

*Клинический научно-
практический центр
специализированных видов
медицинской помощи
(онкологический)
(Санкт-Петербург, Россия)*

ЭВОЛЮЦИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ РАКА ЛЁГКОГО К ТЕРАПИИ ИНГИБИТОРАМИ EGFR: НОВЫЕ АСПЕКТЫ

Ф.В. Моисеенко

EVOLUTION OF TYROSINE KINASE RESISTANCE IN EGFR MUTATED NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Ф.В. Моисеенко

*Доктор медицинских наук,
Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр
специализированных видов медицинской помощи (онкологический),
197758, Россия, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68А.
Тел.: 8 (812) 573-9191, E-mail: moiseenkoftv@gmail.com.*

F.V. Moiseenko

*Doctor of Medicine,
St. Petersburg Clinical Research Center of specialized types of care (Oncology),
197758, Russia, St. Petersburg, Leningradskaya st. 68A.
Phone: 8 (812) 573-9191, E-mail: moiseenkoftv@gmail.com.*

Открытие активирующих мутаций рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) у части пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) по праву считается одним из наиболее значимых достижений в онкологии за несколько последних десятилетий. Применение для этой группы больных, составляющей для европейской популяции 15-20% от всех аденокарцином легкого, низкомолекулярных ингибиторов тирозин-киназы (ИТК) EGFR позволяет существенно увеличить частоту объективных ответов, качество жизни, время до прогрессирования и общую продолжительность жизни относительно терапии цитостатическими препаратами. Несмотря на выраженную клиническую эффективность этого класса препаратов у пациентов с мутациями EGFR, для подавляющего большинства больных характерно развитие резистентности к терапии. В связи с тем, что мутации EGFR являются относительно ранним событием в карциногенезе, абсолютное большинство опухолевых клеток до начала терапии ИТК имеют это молекулярное нарушение. Эта относительная гомогенность определяет высокую частоту и глубину первичных ответов на ИТК EGFR. Тем не менее, опухоли, ассоциированные с мутациями EGFR, имеют признаки генетической нестабильности, которые определяют мутационную нагрузку и существование субклональных популяций, что и лежит в основе появления клеток с различными механизмами резистентности. На настоящий момент идентифицировано много механизмов приобретенной резистентности. Среди них изменения, шунтирующие EGFR (такие как амплификация MET, HER2, BRAF и др.), изменения АТФ-связывающего кармана (в том числе T790M, C797S), а также фенотипическая трансформация в мелкоклеточный рак легкого.

Ключевые слова: *немелкоклеточный рак легкого, рецептор эпидермального фактора роста, таргетная терапия, молекулярная генетика, резистентность.*

Discovery of TKI-sensitizing EGFR mutations (EGFR-M+) in non-small cell lung cancer (NSCLC) is often regarded as the most spectacular event in clinical oncology during last decades. However, treatment with drugs targeting EGFR (TKIs) almost never results in complete tumor eradication and inevitably results in the regrowth of tumor. Inevitably after dramatic primary response to TKI in EGFR mutated NSCLC all

patients develop disease progression. Development of resistance to targeted therapies is a major contributor to mortality in patients with oncogene addicted NSCLC. Since EGFR mutation is an early event in carcinogenesis the absolute majority of tumor cells harbor activating mutation prior to treatment with TKI. This relative homogeneity underlies high frequency and depth of primary responses to TKI. Still EGFR driven tumors have genetic instability that influences mutational burden and sub-clonality though in a lower level than in tumors without activating mutations. Several mechanisms are shown to drive acquired resistance. Among them EGFR bypass (including MET, HER2, BRAF, etc.) and EGFR ATP pocket alterations (i.e. T790M, C797S, etc.) as far as phenotypic transformation to small cell lung cancer (EMT). Still the properties and mechanisms of transitional state from sensitive to resistant status are studied insufficiently. Two actual explanations for primary insensitivity are described in the literature. First, there are preexisting low-frequency clones that harbor resistance mechanisms identified at the time of clinical progression. Second, some genetically indistinguishable cells during first weeks of treatment acquire phenotypical properties (drug tolerant status) that allow them to survive first TKI pressure, divide and proliferate, and therefore develop resistance mechanisms. While the acquired resistance mechanisms are studied heavily enough, there are only few identified molecules that probably participate in phenotypical transformation to «drug tolerant status». Among them Wnt/tankyrase/ β – catenin pathway, casein kinase 1a, IGF-1R, STAT3 are shown to make EGFR mutated cells insensitive to TKI. Identification of the mechanisms underlying incomplete block of tumor cells proliferation during first period of treatment with either TKI in oncogene addicted NSCLC will help to change primary treatment and therefore to cure these patients.

Keywords: non-small cell lung cancer; epidermal growth factor receptor; targeted therapy, resistance.

Открытие активирующих мутаций рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) у части пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) по праву считается одним из наиболее значимых достижений в онкологии за несколько последних десятилетий [1–3]. Применение для этой группы больных, составляющей в европейской популяции 15–20% от всех аденокарцином легкого, низкомолекулярных ингибиторов тирозин-киназы (ИТК) EGFR позволяет существенно увеличить частоту объективных ответов, качество жизни, время до прогрессирования и общую продолжительность жизни относительно терапии цитостатическими препаратами [4–11]. Несмотря на выраженную клиническую эффективность ИТК, у большинства пациентов на фоне относительного благополучия рано или поздно начинается рост опухолевых очагов.

Современные представления о приобретенной резистентности

Неминуемо после выраженного эффекта на фоне ИТК при НМРЛ с мутацией EGFR у всех пациентов возникает резистентность к терапии [12]. На настоящий момент выделяется два принципиальных состояния опухоли по отношению к таргетной терапии: чувствительность и резистентность.

Первое состояние – до начала терапии ИТК, определяется чувствительностью практически всех опухолевых клеток к блокированию мишени ИТК. Экспозиция ИТК-наивной опухоли к активной концентрации низкомолекулярного препарата приводит к быстрому снижению пролиферативной активности, увеличению уровня апоптоза, что клинически проявляется уменьшением объема опухолевых очагов. Даже на уровне максимального эффекта полное исчезновение опухолевых клеток (патоморфологический полный регресс) наблюдается крайне редко [13, 14]. При этом выявление единичных клеток с наличием

активирующих мутаций, специфичных для опухоли, высокочувствительными методами на основе аллельспецифической ПЦР в образцах с полным патоморфологическим регрессом вызывают большие сомнения относительно принципиальной возможности его достижения на фоне таргетной терапии.

Второе состояние – достигается на фоне терапии ИТК, определяется замещением опухоли клетками, потерявшими чувствительность к блокаде первично драйверных сигнальных каскадов. К этому состоянию опухоль приходит на фоне терапии ИТК через определенное время у всех пациентов, характеризующееся в клинических исследованиях медианой времени до прогрессирования (8–12 месяцев для ингибиторов первого поколения – эрлотиниба и gefitinиба; 10–14 месяцев для ингибиторов второго поколения – афатиниба и дакомитиниба) [6–8, 15, 16]. Потеря чувствительности опухолевых клеток к ИТК может быть обусловлена активацией сигнальных каскадов, «шунтирующих» сигнальный путь EGFR, среди которых наиболее частыми являются MET, HER2, BRAF; изменением конформации самого АТФ-связывающего кармана тирозинкиназы EGFR, наиболее часто за счет мутации T790M, а также эпителиально-мезенхимальным переходом (трансформация в мелкоклеточный рак легкого) [17–22]. Для 20–30% случаев приобретенной резистентности механизм потери чувствительности остается неизвестным [20]. Применение в этих ситуациях секвенирования следующего поколения (NGS) с целью выявления доминирующего механизма развития резистентности позволяет выявить многочисленные молекулярные нарушения, включая мутации BRAF, RAF1, PIK3CA, которые, однако, остаются до настоящего момента неподтвержденными [23].

Существование описанных выше состояний подтверждается существенными генетическими различиями, выявляемыми при анализе ИТК-наивных и ИТК-резистентных образцов [24, 25]. В то время как

резистентность является абсолютной характеристикой таргетной терапии, присутствие в ИТК-наивных опухолях клонов, несущих описанные ранее механизмы приобретенной резистентности, встречается крайне редко.

Клинические попытки преодоления приобретенной резистентности

С учетом того, что механизмы приобретенной резистентности к ИТК EGFR изучены довольно тщательно, на настоящий момент уже исследовано большое число различных вариантов воздействия при потере чувствительности, среди которых применение ингибиторов EGFR 3-го поколения при мутации T790M, комбинации ИТК EGFR с химиотерапией, другими таргетными препаратами, такими как ингибиторы MEK, PI3K, HER2, PD-1 [26–34]. Несмотря на определенные успехи, большинство из этих вариантов не привели к выраженным эффектам и не сравнивались со стандартным вариантом лечения – цитостатической терапией. Исключением являются ИТК EGFR 3-го поколения, продемонстрировавшие преимущество относительно стандартного лечения и зарегистрированные для применения [26]. Тем не менее, даже результаты применения новых ИТК при развитии резистентности с точки зрения времени до прогрессирования существенно уступают таковым у пациентов, не получавших лечения, что, по-видимому, обусловлено нарастанием гетерогенности опухоли на фоне проводимой терапии [24, 35]. Таким образом, вопрос преодоления приобретенной резистентности к ИТК, несмотря на активное фундаментальное и клиническое изучение, остается до настоящего момента нерешенным.

Переход опухоли от чувствительного состояния в резистентное – предпосылки к существованию переходного состояния и «персистирующего фенотипа» («*persisting phenotype*»)

Механизм и кинетика перехода опухоли из ИТК-наивного в ИТК-резистентное состояние на настоящее время неизвестны. Есть веские основания предполагать существование третьего – переходного состояния, называемого «*drug tolerant status*» и характеризуемого выживанием части опухолевых клеток за счет приобретения «персистирующего фенотипа» на фоне продолженного воздействия ИТК, а также отсутствием репопуляции клеток с наличием механизмов приобретенной резистентности к ИТК. В данном состоянии опухолевые клетки, не имеющие генетических нарушений, определяющих резистентность, продолжают существовать. Через определенное время клетки пережившие воздействие ИТК начинают делиться, что определяет со временем формирование резистентных клонов.

На настоящий момент о переходном состоянии известно относительно немного, а большая часть имеющихся данных получена в экспериментах на клеточных линиях.

Приобретение частью клеток «персистирующего фенотипа» происходит в течение первых дней или недель от начал терапии ИТК. В связи с тем, что практически 100% опухолевых клеток ИТК-наивной опухоли чувствительны к блокированию белка с драйверной мутацией максимальный противоопухолевый эффект на фоне ИТК достигается крайне быстро. В клеточных линиях (PC-9) максимальная гибель опухолевых клеток достигается в течение нескольких дней [36]. На животных моделях *in vivo* противоопухолевый эффект по данным ПЭТ-КТ выявлялся в течение первых 24 часов [37]. Клиническое улучшение и максимальное уменьшение опухоли у пациентов наблюдается в течение первых двух недель от начала терапии [38].

Приобретаемый частью опухолевых клеток «персистирующий фенотип» определяет нечувствительность опухолевых клеток ко всем видам стресса. В единственной на настоящий момент опубликованной работе показана резистентность клеток с этим фенотипом к 100-кратному увеличению концентрации эрлотиниба, а также цисплатину [39]. Нечувствительность резистентных опухолевых клеток к большинству известных методов противоопухолевой терапии подтверждается и результатами многочисленных попыток комбинирования ИТК с другими препаратами [40–47]. Ни одна из исследованных комбинаций, включая цитотоксические, антиангиогенные препараты, не привела к предотвращению возникновения приобретенной резистентности.

На протяжении всего этапа отсутствия роста опухоли, характеризуемого клинически как длительность эффекта ИТК, в существовавших до начала лечения опухолевых очагах сохраняется популяция опухолевых клеток [48–50]. Данная популяция имеет крайне невысокую пролиферативную активность, что, по-видимому, определяет отсутствие рентгенологического увеличения размеров очагов на фоне терапии ИТК.

Формирование «персистирующего фенотипа» чаще всего опосредуется эпигенетическими механизмами. Многочисленные исследования, в том числе с использованием постгеномных методов молекулярного анализа показали существенные различия в генетическом профиле ИТК-наивных и ИТК-резистентных опухолей [24, 35]. Наиболее тщательно этот вопрос был изучен для вторичной мутации T790M. Если на первом этапе высокочувствительные методы позволяли выявлять T790M в ИТК-наивных образцах, то последние исследования с применением высокопродуктивных методов секвенирования следующего поколения показали крайне невысокую частоту мутаций T790M до лечения (< 1%) [22, 25, 42, 51–55]. *In vitro* эксперименты с клеточными линиями показали принципиальную возможность как предс-

уществования T790M, так и *de novo* появление T790M из «drug tolerant» клеток [56].

Время возникновения и кинетика развития приобретенной резистентности предполагает промежуточное состояние. Первичная резистентность и относительно небольшое время до прогрессирования характерно лишь для небольшой группы (около 7,5–10%) пациентов с EGFR мутированным НМРЛ [57]. Данный феномен может быть объяснен присутствием T790M в крайне небольшой (0,1%) популяции опухолевых клеток до начала лечения [56]. Кроме того, как было показано на клеточных линиях PC-9, лишь часть аллелей EGFR может нести T790M, что существенно снижает вероятность ее выявления *in vivo* даже крайне высокочувствительными методами (ddPCR). Для таких опухолей характерен короткий по длительности эффект, переходящий в прогрессию и неуклонный рост на фоне ИТК. Предсуществование резистентных клонов не может объяснить более длительные ответы на ИТК. Моделирование возможности появления T790M с учетом кинетики деления «drug tolerant» популяции показало, что для появления клона, несущего *de novo* T790M требуется несколько месяцев экспозиции к ИТК, что в значительной степени соответствует клиническим наблюдениям. На настоящий момент не идентифицировано предиктивных факторов, позволяющих прогнозировать развитие резистентности через тот или иной механизм.

Морфологические особенности переходного состояния опухоли

Исследование ранних изменений в опухолевых клетках, позволяющих им продолжать деление несмотря на воздействие ИТК, может быть проведено на остаточной опухолевой ткани, полученной до рентгенологического прогрессирования заболевания. Описание остаточной опухолевой ткани было проведено при изучении хирургических образцов, полученных на фоне терапии ИТК до появления клинических и радиологических признаков резистентности [58]. К сожалению, подобных работ крайне немного и большинство не предполагало проведение молекулярно-генетического анализа ткани остаточной опухоли. В качестве примера можно привести исследования 2-й фазы неоадьювантного применения ИТК 1-го поколения у больных с EGFR мутированным НМРЛ или смешанных когортах [48–50]. В обоих исследованиях патологический анализ хирургических образцов показал снижение пролиферативного индекса и, как следствие, снижение клеточности, замещение опухолевой ткани лимфоидной и соединительной. Кроме того, в литературе доступен анализ нескольких случаев исследования резидуальной опухоли у больных, получавших ИТК 1-го поколения, которым по различным причинам было выполнено хирургическое удаление опухолевых очагов [13, 14, 59, 60]. Полный патоморфологический регресс был выявлен лишь у одного пациента с длительной ремиссией

на фоне терапии ИТК, во всех остальных случаях, несмотря на выраженный рентгенологический эффект, в образцах выявлялись опухолевые клетки. Ни в одном из описанных в литературе случаев не проводился молекулярно-генетический анализ хирургических образцов на фоне продолжающегося эффекта ИТК с целью выявления особенностей персистирующих опухолевых клеток. В связи с этим детальные молекулярно-генетические характеристики остаточной опухоли не определены. В моделях *in vivo* показано, что на фоне первичного противоопухолевого эффекта повышается инфильтрация CD45+ лейкоцитами, натуральными киллерами и CD8+ лимфоцитами, выражено снижается пролиферативная активность опухолевых клеток. Исследования опухолевого материала в двух проспективных исследованиях 2-й фазы по оценке неоадьювантной терапии гекситинибом, а также нескольких отдельных клинических случаев выявили снижение пролиферативной активности опухолевых клеток, замещение ее стромой.

Молекулярно-генетические особенности переходного состояния опухоли

Многими группами исследователей показано, что выживание опухолевых клеток, составляющих остаточную опухоль, достигается за счет быстрых эпигенетических изменений [36, 56]. Данный механизм позволяет субпопуляции опухолевых клеток выжить и сформировать резерв опухолевых клеток для формирования различных гетерогенных механизмов резистентности: на клеточных линиях показано сохранение на фоне экспозиции к ИТК части (0,3%) клеток в «спящем» состоянии [36]. Данная субпопуляция обогащена клетками, экспрессирующими маркеры стволовых клеток – CD133 и CD25. Отличия экспрессионного профиля от ИТК-наивных опухолей соответствует последствиям активации одной из гистоновых деацетилаз – KDM1A. Механизм активации KDM1A неизвестен. В пользу эпигенетического механизма этого перехода говорит также возможность реверсии чувствительности на фоне перерывов в лечении («выходных лечения»).

Клоны, произошедшие от первичных персистирующих клеток, охарактеризованы с точки зрения чувствительности к комбинациям различных препаратов и ИТК (панель из 560 препаратов) [56]. Разные клоны обладали различной чувствительностью к комбинациям. Скрининг на чувствительность к комбинациям выявил различные механизмы резистентности в разных клонах. При этом универсального класса для воздействия на персистирующие клетки не выявлено. Скрининг клонов, произошедших из персистирующих клеток, на генетические механизмы резистентности выявил фактически весь спектр описанных ранее механизмов резистентности (включая T790M, амплификацию MET, мутации NRAS, а также новый механизм – амплификация RAF1).

Предотвращение возникновения приобретенной резистентности

Другое направление по улучшению результатов лечения больных с активирующими мутациями связано с предотвращением возникновения резистентности за счет максимального воздействия на наивную с точки зрения противоопухолевого лечения опухоль – «double-hit» [61]. Среди направлений можно выделить различные варианты дозирования уже зарегистрированных препаратов, комбинации с цитостатиками, антиангиогенными и непротоопухолевыми препаратами, включая средства нетрадиционной китайской медицины [40–47]. Большинство из этих попыток

предпринимались эмпирически, без учета конкретного механизма резистентности и существенно не изменили общую парадигму лечения.

Таким образом, на настоящий момент преодоление резистентности является основной проблемой, которая стоит на пути излечения больных НМРЛ с наличием активирующих мутаций. При этом возможность предотвращения формирования резистентного клона опухоли на фоне проводимой лекарственной терапии представляется существенно более реалистичной, нежели динамическое мониторирование механизмов резистентности и применение соответствующих препаратов для ее преодоления.

Список литературы

1. Lynch T.J., Bell D.W., Sordella R., Gurubagavatula S., Okimoto R.A., Brannigan B.W., Harris P.L., Haserlat S.M., Supko J.G., Haluska F.G., Louis D.N., Christiani D.C., Settleman J., Haber D.A. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. // *N Engl J Med.* – 2004. – Vol. 350(21). – P. 2129–2139.
2. Paez J.G., Janne P.A., Lee J.C., Tracy S., Greulich H., Gabriel S., Herman P., Kaye F.J., Lindeman N., Boggon T.J., Naoki K., Sasaki H., Fujii Y., Eck M.J., Sellers W.R., Johnson B.E., Meyerson M. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. // *Science.* – 2004. – Vol. 304(5676). – P. 1497–1500.
3. Pao W., Miller V., Zakowski M., Doherty J., Politi K., Sarkaria I., Singh B., Heelan R., Rusch V., Fulton L., Mardis E., Kupfer D., Wilson R., Kris M., Varmus H. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from «never smokers» and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2004. – Vol. 101(36). – P. 13306–13311.
4. Rosell R., Moran T., Queralt C., Porta R., Cardenal F., Camps C., Majem M., Lopez-Vivanco G., Isla D., Provencio M., Insa A., Massuti B., Gonzalez-Larriba J.L., Paz-Ares L., Bover I., Garcia-Campelo R., Moreno M.A., Catot S., Rolfo C., Reguart N., Palmero R., Sanchez J.M., Bastus R., Mayo C., Bertran-Alamillo J., Molina M.A., Sanchez J.J., Taron M. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. // *N Engl J Med.* – 2009. – Vol. 361(10). – P. 958–967.
5. Rosell R., Carcereny E., Gervais R., Vergnenegre A., Massuti B., Felip E., Palmero R., Garcia-Gomez R., Pallares C., Sanchez J.M., Porta R., Cobo M., Garrido P., Longo F., Moran T., Insa A., De Marinis F., Corre R., Bover I., Illiano A., Dansin E., de Castro J., Milella M., Reguart N., Altavilla G., Jimenez U., Provencio M., Moreno M.A., Terrasa J., Munoz-Langa J., Valdivia J., Isla D., Domine M., Molinier O., Mazieres J., Baize N., Garcia-Campelo R., Robinet G., Rodriguez-Abreu D., Lopez-Vivanco G., Gebbia V., Ferrera-Delgado L., Bombaron P., Bernabe R., Bazarz A., Artal A., Cortesi E., Rolfo C., Sanchez-Ronco M., Drozdowskyj A., Queralt C., de Aguirre I., Ramirez J.L., Sanchez J.J., Molina M.A., Taron M., Paz-Ares L. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. // *Lancet Oncol.* – 2012. – Vol. 13(3). – P. 239–246.
6. Mok T.S., Wu Y.L., Thongprasert S., Yang C.H., Chiu D.T., Saijo N., Sunpaweravong P., Han B., Margono B., Ichinose Y., Nishiwaki Y., Ohe Y., Yang J.J., Chewaskulyong B., Jiang H., Duffield E.L., Watkins C.L., Armour A.A., Fukuoka M. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. // *N Engl J Med.* – 2009. – Vol. 361(10), P. 947–957.
7. Sequist L.V., Yang J.C., Yamamoto N., O'Byrne K., Hirsh V., Mok T., Geater S.L., Orlov S., Tsai C.M., Boyer M., Su W.C., Benmouna J., Kato T., Gorbunova V., Lee K.H., Shab R., Massey D., Zazulina V., Shabidi M., Schuler M. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. // *J Clin Oncol.* – 2013. – Vol. 31(27). – P. 3327–3334.
8. Wu Y.L., Zhou C., Hu C.P., Feng J., Lu S., Huang Y., Li W., Hou M., Shi J.H., Lee K.Y., Xu C.R., Massey D., Kim M., Shi Y., Geater S.L. Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial. // *Lancet Oncol.* – 2014. – Vol. 15(2). – P. 213–222.
9. Moiseyenko V., Imyanitov E., Levchenko E., Procenko S., Orlova R., Iyevleva A., Buslov K., Ulibina Y., Matsko D., Moiseyenko F. EGFR mutations and gefitinib sensitivity in patients with metastatic non-squamous non-small cell lung cancer // *J Clin Oncol.* – 2008. – Vol. 26 (abstr 19075).
10. Moiseyenko V.M., Procenko S.A., Levchenko E.V., Barchuk A.S., Matsko D.E., Moiseyenko F.V., Ivantsov A.O., Iyevleva A.G., Mitiushkina N.V., Imyanitov E.N. First-line treatment of EGFR mutation-positive non-small cell lung cancer (NSCLC) by gefitinib // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27 (suppl; abstr e19088).
11. Moiseyenko V.M., Procenko S.A., Levchenko E.V., Barchuk A.S., Moiseyenko F.V., Iyevleva A.G., Mitiushkina N.V., Togo A.V., Semionov I.I., Ivantsov A.O., Matsko D.E., Imyanitov E.N. High efficacy of first-line gefitinib in non-Asian patients with EGFR-mutated lung adenocarcinoma. // *Onkologie.* – 2010. – Vol. 33(5). – P. 231–238.

12. *Dagogo-Jack I., Shaw A.T.* Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies. // *Nat Rev Clin Oncol.* – 2017.
13. *Hishida T., Yoshida J., Aokage K., Nagai K., Tsuboi M.* Long-term outcome of surgical resection for residual or regrown advanced non-small cell lung carcinomas following EGFR-TKI treatment: report of four cases. // *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* – 2016. – Vol. 64(7). – P. 429–433.
14. *Weber B., Sorensen B.S., Knap M.M., Madsen H.H., Nexø E., Meldgaard P.* Complete pathologic response in lung tumors in two patients with metastatic non-small cell lung cancer treated with erlotinib. // *J Thorac Oncol.* – 2011. – Vol. 6(11). – P. 1946–1949.
15. *Wu Y.L., Zhou C., Liam C.K., Wu G., Liu X., Zhong Z., Lu S., Cheng Y., Han B., Chen L., Huang C., Qin S., Zhu Y., Pan H., Liang H., Li E., Jiang G., How S.H., Fernando M.C., Zhang Y., Xia F., Zuo Y.* First-line erlotinib versus gemcitabine/cisplatin in patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: analyses from the phase III, randomized, open-label, ENSURE study. // *Ann Oncol.* – 2015. – Vol. 26(9). – P. 1883–1889.
16. *Wu Y.L., Cheng Y., Zhou X., Lee K.H., Nakagawa K., Niho S., Tsuji F., Linke R., Rosell R., Corral J., Migliorino M.R., Pluzanski A., Sbar E.I., Wang T., White J.L., Nadanaciva S., Sandin R., Mok T.S.* Dacomitinib versus gefitinib as first-line treatment for patients with EGFR-mutation-positive non-small-cell lung cancer (ARCHER 1050): a randomised, open-label, phase 3 trial. // *Lancet Oncol.* – 2017. – Vol. 18(11). – P. 1454–1466.
17. *Kosaka T., Yatabe Y., Endoh H., Yoshida K., Hida T., Tsuboi M., Tada H., Kuwano H., Mitsudomi T.* Analysis of epidermal growth factor receptor gene mutation in patients with non-small cell lung cancer and acquired resistance to gefitinib. // *Clin Cancer Res.* – 2006. – Vol. 12(19). – P. 5764–5769.
18. *Nguyen K.S., Kobayashi S., Costa D.B.* Acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancers dependent on the epidermal growth factor receptor pathway. // *Clin Lung Cancer.* – 2009. – Vol. 10(4). – P. 281–289.
19. *Takezawa K., Pirazzoli V., Arcila M.E., Nebhan C.A., Song X., de Stanchina E., Obashi K., Janjigian Y.Y., Spitzler P.J., Melnick M.A., Riely G.J., Kris M.G., Miller V.A., Ladanyi M., Politi K., Pao W.* HER2 amplification: a potential mechanism of acquired resistance to EGFR inhibition in EGFR-mutant lung cancers that lack the second-site EGFR T790M mutation. // *Cancer Discov.* – 2012. – Vol. 2(10). – P. 922–933.
20. *Yu H.A., Arcila M.E., Rekhman N., Sima C.S., Zakowski M.F., Pao W., Kris M.G., Miller V.A., Ladanyi M., Riely G.J.* Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. // *Clin Cancer Res.* – 2013. – Vol. 19(8). – P. 2240–2247.
21. *Arcila M.E., Oxnard G.R., Nafa K., Riely G.J., Solomon S.B., Zakowski M.F., Kris M.G., Pao W., Miller V.A., Ladanyi M.* Rebiopsy of lung cancer patients with acquired resistance to EGFR inhibitors and enhanced detection of the T790M mutation using a locked nucleic acid-based assay. // *Clin Cancer Res.* – 2011. – Vol. 17(5). – P. 1169–1180.
22. *Oxnard G.R., Schwartz L.H.* Response phenotype as a predictive biomarker to guide treatment with targeted therapies. // *J Clin Oncol.* – 2013. – Vol. 31(30). – P. 3739–3741.
23. *Li C., Liu H., Zhang B., Gong L., Su Y., Zhang Z., Wang C.* Whole-exome sequencing identifies key mutated genes in T790M wildtype / cMET-unamplified lung adenocarcinoma with acquired resistance to first-generation EGFR tyrosine kinase inhibitors. // *J Cancer Res Clin Oncol.* – 2018P.
24. *Jamal-Hanjani M., Wilson G.A., McGranahan N., Birkbak N.J., Watkins T.B.K., Veeriah S., Shafi S., Johnson D.H., Mitter R., Rosenthal R., Salm M., Horswell S., Escudero M., Matthews N., Rowan A., Chambers T., Moore D.A., Turajlic S., Xu H., Lee S.M., Forster M.D., Ahmad T., Hiley C.T., Abbosh C., Falzon M., Borg E., Marafioti T., Lawrence D., Hayward M., Kolvekar S., Panagiotopoulos N., Janes S.M., Thakrar R., Ahmed A., Blackball F., Summers Y., Shab R., Joseph L., Quinn A.M., Crosbie P.A., Naidu B., Middleton G., Langman G., Trotter S., Nicolson M., Remmen H., Kerr K., Chetty M., Gomersall L., Fennell D.A., Nakas A., Rathinam S., Anand G., Khan S., Russell P., Ezhil V., Ismail B., Irvin-Sellers M., Prakash V., Lester J.F., Kornaszewska M., Attanoos R., Adams H., Davies H., Dentre S., Taniere P., O'Sullivan B., Lowe H.L., Hartley J.A., Iles N., Bell H., Ngai Y., Shaw J.A., Herrero J., Szallasi Z., Schwarz R.F., Stewart A., Quezada S.A., Le Quesne J., Van Loo P., Dive C., Hackshaw A., Swanton C., TRACERx C.* Tracking the Evolution of Non-Small-Cell Lung Cancer. // *N Engl J Med.* – 2017. – Vol. 376(22). – P. 2109–2121.
25. *Lee C.K., Kim S., Lee J.S., Lee J.E., Kim S.M., Yang I.S., Kim H.R., Lee J.H., Kim S., Cho B.C.* Next-generation sequencing reveals novel resistance mechanisms and molecular heterogeneity in EGFR-mutant non-small cell lung cancer with acquired resistance to EGFR-TKIs. // *Lung Cancer.* – 2017. – Vol. 113. – P. 106–114.
26. *Mok T.S., Wu Y.-L., Abn M.-J., Garassino M.C., Kim H.R., Ramalingam S.S., Shepherd F.A., He Y., Akamatsu H., Theelen W.S., Lee C.K., Sebastian M., Templeton A., Mann H., Marotti M., Gbiorgiu S., Papadimitrakopoulou V.A., AURA3 I.* Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. // *N Engl J Med.* – 2017. – Vol. 376(7). – P. 629–640.
27. *Wu M., Yuan Y., Pan Y.Y., Zhang Y.* Combined gefitinib and pemetrexed overcome the acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. // *Mol Med Rep.* – 2014. – Vol. 10(2). – P. 931–938.
28. *Tanaka S., Sakamori Y., Niimi M., Hazama M., Kim Y.H., Yanagihara K.* Design paper: a phase II study of bevacizumab and erlotinib in patients with non-squamous non-small cell lung cancer that is refractory or relapsed after 1–2 previous treatment (BEST). // *Trials.* – 2011. – Vol. 12. – P. 120.
29. *Neal J.W., Heist R.S., Fidias P., Temel J.S., Huberman M., Marcoux J.P., Muzikansky A., Lynch T.J., Sequist L.V.* Cetuximab monotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer after prior epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor therapy. // *J Thorac Oncol.* – 2010. – Vol. 5(11). – P. 1855–1858.

30. Nakamura H., Takamori S., Fujii T., Ono M., Yamana H., Kuwano M., Shirouzu K. Cooperative cell-growth inhibition by combination treatment with ZD1839 (Iressa) and trastuzumab (Herceptin) in non-small-cell lung cancer. // *Cancer Lett.* – 2005. – Vol. 230(1). – P. 33–46.
31. Song J.Y., Kim C.S., Lee J.H., Jang S.J., Lee S.W., Huang J.J., Lim C., Lee G., Seo J., Cho S.Y., Choi J. Dual inhibition of MEK 1/2 and EGFR synergistically induces caspase-3-dependent apoptosis in EGFR inhibitor-resistant lung cancer cells via BIM upregulation. // *Invest New Drugs.* – 2013. – Vol. 31(6). – P. 1458–1465.
32. Wu S.G., Shib J.Y. Management of acquired resistance to EGFR TKI-targeted therapy in advanced non-small cell lung cancer. // *Mol Cancer.* – 2018. – Vol. 17(1). – P. 38.
33. Sequist L.V., von Pawel J., Garmey E.G., Akerley W.L., Brugger W., Ferrari D., Chen Y., Costa D.B., Gerber D.E., Orlov S., Rammlau R., Arthur S., Gorbachevsky I., Schwartz B., Schiller J.H. Randomized phase II study of erlotinib plus tivantinib versus erlotinib plus placebo in previously treated non-small-cell lung cancer. // *J Clin Oncol.* – 2011. – Vol. 29(24). – P. 3307–3315.
34. Borghaei H., Paz-Ares L., Horn L., Spigel D.R., Steins M., Ready N.E., Chow L.Q., Vokes E.E., Felip E., Holgado E., Barlesi F., Kohlbäufel M., Arrieta O., Burgio M.A., Fayette J., Lena H., Poddubskaya E., Gerber D.E., Gettinger S.N., Rudin C.M., Rizvi N., Crinò L., Blumenschein G.R., Antonia S.J., Dorange C., Harbison C.T., Graf Finckenstein F., Brahmer J.R. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. // *N Engl J Med.* – 2015. – Vol. 373(17). – P. 1627–1639.
35. Swanton C. Intratumor heterogeneity: evolution through space and time. // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72(19). – P. 4875–4882.
36. Sharma S.V., Lee D.Y., Li B., Quinlan M.P., Takahashi F., Maheswaran S., McDermott U., Azizian N., Zou L., Fischbach M.A., Wong K.K., Brandstetter K., Wittner B., Ramaswamy S., Classon M., Settleman J. A chromatin-mediated reversible drug-tolerant state in cancer cell subpopulations. // *Cell.* – 2010. – Vol. 141(1). – P. 69–80.
37. Venugopalan A., Lee M.J., Niu G., Medina-Echeverez J., Tomita Y., Lizak M.J., Cultraro C.M., Simpson R.M., Chen X., Trepel J.B., Guba U. EGFR-targeted therapy results in dramatic early lung tumor regression accompanied by imaging response and immune infiltration in EGFR mutant transgenic mouse models. // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7(34). – P. 54137–54156.
38. Kris M.G., Natale R.B., Herbst R.S., Lynch T.J.J., Prager D., Belani C.P., Schiller J.H., Kelly K., Spiridonidis H., Sandler A., Albain K.S., Cella D., Wolf M.K., Averbuch S.D., Ochs J.J., Kay A.C. Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial. // *JAMA.* – 2003. – Vol. 290(16). – P. 2149–2158.
39. Ramirez M., Rajaram S., Steininger R.J., Osipchuk D., Roth M.A., Morinishi L.S., Evans L., Ji W., Hsu C.H., Thurley K., Wei S., Zhou A., Koduru P.R., Posner B.A., Wu L.F., Altschuler S.J. Diverse drug-resistance mechanisms can emerge from drug-tolerant cancer persister cells. // *Nat Commun.* – 2016. – Vol. 7. – P. 10690.
40. Yeo W.L., Riely G.J., Yeap B.Y., Lau M.W., Warner J.L., Bodio K., Huberman M.S., Kris M.G., Tenen D.G., Pao W., Kobayashi S., Costa D.B. Erlotinib at a dose of 25 mg daily for non-small cell lung cancers with EGFR mutations. // *J Thorac Oncol.* – 2010. – Vol. 5(7). – P. 1048–1053.
41. Grommes C., Oxnard G.R., Kris M.G., Miller V.A., Pao W., Holodny A.I., Clarke J.L., Lassman A.B. «Pulsatile» high-dose weekly erlotinib for CNS metastases from EGFR mutant non-small cell lung cancer. // *Neuro Oncol.* – 2011. – Vol. 13(12). – P. 1364–1369.
42. Chmielecki J., Foo J., Oxnard G.R., Hutchinson K., Ohashi K., Somwar R., Wang L., Amato K.R., Arcila M., Sos M.L., Socci N.D., Viale A., de Stanchina E., Ginsberg M.S., Thomas R.K., Kris M.G., Inoue A., Ladanyi M., Miller V.A., Michor F., Pao W. Optimization of dosing for EGFR-mutant non-small cell lung cancer with evolutionary cancer modeling. // *Sci Transl Med.* – 2011. – Vol. 3(90). – P. 90ra59.
43. Seto T., Kato T., Nishio M., Goto K., Atagi S., Hosomi Y., Yamamoto N., Hida T., Maemondo M., Nakagawa K., Nagase S., Okamoto I., Yamanaka T., Tajima K., Harada R., Fukuoka M., Yamamoto N. Erlotinib alone or with bevacizumab as first-line therapy in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (JO25567): an open-label, randomised, multicentre, phase 2 study. // *Lancet Oncol.* – 2014. – Vol. 15(11). – P. 1236–1244.
44. Chen H., Yao W., Chu Q., Han R., Wang Y., Sun J., Wang D., Wang Y., Cao M., He Y. Synergistic effects of metformin in combination with EGFR-TKI in the treatment of patients with advanced non-small cell lung cancer and type 2 diabetes. // *Cancer Lett.* – 2015. – Vol. 369(1). – P. 97–102.
45. Liu Z.L., Zhu W.R., Zhou W.C., Ying H.F., Zheng L., Guo Y.B., Chen J.X., Shen X.H. Traditional Chinese medicinal herbs combined with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor for advanced non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. // *J Integr Med.* – 2014. – Vol. 12(4). – P. 346–358.
46. Cheng Y., Murakami H., Yang P.C., He J., Nakagawa K., Kang J.H., Kim J.H., Wang X., Enatsu S., Puri T., Orlando M., Yang J.C. Randomized Phase II Trial of Gefitinib With and Without Pemetrexed as First-Line Therapy in Patients With Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer With Activating Epidermal Growth Factor Receptor Mutations. // *J Clin Oncol.* – 2016. – Vol. 34(27). – P. 3258–3266.
47. Sugawara S., Oizumi S., Minato K., Harada T., Inoue A., Fujita Y., Maemondo M., Yoshizawa H., Ito K., Gemma A., Nishitsuji M., Harada M., Isobe H., Kinoshita I., Morita S., Kobayashi K., Hagiwara K., Kuribara M., Nukiwa T., North E.J.S.G.A.T.C.O.G. Randomized phase II study of concurrent versus sequential alternating gefitinib and chemotherapy in previously untreated non-small cell lung cancer with sensitive EGFR mutations: NEJ005/TCOG0902. // *Ann Oncol.* – 2015. – Vol. 26(5). – P. 888–894.

48. Lara-Guerra H., Waddell T.K., Salvarrey M.A., Joshua A.M., Chung C.T., Paul N., Boerner S., Sakurada A., Ludkovski O., Ma C., Squire J., Liu G., Shepherd F.A., Tsao M.S., Leigh N.B. Phase II study of preoperative gefitinib in clinical stage I non-small-cell lung cancer. // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27(36). – P. 6229–6236.

49. Lara-Guerra H., Chung C.T., Schwock J., Pintilie M., Hwang D.M., Leigh N.B., Waddell T.K., Tsao M.S. Histopathological and immunohistochemical features associated with clinical response to neoadjuvant gefitinib therapy in early stage non-small cell lung cancer. // *Lung Cancer.* – 2012. – Vol. 76(2). – P. 235–241.

50. Schaake E.E., Kappers I., Codrington H.E., Valdés Olmos R.A., Teertstra H.J., van Pel R., Burgers J.A., van Tinteren H., Klomp H.M. Tumor response and toxicity of neoadjuvant erlotinib in patients with early-stage non-small-cell lung cancer. // *J Clin Oncol.* – 2012. – Vol. 30(22). – P. 2731–2738.

51. Godin-Heymann N., Bryant I., Rivera M.N., Ulkus L., Bell D.W., Riese D.J., Settleman J., Haber D.A. Oncogenic activity of epidermal growth factor receptor kinase mutant alleles is enhanced by the T790M drug resistance mutation. // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67(15). – P. 7319–7326.

52. Mulloy R., Ferrand A., Kim Y., Sordella R., Bell D.W., Haber D.A., Anderson K.S., Settleman J. Epidermal growth factor receptor mutants from human lung cancers exhibit enhanced catalytic activity and increased sensitivity to gefitinib. // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67(5). – P. 2325–2330.

53. Oxnard G.R., Arcila M.E., Sima C.S., Riely G.J., Chmielecki J., Kris M.G., Pao W., Ladanyi M., Miller V.A. Acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in EGFR-mutant lung cancer: distinct natural history of patients with tumors harboring the T790M mutation. // *Clin Cancer Res.* – 2011. – Vol. 17(6). – P. 1616–1622.

54. Hata A., Katakami N., Kaji R., Fujita S., Imai Y. Does T790M disappear? Successful gefitinib challenge after T790M disappearance in a patient with EGFR-mutant non-small-cell lung cancer. // *J Thorac Oncol.* – 2013. – Vol. 8(3). – P. e27–9.

55. Sutto L., Gervasio F.L. Effects of oncogenic mutations on the conformational free-energy landscape of EGFR kinase. // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2013. – Vol. 110(26). – P. 10616–10621.

56. Hata A.N., Niederst M.J., Archibald H.L., Gomez-Caraballo M., Siddiqui F.M., Mulvey H.E., Marwka Y.E., Ji F., Bhang H.E., Krishnamurthy Radhakrishna V., Siravegna G., Hu H., Raoof S., Lockerman E., Kalsy A., Lee D., Keating C.L., Ruddy D.A., Damon L.J., Crystal A.S., Costa C., Piotrowska Z., Bardelli A., Iafrate A.J., Sadreyev R.I., Stegmeier F., Getz G., Sequist L.V., Faber A.C., Engelman J.A. Tumor cells can follow distinct evolutionary paths to become resistant to epidermal growth factor receptor inhibition. // *Nat Med.* – 2016. – Vol. 22(3). – P. 262–269.

57. Takeda M., Okamoto I., Fujita Y., Arao T., Ito H., Fukuoka M., Nishio K., Nakagawa K. De novo resistance to epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in EGFR mutation-positive patients with non-small cell lung cancer. // *J Thorac Oncol.* – 2010. – Vol. 5(3). – P. 399–400.

58. Zhai H., Zhong W., Yang X., Wu Y.L. Neoadjuvant and adjuvant epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) therapy for lung cancer. // *Transl Lung Cancer Res.* – 2015. – Vol. 4(1). – P. 82–93.

59. Yamamoto Y., Kodama K., Maniwa T., Takeda M. Surgical resection of advanced non-small cell lung cancer after a response to EGFR-TKI: presentation of two cases and a literature review. // *J Cardiothorac Surg.* – 2017. – Vol. 12(1). – P. 98.

60. Takamochi K., Suzuki K., Sugimura H., Funai K., Mori H., Basbar A.H., Kazui T. Surgical resection after gefitinib treatment in patients with lung adenocarcinoma harboring epidermal growth factor receptor gene mutation. // *Lung Cancer.* – 2007. – Vol. 58(1). – P. 149–155.

61. Suda K., Bunn P.A., Rivard C.J., Mitsudomi T., Hirsch F.R. Primary Double-Strike Therapy for Cancers to Overcome EGFR Kinase Inhibitor Resistance: Proposal from the Bench. // *J Thorac Oncol.* – 2017. – Vol. 12(1). – P. 27–35.

References

1. Lynch T.J., Bell D.W., Sordella R., Gurubagavatula S., Okimoto R.A., Brannigan B.W., Harris P.L., Haserlat S.M., Supko J.G., Haluska F.G., Louis D.N., Christiani D.C., Settleman J., Haber D.A. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med.* 2004; 350(21): 2129–2139.

2. Paez J.G., Janne P.A., Lee J.C., Tracy S., Greulich H., Gabriel S., Herman P., Kaye F.J., Lindeman N., Boggon T.J., Naoki K., Sasaki H., Fujii Y., Eck M.J., Sellers W.R., Johnson B.E., Meyerson M. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science.* 2004; 304(5676): 1497–1500.

3. Pao W., Miller V., Zakowski M., Doherty J., Politi K., Sarkaria I., Singh B., Heelan R., Rusch V., Fulton L., Mardis E., Kupfer D., Wilson R., Kris M., Varmus H. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from «never smokers» and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101(36): 13306–13311.

4. Rosell R., Moran T., Queralt C., Porta R., Cardenal F., Camps C., Majem M., Lopez-Vivanco G., Isla D., Provencio M., Insa A., Massuti B., Gonzalez-Larriba J.L., Paz-Ares L., Bover I., Garcia-Campelo R., Moreno M.A., Catot S., Rolfó C., Reguart N., Palmero R., Sanchez J.M., Bastus R., Mayo C., Bertran-Alamillo J., Molina M.A., Sanchez J.J., Taron M. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med.* 2009; 361(10): 958–967.

5. Rosell R., Carcereny E., Gervais R., Vergnenegre A., Massuti B., Felip E., Palmero R., Garcia-Gomez R., Pallares C., Sanchez J.M., Porta R., Cobo M., Garrido P., Longo F., Moran T., Insa A., De Marinis F., Corre R., Bover I., Illiano A., Dansin E., de Castro J., Milella M., Reguart N., Altavilla G., Jimenez U., Provencio M., Moreno M.A., Terrasa J., Munoz-

Langa J., Valdivia J., Isla D., Domine M., Molinier O., Mazieres J., Baize N., Garcia-Campelo R., Robinet G., Rodriguez-Abreu D., Lopez-Vivanco G., Gebbia V., Ferrera-Delgado L., Bombaron P., Bernabe R., Bearz A., Artal A., Cortesi E., Rolfo C., Sanchez-Ronco M., Drozdowskyj A., Queralt C., de Aguirre I., Ramirez J.L., Sanchez J.J., Molina M.A., Taron M., Paz-Ares L. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13(3): 239-246.

6. Mok T.S., Wu Y.L., Thongprasert S., Yang C.H., Chiu D.T., Saijo N., Sunpaweravong P., Han B., Margono B., Ichinose Y., Nishiwaki Y., Obe Y., Yang J.J., Chewaskulyong B., Jiang H., Duffield E.L., Watkins C.L., Armour A.A., Fukuoka M. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 2009; 361(10): 947-957.

7. Sequist L.V., Yang J.C., Yamamoto N., O'Byrne K., Hirsh V., Mok T., Geater S.L., Orlov S., Tsai C.M., Boyer M., Su W.C., Bommanna J., Kato T., Gorbunova V., Lee K.H., Shab R., Massey D., Zazulina V., Shabidi M., Schuler M. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol.* 2013; 31(27): 3327-3334.

8. Wu Y.L., Zhou C., Hu C.P., Feng J., Lu S., Huang Y., Li W., Hou M., Shi J.H., Lee K.Y., Xu C.R., Massey D., Kim M., Shi Y., Geater S.L. Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014; 15(2): 213-222.

9. Moiseyenko V., Imyanitov E., Levchenko E., Prochenko S., Orlova R., Iyevleva A., Buslov K., Ulibina Y., Matsko D., Moiseyenko F. EGFR mutations and gefitinib sensitivity in patients with metastatic non-squamous non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2008; 26 (abstr 19075).

10. Moiseyenko V.M., Prochenko S.A., Levchenko E.V., Barchuk A.S., Matsko D.E., Moiseyenko F.V., Ivantsov A.O., Iyevleva A.G., Mitiushkina N.V., Imyanitov E.N. First-line treatment of EGFR mutation-positive non-small cell lung cancer (NSCLC) by gefitinib. *J Clin Oncol.* 2009; 27 (suppl; abstr e19088).

11. Moiseyenko V.M., Prochenko S.A., Levchenko E.V., Barchuk A.S., Moiseyenko F.V., Iyevleva A.G., Mitiushkina N.V., Togo A.V., Semionov I.I., Ivantsov A.O., Matsko D.E., Imyanitov E.N. High efficacy of first-line gefitinib in non-Asian patients with EGFR-mutated lung adenocarcinoma. *Onkologie.* 2010; 33(5): 231-238.

12. Dagogo-Jack I., Shaw A.T. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017.

13. Hisbida T., Yoshida J., Aokage K., Nagai K., Tsuboi M. Long-term outcome of surgical resection for residual or regrown advanced non-small cell lung carcinomas following EGFR-TKI treatment: report of four cases. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2016; 64(7): 429-433.

14. Weber B., Sorensen B.S., Knap M.M., Madsen H.H., Nexø E., Meldgaard P. Complete pathologic response in lung tumors in two patients with metastatic non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *J Thorac Oncol.* 2011; 6(11): 1946-1949.

15. Wu Y.L., Zhou C., Liang C.K., Wu G., Liu X., Zhong Z., Lu S., Cheng Y., Han B., Chen L., Huang C., Qin S., Zhu Y., Pan H., Liang H., Li E., Jiang G., How S.H., Fernando M.C., Zhang Y., Xia F., Zuo Y. First-line erlotinib versus gemcitabine / cisplatin in patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: analyses from the phase III, randomized, open-label, ENSURE study. *Ann Oncol.* 2015; 26(9): 1883-1889.

16. Wu Y.L., Cheng Y., Zhou X., Lee K.H., Nakagawa K., Niho S., Tsuji F., Linke R., Rosell R., Corral J., Migliorino M.R., Pluzanski A., Sbar E.L., Wang T., White J.L., Nadanaciva S., Sandin R., Mok T.S. Dacomitinib versus gefitinib as first-line treatment for patients with EGFR-mutation-positive non-small-cell lung cancer (ARCHER 1050): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017; 18(11): 1454-1466.

17. Kosaka T., Yatabe Y., Endoh H., Yoshida K., Hida T., Tsuboi M., Tada H., Kuwano H., Mitsudomi T. Analysis of epidermal growth factor receptor gene mutation in patients with non-small cell lung cancer and acquired resistance to gefitinib. *Clin Cancer Res.* 2006; 12(19): 5764-5769.

18. Nguyen K.S., Kobayashi S., Costa D.B. Acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancers dependent on the epidermal growth factor receptor pathway. *Clin Lung Cancer.* 2009; 10(4): 281-289.

19. Takezawa K., Pirazzoli V., Arcila M.E., Nebhan C.A., Song X., de Stanchina E., Obashi K., Janjigian Y.Y., Spitzler P.J., Melnick M.A., Riely G.J., Kris M.G., Miller V.A., Ladanyi M., Politi K., Pao W. HER2 amplification: a potential mechanism of acquired resistance to EGFR inhibition in EGFR-mutant lung cancers that lack the second-site EGFR T790M mutation. *Cancer Discov.* 2012; 2(10): 922-933.

20. Yu H.A., Arcila M.E., Rekhtman N., Sima C.S., Zakowski M.F., Pao W., Kris M.G., Miller V.A., Ladanyi M., Riely G.J. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clin Cancer Res.* 2013; 19(8): 2240-2247.

21. Arcila M.E., Oxnard G.R., Nafa K., Riely G.J., Solomon S.B., Zakowski M.F., Kris M.G., Pao W., Miller V.A., Ladanyi M. Rebiopsy of lung cancer patients with acquired resistance to EGFR inhibitors and enhanced detection of the T790M mutation using a locked nucleic acid-based assay. *Clin Cancer Res.* 2011; 17(5): 1169-1180.

22. Oxnard G.R., Schwartz L.H. Response phenotype as a predictive biomarker to guide treatment with targeted therapies. *J Clin Oncol.* 2013; 31(30): 3739-3741.

23. Li C., Liu H., Zhang B., Gong L., Su Y., Zhang Z., Wang C. Whole-exome sequencing identifies key mutated genes in T790M wildtype / cMET-unamplified lung adenocarcinoma with acquired resistance to first-generation EGFR tyrosine kinase inhibitors. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2018.

24. Jamal-Hanjani M., Wilson G.A., McGranahan N., Birkbak N.J., Watkins T.B.K., Veeriah S., Shafi S., Johnson D.H., Mitter R., Rosenthal R., Salm M., Horswell S., Escudero M., Matthews N., Rowan A., Chambers T., Moore D.A., Turajlic S., Xu H., Lee S.M., Forster M.D., Ahmad T., Hiley C.T., Abbosh C., Falzon M., Borg E., Marafioti T., Lawrence D., Hayward M., Kolvekar S., Panagiotopoulos N., James S.M., Thakrar R., Ahmed A., Blackball F., Summers Y., Shah R., Joseph L., Quinn A.M., Crosbie P.A., Naidu B., Middleton G., Langman G., Trotter S., Nicolson M., Remmen H., Kerr K., Chetty M., Gomersall L., Fennell D.A., Nakas A., Rathinam S., Anand G., Khan S., Russell P., Ezhil V., Ismail B., Irvin-Sellers M., Prakash V., Lester J.F., Kornaszewska M., Attanoos R., Adams H., Davies H., Dentro S., Taniere P., O'Sullivan B., Lowe H.L., Hartley J.A., Iles N., Bell H., Ngai Y., Shaw J.A., Herrero J., Szallasi Z., Schwarz R.F., Stewart A., Quezada S.A., Le Quesne J., Van Loo P., Dive C., Hacksbaw A., Swanton C., TRACERx C. Tracking the Evolution of Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2017; 376(22): 2109-2121.

25. Lee C.K., Kim S., Lee J.S., Lee J.E., Kim S.M., Yang I.S., Kim H.R., Lee J.H., Kim S., Cho B.C. Next-generation sequencing reveals novel resistance mechanisms and molecular heterogeneity in EGFR-mutant non-small cell lung cancer with acquired resistance to EGFR-TKIs. *Lung Cancer.* 2017; 113: 106-114.

26. Mok T.S., Wu Y.-L., Ahn M.-J., Garassino M.C., Kim H.R., Ramalingam S.S., Shepherd F.A., He Y., Akamatsu H., Theelen W.S., Lee C.K., Sebastian M., Templeton A., Mann H., Marotti M., Gbiorgbiu S., Papadimitrakopoulou V.A., AURA3 I. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2017; 376(7): 629-640.

27. Wu M., Yuan Y., Pan Y.Y., Zhang Y. Combined gefitinib and pemetrexed overcome the acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Mol Med Rep.* 2014; 10(2): 931-938.

28. Tanaka S., Sakamori Y., Niimi M., Hazama M., Kim Y.H., Yanagibara K. Design paper: a phase II study of bevacizumab and erlotinib in patients with non-squamous non-small cell lung cancer that is refractory or relapsed after 1-2 previous treatment (BEST). *Trials.* 2011; 12: 120.

29. Neal J.W., Heist R.S., Fidias P., Temel J.S., Huberman M., Marcoux J.P., Muzikansky A., Lynch T.J., Sequist L.V. Cetuximab monotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer after prior epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor therapy. *J Thorac Oncol.* 2010; 5(11): 1855-1858.

30. Nakamura H., Takamori S., Fujii T., Ono M., Yamana H., Kuwano M., Shirouzu K. Cooperative cell-growth inhibition by combination treatment with ZD1839 (Iressa) and trastuzumab (Herceptin) in non-small-cell lung cancer. *Cancer Lett.* 2005; 230(1): 33-46.

31. Song J.Y., Kim C.S., Lee J.H., Jang S.J., Lee S.W., Hwang J.J., Lim C., Lee G., Seo J., Cho S.Y., Choi J. Dual inhibition of MEK 1/2 and EGFR synergistically induces caspase-3-dependent apoptosis in EGFR inhibitor-resistant lung cancer cells via BIM upregulation. *Invest New Drugs.* 2013; 31(6): 1458-1465.

32. Wu S.G., Shib J.Y. Management of acquired resistance to EGFR TKI-targeted therapy in advanced non-small cell lung cancer. *Mol Cancer.* 2018; 17(1): 38.

33. Sequist L.V., von Pawel J., Garmey E.G., Akerley W.L., Brugger W., Ferrari D., Chen Y., Costa D.B., Gerber D.E., Orlov S., Ramlau R., Arthur S., Gorbachevsky I., Schwartz B., Schiller J.H. Randomized phase II study of erlotinib plus tivantinib versus erlotinib plus placebo in previously treated non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2011; 29(24): 3307-3315.

34. Borghaei H., Paz-Ares L., Horn L., Spigel D.R., Steins M., Ready N.E., Chow L.Q., Vokes E.E., Felip E., Holgado E., Barlesi F., Kohlbäuf M., Arrieta O., Burgio M.A., Fayette J., Lena H., Poddubskaya E., Gerber D.E., Gettinger S.N., Rudin C.M., Rizvi N., Crino L., Blumenschein G.R., Antonia S.J., Dorange C., Harbison C.T., Graf Finckenstein F., Brahmer J.R. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2015; 373(17): 1627-1639.

35. Swanton C. Intratumor heterogeneity: evolution through space and time. *Cancer Res.* 2012; 72(19): 4875-4882.

36. Sharma S.V., Lee D.Y., Li B., Quinlan M.P., Takahashi F., Maheswaran S., McDermott U., Azizian N., Zou L., Fischbach M.A., Wong K.K., Brandstetter K., Wittner B., Ramaswamy S., Classon M., Settleman J. A chromatin-mediated reversible drug-tolerant state in cancer cell subpopulations. *Cell.* 2010; 141(1): 69-80.

37. Venugopalan A., Lee M.J., Niu G., Medina-Echeverez J., Tomita Y., Lizak M.J., Cultraro C.M., Simpson R.M., Chen X., Trepel J.B., Guha U. EGFR-targeted therapy results in dramatic early lung tumor regression accompanied by imaging response and immune infiltration in EGFR mutant transgenic mouse models. *Oncotarget.* 2016; 7(34): 54137-54156.

38. Kris M.G., Natale R.B., Herbst R.S., Lynch T.J., Prager D., Belani C.P., Schiller J.H., Kelly K., Spiridonidis H., Sandler A., Albain K.S., Cella D., Wolf M.K., Averbuch S.D., Ochs J.J., Kay A.C. Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial. *JAMA.* 2003; 290(16): 2149-2158.

39. Ramirez M., Rajaram S., Steining R.J., Osipchuk D., Roth M.A., Morinishi L.S., Evans L., Ji W., Hsu C.H., Thurley K., Wei S., Zhou A., Koduru P.R., Posner B.A., Wu L.F., Altschuler S.J. Diverse drug-resistance mechanisms can emerge from drug-tolerant cancer persister cells. *Nat Commun.* 2016; 7: 10690.

40. Yeo W.L., Riely G.J., Yeap B.Y., Lau M.W., Warner J.L., Bodio K., Huberman M.S., Kris M.G., Tenen D.G., Pao W., Kobayashi S., Costa D.B. Erlotinib at a dose of 25 mg daily for non-small cell lung cancers with EGFR mutations. *J Thorac Oncol.* 2010; 5(7): 1048-1053.

41. Grommes C., Oxnard G.R., Kris M.G., Miller V.A., Pao W., Holodny A.I., Clarke J.L., Lassman A.B. «Pulsatile» high-dose weekly erlotinib for CNS metastases from EGFR mutant non-small cell lung cancer. *Neuro Oncol.* 2011; 13(12): 1364-1369.

42. Chmielecki J., Foo J., Oxnard G.R., Hutchinson K., Ohashi K., Somwar R., Wang L., Amato K.R., Arcila M., Sos M.L., Socci N.D., Viale A., de Stanchina E., Ginsberg M.S., Thomas R.K., Kris M.G., Inoue A., Ladanyi M., Miller V.A., Michor F.,

Pao W. Optimization of dosing for EGFR-mutant non-small cell lung cancer with evolutionary cancer modeling. *Sci Transl Med.* 2011; 3(90): 90ra59.

43. Seto T., Kato T., Nishio M., Goto K., Atagi S., Hosomi Y., Yamamoto N., Hida T., Maemondo M., Nakagawa K., Nagase S., Okamoto I., Yamanaka T., Tajima K., Harada R., Fukuoka M., Yamamoto N. Erlotinib alone or with bevacizumab as first-line therapy in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (JO25567): an open-label, randomised, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2014; 15(11): 1236-1244.

44. Chen H., Yao W., Chu Q., Han R., Wang Y., Sun J., Wang D., Wang Y., Cao M., He Y. Synergistic effects of metformin in combination with EGFR-TKI in the treatment of patients with advanced non-small cell lung cancer and type 2 diabetes. *Cancer Lett.* 2015; 369(1): 97-102.

45. Liu Z.L., Zbu W.R., Zhou W.C., Ying H.F., Zheng L., Guo Y.B., Chen J.X., Shen X.H. Traditional Chinese medicinal herbs combined with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor for advanced non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Integr Med.* 2014; 12(4): 346-358.

46. Cheng Y., Murakami H., Yang P.C., He J., Nakagawa K., Kang J.H., Kim J.H., Wang X., Enatsu S., Puri T., Orlando M., Yang J.C. Randomized Phase II Trial of Gefitinib With and Without Pemetrexed as First-Line Therapy in Patients With Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer With Activating Epidermal Growth Factor Receptor Mutations. *J Clin Oncol.* 2016; 34(27): 3258-3266.

47. Sugawara S., Oizumi S., Minato K., Harada T., Inoue A., Fujita Y., Maemondo M., Yoshizawa H., Ito K., Gemma A., Nishitsuji M., Harada M., Isobe H., Kinoshita I., Morita S., Kobayashi K., Hagiwara K., Kuribara M., Nukiwa T., North E.J.S.G.A.T.C.O.G. Randomized phase II study of concurrent versus sequential alternating gefitinib and chemotherapy in previously untreated non-small cell lung cancer with sensitive EGFR mutations: NEJ005 / TCOG0902. *Ann Oncol.* 2015; 26(5): 888-894.

48. Lara-Guerra H., Waddell T.K., Salvarrey M.A., Joshua A.M., Chung C.T., Paul N., Boerner S., Sakurada A., Ludkovski O., Ma C., Squire J., Liu G., Shepherd F.A., Tsao M.S., Leighl N.B. Phase II study of preoperative gefitinib in clinical stage I non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2009; 27(36): 6229-6236.

49. Lara-Guerra H., Chung C.T., Schwock J., Pintilie M., Hwang D.M., Leighl N.B., Waddell T.K., Tsao M.S. Histopathological and immunohistochemical features associated with clinical response to neoadjuvant gefitinib therapy in early stage non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2012; 76(2): 235-241.

50. Schaake E.E., Kappers I., Codrington H.E., Valdés Olmos R.A., Teertstra H.J., van Pel R., Burgers J.A., van Tinteren H., Klomp H.M. Tumor response and toxicity of neoadjuvant erlotinib in patients with early-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2012; 30(22): 2731-2738.

51. Godin-Heymann N., Bryant I., Rivera M.N., Ulkus L., Bell D.W., Riese D.J., Settleman J., Haber D.A. Oncogenic activity of epidermal growth factor receptor kinase mutant alleles is enhanced by the T790M drug resistance mutation. *Cancer Res.* 2007; 67(15): 7319-7326.

52. Mulloy R., Ferrand A., Kim Y., Sordella R., Bell D.W., Haber D.A., Anderson K.S., Settleman J. Epidermal growth factor receptor mutants from human lung cancers exhibit enhanced catalytic activity and increased sensitivity to gefitinib. *Cancer Res.* 2007; 67(5): 2325-2330.

53. Oxnard G.R., Arcila M.E., Sima C.S., Riely G.J., Chmielecki J., Kris M.G., Pao W., Ladanyi M., Miller V.A. Acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in EGFR-mutant lung cancer: distinct natural history of patients with tumors harboring the T790M mutation. *Clin Cancer Res.* 2011; 17(6): 1616-1622.

54. Hata A., Katakami N., Kaji R., Fujita S., Imai Y. Does T790M disappear? Successful gefitinib challenge after T790M disappearance in a patient with EGFR-mutant non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2013; 8(3): e27-9.

55. Sutto L., Gervasio F.L. Effects of oncogenic mutations on the conformational free-energy landscape of EGFR kinase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(26): 10616-10621.

56. Hata A.N., Niederst M.J., Archibald H.L., Gomez-Caraballo M., Siddiqui F.M., Mulvey H.E., Maruvka Y.E., Ji F., Bhang H.E., Krishnamurthy Radhakrishna V., Siravegna G., Hu H., Raoof S., Lockerman E., Kalsy A., Lee D., Keating C.L., Ruddy D.A., Damon L.J., Crystal A.S., Costa C., Piotrowska Z., Bardelli A., Iafrate A.J., Sadreyev R.I., Stegmeier F., Getz G., Sequist L.V., Faber A.C., Engelman J.A. Tumor cells can follow distinct evolutionary paths to become resistant to epidermal growth factor receptor inhibition. *Nat Med.* 2016; 22(3): 262-269.

57. Takeda M., Okamoto I., Fujita Y., Arao T., Ito H., Fukuoka M., Nishio K., Nakagawa K. De novo resistance to epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in EGFR mutation-positive patients with non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2010; 5(3): 399-400.

58. Zhai H., Zhong W., Yang X., Wu Y.L. Neoadjuvant and adjuvant epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) therapy for lung cancer. *Transl Lung Cancer Res.* 2015; 4(1): 82-93.

59. Yamamoto Y., Kodama K., Maniwa T., Takeda M. Surgical resection of advanced non-small cell lung cancer after a response to EGFR-TKI: presentation of two cases and a literature review. *J Cardiothorac Surg.* 2017; 12(1): 98.

60. Takamochi K., Suzuki K., Sugimura H., Funai K., Mori H., Bashbar A.H., Kazui T. Surgical resection after gefitinib treatment in patients with lung adenocarcinoma harboring epidermal growth factor receptor gene mutation. *Lung Cancer.* 2007; 58(1): 149-155.

61. Suda K., Bunn P.A., Rivard C.J., Mitsudomi T., Hirsch F.R. Primary Double-Strike Therapy for Cancers to Overcome EGFR Kinase Inhibitor Resistance: Proposal from the Bench. *J Thorac Oncol.* 2017; 12(1): 27-35.