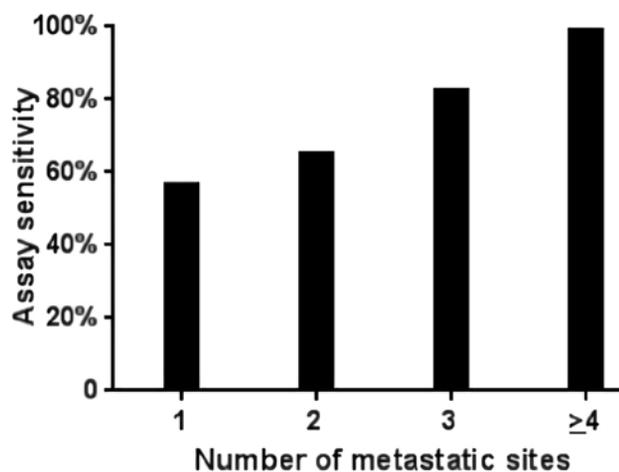


Рис. 2. Чувствительность жидкостной биопсии при определении мутаций в гене EGFR в зависимости от количества метастазов [21]

стью. Отдаленные метастазы могут иметь различный спектр мутаций и отличаться не только от первичного очага но и между собой [22, 23].

Помимо определения исходного мутационного статуса гена EGFR, перспективным направлением является динамическое исследование исходной мутации в цодНК на фоне таргетной терапии, а также отслеживание появления мутации резистентности – T790M [24]. В работе Lee JY et al., (в рамках Корейского консорциума по раку легких) у группы пациентов была определена мутация в гене EGFR. Далее проводился мониторинг наличия мутантного гена в цодНК через 2 месяца после начала таргетной терапии. В группе пациентов, у которых мутация становилась неопределяемой, медиана БРВ составила 10,1 месяца, тогда как в группе с определяемой мутацией БРВ составила 6,3 месяца [25]. В проспективном исследовании Jeng-Sen Tseng et al., в группе пациентов из 62 человек, мутации в гене EGFR (делеция в 19 экзоне – 54,8%, L858R – 45,2%) были определены при помощи тканевой биопсии, у 37 пациентов данные мутации

также были определены с помощью жидкостной биопсии. Все пациенты получили терапию ингибиторами тирозинкиназы (гефитиниб/ эрлотиниб).

Жидкостная биопсия проводилась до начала лечения, через 10 недель на фоне терапии и в момент прогрессирования заболевания по данным визуализационного исследования (КТ, МРТ). Пациенты были разделены на 3 группы: А – отсутствие мутации EGFR в плазме до и после лечения, В – определяемая при помощи жидкостной биопсии EGFR мутация до лечения и отсутствие таковой в плазме после терапии, С – определяемая мутация в плазме до и после таргетной терапии. Далее было проведено сравнение ОВ и БРВ между данными группами [26] (рис. 3, 4).

Таким образом, данное исследование продемонстрировало, что динамические изменения в статусе мутации EGFR в плазме могут служить независимым предиктором исхода заболевания и использоваться для идентификации пациентов с риском быстрого прогрессирования.

Помимо определения эффективности терапии, использование жидкостной биопсии в динамике позволяет отследить появление мутации T790M во время терапии раньше, чем будет определена прогрессия с помощью визуализационных методов исследования. В работах Sorensen B.S. et al. и Provencio M. et al., было показано, что выявление T790M в цодНК предшествовало выявлению прогрессирования по данным КТ на срок от 15 до 344 дней в первом исследовании и в среднем на 51 день во втором [27, 28]. Эти исследования демонстрируют еще одно прикладное применение исследования мутационного статуса при помощи жидкостной биопсии – раннее выявление мутации резистентности и, соответственно, изменение терапии раньше, чем оно было бы при прогрессировании по данным визуализации [29]. Во второй фазе первого проспективного исследования применения осимертиниба при прогрессировании НМРЛ на фоне ингибиторов тирозинкиназы, основанном только

Survival Time	Time (Months)	Hazard Ratio	95% CI	P ¹	P ²
Progression-free survival					
Group A vs. B	10.6 vs. 10.9	0.97	0.49–1.91	0.933	<0.001
Group A vs. C	10.6 vs. 4.8	1.85	1.18–2.90	0.007	
Group B vs. C	10.9 vs. 4.8	4.42	1.85–10.57	0.001	
Overall survival					
Group A vs. B	NR vs. 20.5	1.35	0.43–4.31	0.608	0.002
Group A vs. C	NR vs. 10.8	2.06	1.09–3.88	0.025	
Group B vs. C	20.5 vs. 10.8	5.47	1.45–20.62	0.012	

Рис. 3. Зависимость общей и безрецидивной выживаемости от определения мутации EGFR в цодНК плазмы до и после лечения [26]

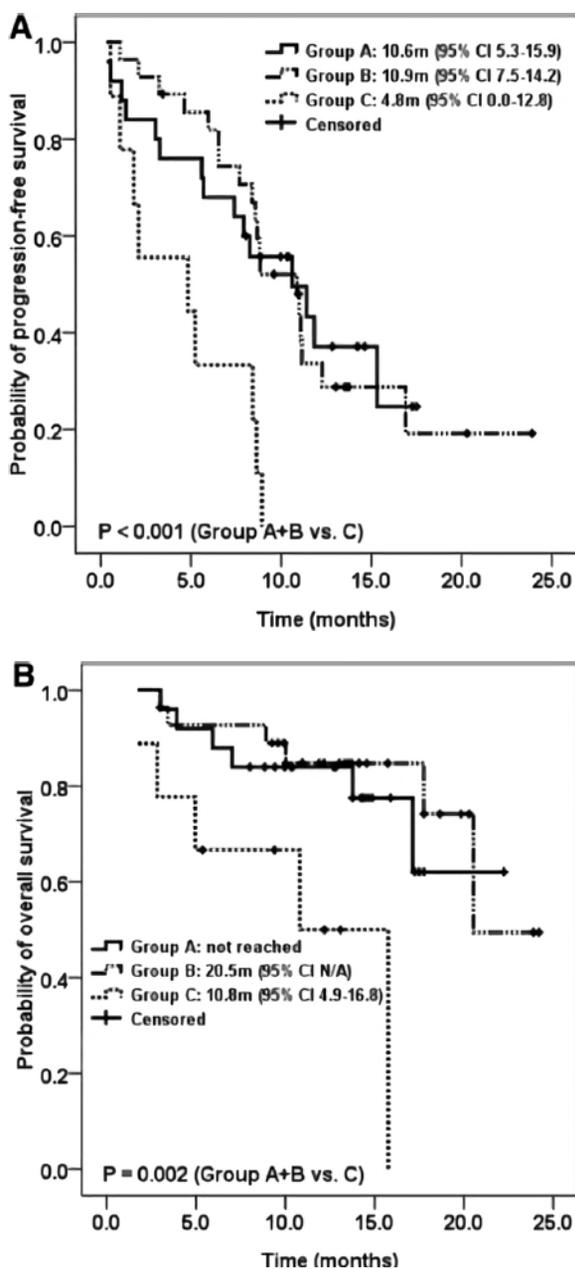


Рис. 4. Кривая Каплана-Мейера. Зависимость общей и безрецидивной выживаемости от определения мутации EGFR в цДНК плазмы до и после лечения [26]

на данных жидкостной биопсии (без определения мутационного статуса при помощи тканевой биопсии), было показано, что эффективность лечения (частота объективных ответов, медиана БРВ и др.) не уступала аналогичному при назначении осимертиниба на основании тканевой биопсии. Авторами данного исследования был сделан вывод о том, что жидкостная биопсия с исследованием цДНК может заменить стандартную биопсию опухолевой ткани для выявления мутации T790M у предлеченных ингибиторами тирозинкиназы пациентов. Однако авторы также говорят о том, что при отсутствии мутации в цДНК, все же рекомендовано проведение тканевой биопсии для уточнения [30].

Жидкостная биопсия как метод определения минимальной резидуальной болезни

Минимальная резидуальная болезнь (МРБ) определяется как наличие изолированных или циркулирующих опухолевых клеток у пациента после радикального удаления опухоли, которые не могут быть обнаружены при помощи применяемых сегодня рутинных диагностических методов [31]. Термин МРБ относительно рака легкого применим к группе больных с I–IIIА стадией заболевания, перенесших радикальную операцию [32]. На данный момент единственной опцией, доступной для данной группы пациентов является адъювантная ПХТ [33]. Однако в настоящее время активно изучается альтернативная тактика ведения данных пациентов – назначение таргетной терапии в адъюванте на основе мутационного статуса опухоли [34]. Как пример можно привести крупное рандомизированное, двойное слепое плацебо-контролируемое исследование RADIANT. В данную работу было включено 2500 пациентов, с I–IIIА стадией НМРЛ, которым было проведено радикальное хирургическое лечение с последующей оценкой операционного материала на предмет наличия мутации в гене EGFR. В послеоперационном периоде пациенты были рандомизированы на 2 группы: получающие эрлотиниб и получающие плацебо. По результатам исследования не было статистически значимой разницы в БРВ – медиана, 50,5 месяца для эрлотиниба и 48,2 месяца для плацебо. Однако подгрупповой анализ показал, что среди 161 пациента (16,5%) в EGFRm-позитивной подгруппе БРВ в группе эрлотиниба оказалась лучше, чем в группе плацебо – 46,4 против 28,5 месяцев (рис. 5), хотя данные и были со статистической погрешностью из-за иерархической системы тестирования [35].

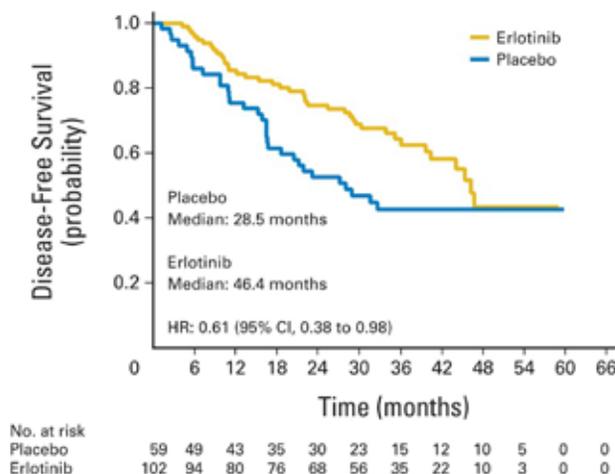


Рис. 5. Безрецидивная выживаемость пациентов, получавших эрлотиниб, в подгруппе с мутацией в гене EGFR vs плацебо [35]

Даже группа пациентов с EGFRm первичной опухолью является неоднородной в плане опухолевого и мутационного статуса после операции (рис. 6).



Рис. 6. Распределение пациентов, перенесших операцию, на группы относительно наличия/отсутствия MRD и мутационного статуса оставшихся опухолевых клеток

Таким образом, применение таргетных препаратов в качестве адъювантного лечения может являться одной из альтернатив для пациентов, перенесших радикальное лечение, однако требует четких критериев назначения, которые отсутствуют на данный момент.

Очевидно, что биопсия операционного материала не может предоставить необходимую информацию, а жидкостная биопсия с оценкой мутаций в цоДНК может ответить на ряд ключевых вопросов: присутствуют ли в организме оставшиеся опухолевые клетки и имеют ли они таргетную мутацию. Учитывая короткий период полураспада цоДНК – от 16 минут до 2,5 часов, результаты жидкостной биопсии даже в раннем послеоперационном периоде будут представлять актуальную информацию, поскольку цоДНК, продуцируемые первичной опухолью, уже деградируют к этому времени.

Помимо потенциальной роли в выработке критериев назначения адъювантной таргетной терапии, жидкостная биопсия перспективна и в селекции

группы пациентов, которые получают максимальное преимущество от назначения адъювантной химиотерапии [36]. По данным крупного мета-анализа, адъювантная химиотерапия на основе платины дает около 5% прибавки к 5-летней выживаемости пациентам с резектабельным НМРЛ [37]. Более того, не все пациенты получают выигрыш от проведения ПХТ [38]. Поскольку обнаружение цоДНК в плазме указывает на наличие остаточной опухолевой ткани, было предложено использовать этот биомаркер для оценки МРБ после хирургического лечения НМРЛ. Chaudhuri et al., показали, что послеоперационное обнаружение цоДНК было связано в 100% случаев (20/20 пациентов) с рецидивом заболевания. Кроме того, обнаружение цоДНК предшествовало рентгенологическому обнаружению прогрессирования у 72% пациентов со средним значением 5,2 месяца. Наличие цоДНК в этом исследовании было признано независимым прогностическим фактором: у пациентов с наличием цоДНК в образце, взятом менее чем через 4 месяца по-

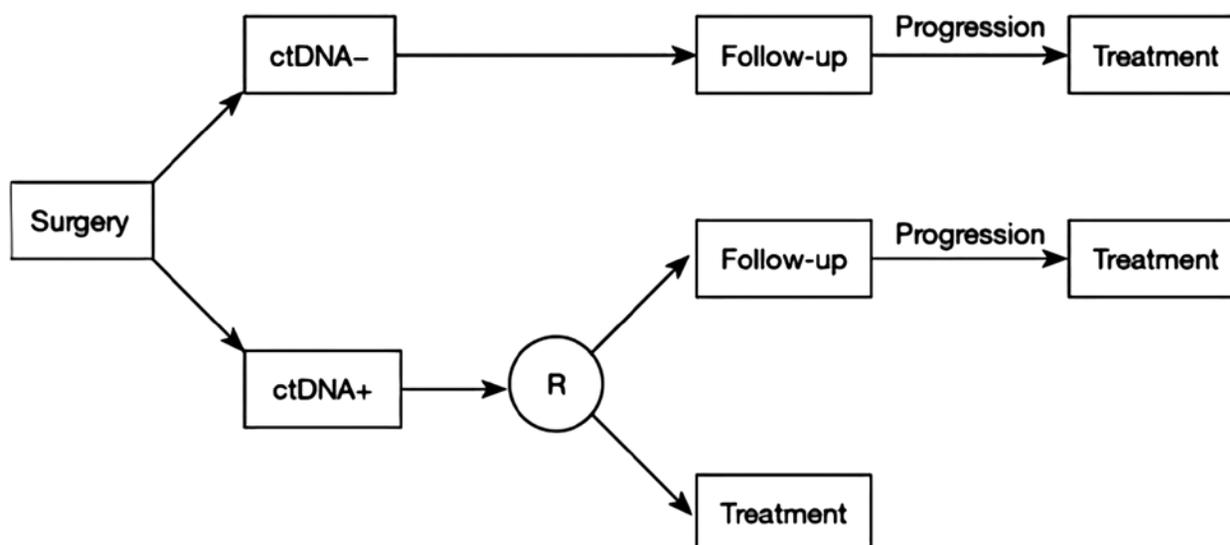


Рис. 7. Дизайн исследования, определяющего наличие/отсутствие преимущества назначения адъювантной химиотерапии на основе тестирования пациентов на наличие/отсутствие цоДНК после радикальной операции

сле операции, была значительно ниже БРВ и ОВ, чем у пациентов с неопределяемой цоДНК – 36-месячная БРВ=0% против 93%, соответственно [39].

Таким образом, перспективным выглядит исследование, в котором пациенты после радикальной операции будут тестироваться на наличие цоДНК, после чего при отрицательном результате наблюдаться до прогрессирования, а при положительном – рандомизироваться на 2 группы – в контрольной наблюдаться до прогрессирования а затем получать адьювантную химиотерапию, в экспериментальной – сразу получать стандартную адьювантную ПХТ (рис. 7).

Заключение

Жидкостная биопсия является перспективным методом диагностики НМРЛ, позволяющим определить мутационный статус в случае распространенного заболевания для назначения 1 линии таргетной терапии. Данный метод лишен многих недостатков, присущих тканевой биопсии, с его помощью становится

возможным отслеживании мутационной нагрузки в динамике как на фоне таргетного лечения, так и после радикальной операции для дальнейшего стратифицирования пациентов, конечно, данные методы в настоящий момент не применяются в рутинной практике, однако клинические исследования показывают их потенциальную эффективность. Пожалуй, единственным недостатком жидкостной биопсии является недостаточно высокая чувствительность по сравнению с тканевой биопсией, однако данная проблема скорее всего будет решена путем оптимизации и доработки методов детекции циркулирующей опухолевой ДНК и ее мутационного статуса. Кроме того, при использовании жидкостной биопсии в ряде случаев обнаруживаются мутации, не выявленные в первичной опухоли, что позволяет нивелировать феномен опухолевой гетерогенности при диагностике НМРЛ.

Таким образом, данный метод заслуживает внимания и нуждается в дальнейшем исследовании для полноценного использования в клинической практике.

Список литературы

1. The Global Cancer Observatory – All Rights Reserved – May, 2019.
2. Miranda B. Carper and Pier Paolo Claudio. Clinical potential of gene mutations in lung cancer // Clin Transl Med. – 2015. – Vol. 4. – P. 33. Published online 2015 Nov 24.
3. Minji Lim, Vijaya Sunkara, Chi-Ju Kim et al. Liquid Biopsy in Lung Cancer: Clinical Applications of Circulating Biomarkers (CTCs and ctDNA) // Article in Micromachines. – Vol. 9, № 3. – P. 100. February 2018.
4. Camila D.M.C., Joshua M.J., Malgorzata A.W. et al. Molecular Profiling of Liquid Biopsy Samples for Precision Medicine // Cancer J. – 2018. – Vol. 24, № 2. – P. 93–103.
5. Sato Y., Matoba R., Kato K. Recent Advances in Liquid Biopsy in Precision Oncology Research // Biol Pharm Bull. – 2019. – Vol. 42, № 3. – P. 337–342.
6. Jatta S., Natalja E., Heidi A. et al. The Value of Liquid Biopsies for Guiding Therapy Decisions in Non-small Cell Lung Cancer // Front. Oncol. – 2019.
7. Pasini L., Ulivi P. Liquid Biopsy for the Detection of Resistance Mechanisms in NSCLC: Comparison of Different Blood Biomarkers // J. Clin. Med. – 2019. – Vol. 8, № 7.
8. Liu Q., Qiao L., Liang N., Xie J., Zhang J., Deng G., Luo H., Zhang J. The relationship between vasculogenic mimicry and epithelial-mesenchymal transitions // J Cell Mol Med. – 2016. – Vol. 20, № 9. – P. 1761–1769. Published online 2016 Mar 29.
9. Klotten V., Lampignano R., Krahn T. et al. Circulating Tumor Cell PD-L1 Expression as Biomarker for Therapeutic Efficacy of Immune Checkpoint Inhibition in NSCLC // Cells. – 2019. – Vol. 8, № 8. – P. 809. Published online 2019 Aug 1.
10. Shigematsu H., Lin L., Takahashi T. et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancer // J. Natl Cancer Inst. – 2005. – Vol. 97, № 5. – P. 339–346.
11. Qin B.D., Jiao X.D., Yuan L.Y., Liu K., Wang Z., Qin W.X. et al. The effectiveness of afatinib and osimertinib in a Chinese patient with advanced lung adenocarcinoma harboring a rare triple EGFR mutation (R670W/H835L/L833V): a case report and literature review // Onco Targets Ther. – 2018. – Vol. 11. – P. 4739–45.
12. Santoni-Rugiu E., Linea C.M., Edyta M.U. et al. Intrinsic Resistance to EGFR-Tyrosine Kinase Inhibitors in EGFR-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer: Differences and Similarities with Acquired Resistance – Cancers. – 2019. – Vol. 11, № 7. – P. 923.
13. Liu Y., Sun L., Xiong Z.-C. et al. Meta-analysis of the impact of de novo and acquired EGFR T790M mutations on the prognosis of patients with non-small cell lung cancer receiving EGFR-TKIs // Onco Targets Ther. – 2017. – Vol. 10. – P. 2267–2279. Published online 2017 Apr 24.
14. Fang W., Huang Y., Hong S. et al. EGFR exon 20 insertion mutations and response to osimertinib in non-small-cell lung cancer // BMC Cancer. – 2019. – Vol. 17, 19 (№ 1). – P. 595.
15. Mayo-de-Las-Casas C., Jordana-Ariza N., Garzón-Ibañez M., Balada-Bel A., Bertrán-Alamillo J., Viteri-Ramírez S. et al. Large scale, prospective screening of EGFR mutations in the blood of advanced NSCLC patients to guide treatment decisions // Ann Oncol. – 2017. – Vol. 28. – P. 2248–55.
16. Tran H., Lam V., Vasquez M. et al. P1. 01–98 Outcomes in Advanced NSCLC Patients Treated with 1st Line EGFR-TKI Based on Mutation Detection from Tissue or cfDNA-Based Genomic Sequencing.

17. Han B., Tjulandin S., Hagiwara K. et al. GFR mutation prevalence in Asia-Pacific and Russian patients with advanced NSCLC of adenocarcinoma and non-adenocarcinoma histology: The IGNITE study // Lung Cancer Volume. – 2017. – Vol. 113. – P. 37–44.
18. 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. – Vol. 11, № 10. – P. 1682–9.
19. Goldman J.W., Noor Z.S., Remon J. et al. Are liquid biopsies a surrogate for tissue EGFR testing? // Annals of Oncology. – 2018. – Vol. 29, Issue suppl_1. – P. i38–i46.
20. Kuo C.-Y., Lee M.-H., Tsai M.-J. et al. The Factors Predicting Concordant Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Mutation Detected in Liquid/ Tissue Biopsy and the Related Clinical Outcomes in Patients of Advanced Lung Adenocarcinoma with EGFR Mutations // J Clin Med. – 2019. – Vol. 8, № 11. – P. pii: E1758.
21. Adrian G.S., Paweletz C., Suzanne E.D. et al. Prospective Validation of Rapid Plasma Genotyping for the Detection of EGFR and KRAS Mutations in Advanced Lung Cancer // JAMA Oncol. – 2016. – Vol. 2, № 8. – P. 1014–22.
22. Li C., Jia R., Liu H., et al. EGFR T790M detection and osimertinib treatment response evaluation by liquid biopsy in lung adenocarcinoma patients with acquired resistance to first generation EGFR tyrosine kinase inhibitors // Diagn Pathol. – 2018. – Vol. 13, № 49.
23. Finzel A., Sadik H., Ghitti G. et al. The combined analysis of solid and liquid biopsies provides additional clinical information to improve patient care // J Cancer Metastasis Treat – 2018. – Vol. 4, № 21.
24. Li C., Jia R., Liu H. et al. EGFR T790M detection and osimertinib treatment response evaluation by liquid biopsy in lung adenocarcinoma patients with acquired resistance to first generation EGFR tyrosine kinase inhibitors // Diagn Pathol. – 2018. – Vol. 13, № 49.
25. Lee J.Y., Qing X., Xiumin W. et al. Longitudinal monitoring of EGFR mutations in plasma predicts outcomes of NSCLC patients treated with EGFR TKIs: Korean Lung Cancer Consortium (KLCC-12-02) // Oncotarget. – 2016. – Vol. 7, № 6. – P. 6984–93.
26. Tseng J.-S., Yang T.-Y., Tsai C.-R. et al. Dynamic Plasma EGFR Mutation Status as a Predictor of EGFR-TKI Efficacy in Patients with EGFR-Mutant Lung Adenocarcinoma // Journal of Thoracic Oncology. – Vol. 10, № 4. – P. 603–610.
27. Sorensen B.S., Wu L., Wei W. et al. Monitoring of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-sensitizing and resistance mutations in the plasma DNA of patients with advanced non-small cell lung cancer during treatment with erlotinib // Cancer. – 2014. – Vol. 120, № 24. – P. 3896–901.
28. Provencio M., Torrente M., Calvo V. et al. Prognostic value of quantitative ctDNA levels in non small cell lung cancer patients // Oncotarget. – 2017. – Vol. 9, № 1. – P. 488–494. eCollection 2018 Jan 2.
29. Gray J.E., Peled N., Markovets A. et al. Longitudinal circulating tumour DNA (ctDNA) monitoring for early detection of disease progression and resistance in advanced NSCLC in FLAURA // Annals of Oncology. – 2019. – Vol. 30 (suppl_5). – P. v851–v934.
30. Park C.-K., Cho H.-J., Choi Y.-D. et al. A Phase II Trial of Osimertinib in the Second-Line Treatment of Non-small Cell Lung Cancer with the EGFR T790M Mutation, Detected from Circulating Tumor DNA: LiquidLung-O-Cohort 2 – Cancer Res Treat. – 2019. – Vol. 51, № 2. – P. 777–787. Published online 2018 Sep 7.
31. Chudacek J., Bobanes T., Klein J. et al. Detection of minimal residual disease in lung cancer // Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. – 2014. – Vol. 158, № 2. – P. 189–93. Epub 2013 Apr 2.
32. Hosch S.B., Scheunemann P., Izbicki J.R. Minimal residual disease in non-small-cell lung cancer // Semin Surg Oncol. – 2001. – Vol. 20, № 4. – P. 278–81.
33. Лактионов К.К., Артамонова Е.В., Бредер В.В. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению немелкоклеточного рака легкого // Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO#3s2. – 2019. – Т. 9. – С. 32–48.
34. Ye T., Chen H. Adjuvant targeted therapy for resected NSCLC: to be or not to be? // J Thorac Dis. – 2018. – Vol. 10 (Suppl 26). – P. S3297–S3299.
35. Kelly K., Nasser K.A., Wilfried E.E. et al. Adjuvant Erlotinib Versus Placebo in Patients With Stage IB–IIIA Non-Small-Cell Lung Cancer (RADIANT): A Randomized, Double-Blind, Phase III Trial // Journal of Clinical Oncology. – Vol. 33, № 34. – P. 4007–4014.
36. Herbreteau G., Vallée A., Charpentier S. et al. Circulating free tumor DNA in non-small cell lung cancer (NSCLC): clinical application and future perspectives // Journal of Thoracic Disease (Advances in Theranostic Biomarkers for Lung Cancer: from Clinical to Molecular Pathology). – 2018. – Vol. 11, Suppl. 1. Accepted for publication Nov 30, 2018.
37. Non-Small Cell Lung Cancer Collaborative Group: Chemotherapy in non-small cell lung cancer: A meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomized clinical trials. BMJ 311: 899-909, 1995.
38. Nagasaka M., Gadgeel S.M. Role of chemotherapy and targeted therapy in early-stage non-small cell lung cancer // Expert Rev Anticancer Ther. – 2018. – Vol. 18, № 1. – P. 63–70.
39. Chaudhuri A.A., Chabon J.J., Lovejoy A.F. et al. Early Detection of Molecular Residual Disease in Localized Lung Cancer by Circulating Tumor DNA Profiling // Cancer Discov. – 2017. – Vol. 7. – P. 1394–403.

References

1. The Global Cancer Observatory. All Rights Reserved. May, 2019.
2. Miranda B. Carper and Pier Paolo Claudio. Clinical potential of gene mutations in lung cancer. Clin Transl Med. 2015; 4: 33. Published online 2015 Nov 24. doi: 10.1186/s40169-015-0074-1.

3. Minji Lim, Vijaya Sunkara, Chi-Ju Kim et al. Liquid Biopsy in Lung Cancer: Clinical Applications of Circulating Biomarkers (CTCs and ctDNA). *Article in Micromachines*. 2018 Feb, 9(3): 100. doi: 10.3390/mi9030100.
4. Camila D.M.C., Joshua M.J., Malgorzata A.W. et al. Molecular Profiling of Liquid Biopsy Samples for Precision Medicine. *Cancer J*. 2018 Mar-Apr; 24(2): 93-103. doi: 10.1097/PP0.0000000000000311.
5. Sato Y., Matoba R., Kato K. Recent Advances in Liquid Biopsy in Precision Oncology Research. *Biol Pharm Bull*. 2019; 42(3): 337-342. doi: 10.1248/bpb.b18-00804.
6. Jatta S., Natalja E., Heidi A. et al. The Value of Liquid Biopsies for Guiding Therapy Decisions in Non-Small Cell Lung Cancer. *Front. Oncol*, 05 March 2019. doi: 10.3389/fonc.2019.00129.
7. Pasini L., Ulivi P. Liquid Biopsy for the Detection of Resistance Mechanisms in NSCLC: Comparison of Different Blood Biomarkers. *J. Clin. Med*. 2019, 8(7), 998. doi: 10.3390/jcm8070998.
8. Liu Q., Qiao L., Liang N., Xie J., Zhang J., Deng G., Luo H., Zhang J. The relationship between vasculogenic mimicry and epithelial-mesenchymal transitions. *J Cell Mol Med*. 2016 Sep; 20(9): 1761-1769. doi: 10.1111/jcmm.12851.
9. Kloten V., Lampignano R., Krabn T. et al. Circulating Tumor Cell PD-L1 Expression as Biomarker for Therapeutic Efficacy of Immune Checkpoint Inhibition in NSCLC. *Cells*. 2019 Aug; 8(8): 809. doi: 10.3390/cells8080809.
10. Shigematsu H., Lin L., Takahashi T. et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancer. *J. Natl Cancer Inst*. 2005; 97(5): 339-346. doi: 10.1093/jnci/dji055.
11. Qin B.D., Jiao X.D., Yuan L.Y., Liu K., Wang Z., Qin W.X. et al. The effectiveness of afatinib and osimertinib in a Chinese patient with advanced lung adenocarcinoma harboring a rare triple EGFR mutation (R670W/H835L/L833V): a case report and literature review. *Onco Targets Ther*. 2018; 11: 4739-45. doi: 10.2147/OTT.S167346.
12. Santoni-Rugiu E., Linea C.M., Edyta M.U. et al. Intrinsic Resistance to EGFR-Tyrosine Kinase Inhibitors in EGFR-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer: Differences and Similarities with Acquired Resistance. *Cancers*, 2019; 11(7): 923. doi: 10.3390/cancers11070923.
13. Liu Y., Sun L., Xiong Z-C. et al. Meta-analysis of the impact of de novo and acquired EGFR T790M mutations on the prognosis of patients with non-small cell lung cancer receiving EGFR-TKIs. *Onco Targets Ther*. 2017 Apr 24; 10: 2267-2279. doi: 10.2147/OTT.S133082.
14. Fang W., Huang Y., Hong S. et al. EGFR exon 20 insertion mutations and response to osimertinib in non-small-cell lung cancer. *BMC Cancer*. 2019 Jun 17; 19(1): 595. doi: 10.1186/s12885-019-5820-0.
15. Mayo-de-Las-Casas C., Jordana-Ariza N., Garzón-Ibañez M., Balada-Bel A., Bertrán-Alamillo J., Viteri-Ramírez S. et al. Large scale, prospective screening of EGFR mutations in the blood of advanced NSCLC patients to guide treatment decisions. *Ann Oncol*. 2017; 28: 2248-55. doi: 10.1093/annonc/mdx288.
16. Tran H., Lam V., Vasquez M. et al. P1.01-98 Outcomes in Advanced NSCLC Patients Treated with 1st Line EGFR-TKI Based on Mutation Detection from Tissue or ctDNA-Based Genomic Sequencing. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.08.813>.
17. Han B., Tjulandin S., Hagiwara K. et al. GFR mutation prevalence in Asia-Pacific and Russian patients with advanced NSCLC of adenocarcinoma and non-adenocarcinoma histology: The IGNITE study. *Lung Cancer*. 2017 Nov; 113: 37-44. doi: 10.1016/j.lungcan.2017.08.021.
18. 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 Oct; 11(10): 1682-9. doi: 10.1016/j.jtho.2016.05.036.
19. Goldman J.W., Noor Z.S., Remon J. et al. Are liquid biopsies a surrogate for tissue EGFR testing? *Annals of Oncology*, 2018 Jan; 29 (suppl 1): i38-i46. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx706>.
20. Kuo C.-Y., Lee M.-H., Tsai M.-J. et al. The Factors Predicting Concordant Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Mutation Detected in Liquid/ Tissue Biopsy and the Related Clinical Outcomes in Patients of Advanced Lung Adenocarcinoma with EGFR Mutations. *J Clin Med*. 2019 Oct 23; 8(11): pii: E1758. doi: 10.3390/jcm8111758.
21. Adrian G.S., Paweletz C., Suzanne E.D. et al. Prospective Validation of Rapid Plasma Genotyping for the Detection of EGFR and KRAS Mutations in Advanced Lung Cancer. *JAMA Oncol*. 2016 Aug 1; 2(8): 1014-22. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.0173.
22. Li C., Jia R., Liu H. et al. EGFR T790M detection and osimertinib treatment response evaluation by liquid biopsy in lung adenocarcinoma patients with acquired resistance to first generation EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Diagn Pathol*, 2018; 13: 49. doi: 10.1186/s13000-018-0728-6.
23. Finzel A., Sadik H., Ghitti G. et al. The combined analysis of solid and liquid biopsies provides additional clinical information to improve patient care. *J Cancer Metastasis Treat*. 2018; 4: 21. doi: 10.20517/2394-4722.2018.10.
24. Li C., Jia R., Liu H. et al. EGFR T790M detection and osimertinib treatment response evaluation by liquid biopsy in lung adenocarcinoma patients with acquired resistance to first generation EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Diagn Pathol*, 2018; 13: 49. doi: 10.1186/s13000-018-0728-6.
25. Lee J.Y., Qing X., Xiumin W. et al. Longitudinal monitoring of EGFR mutations in plasma predicts outcomes of NSCLC patients treated with EGFR TKIs: Korean Lung Cancer Consortium (KLCC-12-02). *Oncotarget*. 2016 Feb 9; 7(6): 6984-93. doi: 10.18632/oncotarget.6874.
26. Tseng J.-S., Yang T.-Y., Tsai C.-R. et al. Dynamic Plasma EGFR Mutation Status as a Predictor of EGFR-TKI Efficacy in Patients with EGFR-Mutant Lung Adenocarcinoma. *Journal of Thoracic Oncology*; 10(4), 603-610. doi:10.1097/jto.0000000000000443.

27. Sorensen B.S., Wu L., Wei W. *et al.* Monitoring of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-sensitizing and resistance mutations in the plasma DNA of patients with advanced non-small cell lung cancer during treatment with erlotinib. *Cancer*. 2014 Dec 15; 120(24): 3896-901. doi: 10.1002/cncr.28964.
28. Provencio M., Torrente M., Calvo V. *et al.* Prognostic value of quantitative ctDNA levels in non small cell lung cancer patients. *Oncotarget*. 2017 Nov 16; 9(1): 488-494. doi: 10.18632/oncotarget.22470.
29. Gray J.E., Peled N., Markovets A. *et al.* Longitudinal circulating tumour DNA (ctDNA) monitoring for early detection of disease progression and resistance in advanced NSCLC in FLAURA. *Annals of Oncology*, 2019; 30 (suppl_5): v851-v934. doi: 10.1093/annonc/mdz394.
30. Park C.-K., Cho H.-J., Choi Y.-D. *et al.* A Phase II Trial of Osimertinib in the Second-Line Treatment of Non-small Cell Lung Cancer with the EGFR T790M Mutation, Detected from Circulating Tumor DNA: Liquid Lung-O-Cohort 2. *Cancer Res Treat*. 2019 Apr; 51(2): 777-787. doi: 10.4143/crt.2018.387.
31. Chudacek J., Bobanes T., Klein J. *et al.* Detection of minimal residual disease in lung cancer. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2014 Jun; 158(2): 189-93. doi: 10.5507/bp.2013.019.
32. Hosch S.B., Scheunemann P., Izbicki J.R. Minimal residual disease in non-small-cell lung cancer. *Semin Surg Oncol*. 2001 Jun; 20(4): 278-81. doi: 10.1002/ssu.1045.
33. Laktionov K.K., Artamonova E.V., Breder V.V. *et al.* Practical recommendations for the treatment of non-small cell lung cancer. *Malignant Tumors: Practical Recommendations RUSSCO#3s2*, 2019; 9: 32-48. doi: 10.18027/2224-5057-2019-9-3s2-32-48.
34. Ye T., Chen H. Adjuvant targeted therapy for resected NSCLC: to be or not to be? *J Thorac Dis*. 2018 Sep; 10 (Suppl 26): S3297-S3299. doi: 10.21037/jtd.2018.07.111.
35. Kelly K., Nasser K.A., Wilfried E.E. *et al.* Adjuvant Erlotinib Versus Placebo in Patients With Stage IB–IIIA Non-Small-Cell Lung Cancer (RADIANT): A Randomized, Double-Blind, Phase III Trial. *Journal of Clinical Oncology*; 33(34): 4007-4014. doi:10.1200/jco.2015.61.8918.
36. Herbreteau G., Vallée A., Charpentier S. *et al.* Circulating free tumor DNA in non-small cell lung cancer (NSCLC): clinical application and future perspectives. *Journal of Thoracic Disease (Advances in Theranostic Biomarkers for Lung Cancer: from Clinical to Molecular Pathology)*, 2018; 11 (Suppl. 1). doi: 10.21037/jtd.2018.12.18.
37. Non-Small Cell Lung Cancer Collaborative Group: Chemotherapy in non-small cell lung cancer: A meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomized clinical trials. *BMJ* 311: 899-909, 1995.
38. Nagasaka M., Gadgeel S.M. Role of chemotherapy and targeted therapy in early-stage non-small cell lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2018 Jan; 18(1): 63-70. doi: 10.1080/14737140.2018.1409624.
39. Chaudhuri A.A., Chabon J.J., Lovejoy A.F. *et al.* Early Detection of Molecular Residual Disease in Localized Lung Cancer by Circulating Tumor DNA Profiling. *Cancer Discov* 2017; 7: 1394-403. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-0716.