

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

КУЗНЕЦОВА ОЛЕСЯ АЛЕКСЕЕВНА

**ПРИМЕНИМОСТЬ МУЛЬТИГЕННЫХ ПАНЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ СЕКВЕНИРОВАНИЯ
СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ В ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ
С РАСПРОСТРАНЕННЫМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

1.5.7. Генетика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук

Федянин Михаил Юрьевич

кандидат биологических наук

Иванов Максим Вячеславович

Москва – 2025 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 Молекулярные основы канцерогенеза	11
1.2 Роль NGS в молекулярной онкодиагностике.....	12
1.3 Прецизионный подход в онкологии	20
1.4 Определение патогенности и таргетируемости выявленных вариантов	22
1.5 Применение комплексного молекулярного профилирования в клинической практике	28
1.6 Роль специализированных консилиумов	29
1.7 Изучение роли молекулярно-направленной терапии.....	34
1.7.1 Применимость комплексного молекулярного профилирования при опухолях желудочно-кишечного тракта.....	37
1.8 Экономическая эффективность комплексного молекулярного профилирования	43
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	46
2.1 Дизайн исследования	46
2.2 Конечные точки и оцениваемые показатели	46
2.3 Описание критериев эффективности.....	47
2.4 Популяция пациентов	48
2.5 Формирование базы данных по пациентам, включенным в исследование	49
2.6 Определение влияния проведения комплексного молекулярного профилирования на тактику ведения пациентов с метастатическим заболеванием	49
2.7 Статистический анализ данных	50
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	52
3.1 Анализ характеристик пациентов в зависимости от панели проведения комплексного молекулярного профилирования	52
3.2 Анализ частоты и спектра мутаций, выявленных при проведении комплексного молекулярного профилирования	57
3.2.1 Общая когорта пациентов.....	57
3.2.2 Подгруппа пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта.....	62
3.2.3 Подгруппа пациентов с мелкоклеточным раком легкого.....	69
3.2.4 Подгруппа пациентов с другими опухолями.....	71
3.3 Сравнение частоты рекомендации и назначения молекулярно-направленной терапии	

после проведения комплексного молекулярного профилирования	76
3.3.1 Общая когорта пациентов.....	76
3.3.2 Особенности частоты рекомендации молекулярно-направленной терапии в зависимости от нозологии.....	78
3.4 Анализ факторов, оказывающих влияние на назначение молекулярно-направленной терапии	80
3.5 Оценка клинических исходов в зависимости от панели профилирования.....	83
3.6 Оценка клинических исходов в зависимости от максимального уровня таргетируемости на отчет	91
3.7 Оценка эффективности молекулярно-направленной терапии	95
3.7.1 Общая популяция пациентов	95
3.7.2 Подгруппа пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта.....	99
3.7.3 Подгруппа пациентов с немелкоклеточным раком легкого.....	106
3.7.4 Подгруппа пациентов с другими опухолями.....	112
3.8 Анализ исходов пациентов за пределами ESCAT I.....	116
3.9 Формирование универсальной панели по результатам анализа литературы и собственных данных	125
3.10 Оценка роли специализированного консилиума.....	129
3.11 Оценка эффективности интерпретации результатов комплексного молекулярного профилирования с использованием общедоступных баз данных.....	139
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ.....	145
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	152
ВЫВОДЫ.....	153
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	155
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	156
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	158

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы и степень её разработанности

В лечении распространенных солидных опухолей в последние десятилетия наблюдается тенденция к персонализации подходов, улучшению переносимости терапии и повышению качества жизни [137]. Одним из инструментов для выбора тактики лечения является проведение молекулярно-генетического тестирования, которое позволяет определить характеристики опухоли и потенциальный ответ на доступные опции лекарственного воздействия [26, 63]. Создание новых аналитических подходов с применением технологии таргетного секвенирования следующего поколения (NGS) предоставило возможность для более быстрого анализа целого спектра молекулярных нарушений по сравнению с применением других методов исследований альтераций генома [24, 40, 166]. Комплексное молекулярное профилирование (КМП), которое позволяет одновременно анализировать широкий спектр молекулярно-генетических альтераций, в том числе за пределами рекомендаций по рутинному тестированию, является коммерческой услугой в Российской Федерации, что ограничивает широкую имплементацию методики в клиническую практику. При распространенных солидных опухолях (колоректальный рак (КРР), рак желудка (РЖ), молочной железы (РМЖ), немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) и т.д.) подбор молекулярно-направленной терапии (МНТ) с учетом изученных биомаркеров – предикторов эффективности лечения – демонстрирует более высокие показатели частоты объективных ответов (ЧОО), выживаемости без прогрессирования (ВБП) и нередко общей выживаемости (ОВ) по сравнению с назначением лечения вне зависимости от результатов профилирования [24, 40, 166]. В настоящее время КМП влияет на клиническую практику: онкологи-клиницисты все чаще сталкиваются с отчетами о профилировании, однако интерпретация результатов может вызывать ряд трудностей. Вспомогательным инструментом для принятия решений по результатам КМП в зарубежных странах является проведение специализированного консилиума (molecular tumor board, МТВ). Такие консилиумы представляют собой мультидисциплинарную команду экспертов, которая может включать онколога, молекулярного биолога, патоморфолога, генетика и т.д., чьей задачей является принятие решения о возможной тактике дальнейшего лечения пациента. Учитывая, что МТВ распространены далеко не повсеместно и не являются унифицированными, ряд медицинских сообществ создал рекомендации по необходимому минимуму биомаркеров, которые необходимо определять при конкретной онкологической патологии, а также рекомендации по целесообразности применения NGS. Наиболее строгие рекомендации сформированы для тестирования пациентов с НМРЛ, КРР, холангикарциномой (ХК) [170].

Одной из первых и в настоящее время распространенных таргетных панелей является FoundationOne® CDx (FMI). Диагностический тест был одобрен Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA) для применения среди пациентов с солидными опухолями в 2017 году [38]. FMI представляет собой комплексное профилирование 324 генов на основе NGS, способное детектировать однонуклеотидные замены и небольшие вставки/делеции (SNV/indel), вариации числа копий (CNV), отдельные перестройки, а также такие биомаркеры как мутационная нагрузка опухоли (TMB), статус микросателлитной нестабильности (MSI), дополнительно определяется экспрессия PD-L1 иммуногистохимическим (ИГХ) методом [38]. Помимо классического варианта теста (CDx, создан для анализа образца солидной опухоли), существует еще две разновидности. FMI Liquid или «жидкостная биопсия» также предназначена для профилирования пациентов с солидными опухолями, однако материалом для тестирования является не ткань опухоли, а кровь пациента, по набору анализируемых характеристик тест сопоставим с FMI CDx. FMI Heme предназначен для профилирования онкогематологических заболеваний и сарком (также возможно профилирование солидных опухолей, если ожидается обнаружение транслокаций уже известных или новых генов), материалом для анализа может служить опухолевая ткань, кровь пациента, аспират костного мозга. В случае FMI Heme профилирование включает 406 генов ДНК и 265 генов РНК [82]. Схожими возможностями обладают и другие таргетные панели, не сертифицированные FDA. Примером является тест-система Solo, панель которой включает от 140 до 500 генов с анализом дополнительных биомаркеров (ИГХ – анализ белков системы репарации неспаренных оснований (MMR) или статус MSI фрагментным анализом) в зависимости от клинической потребности в объеме профилирования.

Клиническая роль внедрения КМП в рутинную практику остается неочевидной. Это связано с особенностями дизайнов проведенных работ, гетерогенными популяциями пациентов, коммерческим характером услуг КМП, а также мнением, что можно получить аналогичные результаты с применением стандартных тестов на биомаркеры, которые уже зарегистрированы. Перечисленные факторы приводят к необходимости разработки рекомендаций об объеме профилирования в зависимости от клинической ситуации, нозологии, а также создание оптимального алгоритма принятия решений по результатам КМП врачами-клиницистами на основе доказательной медицины.

Цель исследования

Исследование эффективности проведения КМП в реальной практике с целью улучшения результатов лечения пациентов путем назначения МНТ, определение методов интеграции КМП в клиническую практику.

Задачи исследования

Цель исследования подразумевает определение клинической значимости проведения КМП в зависимости от выбранной таргетной панели и молекулярных характеристик опухолей, а также определение характеристик пациентов, которые с большей долей вероятности получают клиническую пользу от назначения МНТ. В соответствии с этим для достижения цели работы были определены следующие задачи:

1. Оценить спектр и частоту выявления клинически значимых молекулярных альтераций опухолей при применении мультигенных панелей FMI и Solo.
2. Оценить влияние полученных данных о молекулярном статусе опухоли на выбор противоопухолевой терапии и ее эффективность.
3. Провести однофакторный и многофакторный анализ признаков, влияющих на факт назначения терапии и эффективности лечения, основываясь на результатах молекулярного профилирования опухоли.
4. Определить минимум анализируемых альтераций в генах, который необходимо учитывать при создании мультигенных панелей для персонализированной противоопухолевой терапии.
5. Оценить эффективность проведения специализированных консилиумов (МТВ) по результатам КМП в различных подгруппах больных.
6. Разработать методологию проведения специализированного консилиума (МТВ).
7. Оценить эффективность интерпретации результатов комплексного профилирования с использованием общедоступных баз данных.

Научная новизна

Впервые в Российской Федерации на значительном объеме КМП определен спектр выявления молекулярных альтераций в зависимости от нозологии, определено влияние молекулярных характеристик опухоли на выбор противоопухолевой терапии, проанализирована эффективность МНТ после проведения КМП.

Теоретическая и практическая значимость работы

Впервые в РФ разработан профиль пациентов со злокачественными солидными новообразованиями, проведение КМП для которых будет иметь наибольшее значение в плане обнаружения клинически значимых альтераций, назначения МНТ и достижения ответа на лечение, разработаны методологические подходы к проведению МТВ с учетом данных КМП.

Методология и методы исследования

В работе проведен ретроспективный анализ клинических и молекулярно-биологических данных 448 пациентов, которым было проведено КМП с применением панелей FoundationOne® (Foundation Medicine, Inc) или Solo Комплекс (ООО «ОнкоАтлас»). Проанализирован спектр выявляемых альтераций в зависимости от нозологии, а также влияние КМП на назначение МНТ. Проведено сравнение частоты рекомендации и частоты назначения МНТ в зависимости от панели профилирования, а также оценены факторы, влияющие на назначение МНТ. Оценены показатели эффективности МНТ: частота контроля болезни, частота объективных ответов, частота достижения ВБП2/1 $\geq 1,3$, ВБП2 (на линии после проведения профилирования) и ОВ. Проведен факторный анализ параметров, влияющих на ОВ, на основании чего создана прогностическая модель для определения целесообразности назначения МНТ. Проанализированы наиболее перспективные с точки зрения таргетируемости альтерации, на основании чего сформулирован минимальный объем профилирования вне зависимости от нозологии для пациентов РФ.

Статистический анализ проводился с помощью пакета статистических программ Microsoft Excel 2016 и IBM SPSS Statistics. Отдаленные результаты проанализированы и рассчитаны по методу Kaplan-Meier. Для оценки прогностического значения исследуемых факторов построены прогностические модели регрессионного анализа пропорциональных рисков по Cox.

Положения, выносимые на защиту

1. Частота рекомендации МНТ на основе КМП в РФ составила 56,9%, что соответствовало данным литературы. Частота реального назначения МНТ составила 23,2% в общей популяции. При исключении альтераций, которые могли быть определены конвенциональными методами (ESCAT I) – показатель составил 16,3%.

2. Назначение МНТ в общей популяции пациентов отразилось в увеличении частоты контроля болезни (ЧКБ) ($p < 0,01$), ЧОО ($p < 0,01$), частоты достижения ВБП2/1 $\geq 1,3$ ($p < 0,01$), длительного ответа на терапию ($p = 0,02$) в сравнении с лечением вне МНТ. Различия в ВБП2 не достигло статистической значимости (ОР 0,78, 95% ДИ 0,58-1,07, $p = 0,11$), влияние на ОВ было пограничным (ОР 0,74, 95% ДИ 0,54-1,02, $p = 0,06$).

3. В многофакторном анализе параметров, влияющих на ОВ, статистически значимое позитивное влияние имели:

- < 3 линий до КМП (ОР 0,64, ДИ 95% 0,45-0,92, $p = 0,01$);
- функциональный статус по шкале ECOG 0-1 (ОР 0,59, ДИ 95% 0,38-0,91, $p = 0,02$);
- проведение МТВ (ОР 0,45, ДИ 95% 0,26-0,77, $p < 0,01$);
- назначение МНТ (ОР 0,59, ДИ 95% 0,40-0,87, $p < 0,01$).

На основании этого была создана прогностическая модель, которая позволила установить, что наибольшая целесообразность назначения МНТ наблюдается в случае наличия у пациентов ≥ 2 баллов (< 3 линий терапии до КМП, соматический статус по шкале ECOG 0-1 и возможность проведения МТВ). Самые высокие показатели ОВ наблюдались при реализации всех трех факторов (в общей популяции и в случае назначения МНТ, но не в случае проведения лечения без учета молекулярных альтераций).

4. Сформулированный минимальный объем профилирования для пациентов в РФ (в рамках представленных в работе нозологий) включал анализ альтераций в 25 генах (*BRAF*, *BRCA2*, *EGFR*, *ERBB2*, *PIK3CA*, *FGFR2*, *PALB2*, *BRCA1*, *IDH1*, *KRAS*, *MET*, *POLE*, *AKT1*, *PTEN*, *NRAS*, *CDKN2A*, *FGFR3*, *CDK12*, *ALK*, *NTRK1/2/3*, *ROS1*, *RET*, *TP53*) и оценку биомаркеров MSI, PD-L1. Данный анализ демонстрирует, что предлагаемые объемы КМП – избыточны. В онкологической практике в РФ объем профилирования может быть значительно снижен без потери в предлагаемой пациенту клинической пользе.

5. Проведение МТВ ассоциировано с более высокой вероятностью назначения МНТ по сравнению с самостоятельным решением лечащего врача относительно результатов КМП. МТВ был проведен лишь в 14% случаев. Из 51 случая, обсужденного в рамках МТВ, МНТ была назначена 26 пациентам (51,0%), в популяции без МТВ показатель составил 17,6% (55 из 312 пациентов) ($p < 0,01$).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют области науки 3. Медицинские науки, группе научных специальностей 3.1 Клиническая медицина, шифру научной специальности специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, направлениям исследований

п.2. Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.), п.10. Оценка эффективности противоопухолевого лечения на основе анализа отдаленных результатов, шифру научной специальности 1.5.7 Генетика, направление исследований п. 19. Генетика человека. Медицинская генетика. Наследственные болезни. Медико-генетическое консультирование. Болезни с наследственной предрасположенностью. Генетика старения. Иммуногенетика. Онкогенетика. Генетика поведения. Молекулярно-генетическая/биохимическая диагностика заболеваний человека. Фармакогенетика. Генотоксикология. Генетическая терапия.

Степень достоверности и апробация результатов

Результаты, приведенные в диссертационной работе, достоверны благодаря большому числу включенных пациентов, использованию современных методов молекулярной диагностики, интерпретации результатов КМП совместно с молекулярными биологами, а также применению методики статистического анализа полученных данных.

Результаты ретроспективного исследования по оценке «Применимости мультигенных панелей на основе секвенирования следующего поколения и шкалы оценки значимости молекулярных альтераций (ESCAT) в лечении пациентов с метастатическими злокачественными опухолями» были доложены на IV Всероссийской конференции с международным участием «Опухолевые маркеры: молекулярно-генетические и клинические аспекты» в августе 2022 года. Результаты поданализа данного ретроспективного исследования «Применение панелей расширенного молекулярного профилирования опухолей ЖКТ в реальной клинической практике» были доложены на конференции Российского общества клинической онкологии «XXVII Российский онкологический конгресс» в ноябре 2023 года.

Апробация диссертации состоялась на совместном заседании с участием отделения противоопухолевой лекарственной терапии № 2, отделения противоопухолевой лекарственной терапии № 1, отделения противоопухолевой лекарственной терапии № 3, отделения противоопухолевой лекарственной терапии № 4 отдела лекарственного лечения, отделения абдоминальной онкологии № 3 (колопроктологии), отделения абдоминальной онкологии № 1, лаборатории молекулярно-генетической диагностики отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей НИИ клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России состоявшегося «17» декабря 2024 года, протокол № 171/24.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, 3 из которых опубликованы в рецензируемых журналах, включённых Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России в список изданий, рекомендуемых для опубликования основных научных результатов диссертации на соискание учёной степени кандидата наук.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследований», главы «Результатов собственных исследований», обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя цитируемой литературы. Общий объем диссертации 175 листов машинописного текста (12 пт), текст иллюстрирован 48 таблицами и 48 рисунками. Указатель литературы содержит 215 источников отечественных и зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Молекулярные основы канцерогенеза

Согласно современным представлениям о развитии злокачественных новообразований, генетические альтерации лежат в основе процесса канцерогенеза [103, 104]. В то время как герминальные генетические варианты обуславливают врожденную предрасположенность к развитию онкологических заболеваний, соматические альтерации носят случайный характер и выступают в качестве триггера для приобретения нормальной клеткой свойств опухолевой [100, 127]. Отличительные свойства опухолевой клетки, предложенные в 2000 году и дополненные в 2011 году, включают подавление функции супрессоров клеточного роста, поддержку пролиферативного сигналинга, дисрегуляцию клеточного метаболизма, уход от программируемой клеточной гибели, геномную нестабильность и активное накопление спорадических мутаций, индукцию ангиогенеза, инвазию и метастазирование, развитие иммунотолерантности, отсутствие клеточного старения и наличие опухоли-стимулирующего воспаления [102, 103]. В обновленных характеристиках 2022 года также выделена особая роль опухолевого окружения, эпигенетического перепрограммирования, фенотипической пластичности [102]. Более того, появляется все больше данных о том, что взаимосвязь между нервной системой и злокачественной опухолью играет важную роль в развитии и прогрессировании опухолевого процесса на клеточном и молекулярном уровнях [101].

Большая часть ключевых свойств злокачественных клеток закрепляется в опухоли благодаря изменениям, которые происходят в последовательности ДНК. Так, к примеру, мутации гена *KRAS* или *BRAF* запускают конститутивную активацию каскада MAPK сигнального пути, что ведет к повышению пролиферативного потенциала [45, 73]. Мутации генов *BRCA1/2* приводят к нарушению работы системы репарации по типу гомологичной рекомбинации, а нарушения в системе белков MSH2, MSH6, MLH1, PMS2 – к дисфункции системы репарации ошибочно спаренных нуклеотидов (MMR) и, как следствие, – к нестабильности генома, которая обуславливает активное накопление соматических альтераций [93, 95]. Кроме того, опухоль подвергается клональной эволюции, процессу, при котором происходит накопление изменений в различных клетках, приводящих к разнообразию клонов с отличающимися генетическими характеристиками и способностью к выживанию. Клиническим проявлением результата клональной эволюции становится гетерогенность первичной опухоли и ее метастазов, развитие резистентности к терапии [96]. Таким образом, молекулярные характеристики заболевания могут предопределять агрессивность опухолевого процесса.

Достижения в области секвенирования ДНК, или определения нуклеотидной последовательности как всего генома, так и заранее выбранных его областей, позволило выявить наиболее часто вовлеченные в процесс поддержания опухолевых свойств клетками сигнальные пути и процессы, регулируемые поврежденными участками генетического кода [32, 85]. Так, к десяти каноничным путям в канцерогенезе относятся пути: клеточного цикла, Hippo, Muc, Notch, Nrf2, PI-3-киназа/Akt, RTK-RAS, TGF β , p53 и β -катенин/Wnt [209]. Крупная работа Атлас генома рака (TCGA) позволила идентифицировать различную частоту изменений в перечисленных путях: так, сигнальные пути клеточного цикла и RTK-RAS достаточно часто оказываются поврежденными во многих типах опухолей (46%), в то время как путь Hippo (сигнальный путь реакции на окислительный стресс) более характерен для плоскоклеточного гистотипа опухолей. Кроме того, обнаруживаемые альтерации генов могут быть как драйверными или функционально значимыми, так и неонкогенными или «пассажирами». Драйверные мутации представляют собой генетические изменения, которые играют ключевую роль в инициации и прогрессировании опухолевого роста. Они могут активировать онкогены или инактивировать гены-супрессоры опухолевого роста. Пассажиры мутации возникают в клетках опухоли, но не оказывают существенного влияния на ее развитие. В связи с этим критически важным является корректная интерпретация выявляемых в ходе секвенирования вариантов. При оценке 9125 образцов опухолевой ткани 33 типов рака в ходе проекта TCGA было установлено, что в 57% опухоль несет как минимум одну драйверную мутацию [151, 190].

Таким образом, высокая частота обнаружения драйверных альтераций стала предпосылкой к определению мишеней для терапевтического воздействия.

1.2 Роль NGS в молекулярной онкодиагностике

В 1990 был запущен международный исследовательский проект Human Genome Project (HGP) по определению последовательности ДНК генома человека. В 2004 году было опубликовано научное описание готовой последовательности генома человека [78], состоящего из 2,85 миллиардов нуклеотидов и 22 тысяч генов. Полученная информация охватывала 99% эухроматинового генома с общей точностью одна ошибка на 100 000 пар оснований (п.о). Описанный геном стал эталонным или референсным для последующих исследований. Технологическая революция в области геномики, которая сделала данный проект выполнимым, началась с открытия методологии секвенирования ДНК. Основными способами секвенирования с 1970-х годов являлись метод Сэнгера и метод пиросеквенирования [125, 174]. Секвенирование по Сэнгеру, претерпев ряд модификаций, с течением времени стало основным методом секвенирования первого поколения. Его суть состоит в амплификации небольших заранее

выбранных (целевых) последовательностей генома с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим секвенированием с использованием инструментов на капиллярной основе. Несмотря на то, что проведение тестирования было трудоемким, дорогостоящим и ограниченным по масштабам анализируемого материала, оно позволило сделать ряд важных открытий и заложить основу для изучения молекулярных особенностей канцерогенеза [123].

По мере того, как тестирование методом Сэнгера внедрялось в онкологическую практику, исследователи столкнулись с рядом проблем: стало очевидно, что на результат тестирования влияет «чистота» гистологического образца, наличие тканевой гетерогенности, пloidность опухолевых клеток. Кроме того, метод нечувствителен к детектированию мутаций с частотой альтернативного аллеля <20%, что имеет значение в онкодиагностике [19, 131]. В настоящее время секвенирование по Сэнгеру применимо для определения последовательности до 1000 пар оснований (п.о.) и используется с целью анализа конкретных полиморфизмов, мутаций, в частности делеций и инсерций, а также валидации данных, полученных при NGS.

Технология NGS начала внедряться в практику исследований с 2005 года. Методика массивного параллельного секвенирования радикально отличается от капиллярных инструментов, которые использовались для анализа исходного эталонного генома. Технологии NGS обладают тремя наиболее значимыми преимуществами. Во-первых, их использование привело к экспоненциальному снижению стоимости секвенирования. Например, на 2007 год секвенирование генома с помощью метода Сэнгера обходилось в 70 миллионов долларов. В 2010 году стоимость секвенирования генома на основе NGS снизилась до 50 тысяч долларов, а на 2013 год секвенирование могло быть выполнено как в рамках коммерческих проектов, так и в исследовательских условиях, менее чем за 5 тысяч долларов. Спустя 10 лет, в 2023 году, стоимость секвенирования генома составила около 600 долларов [139]. Вторым преимуществом является увеличение чувствительности и объема секвенирования. Первые работы по применимости NGS технологии показали стократное увеличение пропускной способности по сравнению с традиционным секвенированием по Сэнгеру [90]. В 2013 году удалось секвенировать более 10 геномов человека за день с помощью секвенатора Illumina HiSeq. В-третьих, эти панели позволяют детектировать множество типов альтераций генома. К настоящему моменту появилось большое количество технологий параллельного секвенирования, отличающихся по химическому составу, ферментативным реакциям, методологии обнаружения сигналов, однако все они имеют общие методологические атрибуты.

Объем тестирования на основе NGS технологии варьирует:

- полногеномное секвенирование (WGS) – анализу подвергаются и кодирующие и некодирующие участки генома. Технология позволяет выявлять вариации числа копий и структурные перестройки, однако точность их обнаружения зависит от глубины секвенирования (или глубины прочтения), которая определяется как количество прочтений

участка генома секвенатором. В среднем при проведении WGS достигается глубина прочтений около 30х-60х, тогда как для обнаружения соматических точечных мутаций часто требуется более глубокий охват [53]. Метод может быть применен для обнаружения перестроек ДНК, которые лежат в основе ключевых транслокационных событий в развитии опухолевого процесса (активирующие слияния генов), а также обнаруживать другие типы альтераций, например, некодирующие нарушения в неаннотированных областях [14, 107, 127]. Однако несмотря на снижение стоимости проведения профилирования и доступность данных по исследованию всего генома при разнообразных онкологических нозологиях, применение метода в онкологической практике не признано целесообразным [53, 56, 214];

- полноэкзомное секвенирование (WES) – анализ фокусируется лишь на секвенировании кодирующей последовательности генов. И поскольку экзом составляет примерно 2% генома, метод обеспечивает более высокую глубину покрытия (количество прочтений) при меньших затратах и за более короткое время по сравнению с WGS. Одним из преимуществ техники WES является отсутствие необходимости технической перенастройки, если потребуются интерпретировать новые гены, что было бы важным при использовании более узких таргетных панелей [112, 149];
- таргетное секвенирование – метод сфокусирован на определении последовательностей выбранных генов, связанных с конкретными заболеваниями. Метод лишен таких недостатков WGS и WES, как низкий уровень глубины прочтений в анализируемых областях, что важно для выявления низкочастотных мутаций. Кроме того, таргетное секвенирование производит меньший объем данных, что упрощает хранение и анализ информации [98];
- РНК-секвенирование (RNA-Seq) – анализ всего транскриптома, то есть всех молекул РНК, синтезируемых в клетке в определенный момент времени. Метод позволяет с высокой точностью анализировать уровень экспрессии генов, альтернативный сплайсинг, обнаруживать ранее неизвестные транскрипты, некодирующие РНК [156]. Кроме того, технология позволяет количественно измерять уровень экспрессии всех транскриптов в образце без предварительного знания последовательности нуклеотидов.

Наиболее применимыми для молекулярно-диагностического соматического тестирования солидных опухолей и гематологических злокачественных новообразований в настоящий момент являются таргетные панели на основе NGS. Таргетные NGS панели включают различное число анализируемых генов, но в настоящее время их количество сведено к нескольким сотням. Примерами являются FDA-одобренные тест-системы FoundationOne CDx (324 гена) [81], MSK-IMPACT (468 генов) [186], Tempus xT (648 генов) [187]. Примеры

таргетных панелей КМП представлены в таблице 1. Помимо уже одобренных FDA, существуют панели собственного производства компаний или медицинских учреждений (laboratory-developed test – LDT). Причем многие из них разработаны под конкретную нозологию и ограничены 20-50 анализируемыми генами.

Таблица 1 – Ключевые таргетные панели комплексного молекулярного профилирования, применяемые в Российской Федерации и за рубежом

Название панели	Страна	Число генов + доп. маркеры	Средняя кратность покрытия областей:	FDA	ЕМА	Одобрение Росздравнадзора
MSK-IMPACT [129]	США	505 HRD, MSI, TMB	753x	Одобен	Не одобрен	Не одобрен
MSK-IMPACT Heme	США	400	–	Не одобрен	Не одобрен	Не одобрен
FoundationOne CDx	США	324 (ДНК) HRD, MSI, TMB, PD-L1	702x-792x	Одобен	Одобен	Не одобрен
Foundation One Liquid	США	311 (ДНК)	–	Одобен	Одобен	Не одобрен
Foundation One Heme	США	406 (ДНК) 265 (РНК)	–	Не одобрен	Не одобрен	Не одобрен
Oncomine Dx Target Test [197]	США	42 (ДНК) 18 (РНК)	≥347x	Одобен	Не одобрен	Не одобрен
Tempus xT Solid Tumor [187]	США	648 (ДНК) 100 (РНК) MSI, TMB	500x	Одобен	Не одобрен	Не одобрен
Archer FusionPlex Oncology [68]	Испания	74	–	Не одобрен	Не одобрен	Не одобрен
OncoDEEP [69]	Бельгия	638 (ДНК) 22 (РНК) HRD, MSI, TMB	350x	Не одобрен	Не одобрен	Не одобрен
TruSight Oncology 500 [18]	США	523 (ДНК) 55 (РНК) MSI, TMB	–	Не одобрен	Не одобрен	Не одобрен
Guadrant360 CDx [97]	США	55	–	Одобен	Не одобрен	Не одобрен
Geneseeq Prime [88]	Канада	437 HRD, MSI, TMB	–	Не одобрен	Не одобрен	Не одобрен
BGI SENTIS Cancer [27]	Китай	688	–	Не одобрен	Не одобрен	Не одобрен

ACT Onco+ [17]	Тайвань	440 (ДНК) 350 (РНК) MSI, TMB	≥500х	Не одобрен	Не одобрен	Не одобрен
Solo Комплекс Плюс [6]	Россия	160-500 MSI, TMB, PD-L1	1500х	Не одобрен	Не одобрен	Не одобрен
Геномед Ugene [2]	Россия	484 (ДНК) MSI, TMB	–	Не одобрен	Не одобрен	Не одобрен

HRD – homologous recombination deficiency, дефицит гомологичной рекомбинации; EMA – European Medical Agency, Европейское агентство лекарственных средств; MSI – микросателлитная нестабильность; TMB – мутационная нагрузка.

Профилирование на панели FMI представляет собой секвенирование кодирующей части всех заявленных генов по ДНК, а также интронных областей с целью детекции перестроек. Методика позволяет выявлять альтерации числа копий (CNV), однонуклеотидные варианты (SNV), инсерции, делеции (indel), перестройки генов (с ограничениями), а также такие геномные сигнатуры как MSI и TMB. Тест также подходит для определения геномной потери гетерозиготности (LOH), статуса дефицита гомологичной рекомбинации (HRD). Такие биомаркеры как экспрессия PD-L1, HER2, ER, PR методика определить не способна, в связи с чем в дополнение к NGS-части профилирования, тест прилагает результаты ортогонального метода – ИГХ. Также в спектр определяемых методикой характеристик не входит выявление делеций отдельных экзонов, метилирования. В регистрационных и валидационных исследованиях точность детектирования SNV, indel, CNV при профилировании FMI достигала высоких значений: около 99%, выявление TMB >10 Мут/Мб – 87,2%, MSI – 98,5%, перестроек – около 60% и зависела от анализируемого гена. Таким образом, тестирование было зарегистрировано FDA для ограниченного списка показаний (НМПЛ – делеции 19 экзона *EGFR*, мутация L858R 21 экзона, T790M 2-го экзона, транслокации *ALK*, *ROS1*, мутация *BRAF V600E*, CNV *MET*; меланома – мутации *BRAF*, РМЖ – *ERBB2* амплификации, мутации *PIK3CA*, КРР – наличие мутаций генов *KRAS*, *NRAS*; рак яичников – альтерации *BRCA1/2*, ХК – слияния *FGFR2*, рак предстательной железы – альтерации генов системы гомологичной рекомбинации (HRR), и опухоль-агностические маркеры – MSI, TMB, *NTRK1/2/3* перестройки). Для других показаний в настоящий момент тест не зарегистрирован, однако высказаться о меньшей эффективности детектирования других генов и альтераций за пределами регистрации невозможно.

Доступными для пациентов в РФ таргетными LDT являются панели Solo, которые предлагают различный объем профилирования (Solo HRR, Solo ABC, Solo Риск, Solo Комплекс

Плюс). Наиболее широкий спектр генов предложен в таргетной панели Solo Комплекс Плюс (число генов в зависимости от года предоставления услуги варьировало от 140 до 500), основная задача которой – выявление генетических вариантов для подбора терапии [86]. Как и FDA-одобренные панели, платформа Solo позволяет детектировать варианты числа копий гена (CNV: амплификации, делеции), однонуклеотидные замены (SNV), слияния генов, а также анализировать такие геномные сигнатуры как мутационная нагрузка (ТМВ), микросателлитная нестабильность (MSI), потеря гетерозиготности (LOH). С помощью ИГХ в рамках исследования проводится определения уровня экспрессии PD-L1 (ИГХ) [133]. Solo – услуга, технические характеристики которой менялись в зависимости от года проведения исследования. Панели проведения секвенирования:

- Ion AmpliSeq™ Comprehensive Cancer Panel (секвенирование ДНК, вся кодирующая часть 409 генов + дополнительный анализ перестроек *ROS1*, *ALK*, *NTRK1/2/3* методом гибридизации in situ (ISH), определение MSI ортогональными методами);
- Oncomine Comprehensive Assay v3 (секвенирование ДНК кодирующей части 161 гена, секвенирование РНК (целевые перестройки), определение MSI ортогональным методом);
- NOVOPM v2 (секвенирование ДНК, вся кодирующая часть 484 генов + интроны с целью детекции перестроек, определение MSI ортогональными методами).

Описанные панели не были зарегистрированы для каких-либо нозологий и являются тестами собственной разработки лаборатории (LDT). Реализация услуги в дальнейшем состоит из анализа данных и интерпретации, что полностью зависит от исполнителя услуги.

Учитывая различный объем профилирования, особенности методологии, встает вопрос об оптимальном «размере» таргетной панели. В литературе есть данные сравнения панелей КМП в зависимости от числа анализируемых генов. Основными критериями для сравнения служили частота обнаружения таргетируемых мишеней, для которых существует либо зарегистрированный FDA таргетный препарат, либо возможно назначение лечения off-label (вне зарегистрированных показаний) или в рамках клинических исследований (КИ). Так, в работе E. Vail et al. при анализе 480 отчетов NGS различных нозологий расширенной (315 генов, панель референсной лаборатории), средней (161 ген, Ion Oncomine comprehensive assay v3) и ограниченной панелью (50 генов, Ion Oncomine precision assay) выявлена сопоставимая частота выявления таргетируемых альтераций в случае применения расширенной и средней панели. При анализе референсной панелью было репортировано 2072 варианта. Все альтерации, которые были ассоциированы с одобренными FDA препаратами (61/61) или off-label терапией (89/89) при анализе 315 генов могли бы быть выявлены и с помощью анализа 161 гена. Совпадение между панелями составило 134 гена, конкордантность выявления вариантов у 55 пациентов, которым было проведено профилирование на двух панелях,

составила 257/262 (98.1%). Что касается ограниченной панели, то ею было охвачено лишь 737 вариантов (35,5% относительно расширенной панели). Альтерации, ассоциированные с зарегистрированными препаратами, off-label или в рамках КИ составили 88,5%, 60,7%, 82,1% соответственно. Основная причина низких показателей охвата вариантов ограниченной панелью – невозможность распознавать альтерации в генах HRR. Однако учитывая, что альтерации большинства генов, входящих в систему HRR не влияют на эффективность PARP-ингибиторов, эффективность ограниченных панелей, возможно, сопоставима с широкой [50].

При НМРЛ J. Law et al. проводилось сравнение расширенной (>52 генов, 20%) и ограниченной (\leq 52 генов, 80%) панелей в группе 3884 пациентов. Частота выявления \geq 1 таргетируемого биомаркера была несколько выше при анализе большего числа генов, однако статистически значимого различия не выявлено (32% против 14%, $p=0,14$). Также значимо не различалась и частота назначения МНТ – 43% и 38% ($p=0,20$) в группах таргетируемых альтераций в случае анализа расширенной и ограниченной панелью соответственно. Показатели медианы ОВ (мОВ) анализировались в зависимости от назначения МНТ и составили 34 и 14 месяцев в группе широкой панели, 27 и 10 месяцев в группе ограниченной панели. Однако, при анализе пациентов вне зависимости от выявления альтераций и назначения МНТ мОВ была выше в группе расширенной панели (18 против 10 месяцев). Это может указывать на более благоприятные характеристики пациентов группы расширенной панели: прохождение лечения в конкретном медицинском центре или наличие финансовых возможностей для эффективной терапии [168]. В другой работе при НМРЛ проводился сравнительный анализ между WGS (среднее покрытие 42x) и таргетной панелью (75 генов, среднее покрытие 904x). Таргетная панель позволила идентифицировать 120 драйверных мутаций, из них 114 были выявлены WGS. WGS дополнительно позволило идентифицировать 9 мутаций и 37 CNV в отличие от таргетной панели. Авторами продемонстрировано, что применение WGS имеет большую чувствительность в определении таких сигнатур как TMB и CNV [13].

В работе W. Lyle et al. пациентам с КРР проведено профилирование на расширенной панели (415 генов). По сравнению со стандартными методами анализа генов *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* расширенная панель позволила выявить >25% потенциально таргетируемых вариантов, которые не были определены отдельными тестами или панелями \leq 50 генов [49]. Еще в одной работе продемонстрировано сравнение панели FMI (315 генов) с ограниченной панелью (50 генов). Таргетная терапия могла быть назначена 42% и 18,9% пациентам соответственно. В группе пациентов с солидными опухолями количество выявляемых таргетируемых альтераций среди различных новообразований в среднем на 50% было выше при применении расширенной панели. Скорее всего такое различие было обусловлено включением в анализ генов,

участвующих в гомологичной рекомбинации, альтерации в которых могли стать показанием к терапии PARP-ингибиторами, и восьми генов, ассоциированных с микросателлитно нестабильным фенотипом по сравнению лишь с одним геном, анализируемым в ограниченной панели.

Увеличение частоты выявления таргетируемых альтераций при применении широкой панели относительно ограниченной при глиобластоме составило 50%, при меланоме – 37%, при саркомах – 45%, при КРР – 43,5%, раке желудка – 55,6%, РМЖ – 50% [49]. Проблема небольших панелей, кроме того, может состоять в невозможности определения такого биомаркера как ТМВ. Однако авторы продемонстрировали, что использование ограниченной панели (56 генов) с целью прогнозирования ТМВ может быть доступным методом скрининга. Пороговое значение 10 mut/Mb позволило надежно идентифицировать группу с ТМВ <10 mut/Mb [51]. Данные о сравнении объемов профилирования приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Работы по сравнению широких и ограниченных таргетных панелей

Исследование	Число пациентов	Нозология	Референсный объем, число генов	Сравнение, число генов	Результат
Vail E. et al. [50]	480	Солидные опухоли	315	161 50	Конкордантность 98,1% Конкордантность 35%
Law J. et al. [168]	3884	НМРЛ	>52	≤52	МНТ – 43% и 38% ОВ выше в группе широкой панели
Park J. et al. [13]	60	НМРЛ	WGS	75	Чувствительность WGS 95% Точнее определяет ТМВ, CNV
Özdemir B. [51]	145	Солидные опухоли	315	50	МНТ 42 и 18,9%

НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого; WGS – whole genome sequencing, полногеномное секвенирование; МНТ – молекулярно-направленная терапия.

В дополнение к секвенированию опухолевого материала, инновационной методикой в последние годы стало секвенирование циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК). Преимущества жидкостной биопсии включают минимально инвазивный забор материала (плазма крови) и короткие сроки от направления образца до получения отчета [35, 194, 200]. Кроме того, жидкостная биопсия позволяет проводить мониторинг мутационного статуса в процессе активного лечения пациента, определяя эволюцию опухолевого процесса и механизмы резистентности. Таким образом, тест-системы, которые изначально создавались для тестирования ткани опухоли, в настоящее время оптимизированы и для секвенирования

цодНК: FoundationOne Liquid CDx (311 генов+ bTMB + MSI) [193], Tempus xF + Liquid (523 гена + bTMB + MSI) [84]. Ограничения методики секвенирования цодНК – риск ложноотрицательного результата при низкой фракции цодНК при небольшой опухолевой нагрузке или на фоне эффективного противоопухолевого лечения, а также в связи с ошибками на преаналитическом этапе, неоднозначность полученных результатов в связи с гетерогенностью опухоли, ее эволюцией и клональным гемопоэзом.

Таким образом, наиболее распространенным и целесообразным методом КМП в онкологической практике является применение таргетных панелей на основе NGS (FDA-одобренных или LDT). Материалом для анализа может служить как ткань опухоли, так и плазма крови в зависимости от клинической ситуации, поставленных задач и доступности панелей.

1.3 Прецизионный подход в онкологии

Прецизионный подход в онкологии определяется как лечение, которое подобрано индивидуально для пациентов со злокачественным новообразованием на основании результатов анализа предиктивных биомаркеров. Эта концепция несколько отличается от описываемой в литературе персонализированной терапии, когда предполагается, что лечение разработано для конкретного пациента, однако часто эти термины используются как взаимозаменяемые [128, 188].

Прецизионный подход базируется на определении предиктивных биомаркеров. В отличие от прогностических маркеров, ассоциированных с ожидаемой выживаемостью пациентов вне зависимости от выбранной тактики лечения, предиктивные биомаркеры связаны с ожидаемым ответом на ту или иную опцию терапии. Так, первым примером прецизионного подхода стало применение препарата иматиниб при хроническом миелолейкозе при наличии перестройки *BCR-ABL* в 1998 году, что позволило достигнуть двухлетнюю ВБП 85,4% и ОВ 90,8%. Препарат получил одобрение FDA по данному показанию в 2001 году [115]. Первым примером предиктивного биомаркера в солидных опухолях стало определение амплификации гена тирозинкиназы семейства рецепторов эпидермального фактора роста *EGFR/ErbB*, кодируемой прото-онкогеном *ERBB2* [47]. Экспрессия HER2 при ИГХ-исследовании или амплификация гена на основе флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) предсказывали ответ на терапию на основе трастузумаба, в то время как HER2-негативные опухоли не получали пользы от этого подхода [79, 182, 205].

Так как лабораторная диагностика с течением времени стала более комплексной, что способствовало получению еще большего массива информации об обнаруженных вариантах, встает вопрос: все ли выявляемые альтерации конкретных генов прогнозируют ответ при

применении нацеленного на мишень (анти-EGFR/анти-BRAF/анти-HER2 и т.д.) препарата? Несмотря на то, что зарегистрированные таргетные препараты одобрены для назначения в случае выявления конкретного биомаркера (Таблица 3), не существует достоверной гарантии их эффективности. Одна из причин неэффективности МНТ может быть связана с гетерогенностью мутационного статуса различных опухолей и с наличием ко-мутаций. Так, в работе R. Liu et al. авторы проанализировали влияние ко-мутаций на ОВ пациентов с «якорной» альтерацией, и установили 25 положительных модификаторов и 36 – отрицательных. Например, при наличии мутации гена *BRAF* при КРР альтерации в генах *SMAD4* и *TP53* ухудшают ОВ, а альтерации *APC*, *ASXL1*, *AURKA* позитивно влияют на этот показатель. Или альтерации в генах *TP53*, *EGFR*, *RBI*, *NF1*, *CDKN2A*, *PTEN* являются негативными прогностическими факторами при мутации *PIK3CA* в случае метастатического РМЖ [99]. Данные о гетерогенности опухолевых заболеваний в данном исследовании не могли бы быть получены рутинными методами молекулярной диагностики, что также свидетельствует о позитивном вкладе NGS в понимание опухолевого процесса.

Таблица 3 – Предикторные биомаркеры и зарегистрированные Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств лекарственные препараты при солидных злокачественных опухолях

Биомаркер	Детализация альтерации	Препараты
<i>AKT1</i>	Любая	Капивасертиб
<i>ALK</i>	Транслокация	Алектиниб, Бригатиниб, Церитиниб, Крзотиниб, Лорлатиниб,
<i>BRAF</i>	Мутация V600E	Кобиметиниб, Дабрафениб, Траметиниб, Вемурафениб, Энкорафениб, Биниметиниб
<i>BRCA1/2</i>	Мутации	Олапариб, Рукапариб, Талазопариб, Нирапариб
<i>HRD</i>	Мутации в генах гомологичной рекомбинации	
<i>EGFR</i>	Мутации (делеции в 19 экзоне/ миссенс мутация в 21 экзоне)	Афатиниб, Дакомитиниб, Эрлотиниб, Гефитиниб, Осимертиниб
	Инсерции в 20 экзоне	Амивантамаб, мобосертиниб
<i>ERBB2 (HER2)</i>	Амплификация/ гиперэкспрессия	Трастузумаб, Пертузумаб, Трастузумаб Эмтанзин, Трастузумаб Дерукстефан, Маргетуксимаб, Лапатиниб, Нератиниб, Тукатиниб
<i>FGFR1/2/3</i>	Мутации, транслокации	Эрдафитиниб, Пемигатиниб, Футибатиниб, инфигратиниб
<i>IDH1</i>	Мутация	Ивосидениб
<i>KIT</i>	Мутации	Иматиниб
<i>KRAS</i>	Мутация G12C	Адаграсиб, Соторасиб

<i>MET</i>	Мутации	Капматиниб
<i>NTRK</i>	Транслокации	Энтректиниб, Ларотректиниб
<i>PIK3CA</i>	Мутации	Алпелисиб
<i>RAS</i>	Дикий тип	Цетуксимаб, панитумумаб
<i>RET</i>	Мутации, транслокации	Селперкатиноб
<i>ROS1</i>	Транслокации	Энтректиниб
TMB	≥ 10 мут/Мб	Маркеры чувствительности к иммунотерапии
<i>CD274 (PD-L1)</i>	Экспрессия	
MSI/dMMR	Микросателлитная нестабильность/ Дефицит системы неспаренных нуклеотидов	

Таким образом, прецизионная онкология – это ставший стандартным подход к лечению злокачественных опухолей, который имеет свои ограничения. Для большего понимания взаимодействия «препарат-мишень» необходимо учитывать не только наличие биомаркера, но и нозологию, ко-мутации и дополнительные молекулярные сигнатуры.

1.4 Определение патогенности и таргетируемости выявленных вариантов

Интерпретация выявленных в ходе КМП вариантов – это сложный и многоаспектный процесс, который предполагает не только обширные знания в различных смежных областях, связанных с онкологией, но и осуществление обширного анализа литературных данных [183]. Ключевым элементом подбора терапии является функциональная характеристика молекулярной альтерации, определение ее онкогенности и влияния на экспрессию/активность белка или любой другой вероятный процесс, способствующий развитию опухоли. Для принятия правильного терапевтического решения необходимо не только профессионально интерпретировать результаты тестирования, но и представить эту информацию в лаконичной форме, доступной для понимания внешними специалистами. Для систематизации доказательств эффективности определенной терапии используются уровни доказательности, а также базы данных по прецизионной онкологии [118].

Примером важности определения патогенности вариантов являются мутации в генах *BRCA1/2*. Наличие патогенных герминальных вариантов ассоциировано с предрасположенностью к РМЖ, раку яичников (РЯ), а также характеризуется повышенным риском развития рака простаты, поджелудочной железы (РПЖ) и рака грудной железы у мужчин. Основной задачей белковых продуктов этих генов-супрессоров опухолевого роста является устранение двунитевых разрывов посредством гомологичной рекомбинации [10].

Причем выявление патогенного варианта ведет к определению стратегии лечения (применение PARP-ингибиторов или препаратов платины) и профилактики (удаление молочных желез, аднексэктомия) у пациентов и их родственников. В то же время идентификация вариантов с неизвестной клинической значимостью *BRCA 1/2* (VUS – variants of unknown significance) ограничивают клиническую пользу генетического тестирования [7]. VUS представляют собой преимущественно миссенс-варианты, которые не могут быть однозначно классифицированы как патогенные или доброкачественные в связи с недостаточностью клинических или доклинических данных. Классификация вариантов основывается на руководствах специализированных сообществ (например, Американского колледжа медицинской генетики и геномики – ACMG) [43, 179]. Согласно общепринятой терминологии, все выявленные генетические варианты должны быть классифицированы как патогенные, вероятно патогенные, VUS, вероятно доброкачественные и доброкачественные. Для классификации варианта необходимо пользоваться данными литературы, популяционными нозологическими базами данными, которые непрерывно обновляются, также вспомогательными критериями – вычислительными алгоритмами *in silico* [175]. Результатом интерпретации должно стать описание выявленных вариантов согласно HGVS (Human Genome Variation Society) номенклатуре [198]. Таким образом, растущее число новых выявляемых вариантов последовательностей в ходе тестирования, понимание клинической значимости альтераций исходит из корректной интерпретации, которая также является субъективным процессом.

В контексте прецизионной онкологии, помимо установки патогенности для практического значения важным является установление таргетируемости выявленного варианта. Вспомогательными техниками в этой области помимо анализа литературы, являются базы данных (БД) по оценке возможности воздействия на альтерацию каким-либо лекарственным препаратом. С 2014 года разработано несколько шкал для оценки таргетируемости вариантов [118, 148, 212]. Наиболее распространенная система оценки клинической значимости и таргетируемости альтераций была предложена Европейским обществом клинической онкологии (ESMO) – ESCAT (ESMO Scale for Clinical Actionability of Targets) [10]. Согласно ей, все альтерации можно разделить на 6 категорий:

- уровень I – соответствие препарата и конкретной альтерации было валидировано в рамках рандомизированного клинического исследования (РКИ), назначение терапии влияет на отдаленные результаты: ВБП/ОВ. Присвоение альтерации этого уровня дает право применения МНТ в рутинной практике;
- уровень II – эффективность лекарственного препарата, направленного на альтерацию, было ассоциировано с ответами в КИ I-II фазы или ретроспективных анализах РКИ;

- уровень III – включает альтерации, соответствие таргетного препарата для которых было валидировано при других нозологиях;
- уровень IV – гипотетически таргетируемые альтерации, предположения об эффективности основываются на доклинических данных;
- уровень V – в КИ назначение таргетного препарата на альтерацию влияло на непосредственные результаты (например, ЧОО), но не влияло на отдаленные результаты (ВВП/ОВ);
- уровень X – отсутствие данных о каком-либо воздействии лекарственного препарата на выявленную альтерацию.

В рекомендациях ESMO описаны необходимые для принятия клинических решений альтерации в конкретных нозологиях, которым также присвоен уровень таргетируемости по шкале ESCAT. Учитывая невысокий шанс выявления пациентов с длительными ответами на лечение по результатам КМП, для тестирования в рутинной практике авторы рекомендуют альтерации с уровнем таргетируемости ESCAT I, в рамках протоколов исследовательских центров – с уровнями II-IV. Также применимой шкалой является сопоставимая с ESCAT шкала OncoKB [9, 152]. Согласно классификации OncoKB все ассоциации альтераций с лекарственными препаратами можно разделить на следующие категории:

- уровень 1 – FDA признанный предиктивный биомаркеры ответа на FDA-одобренный лекарственный препарат (относится к стандарту диагностики);
- уровень 2 – биомаркер, рекомендованный к определению NCCN или другими профессиональными руководствами, с целью предикции ответа на FDA-одобренный препарат (относится к стандарту диагностики);
- уровень 3A – убедительные клинические данные свидетельствуют о том, что биомаркер является предиктором ответа к конкретному лекарственному препарату (исследовательская мишень);
- уровень 3B – стандартный или исследовательский биомаркеры, который является предиктором ответа на FDA-одобренный или исследуемый препарат не по указанному показанию/нозологии;
- уровень 4 – убедительные биологические данные свидетельствуют о том, что биомаркер является предиктором ответа к лекарственному препарату (гипотетическая мишень);
- R1 – стандартный биомаркер, предиктивный в отношении резистентности к FDA-одобренного препарата;
- R2 – наличие убедительных данных о том, что биомаркер может быть предиктором резистентности ответа на лекарственный препарат.

Еще одной системой для унификации классификации альтераций, обнаруженных по результатам NGS, является руководство AMP/ACMG/ASCO/CAP [178]. Согласно руководству,

клиническая значимость альтераций определяется их вкладом в диагностику, прогнозирование заболевания и выбор терапии. Генетический вариант считается клинически значимым, если он:

- предсказывает ответ на лечение (чувствительность, резистентность или токсичность);
- модифицирует функциональные свойства белка-мишени для зарегистрированных препаратов или средств, находящихся на стадии клинических испытаний;
- является критерием отбора пациентов для участия в клинических исследованиях;
- дает возможность определить прогноз заболевания и спрогнозировать его исход;
- играет роль в уточнении дифференциальной диагностики;
- применяется в целях профилактики или раннего выявления злокачественных новообразований.

Если генетический вариант соответствует указанным критериям, он классифицируется следующим образом:

- категория I: варианты с высокой клинической значимостью;
- категория II: варианты с потенциальной клинической значимостью (разнится с категорией I в зависимости от убедительности доказательной базы);
- категория III: варианты с неопределенной клинической значимостью.

В ином случае вариант относят к категории IV, которая включает доброкачественные или вероятно доброкачественные изменения, не влияющие на развитие опухоли, прогноз заболевания или выбор лечения.

Помимо наиболее известных шкал существуют и другие классификационные системы для оценки возможности таргетирования. Несколько их характеристик приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Дополнительно применяемые шкалы для оценки таргетируемости

Характеристики исследований, влияющие на присвоение уровня	Andre et al., Ann. Oncol., 2014 [163]	Van Allen et al., Nat. Med., 2014 [212]	Meric-Bernstam et al., JNCI, 2015 [9]	Chakravarty et al., JCO, 2017 [152]
РКИ/ или не РКИ	Допускается присвоение одинакового уровня, если эффективность подтверждена не РКИ	Нет различий между клиническими данными, полученными в ходе РКИ и не РКИ	Нет различий между клиническими данными, полученными в ходе РКИ и не РКИ	Нет различий между клиническими данными, полученными в ходе РКИ и не РКИ

Перспективное/ ретроспективное	Уровень не зависит от того, было ли КИ ретро – или перспективным	Не описано	На присвоение уровня влияет, получены ли данные в перспективном или ретроспективном исследовании	Не описано
Доказано влияния на ОВ, ВВП, ЧОО	Не влияет	Не влияет	Не влияет	Не влияет
Доклинические данные	Отдельная категория для оценки эффективности на основе доклинических данных	Отдельная категория для оценки эффективности на основе доклинических данных	Отдельная категория для оценки эффективности на основе доклинических данных	Отдельная категория для оценки эффективности на основе доклинических данных
Получено одобрение регулирующих органов	Не описано	Одобрение FDA – основной критерий для присвоения уровня	Одобрение FDA – основной критерий для присвоения уровня	Одобрение FDA – основной критерий для присвоения уровня

РКИ – рандомизированное клиническое исследование; КИ – клиническое исследование.

Дополнительным инструментом, целью которого стоит упрощение процесса поиска информации о выявленных вариантах, стало создание общедоступных БД. Некоторые примеры приведены в таблице 5. Отличия между БД состоят в разной степени наполненности и частоте обновления информации. БД по клинической значимости нарушений, позволяют получить исчерпывающую информацию в отношении хорошо изученных и часто встречающихся биомаркеров (уровень I в плане таргетируемости или R1 – резистентности к терапии), однако это не позволяет исключить из процесса интерпретации поиск и анализ литературных источников [48].

Таблица 5 – Характеристика наиболее часто используемых баз данных по прецизионной онкологии

Учреждение, страна	База данных	Краткое описание
Memorial Sloan Kettering Cancer Center, США [9]	OncoKB	БД в области прецизионной онкологии, предоставляющая терапевтическую, диагностическую и прогностическую информацию, а также одобренные (FDA) на конкретные мишени лекарственные препараты для 840 генов (на момент написания).

National Center for Biotechnology Information (NCBI), США [46]	ClinVar	Бесплатный архив генетических вариантов и интерпретаций их клинической значимости, вне зависимости от заболевания. Информация загружается не модератором, а различными пользователями.
Broad Institute, США [46]	gnomAD (Genome Aggregation Database)	Объединяет и унифицирует данные секвенирования экзома и генома, полученные в результате крупномасштабных исследований
ОнкоАтлас, Россия [62]	CRAC	Список генов в зависимости от нозологии с присвоенным значением (от 1 до 10), позволяющий ранжировать альтерации с высокой дискриминирующей способностью
University Medical Center Gottingen, Германия [108]	MTB-Report	Выполняет аннотацию, фильтрацию и сортировку генетических вариантов из общедоступных БД, чтобы предоставить доказательства целесообразности действий в рамках специализированных консилиумов
National Human Genome Research Institute (NHGRI), США [36]	CIViC	502 гена, 3563 описанных варианта на момент написания, доступ к информации по активным клиническим исследованиям, еженедельное обновление

В работе S. Pollarz et al. было проведено сравнение 7 БД (CIViC, OncoKB, Database of Curated Mutations (DoCM), Cancer Gene Census (CGC), Tumor Alterations Relevant for Genomics-Driven Therapy (TARGET), Precision Medicine Knowledge Base (PMKB) и CGI Biomarkers) между собой. Сравнение проводилось по перекресту анализируемых генов и лекарственных препаратов, а также анализировались рекомендации по терапии 113 пациентов, чьи случаи были обсуждены в рамках специализированных консилиумов. Авторы обнаружили значимый уровень пересечения информации в БД, однако также выявлялись и уникальные в зависимости от источника данные. Кроме того, установлено, что интерпретация также зависела от учреждения проведения МТВ, что еще раз подчеркивает влияние экспертного состава МТВ и опыта интерпретирующего специалиста [48].

Помимо корректной интерпретации отдельного нарушения, существует ряд других трудностей. По результатам КМП может быть выявлен не один, а несколько таргетируемых, клинически значимых биомаркеров. Например, некоторые альтерации могут быть ассоциированы с резистентностью к терапии, нацеленной на другие варианты того же или другого гена: ларотректиниб и энтректиниб одобрены для лечения пациентов с солидными опухолями при наличии *NTRK* транслокаций, однако в опухоли одновременно не должно быть мутации приобретенной резистентности (например, G595R при транслокации *NTRK1*) [202, 204]. Вторичные

мутации того же гена, придающие резистентность к терапии, назначенной на сенсibiliзирующую мутацию, хорошо известны при НМРЛ. Так аденокарцинома легкого при наличии мутации *EGFR* T790M резистентна к ингибиторам рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) как первого, так и второго поколения [16, 59, 196], но не к ингибиторам третьего поколения (осимеритиниб), тогда как мутация *C797S EGFR* обеспечивает устойчивость последнему агенту [15, 181, 189]. Или же мутации в одном гене могут способствовать резистентности к терапевтическим препаратам, показанным при определенном генетическом статусе. Например, мутации генов *RAS* – известный фактор устойчивости к анти-EGFR моноклональным антителам при распространенном КРР. Поэтому показанием к назначению цетуксимаба или панитумумаба является дикий статус генов *KRAS*, *NRAS* [201, 203]. Однако не все пациенты отобранной группы одинаково отвечают на анти-EGFR терапию, что приводит к поиску дополнительных факторов резистентности. В работе PARADIGM была проведена гиперселекция пациентов с диким типом генов *RAS*: к негативными предиктивными факторами ответа на анти-EGFR терапию относилось наличие амплификации *ERBB2*, *MET*, мутации *PIK3CA*, *PTEN*, экстрацеллюлярного домена *EGFR*, слияния *ALK/RET/NTRK1*. В случае отсутствия описанных альтераций вне зависимости от стороны поражения (правосторонний или левосторонний КРР) назначение панитумумаба отразилось в более высоких показателях выживаемости по сравнению с добавлением бевацизумаба (HR 0,72, 95% CI 0,62-0,92; p=0,029) [140].

Таким образом, внедрение прецизионного подхода в практику невозможно без корректной интерпретации результатов КМП. Несмотря на вспомогательные методики в виде шкал таргетируемости и БД по клинической значимости вариантов, принятие решений требует мультидисциплинарного подхода.

1.5 Применение комплексного молекулярного профилирования в клинической практике

В клинической практике КМП играет вспомогательную роль как в диагностике, так и в лечении пациентов с онкологическими заболеваниями. В литературе описаны случаи упрощения дифференциальной диагностики между первичными опухолями и метастатическим поражением, а также определения прогрессирующего заболевания при синхронных опухолях без гистологической верификации по цоДНК при помощи КМП [65, 141]. Кроме того, диагностическая роль таргетных панелей КМП на основании NGS значима для выявления наследственных синдромов [3]. Так, ряд работ продемонстрировал более высокую чувствительность NGS относительно конвенциональных методов при анализе генов, ассоциированных с наследственными синдромами [143, 185]. Например, в странах, где распространены повторяющиеся мутации генов *BRCA1/2* (персистенция у определенных

этнических групп) применяется скрининг на наличие наиболее частых вариантов с применением недорогого метода ПЦР. Так, на территории России частые патогенные мутации в генах характерны для представителей славянской этнической группы (*BRCA1* с.5266dupC, *BRCA1* с.4035delA, *BRCA1* с.3756_3759delGTCT, *BRCA1* с.68_69delAG, *BRCA1* с.1687C>T, *BRCA2* с.658_659delGT) [10, 30]. Однако за пределами наиболее частых мутаций редкие варианты встречаются в 57,1% случаев пациентов при РЯ и не только [1, 97]. В связи с чем негативный результат ПЦР не несет значимой информации, и комплексный подход является наиболее целесообразным. Еще одной из областей применения КМП в практике становится использование при CUP – синдроме (cancer of unknown primary, опухоль из невыявленного первичного очага – НПО). Однако классическое КМП хоть и дает возможность выявления предиктивных биомаркеров, оно не позволяет определить первичный очаг опухоли, в связи с чем для дифференциальной диагностики проводится в дополнение анализ транскриптома [58, 89, 116, 132]. В работе CUPISCO также продемонстрировано увеличение ЧОО и ВБП в случае назначения МНТ в случае опухолей из НПО при проведении секвенирования таргетной панелью и транскриптомного анализа по сравнению с назначением стандартной платиносодержащей терапии [207]. Проведение КМП упрощает поиск ко-мутаций в генах, которые не входят в диагностический стандарт при ряде нозологий. Например, известно, что наличие ко-мутаций в гене *TP53* при *EGFR*-мутированном НМРЛ является предиктором низкого ответа на соответствующие тирозинкиназные ингибиторы [130]. Кроме того, наличие мутаций также ассоциировано с более высокими показателями выживаемости на фоне моноиммунотерапии по сравнению с диким типом *TP53* [164]. Эти данные могут влиять на принятие решений, в связи с чем их оценка важна для клинической тактики.

1.6 Роль специализированных консилиумов

Одной из проблем для широкого внедрения КМП в рутинную практику помимо стоимости анализа является сложность интерпретации полученных результатов врачом-клиницистом [75, 207]. Зарубежными онкологическими центрами с целью решения данной проблемы были учреждены специализированные консилиумы (molecular tumor board – МТВ) [26]. Они представляют собой регулярные собрания (виртуальные или очные встречи) ряда специалистов в области медицины, генетики, биологии с целью корректной интерпретации молекулярных находок в контексте их функциональной значимости и корреляции с чувствительностью и резистентностью к лекарственным препаратам. В большинстве описанных случаев в состав МТВ входили врач-онколог химиотерапевт, консультант-генетик, патоморфолог, специалисты в области фундаментальных наук (молекулярные биологи),

хирурги, радиологи, координаторы КИ [29]. Такой широкий спектр экспертов позволяет приводить точные и актуальные данные для подтверждения диагноза и идентификации активирующих альтераций, а также формировать рекомендации по поводу тактики лечения, лекарственной терапии или включения пациента в активные КИ. Еще одним преимуществом проведения МТВ является определение необходимости дополнительного МГИ с целью верификации находок или для определения наследственного статуса альтераций. После обсуждения консенсуальное решение экспертов предоставляется лечащему врачу, который принимает окончательное решение по поводу тактики ведения пациента.

В настоящий момент не существует рандомизированных работ, сравнивающих решения МТВ и врача-клинициста в плане назначения МНТ и эффективности рекомендованного лечения. Отдельные учреждения опубликовали описание алгоритма проведения МТВ, его цели, подходящих для вынесения на обсуждения клинических ситуаций пациентов и типы активирующих мутаций. Основным поводом для формирования МТВ служила возможность включения пациентов в биомаркер-ассоциированные КИ [37, 117, 171]. Bourett et al. проанализировали проведение 73 виртуальных МТВ в французских центрах, а также для набора пациентов в международные КИ. МТВ проводились в фиксированное время еженедельно или раз в 2 недели в зависимости от готовности отчетов КМП. К участию приглашались лечащие врачи, эксперты клинических и фундаментальных специальностей. Кроме того, если целью консилиума было включение пациентов в протокол исследования, обязательным членом консилиума был координатор и главный исследователь. Процесс проведения МТВ состоял из краткого представления клинической информации о диагнозе, ранее проведенном лечении, развернутой информации о молекулярных находках по отчету КМП и обсуждения, результатом которого становилась рекомендация о назначении конкретного препарата на конкретную мишень [29].

Так, в институте Кюри проведение МТВ на основании как КМП, так и отдельных тестов (ISH, ИГХ) 442 пациентов позволило включить в КИ 45 пациентов (10%) [171]. При проведении КМП на панели FMI пациентам с редкими опухолями или опухолями, рефрактерными к стандартной терапии, КМП идентифицировало хотя бы одну альтерацию у 88 из 92 пациентов. МТВ позволил выявить 35% пациентов (31 из 88), которым была рекомендована МНТ, либо КМП позволило сменить диагноз/запустить тестирование по поводу подозрения на наследственные синдромы. Запланированная МНТ была получена 31% пациентов. Для этих пациентов медиана длительности МНТ составила 7,6 месяцев по сравнению с 4,2 месяцами группы стандартного лечения ($p=0,07$) [37]. Целью описанных работ было в первую очередь исследование частоты альтераций в зависимости от нозологии, определение их таргетируемости. Однако заданные цели не отвечают на вопрос о клинической значимости проведения МТВ. В системном обзоре 14 работ Larson et al. было продемонстрировано, что

после проведения МТВ МНТ назначалась в 11-39% случаев при анализе ретроспективных поперечных исследований и в 22-43% в случае проспективных работ [44]. Наиболее частые причины рекомендации стандартных опций – отсутствие активирующих мутаций, бурно прогрессирующее заболевание или же отказ пациентов от участия в предложенном КИ [117]. Клиническая польза (КП) была оценена как стабилизация заболевания (SD), частичный (PR) или полный ответ (CR) на первом контроле. Показатель варьировал от 42 до 100% в зависимости от рассмотренной работы, однако в исследованиях с высокими значениями КП количество клинических исходов было известно у крайне ограниченного числа больных [110, 114]. Несмотря на это ограничение, показатели ответов на терапию, подобранную в ходе МТВ в зависимости от биомаркера, были значительно выше, чем в группах не-МНТ в исследованиях I фаз (ЧОО – 5-6%) [124, 158].

В проспективных работах по оценке КМП и МТВ Radovich et al. было показано, что из 168 пациентов, которым проводилась МТВ, клинические данные и отчеты КМП у 67 (40%) были неполными, МНТ была рекомендована 44 (26,1%) пациентам. Было выявлено статистически значимое различие в медиану ВБП (мВБП, 86 дней против 49 дней, HR 0,55, 95% ДИ, 0,37-0,84), а также в показателе отношения ВБП на линии после МТВ к ВБП линии лечения до МТВ $\geq 1,3$: 43,2% против 5,3% ($p < 0,0001$) [40]. В другой же работе при анализе заключений 386 КМП 79 (20,5%) пациентов получили рекомендации МТВ о проведении МНТ. Различий в показателе отношении ВБП $\geq 1,3$ между группой МНТ и не-МНТ выявлено не было [124]. Основные публикации, освещающие характеристики МТВ, которые проводятся в зарубежных лечебных учреждениях, приведены в таблице 6.

МТВ преимущественно организуются в онкологических центрах, которые имеют опыт работы с расширенным генетическим профилированием. И хотя алгоритмы проведения МТВ по данным литературы схожи и сосредоточены на преобразовании результатов КМП в терапевтические рекомендации, существуют значимые различия с точки зрения состава и объема консилиума [136]. Примечательно, что рекомендации по лечению, предоставляемые МТВ, сильно различаются. Сравнение пяти независимых МТВ из четырех стран показало, что только два из пяти МТВ предоставили аналогичные рекомендации для четырех вымышленных случаев [52]. В другой работе В. Коорман et al. было проанализировано решение 8 консилиумов из клиник Нидерландов по поводу 10 случаев пациентов с молекулярными данными. Согласованность между решениями составила 86% [138].

Таблица 6 – Характеристика работ по оценке эффективности специализированных консилиумов

Исследование	Число пациентов	Характеристики пациентов	Экспертный состав МТВ	Результат МТВ
Basse et al., 2018 [171]	442	Вне зависимости от нозологии, получили ≥ 1 линии терапии	Онколог-химиотерапевт, патоморфолог, генетик, биоинформатик, радиолог	10% – включены в КИ 37% – не включены по причинам: смерть/отсутствие подходящих КИ/подходящий препарат уже был получен
Кнеpper et al., 2017 [117]	1400	Вне зависимости от нозологии и ранее проводимого лечения	Онколог, патоморфолог, генетик, биоинформатик, биолог, специалисты в области трансляционных исследований	Установлена методология проведения МТВ за 3 года его функционирования
Bryce et al., 2017 [76]	141	58% – солидные злокачественные новообразования, 42% – онкогематологические заболевания	Онколог, молекулярный биолог, патоморфолог, биоинформатик, генетик, представители этического комитета, координаторы КИ	22% – назначена МНТ: 45% достигнут контроль заболевания (SD/PR/CR), 41% – PD
Burkard et al., 2017 [110]	38	Вне зависимости от нозологии и ранее проводимого лечения	Онколог-химиотерапевт, радиолог, генетик	84% (32)– рекомендована МНТ: 28% (9/32) – получена МНТ, контроль заболевания 38%
Dalton et al. [159]	155	Вне зависимости от нозологии и ранее проводимого лечения	Взрослые и детские онкологиче-миотерапевты, молекулярный биолог, генетик, исследователи I фаз КИ, координаторы КИ	83% – рекомендовано КИ, 8% – включены в КИ; 18% – получили МНТ; 41% – не получили МНТ; 41% – неизвестно; мВБП 5 месяцев против 2,97 месяцев; 6-месячная ВБП 43% против 20% в группах МНТ и не-МНТ соответственно
Narada et al., 2017 [113]	132	Вне зависимости от нозологии, 97% – метастатические опухоли	Онколог-химиотерапевт, онколог-хирург, лучевой терапевт, патоморфолог, молекулярный биолог, генетик	11,3% (15) – назначена МНТ: 67% – достигнут контроль заболевания (SD/PR/CR); 34% – PD

Продолжение таблицы 6

Parker et al., 2015 [31]	43	Метастатический РМЖ	Онколог, генетик, биоинформатик	40% (17) – назначена МНТ: 41% – достигнут контроль заболевания (SD>6 месяцев/PR)
Tafe et al., 2015 [114]	35	Вне зависимости от нозологии и ранее проводимого лечения	Онколог-химиотерапевт, гематолог, молекулярный биолог, генетик	12,5% (4) – назначена МНТ: 50% (2) – длительные ответы >10 месяцев
Trivedi et al., 2019 [111]	54	Вне зависимости от нозологии и ранее проводимого лечения	Онколог-химиотерапевт, лучевой терапевт, фармацевт, координатор КИ	22% (12) – назначена МНТ 24% (13) – рекомендована МНТ на случай PD
Radovich et al., 2016 [40]	101	Метастатические солидные опухоли, получили ≥ 1 линии терапии	Онколог-химиотерапевт, генетик, фармаколог, патоморфолог, представители этического комитета	43,5% (44) – назначена МНТ ВБП2/1 $\geq 1,3$ 43,2% против 5,3% ($p < 0,01$); мВБП 86 против 49 дней $p = 0,005$ в группах МНТ и не-МНТ соответственно

Региональные и международные различия в составе и логистике, доступе к целевым лекарственным препаратам и молекулярной диагностике являются потенциальными источниками дискордантности решений [135].

Таким образом, МТВ вносят значительный вклад в оптимизацию применения МНТ, накопление данных о таргетируемости молекулярных альтераций, а также в развитие прецизионного подхода в онкологии. В связи с этим, повышение доступности и унификация алгоритма проведения МТВ, вероятно, позволит повысить уровень предоставления помощи онкологическим пациентам. Однако, как было продемонстрировано в указанных исследованиях, процент пациентов, которым рекомендована МНТ (до 85%), и кто в действительности ее получает (10-30%, в случае предварительно отобранной выборки – 44%), сильно различается. Кроме того, неочевидным остается влияние МНТ на непосредственные и отдаленные результаты лечения пациентов.

1.7 Изучение роли молекулярно-направленной терапии

За последние годы интенсивное развитие получило направление исследований по МНТ. Подбор целевого лекарственного препарата в таком случае осуществляется для конкретной онкогенной молекулярной альтерации.

Большинство исследований, посвященных изучению роли МНТ после проведения КМП, представляют собой ретроспективные анализы обширных групп пациентов с разнообразными солидными опухолями. Это усложняет процесс интерпретации результатов и формирование рекомендаций, специфичных для конкретных болезней. Так, в работе A. Gibbs et al. авторы проанализировали опубликованные данные по МНТ на основе КМП с 2016 по 2021 год и установили, что 68% работ являлись ретроспективными наблюдательными когортными, 16% – проспективными наблюдательными и 16% – нерандомизированными клиническими исследованиями [57]. Однако при суммировании данных, прецизионный подход все же демонстрирует более высокие показатели ВВП и ОВ. Так, в метаанализе Schwaederle et al. (86% исследований – нерандомизированные) медиана ВВП составила 5,9 против 2,7 месяцев ($p < 0,001$) в группе МНТ и стандартных подходов соответственно, а медиана ОВ 13,7 против 8,9 месяцев ($p < 0,001$). Смертность, ассоциированная с лечением, также была ниже в группе применения целевых агентов по сравнению с цитотоксическими препаратами (1,9% против 2,4%, $p = 0,023$), и в группе персонализированного лечения по сравнению со стандартом терапии (1,5% против 2,2%; $p < 0,001$) [109]. Тем не менее, важно учитывать, что в большинстве исследований, которые были рассмотрены, акцент сделан на стандартные молекулярные биомаркеры, используемые в настоящее время в повседневной клинической практике. Исходя из этого,

эффективность лечения, основанного на результатах тестирования маркеров вне стандартного набора, соответствующего текущим клиническим рекомендациям, остается под вопросом. В связи с этим в крупных онкологических сообществах начали появляться рекомендации по применению NGS-панелей для пациентов с распространенными солидными опухолями [170, 176].

Если речь идет о применении неклассических альтераций для определенных нозологий, то по результатам клинических исследований большинство пациентов, прошедших КМП, имеют таргетируемые молекулярные альтерации, однако лишь небольшая часть пациентов может в последующем получить МНТ, но ее эффективность невысока. Например, в работе E. Cobain et al. после КМП у 80,5% пациентов были обнаружены потенциально таргетируемые варианты, и лишь 16,2% пациентов получили МНТ. КП, которая определялась как терапия длительностью более 6 месяцев, была достигнута лишь у 4,8% пациентов, которым проводилось КМП [23]. Наиболее часто КП от МНТ наблюдалась у пациентов с саркомой (8,7%), раком предстательной железы (6,5%), опухолями из НПО (12,7%). Схожие показатели КП были обнаружены и в других исследованиях [23, 41, 54, 74, 106, 109, 158, 176, 195, 213] (Таблица 7). В самой крупной работе по проведению КМП 18 686 пациентам, МНТ off-label была назначена 2 107 (11% пациентов).

Таблица 7 – Исследования назначения молекулярно-направленной терапии после комплексного молекулярного профилирования при различных нозологиях

Исследование	Количество пациентов, (n)	Потенциально таргетируемые альтерации	Получена МНТ	Достигнута КП
Cobain E. et al., 2021 [89]	1015	80,5% (817)	16,2% (132)	4,8% (49)*
Johnson D. et al., 2014 [74]	103	83% (85)	21% (21)	8% (8) *
Hilal T. et al., 2017 [54]	125	92% (111)	12% (15)	2% (3) **
Tsimberidou A. et al., 2012 [158]	1144	40,2% (460)	18% (211)	4% (49) *
Beltran H. et al., 2015 [213]	97	94% (91)	5% (5)	2% (2) *
Massard C. et al., 2017 [106]	843	49% (411)	24% (199)	7,5% (63) ***
Kim S. et al., 2015 [195]	407	84,1% (342)	26% (106)	–
Mathew A. et al., 2022 [41]	221	43% (95)	10% (21)	4% (9)*
Fernandes G. et al., 2017 [145]	157	81,5% (128)	15,2% (24)	4,4% (7)*****
Cifuentes C. et al., 2023 [21]	125	46,4% (58)	36% (45)	–

* – КП определялась как длительность МНТ ≥ 6 месяцев;

** – КП определялась как длительность МНТ 2-6 месяцев;

*** – КП определялась как отношение ВВП2/ВВП1 $\geq 1,3$;

***** – КП определялась как частота контроля заболевания (CR, PR, SD при первом контрольном обследовании).

Необходимо отметить, что работы по оценке применимости КМП для назначения МНТ сталкивались с проблемой адекватной оценки результатов, что может объяснять скромные преимущества МНТ по сравнению со стандартом лечения. Учитывая гетерогенность популяций пациентов, которых в большей степени объединяла лишь исчерпанность или ограниченность линий лечения, построение статистической гипотезы по классическим конечным точкам, принятым при проведении РКИ (ВБП, ОВ), не представлялось объективным и корректным для формирования выводов. Так, в работах появились критерии клинической пользы (в зависимости от исследования определялась как длительность терапии ≥ 2 или 6 месяцев), а также отношение ВБП с коэффициентом $\geq 1,3$ (ВБП2/1 – длительность ВБП на линии после проведения КМП к длительности ВБП на линии до проведения КМП) и частоты контроля заболевания (SD, PR, CR на контрольном обследовании при терапии, назначенной после МНТ).

В исследовании R. Colomer et al. авторы продемонстрировали отсутствие различий в ВБП среди пациентов, прошедших КМП (111 человек из изначально включенных 139), и: а) у которых были (80) или не были (31) выявлены потенциально таргетируемые альтерации (170 против 299 дней, $p=0,37$); б) в группе выявленных альтераций назначена МНТ (27) или стандарт терапии (53) (195 против 156 дней, $p=0,5$); в) определение альтераций как ESCAT I-III против IV-X (183 против 180 дней, $p=0,88$) [206]. Важным замечанием работы стало отсутствие при таком подходе клинического компонента оценки применимости и целесообразности проведения КМП. В своей ранней работе авторы выделили несколько категорий пациентов в зависимости от предположительной пользы КМП [211]:

1. Пациенты с распространенным НМРЛ/КРР/меланомой (несколько молекулярных маркеров доступны к анализу для терапии).
2. Пациенты с метастатическими редкими опухолями.
3. Кандидаты для включения КИ (доступность КИ в регионе).
4. Пациенты с распространенным процессом с сохраненным соматическим статусом (PS ECOG 0-2) и отсутствием стандартных опций терапии.
5. Пациенты с бурно прогрессирующим опухолевым процессом.
6. Пациенты с ожидаемой продолжительностью жизни менее 3 месяцев; PS ECOG 3-4.
7. Пациенты с ранними стадиями опухолевого процесса, для которых доступны радикальные методы лечения.
8. Пациенты, для которых стандартные опции терапии доступны без необходимости КМП.

Далее авторы провели сравнительный анализ двух групп пациентов: КМП показано (категории 1-3, 59 пациентов, 42%) и КМП не показано (категории 4-6, 61 пациент, 44%), исключив пациентов, для которых в КМП просто не было необходимости (категории 7 и 8,

19 пациентов, 14%). Медиана ВВП составила 319 против 116 дней ($p < 0,001$). При анализе ОВ группа пациентов, которым было показано проведение КМП по критериям, предложенным исследователями, также демонстрировала более благоприятные результаты лечения (мОВ не достигнута против 593 дней в группе «КМП не показано», $p < 0,001$). Этот поданализ является важным, так как позволяет сформировать портрет пациента, назначение КМП которому будет нести наибольшую пользу.

Однако не все пациенты имеют таргетируемые альтерации, что ограничивает внедрение прецизионного подхода в онкологию и требует большего понимания биологии опухоли, внедрения новых методологий, например исследования экспрессии генов. Так, в работе WINTHER авторами был предложен транскрипционный анализ, который сравнивал бы экспрессию генов в опухолевом материале и нормальной ткани. Этот анализ проводился в дополнение к секвенированию ДНК или РНК. Данные были доступны для 253 пациентов (медиана линий до исследования – 3, медиана возраста – 57 лет), в последующем лечение назначалось в соответствии с решением консилиума в зависимости от выявленных геномных нарушений (107 пациентов). Частота достижения стабилизации заболевания ≥ 6 месяцев/частичного/полного ответа составила 26,2%. Частота достижения ВВП2/ВВП1 $> 1,5$ составила 22,4%, не достигнув статистической достоверности (альтернативная гипотеза – 50%, $p = 1,0$). Медиана ВВП составила 2,01 месяца, медиана ОВ – 5,9 месяцев [91].

Таким образом, исследования роли МНТ предлагают отличающиеся от привычных конечные точки для анализа эффективности применения КМП. Проведенные работы продемонстрировали высокую частоту выявления потенциально таргетируемых альтераций и невысокий процент достижения КП после назначения КМП, что могло быть связано с отсутствием селекции пациентов. Для решения вопроса о назначении КМП в клинической практике врачу-клиницисту необходимо иметь представление о клинических характеристиках пациента, который может получить наибольшую пользу от КМП и в дальнейшем – от МНТ.

1.7.1 Применимость комплексного молекулярного профилирования при опухолях желудочно-кишечного тракта

Одной из наиболее распространенных групп злокачественных новообразований являются аденокарциномы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Кроме того, показатели смертности от аденокарцином желудка, пищеводно-желудочного перехода, ХК, РПЖ и КРР практически приравниваются к показателям встречаемости описанных нозологий, что говорит о крайне неблагоприятном течении и прогнозе пациентов [4, 94]. Опухоли ЖКТ часто характеризуются важными нетаргетируемыми альтерациями. Так, например, применение МНТ

при выявлении альтераций в генах гомологичной репарации при наличии мутаций в генах *RAS* при КРР не обладает клинической эффективностью, в отличие от случаев с отсутствием мутаций *RAS* [150, 159, 210].

В корейском исследовании NEXT-1 был проведен поданализ группы пациентов с опухолями ЖКТ: после КМП МНТ была назначена 54 из 234 пациентов (23%). ЧОО статистически значимо различалась в группах МНТ и стандарта терапии: 42,6% и 24,3% соответственно ($p=0,009$). Однако к МНТ была отнесена терапия анти-EGFR препаратами при диком типе генов *RAS* при КРР или назначение анти-HER2 препаратов при амплификации гена *ERBB2* при РЖ. Учитывая, что указанные альтерации входят в стандарты МГИ при опухолях ЖКТ, вопрос о роли КМП после определения уже рекомендованных маркеров остается открытым [195]. Более перспективный подход – целенаправленное КМП для определения пациентов в КИ.

По данным крупных работ молекулярный профиль аденокарцином желудка характеризуется наиболее частым выявлением альтераций генов *TP53* (50%), *ARID1A* (24%), *KRAS* (16%), *CDH1* (15%), *CDKN2A* (14%), *CCND1* (9,5%), *ERBB2* (8,5%), *PIK3CA* (8,6%), *MLL2* (6,9%), *FGFR2* (6,0%), и *MET* (6,0%), 20,6% случаев занимали амплификации генов *ERBB2*, *FGFR2*, *MET* [165, 199]. Причем различия в молекулярном профиле, продемонстрированная в полномасштабном молекулярном анализе The Cancer Genome Atlas (TCGA), нашли отражение в формировании четырех молекулярных типов рака желудка: ассоциированный с вирусом Эпштейна-Барр, MSI подтип, генетически стабильный (genomically stable, GS) и хромосомнонестабильный (chromosomal instability, CIN). Однако попытки внедрения МНТ в отношении подтипов РЖ обернулись неудачей и ограничены рассмотрением назначения ингибиторов иммунных контрольных точек только при подтипе, ассоциированном с вирусом Эпштейна-Барр. Одобренными FDA препаратами для МНТ при РЖ являются трастузумаб (при амплификации *ERBB2*), золбетуксимаб (при гиперэкспрессии Claudin 18.2) и средства, одобренные по опухоль-агностическому показанию: TRK-ингибиторы (транслокации *NTRK*), ингибиторы контрольных точек иммунного ответа (ИКТ, статус MSI / TMB >10 Мут/Мб, высокая экспрессия PD-L1), BRAF/MEK ингибиторы (*BRAF* V600E), RET-ингибитор (транслокация *RET*), причем эти биомаркеры встречаются крайне редко при РЖ [55, 86].

В нерандомизированном исследовании VIKTORY пациенты с метастатическим раком желудка и 8 вариантами подходящих биомаркеров (*RAS* альтерации, *TP53* мутация, *PIK3CA* мутация/амплификация, *MET* амплификация, гиперэкспрессия MET, *TSC2* альтерация, *RIC-TOR* амплификация) были распределены в протоколы КИ, сравнение показателей выживаемости проводилось относительно контрольной группы стандарта 2-й линии терапии [199]. После проведения КМП МНТ получили 105 пациентов (14,7%), медиана ОВ этой группы составила

9,8 месяцев. Показатель был выше по сравнению с пациентами, получившими стандартный вариант терапии (532 пациента, медиана ОВ 6,9 месяцев, $p < 0,001$). В многофакторном анализе назначение МНТ было единственным значимым фактором, влияющим на ОВ ($p < 0,0001$, $OR = 0,58$; 95% CI: 0,45-0,76). Аналогичная тенденция установлена при анализе ВВП – 5,7 и 3,8 месяцев соответственно ($p < 0,0001$). Таким образом, авторами была продемонстрирована целесообразность проведения КМП в случае возможности включения пациентов в КИ при выявлении искомым биомаркеров. Однако при проведении рандомизированного проспективного исследования позитивное влияние МНТ не столь очевидно.

В работе K-Umbrella пациенты с распространенной HER2-отрицательной аденокарциномой желудка отбирались по данным ИГХ и FISH для распределения в группы МНТ и контроля. В группе МНТ пациентам были предложены таргетные препараты с паклитакселом (пан-ERBB ингибитор в случае EGFR 2+/3+ (афатиниб), PIK3C β ингибитор при потере *PTEN* (GSK2636771), анти-PD-L1 препарат в случае экспрессии PD-L1, выявления MSI/dMMR или ассоциации с вирусом Эпштейна-Барр (ниволумаб). В случае отсутствия перечисленных маркеров пациент получал паклитаксел с или без рамуцирумаба. В исследование включено 318 пациентов (64 пациента – контрольная группа, 254 – группа МНТ). В зависимости от молекулярных альтераций пациенты получили анти-EGFR препарат в 67 случаях, PIK3C β ингибитор – 37 случаев, ниволумаб – 48 случаев и паклитаксел \pm рамуцирумаб – 102 случая. Медиана ВВП и ОВ составили 3,7 и 8,6 месяцев в группе МНТ и 4,0 и 8,7 в группе контроля [192]. Учитывая отсутствие статистически достоверной пользы от такого подхода, авторы делают вывод о возможном применении ИГХ и FISH исследования в качестве скрининга для решения вопроса о тестировании новых препаратов при аденокарциноме желудка.

При КРП анализ генов, выходящих за стандарты МГИ, может быть опцией для принятия решения о таргетной терапии первой линии. Отсутствие мутаций генов *RAS*, *BRAF* в настоящее время не является достаточным для добавления анти-EGFR терапии. Гиперселекция по статусу мутаций *PTEN*, экстрацеллюлярного домена *EGFR*, амплификаций *ERBB2* и *MET*, транслокаций *ALK*, *RET*, *NTRK1* представляется перспективным подходом в отношении назначения анти-EGFR моноклональных антител [105, 169]. Результаты биомаркерного анализа работы PARADIGM демонстрируют, что при гиперселекции пациентов по негативному статусу описанных альтераций в циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК) увеличение ОВ наблюдается при добавлении панитумумаба к химиотерапевтическому дулету вне зависимости от стороны поражения (OR 0,75, 95% ДИ 0,62-0,92; $p = 0,029$) [140]. Это свидетельствует о том, что различие в молекулярном профиле опухолей КРП важнее стороны локализации первичной опухоли и дает возможность назначения анти-EGFR терапии

[8]. В работе S. Kato et al. анализировалась конкордантность мутационного статуса, определенного с помощью NGS по крови (цДНК) и по опухолевой ткани, а также оценивалась возможность назначения МНТ. После проведения КМП КП (длительность ответа более 6 месяцев) достигла 65% и 31% пациентов, которым была назначена МНТ и стандарт терапии соответственно ($p=0,045$), мВБП составила 6,1 против 2,3 месяцев ($p=0,08$), мОВ – не достигнута против 9,4 месяцев ($p=0,146$). Наиболее часто несинонимичные альтерации при КРР обнаруживались в генах *TP53* (52,1%), *KRAS* (34%), *APC* (28,7%), *BRAF* (19,1%), *PIK3CA* (17%), *EGFR* (16%) [92]. В связи с описанными данными рекомендации ESMO по применению КМП при КРР описывают целесообразность метода лишь для рассмотрения помимо стандартных альтераций генов *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* статуса *ERBB2*, транслокаций *NTRK* (описаны в 0,25% случаев КРР), более точной характеристики статуса MSI [170]. Другими примерами прецизионного подхода при КРР являются работы по оценке эффективности PARP-ингибиторов, PIK3CA-ингибиторов, анти-АКТ препарата, CDK-4/6 ингибиторов. Так, в исследовании 2-й фазы TAPUR проводилась оценка эффективности PARP-ингибитора талазопариба в когорте пациентов с КРР и наличием мутаций генов BRCA1/2. Однако в когорте 10 пациентов ни один не достиг ответа при первом контроле, мВБП составила 8 недель, а мОВ – 24 недели [184]. Попытка эскалации терапии была предпринята при добавлении к PARP-ингибитору нирапарибу анти-EGFR антитела панитумумаба в рамках работы NIPAVeC (при отсутствии мутаций генов RAS/BRAF). На выборке из 6 пациентов продемонстрирован удовлетворительный профиль токсичности (3 степень по CTCEA для анемии – 12,5%, дерматита, мукозита, гипертензии и нейтропении – по 4,2%). Что касается показателей эффективности, комбинация PARP-ингибитора и анти-EGFR антитела позволила достичь ЧОО 25%, мВБП – 5,6 месяцев и мОВ – 20,9 месяцев [147]. Однако однозначно сообщить о том, что эти показатели достигнуты благодаря комбинации препаратов, а не только в связи с применением анти-EGFR-средства, на небольшой выборке затруднительно. Также зарубежные и отечественные данные реальной клинической практики свидетельствуют об отсутствии эффективности PARP-ингибиторов при КРР [33, 42]. Что касается влияния на сигнальный путь PI3K/АКТ, в литературе описаны работы по применению АКТ-ингибитора (MK2206), который демонстрировал эффективность на доклиническом этапе. В монотерапии при предлеченном метастатическом КРР препарат не продемонстрировал влияния на ВБП и ОВ [11]. Исследование I фазы по анализу безопасности специфического PIK3CA-ингибитора алпелисиба продемонстрировало благоприятный профиль токсичности и обнадеживающие результаты при нозологиях (помимо РМЖ), в том числе КРР, с мутациями PIK3CA [160]. В настоящий момент ведется работа по оценке эффективности алпелисиба и капецитабина при метастатическом КРР

[122]. Таким образом, назначение препаратов в рамках ESCAT III в зависимости от нозологии способно продемонстрировать различные результаты.

Роль КМП при РПЖ была изучена в рамках работы Know Your Tumor. Путем секвенирования 640 образцов было установлено, что альтерации сигнального пути MAPK встречались чаще всего за счет мутаций гена *KRAS*, которая была зафиксирована в 92% случаев протоковой аденокарциномы поджелудочной железы [134]. Истинно дикий тип генов *KRAS/NRAS* установлен в 5,3% случаев. Наиболее часто альтерации в генах репарации ДНК встречались в генах *ATM* (4,5%), *BRCA2* (2,9%), в 7,5% случаев наблюдались менее распространенные мутации (*PALB2*, *FANCA/C/G/*, *RAD50*, *CHEK1/2*). Мутации генов тирозинкиназных рецепторов встречались реже (*ERBB2* – 2,8%), наименее встречаемые онкогенные транслокации: *CCDC6-RET*, *NCOA4-RET*, *STRN-ALK*, *LMNA-NTRK1*, и *ETV6-NTRK3*. Наиболее частыми препаратами МНТ по решению МТВ являлись ингибиторы MEK, CDK4/6, mTOR, PARP в монотерапии или в комбинации с химиотерапией. Причем 63% пациентов получили стандартную терапию, назначения вне инструкции по применению (off-label) – в 16% случаев, и 21% пациентов был включен в клинические исследования по результатам профилирования. Медиана ОВ у пациентов с таргетируемыми альтерациями при получении МНТ в любой линии терапии составила 1,5 года в сравнении с 0,9 годами в случае отсутствия таргетируемой альтерации/проведения стандарта терапии. Аналогичная тенденция наблюдалась и с показателем медианы ВБП (4,1 против 1,9 месяцев; ОР=0,47; 95% ДИ: 0,24-0,94; p=0,03). Однако эти показатели отличаются в более позитивную сторону относительно исторического контроля. Обновленные результаты ретроспективного анализа более 1000 пациентов из регистра КΥТ также продемонстрировали, что таргетируемые альтерации были обнаружены в 26% случаев, однако таргетную терапию получили не более 5%. Кроме того, в последние годы появились работы, указывающие на потенциальную эффективность анти-EGFR антител в случае выявления дикого статуса генов *RAS* [87, 146], поддерживающей или монотерапии PARP-ингибиторами при мутациях в *BRCA1,2*, *PALB2* [71, 173]. Рекомендации NCCN по молекулярно-генетическому анализу опухолей поджелудочной железы включают оценку транслокаций *ALK*, *NRG1*, *NTRK*, *ROS1*, *FGFR2*, *RET*, мутаций *BRAF*, *BRCA1/2*, *KRAS*, *PALB2*, амплификации *ERBB2*, статус MSI (опухоль-агностический биомаркер) [155].

Наибольшее применение в опухолях ЖКТ КМП нашло при ХК. После публикации работ ClarIDHy, FIGHT 202, FOENIX-CCA2, HERIZON-BTC-01 определение статуса альтераций *IDH1*, *FGFR2*, *ERBB2*, в дополнении к *BRAF*, MSI, *RET* и *NTRK*- транслокаций, стало общепринятым [28, 77, 80, 157, 215]. Кроме того, имеются данные о различных молекулярных профилях ХК: например, мутации *IDH* и транслокации *FGFR2* чаще встречаются при

внутрипеченочных опухолях [25]. В рамках исследования MOSCATO в подгруппе пациентов с распространенным раком желчевыводящих путей МНТ была ассоциирована со снижением риска смерти (HR=0,29; 95% ДИ: 0,11-0,76; p=0,008), а ЧОО составила 33%. Половина пациентов на фоне МНТ смогла достичь ВБП2/1 $\geq 1,3$ [161]. Однако данные реальной клинической практики демонстрируют следующую тенденцию: при ретроспективном анализе 71 клинического случая, представленного после КМП на МТВ, потенциально таргетируемые альтерации были обнаружены в 35,3% случаев (*ARID1A/ERBB2/IDH1/PIK3CA/BRAF*-мутации и *FGFR2*-транслокации), однако МНТ получили лишь 14 пациентов (19,7%). Пациенты, которым была назначена МНТ, имели более высокие показатели ОВ относительно пациентов, которым была назначена стандартная терапия (медиана 19 против 8 месяцев соответственно, p=0,004) [12].

Важным лимитирующим фактором в таргетной терапии опухолей ЖКТ является наличие мутаций генов RAS. Зависимость опухолевых клеток от сигнала активирующих мутаций RAS была подтверждена в работах *in vitro* и *in vivo* [126]. Это объясняется тем, что мутации в *KRAS* являются первичными событиями в развитии этих опухолей. Например, при раке поджелудочной железы мутации *KRAS* выявляются на самых ранних стадиях и сохраняются в метастазах [162]. Однако при колоректальном раке мутации *KRAS*, вероятно, не являются первичными иницирующими событиями. Большинство случаев колоректального рака начинаются с потери функции гена *APC* или *TP53* в опухолях с дефицитом репарации ошибочного спаривания [67]. Рядом авторов изучались немутационно-специфические способы ингибирования онкогенных вариантов RAS [153, 167], однако более значимыми для клинической практики стали специфические ингибиторы, например, против *KRAS G12C* [121], *KRAS G12D* [20], *KRAS G12V* [64] и т.д.. Наиболее репрезентативными молекулами являются ингибиторы *KRAS G12C* соторасиб и адаграсиб, чья эффективность анализировалась в ряде клинических испытаний. Соторасиб зарегистрирован FDA в качестве второй линии лечения распространенного или метастатического НМРЛ с наличием указанного варианта [119]. В лечении распространенного рефрактерного к стандартным режимам КРР препарат продемонстрирован ЧОО 7,1% и ЧКБ 66,7% в работе I фазы CodeBreaK100 [70]. Монотерапия препаратом адаграсиб продемонстрировала ЧОО 22%, ЧКБ 87% и мВБП 5,6 месяцев [72]. Однако при КРР фосфорилирование EGFR приводит к устойчивости к ингибиторам *KRAS G12C*. Это указывает на то, что для лечения КРР комбинация ингибиторов *KRAS G12C* и ингибиторов EGFR может быть клинически более эффективной, чем монотерапия ингибиторами *G12C* [177]. В исследовании комбинации соторасиба и панитумумаба по сравнению с регорафенибом или трифлурибин-типирацилом мВБП была достоверно выше в группе ингибитора-KRAS (5,6 против 3,9 месяцев, p=0,006), ЧОО – 26,4 против 5,7%, без

значимого улучшения мОВ – 11,9 месяцев против 10,3 месяцев в группах соторасиба 240 мг против стандарта лечения [157, 177]. То есть, несмотря на появление новых молекул, продемонстрированные результаты в настоящий момент не предоставляют возможности смены тактики лечения, особенно при отсутствии доказанного влияния на ОВ.

Таким образом, молекулярная характеристика опухолей ЖКТ достаточно разнообразна, однако роль МНТ ограничена небольшим процентом случаев длительных ответов в поздних линиях лечения после проведения КМП. Необходимо отметить, что предлагаемые опции панелей КМП представляются избыточными в плане анализируемых маркеров особенно в контексте опухолей ЖКТ.

1.8 Экономическая эффективность комплексного молекулярного профилирования

Так как проведение КМП в большинстве случаев является коммерческой услугой, польза которой лимитирована, встает вопрос об экономической эффективности внедрения тестирования и развития прецизионного подхода. Проблемой для оценки применимости КМП является отсутствие единых показателей эффективности, которые были бы установлены в крупных работах. Так, используемые в контексте доказательной медицины и РКИ III фаз конечные точки, такие как ВВП и ОВ, часто неприменимы в контексте оценки целесообразности проведения КМП. Это связано с тем, что число пациентов, включаемых в различные исследования МНТ по типу «зонтичных» или «корзинных», недостаточно для достижения статистически достоверного уровня для традиционных конечных точек. В связи с чем Moscow et al., предполагают, что в этой ситуации возможен компромисс между различными стандартами доказательности эффективности, а также для количественного определения пользы лечения необходимы новые дизайны и конечные точки, такие как КП или ВВП2/1 [137].

Рядом авторов было продемонстрировано, что не КМП является основным источником затрат, так как стоимость на секвенирование, как уже было указано, со временем лишь снижается. Основным звеном для оценки экономической эффективности является таргетная терапия, назначенная по результатам МНТ, так как затраты на новые противоопухолевые средства остаются значительными, и их снижения не предвидится [191]. КМП же в свою очередь позволяет прогнозировать не только ответ на лечение, но и резистентность к конкретным препаратам, тем самым предотвращая применение ненужных и дорогостоящих методов лечения [172].

Польза от применения широких NGS-панелей, а не отдельных тестов, для системы здравоохранения и финансирования здравоохранения в целом может проявляться в большей ценовой эффективности и улучшенным показателем лет жизни с поправкой на качество

(Quality-adjusted life year, QALY) на одного пациента, сокращением времени проведения профилирования и сроков до начала терапии, а также снижением частоты применения подтверждающих тестов, забора дополнительного материала [142]. Например, в британской системе здравоохранения была валидирована NGS- панель на 46 генов, анализ проводился на образцах НМРЛ, КРР, меланомы. Авторы отметили, что стоимость на пациента (339 фунтов или 449 долларов) была ниже при использовании панели, чем при применении 2-3 тестов (каждый от 71 до 141 фунтов (94-187 долларов), направленных на отдельные гены [39]. В другой работе исследователями из Нидерландов было продемонстрировано, что проведение КМП обходится на 266 евро дешевле в отличие от отдельных последовательных тестов при НМРЛ с частотой детекции дополнительных таргетлируемых альтераций 20,5%. Затраты же на лечение после проведения КМП оказались на 8,357 евро выше. Кроме того, проведение КМП и МНТ предоставило дополнительные 0,17 лет жизни (life years, LY) и 0,12 QALY по сравнению с последовательным тестированием. Коэффициент экономической эффективности (incremental cost-effectiveness ratio, ICER) составил 69,614 евро/QALY [61]. При анализе применимости КМП для диагностики наследственных синдромов при КРР тестирование привело к увеличению 0,151 LY, 0,128 QALY и ICER 36,500 долларов/QALY. В отличие от широкой панели последовательные тесты демонстрировали показатель ICER 77,300 долларов/QALY [144]. Однако в крупном анализе по эффективности затрат Tan et al были продемонстрированы противоречивые результаты. Для финансирования тест-системы в США ICER менее 100 000 долларов/QALY на пациента считается приемлемым. В работах была продемонстрирована превышение этого показателя при применении КМП в поздних стадиях НМРЛ, платинорезистентного РЯ. Однако целесообразность тестирования с ICER менее 100 000 долларов/QALY была зафиксирована для пациентов с распространенной меланомой и в случае тестирования на наследственные синдромы (КРР, РМЖ, РЯ) [22]. Таким образом, встает вопрос о том, в каком случае оптимальным подходом будет проведение параллельного секвенирования, а в каком – применение последовательных тестов. Ранее приведенные работы демонстрируют, что в случае НМРЛ КМП может быть выгодно как с клинической, так и с экономической точки зрения. Однако это не соответствует всем нозологиям. Например, целесообразность проведения КМП при КРР с наличием мутаций *RAS* или *BRAF*-сомнительна в связи с отсутствием доказанной КП от применения МНТ в этой группе пациентов. Например, в работе V. Chaudhari et al. профилирование на панели из 12, 18 или 482 генов оказалось сопоставимым по ожидаемым затратам и QALY (24,545 долларов и 3,903, 28,374 долларов и 3,623, 33,315 долларов и 3,704 соответственно) [34]. Также анализ экономической эффективности NGS панели 34 генов по сравнению отдельными тестами при меланоме демонстрирует противоречивые результаты: расширенная панель была ассоциирована с

ожидаемыми затратами 120,022 долларов (по сравнению с 128,965 долларов) и QALY 0,721 (по сравнению с 0,704), таким образом снижая стоимость и повышая QALY [60].

В соответствие с описанными результатами целесообразность применения КМП несет необходимость оценки не только клинических исходов, но и целесообразности финансирования методики. Экономическая эффективность – критерий, приемлемый показатель которого разнится в зависимости от страны и системы финансирования здравоохранения. В Российской Федерации анализ экономической эффективности затрат на КМП не проводилось.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Дизайн исследования

Для выполнения задач работы было проведено ретроспективное нерандомизированное многоцентровое исследование. Набор данных пациентов, которым было проведено КМП с применением панелей FoundationOne®CDx (Foundation Medicine, Inc) или Solo Комплекс (ООО «ОнкоАтлас»), осуществлялся в 5 центрах Российской Федерации (ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр современных видов медицинской помощи (онкологический)», ООО «Клиника Луч», Группа компаний МЕДСИ, Центр молекулярной онкологии «ОнкоАтлас»).

Анализировалась информация, полученная при КМП, путем систематизации молекулярных данных из отчета о тестировании, ретроспективном присвоении альтерациям уровня значимости по шкале ESCAT. Также для каждого пациента была получена клиническая информация до проведения КМП: нозология, число линий терапии метастатического/нерезектабельного заболевания, ВБП на линии, предшествующей КМП, PS ECOG, место и дата забора материала для направления на тестирования. При дальнейшем наблюдении за пациентами собрана информация о частоте назначения МНТ (анализ назначаемых препаратов), ВБП, ОВ после КМП. На основании этих данных сформирована база данных.

2.2 Конечные точки и оцениваемые показатели

В качестве первичной конечной точки выбрана частота рекомендации МНТ после проведения КМП.

К вторичным конечным точкам исследования относились:

1. Частота проведения МНТ после рекомендаций по результатам КМП.
2. Частота контроля болезни (ЧКБ).
3. Частота достижения длительного ответа (стабилизация/частичный или полный ответ, длящийся не менее 6 месяцев) на терапию после проведения КМП.
4. Частота достижения ВБП2/1 $\geq 1,3$ после проведения КМП.
5. Частота объективных ответов (ЧОО) после проведения КМП.
6. ВБП после проведения КМП.
7. ОВ после проведения КМП.

8. Частота рекомендации МНТ при проведении МТВ в группах пациентов, которым лечение было назначено мультидисциплинарной командой либо по решению лечащего врача.

9. Спектр выявляемых альтераций в зависимости от нозологии и частота выявления альтераций по уровням ESCAT.

2.3 Описание критериев эффективности

Влияние КМП на тактику ведения пациентов оценивалось по следующим показателям:

- **частота рекомендации МНТ** по результатам КМП – доля пациентов, которым в отчете по КМП описаны опции МНТ вне зависимости от факта назначения/не назначения терапии в ходе лечения. Критерий не включал рекомендации участия в КИ. Сравнение проводилось между панелями FMI и Solo;
- **частота проведения МНТ** – доля пациентов, которые начали МНТ после получения результатов КМП. Сравнение проводилось между панелями FMI и Solo.

Эффективность назначаемой после КМП терапии оценивалось по следующим показателям:

- **частота контроля болезни (ЧКБ)** – отсутствие прогрессирования заболевания по критериям RECIST 1.1 при первом контрольном обследовании, проведенном не позднее 3 месяцев от момента начала терапии после КМП. Сравнение проводилось между панелями FMI и Solo, а также в группах МНТ или не-МНТ;
- **частота достижения длительного ответа на терапию** – доля пациентов, ответ на назначенную линию терапии после КМП которых составляет ≥ 6 месяцев. Сравнение проводилось между панелями FMI и Solo, а также в группах МНТ или не-МНТ;
- **частота достижения ВБП2/1 $\geq 1,3$** – доля пациентов, чье отношение ВБП на линии после проведения КМП (ВБП2) к ВБП на линии до проведения КМП (ВБП1) превышает или равно 1,3. Сравнение проводилось между панелями FMI и Solo, а также в группах МНТ или не-МНТ;
- **частота объективных ответов (ЧОО)** – доля пациентов, достигших на линии после КМП (МНТ или не-МНТ) полный или частичный эффект;
- **ВБП** – определяется как время от момента начала последующей после КМП линии лечения (в случае принятия решения о МНТ – с момента начала специфической терапии, в случае отсутствия в анамнезе МНТ – с момента начала следующей линии после КМП) до прогрессирования или смерти пациента от любой причины или даты последнего наблюдения в отсутствие события; сравнение проводилось между панелями FMI и Solo, а также в группах МНТ или не-МНТ;

- **ОВ** – определяется как время от момента начала последующей после КМП линии лечения (в случае принятия решения о МНТ – с момента начала специфической терапии, в случае отсутствия в анамнезе МНТ – с момента начала следующей линии после КМП) до смерти пациента от любой причины или даты последнего наблюдения; сравнение проводилось между панелями FMI и Solo, а также в группах МНТ или не-МНТ;

Оценка эффективности проведения специализированных консилиумов (МТВ) определялась по следующему показателю:

- частота назначения МНТ в группах пациентов, которым лечение было назначено мультидисциплинарной командой (МТВ) либо по самостоятельному решению лечащего врача;
- эффективность назначенной МНТ в зависимости от принятия решения в рамках МТВ или путем принятия решения самостоятельно лечащим врачом (критерии эффективности терапии описаны выше).

Также проводилась оценка молекулярных характеристик: спектр выявляемых альтераций в зависимости от уровня таргетируемости по шкале ESCAT. Сравнение проводилось между панелями FMI и Solo.

Помимо этого, проводилось сравнение общедоступных баз данных (БД) в плане рекомендации терапии. После интерпретации результатов КМП молекулярные профили опухолей анализировались с использованием шести БД с целью определения, какие рекомендации по терапии были бы даны, если бы использовалась лишь одна БД. Полученные результаты в дальнейшем сравнивались с исходными рекомендациями, полученными в результате ручной интерпретации.

2.4 Популяция пациентов

Критериями включения служили возраст ≥ 18 лет, гистологически подтвержденный диагноз солидного злокачественного новообразования, нерезектабельный/метастатический процесс, наличие отчета о КМП с применением панелей FoundationOne®CDx или FoundationOne Liquid (Foundation Medicine, Inc) или Solo Комплекс (ООО «ОнкоАтлас»). Критерии исключения – отсутствие морфологической верификации опухоли, онкогематологическое новообразование, заключение о молекулярном статусе, представленное лишь анализом отдельных биомаркеров.

2.5 Формирование базы данных по пациентам, включенным в исследование

База данных, включающая информацию о молекулярных и клинических характеристиках пациентов, включенных в исследование, создана с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2016 и IBM SPSS Statistics. Необходимая для исследования информация получена на основании доступной медицинской информации из электронных архивов центров, участвующих в исследовании, телефонных контактов с пациентами. Анализ отдаленных результатов проведен на основании анализа данных электронной медицинской документации, телефонных контактов, запроса в общедоступную базу данных реестра наследственных дел.

2.6 Определение влияния проведения комплексного молекулярного профилирования на тактику ведения пациентов с метастатическим заболеванием

Для выполнения задач диссертационной работы проанализированы клинические и молекулярно-генетические данные пациентов. Молекулярно-генетические данные были получены при анализе материала пациента (опухолевая ткань – первичная опухоль или метастатический очаг – или плазма крови) с применением одной из двух панелей: FoundationOne (Foundation Medicine, Inc) или Solo Комплекс (ООО «ОнкоАтлас»). После проведения профилирования и получения результатов исследования анализировалось влияние на тактику ведения пациентов: выбранная системная лекарственная терапия при прогрессировании заболевания или смена режима. Терапия считалась молекулярно-направленной (МНТ) в том случае, если специфический таргетный или иммунопрепарат мог быть рекомендован после выполнения КМП по находкам (биомаркерам), установленным в рамках расширенного тестирования. Проводился анализ рекомендаций МНТ в рамках отчета о профилировании без учета клинической ситуации (то есть наличие сведений о чувствительности к специфической терапии в рамках рекомендаций по отчету КМП, категория «МНТ рекомендована»), а также после предоставления клинических данных (категория «МНТ назначена»).

Работа состояла из двух частей. Сравнение двух панелей по частоте выявления генетических альтераций, по которым будет назначена МНТ, а также оценка эффективности назначенной терапии. Кроме того, в рамках работы оценивалась эффективность проведения МТВ.

Сравнение эффективности двух панелей проходило по вышеописанным критериям. Критерием эффективности проведения специализированных консилиумов (МТВ) выбрана частота назначения МНТ.

Для оценки таргетируемости альтераций использовалась шкала ESCAT (рекомендации ESMO 2020 года). Присвоение выявленным по результатам КМП альтераций категорий ESCAT проводился совместно со специалистами в области молекулярной биологии ООО «ОнкоАтлас» и ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

2.7 Статистический анализ данных

В качестве основных критериев эффективности применения КМП выбраны частота рекомендации терапии на основе выявленных молекулярных альтераций и частота контроля болезни. В качестве критерия эффективности проведения МТВ выбрана частота рекомендации МНТ в группах пациентов, которым лечение было назначено мультидисциплинарной командой либо по решению лечащего врача.

Для первого критерия – частоты рекомендации МНТ создано две статистических гипотезы.

Первая предполагает, что в РФ применение теста FMI позволит рекомендовать МНТ 50% пациентов, исходя из данных зарубежных исследований. Для подтверждения данной гипотезы и опровержения нулевой гипотезы (частота рекомендации МНТ составит 40%) при $\alpha=0,05$ и мощности 90%, необходимо собрать данные не менее 257 пациентов, которым проводилось тестирование.

Вторая статистическая гипотеза предполагает эквивалентность выявления генетических альтераций, по которым будет назначена противоопухолевая терапия при применении FDA-одобренной панели FMI и панели Solo на уровне 50% с границей 95% ДИ $\pm 15\%$. Для подтверждения данной гипотезы, исходя из данных литературы, что панель FMI дает рекомендации по лечению 50% пациентов при $\alpha=0,05$ и мощности 90%, необходимо собрать данные 115 пациентов, которым проводилось тестирование панелью Solo.

Для второго критерия эффективности – ЧКБ – при назначении терапии, на основании молекулярного профилирования опухоли, исходя из данных литературы, применение FMI позволит достичь данный показатель на уровне 60%. Для опровержения нулевой гипотезы (частота контроля болезни будет на уровне 35%), при $\alpha=0,05$ и мощности 90%, необходимо оценить эффективность молекулярно-подобранной терапии у 40 пациентов.

Следующая задача – подтверждение эквивалентности достижения контроля болезни, при назначении терапии, основанной на применении панели Solo, применению панели генов FMI на уровне 60% с границей 95% ДИ $\pm 15\%$. Для подтверждения данной гипотезы, исходя из данных литературы, что FDA-одобренная панель генов дает рекомендации по лечению у 60%

пациентов, при $\alpha=0,05$ и мощности 90%, необходимо оценить эффективность молекулярно-подобранной терапии минимум у 87 пациентов.

Для оценки эффективности проведения МТВ создана следующая статистическая гипотеза. Назначение терапии по решению МТВ будет молекулярно-направленным в 40% случаев, исходя из результатов зарубежного опыта. Для подтверждения данной гипотезы и опровержения нулевой гипотезы (частота назначения МНТ составит около 20%, что сопоставимо показателю при принятии решения о лечении одним клиницистом) при $\alpha=0,05$ и мощности 90% необходимо оценить результаты 50 специализированных консилиумов (МТВ).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Анализ характеристик пациентов в зависимости от панели проведения комплексного молекулярного профилирования

Всего в базу данных была внесена информация о 448 больных. Полная информация по молекулярным находкам (наличие отчетов о КМП) была доступна для всех 448 пациентов. Клиническая информация (данные о лечении до КМП, эффективности и длительности терапии после КМП) – для 374 (83,5%) пациентов. Характеристика больных представлена в таблице 8 (всей популяции и популяции с доступными клиническими данными). Медиана возраста во всей популяции пациентов составила 57 лет, в 57,4% случаев пациенты были представлены женским полом. Медиана линий до КМП – 2 (0-12), медиана ВБП1 – 4 месяца (0-29). В большинстве случаев соматический статус пациентов был представлен по шкале ECOG 0-1 (43,7%). Большинству представленных пациентов профилирование было проведено на панели FMI (60%), в 81,3% случаев материал для профилирования был представлен тканью опухоли. Также в преобладающем числе случаев опухолевый материал был представлен тканью первичного очага (52,7%), в 36,3% – забор осуществлялся из метастатического очага. Среднее время от забора материала до проведения КМП составило 8 месяцев (0-70), среднее время проведения профилирования от поступления материала в лабораторию до готовности отчета – 12 дней (0-53).

Таблица 8 – Характеристика пациентов, включенных в анализ

Характеристика	Вся популяция пациентов N (%) =448 (100%)	Популяция с доступными клиническими данными N (%) =374 (100%)	p-value
Возраст, лет медиана (среднее, мин. – макс.)	57 (56, 17-89)	58 (56, 17-89)	0,16
Пол Женский Мужской	257 (57,4%) 191 (42,6%)	215 (57,5%) 159 (42,5%)	0,69
Число линий до КМП Медиана (среднее, мин. – макс.) 0-1 линии 2 линии ≥3 линии	2 (2, 0-12) 192 (42,8%) 77 (17,2%) 97 (21,6%)	1 (2, 0-12) 175 (46,8%) 68 (18,2%) 82 (22,7%)	0,17
ВБП1 – до КМП мес., медиана (мин. – макс.)	4 (0-29)	3 (0-29)	0,13

ECOG PS			
0-1	196 (43,7%)	168 (45,0%)	0,89
≥2	66 (14,7%)	57 (15,2%)	
Нет данных	186 (41,6%)	149 (39,8%)	
Панель КМП			
FMI	269 (60,0%)	264 (71%)	<0,01
Solo	179 (40,0%)	110 (29%)	
Материал для КМП			
Ткань опухоли	364 (81,3%)	292 (78,2%)	0,23
Плазма крови	84 (18,8%)	82 (21,8%)	
Среднее время от забора материала до проведения тестирования, мес.	8 (0-70)	8 (0-70)	0,65
Среднее время анализа, дней	12 (0-53)	12 (0-47)	0,72
Место забора материала	из 364 пациентов	из 292 пациентов	
Первичная опухоль	192 (52,7%)	148 (50,7%)	0,45
Метастатический очаг	132 (36,3%)	111 (38,0%)	
Нет данных	40 (11,0%)	33 (11,3%)	
Нозологии			
Опухоли желудочно-кишечного тракта	242 (54,0%)	183 (48,9%)	
КРР	146 (32,6%)	107 (28,6%)	0,04
РЖ	35 (7,8%)	23 (6,1%)	
Рак поджелудочной железы	28 (6,3%)	28 (7,4%)	
ХК	21 (4,7%)	18 (4,8%)	
Рак тонкой кишки	5 (1,1%)	3 (0,8%)	
Рак пищевода	4 (0,9%)	3 (0,8%)	
Гепатоцеллюлярный рак	3 (0,7%)	1 (0,3%)	
Опухоли легкого/плевры	111 (24,8%)	107 (28,6%)	
НМРЛ	109 (24,3%)	106 (28,2%)	0,10
МРЛ	1 (0,2%)	1 (0,3%)	
Мезотелиома плевры	1 (0,2%)	–	
Опухоли женской репродуктивной системы	22 (4,9%)	22 (5,8%)	
Рак яичников	17 (3,8%)	17 (4,5%)	0,33
Рак тела матки	2 (0,4%)	2 (0,5%)	
Рак шейки матки	2 (0,4%)	2 (0,5%)	
Рак вульвы	1 (0,2%)	1 (0,3%)	
Саркомы	10 (2,3%)	8 (2,1%)	
Саркома мягких тканей	6 (1,3%)	5 (1,3%)	0,20
Саркома матки	1 (0,2%)	1 (0,3%)	
Саркома Юинга	2 (0,4%)	2 (0,5%)	
Саркома Капоши	1 (0,2%)	–	

Другое	62 (13,8%)	54 (14,7%)	0,21
РМЖ	30 (6,7%)	24 (6,4%)	
Опухоли ЦНС	11 (2,4%)	10 (2,7%)	
Опухоли из НПО	8 (1,8%)	7 (1,9%)	
Меланома	5 (1,1%)	5 (1,3%)	
Опухоли головы и шеи	5 (1,1%)	5 (1,3%)	
Рак слюнной железы	2 (0,4%)	2 (0,5%)	
Рак почки	1 (0,2%)	1 (0,3%)	
Рак анального канала	1 (0,2%)	—	

Наиболее часто представленные нозологии вне зависимости от панели профилирования представлены на рисунке 1. Наиболее частые места забора материала для секвенирования отражены на рисунке 2.

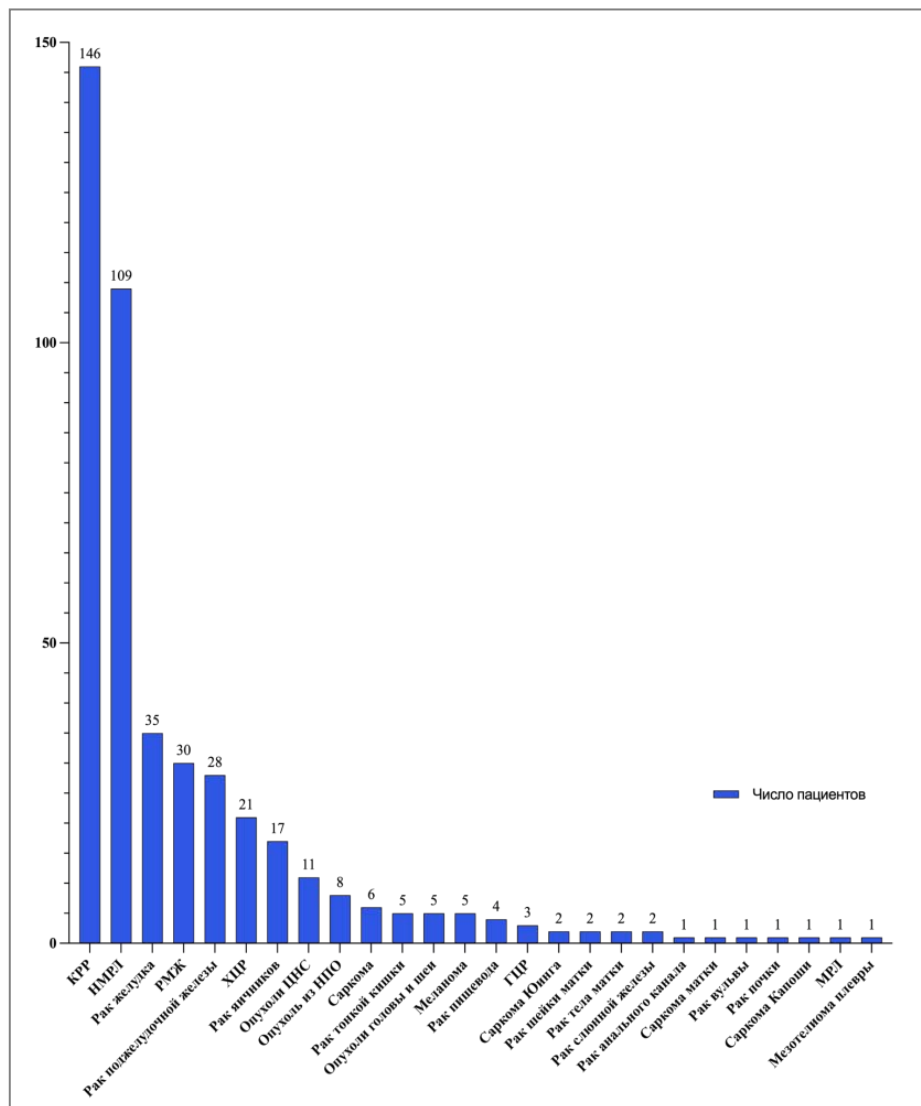


Рисунок 1 – Нозологии, представленные в исследовании

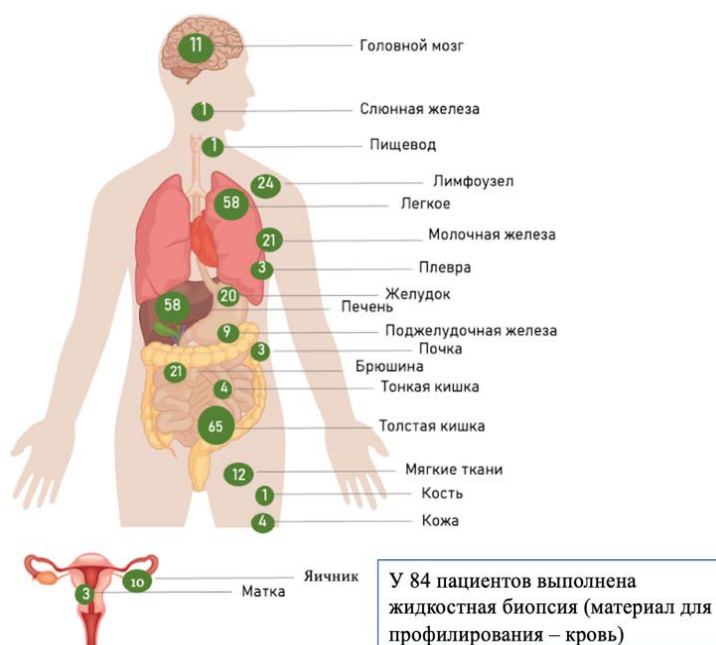


Рисунок 2 – Места забора материала для секвенирования

Превалирующей нозологией являлся КРП (32,6%), превалирующей группой нозологий – опухоли ЖКТ (54,0%). На втором месте по распространенности был НМРЛ (24,3%). Чаще всего забор опухолевого материала осуществлялся из толстой кишки, реже – из легкого и печени. Жидкостная биопсия была доступна у 84 пациентов (18,8%).

Для выполнения задач работы пациенты были разделены на группы в зависимости от панели профилирования. Когорта пациентов, кому КМП было выполнено с помощью панели FMI состояла из 269 человек, их средний возраст составил 58 лет, в 56,1% случаев когорта представлена женским полом. В группе пациентов, кому КМП было выполнено с помощью панели Solo (179 пациентов), средний возраст составил 55 лет, большинство пациентов также было представлено женским полом (59,2%).

Среднее количество линий до проведения КМП составило 1 и 2 в группах FMI и Solo соответственно (различие статистически достоверно, критерий Манна-Уитни $p=0,02$), однако показатели мВБП до КМП и статус по шкале ECOG PS между группами – сопоставимы (Таблица 9).

Когорты пациентов значительно различались по представленным в них нозологиям. Так, основными нозологиями группы FMI являлись НМРЛ (N=82), КРП (N=63), рак поджелудочной железы (N=20), РМЖ (N=19), ХК (N=17), рак желудка (N=12), опухоли ЦНС (N=11), рак яичников (РЯ, N=8); единичные случаи (≤ 5) составляли меланома, опухоли из НПО, саркомы мягких тканей, мезотелиома плевры, рак тела матки, рак шейки матки, рак вульвы, мелкоклеточный рак легкого, опухоли головы и шеи, рак тонкой кишки, пищевода, рак почки, рак анального канала, саркома матки, саркома Капоши и саркома Юинга.

Таблица 9 – Сравнение клинико-демографических характеристик когорт пациентов FMI и Solo

Характеристика	FMI (N=269)	Solo (N=179)	p-value
Возраст, лет медиана (среднее, мин. – макс.)	58 (57, 17-89)	55 (55, 19-87)	0,17
Пол			
Женский	151 (56,1%)	106 (59,2%)	0,52
Мужской	118 (43,9%)	73 (40,8%)	
Число линий до КМП Медиана (мин. – макс.)	1 (0-8)	2 (0-12)	0,02
0-1 линии	136 (50,5%)	56 (31,3%)	
2 линии	42 (15,6%)	35 (19,6%)	
≥3 линии	51 (18,9%)	45 (25,1%)	
Нет данных	40 (14,8%)	43 (24,0%)	
ВБП1 – до КМП Медиана (мин. – макс.)	4 (0-29)	4 (1-24)	0,75
ECOG PS			
0-1	102 (37,9%)	94 (52,5%)	0,10
≥2	42 (15,6%)	24 (13,4%)	
Нет данных	125 (46,5%)	61 (34,1%)	

В группе Solo наиболее часто встречались КРР (N=83), НМРЛ (N=27), рак желудка (N=23), РМЖ (N=11), РЯ (N=8) и рак поджелудочной железы (N=8); единичные случаи (≤ 5) составляли ХК, опухоли из НПО, рак слюнной железы, опухоли головы и шеи, рак тонкой кишки, рак пищевода, рак шейки матки, рак вульвы, ГЦР и саркома Юинга. Распределение пациентов по нозологиям в зависимости от панели профилирования представлено на рисунке 3.

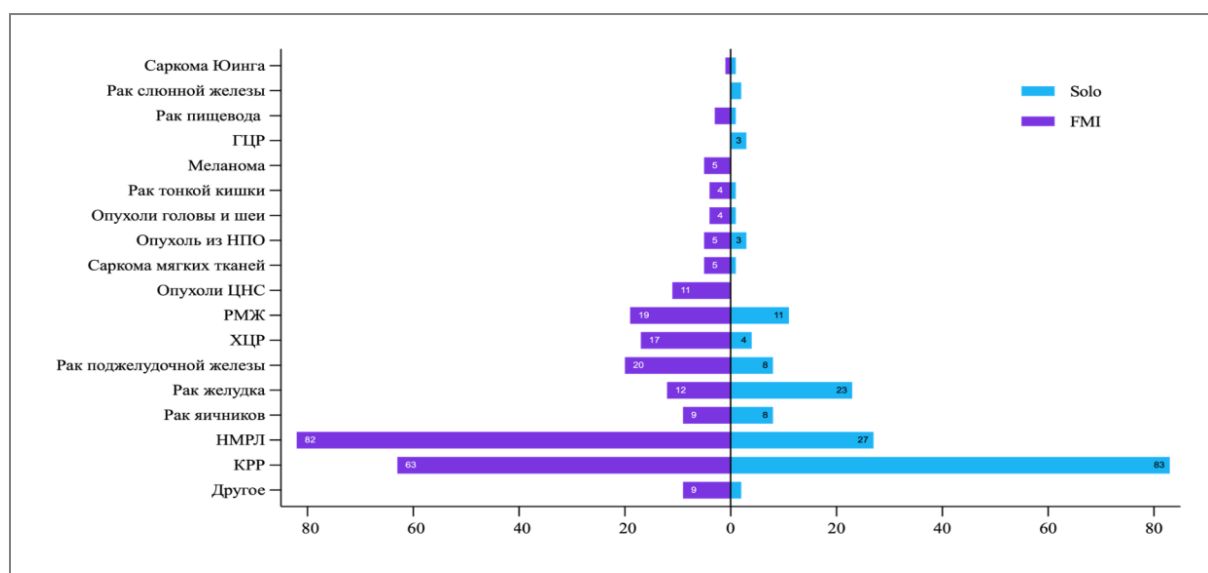


Рисунок 3 – Распределение пациентов по нозологиям в зависимости от панели профилирования

Распределение представленных отчетов по годам выполнения в зависимости от панели профилирования представлено в таблице 10. Количество отчетов FMI значительно превышало число отчетов Solo с 2018 по 2020 год, в дальнейшем же количество отчетов Solo было выше, либо равнозначно.

Таблица 10 – Количество отчетов FMI и Solo в зависимости от года

Год проведения профилирования	Число отчетов FMI (N=269)	Число отчетов Solo (N=179)
2018	74 (27,5%)	21 (11,7%)
2019	33 (12,3%)	21 (11,7%)
2020	83 (30,9%)	38 (21,2%)
2021	15 (5,6%)	32 (17,9%)
2022	37 (13,7%)	38 (21,2%)
2023	21 (7,8%)	29 (16,3%)
2024	6 (2,2%)	0 (0,0%)

Таким образом, для анализа статистической гипотезы набрано достаточное количество пациентов, кому было проведено профилирование на панели FMI и Solo. Значимых различий по демографическим характеристикам в зависимости от панели выявлено не было, однако группы были представлены неравномерно в отношении нозологий: в группе FMI преобладали пациенты с НМРЛ, в группе Solo – с КРР и другими опухолями ЖКТ. Также статистически значимое различие установлено в числе линий до профилирования.

3.2 Анализ частоты и спектра мутаций, выявленных при проведении комплексного молекулярного профилирования

3.2.1 Общая когорта пациентов

Распределение максимального уровня альтерации по шкале ESCAT на отчет в зависимости от нозологии представлено в таблице 11. Классификация по шкале ESCAT основывалась на рекомендации ESMO 2020 года. В группе пациентов Solo было статистически значимо больше отчетов, содержащих в себе альтерацию уровня I по шкале ESCAT, по нижестоящим уровням таргетируемости альтерации в группах были представлены равномерно.

Таблица 11 – Распределение выявленных альтераций по шкале ESCAT в зависимости от панели комплексного молекулярного профилирования

Максимальный уровень ESCAT в отчете КМП	Все пациенты	FMI	Solo	p-value
I	69 (15,4%)	32 (12%)	37 (21%)	0,012
II	22 (4,9%)	17 (6,3%)	5 (2,8%)	0,091
III	141 (31,5%)	81 (30,1%)	60 (33,5%)	0,377
IV	88 (19,6%)	55 (20,4%)	33 (18,4%)	0,179
V/X	128 (28,6%)	84 (31,2%)	44 (24,6%)	0,339

Наиболее часто выявляемые альтерации среди всей популяции пациентов выявлялись в генах *TP53* (46%: в большинстве случаев миссенс- или трунктирующие драйверные мутации), *KRAS* (28%: миссенс-мутации, VUS, единичные амплификации), *PIK3CA* (15%: миссенс-мутации, VUS), *ERBB2* (9%: в большинстве случаев амплификации), *ATM* (8%, миссенс мутации), *EGFR* (7%), *NF1* (7%), *BRCA2* (6%), *PTEN* (5%), *ARID1A* (4%), *BRCA1* (4%), *ALK* (3%), *MET* (3%). Наиболее часто выявляемые альтерации при профилировании на панели FMI (319 альтераций) – *TP53* (41%), *KRAS* (25%), *PIK3CA* (12%), *ATM* (7%), *BRAF* (5%), *ERBB* (5%), *EGFR* (5%), *ARID1A* (4%), *CHEK2* (4%), *BRCA2* (4%), *BRCA1* (4%), *NF1* (4%), *PTEN* (4%). В группе Solo (224 альтерации) наиболее часто выявлялись альтерации генов *TP53* (40%), *KRAS* (17%), *PIK3CA* (9%), *NF1* (8%), *EGFR* (7%), *ERBB* (7%), *ATM* (6%), *PTEN* (5%), *FLT3* (4%), *BRCA2* (4%). Схематическое изображение распределения альтераций в зависимости от панели приведено на рисунке 4.

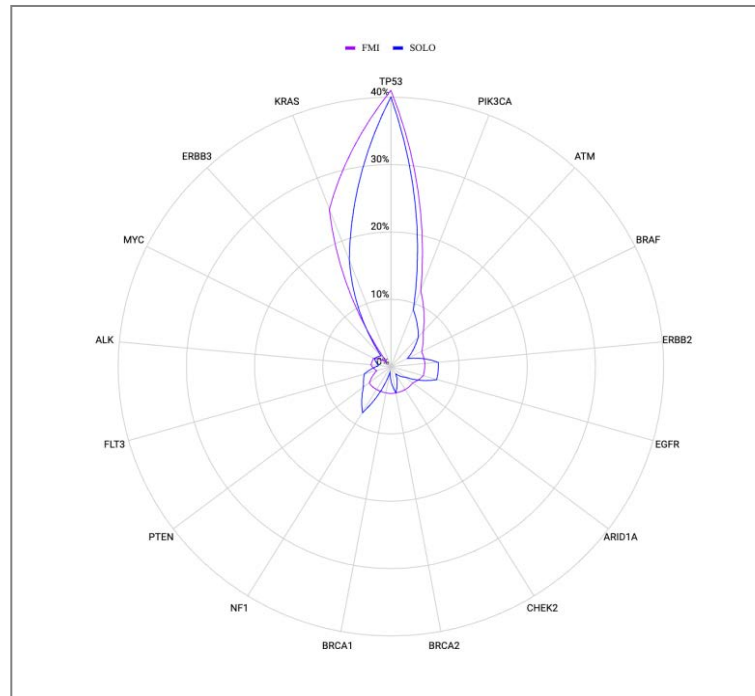


Рисунок 4 – Наиболее часто детектируемые альтерации генов в зависимости от панели FMI и Solo

На рисунках 5 и 6 приведена детализация выявленных альтераций при профилировании на панели FMI и Solo соответственно (анализ не включал такие сигнатуры как MSI, TMB).

Таким образом, в отчетах Solo были чаще представлены максимальный уровень альтераций ESCAT I (21% против 12%), частота и спектр пораженных генов был представлен равномерно между панелями.

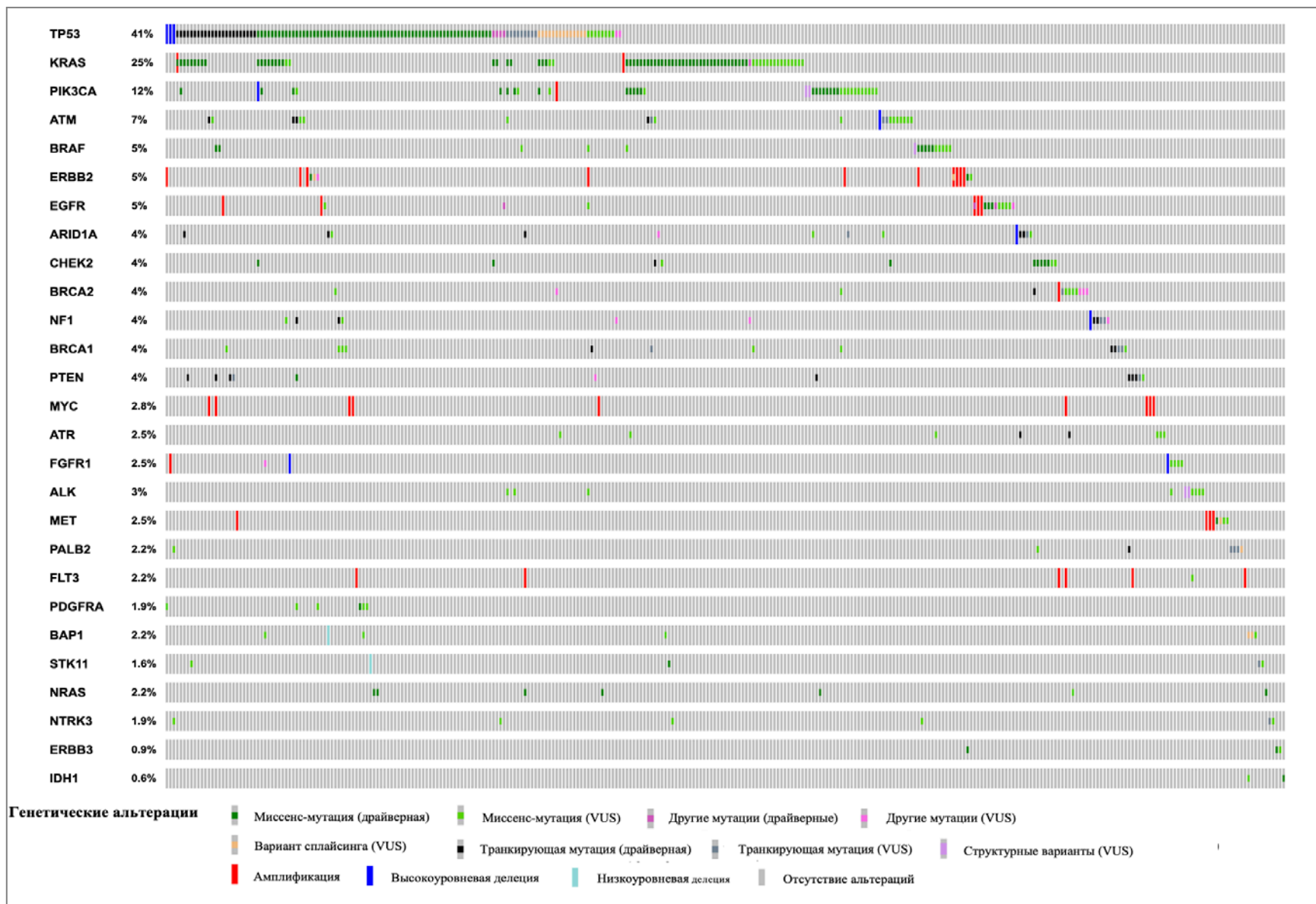


Рисунок 5 – Мутационный профиль пациентов, полученный на панели FMI (CDx, Liquid, Неме)

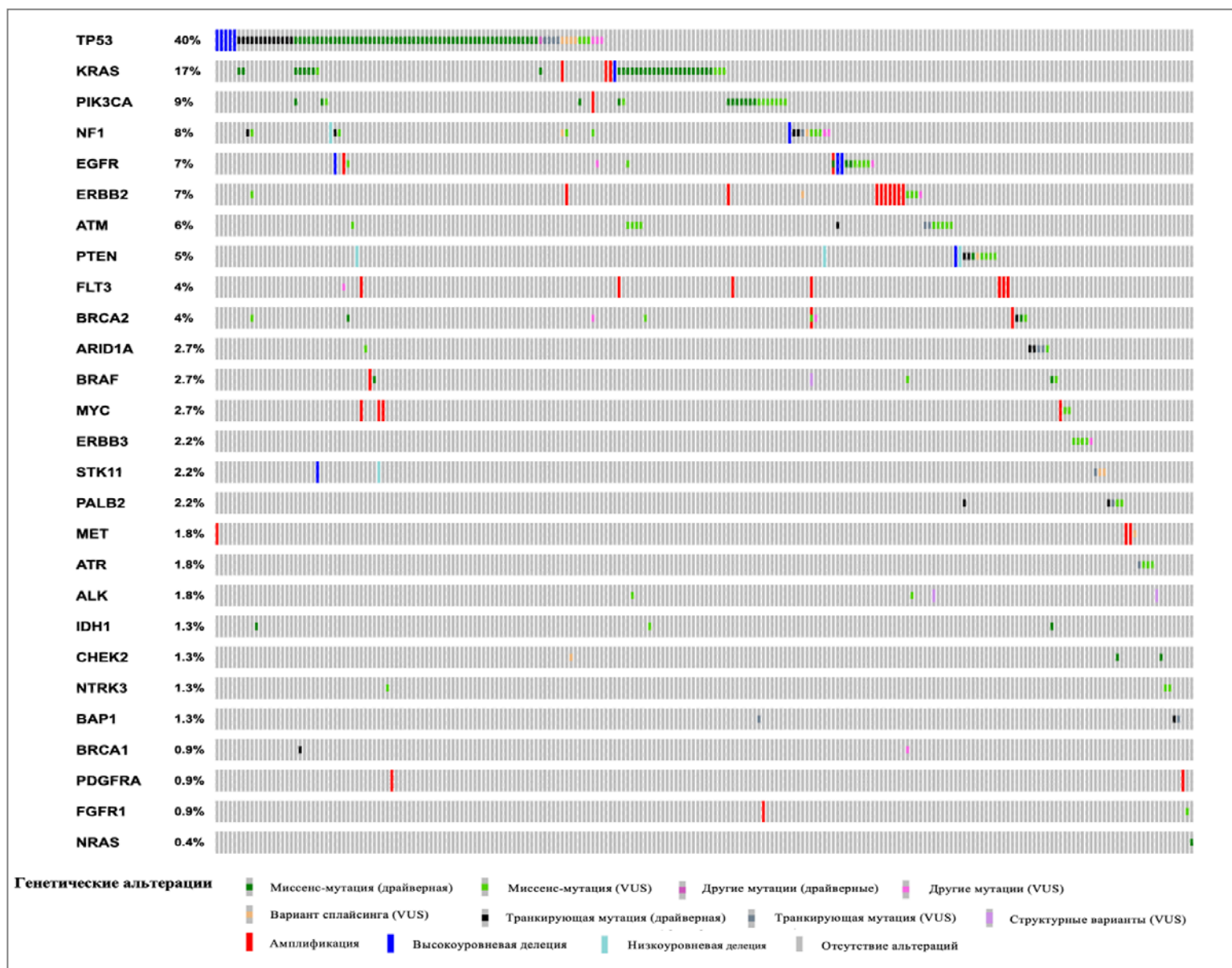


Рисунок 6 – Мутационный профиль пациентов, полученный на панели Solo

3.2.2 Подгруппа пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта

Самой широко представленной подгруппой являлись пациенты со злокачественными новообразованиями органов ЖКТ (242 пациента, 54% от всей когорты).

В группе представлены пациенты со следующими нозологиями (рисунок 10):

- КРР (аденокарцинома, 146 пациентов, 61%);
- рак желудка (РЖ, аденокарцинома, 35 пациентов, 15%);
- рак поджелудочной железы (РПЖ, протоковая аденокарцинома, 28 пациентов, 12%);
- холангиокарцинома (ХК, 21 пациент, 8%);
- рак тонкой кишки (аденокарцинома, 5 пациентов, 2%);
- рак пищевода (плоскоклеточный рак, 4 пациента, 1,5%);
- гепатоцеллюлярный рак (ГЦР, 3 пациента, 0,8%).

Профилирование на панели FMI было проведено 119 пациентам (49,2%), на панели Solo – 123 пациентам (50,8%). Распределение максимального уровня альтерации по шкале ESCAT в зависимости от панели представлено в таблице 12. В группе пациентов FMI было статистически достоверно больше отчетов, содержащих в себе альтерацию уровня II по шкале ESCAT, по другим уровням таргетируемости альтерации в группах были представлены равномерно.

Таблица 12 – Распределение выявленных альтераций по шкале ESCAT в зависимости от панели комплексного молекулярного профилирования в группе опухолей желудочно-кишечного тракта

Максимальный уровень ESCAT в отчете КМП	Все пациенты с опухолями ЖКТ (N=242)	FMI (N=119)	Solo (N=123)	p-value
I	38 (15,7%)	15 (12,6%)	23 (18,7%)	0,19
II	13 (5,3%)	10 (8,4%)	3 (2,4%)	0,04
III	87 (35,8%)	43 (36,1%)	44 (35,8%)	0,95
IV	36 (14,8%)	20 (16,8%)	16 (13,0%)	0,40
V/X	69 (28,4%)	31 (26,1%)	37 (30,1%)	0,48

Кроме того, был проведен анализ молекулярных характеристик опухоли в зависимости от нозологии и панели профилирования. В группе пациентов с КРР наиболее часто выявлялись альтерации в генах *TP53* (45%: в большинстве случаев миссенс- или трункирующие драйверные мутации), *KRAS* (36%: миссенс-мутации, единичные амплификации), *PIK3CA* (17%: миссенс-мутации, VUS), *BRAF* (6%), *ATM* (5%), *BRCA2* (5%), *MYC* (4%), *ERBB2* (4%: в большинстве случаев амплификации), *ATR* (2,7%), *BRCA1* (2,7%), *NF1* (2,2%), *CHEK2* (1,8%), *FGFR2* (1,8%), *MLH1* (1,3%), *FGFR2* (1,3%), *POLE* (0,9%) (Рисунок 7, анализ не включал такие сигнатуры как MSI, TMB).

Однако при анализе альтераций, значимых для принятия клинических решений, число биомаркеров снизилось до 13 генов и было представлено альтерациями в генах *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, *ERBB2*, *PTEN*, *ARID1A*, *ALK*, *NTRK3*, *BRCA1*, *EGFR*, *MET* (Рисунок 8, анализ не включал такие сигнатуры как MSI, TMB).

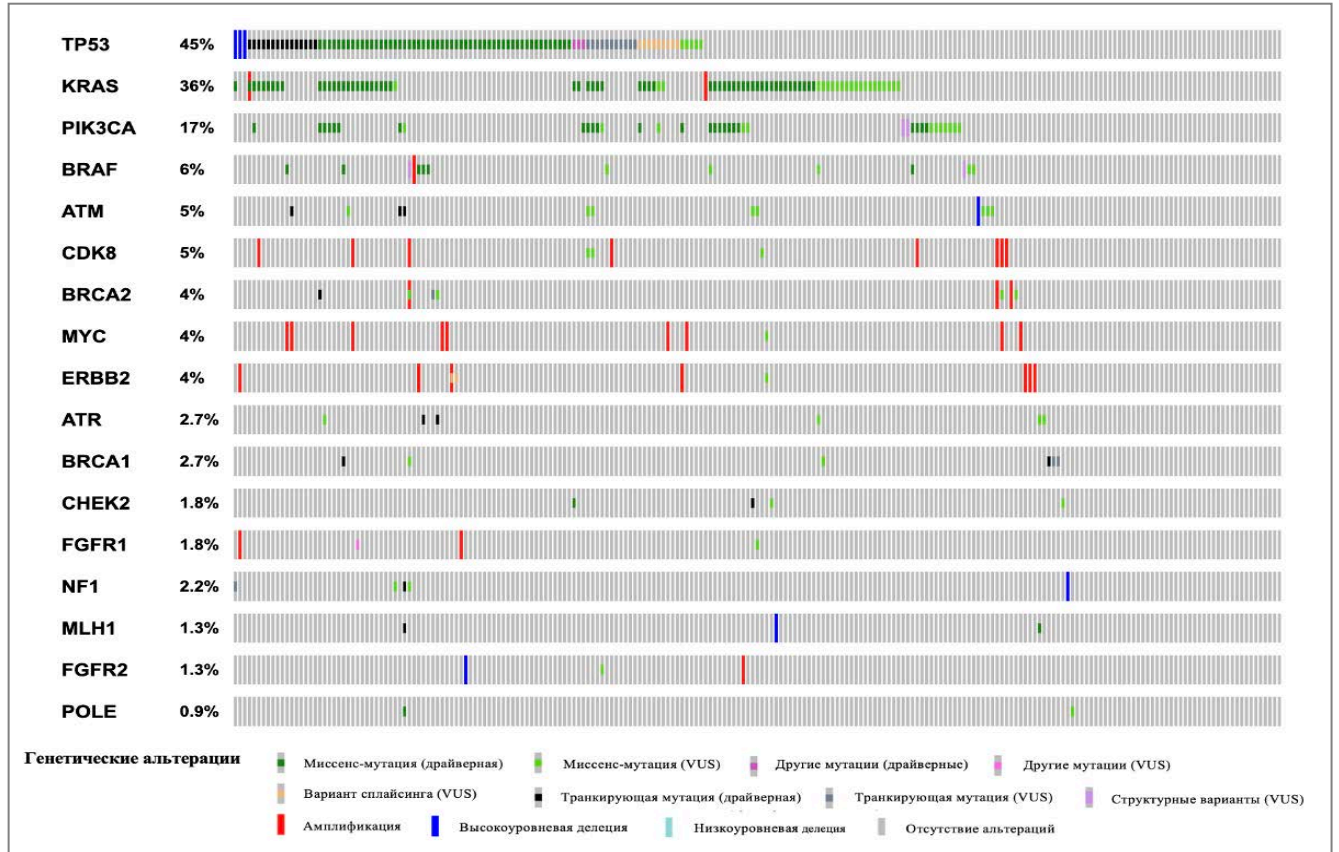


Рисунок 7 – Выявленные альтерации в группе пациентов с колоректальным раком

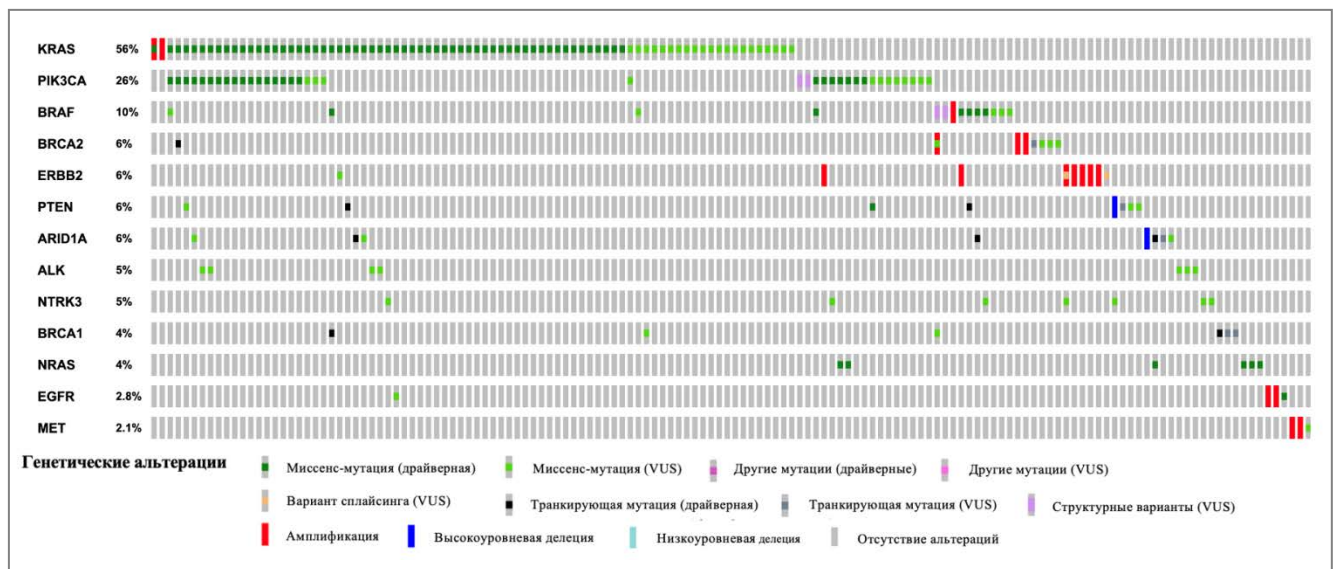


Рисунок 8 – Наиболее значимые гены для анализа при колоректальном раке

При сравнении выявляемых альтераций при КРР в зависимости от панели статистически достоверные различия не были установлены (Таблица 13). На рисунке 9 отражено распределение детектируемых альтераций в зависимости от панели профилирования.

Таблица 13 – Частота детекции основных альтераций генов при колоректальном раке в зависимости от панели профилирования

Альтерации гена	FMI	Solo	p-value
<i>KRAS</i>	51%	44%	0,86
<i>PIK3CA</i>	22%	25%	0,26
<i>BRAF</i>	10%	5%	0,96
<i>ERBB2</i>	5%	5%	0,74
<i>ARID1A</i>	5%	5%	0,42
<i>PTEN</i>	5%	5%	0,62
<i>BRCA1</i>	5%	2%	0,61
<i>NRAS</i>	5%	0%	0,73
<i>ALK</i>	5%	2%	0,11
<i>BRCA2</i>	4%	7%	0,25
<i>NTRK3</i>	4%	0%	0,42
<i>MET</i>	2%	2%	0,72

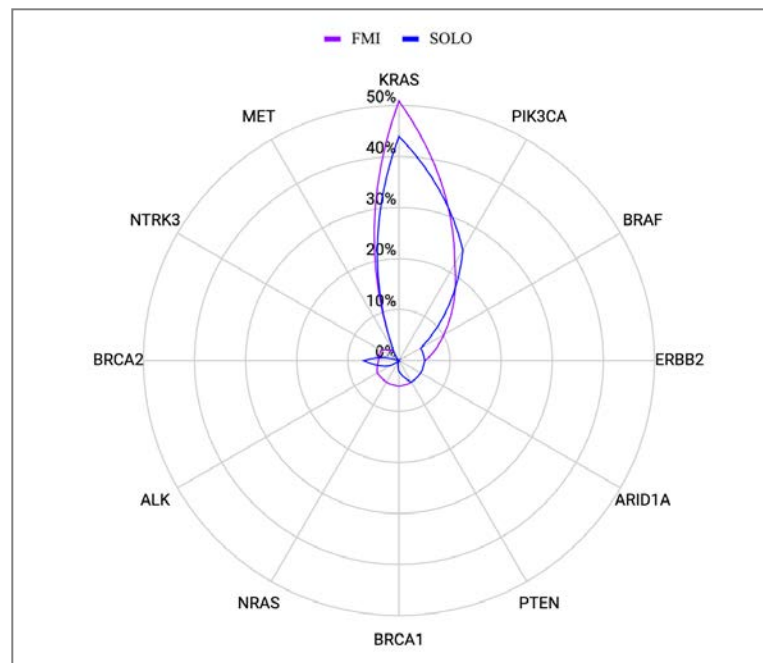


Рисунок 9 – Наиболее часто детектируемые альтерации генов при колоректальном раке в зависимости от панели FMI и Solo

Альтерации, наиболее часто выявляемые при РЖ, РПЖ и ХК представлены на рисунке 10.



А – рак желудка; Б – рак поджелудочной железы; В – холангиокарцинома.

Рисунок 10 – Наиболее часто выявляемые альтерации при опухолях желудочно-кишечного тракта

При раке желудка у 27% пациентов по результатам профилирования анализируемых генов альтераций выявлено не было. При выявлении альтераций наиболее часто они были идентифицированы в генах: *TP53* (37%), *ERBB2* (22%), *ATM* (12%), *MET* (10%), *ARID1A* (10%), *ERBB3* (7%), *PIK3CA* (5%), *KRAS* (5%), *POLE* (2,4%), *EGFR* (2,4%) (Рисунок 10, А, анализ не включал такие сигнатуры как MSI, TMB). При РПЖ во всех образцах была обнаружена хотя бы одна альтерация. Наиболее часто альтерации представлены мутациями в генах *KRAS* (79%), *TP53* (33%), *ATM* (13%), *ERBB2* (8%), *PALB2* (8%), *ARID1A* (8%), *AKT* (8%), *BRCA2* (4%) (Рисунок 10, Б, анализ не включал такие сигнатуры как MSI, TMB). При ХК в 89% образцов была выявлена хотя бы одна альтерация (11% – отсутствие биомаркеров). Наиболее часто повреждения определялись в генах *TP53* (39%), *ERBB2* (22%), *CHEK2* (17%), *NF2* (17%), *BRAF* (11%), *KRAS* (11%), *FGF6* (11%), *PALB2* (11%), *ARID1A* (11%), *PIK3CA* (6%), *IDH1* (6%) (Рисунок 10, В, анализ не включал такие сигнатуры как MSI, TMB).

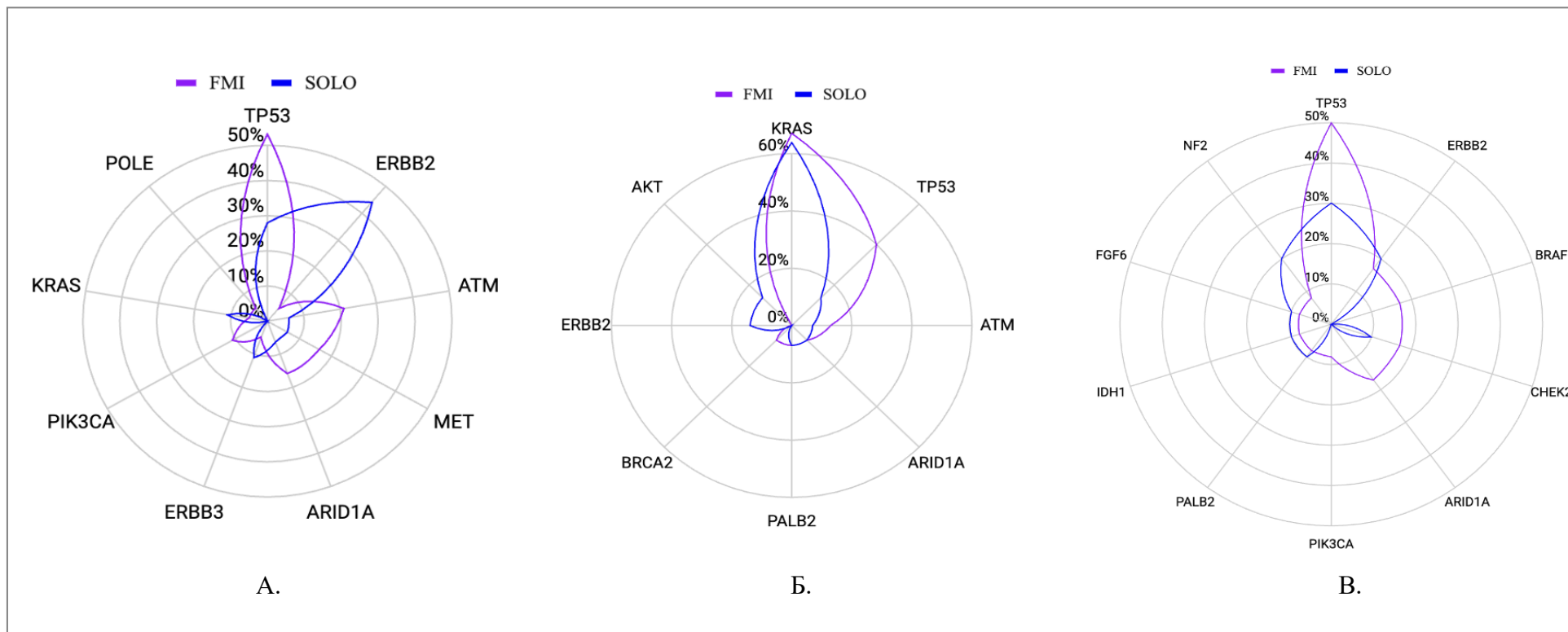
При сравнении частоты детекции альтераций статистически достоверные различия были выявлены в когорте пациентов РЖ: при применении панели FMI чаще были зафиксированы альтерации (мутации, амплификации, делеции, CNV) гена *TP53* ($p=0,01$). В группе РПЖ при применении панели Solo достоверно чаще определялись альтерации гена *ERBB2* ($p=0,05$). В группе ХК достоверно чаще при применении FMI выявлялись альтерации *TP53* ($p=0,08$), *PIK3CA* ($p=0,03$). Сравнение когорт пациентов по альтерациям в ключевых генах в зависимости от панели и нозологии представлено в таблице 14.

Таблица 14 – Частота детекции основных альтераций (мутации, амплификации, делеции, CNV) генов при колоректальном раке в зависимости от панели профилирования

Нозология	Альтерации гена	FMI N=119	Solo N=123	p-value
Рак желудка, N=35	<i>TP53</i>	53%	28%	0,01
	<i>ERBB2</i>	5%	44%	0,07
	<i>ATM</i>	21%	6%	0,37
	<i>MET</i>	16%	6%	0,97
	<i>ARID1A</i>	16%	6%	0,97
	<i>ERBB3</i>	5%	11%	0,19
	<i>PIK3CA</i>	11%	0%	0,63
	<i>KRAS</i>	5%	11%	0,19
	<i>POLE</i>	5%	0%	0,46
Рак поджелудочной железы, N=28	<i>KRAS</i>	67%	64%	0,85
	<i>TP53</i>	40%	14%	0,31

	<i>ATM</i>	13%	7%	0,92
	<i>ARID1A</i>	7%	7%	0,66
	<i>PALB2</i>	7%	7%	0,66
	<i>BRCA2</i>	7%	3%	0,17
	<i>ERBB2</i>	0%	14%	0,05
	<i>AKT</i>	0%	14%	0,27
ЖК, N=21	<i>TP53</i>	50%	30%	0,08
	<i>ERBB2</i>	17%	20%	0,28
	<i>BRAF</i>	17%	0%	0,47
	<i>CHEK2</i>	17%	10%	0,36
	<i>ARID1A</i>	17%	0%	0,47
	<i>PIK3CA</i>	8%	0%	0,03
	<i>PALB2</i>	8%	10%	0,47
	<i>IDH1</i>	8%	10%	0,47
	<i>FGF6</i>	8%	10%	0,47
	<i>NF2</i>	8%	20%	0,36

На рисунке 11 отражено распределение детектируемых альтераций в зависимости от панели профилирования и нозологии в группе ЖКТ.



А – рак желудка; Б – рак поджелудочной железы; В – холангиокарцинома.

Рисунок 11 – Наиболее часто детектируемые альтерации генов в зависимости от панели FMI и Solo

3.2.3 Подгруппа пациентов с немелкоклеточным раком легкого

Всего в исследовании представлено 109 пациентов (24,3%) с диагнозом НМРЛ. Распределение гистологических подтипов: аденокарцинома – 102 случая (93,6%), 5 случаев – плоскоклеточный рак легкого (4,5%), 2 случая – аденосквамозный рак (1,9%). Профилирование на панели FMI было проведено 82 пациентам (75,2%), на панели Solo – 27 пациентам (24,8%). Распределение максимального уровня альтерации по шкале ESCAT на отчет в зависимости от панели в группе пациентов с НМРЛ представлено в таблице 15. В группе пациентов Solo больше пациентов имели альтерации с уровнем таргетируемости ESCAT I, в группе FMI – с уровнем ESCAT V/X.

Таблица 15 – Распределение выявленных альтераций по шкале ESCAT в зависимости от панели комплексного молекулярного профилирования в группе немелкоклеточного рака легкого

Максимальный уровень ESCAT в отчете КМП	Все пациенты с опухолями НМРЛ (N=109)	FMI (N=82)	Solo (N=27)	p-value
I	16 (14,7%)	9 (11,0%)	7 (25,9%)	0,06
II	5 (4,6%)	4 (4,9%)	1 (3,7%)	0,80
III	25 (22,9%)	18 (22,0%)	7 (25,9%)	0,67
IV	18 (16,5%)	13 (15,9%)	5 (18,5%)	0,75
V/X	45 (41,3%)	38 (46,3%)	7 (25,9%)	0,06

Кроме того, был проведен анализ молекулярных характеристик НМРЛ. Хотя бы одна альтерация выявлена у всех пациентов. Альтерации, которые необходимо оценивать, исходя из уже доступных лекарственных препаратов, были выявлены в следующем проценте случаев: *EGFR* – 23%, *ALK* – 3%, *ROS1* – 0%, *BRAF* – 5%, *MET* – 4%, *NTRK* – 0%, *ERBB2* – 8%, *RET* – 2%, *KRAS* – 19%. Распределение других альтераций приведено на рисунке 12.

При сравнении выявляемых альтераций при НМРЛ в зависимости от панели было установлено статистически достоверное различие: в группе пациентов Solo у пациентов чаще детектировались альтерации гена *TP53* (p=0,04), *NF1* (p=0,02) (Таблица 16). На рисунке 13 отражено распределение детектируемых альтераций в зависимости от панели профилирования.

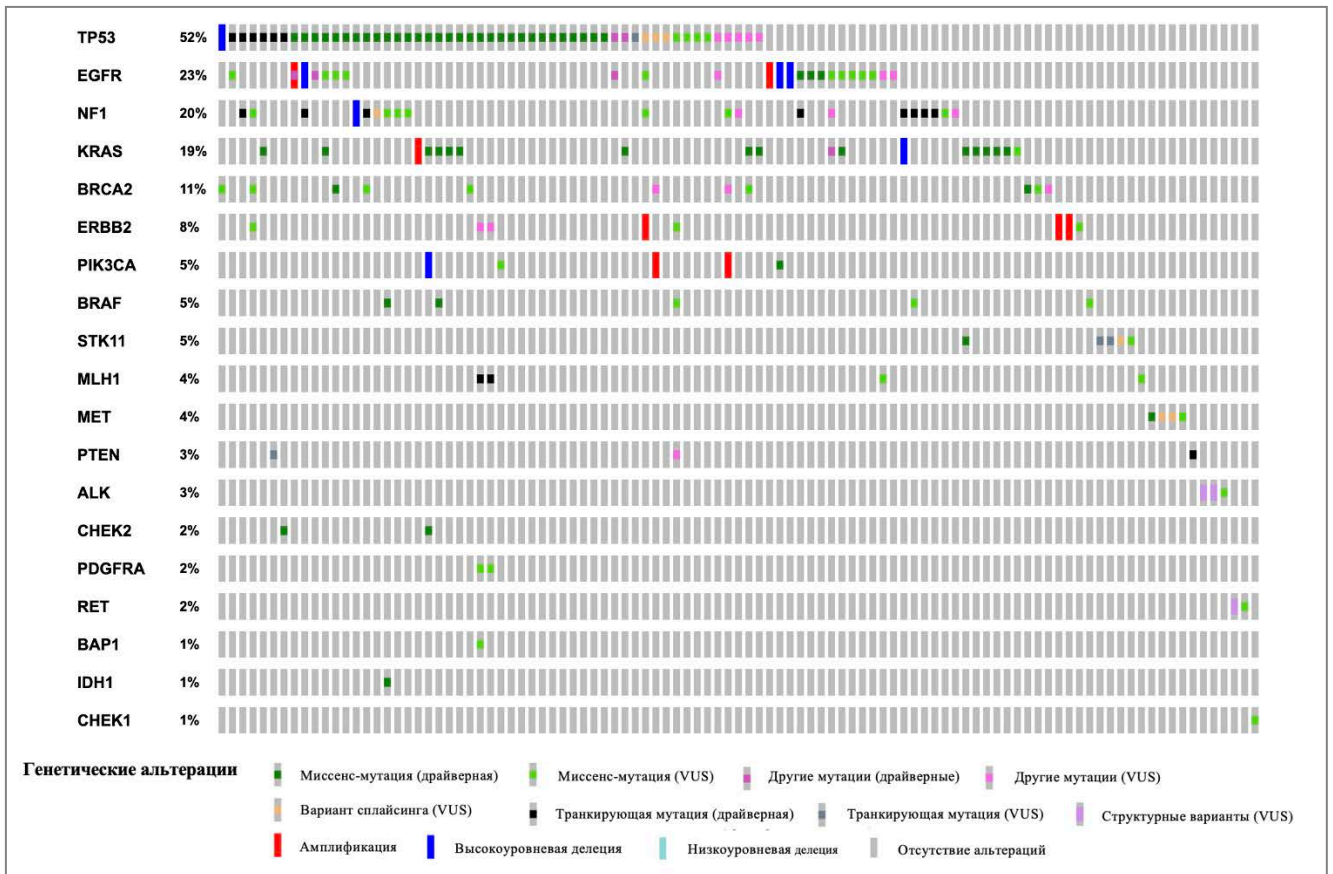


Рисунок 12 – Наиболее часто выявляемые альтерации при немелкоклеточном раке легкого

Таблица 16 – Частота детекции основных альтераций генов при немелкоклеточном раке легкого в зависимости от панели профилирования

Альтерации гена	FMI	Solo	p-value
<i>TP53</i>	38%	53%	0,04
<i>EGFR</i>	25%	19%	0,80
<i>NF1</i>	12%	20%	0,02
<i>KRAS</i>	17%	14%	0,68
<i>BRCA2</i>	7%	12%	0,20
<i>ERBB2</i>	3%	10%	0,81
<i>PIK3CA</i>	5%	3%	0,82
<i>BRAF</i>	3%	5%	0,80
<i>STK11</i>	5%	3%	0,82

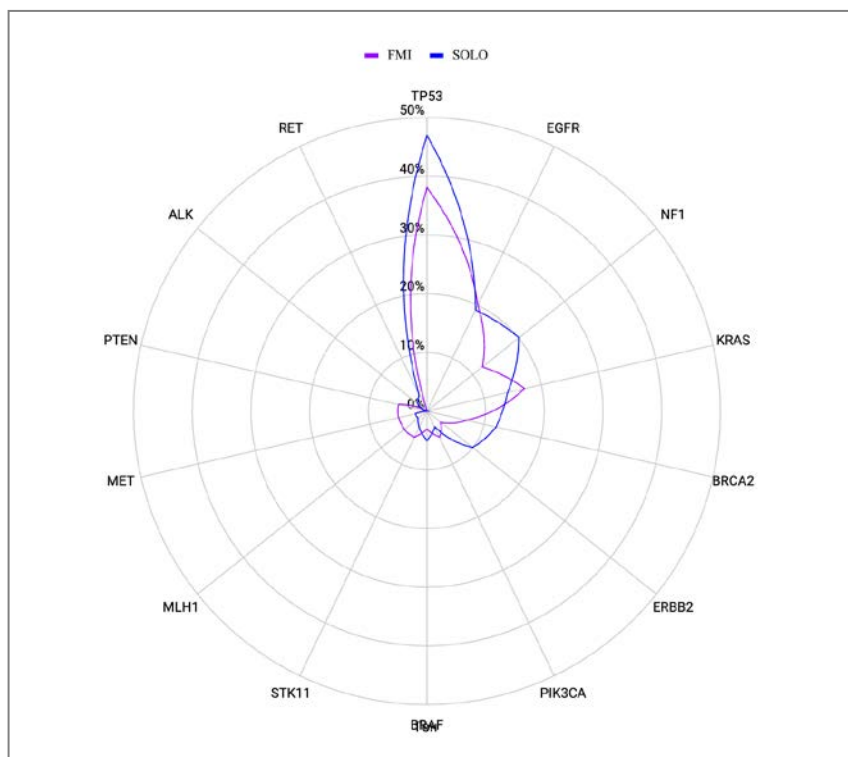


Рисунок 13 – Наиболее часто детектируемые альтерации генов при немелкоклеточном раке легкого в зависимости от панели FMI и Solo

Невысокая частота выявления основных биомаркеров, которые входят в стандарты для тестирования при НМРЛ, была обусловлена негативной селекцией для проведения КМП. Так, информация о ранее проводимом молекулярно-генетическом тестировании (мутации *EGFR* 18-21 экзоны, *BRAF* V600E, транслокации *ALK*, *ROS1* ± мутации *c-MET*, *ERBB2*, инсерции 20 экзона *EGFR*, транслокации *RET*, *NTRK1/2/3*) была доступна для 81 пациента (74%). Из них 48 пациентов уже была проведена молекулярная диагностика конвенциональными методами, и в 45 случаях (55,5%) драйверные молекулярные альтерации выявлены не были, что послужило основанием для назначения КМП с целью поиска других потенциально значимых молекулярных изменений.

3.2.4 Подгруппа пациентов с другими опухолями

Группа с иными нозологиями помимо самых многочисленных групп опухолей ЖКТ и НМРЛ включала в себя 97 пациентов (22% всей популяции). В группе представлены пациенты со следующими нозологиями:

- РМЖ (протоковая карцинома, 30 пациентов, 31%);
- РЯ (серозная карцинома высокой степени злокачественности, 17 пациентов, 17,5%);
- глиобластома (11 пациентов, 11,5%);

- опухоль из НПО (аденокарцинома, 8 пациентов, 8,5%);
- саркома мягких тканей (6 пациентов, 6,5%);
- опухоли головы и шеи (5 пациентов, 5%);
- меланома (5 пациентов, 5%);
- саркома Юинга (2 пациента, 2,5%);
- рак шейки матки (аденокарцинома, 2 пациента, 2,5%);
- рак тела матки (2 пациента, 2,5%);
- рак слюнной железы (аденокарцинома, 2 пациента, 2,5%);
- рак анального канала (плоскоклеточная карцинома, 1 пациент, 1%);
- саркома матки (1 пациент, 1%);
- рак вульвы (плоскоклеточная карцинома, 1 пациент, 1%);
- рак почки (светлоклеточная карцинома, 1 пациент, 1%);
- саркома Капоши (1 пациент, 1%);
- мелкоклеточный рак легкого (1 пациент, 1%);
- мезотелиома плевры (1 пациент, 1%).

Был проведен анализ молекулярных характеристик наиболее часто встречающихся опухолей данной группы пациентов (РМЖ, N=30; РЯ, N=17).

В группе пациентов РМЖ профилирование на панели FMI было проведено 19 пациентам (63,3%), на панели Solo – 11 пациентам (36,7%). Распределение максимального уровня альтерации по шкале ESCAT на отчет в зависимости от панели в группе пациентов с РМЖ представлено в таблице 17. Статистически достоверных различий в выявляемых уровнях ESCAT в зависимости от панели определено не было.

Таблица 17 – Распределение выявленных альтераций по шкале ESCAT в зависимости от панели комплексного молекулярного профилирования в группе рака молочной железы

Максимальный уровень ESCAT в отчете КМП	Все пациенты группы РМЖ (N=30)	FMI (N=19)	Solo (N=11)	p-value
I	12 (40,0%)	6 (31,6%)	6 (54,5%)	0,22
II	3 (10,0%)	2 (10,5%)	1 (9,1%)	0,90
III	8 (26,7%)	6 (31,6%)	2 (18,2%)	0,42
IV	3 (10,0%)	2 (10,5%)	1 (9,1%)	0,90
V/X	4 (13,3%)	3 (15,8%)	1 (9,1%)	0,60

В группе пациентов РМЖ хотя бы одна альтерация была выявлена в 87% случаев (13% – отсутствие биомаркеров). Наиболее часто альтерации выявлялись в гене *PIK3CA* (39%), *TP53* (35%), *ERBB2* (13%), *BRCA1* (13%), *PTEN* (13%), *MYC* (10%), *BRCA2*, *ATM*, *PALB2* – по 6%, *CHEK2* и *STK11* – 3% (Рисунок 14).

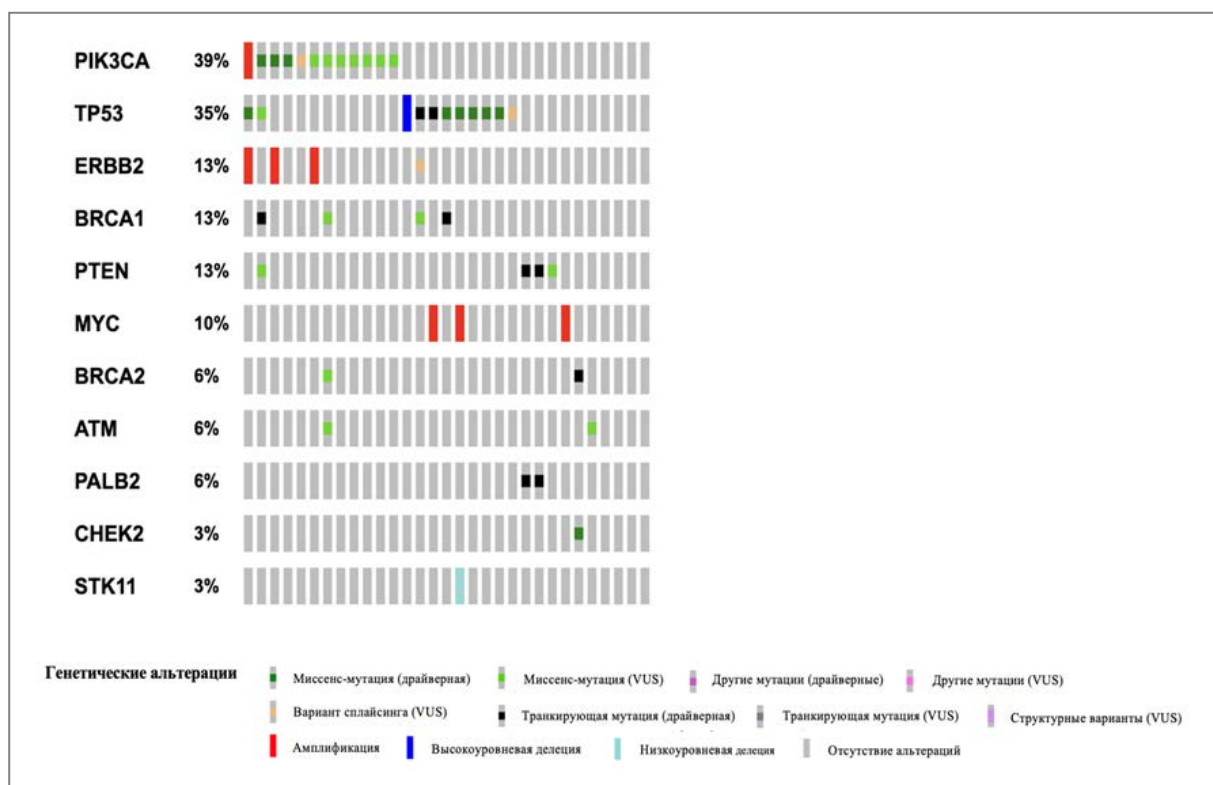


Рисунок 14 – Наиболее часто выявляемые альтерации при раке молочной железы

При сравнении выявляемых альтераций при РМЖ несмотря на различия в цифрах встречаемости альтераций *PIK3CA*, *TP53*, *ERBB2* между панелями профилирования, единственное статистически достоверное различие было выявлено в частоте выявления альтераций гена *ATM* ($p=0,05$) (Таблица 18). На рисунке 15 отражено распределение детектируемых альтераций в зависимости от панели профилирования.

Таблица 18 – Частота детекции основных альтераций генов при РМЖ в зависимости от панели профилирования

Альтерации гена	FMI	Solo	p-value
<i>PIK3CA</i>	27%	47%	0,45
<i>TP53</i>	47%	24%	0,11
<i>ERBB2</i>	7%	18%	0,90
<i>BRCA1</i>	27%	0%	0,55
<i>PTEN</i>	7%	18%	0,10
<i>MYC</i>	0%	18%	0,90
<i>BRCA2</i>	13%	4%	0,68
<i>ATM</i>	13%	0%	0,05
<i>PALB2</i>	7%	6%	0,17

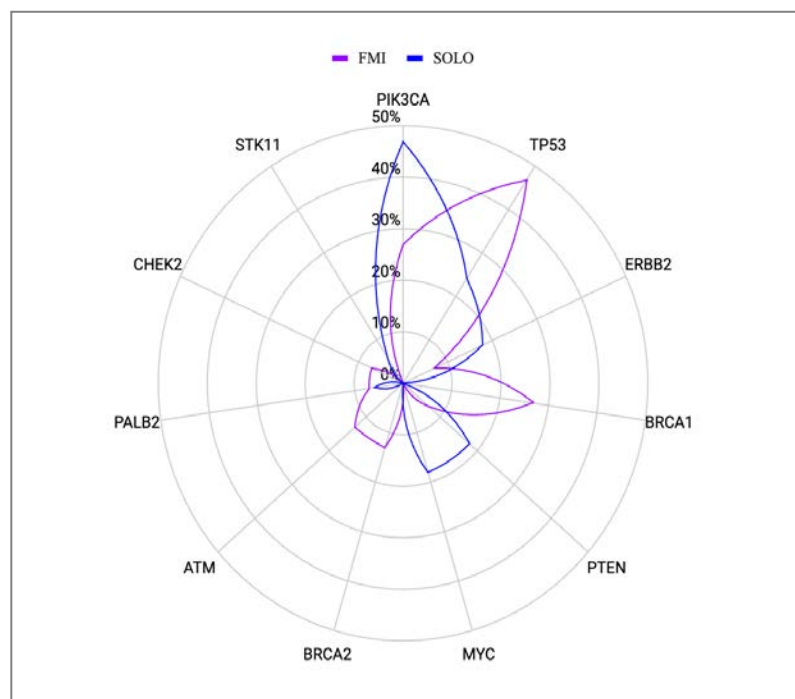


Рисунок 15 – Наиболее часто детектируемые альтерации генов при раке молочной железы в зависимости от панели FMI и Solo

В группе пациентов рака яичников профилирование на панели FMI было проведено 9 пациентам (52,9%), на панели Solo – 8 пациентам (47,1%). Распределение максимального уровня альтерации по шкале ESCAT на отчет в зависимости от панели в группе пациентов с РМЖ представлено в таблице 19. В группе пациентов рака яичников хотя бы одна альтерация была выявлена в 71% случаев (29% – отсутствие альтераций). Наиболее часто альтерации выявлялись в генах *TP53* (43%), *PIK3CA* (29%), *BRCA2* (14%), *NF1*, *MYC*, *KRAS* – по 14%, *BRCA1* и *ARID1A* – по 7% (Рисунок 16).

Таблица 19 – Распределение выявленных альтераций по шкале ESCAT в зависимости от панели комплексного молекулярного профилирования в группе рака яичников

Максимальный уровень ESCAT в отчете КМП	Все пациенты группы РЯ (N=17)	FMI (N=19)	Solo (N=11)	p-value
I	1 (5,8%)	1 (11,1%)	0	–
II	0	0	0	–
III	6 (35,3%)	2 (22,2%)	4 (50,0%)	0,23
IV	3 (17,7%)	1 (11,1%)	2 (25,0%)	0,45
V/X	7 (41,2%)	5 (55,6%)	2 (25,0%)	0,20

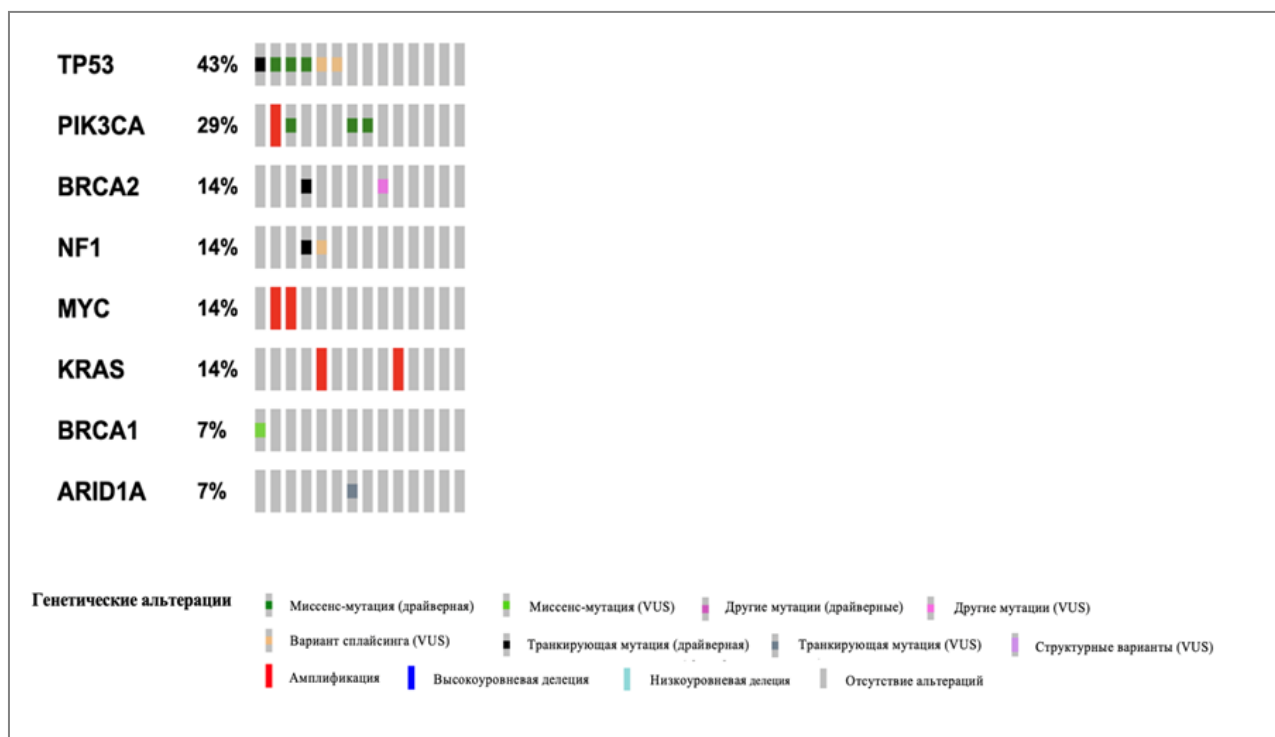


Рисунок 16 – Наиболее часто выявляемые альтерации при раке яичников

При сравнении выявляемых альтераций при раке яичников достоверных различий между подгруппами в зависимости от панели профилирования выявлено не было (Таблица 20). Распределение альтераций генов также указано на рисунке 17.

Таблица 20 – Частота детекции основных альтераций генов при раке яичников в зависимости от панели профилирования

Альтерации гена	FMI	Solo	p-value
<i>TP53</i>	50%	44%	0,46
<i>PIK3CA</i>	25%	33%	0,89
<i>BRCA2</i>	25%	11%	0,92
<i>NF1</i>	0%	22%	0,11
<i>MYC</i>	25%	11%	0,16
<i>KRAS</i>	0%	22%	0,11
<i>BRCA1</i>	0%	11%	0,33
<i>ARIDIA</i>	0%	11%	0,33

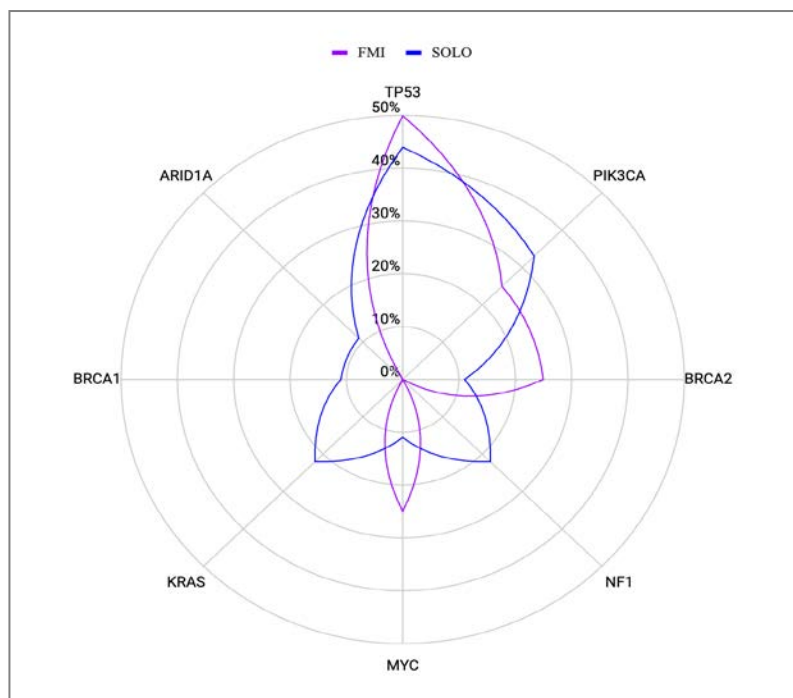


Рисунок 17 – Наиболее часто детектируемые альтерации генов при раке яичников в зависимости от панели FMI и Solo

3.3 Сравнение частоты рекомендации и назначения молекулярно-направленной терапии после проведения комплексного молекулярного профилирования

3.3.1 Общая когорта пациентов

По результатам отчетов МНТ могла быть рекомендована в 56,9 % случаях (N=255 из 448). Показатель составил 56,5% (N=152 из 269) и 57,5% (N=103 из 179) случаев в группах FMI и Solo соответственно, различия статистически недостоверны ($p=0,83$). Частота рекомендации МНТ в зависимости от группы пациентов представлена в таблице 21. Статистически достоверных различий не было зафиксировано при сравнении частоты рекомендации МНТ в зависимости от панели проведения профилирования в группах ЖКТ, НМРЛ и других опухолей. Кроме того, наибольшая вероятность рекомендации МНТ наблюдалась в группе других опухолей (62,9%).

Таким образом, частота рекомендации МНТ по результатам КМП соответствовала литературным данным (более 50%). Как и предполагалось, статистически значимой разницы в частоте рекомендации МНТ после проведения КМП на панели FMI или Solo в общей популяции пациентов установлено не было. То есть статистическая гипотеза о частоте рекомендации МНТ в РФ была выполнена.

Таблица 21 – Частота рекомендации молекулярно-направленной терапии в зависимости от нозологии и панели профилирования

Группа пациентов	Вне зависимости от панели	FMI	Solo	p-value
Все пациенты (N=448)	255 (56,9%)	152 (56,5%)	103 (57,5%)	0,68
Опухоли ЖКТ (N=242)	133 (54,9%)	67 (56,3%)	66 (53,7%)	0,46
НМРЛ (N=109)	61 (55,9%)	43 (52,4%)	18 (66,7%)	0,19
Другие опухоли (N=97)	61 (62,9%)	42 (61,8%)	19 (65,5%)	0,21

Анализ взаимосвязи максимального уровня ESCAT на отчет и наличие или отсутствие рекомендаций по лекарственной терапии в отчете приведен в таблице 22.

Таблица 22 – Частота рекомендации молекулярно-направленной терапии в зависимости от уровня ESCAT

Максимальный уровень ESCAT на отчет	Нет рекомендаций по МНТ в отчете	Есть рекомендации по МНТ в отчете
I	0 (0,0%)	69 (100,0%)
II	2 (9,1%)	20 (90,9%)
III	18 (12,7%)	124 (84,7%)
IV	40 (49,4%)	41 (50,6%)
V/X	134 (100%)	0 (0,0%)

При помощи логистической регрессии установлено, что наличие в отчете альтераций ESCAT I-II уровня с большей долей вероятности также отразится в наличии рекомендаций по терапии (ОШ 0,023, 95% ДИ 0,013-0,040, $p < 0,001$).

Однако наличие рекомендаций в отчете не означало реальное получение пациентом лекарственного препарата. Данные о назначенной терапии (МНТ или не-МНТ) были доступны для 374 пациентов (83,5%, технические характеристики указаны ранее в таблице 9), 264 пациента (71%) – из группы FMI, 110 пациентов (29%) – из группы Solo. Из них после проведения КМП лишь 87 пациентов (23,2%) получили МНТ, 287 (76,8%) были пролечены без учета молекулярных характеристик опухоли. В группе FMI данный показатель составил 21,5% (57 пациентов из 264), в группе Solo – 27,3% (30 пациентов из 110), различие также недостоверно ($p=0,11$). Сравнение молекулярных характеристик пациентов группы приведено в таблице 23. Распределение альтераций по шкале ESCAT было репрезентативно в выборке пациентов с доступными клиническими данными, статистически достоверных различий относительно распределения в общей популяции пациентов не было установлено.

Таблица 23 – Распределение максимального уровня альтераций по шкале ESCAT на отчет в общей популяции пациентов и в популяции пациентов с доступными клиническими данными

Максимальный уровень ESCAT в отчете КМП	Все пациенты (N=448)	Группа пациентов с доступными клиническими данными (N=374)	p-value
I	69 (15,4%)	55 (14,7%)	0,36
II	22 (4,9%)	21 (5,6%)	0,12
III	141 (31,5%)	115 (30,7%)	0,33
IV	88 (19,6%)	68 (18,2%)	0,90
V/X	128 (28,6%)	115 (30,7%)	0,38

МНТ наиболее часто назначалась пациентам со следующими нозологиями: НМРЛ (N=20; 23,0%), КРР (N=16; 18,4%), РЯ (N=8; 9,2%), ХК (N=8; 9,2%), рак поджелудочной железы (N=7; 8,0%), рак молочной железы (N=7; 8,0%), рак желудка (N=6; 6,9%), опухоли головы и шеи (N=3; 3,4%), глиобластома (N=3; 3,4%), рак шейки матки (N=2; 2,3%), саркома Юинга (N=2; 2,3%), саркома мягких тканей (N=2; 2,3%), опухоль из невыявленного первичного очага (N=1; 1,1%), меланома (N=1; 1,1%), рак слюнной железы (N=1; 1,1%).

3.3.2 Особенности частоты рекомендации молекулярно-направленной терапии в зависимости от нозологии

Анализ проводился отдельно в группах опухолей ЖКТ, НМРЛ и группе других опухолей. В группе пациентов с опухолями ЖКТ (242 пациента) рекомендации о назначении МНТ присутствовали в 133 случаях (54,9%). Для анализа была доступна клиническая информация о лечении после проведения КМП для 183 пациентов с опухолями ЖКТ. МНТ была назначена 37 пациентам (20,2%). В группе КРР этот показатель составил 15,0%, в группе ХК – 44,4%, в группе РПЖ – 28,6%, в группе ПЖ – 60%. Подробная информация представлена в таблице 24.

В группе опухолей ЖКТ в 19% случаев (7 пациентов) назначение опиралось на уровень ESCAT I, в 27% случаев (10 пациентов) – ESCAT II, в 35% (13 пациентов) – ESCAT III, в 14% (5 пациентов) – ESCAT IV и в 5% (2 пациента) – в ESCAT V/X.

В группе пациентов с НМРЛ (109 пациентов) рекомендации о назначении МНТ присутствовали в 61 случае (55,9%). Для анализа была доступна клиническая информация о лечении после проведения КМП для 105 пациентов с НМРЛ (96%). МНТ была назначена 20 пациентам (19,0%). В 65,0% случаев (13 пациентов) назначение опиралось на уровень

ESCAT I, в 10% случаев (2 пациента) – ESCAT II, в 15% (3 пациента) – ESCAT III, в 10% (2 пациента) – ESCAT IV.

Таблица 24 – Частота рекомендаций и назначения молекулярно-направленной терапии в зависимости от нозологии

Группа пациентов	Нозология	Есть рекомендация о МНТ в отчете	МНТ получена
Все пациенты с опухолями ЖКТ (N=242)	–	133 (54,9%)	37 (20,2%) (информация доступна для 183 пациентов)
	КРР (N=146)	88 (60,3%)	16 (15,0%) (информация доступна для 107 пациентов)
	ХК (N=21)	11 (52,4%)	8 (44,4%) (информация доступна для 18 пациентов)
	РПЖ (N=28)	8 (28,6%)	7 (25,0%) (информация доступна для 28 пациентов)
	РЖ (N=35)	21 (60%)	6 (26,1%) (информация доступна для 23 пациентов)
Группа пациентов с НМРЛ (N=109)	НМРЛ	61 (55,9%)	20 (19,0%) (информация доступна для 105 пациентов)
Группа других опухолей (N=97)	–	61 (62,9%)	30 (33,3%) (информация доступна для 90 пациентов)
	РМЖ (N=30)	24 (80,0%)	7 (29,2%) (информация доступна для 24 пациентов)
	РЯ (N=17)	8 (47,1%)	8 (53,3%) (информация доступна для 15 пациентов)
	Глиобластома (N=11)	9 (81,8%)	3 (33,3%) (информация доступна для 9 пациентов)

В группе других опухолей (97 пациентов) рекомендации о назначении МНТ присутствовали у 61 пациента (62,9%). Для анализа была доступна клиническая информация о лечении после проведения КМП для 90 пациентов этой группы (93%). МНТ была назначена 30 пациентам (33,3%). В 13,3% случаев (4 пациента) назначение опиралось на уровень ESCAT I, в 6,7% случаев (2 пациента) – ESCAT II, в 36,6% (11 пациентов) – ESCAT III, в 26,6% (8 пациентов) – ESCAT IV и в 16,8% (5 пациентов) – в ESCAT V/X. В 26,6% случаев (8 пациентов) МНТ была назначена пациентам с диагнозом РЯ, в 23,4% (7 пациентов) – с диагнозом РМЖ, 10% (3 пациента) – глиобластома, 10% (3 пациента) – опухоли головы и шеи, 6,7% (2 пациента) – саркома Юинга, 6,7% (2 пациента) – РШМ, 6,7% (2 пациента) – саркома мягких тканей, и по 3,3% (по 1 пациенту) – опухоль тиз НПО, рак слюнной железы, меланома.

Наиболее широко представленными нозологиями были РМЖ (30 пациентов), РЯ (17 пациентов), глиобластома (11 пациентов). В группе пациентов РМЖ МНТ была рекомендована 24 пациентам (80,0%), проведена – 7 из 24 пациентов (29,2%). В группе рака яичников – рекомендована 8 пациентам (47,1%), проведена – 8 (53,3%) пациентам. В группе глиобластомы – рекомендована 9 пациентам (81,8%), проведена 3 пациентам (33,3%). Данные указаны в таблице 24.

3.4 Анализ факторов, оказывающих влияние на назначение молекулярно-направленной терапии

С целью определения характеристик пациентов, которым с большей долей вероятности будет рекомендована МНТ после проведения КМП, оценивались следующие параметры: пол, возраст, нозология, число линий до проведения КМП, ВБП на предшествующей линии, функциональный статус по шкале ECOG на момент проведения КМП, панель КМП, наличие мутаций генов RAS (при доступности информации о предшествующих стандартных тестах), клиника, в которой пациент получал лечение.

В однофакторном анализе установлено, что более высокий шанс на назначение МНТ получали пациенты на поздних линиях терапии (получившие ≥ 3 линий, ОШ 2,24 (95% ДИ 1,26-3,96) и с ограниченной эффективностью предыдущей линии лечения (ВБП до КМП ≤ 3 месяцев, ОШ 2,16 (95% ДИ 1,18-3,94). Что касается нозологий, статистически значимое увеличение шанса назначения МНТ наблюдалось в случае ХК (ОШ 2,80, 95% ДИ 1,07-7,34) и рака яичников (ОШ 4,05, 95% ДИ 1,42-11,50), снижение вероятности назначения МНТ – в случае КРР (ОШ 0,48, 95% ДИ 0,26-0,88). Кроме того, обсуждение ситуации в рамках МТВ ассоциировано с большим шансом назначения МНТ (ОШ 5,44 (95% ДИ 2,03-8,79), а наличие по предшествующим данным мутаций генов RAS снижало данный шанс (ОШ 0,24 (95% ДИ 0,11-0,49). При анализе клиник, в которых пациенты получали лечение, большая вероятность назначения МНТ наблюдалась в случае прохождения лечения в федеральном центре (ОШ 1,94, 95% ДИ 1,10-3,42), меньшая вероятность – в случае прохождения лечения в муниципальных онкологических клиниках (ОШ 0,35, 95% ДИ 0,16-0,76). Другие оцениваемые параметры не влияли на шанс назначения МНТ, исходя из результатов однофакторного анализа (Рисунок 18).

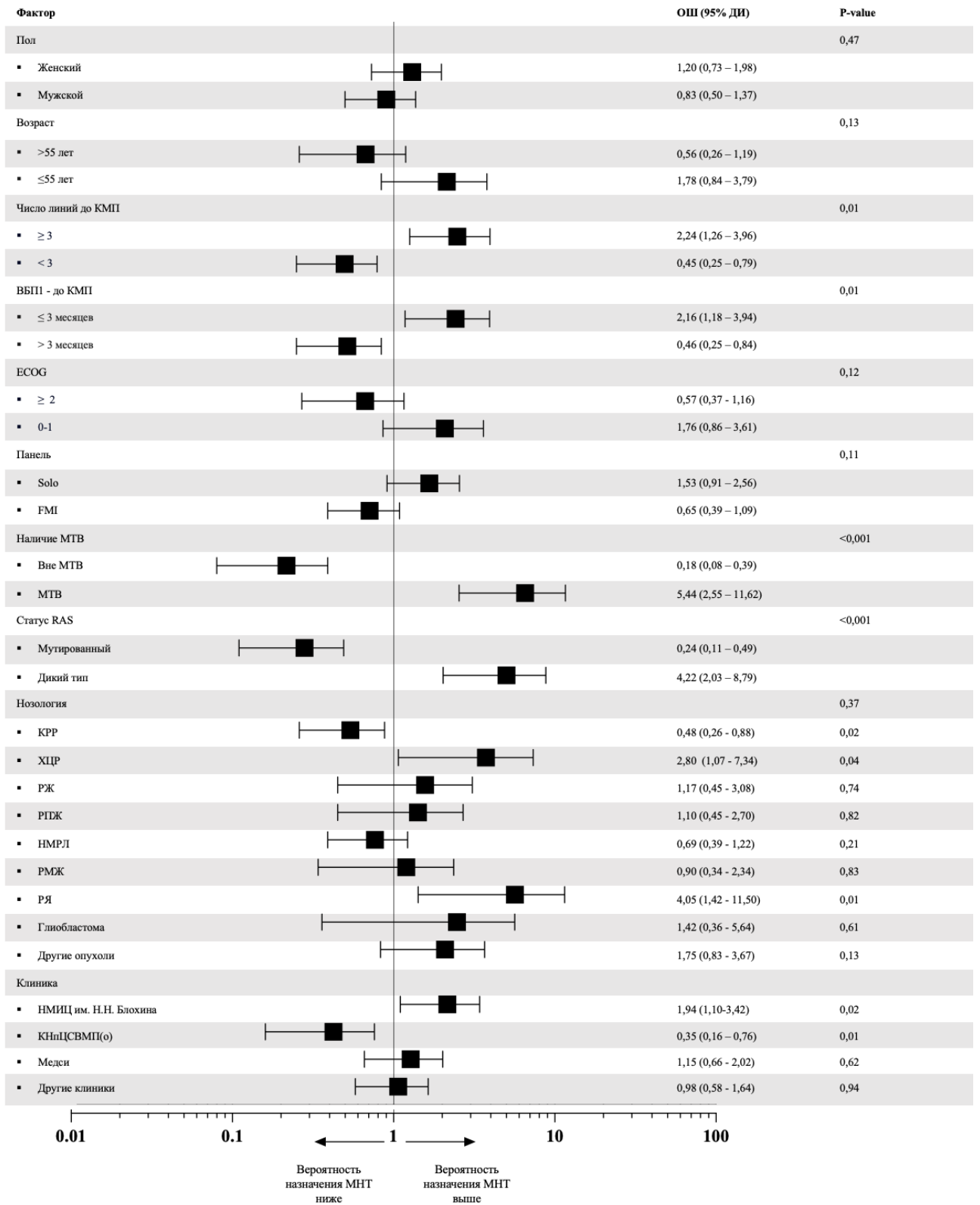


Рисунок 18 – Однофакторный анализ параметров, влияющих на факт назначения молекулярно-направленной терапии

При проведении многофакторного анализа (включены факторы, продемонстрировавшие статистическую значимость в однофакторном анализе: число линий до КМП, ВБП1, нозология (КРР, ХК, РЯ), проведение МТВ и статус генов RAS) установлено:

- шанс назначения МНТ выше в случае проведения МТВ (ОШ 4,09, 95% ДИ 1,98-8,45, $p=0,05$);
- шанс назначения МНТ ниже в случае, если у пациента уже выявлена мутация генов *RAS* (ОШ 0,36, 95% ДИ 0,16-0,81, $p=0,01$);
- пограничное значение имеет нозология: из всех нозологий наибольшая вероятность назначения МНТ после проведения КМП в случае рака яичников (ОШ 4,30, 95% ДИ 1,98-8,45, $p<0,01$).

В многофакторном анализе не была подтверждена роль числа линий до КМП и длительность ВВП1 до проведения КМП относительно выбора МНТ. Также влияние клиники, в которой проходил лечение пациент, не продемонстрировало значимого влияния.

С целью определения группы пациентов с наибольшей вероятностью назначения МНТ после КМП был проведен поданализ в зависимости от наличия факторов, имеющих значение в многофакторном анализе. В случае проведения МТВ пациенту присваивался 1 балл, отсутствия мутаций генов *RAS* – 1 балл, в случае РЯ – 2 балла. В зависимости от количества баллов пациенты были распределены следующим образом: 0 баллов – 125 человек, 1 балл – 274 пациента, 2 балла – 35 пациентов, 3 балла – 7 пациентов, 4 балла – 7 пациентов, и разделены на три группы (А – 0 баллов, В – 1-2 балла, С – 3-4 балла). Частота назначения МНТ приведена на рисунке 19. Статистически значимое различие было зафиксировано при сравнении группы А и группы С ($p=0,02$), но не групп А и В ($p=0,09$) или В и С ($p=0,10$).

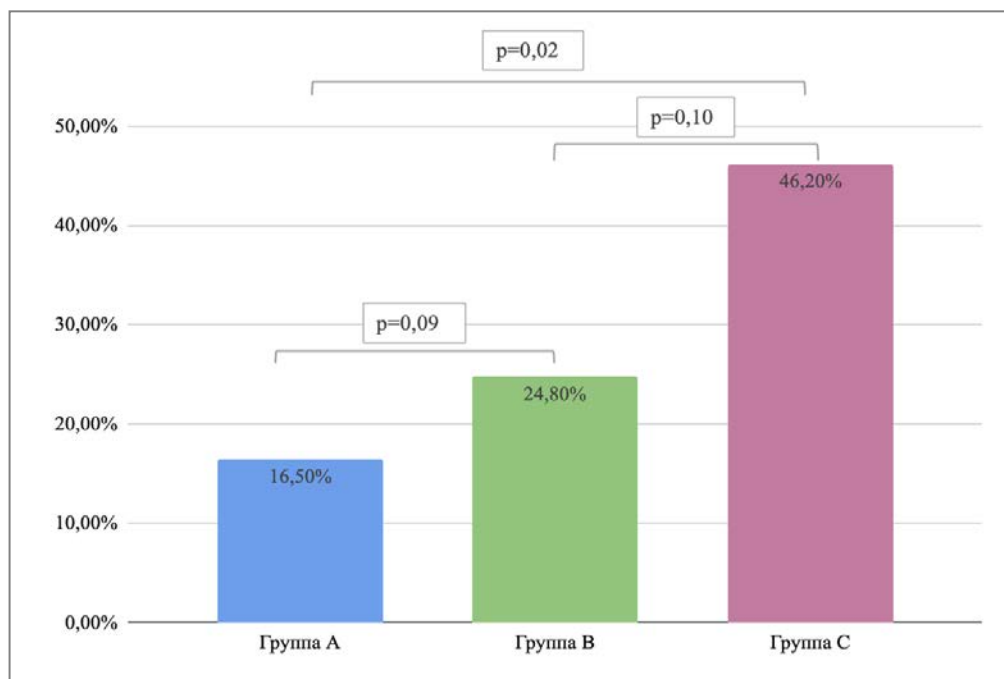


Рисунок 19 – Частота назначения молекулярно-направленной терапии в зависимости от параметров многофакторного анализа

Таким образом, самая низкая вероятность назначения МНТ была выявлена в группе пациентов с наличием мутаций гена *RAS*, отсутствием МТВ, и в случае нозологии кроме РЯ (0 баллов). Также подтверждена более высокая вероятность назначения МНТ в случае отсутствия мутаций генов *RAS* + проведение МТВ либо при РЯ. Роль отдельных критериев только отсутствия мутаций *RAS* или только факта проведения МТВ сомнительна.

3.5 Оценка клинических исходов в зависимости от панели профилирования

Был проведен анализ клинических исходов у пациентов в зависимости от панели профилирования. Данные о результатах контрольного обследования были доступны для 211 пациентов (47%): 142 (67%) пациента из группы FMI и 69 (33%) пациентов из группы Solo. Статистически значимых различий в показателях ЧКБ, ЧОО, ВБП2/1 $\geq 1,3$, частоты достижения длительного ответа на терапию установлено не было (Таблица 25). Медиана ВБП2 и двухгодичная ВБП2 пациентов составила 5 и 2 месяца и 11% и 11% в группах FMI и Solo соответственно (OR 0,88, 95% ДИ 0,76-1,03, $p=0,12$). Однако установлено различие в ОВ пациентов: медиана составила 10 и 6 месяцев, двухгодичная ОВ – 25 и 12% в группах FMI и Solo соответственно (OR 0,71, 95% ДИ 0,55-0,93, $p=0,01$) (Рисунки 20, 21).

Таблица 25 – Сравнение эффективности проведения комплексного молекулярного профилирования в зависимости от панели

Сравниваемый критерий	Все пациенты	FMI	Solo	p-value
ЧКБ	45,5%	46,5%	43,4%	0,66
ЧОО	14,2%	14,0%	14,5%	0,92
ВБП2/1 $\geq 1,3$	25,9%	31,0%	18,9%	0,07
Длительный ответ на терапию	39,5%	43,4%	32,6%	0,24
мВБП, месяцев	4	5	2	0,12
2-годичная ВБП	11%	11%	11%	
мОВ, месяцев	9	10	6	0,01
2-годичная ОВ	20%	25%	12%	

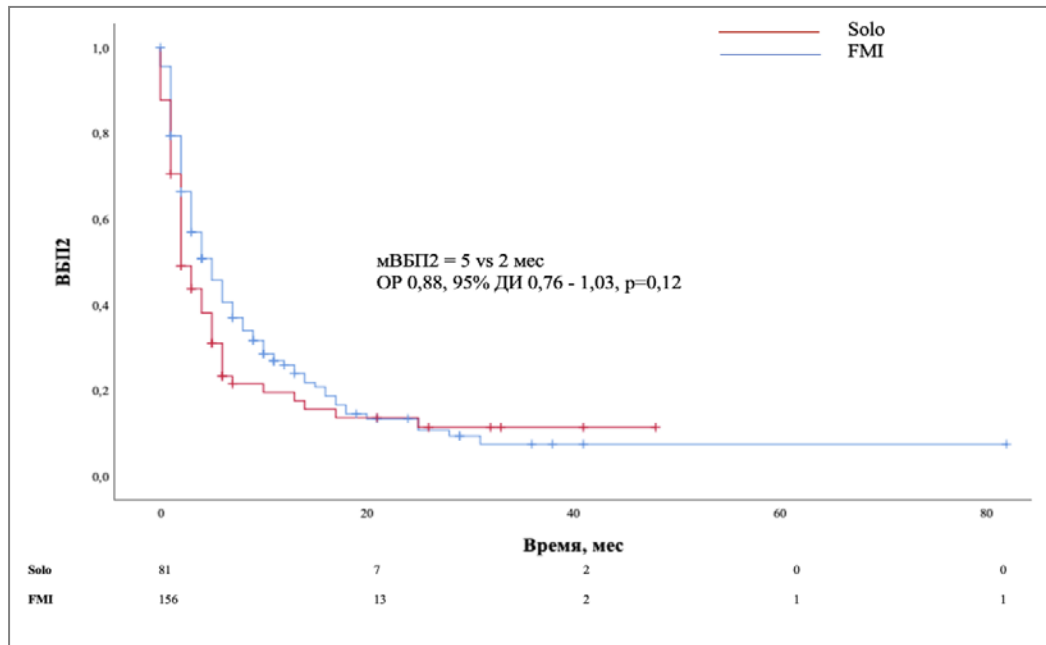


Рисунок 20 – Выживаемость без прогрессирования-2 пациентов в зависимости от панели комплексного молекулярного профилирования

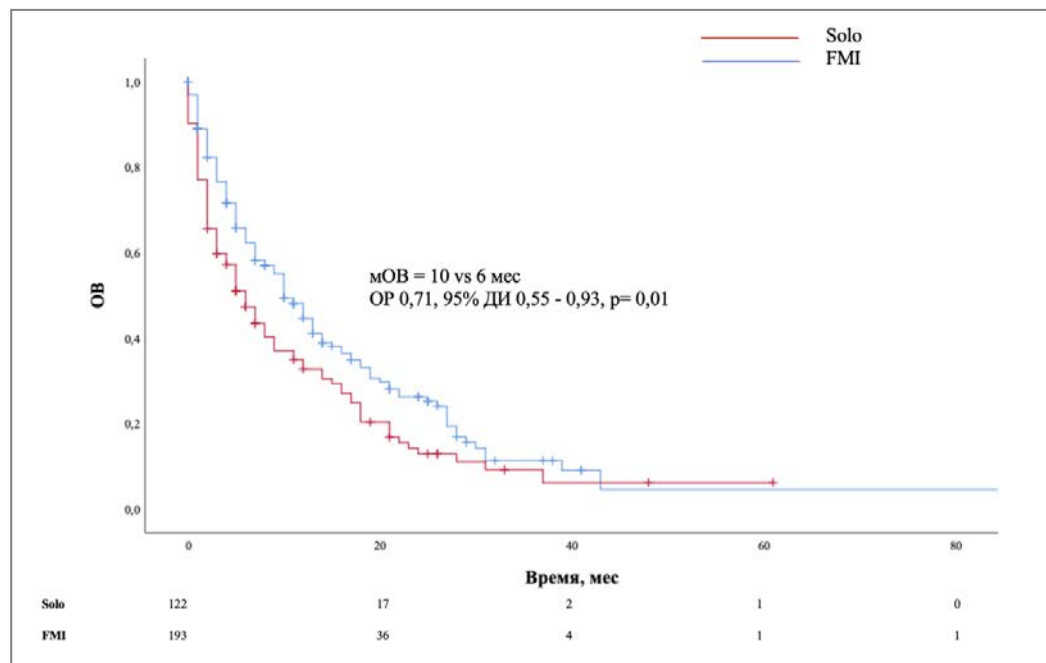


Рисунок 21 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от панели комплексного молекулярного профилирования

Кроме того, был проведен однофакторный и многофакторный анализ характеристик, которые потенциально могли влиять на ВБП2 и ОВ. В анализ включен пол пациентов, возраст, число линий до КМП, медиана ВБП1 до КМП, ECOG PS, панель профилирования, наличие МТВ, уровень выявляемых альтераций по шкале ESCAT, статус мутаций RAS, назначенная терапия (МНТ и не-МНТ и в случае МНТ-комбинация с ХТ или монотерапия), наличие или отсутствие МНТ (Таблица 26).

Таблица 26 – Однофакторный и многофакторный анализ факторов, влияющих на выживаемость без прогрессирования-2 и общую выживаемость всей когорты пациентов

Параметр	ВБП2						ОВ					
	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ			Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
	ОР	95% ДИ	p-value	ОР	95% ДИ	p-value	ОР	95% ДИ	p-value	ОР	95% ДИ	p-value
Пол												
Женский	0,79	0,59-1,06	0,11	–	–	–	0,84	0,64-1,09	0,19	–	–	–
Мужской	1,26	0,95-1,69					1,19	0,92-1,56				
Возраст												
>55 лет	0,99	0,65-1,51	0,98	–	–	–	0,96	0,66-1,37	0,83	–	–	–
≤55 лет	1,00	0,77-1,53					1,04	0,73-1,48				
Число линий до КМП												
<3	0,54	0,30-0,76	<0,01	–	–	0,43	0,46	0,37-0,62	<0,01	0,64	0,45-0,92	0,01
≥3	1,83	1,31- 2,57					2,19	1,60-2,98		1,64	1,13-241	
ВБП1-до КМП												
>3 месяцев	0,74	0,53-1,04	0,08	–	–	0,38	0,73	0,52-1,00	0,05	–	–	0,45
≤3 месяцев	1,34	0,86-1,87					1,38	1,00-1,91				
ECOG PS												
0-1	0,53	0,35-0,78	<0,01	0,52	0,34 -0,79	<0,01	0,68	0,47-0,98	0,04	0,59	0,38-0,91	0,02
≥2	1,89	1,28-2,80		1,92	1,26- 2,90		1,47	1,02-2,12		1,69	1,10-2,60	
Панель												
FMI	0,78	0,58-1,07	0,12	–	–	–	0,71	0,55-0,93	0,01	–	–	0,51
Solo	1,27	0,94-1,71					1,40	1,08-1,82				
Наличие МТВ												
МТВ	0,86	0,57-1,32	0,50	–	–	–	0,67	0,43-1,04	0,08	0,45	0,26-0,77	<0,01
Вне МТВ	1,15	0,75-1,75					1,49	0,96-2,36		2,21	1,29-3,78	
Уровень альтераций												
ESCAT I-II	0,85	0,63-1,13	0,26	–	–	–	0,88	0,68-1,14	0,33	–	–	–
ESCAT >III	1,18	0,88-1,57					1,14	0,88-1,47				

Продолжение таблицы 26

Статус RAS												
WT	0,85	0,62-1,17	0,32	–	–	–	0,83	0,62-1,10	0,20	–	–	–
Mut	1,17	0,85-1,62					1,20	0,91 -1,59				
Назначенная терапия												
МНТ	0,78	0,58-1,07	0,14	–	–	–	0,74	0,54-1,02	0,06	0,59	0,40-0,87	<0,01
не-МНТ	1,26	0,92-1,73					1,34	0,98-1,85		1,63	1,14-2,48	
Назначение МНТ												
Монотерапия	0,79	0,24-2,57	0,70	–	–	–	2,23	0,30-5,43	0,43	–	–	–
Комбинация с ХТ	1,25	0,38-4,05					0,45	0,06-3,28				

В однофакторном анализе факторов, влияющих на ВБП2, статистически значимое позитивное влияние имели следующие факторы:

- <3 линий до КМП;
- ВБП1 до КМП >3 месяцев;
- Статус по шкале ECOG 0-1;

Однако в многофакторном анализе единственным фактором, оказывающим влияние на ВБП2 после КМП, оказался лишь статус ECOG (ECOG PS 0-1 ОР 0,52, 95% ДИ 0,34-0,79, $p<0,01$).

В однофакторном анализе факторов, влияющих на ОВ, статистически значимое позитивное влияние имели следующие факторы:

- <3 линий до КМП;
- ВБП1 до КМП >3 месяцев;
- функциональный статус по шкале ECOG 0-1;
- проведение МТВ;
- назначение МНТ.

В многофакторном анализе факторами, позитивно влияющими на ОВ, стали:

- <3 линий до КМП (ОР 0,64, ДИ 95% 0,45-0,92, $p=0,01$);
- функциональный статус по шкале ECOG 0-1 (ОР 0,59, ДИ 95% 0,38-0,91, $p=0,02$);
- проведение МТВ (ОР 0,45, ДИ 95% 0,26-0,77, $p<0,01$);
- назначение МНТ (ОР 0,59, ДИ 95% 0,40-0,87, $p<0,01$).

Таким образом, в многофакторном анализе ВБП2 и ОВ не зависели от выбранной панели профилирования. Самыми значимыми характеристиками были клинические: соматический статус, предпочленность пациентов, а также назначение терапии с учетом молекулярных данных опухоли. Важно отметить, что пациенты группы Solo имели больше линий до КМП относительно группы FMI, что могло повлиять на различия в ОВ. Также на ОВ оказывало позитивное влияние проведение МТВ, что может быть ассоциировано с большей прослеженностью исходов пациентов, которые были обсуждены в рамках междисциплинарного консилиума. Полученное различие в ОВ между панелями может быть ассоциировано с отличиями в ключевых характеристиках пациентов (пациенты, кому было проведено профилирование на панели Solo, были более предпочлены – таблица 10), которые в многофакторном анализе продемонстрировали негативное влияние на ОВ. Учитывая результаты многофакторного анализа, пациентам были присвоены баллы в зависимости от наличия или отсутствия параметра, статистически значимого влиявшего на ОВ с целью создания прогностической модели:

- <3 линий до КМП – 1 балл;
- функциональный статус по шкале ECOG 0-1 – 1 балл;
- проведение МТВ – 1 балл.

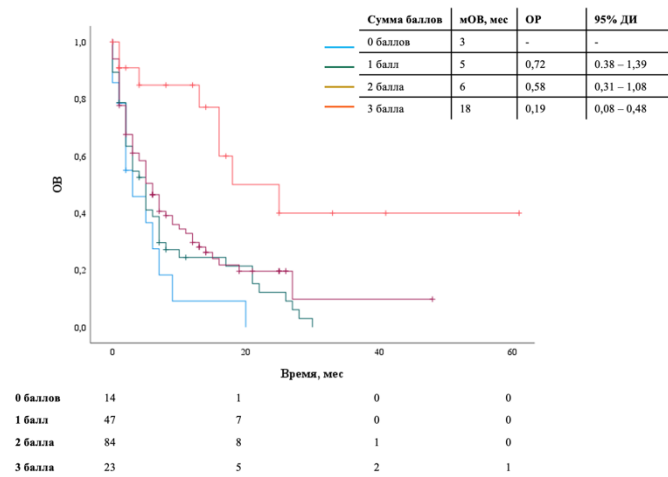
Так как анализ проводился с целью выявления когорт пациентов, с большей или меньшей долей вероятности имеющих пользу от назначения МНТ, факт назначения МНТ не учитывался как балл. Таким образом, каждому пациенту могло быть присвоено значение от 0 до 3. Пациенты с доступными данными по всем параметрам были распределены следующим образом: 0 баллов – 16 пациентов (8,2%), 1 балл – 58 пациентов (29,6%), 2 балла – 98 пациентов (50,0%), 3 балла – 24 пациента (12,2%).

В общей популяции пациентов мОВ составила 3, 5, 6 и 18 месяцев при 0, 1, 2 и 3 баллах соответственно. Статистически значимо от всех групп отличалась лишь когорта пациентов, набравших 3 балла (Таблица 27). Однако при стратификации групп на назначение МНТ мОВ составила 3, 5, 11 месяцев при 0, 1 и 2 баллах, а в группе 3-х баллов медиана не была достигнута. В случае же не-МНТ мОВ составила 7,5,5,16 месяцев, при попарном сравнении статистически значимой разницы между показателями в данной группе продемонстрировано не было (Таблица 27). Показатели ОР и 95% ДИ для общей популяции пациентов, а также в зависимости от назначения МНТ приведены на рисунке 22.

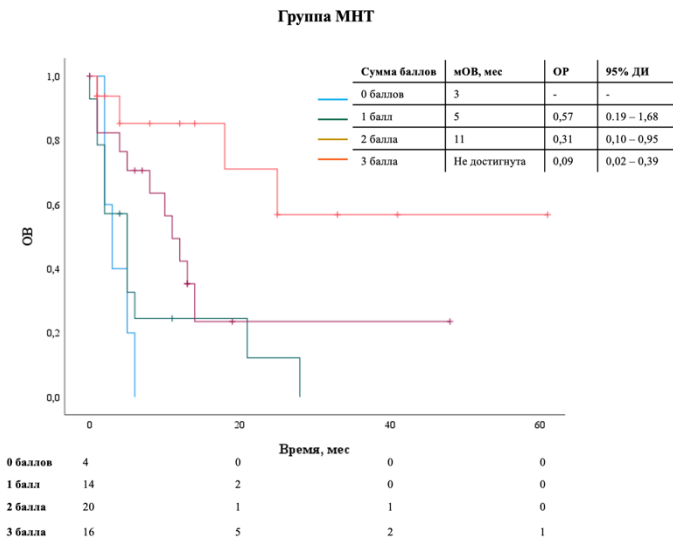
Следующим этапом пациенты были разделены на группы низкой (группа А: 0-1 балла) и высокой (группа В: 2-3 балла) вероятности получения клинической пользы от назначения МНТ. При анализе в общей популяции мОВ составила 5 и 7 месяцев в группе А и В соответственно (ОР 0,61, 95% ДИ 0,43-0,88, $p=0,05$, рисунок 23, А). При анализе группы МНТ мОВ составила 5 и 18 месяцев, различие статистически значимо (ОР 0,31, 95% ДИ 0,15-0,63, $p<0,01$, рисунок 23, Б). В группе не-МНТ прогностическая модель не продемонстрировала своей значимости, мОВ составила 5 месяцах в обеих группах (ОР 0,92, 95% ДИ 0,60-1,43, $p=0,73$, рисунок 23, В).

Таблица 27 – Попарные сравнения отличия в ОВ пациентов в зависимости от баллов многофакторного анализа (Log Rank, p-value)

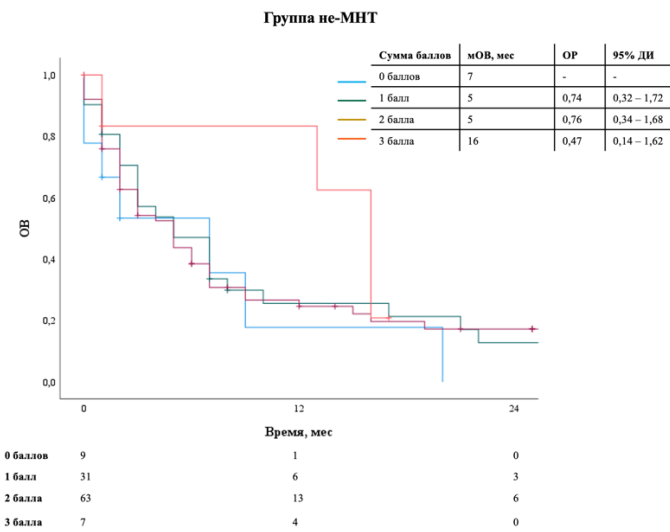
Когорта пациентов	Число баллов	0	1	2	3
Все пациенты	0	–	0,22	0,09	<0,01
	1	0,22	–	0,26	<0,01
	2	0,09	0,26	–	<0,01
	3	<0,01	<0,01	<0,01	–
Группа МНТ	0	–	0,47	<0,01	<0,01
	1	0,47	–	0,13	<0,01
	2	<0,01	0,13	–	0,03
	3	<0,01	<0,01	0,03	–
Группа не-МНТ	0	–	0,39	0,54	0,21
	1	0,38	–	0,92	0,39
	2	0,54	0,92	–	0,28
	3	0,21	0,39	0,28	–



А.



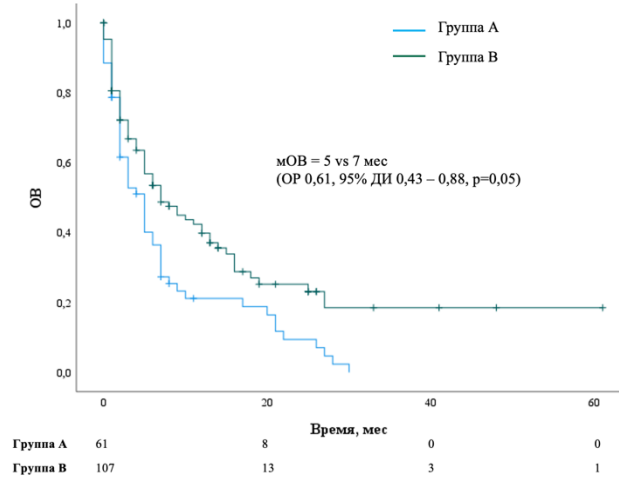
Б.



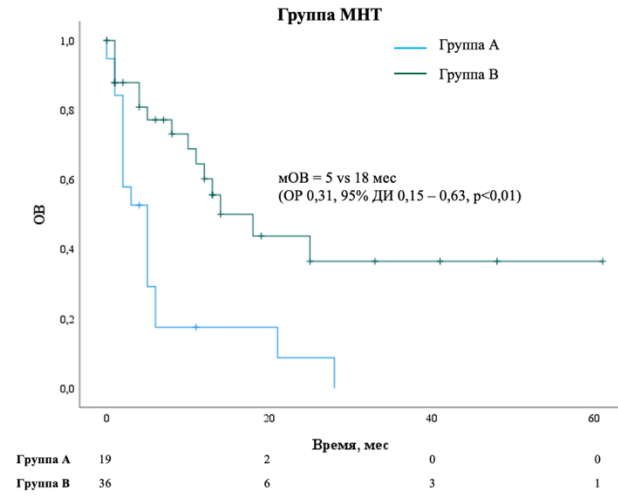
В.

А – общая популяция пациентов; Б – группа молекулярно-направленной терапии; В – группа стандартной терапии.

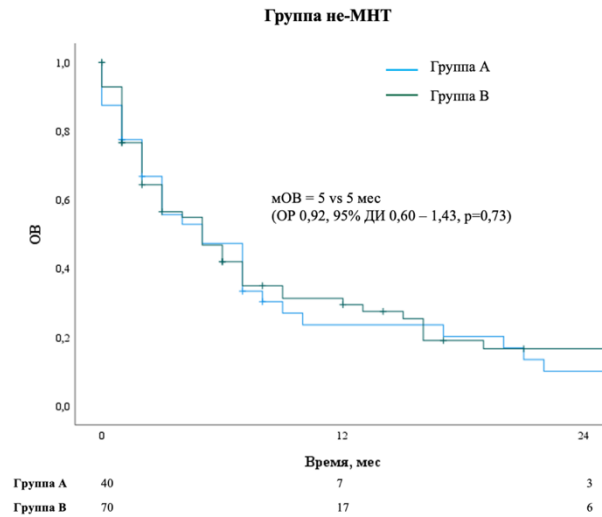
Рисунок 22 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от баллов многофакторного анализа



А.



Б.



В.

А – общая популяция пациентов; Б – группа молекулярно-направленной терапии; В – группа стандартной терапии.

Рисунок 23 – Общая выживаемость пациентов в зависимости группы прогноза

Таким образом, наибольшая целесообразность назначения МНТ была выявлена в случае наличия у пациентов ≥ 2 баллов, согласно прогностической модели (< 3 линий терапии до КМП, соматический статус по шкале ECOG 0-1 и возможность проведения МТВ). Самые высокие показатели ОВ наблюдались при реализации всех трех факторов (в общей популяции и в случае назначения МНТ, но не в случае проведения не-МНТ).

3.6 Оценка клинических исходов в зависимости от максимального уровня таргетированности на отчет

Проанализировано влияние максимального уровня ESCAT в отчете на реальное назначение МНТ и на клинические исходы пациентов. Так, продемонстрирована статистически значимая разница в назначении МНТ при ESCAT I и ESCAT II ($p < 0,01$). Вероятность назначения МНТ в таких случаях почти в 3 раза выше. При уровне ESCAT III и IV различий получено не было, а в случае ESCAT V вероятность назначения МНТ – минимальна (Таблица 28).

Таблица 28 – Частота назначения молекулярно-направленной терапии в зависимости от уровня ESCAT

Максимальный уровень ESCAT на отчет	МНТ назначена N=87	МНТ не назначена N=287	p-value
I	26 (29,9%)	29 (10,1%)	<0,01
II	10 (11,5%)	11 (3,8%)	<0,01
III	32 (26,8%)	83 (28,9%)	0,18
IV	14 (16,1%)	54 (18,8%)	0,54
V/X	5 (5,7%)	110 (38,3%)	<0,01

Что касается эффективности МНТ, статистически значимые различия в показателях ЧКБ, ЧОО, длительного ответа $n \geq 1,3$ а терапию, ВБП2/1, ВБП2 и ОВ были ограничены только пациентами с назначением по поводу ESCAT I. При ESCAT V/X нумерически показатели стандартного лечения были выше, нежели чем результаты единичных случаев назначения МНТ (Таблица 29). Что касается назначения МНТ по поводу ESCAT II, III, IV – по критериям эффективности опция лечения демонстрировала себя не хуже, чем стандарт терапии.

При попарном сравнении в группе не-МНТ пациенты с ESCAT I имели достоверно более благоприятные показатели ВБП2, чем ESCAT \geq III, но не ESCAT II. Между ESCAT II-V/X различий не было выявлено (Таблицы 30, 31).

Таблица 29 – Клинические результаты лечения пациентов в зависимости от уровня ESCAT и назначенной терапии

Уровень ESCAT	ESCAT I			ESCAT II			ESCAT III			ESCAT IV			ESCAT V/X		
	МНТ	не-МНТ	р	МНТ	не-МНТ	р	МНТ	не-МНТ	р	МНТ	не-МНТ	р	МНТ	не-МНТ	р
ЧКБ	80,0%	23,1%	0,04	28,6%	33,3%	0,31	65,4%	42,9%	0,21	50,0%	28,6%	0,18	0,0%	40,4%	0,20
ЧОО	44,0%	7,7%	<0,01	0,0%	0,0%	0,18	23,1%	7,3%	0,82	7,1%	10,7%	0,37	0,0%	10,5%	0,23
Длительный ответ на терапию (>6 мес.)	78,9%	25,0%	<0,01	70,1%	57,1%	0,91	39,1%	26,7%	0,46	33,3%	28,6%	0,33	0,0%	31,6%	0,32
ВБП2/1 ≥ 1,3	69,2%	14,3%	0,07	28,6%	0,0%	0,66	41,7%	20,7%	0,42	38,5%	12,5%	0,52	7,7%	17,1%	0,12
мВБП, месяцев	16	4	<0,01	3	1	1,00	9	7	0,59	4	5	0,43	5	6	0,85
мОВ, месяцев	19	8	<0,01	9	6	0,83	11	10	0,73	8	9	0,60	7	10	0,57

Таблица 30 – Парные сравнения отличия в выживаемости без прогрессирования-2 пациентов в зависимости от уровня ESCAT и назначенной терапии, p-value (Log Rank, p-value)

Группа	Макс. уровень	ESCAT I	ESCAT II	ESCAT III	ESCAT IV	ESCAT V/X
He-МНТ	ESCAT I	–	0,83	0,02	0,09	0,03
	ESCAT II	0,83	–	0,13	0,32	0,20
	ESCAT III	0,02	0,13	–	0,41	0,87
	ESCAT IV	0,09	0,32	0,41	–	0,29
	ESCAT V/X	0,03	0,20	0,87	0,29	–
МНТ	ESCAT I	–	<0,01	0,07	<0,01	0,09
	ESCAT II	<0,01	–	0,05	0,44	0,27
	ESCAT III	0,07	0,05	–	0,04	0,74
	ESCAT IV	<0,01	0,44	0,04	–	0,47
	ESCAT V/X	0,09	0,27	0,74	0,47	–

Таблица 31 – Парные сравнения отличия в общей выживаемости пациентов в зависимости от уровня ESCAT и назначенной терапии, p-value (Log Rank, p-value)

Группа	Макс. уровень	ESCAT I	ESCAT II	ESCAT III	ESCAT IV	ESCAT V/X
He-МНТ	ESCAT I	–	0,88	0,71	0,79	0,36
	ESCAT II	0,88	–	0,84	0,95	0,66
	ESCAT III	0,71	0,84	–	0,93	0,51
	ESCAT IV	0,79	0,95	0,93	–	0,39
	ESCAT V/X	0,36	0,66	0,51	0,39	–
МНТ	ESCAT I	–	0,09	0,05	<0,01	0,63
	ESCAT II	0,09	–	0,51	0,81	0,65
	ESCAT III	0,05	0,51	–	0,42	0,53
	ESCAT IV	<0,01	0,81	0,42	–	0,61
	ESCAT V/X	0,62	0,65	0,53	0,61	–

Графическое отражение ВВП2 и ОВ в общей популяции пациентов, а также в зависимости от назначения МНТ продемонстрировано на рисунке 24.

В показателях ОВ группа не-МНТ статистически значимо не отличалась вне зависимости от уровня ESCAT. В группе МНТ назначение препарата по ESCAT I значимо отличалось от назначения по поводу ESCAT II, III, IV. Различий между ESCAT II, III, IV, V/X выявлено не было.

Таким образом, наибольшая польза от назначения МНТ была продемонстрирована в рамках таргетирования альтераций уровня ESCAT I. Значимые различия при таргетировании ESCAT II-V/X в анализе продемонстрированы не были. Учитывая эти данные, при принятии решений о таргетировании альтераций необходимо учитывать, что ESCAT – это искусственно созданная классификация, и опираться лишь на нее – не оптимально в плане принятия клинических решений.

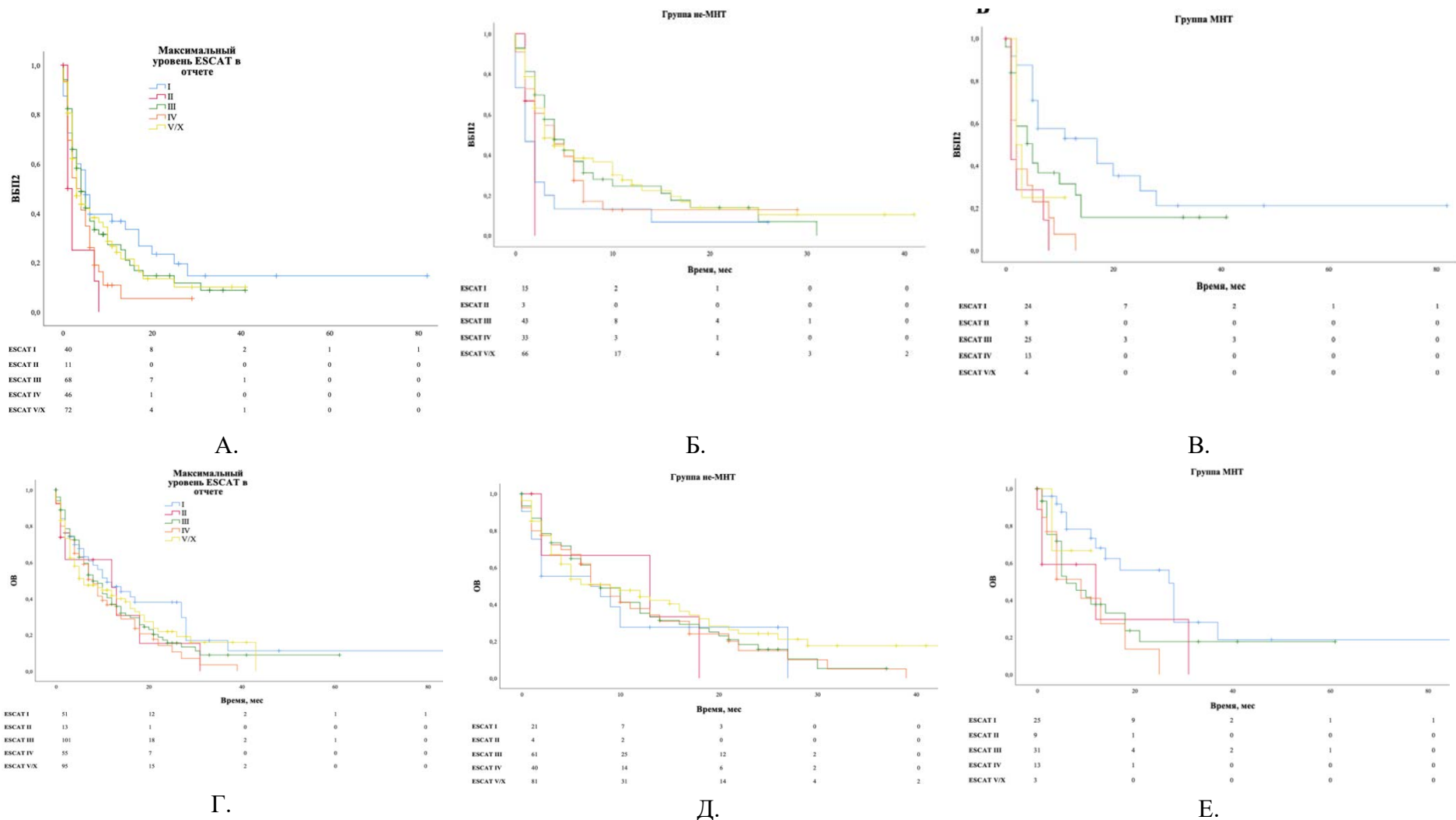


Рисунок 24 – Влияние на выживаемость без прогрессирования-2 (А-В), и общую выживаемость (Г-Е) уровня ESCAT в общей группе (А, Г) и в зависимости от назначения молекулярно-направленной терапии (Б, В, Д, Е)

3.7 Оценка эффективности молекулярно-направленной терапии

3.7.1 Общая популяция пациентов

Данные о назначенной терапии (МНТ или не-МНТ) были доступны для 374 пациентов (83,5%). После проведения КМП 287 пациента (76,8%) не получили МНТ, МНТ была назначена на последующих этапах после КМП 82 пациентам (23,2%). Сравнение клинических характеристик пациентов группы МНТ и не-МНТ представлены в таблице 32.

Таблица 32 – Характеристика пациентов группы молекулярно-направленной и стандартной терапии

Характеристика	Группа не-МНТ N=287	Группа МНТ N=87	p-value
Возраст, лет медиана (среднее, мин. – макс.)	59 (57, 17-89)	53 (53, 20-87)	0,02
Пол Женский Мужской	159 (55,4%) 128 (44,6%)	54 (62,1%) 33 (37,9%)	0,27
Число линий до КМП Медиана (среднее, мин. – макс.) 0-1 линии 2 линии ≥3 линии Нет данных	1 (2, 0-8) 149 (51,9%) 48 (16,7%) 54 (18,8%) 36 (12,5%)	2 (3, 0-12) 26 (29,9%) 20 (22,9%) 28 (32,1%) 13 (14,9%)	<0,01
ВБП-до КМП Медиана (мин. – макс.)	3 (5, 0-29)	3 (5, 1-24)	0,64
Панель КМП FMI Solo	206 (71,8%) 81 (28,2%)	55 (63,2%) 32 (36,8%)	0,13
Материал для КМП Ткань опухоли Плазма крови	214 (74,6%) 73 (25,4%)	77 (88,5%) 10 (11,5%)	0,01
Среднее время от забора материала до проведения тестирования, мес.	9 (0-70)	7 (0-41)	0,72
Среднее время анализа, дней	12 (0-44)	13 (0-47)	0,59
Место забора материала Первичная опухоль Метастатический очаг Нет данных	из 214 пациентов 103 (48,1%) 75 (35,0%) 36 (16,9%)	из 77 пациентов 41 (53,2%) 34 (44,2%) 2 (2,6%)	0,05

Нозологии			
Опухоли желудочно-кишечного тракта	146 (50,9%)	37 (42,5%)	
КРР	91 (31,7%)	16 (18,4%)	
РЖ	17 (5,9%)	6 (6,9%)	
Рак поджелудочной железы	21 (7,3%)	7 (8,0%)	0,17
ХК	10 (3,5%)	8 (9,2%)	
Рак тонкой кишки	3 (1,0%)	–	
Рак пищевода	3 (1,0%)	–	
Гепатоцеллюлярный рак	1 (0,3%)	–	
Опухоли легкого/плевры	87 (30,3%)	20 (23,0%)	
НМРЛ	86 (30,0%)	20 (23,0%)	0,21
МРЛ	1 (0,3%)	–	
Опухоли женской репродуктивной системы	10 (3,5%)	10 (11,5%)	
Рак яичников	7 (2,4%)	8 (9,2%)	0,01
Рак тела матки	2 (0,7%)	–	
Рак шейки матки	–	2 (2,3%)	
Рак вульвы	1 (0,3%)	–	
Саркомы	5 (1,7%)	3 (3,4%)	
Саркома мягких тканей	3 (1,0%)	1 (1,1%)	
Саркома матки	1 (0,3%)	–	0,34
Саркома Юинга	–	2 (2,3%)	
Саркома Капоши	1 (0,3%)	–	
Другое	32 (11,1%)	15 (17,2%)	
РМЖ			
Опухоли ЦНС	17 (5,9%)	7 (8,0%)	
Опухоли из НПО	7 (2,4%)	3 (3,4%)	0,13
Меланома	4 (1,4)	1 (1,1%)	
Опухоли головы и шеи	2 (0,7%)	3 (3,4%)	
Рак слюнной железы	1 (0,3%)	1 (1,1%)	
Рак почки	1 (0,3%)	–	
Распространенность заболевания			
Очаги в 1-м органе	43 (15%)	11 (13%)	0,12
Очаги в ≥ 2 -х органах	172 (60%)	55 (63%)	
Нет данных	72 (25%)	21 (24%)	
ECOG PS			
0-1	111 (38,7%)	57 (65,5%)	0,06
≥ 2	46 (16,0%)	11 (12,6%)	
Нет данных	130 (45,3%)	19 (21,8%)	

Пациенты в группе назначения МНТ были моложе (медиана возраста 53 года по сравнению с 59, $p=0,02$), и получили до проведения МНТ больше линий лекарственного

лечения (медиана 2 по сравнению с 1, $p < 0,01$). Чаще пациентам этой группы профилирование проводилось на опухолевой ткани, нежели чем анализ по плазме крови ($p = 0,01$). Кроме того, забор опухолевого материала из метастатического очага осуществлялся чаще, чем в группе не-МНТ ($p = 0,05$). Что касается распределения по нозологиям, статистически значимые различия были получены в большей вероятности попадания в группу МНТ пациентов с опухолями женской репродуктивной системы ($p = 0,01$). Пограничное различие выявлено в соматическом статусе пациентов: группа МНТ была представлена большим числом пациентов с статусом по шкале ECOG 0-1 ($p = 0,06$).

Таким образом, группы МНТ и не-МНТ отличались по ряду характеристик, наиболее значимой для сравнения клинических исходов из которых является предлеченность пациентов до назначения КМП.

Группы МНТ и не-МНТ статистически значимо различались по показателям ЧКБ, ЧОО: 61,3% против 37,1% ($p = 0,001$) и 24,0% против 9,2% ($p = 0,003$) соответственно. Кроме того, отмечено различие в частоте достижения ВБП2/1 $\geq 1,3$ и длительного ответа на терапию при добавлении МНТ (45,0% против 16,2%, $p < 0,01$ и 49,5% против 28,3%, $p = 0,02$, соответственно) (Таблица 33).

Таблица 33 – Сравнение эффективности лечения в зависимости от назначенной терапии

Сравниваемый критерий	Группа МНТ (N=87)	Группа не-МНТ (N=287)	p-value
ЧКБ	61,3% (46)	37,1% (53)	<0,01
ЧОО	24,0% (18)	9,2% (13)	<0,01
ВБП2/1 $\geq 1,3$	45,0% (27)	16,2% (18)	<0,01
Длительный ответ на терапию	49,2% (31)	28,3% (15)	0,02
мВБП, месяцев	5	3	0,11
2-годичная ВБП	15%	9%	
мОВ, месяцев	12	8	0,06
2-годичная ОВ	29%	19%	

Однако несмотря на влияние МНТ на данные показатели, и нумерическое влияние на ВБП2, статистически достоверных различий в ВБП2 достигнуто не было: медиана ВБП2 составила 5 месяцев в группе МНТ и 3 месяца в группе не-МНТ (ОР 0,78, 95% ДИ 0,58-1,07), 2-годичная ВБП2 – 15% и 9% соответственно. Пограничное влияние назначения МНТ было продемонстрировано на ОВ (медиана в группе МНТ 12 месяцев против 8 месяцев в группе не-МНТ, $p = 0,06$, ОР 0,74, 95% ДИ 0,54-1,02) (Рисунки 25, 26).

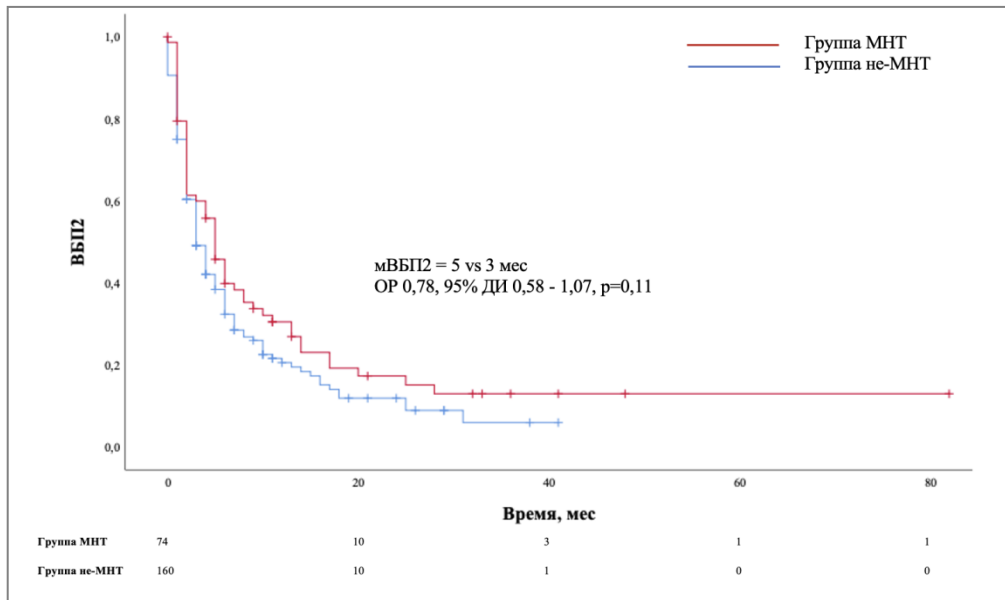


Рисунок 25 – Выживаемость без прогрессирования – 2 пациентов в зависимости от назначения молекулярно-направленной терапии после комплексного молекулярного профилирования

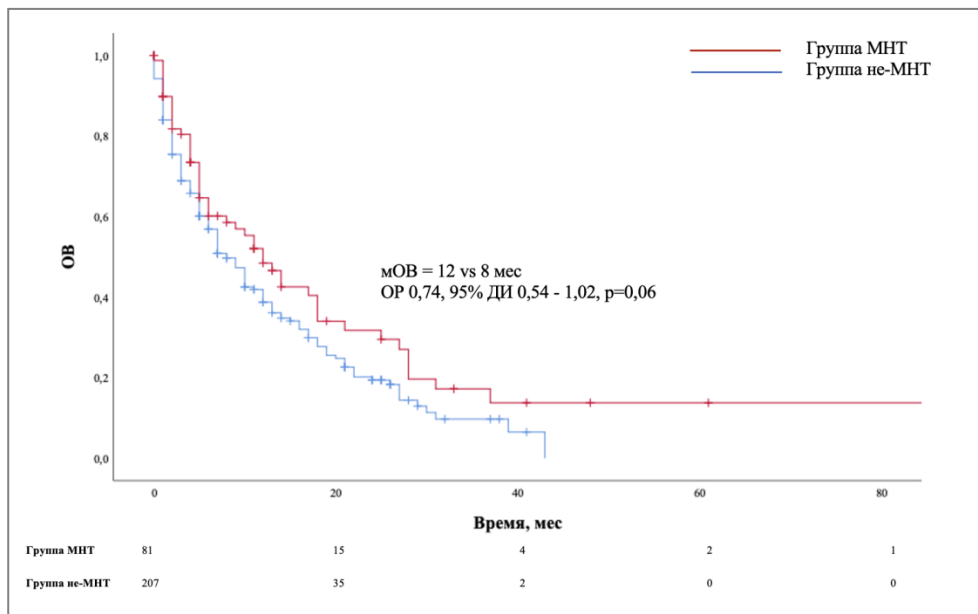


Рисунок 26 – Общая выживаемость пациентов в зависимости от назначения молекулярно-направленной терапии после комплексного молекулярного профилирования

Таким образом, назначение МНТ в общей популяции пациентов позволило достичь более высоких показателей ЧКБ, ЧОО, ВБП2/1 $\geq 1,3$, длительного ответа на терапию по сравнению с группой пациентов, которым после КМП не была назначена МНТ. Однако между группами не было выявлено различий в ВБП2 после проведения КМП, а различия в ОВ были пограничными. Это может быть ассоциировано с возможностью назначения МНТ в последующих линиях, которые не были включены в анализ в рамках данной работы.

3.7.2 Подгруппа пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта

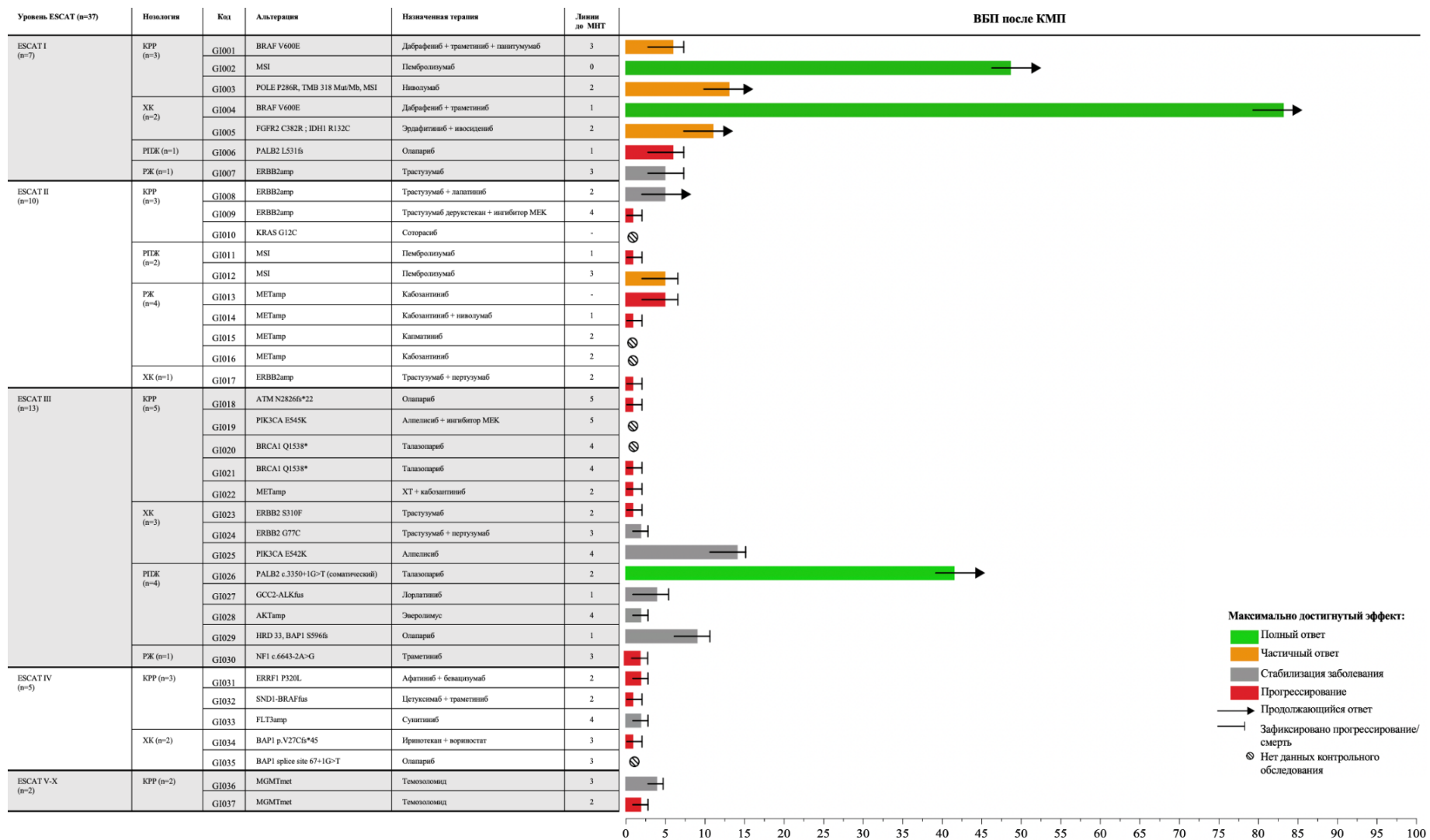
Подгруппа пациентов со злокачественными новообразованиями органов ЖКТ состояла из 242 пациентов и представляла 54% от всей когорты пациентов, включенных в анализ.

Средний возраст пациентов составил 56 лет, половина были мужчины. Медиана линий до проведения КМП составила 2, медиана ВБП до профилирования (ВБП1) – 4 месяца. В 50,8% случаев профилирование было проведено на панели Solo. Более подробные характеристики в зависимости от нозологии указаны в таблице 34.

Таблица 34 – Характеристики пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта

Характеристика	Все пациенты с опухолями ЖКТ (N=242)	КРР (N=146)	РЖ (N=35)	РПЖ (N=28)	ХК (N=21)	Другие (N=12)
Возраст, лет медиана (среднее, мин. – макс.)	56 (57, 17-89)	54 (54, 17-87)	64 (54, 26-81)	65 (62, 48-71)	56 (54, 34-73)	52 (51, 28-73)
Пол Женский Мужской	118 (48,8%) 124 (51,2%)	74 (50,7%) 72 (49,3%)	13 (37,1%) 22 (62,9%)	15 (53,6%) 13 (46,4%)	12 (57,1%) 9 (42,9%)	3 (27,3%) 8 (72,7%)
Число линий до КМП Медиана (мин. – макс.)	2 (0-7)	2 (0-7)	2 (1-2)	1 (0-4)	1 (0-4)	1 (1-2)
ВБП1 – до КМП Медиана (мин. – макс.)	4 (0- 26)	4 (1-26)	3 (1-18)	5 (1-23)	3 (0-8)	4 (2-5)
Панель профилирования Solo FMI	123 (50,8%) 119 (49,2%)	83 (56,8%) 63 (43,2%)	23 (65,7%) 12 (34,3%)	8 (47,1%) 9 (52,9%)	4 (19,0%) 17 (81,0%)	4 (36,4%) 7 (63,6%)
ECOG PS 0-1 ≥2 Нет данных	152 (62,8%) 42 (17,3%) 48 (19,9%)	91 (62,3%) 28 (19,2%) 27 (18,5%)	20 (57,1%) 7 (20,0%) 8 (22,9%)	20 (71,4%) 1 (3,6%) 7 (25,0%)	16 (76,2%) 3 (14,3%) 2 (9,5%)	2 (16,6%) 3 (25,0%) 7 (58,4%)

Выявленные альтерации, присвоение им уровня ESCAT, и назначенные таргетные/иммунные препараты, а также эффективность МНТ, отражены на рисунке 27.



КРР – колоректальный рак; ХК – холангиокарцинома; РПЖ – рак поджелудочной железы; РЖ – рак желудка.

Рисунок 27 – Результаты молекулярно-направленной терапии в группе пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта

В большинстве случаев (14 пациентов, 38%) МНТ была назначена пациентам с КРР, РПЖ был представлен в 24% (9 пациентов) случаев, ХК – в 21% случаев (8 пациентов), РЖ – в 17 % случаев (6 пациентов) назначения МНТ.

Очевидно, наибольшая польза от назначения МНТ наблюдалась у пациентов с альтерациями ESCAT I уровня. Так, длительный ответ на лечение выявлен при назначении ингибиторов контрольных точек (ИКТ) при MSI, ТМВ-Н фенотипе КРР (пациенты GI002, GI003 – также выявлена мутация *POLE* P286R), а также назначении комбинации BRAF и MEK ингибиторов при мутации *BRAF* V600E ХК (GI004). Однако эти биомаркеры могут быть определены стандартными методами (ПЦР, ИГХ) и не требуют проведения КМП (помимо ТМВ). Что касается альтераций, которые могли быть зафиксированы только методом NGS, и по поводу которых пациенты получили МНТ с достижением длительного ответа, необходимо отметить выявленные в образце пациента с ХК (GI005) варианты *FGFR2* C382R и *IDH1* R132C (нестандартная комбинация эрдафитиниб + ивосидениб, а также выявленный соматический вариант *PALB2* у пациентки с метастатическим РПЖ, в случае которой назначение талазопарифа позволило добиться полного клинического эффекта.

В группе ЖКТ назначение МНТ отразилось в статистически достоверном увеличении показателей ЧКБ, ЧОО и отношения ВБП2/1 $\geq 1,3$, однако различий в частоте достижения длительных ответов на терапию и ВБП выявлено не было (Таблица 35).

Таблица 35 – Сравнение эффективности лечения в зависимости от назначенной терапии при опухолях желудочно-кишечного тракта

Сравниваемый критерий	Группа МНТ	Группа не-МНТ	p-value
ЧКБ	50,0%	32,9%	0,10
ЧОО	23,3%	6,9%	0,02
ВБП2/1 $\geq 1,3$	40,0%	10,3%	<0,01
Длительный ответ на терапию	33,3%	11,5%	0,06
мВБП, месяцев	2	2	0,15
2-годовалая ВБП	18%	2%	
мОВ, месяцев	5	4	0,06
2-годовалая ОВ	26%	10%	

В показателях ВБП статистически значимых различий выявлено не было. Медиана ВБП2 составила по 2 месяца в группах МНТ и не-МНТ, двухгодовалая ВБП2 – 18% и 2% соответственно (ОР 0,73, 95% ДИ 0,45-1,18, $p=0,15$). Медиана ОВ составила 5 и 4 месяца, а двухгодовалая ОВ – 26% и 10% в группах МНТ и не-МНТ соответственно, различие статистически незначимо (ОР 0,63, 95% ДИ 0,38-1,04, $p=0,06$) (Рисунки 28, 29).

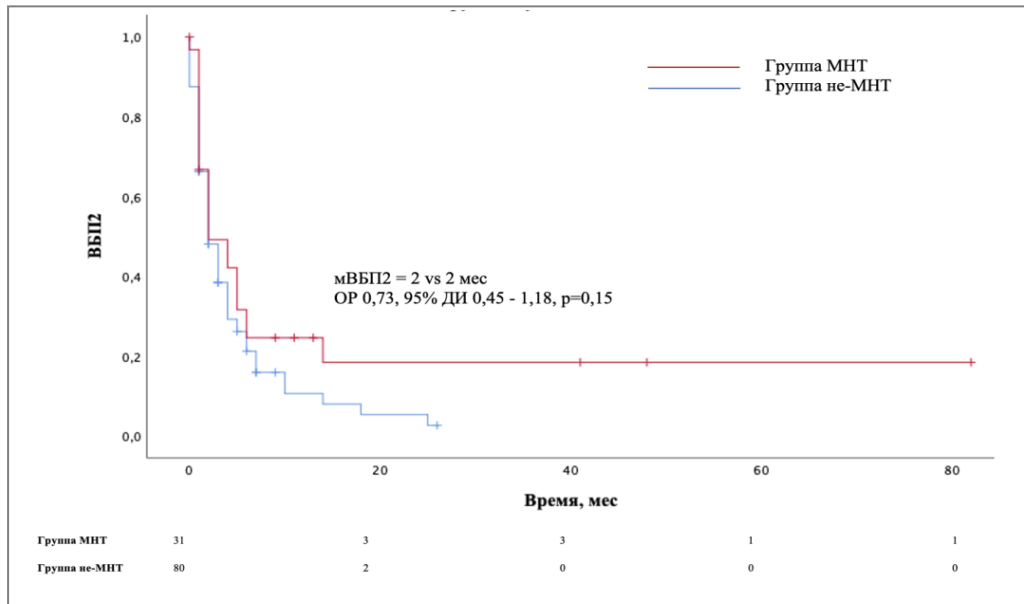


Рисунок 28 – Выживаемость без прогрессирования – 2 пациентов подгруппы опухолей желудочно-кишечного тракта в зависимости от назначения молекулярно-направленной терапии

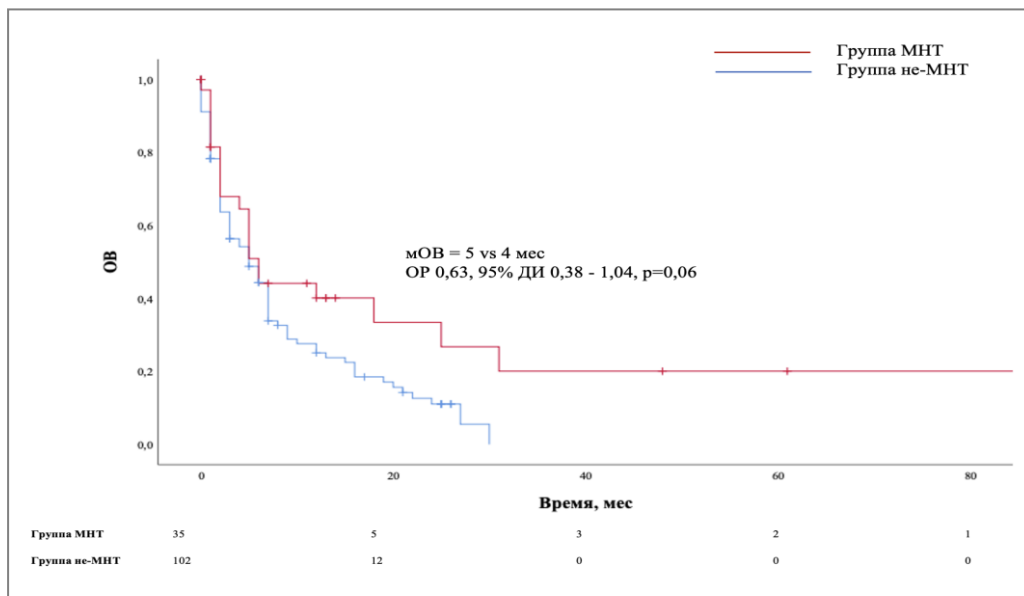


Рисунок 29 – Общая выживаемость пациентов подгруппы опухолей желудочно-кишечного тракта в зависимости от назначения молекулярно-направленной терапии

Был проведен анализ факторов, влияющих на ВБП2 и ОВ после проведения КМП. К анализируемым параметрам относились: возраст, пол, число линий до проведения КМП, ВБП на предыдущей линии терапии, функциональный статус ECOG, панель профилирования, проведение МТВ, назначенная терапия (назначенная терапия (МНТ и не-МНТ и в случае МНТ-комбинация с ХТ или монотерапия), наличие мутаций генов RAS, распределение выявленных альтераций по шкале ESCAT (Таблица 36).

Таблица 36 – Однофакторный и многофакторный анализ параметров, влияющих на выживаемость без прогрессирования-2 и общую выживаемость в подгруппе пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта

Параметр	ВПП2						ОВ					
	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ			Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
	ОР	95% ДИ	p-value	ОР	95% ДИ	p-value	ОР	95% ДИ	p-value	ОР	95% ДИ	p-value
Пол												
Женский	0,75	0,49-1,15	0,19	–	–	–	0,93	0,65-1,32	0,69	–	–	–
Мужской	1,32	0,86-2,01					1,08	0,75-1,53				
Возраст												
≤55 лет	0,99	0,65-1,51	0,98	–	–	–	0,96	0,67-1,37	0,83	–	–	–
>55 лет	1,00	0,66-1,52					1,04	0,73-1,48				
Число линий до КМП												
<3	0,80	0,51-1,26	0,34	–	–	–	0,63	0,41-0,96	0,03	–	–	0,29
≥3	1,25	0,79-1,96					1,58	1,04-2,41				
ВПП1-до КМП												
>3 месяцев	0,66	0,42-1,03	0,06	–	–	0,10	0,68	0,45-1,04	0,08	–	–	0,39
≤3 месяцев	1,52	0,97-2,38					1,46	0,96-2,23				
ECOG PS												
0-1	0,52	0,33-0,84	0,01	0,43	0,57-0,71	<0,01	1,60	1,11-2,29	0,01	0,48	0,28-0,81	0,01
≥2	1,91	1,19-3,06		2,33	1,39-3,89		0,63	0,44-0,90		2,08	1,23-3,51	
Панель												
FMI	0,94	0,63-1,43	0,29	–	–	–	0,83	0,58-1,18	0,29	–	–	–
Solo	1,05	0,69-1,59					1,21	0,85-1,72				
Наличие МТВ												
МТВ	0,76	0,42-1,38	0,37	–	–	–	0,56	0,31-1,03	0,06	–	–	0,18
Вне МТВ	1,31	0,72-2,38					1,78	0,97-3,27				
Уровень альтераций												
ESCAT I-II	0,65	0,42-0,99	0,05	0,59	0,36-0,95	0,03	0,63	0,44-0,90	0,01	0,62	0,39-0,99	0,05
ESCAT >III	1,54	1,00-2,37		1,69	1,05- 2,71		1,59	1,11-2,29		1,61	1,01-2,55	

Продолжение таблицы 36

Статус RAS												
WT	1,04	0,68-1,57	0,68	–	–	–	1,07	0,76-1,53	0,68	–	–	–
Mut	0,96	0,63-1,46					0,93	0,65-1,32				
Назначенная терапия												
МНТ	0,73	0,45-1,19	0,19	–	–	–	0,63	0,38-1,04	0,07	–	–	0,27
не-МНТ	1,37	0,84- 2,21					1,57	0,96-2,59				
Назначение МНТ												
Монотерапия	0,26	0,05-1,29	0,10	–	–	–	0,35	0,04-2,99	0,34	–	–	–
Комбинация с ХТ	3,74	0,77-4,32					2,86	0,33- 4,34				

При анализе параметров, влияющих на ВБП2 в однофакторном анализе статистически значимое позитивное влияние на показатель выживаемости имели:

- ВБП1 до КМП >3 месяцев;
- статус по шкале ECOG 0-1;
- уровень выявляемых альтераций при КМП I-II по шкале ESCAT.

При проведении многофакторного анализа параметрами, значимо позитивно влияющими на ВБП2 оказались (рисунок 31):

- статус по шкале ECOG 0-1 (ОР 0,43, 95% ДИ 0,57-0,71, $p < 0,01$);
- Уровень выявляемых альтераций при КМП I-II по шкале ESCAT (ОР 0,59, 95% ДИ 0,36-0,95, $p = 0,03$).

При анализе факторов, оказывающих влияние на ОВ, в однофакторном анализе оказывающими позитивное влияние параметрами были:

- <3 линий до КМП;
- ВБП1 до КМП > 3 месяцев;
- статус по шкале ECOG 0-1;
- проведение МТВ;
- уровень выявляемых альтераций при КМП I-II по шкале ESCAT;
- назначение МНТ.

Однако при проведении многофакторного анализа факторами, оказывающими позитивное влияние на ОВ, были:

- статус по шкале ECOG 0-1 (ОР 0,48, 95% ДИ 0,28-0,81 $p = 0,01$);
- уровень выявляемых альтераций при КМП I-II по шкале ESCAT (ОР 0,62, 95% ДИ 0,39-0,99, $p = 0,05$).

Таким образом, в подгруппе опухолей ЖКТ применение КМП способствовало назначению МНТ в 20,2% случаев (37 пациентов). Применение МНТ позволило статистически значимо увеличить показатели ЧОО, ВБП2/1 $\geq 1,3$, достижения длительного ответа на терапию. Однако терапия с учетом молекулярных характеристик опухоли не способствовала увеличению ВБП2 на линии после проведения КМП, влияние на ОВ было пограничным ($p = 0,06$). При анализе факторов, влияющих на выживаемость, лишь более высокий уровень альтераций по шкале ESCAT и соматический статус ECOG PS 0-1 сохранили свою значимость относительно благоприятного влияния на ВБП2 и ОВ. Назначение МНТ не имело влияние на ВБП2 ни в однофакторном, ни в многофакторном анализе. Однако имело влияние на ОВ в однофакторном анализе, но утратило ее при проведении многофакторного анализа. Также на показатели выживаемости не оказывал влияние выбор панели для профилирования.

3.7.3 Подгруппа пациентов с немелкоклеточным раком легкого

Подгруппа пациентов с НМРЛ состояла из 109 пациентов и представляла 24,3% от всей когорты пациентов, включенных в анализ, и являлась второй по численности после пациентов с опухолями ЖКТ. В большинстве случаев гистологический подтип был представлен аденокарциномой легкого (102 случая – 93,5%), 5 пациентов имели плоскоклеточный рак легкого (4,5%), 2 – аденосквамозный рак (1,9%). Также в большинстве случаев (90 пациентов, 82,6%) КМП было проведено пациентам до начала 1-й линии терапии или в ее процессе.

Средний возраст пациентов составил 63 года, в 53,2% случаев пациенты представлены женским полом. Медиана линий до проведения КМП составила 2, медиана ВБП до профилирования (ВБП1) – 2 месяца. В 75,2% случаев профилирование было проведено на панели FMI. Более подробные характеристики в зависимости от нозологии указаны в таблице 37.

Таблица 37 – Характеристики пациентов с немелкоклеточным раком легкого

Характеристика	Пациенты с НМРЛ (N=109)
Возраст, лет медиана (среднее, мин. – макс.)	63 (63, 25-89)
Пол Женский Мужской	58 (53,2%) 51 (46,8%)
Число линий до КМП Медиана (мин. – макс.)	2 (0-4)
ВБП1 – до КМП Медиана (мин. – макс.)	2 (0-17)
Панель профилирования Solo FMI	27 (24,8%) 82 (75,2%)
ECOG PS 0-1 ≥2 Нет данных	11 (10,1%) 13 (11,9%) 85 (78,0%)

Выявленные альтерации и назначенные таргетные/иммунные препараты, а также эффективность МНТ, отражены на рисунке 30.

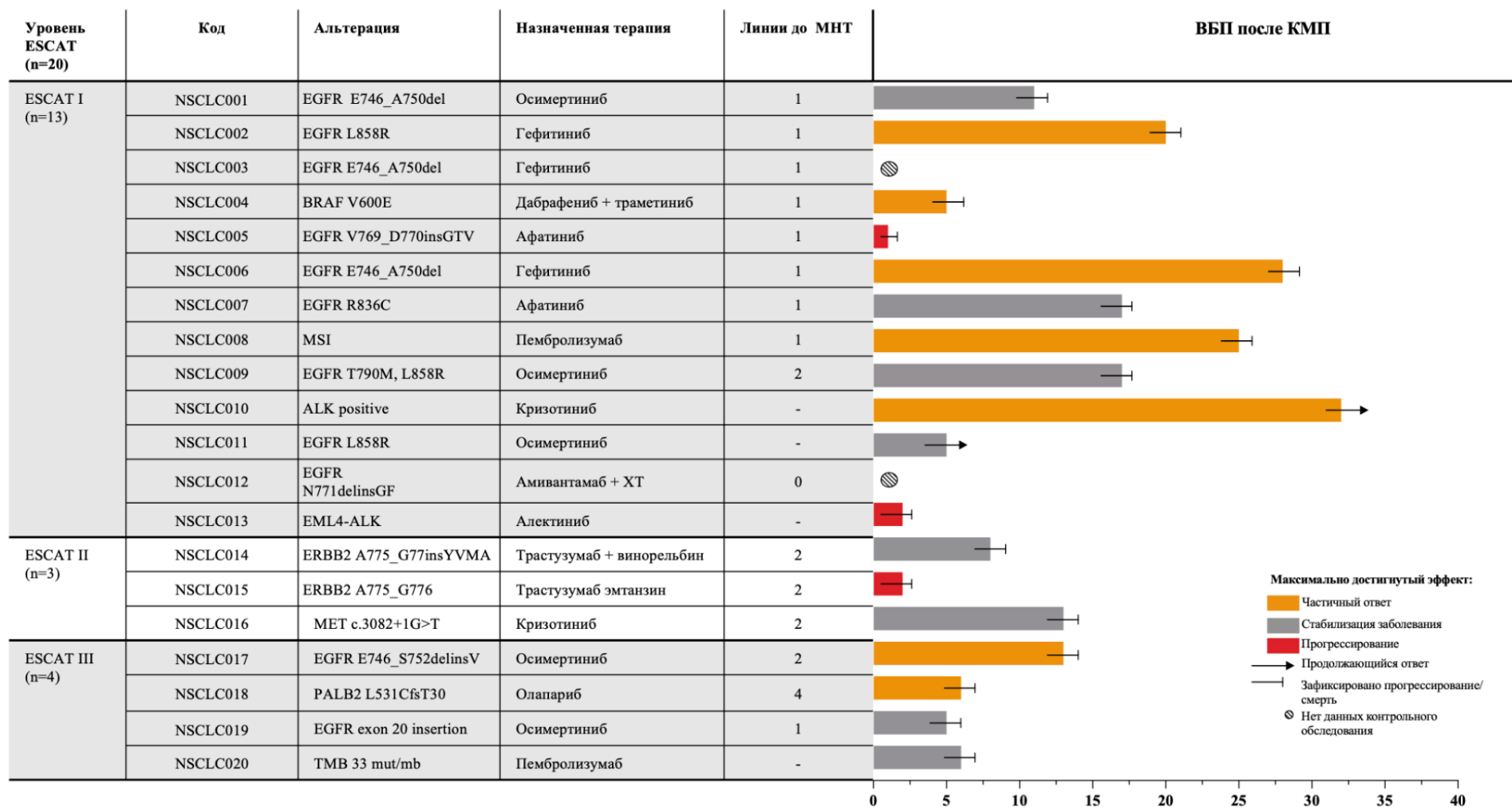


Рисунок 30 – Результаты молекулярно-направленной терапии в подгруппе немелкоклеточного рака легкого

В большинстве случаев у пациентов в группе назначения МНТ определялись альтерации, которые могли бы быть обнаружены и ранее стандартными методами диагностики. В группе ESCAT II пациент с вариантом MET c.3082+1G>T (NSCLC016) достиг длительного ответа на фоне таргетной терапии препаратом кризотиниб (ВБП 13 месяцев на фоне низкой эффективности ранее проводимых 2-х линий химиотерапии), а также пациент с инсерцией в 20-м экзоне *ERBB2* A775_G77insYVMA (NSCLC014) – стабилизация заболевания на фоне трастузумаба + винорельбина на протяжении 8 месяцев после 2-х линий паллиативной химиотерапии. В группе ESCAT III частичный ответ был зарегистрирован на назначение осимертиниба при неклассическом для его назначения альтерации *EGFR* E746_S752delinsV, а также на назначение олапариба при мутации *PALB2* L531CfsT30. Прогрессирование на фоне алектиниба у пациента NSCLC013 и наличием транслокации *EML4-ALK* может быть объяснено аденосквамозным подтипом опухоли и наличием ко-мутации *TP53* K139fs*10.

В группе НМРЛ назначение МНТ отразилось лишь в статистически значимом увеличении ЧКБ, однако в ЧОО, ВБП2/1 $\geq 1,3$, частоте достижения длительного ответа на лечение значимых различий не зафиксировано (Таблица 38). Относительно отдаленных результатов лечения, мВБП и двухгодичная ВБП составила 9 и 9 месяцев и 12% и 21% в группах МНТ и не-МНТ соответственно (ОР 1,04, 95% ДИ 0,57-1,88, $p=0,89$). Также статистически значимых отличий не установлено в ОВ: мОВ составила 18 и 21 месяцев, двухгодичная ОВ – 44% и 33% в группах МНТ и не-МНТ соответственно (ОР 0,99, 95% ДИ 0,52-1,89, $p=0,77$) (Рисунки 31, 32).

Таблица 38 – Сравнение эффективности лечения в зависимости от назначенной терапии при немелкоклеточном раке легкого

Сравниваемый критерий	Группа МНТ	Группа не-МНТ	p-value
ЧКБ	83%	56%	0,01
ЧОО	66%	16%	0,14
ВБП2/1 $\geq 1,3$	17%	22%	0,29
Длительный ответ на терапию	69%	50%	0,17
мВБП, месяцев	9	9	0,89
2-годичная ВБП	12%	21%	
мОВ, месяцев	18	21	0,77
2-годичная ОВ	44%	33%	

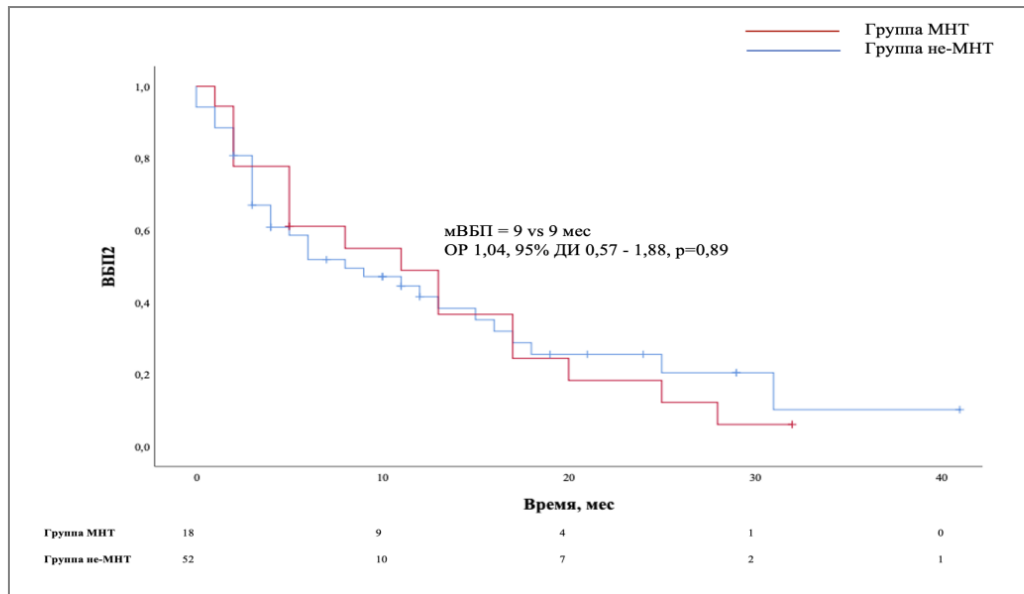


Рисунок 31 – Выживаемость без прогрессирования-2 пациентов подгруппы немелкоклеточного рака легкого в зависимости от назначения молекулярно-направленной терапии

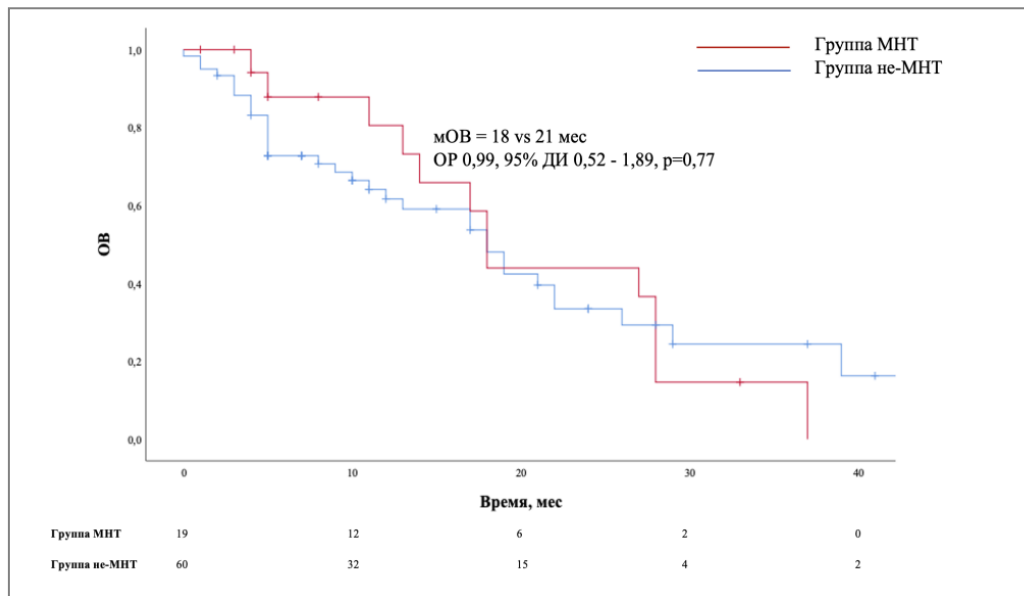


Рисунок 32 – Общая выживаемость пациентов подгруппы немелкоклеточного рака легкого в зависимости от назначения молекулярно-направленной терапии

Был проведен анализ факторов, влияющих на ВБП2 и ОВ после проведения КМП в группе НМРЛ. К анализируемым параметрам относились: возраст, пол, число линий до проведения КМП, ВБП на предыдущей линии терапии, функциональный статус ECOG, панель профилирования, проведение МТВ, назначенная терапия (МНТ и не-МНТ и в случае МНТ-комбинация с ХТ или монотерапия), статус EGFR, распределение выявленных альтераций по шкале ESCAT (Таблица 39).

Таблица 39 – Однофакторный и многофакторный анализ параметров, влияющих на выживаемость без прогрессирования-2 и общую выживаемость в подгруппе пациентов с немелкоклеточным раком легкого

Параметр	ВБП2						ОВ					
	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ			Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
	ОР	95% ДИ	p-value	ОР	95% ДИ	p-value	ОР	95% ДИ	p-value	ОР	95% ДИ	p-value
Пол												
Женский	0,75	0,49-1,15	0,19	–	–	–	0,93	0,65-1,32	0,69	–	–	–
Мужской	1,32	0,86 -2,01					1,08	0,75-1,53				
Возраст												
≤55 лет	0,99	0,65-1,51	0,98	–	–	–	0,96	0,67-1,37	0,83	–	–	–
>55 лет	1,00	0,66-1,52					1,04	0,73-1,48				
Число линий до КМП												
<3	0,80	0,51-1,26	0,34	–	–	–	0,63	0,41-0,96	0,03	–	–	0,29
≥3	1,25	0,79-1,96					1,58	1,04-2,41				
ВБП1-до КМП												
>3 месяцев	0,66	0,42-1,03	0,06	–	–	0,10	0,68	0,45-1,04	0,08	–	–	0,39
≤3 месяцев	1,52	0,97-2,38					1,46	0,96-2,23				
ECOG PS												
0-1	0,52	0,33-0,84	0,01	0,43	0,57-0,71	<0,01	1,60	1,11-2,29	0,01	0,48	0,28-0,81	0,01
≥2	1,91	1,19-3,06		2,33	1,39-3,89		0,63	0,44-0,90		2,08	1,23-3,51	
Панель												
FMI	0,94	0,63-1,43	0,29	–	–	–	0,83	0,58-1,18	0,29	–	–	–
Solo	1,05	0,69-1,59					1,21	0,85-1,72				
Наличие МТВ												
МТВ	0,76	0,42-1,38	0,37	–	–	–	0,56	0,31-1,03	0,06	–	–	0,18
Вне МТВ	1,31	0,72-2,38					1,78	0,97-3,27				
Уровень альтераций												
ESCAT I-II	0,65	0,42-0,99	0,05	0,59	0,36-0,95	0,03	0,63	0,44-0,90	0,01	0,62	0,39-0,99	0,05
ESCAT >III	1,54	1,00-2,37		1,69	1,05- 2,71		1,59	1,11-2,29		1,61	1,01-2,55	

Продолжение таблицы 39

Статус RAS												
WT	1,04	0,68-1,57	0,68	–	–	–	1,07	0,76-1,53	0,68	–	–	–
Mut	0,96	0,63-1,46					0,93	0,65-1,32				
Назначенная терапия												
МНТ	0,73	0,45-1,19	0,19	–	–	–	0,63	0,38-1,04	0,07	–	–	0,27
не-МНТ	1,37	0,84- 2,21					1,57	0,96-2,59				
Назначение МНТ												
Монотерапия	0,26	0,05-1,29	0,10	–	–	–	0,35	0,04-2,99	0,34	–	–	–
Комбинация с ХТ	3,74	0,77-4,32					2,86	0,33- 4,34				

Ни один из вышеперечисленных факторов не продемонстрировал свое статистически значимое влияние на ВБП2 и ОВ в однофакторном анализе, в связи с чем многофакторный анализ не проводился. Отсутствие влияния на ВБП2 и ОВ может быть объяснено наличием плоскоклеточного и адносквамозного подтипов опухоли, направлением на КМП пациентов, у которых в ходе конвенционального исследования не было выявлено таргетируемых альтераций (дополнительный анализ не проводился) Таким образом, среди параметров, которые были включены в анализ, не было обнаружено фактора, от которого зависела выживаемость пациентов с НМРЛ.

3.7.4 Подгруппа пациентов с другими опухолями

Подгруппа пациентов с другими опухолями состояла из 97 пациентов и представляла 21,7% от всей когорты пациентов, включенных в анализ.

Средний возраст пациентов составил 52 года, в большинстве случаев (83,5%) пациенты представлены женским полом. Медиана линий до проведения КМП составила 2, медиана ВБП до профилирования (ВБП1) – 3 месяца. В 70,1% случаев профилирование было проведено на панели Solo. Среднее время от забора материала до профилирования – 8 месяцев. Более подробные характеристики в зависимости от нозологии указаны в таблице 40.

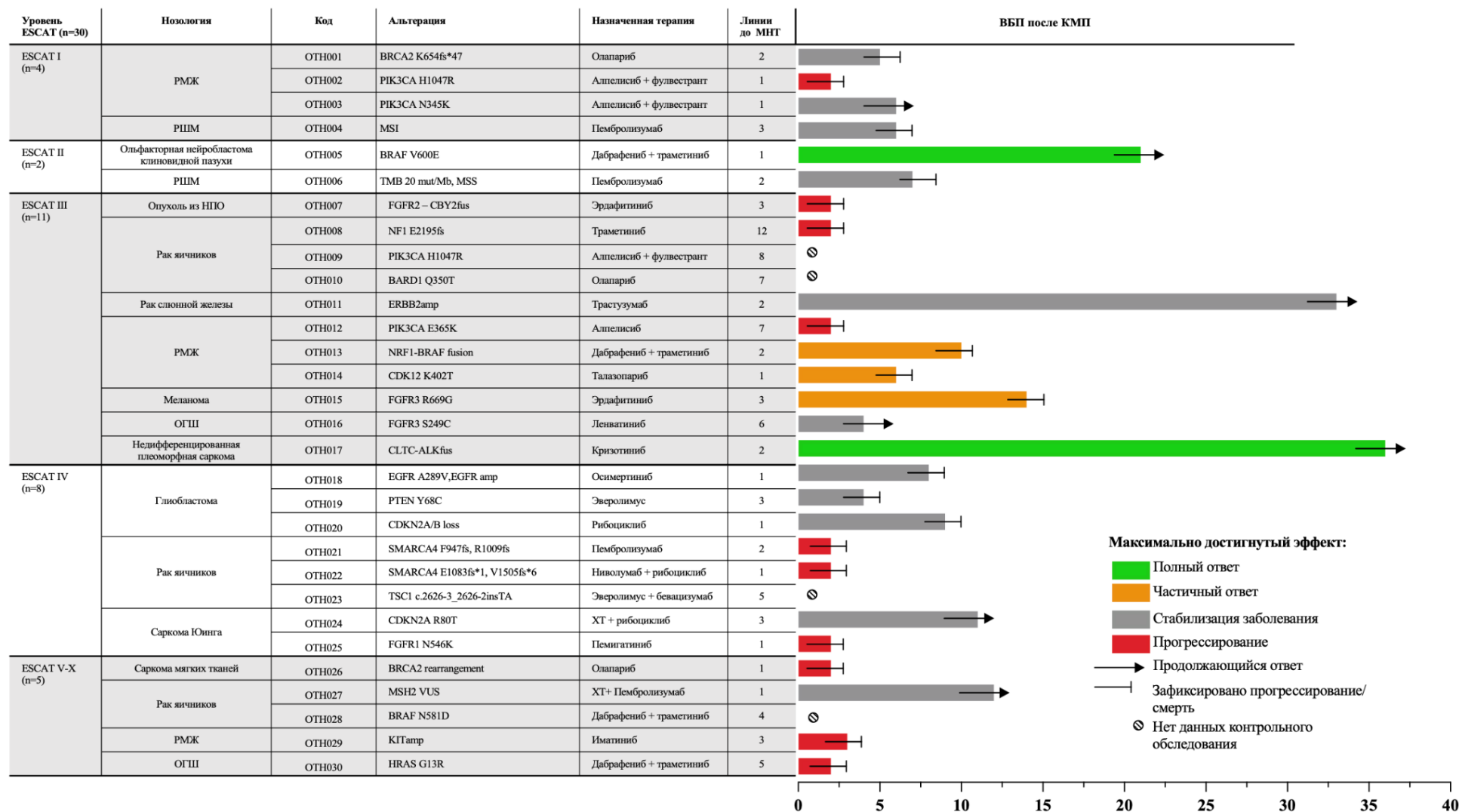
Таблица 40 – Характеристики пациентов с другими опухолями

Характеристика	Все пациенты группы (N=97)	Рак молочной железы (N=30)	Рак яичников (N=17)	Другое (N=50)
Возраст, лет				
Медиана	52	52	56	50
(среднее, мин. – макс.)	(51, 20-75)	(53, 36-75)	(52, 25-72)	(50, 20-73)
Пол				
Женский	81 (83,5%)	30 (100,0%)	17 (100,0%)	32 (64,0%)
Мужской	16 (16,5%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	18 (36,0%)
Число линий до КМП				
Медиана (мин. – макс.)	2 (0-12)	3 (0-7)	2 (1-12)	2 (0-8)
ВБП1 – до КМП				
Медиана (мин. – макс.)	3 (1- 29)	3 (2-24)	4 (1-29)	2 (1-25)
Панель профилирования				
Solo	29 (29,9%)	11 (36,7%)	9 (52,9%)	12 (24,0%)
FMI	68 (70,1%)	19 (63,3%)	8 (47,1%)	38 (78,0%)

ECOG PS				
0-1	33 (34,0%)	12 (40,0%)	8 (52,9%)	16 (32%)
≥2	11 (11,3%)	3 (10,0%)	0 (0,0%)	8 (16%)
Нет данных	53 (54,7%)	15 (50,0%)	9 (47,1%)	26 (52%)

Для анализа была доступна клиническая информация о лечении после проведения КМП для 90 пациентов этой группы (93%). В 26,6% случаев (8 пациентов) МНТ была назначена пациентам с диагнозом РЯ, в 23,4% (7 пациентов) – с диагнозом РМЖ, 10% (3 пациента) – глиобластома, 10% (3 пациента) – опухоли головы и шеи, 6,7% (2 пациента) – саркома Юинга, 6,7% (2 пациента) – РШМ, 6,7% (2 пациента) – саркома мягких тканей, и по 3,3% (по 1 пациенту) – опухоль тиз НПО, рак слюнной железы, меланома. Выявленные альтерации и назначенные таргетные/иммунные препараты, а также эффективность МНТ, отражены на рисунке 33.

Наиболее заметными клиническими случаями данной группы стал полный эффект на BRAF + MEK ингибиторы при мутации *BRAF* V600E у пациента с ольфакторной нейробластомой клиновидной пазухи (ESCAT II, ОТН005), ВБП после профилирования составила 21 месяц на момент среза данных. Также полный эффект недифференцированной саркомы мягких тканей наблюдался у пациентки 21 года при назначении кризотиниба в связи с выявленной транслокацией *CLTC-ALK* (ESCAT III, ОТН017). Длительная стабилизация заболевания отмечена у пациентки с ERBB2-амплификацией (ESCAT III, ОТН011) при раке слюнной железы, назначение трастузумаба позволило добиться стабилизации заболевания на протяжении 33 месяцев на момент среза данных.



РМЖ – рак молочной железы; РШМ – рак шейки матки; ОГШ – опухоли головы и шеи.

Рисунок 33 – Результаты молекулярно-направленной терапии в группе пациентов с другими опухолями

Однако при анализе непосредственных и отдаленных показателей эффективности назначения МНТ статистически достоверной разницы не было выявлено при сравнении с пациентами, тактика ведения которых не опиралась на результат КМП. Подробные показатели указаны в таблице 41.

Таблица 41 – Сравнение эффективности лечения в зависимости от назначенной терапии

Сравниваемый критерий	Группа МНТ	Группа не-МНТ	p-value
ЧКБ	61,5%	40,7%	0,13
ЧОО	19,2%	7,4%	0,20
ВБП2/1 $\geq 1,3$	54,2%	37,5%	0,24
Длительный ответ на терапию	52,2%	45,5%	0,71
мВБП, месяцев	6	3	0,10
2-годичная ВБП	18%	4%	
мОВ, месяцев	6	10	0,20
2-годичная ОВ	22%	20%	

Медиана ВБП2 и двухгодичная ВБП2 составила 6 и 3 месяца и 18% и 5 % в группах МНТ и не-МНТ соответственно (ОР 1,58, 95% ДИ 0,87-2,86, $p=0,10$). Медиана ОВ и двухгодичная ОВ составила 6 против 10 месяцев и 22% против 20% в группах МНТ и не-МНТ соответственно (ОР 1,15, 95% ДИ 0,65-2,06, $p=0,20$) (Рисунки 34, 35). Учитывая отсутствие каких-либо отличий по показателям эффективности в группах, факторный анализ не проводился.

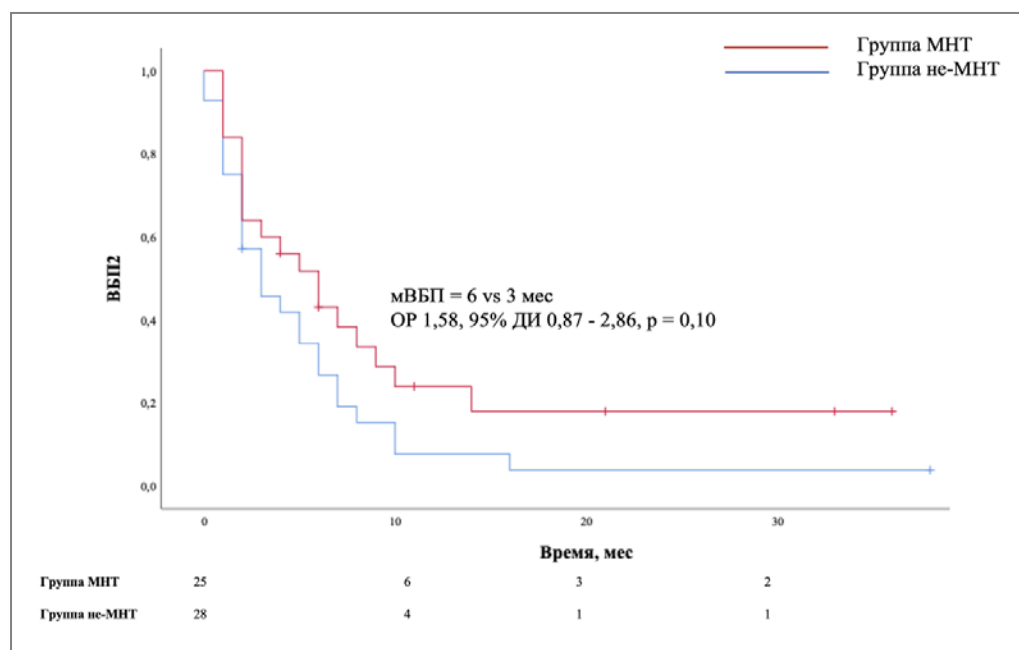


Рисунок 34 – Выживаемость без прогрессирования 2 пациентов подгруппы других

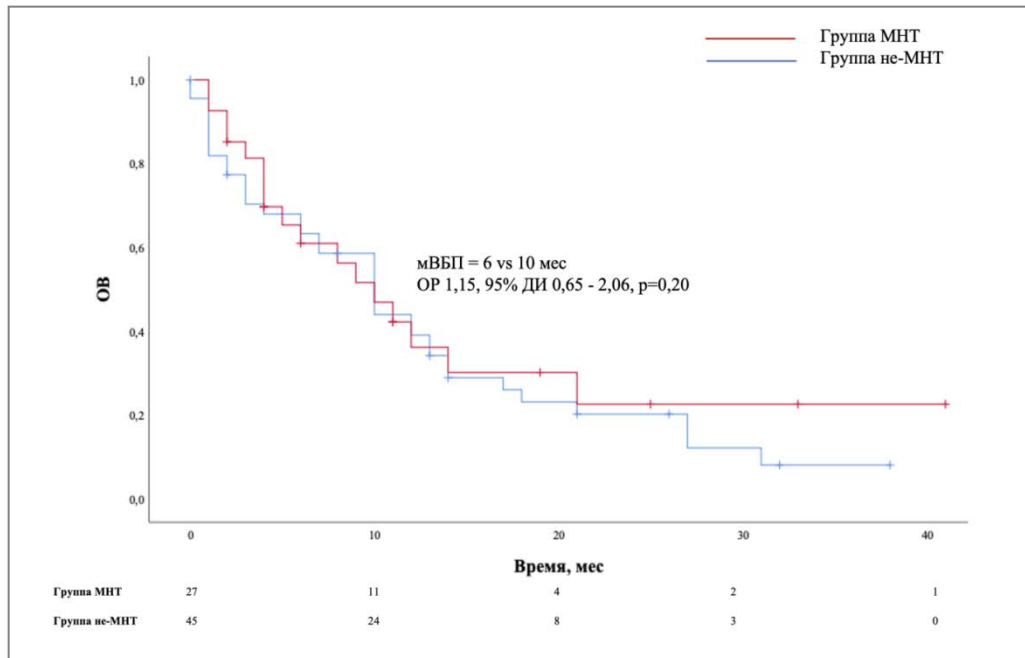


Рисунок 35 – Общая выживаемость пациентов подгруппы других опухолей в зависимости от назначения молекулярно-направленной терапии

3.8 Анализ исходов пациентов за пределами ESCAT I

Учитывая наблюдаемые выраженные эффекты при назначении МНТ при альтерациях уровня ESCAT I, был проведен поданализ эффективности МНТ и клинических исходов пациентов, назначение лечения которым проводилось при альтерациях за пределами ESCAT I. При исключении ESCAT I МНТ получил 61 пациент (16,3% от 374 пациентов с доступной клинической информацией). Проанализированы описываемые ранее критерии эффективности, отдельно проанализированы показатели клинических исходов в зависимости от нозологии. Результаты приведены в таблице 42.

При назначении МНТ пациентам с выявленными альтерациями уровня ESCAT II-V было продемонстрировано статистически значимое увеличение одного из показателей эффективности – ВВП2/1 $\geq 1,3$. В общей популяции пациентов, получавших МНТ, данный показатель составил 38,3%, что более чем в два раза превышает результат, достигнутый при стандартной терапии (16,5%, $p < 0,01$). Эффект МНТ был отмечен в подгруппе пациентов с опухолями ЖКТ. В этой группе показатель достижения ВВП2/1 $\geq 1,3$ составил 30,4% при назначении МНТ, в группе стандартной терапии – 9,1% ($p = 0,03$).

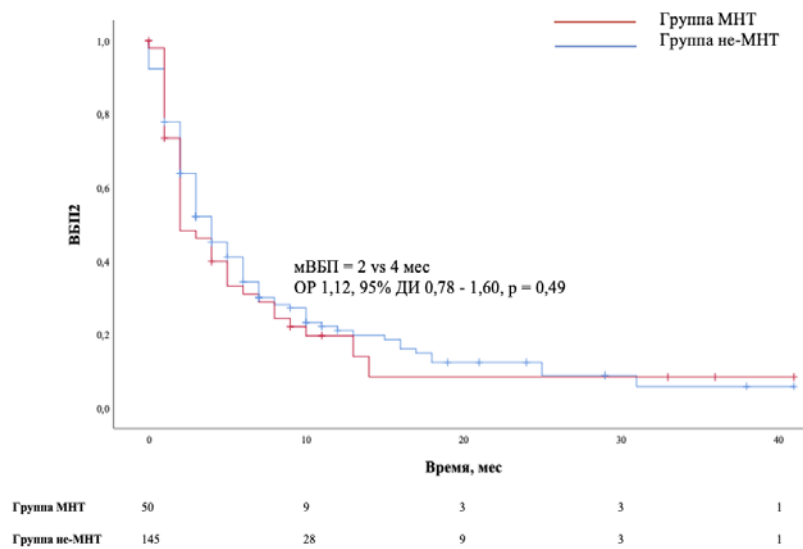
В подгруппах пациентов НМРЛ и другими типами опухолей статистически значимых различий в показателях эффективности между МНТ и стандартной терапией выявлено не было.

Таблица 42 – Сравнение эффективности лечения в зависимости от назначенной терапии за пределами ESCAT I

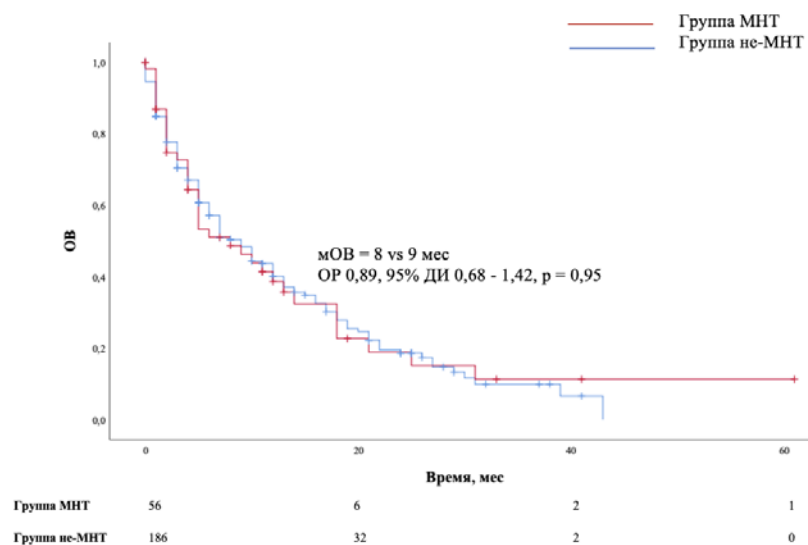
Сравниваемый критерий	Общая когорта пациентов			Подгруппа опухолей ЖКТ			Подгруппа НМРЛ			Подгруппа других опухолей		
	группа МНТ	группа не-МНТ	p-value	группа МНТ	группа не-МНТ	p-value	группа МНТ	группа не-МНТ	p-value	группа МНТ	группа не-МНТ	p-value
ЧКБ	52,0%	38,5%	0,10	40,9%	33,3%	0,52	71,4%	42,9%	0,16	57,1%	44,0%	0,37
ЧОО	14,0%	9,3%	0,36	6,5%	9,1%	0,68	14,3%	14,3%	1,00	19,0%	8,0%	0,27
ВБП2/1 $\geq 1,3$	38,3%	16,5%	<0,01	30,4%	9,1%	0,03	25,0%	11,1%	0,52	50,0%	40,9%	0,55
Длительный ответ на терапию	28,6%	36,4%	0,42	8,7%	15,0%	0,52	42,8%	80,0%	0,16	47,4%	50,0%	0,89
мВБП, месяцев	2	4	0,49	2	3	0,66	5	9	0,15	4	3	0,24
2-годовая ВБП	8%	9%		7%	3%		0%	21%		14%	4%	
мОВ, месяцев	8	9	0,95	5	5	0,50	13	18	0,26	10	10	0,57
2-годовая ОВ	15%	18%		16%	8%		0%	34%		18%	11%	

Однако наблюдалась нумерическая тенденция к улучшению показателей при назначении МНТ. Это может указывать на потенциальную пользу МНТ для данных подгрупп, которая не достигла статистической значимости, возможно, из-за ограниченного размера выборки или других факторов, таких как гетерогенность опухолей и различия в биологии заболеваний.

Относительно отдаленных результатов, мВБП в общей когорте пациентов составила 2 и 4 месяца, двухгодичная ВБП – 8 и 9% в группах МНТ и не-МНТ соответственно, статистически значимых отличий не получено (ОР 1,12, 95% ДИ 0,78-1,60, $p=0,49$) (Рисунок 36, А). мОВ составила 8 и 9 месяцев, двухгодичная ОВ – 15 и 18 % соответственно (ОР 0,89, 95% ДИ 0,68-1,42, $p = 0,95$) (Рисунок 36, Б).



А.

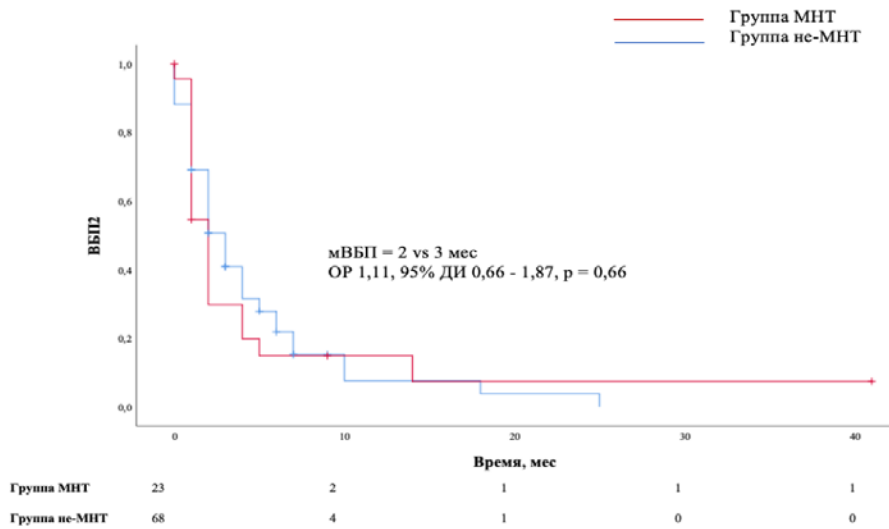


Б.

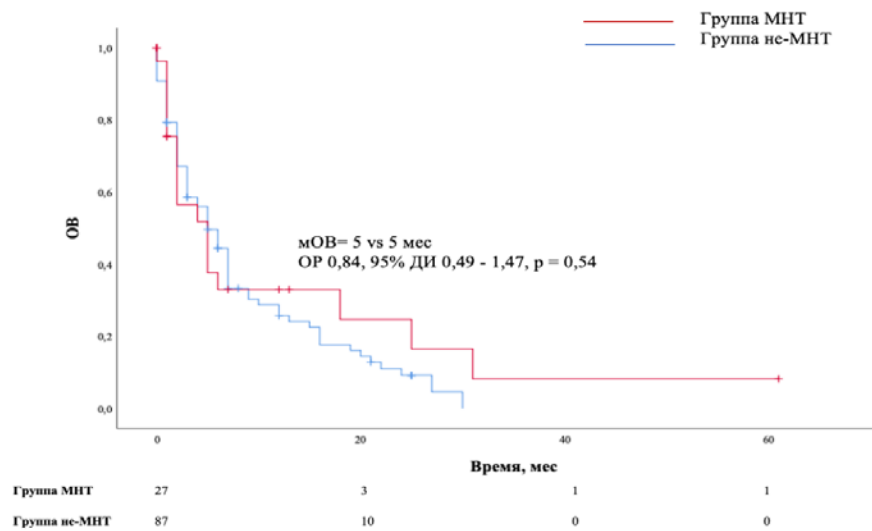
А – выживаемость без прогрессирования-2 в общей когорте пациентов; Б – общая выживаемость в общей когорте пациентов.

Рисунок 36 – Показатели выживаемости пациентов при исключении назначений по поводу ESCAT I

В подгруппе опухолей ЖКТ также статистически значимое различие было выявлено при сравнении показателя ВБП2/1 $\geq 1,3$. Однако это не отразилось в ВБП2 и ОВ: мВБП2 2 против 3 месяцев (ОР 1,11, 95% ДИ 0,66-1,87, $p=0,66$), мОВ 5 против 5 месяцев (ОР 0,84, 95% ДИ 0,49-1,47, $p=0,54$) в группах МНТ и не-МНТ соответственно (Рисунок 37, А, Б).



А.

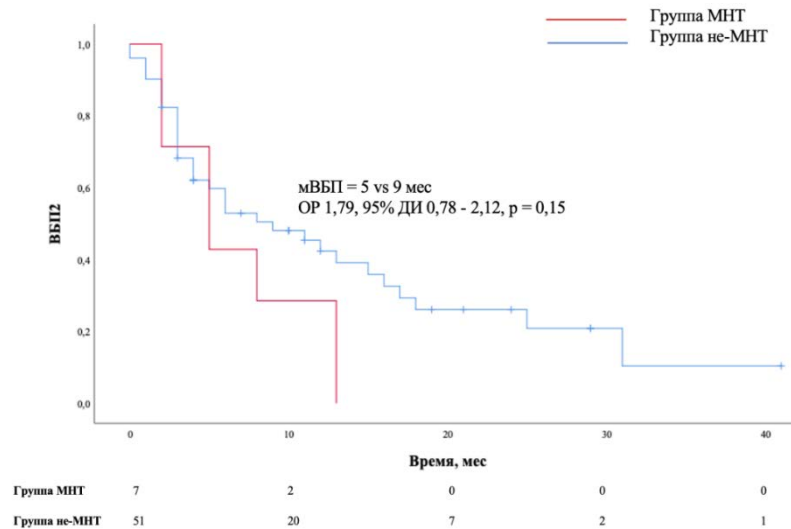


Б.

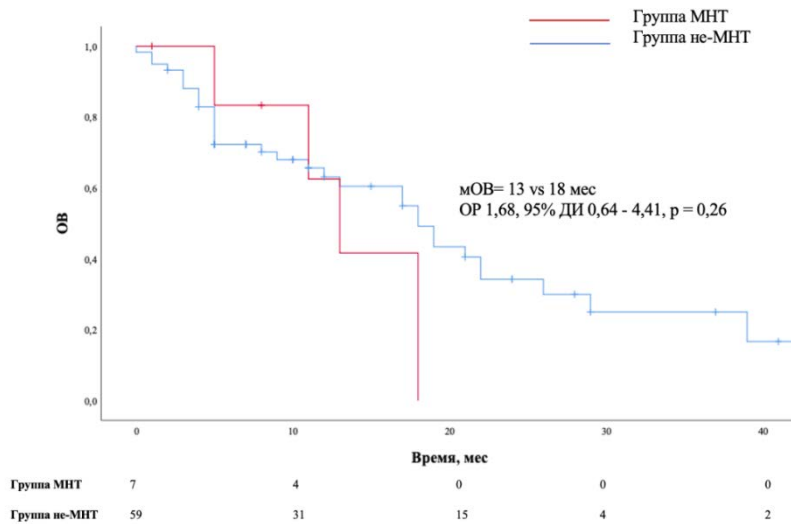
А – выживаемость без прогрессирования-2 в подгруппе опухолей желудочно-кишечного тракта; Б – общая выживаемость в подгруппе опухолей желудочно-кишечного тракта.

Рисунок 37 – Показатели выживаемости пациентов при исключении назначений по поводу ESCAT I

В подгруппах пациентов с НМРЛ и другими опухолями по показателям ЧКБ, ЧОО, ВВП2/1, длительного ответа на терапию, не было выявлено статистически значимых различий, также как и в показателях ВВП2 и ОВ (Рисунки 38, А, Б; 39, А, Б).



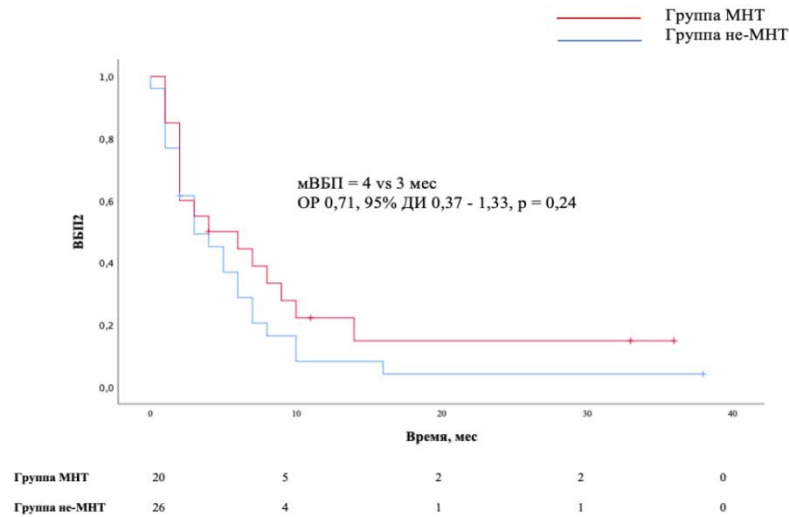
А.



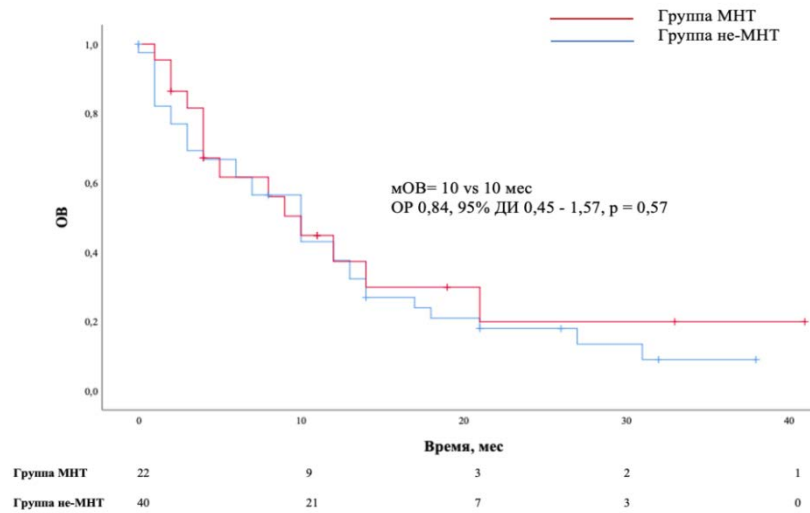
Б.

А – выживаемость без прогрессирования-2 в подгруппе немелкоклеточного рака легкого;
 Б – общая выживаемость в подгруппе немелкоклеточного рака легкого.

Рисунок 38 – Показатели выживаемости пациентов при исключении назначений по поводу ESCAT I



А.



Б.

А – выживаемость без прогрессирования-2 в подгруппе других опухолей; Б – общая выживаемость в подгруппе других опухолей.

Рисунок 39 – Показатели выживаемости пациентов при исключении назначений по поводу ESCAT I

Графическое отражение результатов лечения пациентов МНТ, которые получили наибольшую клиническую пользу в виде длительного ответа на лечение >6 месяцев при назначении препаратов за исключением уровня ESCAT I представлено на рисунке 40.

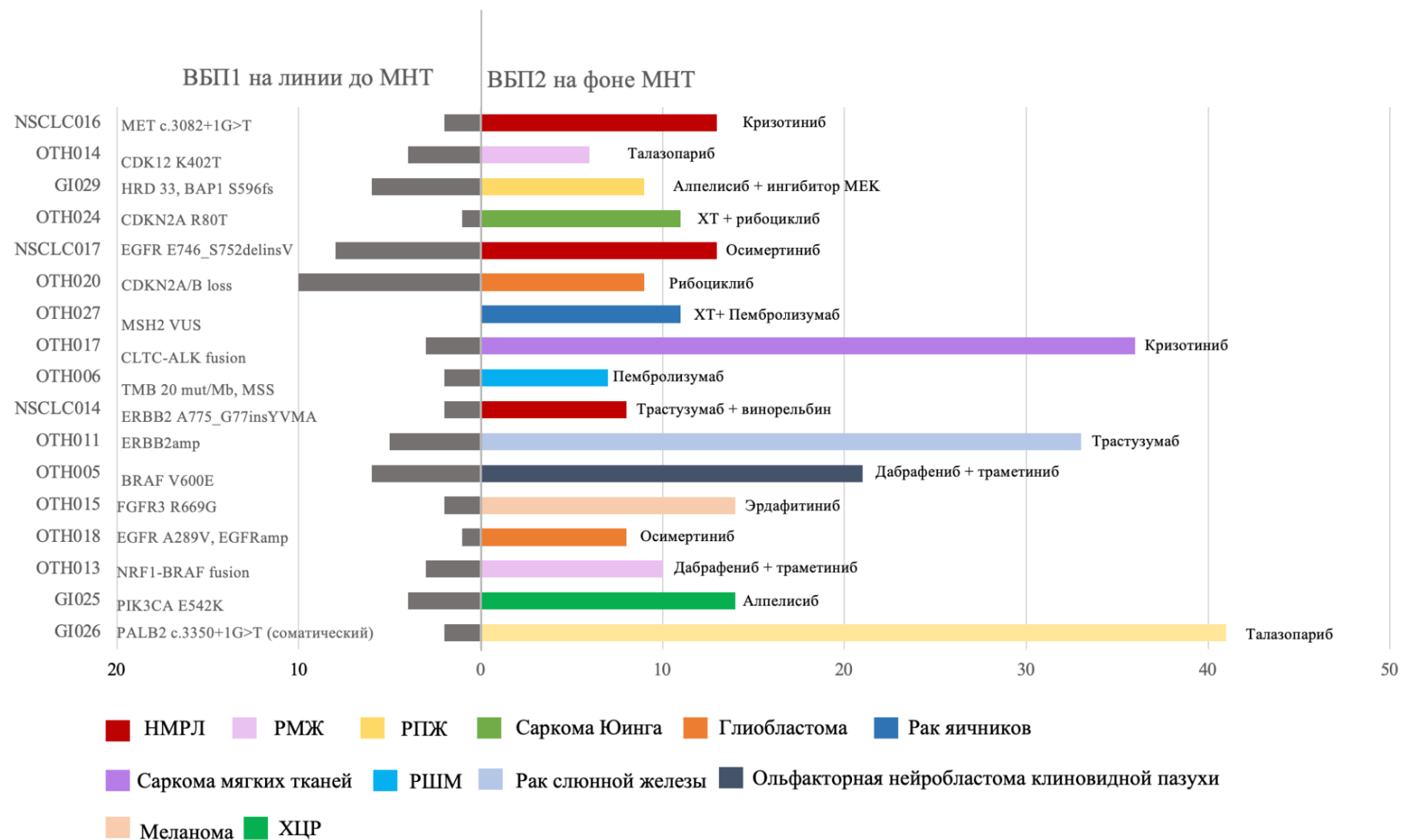
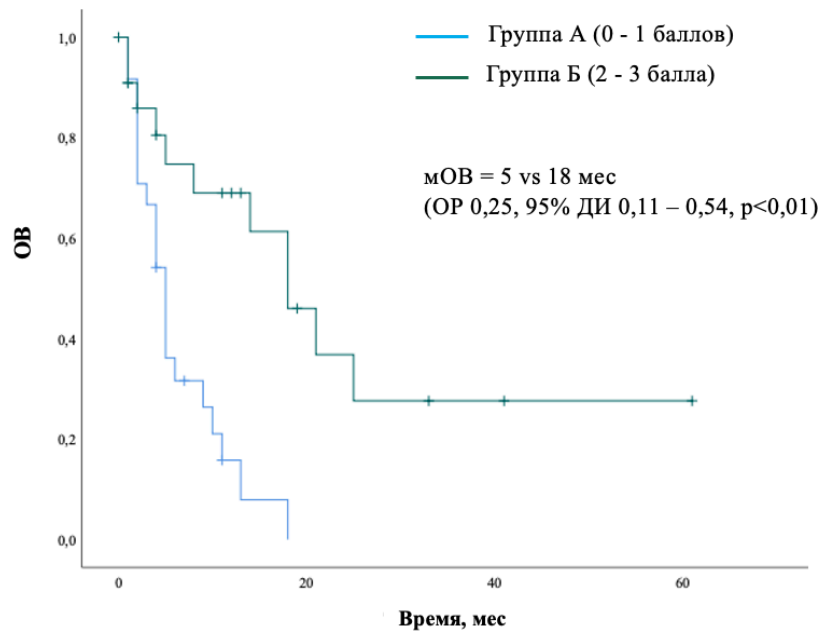


Рисунок 40 – Длительные ответы на молекулярно-направленную терапию при назначении за пределами ESCAT I

Таким образом, при сравнении результатов эффективности МНТ за исключением назначений при ESCAT I, отдаленные результаты были не хуже, чем назначение стандартной терапии без учета молекулярных альтераций. В связи с чем МНТ у пациентов групп отличных от ESCAT I может рассматриваться как одна из линий лечения, однако, с ограниченной эффективностью.

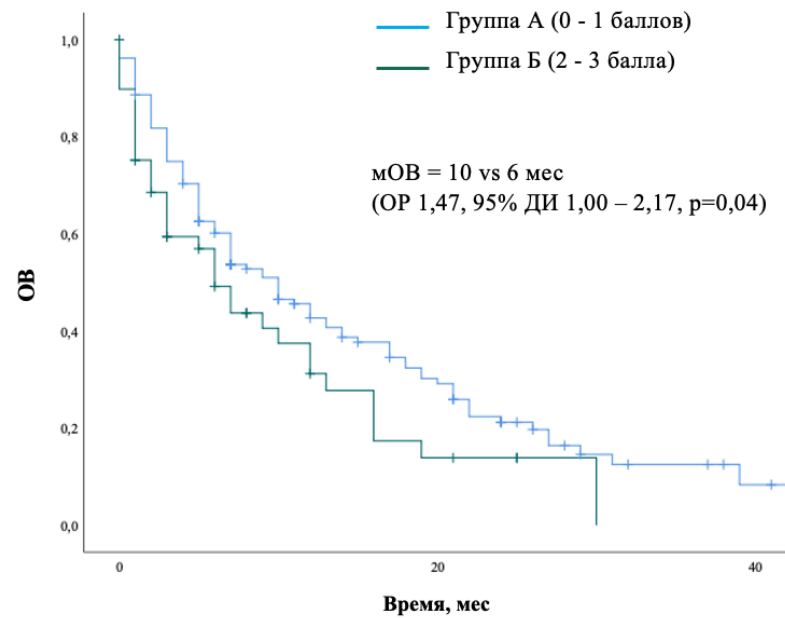
Биомаркеры ESCAT I-II могут быть определены стандартными конвенциональными методами. Подгрупповой анализ был проведен в зависимости от ранее описанной прогностической модели (рисунок 22, страница 89) в группе пациентов ESCAT III-V. В случае, если пациент имел 0-1 балла по шкале (<3 линий терапии до КМП, соматический статус по шкале ECOG 0-1 и возможность проведения МТВ), он был определен в группу А. В случае 2-3 баллов – в группу Б. Выявлено, что в случае альтераций уровня ESCAT III-V, МНТ достоверно положительно влияла на ОВ (мОВ 3 против 14 месяцев, ОР 0,30, 95% ДИ 0,13-0,71, $p<0,01$) в группе Б. Однако в случае не-МНТ наличие факторов благоприятного прогноза не отразилось в увеличении ОВ, а наоборот: мОВ была статистически значимо ниже в случае высокого балла прогностической модели (мОВ 10 и 7 месяцев в группах прогностической модели А и В соответственно, ОР 1,47, 95% ДИ 1,00-2,17, $p=0,04$) (Рисунок 41, А, Б).

Таким образом, при выявлении нетипичных находок в рамках ESCAT III-V назначение МНТ оптимально в группе 2-3 баллов ранее определенной прогностической модели, основанной на многофакторном анализе (Таблица 26, страницы 85-86).



Группа А	23	0	0	0
Группа Б	22	5	2	1

А.



Группа А	132	28	2
Группа Б	49	2	0

Б.

А – при назначении молекулярно-направленной терапии; Б – в случае стандартной терапии.

Рисунок 41 – Общая выживаемость пациентов в группе ESCAT III-V в зависимости от баллов многофакторного анализа

3.9 Формирование универсальной панели по результатам анализа литературы и собственных данных

В задачи исследования также входило определение минимального количества анализируемых альтераций в генах, которое необходимо учитывать при создании мультигенных панелей. Процесс создания панели предполагал анализ литературы (рекомендации ESMO по нозологиям и применимости NGS), а также оценку полученных в ходе работы результатов. Анализ литературных данных позволил включить в панель биомаркеры уровня ESCAT I и R1. Анализ результатов проведенной работы имел своей целью нахождение биомаркеров за пределами ESCAT I и R1: так, в предлагаемую панель вошли биомаркеры пациентов, которым была назначена МНТ и не было зафиксировано прогрессирование заболевания при первом контроле. После объединения данных, полученных при анализе литературы, и собственных результатов, панель включала 25 генов, анализируемых с помощью NGS, и 2 биомаркера, анализируемых конвенциональными методами (MSI, PD-L1). С целью оптимизации размера панели каждой анализируемой генетической альтерации присваивались баллы (Таблица 43). Для ранжирования были использованы следующие критерии:

- биомаркер может быть использован для таргетирования в ≥ 2 нозологиях (1 балл);
- биомаркер предложен для определения в рекомендациях RUSSCO (1 балл);
- препарат, назначаемый по поводу выявления биомаркера: а) может быть получен в РФ в рамках системы обязательного медицинского страхования (1 балл); б) в рамках КИ/за счет средств пациента (0 баллов);
- применение МНТ по поводу биомаркера в рамках работы привело к достижению длительного ответа (≥ 6 месяцев) (1 балл);
- наличие данных литературы + достижение контроля заболевания при первом контрольном обследовании в рамках работы (1 балл).

После проведения ранжирования гены, набравшие 0-1 балл, были исключены из панели (*ESR1*, *MFMT*, *FLT3*). Помимо этого, в предложенную панель для анализа альтераций был добавлен ген TP53, учитывая прогностическое и предиктивное влияние ко-мутаций в ряде опухолей. Таким образом, минимальное число анализируемых генов составило 26 с дополнительным определением таких биомаркеров как MSI (опухоль-агностический маркер), PD-L1 (маркер чувствительности к иммунотерапии при ряде нозологий).

Таблица 43 – Ранжирование генов с целью формирования панели профилирования

Ген	Анализируемая альтерация	Примеры препаратов	Применение в ≥2 нозологиях	Рекомендован RUSSCO	Получение по ОМС	Достигнут длительный ответ	Данные литературы + результаты работы	Сумма баллов
<i>ALK</i>	Перестройки	Алектиниб, кризотиниб	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	5 баллов
<i>BRAF</i>	Мутации	BRAF, MEK ингибиторы	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	5 баллов
<i>BRCA2</i>	Мутации	PARP ингибиторы	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	5 баллов
<i>EGFR</i>	Мутации, амплификации	EGFR ингибиторы	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	5 баллов
<i>ERBB2</i>	Амплификации, мутации	Анти-HER2	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	5 баллов
<i>PIK3CA</i>	Мутации	Алпелисиб	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	1 балл	5 баллов
<i>FGFR2</i>	Перестройки, амплификации, мутации	Анти-FGFR	1 балл	1 балл	0 баллов	1 балл	1 балл	4 балла
<i>PALB2</i>	Мутации	PARP ингибиторы	1 балл	1 балл	0 баллов	1 балл	1 балл	4 балла
<i>NTRK1/2/3</i>	Перестройки	Ингибитор TRK	1 балл	1 балл	1 балл	0 баллов	0 баллов	3 балла
<i>BRCA1</i>	Мутации	PARP ингибиторы	1 балл	1 балл	1 балл	0 баллов	0 баллов	3 балла
<i>IDH1</i>	Мутации	Ивосидениб	0 баллов	1 балл	0 баллов	1 балл	1 балл	3 балла
<i>KRAS</i>	Мутации	G12C-Адаграсиб, WT – анти-EGFR	1 балл	1 балл	0 баллов	0 баллов	1 балл	3 балла
<i>MET</i>	Мутации, амплификация	Тирозинкиназные ингибиторы	1 балл	1 балл	0 баллов	0 баллов	1 балл	3 балла
<i>POLE</i>	Мутации	ИКТ	0 баллов	1 балл	1 балл	1 балл	0 баллов	3 балла
<i>ROS1</i>	Перестройки	Кризотиниб	1 балл	1 балл	1 балл	0 баллов	0 баллов	3 балла

<i>AKT1</i>	Мутации	АКТ1 ингибиторы (капивасертиб), эверолимус	1 балл	0 баллов	0 баллов	0 баллов	1 балл	2 балла
<i>PTEN</i>	Мутации	Эверолимус	1 балл	0 баллов	0 баллов	0 баллов	1 балл	2 балла
<i>NRAS</i>	Мутации	WT – анти-EGFR	0 баллов	1 балл	0 баллов	0 баллов	1 балл	2 балла
<i>RET</i>	Перестройки	Селперкатиниб	1 балл	1 балл	0 баллов	0 баллов	0 баллов	2 балла
<i>CDKN2A</i>	Мутации	Ингибиторы CDK 4/6	0 баллов	0 баллов	0 баллов	1 балл	1 балл	2 балла
<i>FGFR3</i>	Перестройки, амплификации, мутации	Анти-FGFR	0 баллов	0 баллов	1 балл	1 балл	0 баллов	2 балла
<i>CDK12</i>	Мутации	PARP-ингибиторы, CDK 4/6 ингибиторы	0 баллов	0 баллов	0 баллов	1 балл	1 балл	2 балла
<i>MGMT</i>	Метилирование	Темозоламид	0 баллов	0 баллов	1 балл	0 баллов	0 баллов	1 балл
<i>FLT3</i>	Мутации	Сунитиниб	0 баллов	0 баллов	1 балл	0 баллов	0 баллов	1 балл
<i>ESR1</i>	Мутации	R1	0 баллов	0 баллов	0 баллов	0 баллов	0 баллов	0 баллов

ИКТ – ингибиторы контрольных точек иммунного ответа.

Конкретные альтерации, которые должны входить в таргетную панель на основе NGS, представлены на рисунке 42.

SNV/indel		CNV (амплификации)
<i>BRAF</i>	<i>MET</i>	<i>ERBB2</i>
<i>BRCA2</i>	<i>POLE</i>	<i>EGFR</i>
<i>EGFR</i>	<i>AKT1</i>	<i>FGFR2</i>
<i>ERBB2</i>	<i>PTEN</i>	<i>MET</i>
<i>PIK3CA</i>	<i>NRAS</i>	<i>FGFR3</i>
<i>FGFR2</i>	<i>CDKN2A</i>	
<i>PALB2</i>	<i>FGFR3</i>	
<i>BRCA1</i>	<i>CDK12</i>	
<i>IDH1</i>	<i>TP53</i>	
<i>KRAS</i>		
		Перестройки
		<i>ALK</i>
		<i>FGFR2</i>
		<i>NTRK1</i>
		<i>NTRK2</i>
		<i>NTRK3</i>
		<i>ROS1</i>
		<i>RET</i>
		<i>FGFR3</i>
Дополнительные биомаркеры		
	<i>MSI</i>	
	<i>PD-L1</i>	

Рисунок 42 – Предлагаемая панель для комплексного молекулярного профилирования в условиях Российской Федерации

Кроме того, проанализирована взаимосвязь между каждым биомаркером панели и его значением в конкретной нозологии. Наибольшая применимость набора анализируемых генов выявлена в случае в НМРЛ, РМЖ, КРР, РЖ, РПЖ, ХК (Рисунок 43). Опухоль-агностические маркеры (*MSI*, *NTRK1/2/3*, *BRAF V600E*, и уровень *PD-L1* не отражены на графике.

Таким образом, полученная панель включает 25 генов для анализа, два биомаркера ответа на иммунотерапию и не является персонализированной под конкретную нозологию. Она основана на биомаркерах, на которые может быть назначена лекарственная терапия, доступная на территории Российской Федерации.

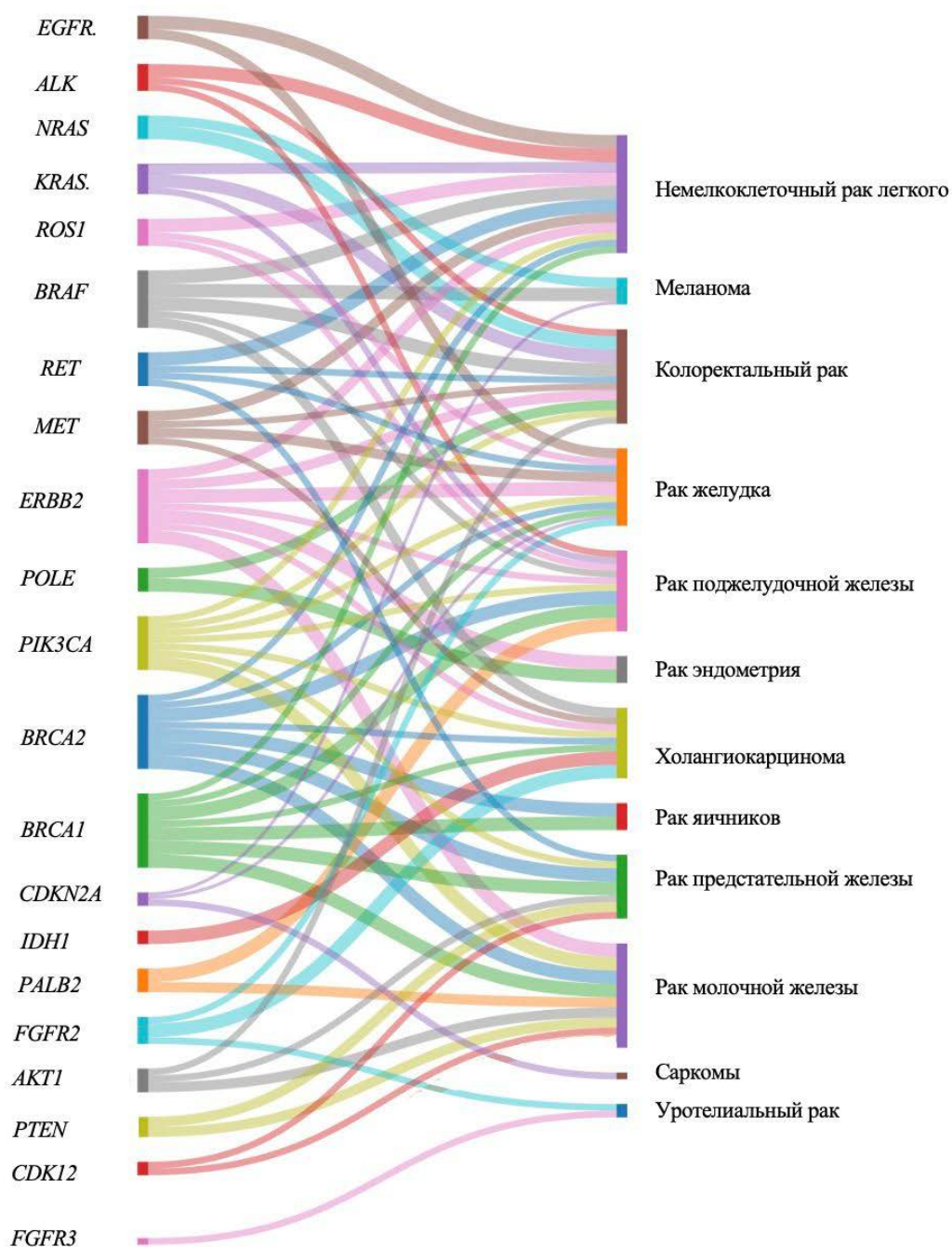


Рисунок 43 – Взаимосвязь биомаркера предложенной панели и нозологии

3.10 Оценка роли специализированного консилиума

Данные о статусе проведения МТВ были доступны для 363 пациентов (81%) из общей популяции. МТВ был проведен в 51 случае (14%). Период проспективного учета проведения МТВ – с декабря 2021 года по март 2024 года включительно (28 месяцев), что соответствует в среднем 2 консилиумам в месяц. Характеристики пациентов, которым был проведен МТВ, а также характеристики пациентов вне МТВ представлены в таблице 44. Пациенты, которым был

проведен МТВ, были значительно младше общей когорты пациентов и пациентов, решение о лечении которых принималось на основании мнения лечащего врача (медиана возраста 50 лет против 59 лет ($p < 0,01$)), в рамках МТВ также были чаще представлены представители мужского пола (60,8% против 39,1%, $p < 0,01$) и пациенты, которые получили больше линий стандартной лекарственной терапии (медиана 2 против 1, $p < 0,01$). Практически у всех пациентов материалом для профилирования служила ткань опухоли (50 пациентов, 98%). Среднее время с момента забора материала до проведения КМП составило 10 месяцев (0-66), среднее время выполнения профилирования – 12 дней (5-31). В группе МТВ статистически значимо было больше отчетов с наивысшим уровнем ESCAT II-II, и меньше – с ESCAT V/X.

Таблица 44 – Характеристика пациентов группы специализированного консилиума и группы лечения по решению лечащего врача

Характеристика	Лечение по решению МТВ (N=51)	Лечение по решению лечащего врача (N=312)	p-value
Возраст, лет медиана (среднее, мин. – макс.)	50 (48,17-85)	59 (57, 25-89)	<0,01
Пол Женский Мужской	20 (39,2%) 31 (60,8%)	190 (60,9%) 122 (39,1%)	<0,01
Число линий до КМП Медиана (мин. – макс.)	2 (0-8)	1 (0-8)	<0,01
ВБП – до КМП Медиана (мин. – макс.)	4 (0-12)	3 (0-26)	0,07
Панель КМП FMI Solo	42 (82,3%) 9 (17,6%)	213 (68,3%) 99 (31,7%)	0,04
Материал для КМП Ткань опухоли Плазма крови	50 (98,0%) 1 (2,0%)	230 (72,7%) 82 (26,3%)	<0,01
Среднее время от забора материала до проведения тестирования, мес	10 (0-66)	7 (0-70)	0,19
Среднее время анализа, дней	12 (5-31)	14 (0-53)	0,41
ECOG PS 0-1 ≥2 Нет данных	34 (66,7%) 9 (17,6%) 8 (15,7%)	126 (40,5%) 46 (14,7%) 140 (44,8%)	0,43

Наивысший уровень ESCAT на отчет			
Уровень I	6 (11,8%)	50 (16,0%)	0,43
Уровень II	7 (13,7%)	11 (3,5%)	0,02
Уровень III	21 (41,2%)	89 (28,5%)	0,07
Уровень IV	12 (23,5%)	56 (17,9%)	0,34
Уровень V/X	5 (9,8%)	106 (34,0%)	0,01

Из 51 случая проведения МТВ 29,4% (15 пациентов) было представлено КРР, по 11,8% (по 6 пациентов) – ХК и НМРЛ, 7,8% (4 пациента) – рак поджелудочной железы, 5,9% (3 пациента) – ОГШ, по 3,9% (по 2 пациента) – РЯ, рак желудка, меланома, рак тела матки, саркома Юинга, саркома мягких тканей, и по 2,0% (по 1 пациенту) – саркома матки, рак пищевода, РМЖ, рак слюнной железы, опухоль из НПО. Характеристики пациентов, которым был проведен МТВ, включающие пол, возраст, нозологию и характер выявленных альтераций с рекомендованной терапией, представлены в таблице 45.

Таблица 45 – Назначенная терапия в рамках специализированных консилиумов

Пол, возраст	Нозология	Линии до КМП	Выявленные альтерации	Назначенное лечение
М, 42	РЖ	1	<u>MET amp</u> , <u>TP53 N131del</u> , MSS, TMB 0 mut/Mb	Капматиниб
М, 64	КРР	4	<u>BRCA1 Q1538*</u> , <u>KRAS Q61H</u> , <u>APC Q1338*</u> , <u>E287*</u> , <u>BRAF G596R</u> , TMB 10 mut/Mb, MSS	Талазопариб
М, 51	КРР	2	<u>APC Y951fs*1</u> , <u>TP53 R282W</u> , <u>ALK L170V</u> , <u>CDKN2A/B G12S</u> , <u>GNAS amp</u> , <u>FLT3 V106F</u> , <u>RASwt</u> , MSS, TMB 2 mut/Mb	Регорафениб
М, 50	ХК	3	<u>MTAP loss exons 5-8</u> , <u>NRAS Q61R</u> , <u>BRCA1 T243M</u> , <u>IDH1 R132H</u> , <u>BAP1 splice site 67+1G>T</u>	Олапариб
М, 18	КРР	1	<u>ERBB2 amp</u> , <u>RASwt</u> , <u>FGFR1 amp</u>	XELOX
Ж, 57	ХК	3	<u>BAP1 V27Cfs*45</u> , <u>CDKN2A del</u> , <u>BCL2L2 14q11.2</u> , MSS, TMB 7 mut/Mb	Вориностат + иринотекан
Ж, 69	РТМ	3	<u>PIK3CA E545K</u> , <u>CTNNB1 D32Y</u> , <u>PTEN H61fs*38</u> , MSS, TMB 5 mut/Mb	Паклитаксел + карбоплатин
М, 51	КРР	2	<u>RASwt</u> , <u>MET amp</u> , <u>APC Q1429*</u> , <u>TP53 V173M</u>	ХТ + кабозантиниб
Ж, 26	СМ	1	<u>CIC-DUX4 fusion</u> , <u>MAP3K6 loss</u> , <u>ARID1A deletion</u>	Пембролизумаб
М, 70	КРР	1	<u>EPHB4 R394*</u> , <u>CDKN2A D108E</u> , <u>TMB 19 mut/Mb</u> , <u>MSI</u>	Пембролизумаб

М, 85	КРР	3	<i>BRAF V600E, RASwt, ARID1A Q766fs*67, MSI, TMB 35 mut/Mb</i>	De Gramont
Ж, 43	РЯ	5	<i>ARID1A Y1377*, ARID1A L2199* PIK3CA Q546R, TMB 4 mut/Mb, MSS</i>	Эверолимус
М, 67	НМРЛ	2	<i>MSS, TMB 2 mut/Mb, PD-L1 CPS 1</i>	Доцетаксел
Ж, 25	НПО	3	<i>RNF43 197delG, BAP1 Y223*, FGFR2-CBY2 fusion, MSS, TMB 2 mut/Mb</i>	Эрдафитиниб
Ж, 38	КРР	1	<i>KRAS G12D, PIK3CA C420R, BLM Q548, MSS, TMB 4 mut/Mb</i>	Регорафениб
М, 53	НМРЛ	1	<i>CHEK2 I157T, TP53 R342fs*3, FLT1 S733del, MSS, TMB</i>	Доцетаксел
М, 64	РПЖ	1	<i>HRD 42, FGF3/4/19 amp, ATM p.V1671L, GCC2-ALK fusion, MSS, TMB 5 mut/Mb,</i>	Лорлатиниб
М, 62	НМРЛ	1	<i>KRAS amp, TP53 R117S, MSS</i>	Винорельбин
Ж, 59	КРР	1	<i>KRAS G12V, ERFF1 R244Q, APC R283*, TP53 V172F, MSS, TMB 5 mut/Mb</i>	FOLFOX
Ж, 43	КРР	2	<i>KRAS Q61H, EZH2 N322S, FGFR1 rearrangement, BAP1 C649Y, MSS, TMB 1 mut/Mb</i>	Регорафениб
М, 36	РЖ	2	<i>METamp x5,3, POLE V1800M, ERBB3 V352L, MSS, TMB 6 Mut/Mb</i>	Кабозантиниб
М, 20	СЮ	10	<i>FGFR1 N546K, ERBB2 R190W, EWSR1-FLI fusion, TMB 2 mut/Mb, MSS</i>	Пемигатиниб
Ж, 22	СЮ	3	<i>CDKN2A R80*, ATM V2166A, EWSR1-ERG fusion, MSS, TMB 2 mut/Mb</i>	ХТ + рибоциклиб
Ж, 40	РЯ	1	<i>BRCA2 E3316, SMARC4 E1083fs*1, V1505fs*6, MSS, TMB 1 mut/Mb</i>	Ниволумаб + рибоциклиб
Ж, 24	СМТ	2	<i>CLTC-ALK fusion, CD274 (PD-L1) V104E, MSS, TMB 3 mut/Mb</i>	Кризотиниб
М, 34	НМРЛ	1	<i>TP53 R267W, A161T, PDGFRA R293C, CTNNB1 S45del, MLH1 L653fs*8, MSS</i>	Пембролизумаб
М, 36	НМРЛ	2	<i>PDGFRA R293C, CTNNB1 S45del, ERBB2 A775_G77insYVMA, TMB 15 mut/Mb</i>	Винорельбин + трастузумаб
Ж, 73	РСЖ	2	<i>ERBB2amp, PD-L1 CPS 90, TP53 P278L, MSS</i>	Трастузумаб
Ж, 63	ОГШ	5	<i>MAPK E3222K, PD-L1 CPS 2, MSS, TMB 9 mut/Mb</i>	Стандарт терапии
М, 58	ОГШ	8	<i>ATR F841L, PD-L1 CPS 5, MSS, TMB 2 mut/Mb</i>	Стандарт терапии
М, 45	ОНБ	1	<i>BRAF V600E, CHEK2 I157T, MSS, TMB 1 mut/Mb</i>	Дабрафениб + траметиниб
М, 52	СМТ	2	<i>SMARCB1 R201*, ZRSR2 R448_R449insSRSR, MSS, TMB 3 mut/Mb</i>	Стандарт терапии

Ж,51	РТМ	4	<i>KRAS G12D, CTNNB1 S33F, TMB 5 mut/Mb, MSS</i>	Паклитаксел + карбоплатин
Ж, 55	Меланома	2	<i>TP53 M237I, POT1 L418*, PD-L1 CPS 2, MSS</i>	Стандарт терапии
Ж, 57	Меланома	3	<i>FGFR3 amp, MTAP loss exons 5-8, FGFR1 V86M, FGFR3 R669G, MSS, TMB 5 mut/mb</i>	Эрдафитиниб
М, 59	РЖ	1	<i>MET amp, FGFR3 amp, FGF19 amp, PD-L1 CPS 1, MSS, TMB 3 Mut/mb</i>	Иринотекан + рамуцирумаб
Ж, 50	РМЖ	4	<i>PTEN I303fs*9, PALB2 L531fs*30, TMB 8 mut/Mb, MSS</i>	Стандарт терапии
М, 53	КРР	3	<i>ERBB2 amp, MAP2K1 G128D, STK11 exon loss 1-8</i>	Трастузумаб дерукстекан + МЕК ингибитор
Ж, 53	ХК	2	<i>FGFR2 C382R, CHEK2 I157T, IDH1 R132C, TMB 3 mut/Mb. MSS</i>	Эрдафитиниб + ивосидениб
Ж, 54	ХК	2	<i>PIK3CA E542Y, ATM E1978*, ARID1A A1466Cfs*25, TMB 4,2 mut/Mb MSS</i>	Алпелисиб
М, 16	КРР	1	<i>RASwt., FGFR2 S372_P373del, MSS, TMB 1 mut/Mb</i>	FOLFOX + бевацизумаб
М, 36	РЖ	2	<i>MET amp x5,3, POLE V1800M, ERBB3 V352L, MSS, TMB 6 Mut/Mb</i>	Кабозантиниб
Ж, 56	РПЖ	2	<i>KRAS G12D, PALB2 c.3350+1G>T, BLM Q548X, ERBB3 R521Q, TMB 4,6 Mut/Mb</i>	Талазопариб
М, 48	РПЖ	2	<i>CDK4 amp, MDM2 amp, ERBB3 rearrangement</i>	mFOLFIRINOX
М, 34	ХК	1	<i>KRAS G12D, CDKN2B loss, TMB 4 Mut/Mb, MSS</i>	FOLFIRI
М, 61	ХК	1	<i>CHEK2 I157T, PALB2 S1102R, MSS, TMB 4 Mut/Mb</i>	Гемцитабин + цисплатин
Ж, 45	КРР	3	<i>NRAS Q61K, PIK3CA H1047R, FLT3 amp, MSS, TMB 9 mut/Mb,</i>	Регорафениб
М, 31	КРР	2	<i>SND1-BRAF fusion, FLT1 amp, FLT3 amp, TMB 8 mut/Mb, MSS</i>	Цетуксимаб + траметиниб
М, 30	КРР	1	<i>ERF1 P320L, MSS, TMB 3 mut/Mb</i>	Афатиниб + бевацизумаб
М, 47	КРР	2	<i>KRAS G12A, BRCA S198fs*22, PIK3CA E545K, TMB 4 mut/Mb, MSS</i>	Талазопариб
М,38	КРР	2	<i>KRAS G12S, PIK3CA V344M, TMB 5,9 mut/Mb, MSS</i>	Регорафениб

РЖ – рак желудка; КРР – колоректальный рак; ХК – холангиокарцинома; РТМ – рак тела матки; СМ – саркома матки; РЯ – рак яичников; СМТ – саркома мягких тканей; НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого; РСЖ – рак слюнной железы; ОГШ – опухоли головы и шеи; ОНБ – ольфакторная нейробластома; РПЖ – рак поджелудочной железы; ХТ – химиотерапия.

Из 51 случая, обсужденного в рамках МТВ, МНТ была назначена 26 пациентам (51,0%), в популяции без МТВ показатель составил 17,6% (55 из 312 пациентов) ($p < 0,01$). Таким образом, на МТВ чаще были представлены более молодые и предлеченные пациенты, а вероятность назначения МНТ была статистически значимо выше в случае проведения МТВ, однако консилиум чаще проводился при более таргетируемых альтерациях уровня ESCAT II-III.

Далее был проведен анализ когорты пациентов, которым была назначена МНТ с целью сравнения эффективности назначения МНТ в зависимости от источника принятия решения. Характеристики пациентов группы МНТ в зависимости от принятия решения в рамках или вне рамок МТВ представлены в таблице 46. Отмечено, что пациенты, которым была назначена МНТ в рамках МТВ были моложе (медиана 46 лет против 60 лет, $p = 0,04$), чаще представлены мужским полом (57,5% против 30,9%, $p = 0,02$). МНТ в группе лечения по решению лечащего врача чаще назначалось в случае ESCAT I ($p < 0,01$).

Таблица 46 – Характеристика пациентов группы молекулярно-направленной терапии в зависимости от принятия в рамках или вне рамок специализированного консилиума

Характеристика	Лечение по решению МТВ (N=26)	Лечение по решению лечащего врача (N=55)	p-value
Возраст, лет медиана (среднее, мин. – макс.)	46 (45, 20-73)	60 (56, 25-87)	0,04
Пол Женский Мужской	11 (42,3%) 15 (57,5%)	38 (69,1%) 17 (30,9%)	0,02
Число линий до КМП Медиана (мин. – макс.)	2 (1-5)	2 (0-8)	0,97
ВБП1 – до КМП Медиана (мин. – макс.)	4 (1-10)	3 (1-24)	0,16
Панель КМП FMI Solo	20 (76,9%) 6 (23,1%)	31 (56,4%) 24 (43,6%)	0,07
Материал для КМП Ткань опухоли Плазма крови	25 (96,2%) 1 (3,8%)	46 (83,6%) 9 (16,4%)	0,11
Среднее время от забора материала до проведения тестирования, мес.	6 (0-32)	7 (0-41)	0,82
Наивысший уровень ESCAT на отчет Уровень I Уровень II Уровень III Уровень IV Уровень V/X	3 (11,5%) 5 (19,2%) 12 (46,2%) 6 (23,1%) –	23 (41,7%) 2 (3,6%) 17 (30,0%) 8 (14,5%) 5 (9,1%)	<0,01 0,03 0,18 0,34 0,11

Среднее время анализа, дней	14 (5-31)	12 (0-44)	0,52
ECOG PS			
0-1	23 (88,5%)	29 (52,7%)	0,40
≥2	3 (11,5%)	7 (12,7%)	
Нет данных	–	19 (34,6%)	

С целью оценки эффективности назначенной МНТ в зависимости от обсуждения ситуации на специализированном консилиуме с участием междисциплинарной команды или в случае самостоятельного назначения МНТ врачом на основании отчета о профилировании проанализированы ранее описанные показатели эффективности. Результаты приведены в таблице 47. Статистически значимое различие было получено в достижении показателя ВБП2/1 $\geq 1,3$: назначение по решению МТВ позволило увеличить показатель с 22,0% до 42,9% ($p=0,01$).

Таблица 47 – Сравнение эффективности молекулярно-направленной терапии при проведении специализированного консилиума или при самостоятельном назначении лечащим врачом

Сравниваемый критерий	Решение МТВ	Решение лечащего врача	p-value
ЧКБ	45,5%	45,6%	0,98
ЧОО	21,2%	12,9%	0,21
ВБП2/1 $\geq 1,3$	42,9%	22,0%	0,01
Длительный ответ на терапию	41,4%	39,5%	0,86
мВБП, месяцев	4	4	0,23
2-годовая ВБП	18%	10%	
мОВ, месяцев	14	8	0,06
2-годовая ОВ	27%	24%	

Отношение ВБП2/1 в группе МТВ отражено на рисунке 44. В показателях ЧКБ, ЧОО, частоты длительного ответа на лечение различий достигнуто не было.

При анализе отдаленных показателей в ВБП2 после КМП различий не было установлено вне зависимости от принятия решения в рамках МТВ или лечащим врачом: мВБП2 составила по 4 месяца, а двухгодичная ВБП – 18% и 10% в группе МТВ и самостоятельного принятия решения соответственно (ОР 0,87, 95% ДИ 0,57-1,32, $p=0,50$) (Таблица 47, Рисунок 45, А). В показателях ОВ наблюдалось пограничное различие между группами: мОВ составила 14 и 8 месяцев, двухгодичная ОВ – 27% и 24% в группах МТВ и назначения лечащего врача соответственно (ОР 0,67, 95% ДИ 0,43-1,04, $p=0,06$) (Таблица 47, Рисунок 45, Б).

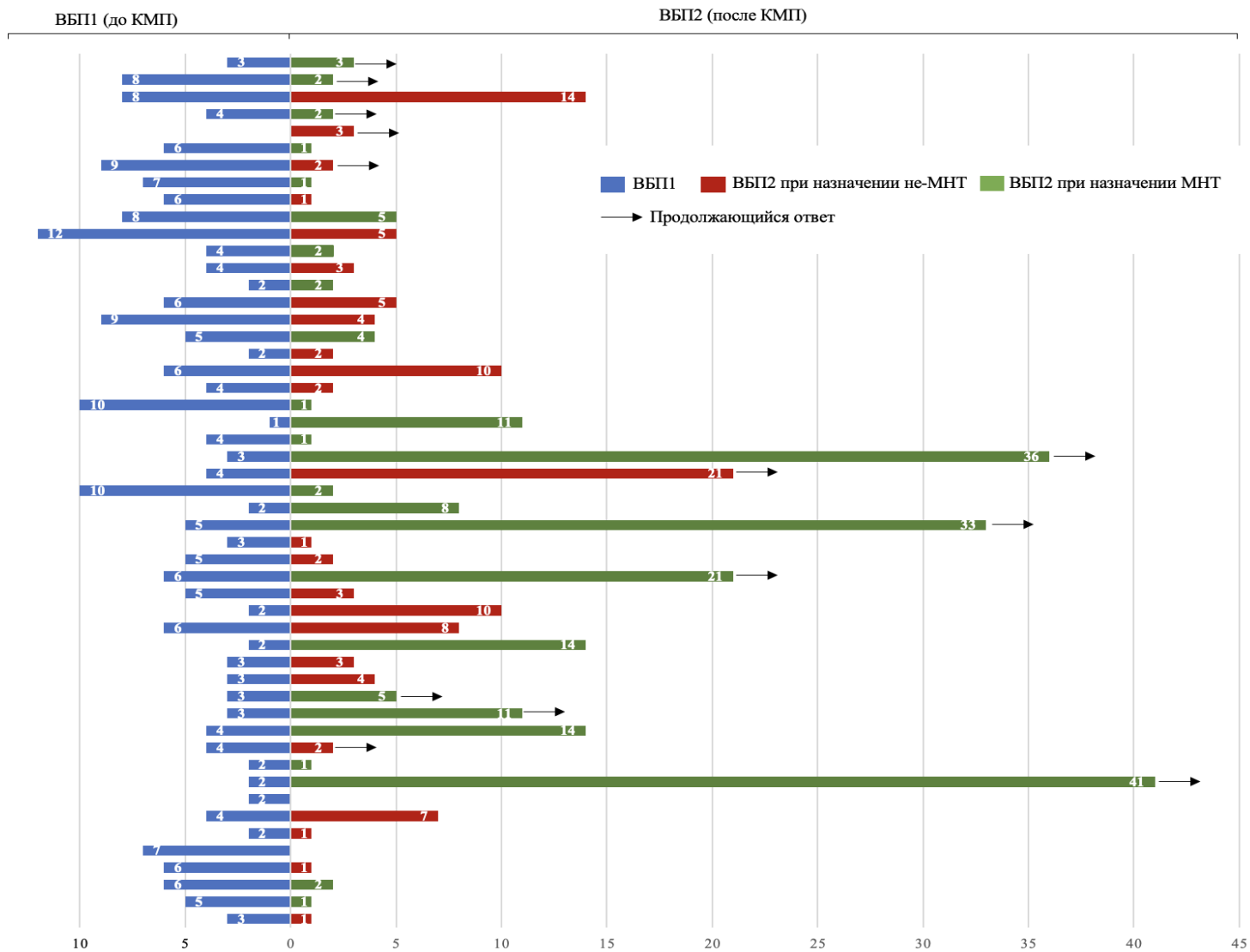
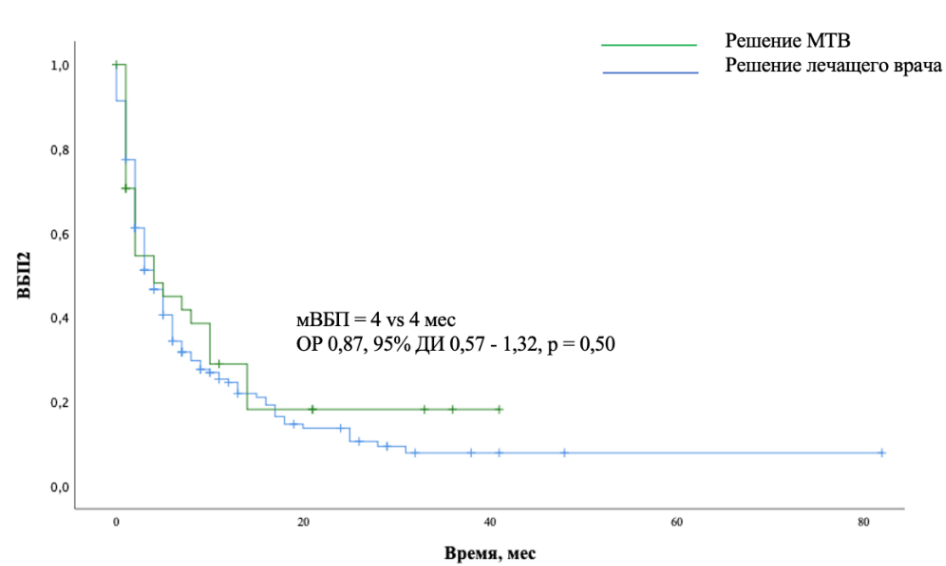
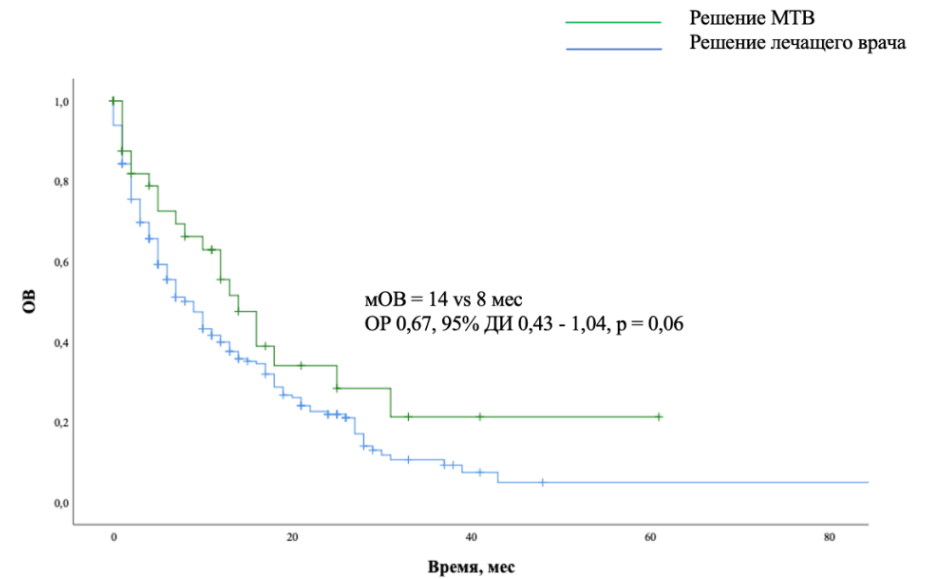


Рисунок 44 – Показатели выживаемости без прогрессирования на фоне линия до комплексного молекулярного профилирования и после него в группе пациентов, которым был проведен специализированный консилиум



Решение МТВ	35	5	1	0	0
Решение лечащего врача	186	15	3	1	1

А.



Решение МТВ	45	7	2	1	0
Решение лечащего врача	230	40	4	1	1

Б.

А – выживаемость без прогрессирования-2; Б – общая выживаемость.

Рисунок 45 – Отдаленные результаты в зависимости от проведения специализированного консилиума или принятия решения лечащим врачом

Были сформулированы принципы и методология проведения МТВ. Обязательными участниками консилиума являлись:

- лечащий врач – инициатор консилиума;
- председатель консилиума – врач-онколог, химиотерапевт;
- врачи-онкологи, химиотерапевты;
- молекулярный биолог;
- биоинформатик;
- секретарь консилиума.

В некоторых случаях к участию привлекались:

- врач-медицинский генетик;
- врач-лабораторный генетик;
- врач-патоморфолог.

Наш опыт проведения МТВ позволил сформулировать следующий алгоритм:

- предоставления клинической информации по клиническому случаю секретарем МТВ (до 2 минут);
- описание характеристик КМП и выявленных находок молекулярным биологом (до 5 минут);
- вопросы к клинической и молекулярной части докладов (до 3 минут);
- обсуждение членами консилиума и формирование решения (до 10 минут).

В дальнейшем протокол консилиума в электронном виде направлялся лечащему врачу, контроль за влиянием на тактику ведения пациентов проводился 1 раз в 6 месяцев.

Таким образом, опыт проведения МТВ на территории РФ позволил рекомендовать МНТ в 51% случаев, что соответствует данным зарубежного опыта и опровергает нулевую гипотезу о частоте рекомендации МНТ в районе 20%. Однако эффективность назначенной МНТ в результате решения МТВ или самостоятельным решением врача привела к увеличению частоты достижения ВБП2/1 $\geq 1,3$ а также к пограничному влиянию на ОВ, без статистически значимого влияния на другие показатели эффективности. Однако необходимо отметить, что в рамках МТВ чаще обсуждались случаи ESCAT II-III, и реже – ESCAT V/X.

3.11 Оценка эффективности интерпретации результатов комплексного молекулярного профилирования с использованием общедоступных баз данных

Ранее было продемонстрировано (раздел 3.6), что шкала ESCAT – не идеальный алгоритм для выбора тактики таргетирования альтераций. В связи с чем встает вопрос о применении вспомогательных инструментов. С целью определения применимости общедоступных БД для интерпретации мутационного профиля злокачественных опухолей было проведено сравнение 6 БД: OncoKB, CIViC, Cancer Genome Interpreter, CGA, VICC и MolecularMatch. Доступ к ним осуществлялся в апреле 2022 года. Проведен анализ содержания БД на 6 уровнях детализации (Таблица 48).

Таблица 48 – Уровни детализации информации баз данных

Уровень	Описание	Пример
L1	Тип альтерации присутствует в БД	FGFR3 является биомаркером ответа на терапию
L2	Тип альтерации и класс таргетных препаратов присутствуют в БД	Любые альтерации FGFR3 могут быть таргетированы ингибиторами FGFR
L3	Конкретный тип альтерации гена и класс таргетных препаратов присутствуют в БД	Транслокации FGFR3 могут быть таргетированы ингибиторами FGFR
L4	Конкретный тип альтерации гена и класс таргетных препаратов в отношении конкретного заболевания присутствуют в БД	Транслокации FGFR3 могут быть таргетированы ингибиторами FGFR при уротелиальной карциноме
L5	Конкретный тип альтерации гена и конкретные препараты в отношении конкретного заболевания присутствуют в БД	Транслокации FGFR3 могут быть таргетированы препаратом эрдафитиниб при уротелиальной карциноме
L6	Конкретные альтерации гена и конкретные препараты в отношении конкретного заболевания присутствуют в БД	Транслокация FGFR3 – TACC3 может быть таргетирована препаратом эрдафитиниб при уротелиальной карциноме

В анализ были включены всего 222 отчета КМП от 222 пациентов (35% – НМРЛ; 24% – КРР; 8% – РПЖ; 7% – РМЖ; 4% – РЖ; 22% – другие типы опухолей). 182 пациента проанализировано на панели FMI (82%), 40 – на панели Solo (18%). Среди 222 пациентов было выявлено всего 932 геномных альтерации (в среднем 4,2 альтерации на пациента). Изначально все альтерации были проанализированы в индивидуальном порядке, исходя из данных литературы, в последующем эти характеристики использовались как контроль при сравнении

БД. Наиболее часто мутации были обнаружены в генах *TP53* и *KRAS*, встречающихся у 116 (52,3%) и 63 (28,4%) пациентов соответственно.

Для 368 потенциально таргетируемых альтераций, которые были выявлены среди 171 (77%) пациентов, включенных в анализ, было собрано всего 1381 рекомендации по терапии. По большей части ассоциациям «мишень – препарат» был присвоен ESCAT IV (N=904, 67%) уровень значимости. ESCAT IIIA (N=137, 10,2%) и ESCAT I (N=112, 8,3%) были следующими наиболее распространенными установленными уровнями значимости (Рисунок 46).

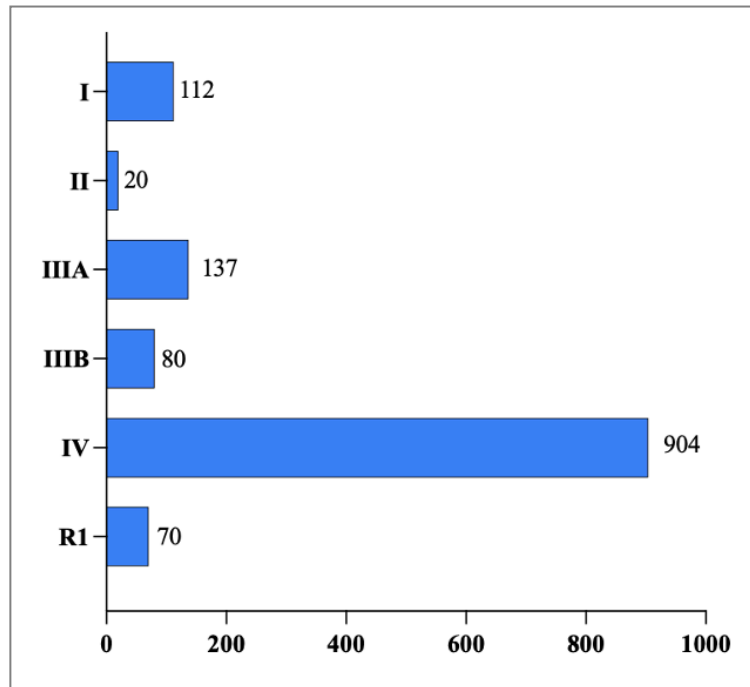


Рисунок 46 – Распределение альтераций по уровням значимости

Наиболее распространенными биомаркерами, которые были связаны с чувствительностью к терапии, были *CDKN2A* (обнаружен у 33 пациентов, 15%), *PIK3CA* (N=33, 15%), *NF1* (N=21, 9%), *PTEN* (N=13, 6%) и *EGFR* (N=12, 5%). Однако при анализе биомаркеров, связанных с уровнем ESCAT не ниже III распределение было следующим: *PIK3CA* (N=33, 15%), *BRAF* (N=22, 10%), *ERBB2* (N=19, 9%) и *ATM* (N=13, 6%). Наибольшее количество рекомендаций по терапии было дано пациентам с меланомой (в среднем 13,3 рекомендации на пациента), за которыми следовали пациенты с ХК, глиобластомой, РМЖ, КРР и НМРЛ (12,1, 11,5, 11,4, 7,6 и 5,6 рекомендации по терапии на пациента соответственно). Среди наиболее распространенных типов опухолей наименьшая доля пациентов без каких-либо рекомендаций по терапии наблюдалась для РМЖ (6%), затем для ХК (14%), КРР (15%), РЖ(22%), РПЖ(29%), НМРЛ (32%) и рака яичников (42%). Как и ожидалось, рекомендации по терапии уровня доказательности ESCAT IV были наиболее распространены среди всех типов опухолей,

составляя 67% всех рекомендаций. Среди наиболее распространенных типов опухолей рекомендации уровня доказательности ESCAT IV составляли 66%, 60%, 71%, 81%, 64%, 66% и 58% для НМПЛ, РЖ, РМЖ, РПЖ, КРР, рака яичников и ХК соответственно. Биомаркеры, входящие в стандарты определения (ESCAT I/OncoKB R1), чаще обнаруживались у пациентов с КРР (*RAS* – 84%; *BRAF* – 8%; *MSI* – 8%), НМПЛ (*EGFR* – 50%; *KRAS* – 25%; *ALK* – 17%; *BRAF* – 8%) и РМЖ (*BRCA1/2* – 33%; *PIK3CA* – 33%; *ERBB2* – 33%), и составляя 57 из 62 всех стандартных биомаркеров, обнаруженных в общей популяции пациентов. Кроме того, 90 (6,7%) рекомендаций были связаны с биомаркерами, ассоциированными с потенциальной устойчивостью (OncoKB R1, R2) к различным терапевтическим опциям, при этом мутации *KRAS* были наиболее распространенным биомаркером устойчивости.

Рекомендации по терапии для 222 пациентов были получены с использованием 6 БД, результаты были сопоставлены с исходными рекомендациями. За исключением CGA, рекомендации по терапии с уровнями доказательности ESCAT I, II, IIIA и IIIB были сопоставимо представлены в большинстве БД. Интерпретация вариантов вручную (на основе данных литературы) позволила установить рекомендации для МНТ с уровнями доказательности ESCAT I или II для 35 пациентов (16%). Использование БД MolecularMatch и CIViC позволило рекомендовать терапию на основании ESCAT I или II для 34 из них (97%), тогда как OncoKB и CGI для 33 из них (94%). Использование VICC и CGA оставило без вариантов лечения ESCAT I или II 6 (17%) и 20 (57%) пациентов соответственно (Рисунок 47).

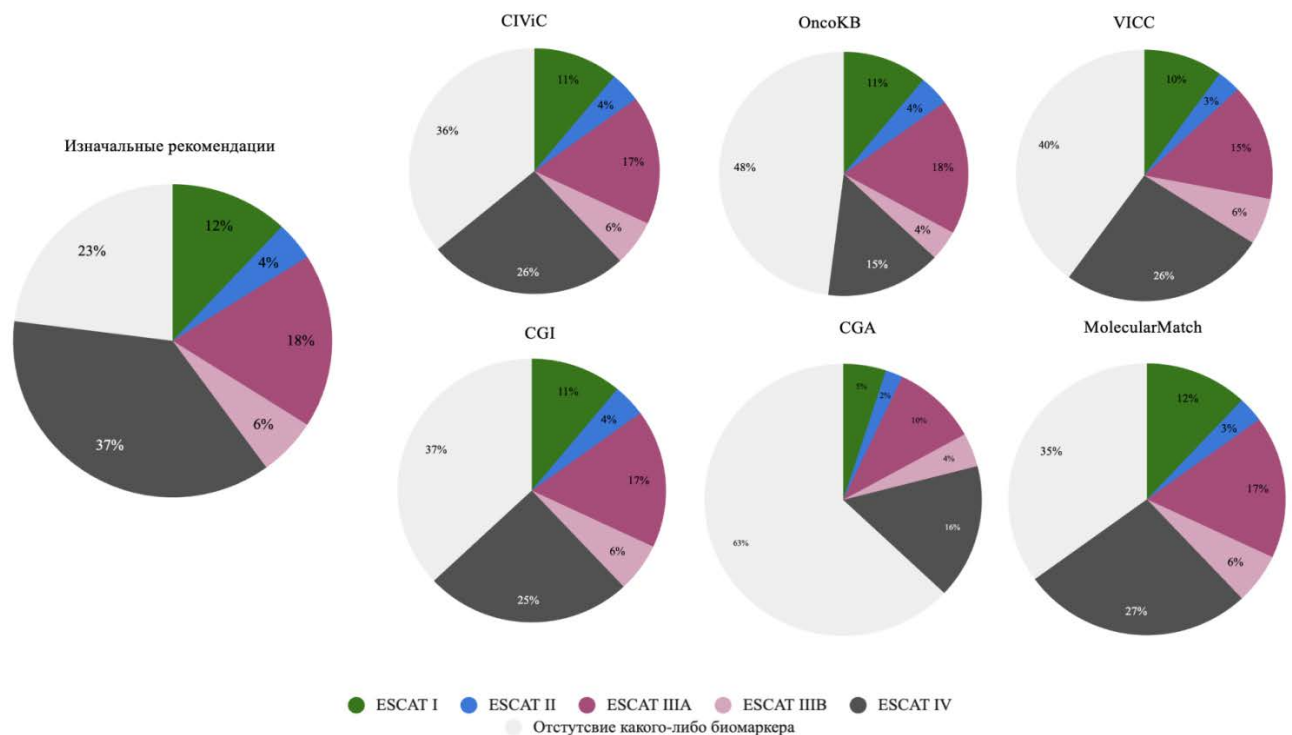


Рисунок 47 – Распределение пациентов по наивысшему уровню значимости ESCAT в зависимости от базы данных

Сходная эффективность была показана для 88 пациентов с рекомендациями по терапии как минимум уровня ESCAT IIIВ: только 2 (2%), 3 (3%), 4 (5%) и 6 (7%) пациентов остались без рекомендаций при использовании БД CIViC, MolecularMatch, CGI и OncoKB соответственно, в то время как VICC показала значительно более низкие результаты, оставив без рекомендаций 12 (14%) пациентов. Процент пациентов без таргетируемых биомаркеров был самым низким (52 пациента, 23%) для вручную подготовленных рекомендаций, по сравнению с использованием БД. MolecularMatch продемонстрировала самый высокий результат для рекомендации какой-либо МНТ (65%), тогда как OncoKB и CGA – самые низкие результаты (при использовании этих БД биомаркеры не были выявлены у 31% и 51% пациентов с рекомендациями по лечению соответственно).

При сравнении полноты информации в зависимости от уровня значимости (как ESCAT, так и OncoKB), представление информации начинало уменьшаться с уровня детализации L4 во всех БД (Рисунок 48). Наиболее полно представленным уровнем доказательности был R1, где 4 из 5 БД были информативны по отношению к уровням L1-L5. Примечательно, что уровень значимости ESCAT I был не так полноценно представлен, причем только 50% ассоциаций «альтерация-препарат» уровня L6 присутствовали во всех БД. Наименее представленным уровнем доказательности был ESCAT IV, с менее чем 20% ассоциаций «альтерация-препарат» уровня L5 и отсутствием критериев уровня L6. Наименее информативной БД для всех уровней ESCAT была БД CGA, за ней следовала MolecularMatch (Рисунок 47). При использовании всех БД, ассоциации «альтерация-препарат» уровня детализации L6, которые были выявлены через ручную интерпретацию, могли быть идентифицированы более эффективно. Однако с уменьшением уровня детализации выявлялось и меньше биомаркеров, которые могли бы быть использованы для принятия клинических решений.

При анализе времени, необходимого для интерпретации результатов КМП на одного пациента (один отчет) из всех проанализированных БД, CGI была самой легкодоступной, требующей в среднем 3,2 минуты для анализа данных одного пациента. CGA и OncoKB также требовали менее 10 минут (5,6 и 7,2 минуты соответственно). CIViC и VICC требовали больше всего времени, в среднем 26,2 и 35,9 минут соответственно.

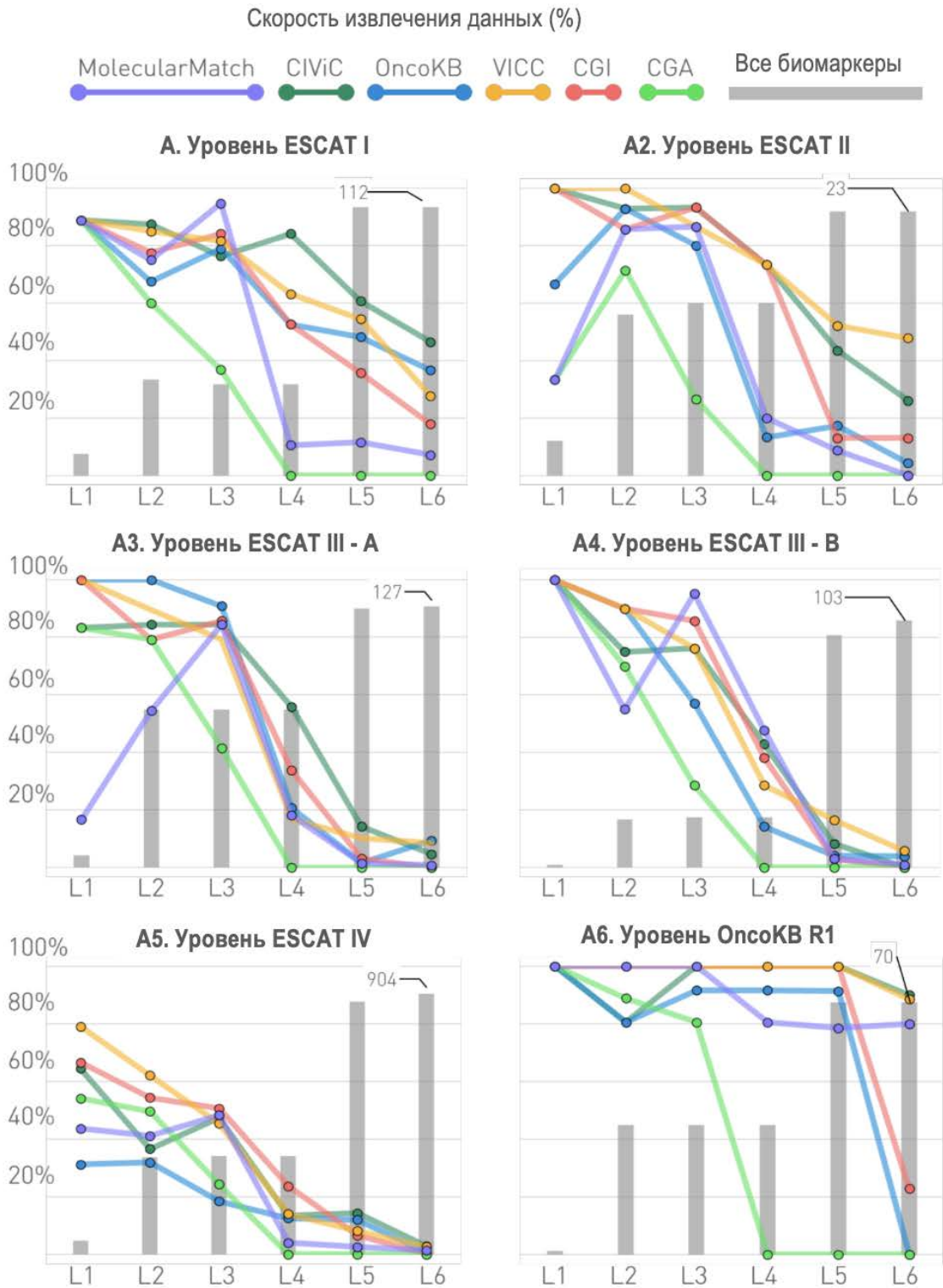


Рисунок 48 – Скорость предоставления информации в зависимости от базы данных и уровня детализации

Таким образом, доступные БД предоставляют значительную информацию о биомаркерах уровня доказательности ESCAT I и R1. Это означает, что эти БД могут использоваться для рекомендаций по лечению в рамках зарегистрированных показаний в клинической практике.

Представленность биомаркеров уровня значимости ESCAT II-IIIА была ниже, что подчеркивает необходимость ручной интерпретации. Для поиска рекомендаций по назначению терапии в случае выявления уровня значимости ESCAT IV потребуется использование нескольких БД с дополнительным поиском литературы для точной интерпретации молекулярных данных. Среди всех БД VICC предоставила наиболее полную информацию.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования проанализирован опыт проведения КМП в РФ. Нами было установлено, что в основном кандидатами для КМП являлись пациенты, которые уже получили в среднем 2 линии стандартной терапии с ограниченной эффективностью (медиана ВВП на предыдущей линии – 4 месяца). Кроме того, профилирование проводилось через длительное время от забора опухолевого материала – в среднем через 8 месяцев, в связи с чем часть молекулярных находок могла быть неактуальной для принятия клинических решений.

В работе проанализированы отчеты двух наиболее часто встречающихся в онкодиагностике РФ панелей: FDA-одобренной для ряда нозологий FMI и LDT-панели Solo Комплекс. При сравнении результатов профилирования различий не было установлено в спектре выявляемых клинически значимых альтераций, несмотря на различия в технических (число анализируемых генов) и клинических (гетерогенность включенных нозологий) характеристиках тестирования. Это свидетельствует о том, что в онкодиагностике предлагаемый объем секвенирования таргетной панелью избыточен и может быть применим лишь для поисковых клинических исследований. Для рутинной практики панели могут быть сокращены до анализа ряда наиболее часто повреждаемых генов и геномных сигнатур, выявление которых может потенциально повлиять на тактику ведения пациента.

По результатам нашего исследования частота рекомендации МНТ после проведения КМП в общей популяции пациентов составила 56,9%. Показатель не зависел от панели профилирования (56,5% при профилировании на панели FMI и 57,5% при профилировании на панели Solo, $p=0,83$) и несколько варьировал в зависимости от группы нозологий (опухоли ЖКТ – 54,9%, группа НМРЛ – 55,9%, другие опухоли – 62,9%). Кроме того, полученные в ходе работы данные были сопоставимы с ранее представленными данными литературы. Так, показатель потенциально таргетируемых альтераций в большинстве работ находился на уровне от 40% до 80% в зависимости от включенных нозологий и количества пациентов [4, 21, 41, 91, 94, 106, 145, 195, 206, 211]. Таким образом, частота рекомендации МНТ по результатам КМП соответствовала данным литературы. Как предполагалось, статистически значимой разницы в частоте рекомендации МНТ в зависимости от панели профилирования выявлено не было, то есть статистическая гипотеза о частоте рекомендации МНТ в РФ была выполнена. Также установлено, что наличие в отчете альтераций ESCAT I-II уровня с большей долей вероятности также отразится в наличии рекомендаций по терапии (ОШ 0,023, 95% ДИ 0,013-0,040, $p<0,001$).

В группе НМРЛ был установлен один из самых низких частот назначения МНТ (19,0%, на первом месте – КРР – 15,0%), что нестандартно для этой нозологии. Альтерации уровня ESCAT I-II выявлены в 14,7% и 4,6% случаев соответственно. Причина низкого выявления

ключевых биомаркеров, рекомендованных для тестирования объясняется особенностями негативной селекции пациентов с НМРЛ, которые были направлены на проведение КМП в данной когорте больных. В большинстве случаев КМП в выборке пациентов назначалось в ситуациях, когда стандартное молекулярно-генетическое тестирование уже было проведено, но не выявило значимых драйверных изменений. Так, информация о ранее выполненных исследованиях была доступна для 81 пациента (74%), из которых 48 уже проходили молекулярную диагностику с использованием традиционных методов. У 45 из этих пациентов (55,5%) не удалось выявить драйверные молекулярные альтерации в основных генах (*EGFR* 18-21 экзонов, *BRAF* V600E, транслокации *ALK*, *ROS1*, а также мутации *c-MET*, *ERBB2*, инсерции 20 экзона *EGFR*, транслокации *RET*, *NTRK1/2/3*). Это обстоятельство становилось основанием для назначения КМП, чтобы расширить спектр исследуемых биомаркеров и попытаться выявить ранее не диагностированные молекулярные изменения.

Однако более значимой характеристикой необходимости проведения КМП является частота реального назначения МНТ после получения рекомендаций по результатам КМП. В нашей работе показатель составил 23,2% (87 пациентов), что также соответствовало данным литературы. В схожих по дизайну ретроспективных работах показатель варьировал от 5 до 25% [4, 21, 41, 91, 106, 145, 195, 206, 211], и лишь в одной работе достиг 36% [182]. Выбор панели профилирования также не влиял на факт назначения МНТ пациенту (частота назначения в группе FMI – 19,7%, в группе Solo – 27,3%, $p=0,11$). При анализе по группам нозологий показатель составил 20,2% в подгруппе опухолей ЖКТ, 19,0% – в группе НМРЛ, 33,3% – в группе других опухолей. Однако этот анализ имеет ряд ограничений: отсутствие клинической информации у части пациентов, вероятность назначения МНТ в последующих линиях, информация о которых была недоступна.

С целью анализа причин низкой частоты назначения МНТ проведен регрессионный анализ. Нами было выявлено, что шанс назначения МНТ повышалось обсуждением результатов КМП и принятием решения в рамках специализированного консилиума (МТВ), отсутствием мутаций *RAS* как маркеров резистентности в преобладающей популяции пациентов (КРР). Что касается нозологий, то наибольшая вероятность назначения МНТ после КМП была выявлена при раке яичников (РЯ). Было предположено, что это может быть связано с доступностью PARP-ингибиторов в РФ и выявлением мутаций *BRCA1/BRCA2* или HRD. Однако при детальном анализе назначенной терапии, установлено, что из 8 случаев МНТ при РЯ PARP-ингибиторы были назначены лишь одному пациенту с мутацией *BARD1* Q350T, другие случаи были связаны с назначением BRAF/MEK-ингибиторов, а также иммунотерапии по поводу ТМВ 20 мутаций/Мб и такого гистологического подтипа как мелкоклеточный рак гиперкальцемического типа (варианты *SMARCA4*). В связи с чем результат поданализа о

нозологрии с наибольшей вероятностью назначения МНТ может считаться особенностью выборки.

Несмотря на то, что популяция пациентов, которым была назначена МНТ в целом была более предпочтена, нежели чем пациенты, после проведения КМП которым было принято решение о лечении без учета молекулярных альтераций, влияние числа линий до КМП и длительность ВБП1 не продемонстрировали статистически значимого влияния на факт назначения МНТ в многофакторном анализе. Таким образом, низкая частота назначения МНТ могла быть связана с низкой частотой обсуждения результатов КМП в рамках МТВ (из 363 случаев с доступной информацией о наличии МТВ, специализированный консилиум проведен лишь в 14% случаев (51 пациент), превалированием в общей когорте пациентов с ограниченными опциями таргетирования (опухоли ЖКТ – наиболее крупная подгруппа (54% от всех пациентов), в 71,9% случаев в когорте встречались КРР и рак поджелудочной железы). Другими причинами низкой частоты назначения МНТ, которые не могли войти в анализ, может являться низкая доступность КИ, а также особенности регулирования назначения off-label терапии в условиях РФ. Также по результатам многофакторного анализа нами была предложена модель, предиктивная относительно назначения МНТ. Было установлено, что частота выбора молекулярно-направленных опций после КМП значительно выше (46,2%) в том случае, если пациент либо имеет РЯ (2 балла), либо профилирование проводилось по поводу другой нозологии при отсутствии мутации генов *RAS* и при возможности проведения МТВ (суммарно 2 балла). В том случае, если у пациента с заболеванием помимо рака яичников, наличием мутации генов *RAS*, отсутствует возможность МТВ, проведение КМП несет наименьшую ценность, так как частота назначения МНТ в данном случае не превышала 20% (16,5%). Однако данная модель должна быть валидирована на более широкой выборке пациентов с гомогенным распределением по нозологиям.

Для оценки эффективности назначения МНТ было выбрано несколько критериев, которые ранее были включены в работы по анализу применимости КМП. В общей популяции пациентов проведение МНТ позволило достичь более высоких показателей ЧКБ, ЧОО, частоты ВБП2/1 $\geq 1,3$ и длительного ответа на терапию. Отсутствие влияния на ВБП2 (медиана 5 и 3 месяца в группе МНТ и не-МНТ) могло быть ассоциировано с тем, что характеристики пациентов группы МНТ были менее благоприятны в прогностическом плане: это были пациенты с большим числом линий в анамнезе (медиана 2 против 1 линии). Кроме того, в группе не-МНТ решение о МНТ пациентам все же могло быть принято на этапе после стандартной линии терапии, что и может объяснять отсутствие влияния на ВБП2, но наличие пограничного статистического различия в ОВ между двумя группами (медиана 12 и 8 месяцев в группах МНТ не-МНТ). Однако необходимо упомянуть об ограничении исследования: работа

представляла собой ретроспективное многоцентровое исследование, в связи с чем часть клинической информации могла быть неполной. Также стоит отметить большую прослеженность пациентов группы МНТ в связи с приверженностью таких пациентов одной клиники (отсутствие мобильности и потери данных) и более тщательным наблюдением в лечебных учреждениях за назначением дорогостоящих таргетных и иммунопрепаратов, терапии off-label. Другим объяснением наличия погранично значимого влияния на ОВ и отсутствие влияния на ВБП2 может быть не значимость подобранной по молекулярным характеристикам терапии, а клинические характеристики пациентов.

С целью определения наиболее подходящих кандидатов для проведения КМП и назначения МНТ был проведен анализ в зависимости от нозологий. В подгруппе опухолей ЖКТ назначение МНТ влияло на ЧОО, частоту достижения ВБП2/1 $\geq 1,3$, длительных ответов на терапию, но также как и в общей группе разница в ВБП2 отсутствовала, а в ОВ – была пограничной. Наибольшее влияние на показатели выживаемости в группе опухолей ЖКТ имели такие факторы как соматический статус по шкале ECOG 0-1, а также выявление в отчетах КМП альтераций I-II уровня по шкале ESCAT (альтерации этого уровня могут быть выявлены конвенционными методами без применения методики NGS). В подгруппе НМРЛ назначение МНТ отразилось лишь в увеличении показателя ЧКБ, не повлияв на другие суррогатные конечные точки и на отдаленные результаты лечения. Факторный анализ не позволил выявить параметры, от которого бы зависела выживаемость пациентов с НМРЛ. Для группы НМРЛ, в частности, аденокарцином легкого, показатели применимости КМП оказались невысокими, что создает ряд вопросов к выборке пациентов нашего исследования. Вероятно, в выявленной закономерности имеет место негативная селекция пациентов: то есть пациенты с НМРЛ могли быть направлены на КМП в случае отсутствия альтераций, проанализированных конвенциональными методами. Соответственно, те же клинически значимые альтерации не были выявлены и методикой NGS. В группе других опухолей назначение МНТ имело сопоставимые результаты с также назначением стандартной терапии как в суррогатных, как в отдаленных показателях. Таким образом, полученные результаты в общей когорте пациентов были связаны с достижением эффектов лечения в подгруппе опухолей ЖКТ. В других же подгруппах МНТ продемонстрировала себя как опция лечения со скромной эффективностью, однако по показателям эффективности нумерически не уступая решениям в пользу стандартных опций терапии. Это было подтверждено и при исключении из анализа пациентов, МНТ которым была назначена по поводу альтерации ESCAT I, за счет которых и был получен основной выигрыш в когорте пациентов МНТ. Отдаленные результаты были не хуже, чем назначение стандартной терапии без учета молекулярных альтераций. В связи с этими данными

МНТ может рассматриваться как одна из линий лечения, однако, с ограниченной эффективностью.

Далее было проанализировано влияние ряда параметров на отдаленные результаты лечения пациентов. Клинические характеристики имели наиболее значимое влияние на ОВ: число линий до КМП (предлеченность пациентов <3 линий), сохраненный соматический статус (ECOG PS 0-1). Также на ОВ влияли параметры, связанные с прецизионным подходом: позитивное влияние было установлено при проведении МТВ и при назначении МНТ. Однако с целью определения наиболее подходящей для назначения МНТ когорты пациентов была сформирована прогностическая модель по результатам многофакторного анализа. Согласно ей, наибольшая целесообразность назначения МНТ была выявлена в случае наличия у пациентов ≥ 2 баллов, согласно прогностической модели (<3 линий терапии до КМП, соматический статус по шкале ECOG 0-1 и возможность проведения МТВ). Самые высокие показатели ОВ наблюдались при реализации всех трех факторов (в случае назначения МНТ мОВ 5 против 18 месяцев, но не в случае проведения не-МНТ – мОВ 5 месяцев вне зависимости от балла прогностической модели). Такая прогностическая модель может упростить подход к решению спорного вопроса о назначении МНТ

Кроме того, при дальнейшем анализе группа благоприятного прогноза (наличие 2-3 параметров) имела достоверный выигрыш от назначения МНТ даже в случае выявления альтераций ESCAT III–V. То есть, при выявлении альтераций за пределами стандартов в случае <3 линий терапии по КМП, сохраненного соматического статуса, мультидисциплинарного обсуждения с молекулярными биологами назначение МНТ может быть наиболее целесообразным. Это свидетельствует о том, что критерии прогностической модели могут стать вспомогательными факторами для принятия решений клиницистом после получения отчета КМП с наличием максимального уровня таргетируемости ESCAT III-IV.

При оценке клинических исходов пациентов в зависимости от панели профилирования, однако, было выявлено статистически значимое различие в ОВ пациентов: при профилировании с помощью панели FMI мОВ составила 10 месяцев против 6 месяцев при применении панели Solo (ОР 0,71, 95% ДИ 0,55-0,93, $p=0,01$). С целью определения причин был проведен факторный анализ, который позволил установить, что наиболее значимыми факторами, влияющими на ОВ, являются <3 линий до КМП, статус по шкале ECOG 0-1, проведение МТВ, назначение МНТ. Различия в ОВ между группами профилирования могли быть связаны с наличием большего числа линий до лечения среди пациентов группы Solo ($p=0,02$), а также с гетерогенностью групп по нозологиям. Кроме того, было отмечена большая частота встречаемости в группе Solo отчетов с максимальным уровнем по шкале ESCAT I. Это может

говорить о том, что данные альтерации уже были выявлены ранее конвенциональными методами, и повторное воздействие на них уже невозможно.

Учитывая избыточность объема таргетного секвенирования, нами был сформулирован минимальный объем профилирования вне зависимости от нозологии с целью покрытия всех клинически значимых генов, выявление альтераций в которых позволит назначить МНТ именно в условиях РФ. Для одномоментного профилирования предлагается анализ CNV/indel 19-ти генов: *BRAF*, *BRCA2*, *EGFR*, *ERBB2*, *PIK3CA*, *FGFR2*, *PALB2*, *BRCA1*, *IDH1*, *KRAS*, *MET*, *POLE*, *AKT1*, *PTEN*, *NRAS*, *CDKN2A*, *FGFR3*, *CDK12*, *TP53* оценка наличия амплификации 5-ти генов: *ERBB2*, *EGFR*, *FGFR2*, *MET*, *FGFR3*, анализ наличия транслокаций 8-ми генов *ALK*, *FGFR2*, *NTRK1/2/3*, *ROSI*, *RET*, *FGFR3* и оценка биомаркеров MSI, PD-L1. В панель вышли все альтерации уровня ESCAT I, R1 по данным литературы и альтерации, назначение МНТ по поводу которых позволило добиться клинических результатов в результате ретроспективной части нашей работы. Помимо этого, в предложенную панель для анализа альтераций был добавлен ген *TP53*, учитывая прогностическое и предиктивное влияние ко-мутаций в ряде опухолей. Таким образом, минимальное число анализируемых генов составило 26 с дополнительным определением биомаркеров чувствительности к иммунотерапии. Несомненно большая часть альтераций, в частности которые относятся к ESCAT I/R1, могут быть определены конвенциональными методами, и предложенная панель не является универсальной для любой нозологии. Помимо этого, для ранжирования генов были использованы обновляющиеся с течением времени данные присутствия биомаркера в клинических рекомендациях, а также доступность препарата в РФ, в связи с чем панель может быть модифицирована с течением времени. Однако очевидно, что в онкологической практике в РФ объем профилирования может быть значительно снижен без потери в предлагаемой пациенту клинической пользе.

Далее в рамках работы был проведен анализ опыта первого в РФ специализированного консилиума (МТВ). Нами было продемонстрировано, что принятие решений МТВ имеет большую вероятность быть молекулярно обоснованным, чем принятие решения самостоятельно только лечащим врачом пациента (51% против 17,6%, $p < 0,01$). Однако в группе МТВ чаще встречались альтерации уровня ESCAT II-III, и реже – V/X, что говорит о том, что в рамках консилиума заведомо обсуждались пациенты с большим шансом назначения МНТ. Значимых различий в показателях эффективности между двумя группами выявлено не было. Назначение МНТ в рамках МТВ позволило увеличить частоту достижения ВП2/1 $\geq 1,3$, а также имело пограничное влияние на ОВ. Однако в группе принятия решения лишь лечащим врачом чаще находились отчеты с уровнем ESCAT I, что объясняет эффективность терапии в данной группе. Кроме того, необходимо отметить, что набор пациентов в исследование проводился

в 5 крупных онкологических центрах Москвы и Санкт-Петербурга, и самостоятельное решение врача не может транслироваться в практику региональных учреждений. То есть решения врачей могут отличаться в зависимости от учреждения и региона предоставления медицинской помощи. Это поднимает вопрос необходимости расширения географии исследовательской работы. Однако очевидно, МТВ является вспомогательным инструментом для принятия решения по поводу необходимости назначения МНТ. Оценка эффективности МНТ в этой группе требует дальнейшего набора и анализа в зависимости от нозологий.

Также в рамках работы проанализирован спектр молекулярных альтераций. Нарушения в гене *TP53*, которые не являются таргетируемыми, встречались в подавляющем большинстве случаев (46%, равномерное распределение между двумя панелями). Следующими по встречаемости стали альтерации гена *KRAS* (28%) и *PIK3CA* (15%) в группах обеих панелей. Другие более редкие альтерации были представлены в меньшем проценте случаев. При дальнейшем сравнении встречаемости клинически значимых альтераций по нозологиям, обе панели продемонстрировали отсутствие статистически значимых различий при КРР, НМРЛ, раке яичников. Несколько различий в спектре альтераций было зафиксировано при раке желудка, ХК, РМЖ, раке поджелудочной железы при профилировании разными панелями, что может быть объяснимо небольшим числом пациентов в выборках.

Отдельно необходимо выделить важность интерпретации и присвоения уровня таргетируемости выявленным альтерациям. Наиболее часто применяемая шкала ESCAT не демонстрирует свою универсальность: в нашей работе таргетирование лишь ESCAT I продемонстрировало влияние на показатели эффективности МНТ, тогда как таргетирование ESCAT II-V/X не приводило к клинически значимым изменениям в отличие от выбора стандарта терапии. Это свидетельствует о том, что ESCAT – это искусственно созданная классификация, и опираться лишь на нее – не оптимально в плане принятия клинических решений. Использование БД также не позволяет получить консолидированную информацию по биомаркерам ESCAT III и ниже, что снижает доверие к этому источнику информации. Однако БД могут использоваться для получения предварительных гипотез о возможностях назначения МНТ по результатам КМП, но итоговое решение должно оставаться на усмотрение лечащего врача/МТВ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведение КМП в настоящее время является новой опцией в практике врачей-онкологов, которая потенциально может повлиять на развитие прецизионного подхода в онкологии. В нашем исследовании было продемонстрировано, что частота рекомендации терапии, основанной на молекулярных находках, соответствует данным литературы и составляет 56,9%. Частота же реального назначения молекулярно-направленного лечения значительно ниже частоты рекомендации и составляет 23,2% (или 16,3% при исключении альтераций, которые могли быть определены конвенциональными способами), то есть из всех пациентов, которым назначено КМП, лишь у 1/5 результат повлияет на смену тактики лечения.

Было продемонстрировано влияние МНТ на непосредственные результаты лечения пациентов, однако увеличение показателей объективных ответов и частоты контроля заболевания не транслировалось в значимые различия в отдаленных результатах, и имело пограничное влияние на общую выживаемость, что требует дальнейшего изучения в более крупных когортах пациентов в зависимости от нозологии.

Впервые в нашей стране проведен анализ спектра выявляемых альтераций в зависимости от нозологии, а также проанализирован опыт проведения специализированного консилиума по результатам КМП. МТВ позволяет с большей вероятностью рекомендовать пациенту МНТ, что

Изначальная задача исследования – оценка частоты рекомендации МНТ и сравнение показателя в зависимости от FDA-одобренной панели (FMI) с панели собственной разработки лаборатории (Solo) – была выполнена: обе панели позволяют рекомендовать МНТ в эквивалентном числе случаев. Также панели не различались по финальным показателям клинической эффективности.

ВЫВОДЫ

1. Спектр молекулярных альтераций, выявляемых при применении мультигенных панелей Solo и FMI был представлен биомаркерами уровня таргетируемости ESCAT I – в 15,4%, II – 4,9%, III – 31,5%, IV – 19,6%, V/X – 28,6% случаев. Альтерации, которые могут быть использованы для подбора терапии в реальной клинической практике (ESCAT I-II), после проведения КМП в общей популяции встречались в 20,3% случаев.

2. По результатам только отчетов КМП рекомендации по молекулярно-направленной противоопухолевой терапии были получены в 56,9% случаев. Частота проведения МНТ была ниже показателя рекомендаций и составила 23,2%.

3. Применение МНТ позволило улучшить показатели ЧКБ (61,3% против 37,1%, $p < 0,01$), ЧОО (24% против 9,2%, $p < 0,01$), ВБП2/1 (45,0% против 16,2%, $p < 0,01$), частоты длительных ответов на терапию (49,2% против 28,3%, $p = 0,02$), однако не имело влияния на ВБП2 (мВБП2 5 против 3 месяцев, ОР 0,78, 95% ДИ 0,58-1,07, $p = 0,11$) и пограничное влияние – на ОВ (мОВ 12 против 8 месяцев, ОР 0,74, 95% ДИ 0,54-1,02, $p = 0,06$).

4. Наибольшая целесообразность назначения МНТ была выявлена в случае наличия у пациентов ≥ 2 баллов согласно прогностической модели (< 3 линий терапии до КМП, соматический статус по шкале ECOG 0-1 и возможность проведения МТВ). Самые высокие показатели ОВ наблюдались при реализации всех трех факторов (в общей популяции и в случае назначения МНТ, но не в случае проведения не-МНТ).

5. К минимуму анализируемых альтераций в генах, которые необходимо учитывать при создании мультигенных панелей, относятся:

- SNV/indel: *BRAF, BRCA2, EGFR, ERBB2, PIK3CA, FGFR2, PALB2, BRCA1, IDH1, KRAS, MET, POLE, AKT1, PTEN, NRAS, CDKN2A, FGFR3, CDK12, TP53*;
- CNV: *ERBB2, EGFR, FGFR2, MET, FGFR3*;
- Перестройки: *ALK, FGFR2, NTRK1/2/3, ROS1, RET, FGFR3*;
- Дополнительные биомаркеры: MSI, PD-L1.

6. Проведение МТВ на территории РФ позволило рекомендовать МНТ в 51% случаев, что соответствует данным зарубежного опыта. Однако эффективность назначенной МНТ в результате решения МТВ или самостоятельным решением врача привела к увеличению частоты достижения ВБП2/1 $\geq 1,3$ (42,9% против 39,5%, $p = 0,01$), а также к пограничному влиянию на ОВ (мОВ 14 против 8 месяцев, ОР 0,67, 95% ДИ 0,43-1,04, $p = 0,06$), без статистически значимого влияния на другие показатели эффективности.

7. Доступные БД предоставляют значительную информацию о биомаркерах уровня доказательности ESCAT I и R1. Использование баз данных не позволяет получить

консолидированную информацию по биомаркерам ESCAT III и ниже, что подчеркивает необходимость ручной интерпретации.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При интерпретации результатов КМП важно учитывать не только биомаркеры уровня ESCAT I-II, то и уровня ESCAT III и ниже, так как они могут представлять собой опции лечения при исчерпании стандартных подходов.

2. При решении вопроса о МНТ после проведения КМП необходимо ориентироваться на прогностическую модель: пациенты с ≥ 2 баллами (< 3 линий терапии до КМП, ECOG PS 0-1, возможность проведения МТВ) имеют наибольшую пользу от МНТ.

3. Проведение МТВ должно быть доступно в онкологических медицинских центрах в случае проведения пациенту КМП.

4. Объем панели КМП при злокачественных солидных опухолях (при нозологиях, включенных в работу) может быть сокращен до анализа 25 ключевых генов (*BRAF*, *BRCA2*, *EGFR*, *ERBB2*, *PIK3CA*, *FGFR2*, *PALB2*, *BRCA1*, *IDH1*, *KRAS*, *MET*, *POLE*, *AKT1*, *PTEN*, *NRAS*, *CDKN2A*, *FGFR3*, *CDK12*, *ALK*, *NTRK1/2/3*, *ROS1*, *RET*, *TP53*) и биомаркеров (MSI, PD-L1).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БД	– база данных
ВБП	– выживаемость без прогрессирования
ВБП1	– выживаемость без прогрессирования на линии до проведения КМП
ВБП2	– выживаемость без прогрессирования на линии после проведения КМП
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКТ	– желудочно-кишечный тракт
ИГХ	– иммуногистохимическое исследование
ИКТ	– ингибиторы контрольных точек
КИ	– клиническое исследование
КМП	– комплексное молекулярное профилирование
КП	– клиническая польза
КРР	– колоректальный рак
мВБП	– медиана выживаемости без прогрессирования
МНТ	– молекулярно-направленная терапия
мОВ	– медиана общей выживаемости
НМРЛ	– немелкоклеточный рак легкого
НПО	– невыявленный первичный очаг
ОВ	– общая выживаемость
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РЖ	– рак желудка
РКИ	– рандомизированное клиническое исследование
РМЖ	– рак молочной железы
РНК	– рибонуклеиновая кислота
РПЖ	– рак поджелудочной железы
РПрЖ	– рак предстательной железы
РЭ	– рак эндометрия
РЯ	– рак яичников
ХК	– холангиокарцинома
цодНК	– циркулирующая опухолевая ДНК
ЧКБ	– частота контроля болезни
ЧОО	– частота объективных ответов
CNV	– вариация числа копий гена
CUP	– cancer of unknown primary, опухоль из невыявленного первичного очага

dMMR	– дефицит системы репарации неспаренных оснований
EMA	– European Medical Agency, Европейское агентство лекарственных средств
ER	– estrogen receptor, эстрогеновые рецепторы
FDA	– Food and Drug Administration, управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств
FISH	– fluorescent hybridization in situ, флуоресцентная гибридизация in situ
FMI	– FoundationOne®
HER2	– human epidermal growth factor 2, эпидермальный фактор роста человека 2 -го типа
HGP	– Human Genome Project, проект «Геном человека»
HRD	– homologous recombination deficiency, дефицит гомологичной рекомбинации
HRR	– homologous recombination repair, система гомологичной рекомбинации
ICER	– incremental cost-effectiveness ratio, коэффициент экономической эффективности
Indel	– вставки/делеции
ISH	– in situ hybridization, гибридизация in situ
LDT	– laboratory – developed test, тест собственной разработки лаборатории
LOH	– loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности
LY	– life years, годы жизни
MMR	– mismatch repair, система репарации ошибочно спаренных нуклеотидов
MSI	– microsatellite instability, микросателлитная нестабильность
MTB	– molecular tumor board, специализированный консилиум
NGS	– секвенирование следующего поколения
PD	– progressive disease, прогрессирование заболевания
PD-L1	– programmed death ligand 1 – лиганд запрограммированной гибели клетки
PR	– partial response, частичный ответ на лечение
PR	– progesterone receptor, прогестероновые рецепторы
QALY	– quality-adjusted life years, годы жизни с поправкой на качество
RNA-Seq	– РНК-секвенирование
SD	– stable disease, стабилизация заболевания
SNV	– однонуклеотидные замены
TCGA	– The Cancer Genome Atlas, проект «Атлас ракового генома»
TMB	– tumor mutational burden, мутационная нагрузка
VUS	– variant of unknown significance, вариант неизвестной клинической значимости
WES	– whole exome sequencing, полноэкзомное секвенирование
WGS	– whole genome sequencing, полногеномное секвенирование

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. BRCA-ассоциированный рак яичников: обзор современной литературы / Т.Е. Тихомирова, А.С. Тюляндина, А.А. Румянцев, [и др.] // Тазовая хирургия и онкология. – 2022. – Т. 12, № 3. – С. 56-62.
2. Геномед. Комплексный анализ на наличие мутаций в генах. – URL: <https://price.genomed.ru/analysis/view?id=1687> (дата обращения: 22.01.2024).
3. Диагностика наследственных опухолевых синдромов методом высокопроизводительного секвенирования. Опыт создания базы данных / И.С. Абрамов, Т.С. Лисица, А.М. Строганова [и др.] // Клиническая практика. – 2021. – Т. 12, № 3. – С. 36-42.
4. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова. – Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. – 252 с.
5. Комплексный анализ герминальных и соматических мутаций в генах BRCA1/2 у больных раком яичников: промежуточный анализ проспективного наблюдательного исследования OVATAR / А.С. Тюляндина, Т.В. Кекеева, В.А. Горбунова [и др.] // Злокачественные опухоли. – 2017. – Т. 7, № 3-S1. – С. 193-194.
6. ОнкоАтлас. – URL: <https://oncoatlas.ru/category/services/> (дата обращения: 14.11.2023).
7. Практические аспекты тестирования наследственных мутаций в генах BRCA1/2: позиция Межрегиональной организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии / Е. Имянитов, М. Филипенко, Т. Кекеева, И. Демидова // Вопросы онкологии. – 2022. – Т. 68, № 3. – С. 260-266.
8. Федянин, М.Ю. Потенциальные предикторы эффективности анти-EGFR-терапии при метастатическом раке толстой кишки / М.Ю. Федянин, А.А. Трякин, С.А. Тюляндин. // Онкологическая колопроктология. – 2013. – № 2. – С. 21-30.
9. A decision support framework for genomically informed investigational cancer therapy / F. Meric-Bernstam, A. Johnson, V. Holla [et al.] // J. Natl. Cancer Inst. – 2015. – Vol. 107, № 7. – P. djv098.
10. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of Molecular Targets (ESCAT) / J. Mateo, D. Chakravarty, R. Dienstmann [et al.] // Ann. Oncol. – 2018. – Vol. 29, № 9. – P. 1895-1902.
11. A phase II and co-clinical study of an AKT inhibitor in patients (pts) with biomarker-enriched, previously treated metastatic colorectal cancer (mCRC) / A. Dasari, M. Overman, D.R. Fogelman [et al.] // JCO. – 2016. – Vol. 34. – P. 3563-3563.

12. A Retrospective Analysis of Biliary Tract Cancer Patients Presented to the Molecular Tumor Board at the Comprehensive Cancer Center Munich / D. Zhang, K. Dorman, K. Heinrich [et al.] // *Target Oncol.* – 2023. – Vol. 18. – P. 767-776.
13. A systematic comparison of whole genome sequencing and targeted panel sequencing for precision oncology / J-H. Park, E. Connolly-Strong, Y.T. Kim, Y.S. Ju // *J. Clin. Oncol.* – 2023. – Vol. 41, 16_suppl. – P. 8546-8546.
14. A transforming KIF5B and RET gene fusion in lung adenocarcinoma revealed from whole-genome and transcriptome sequencing / Y.S. Ju, W.C. Lee, J.Y. Shin [et al.] // *Genome Res.* – 2012. – Vol. 22, № 3. – P. 436-445.
15. Acquired resistance of EGFR-mutant lung cancer to a T790M-specific EGFR inhibitor: Emergence of a third mutation (C797S) in the EGFR tyrosine kinase domain / H.A. Yu, S.K. Tian, A.E. Drilon [et al.] // *JAMA Oncol.* – 2015. – Vol. 1, № 7. – P. 982-984.
16. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain / W. Pao, V.A. Miller, K.A. Politi [et al.] // *PLoS Med.* – 2005. – Vol. 2, № 3. – e73.
17. ACT Genomics. Contact. – URL: <https://www.actgenomics.com/contact> (дата обращения: 05.11.2023).
18. Albiogen. TruSight Oncology 500. – URL: https://www.albiogen.ru/nabor_reagentov/nabory-reagentov/trusight-oncology-500.
19. Analysis of N-RAS exon-1 mutations in myelodysplastic syndromes by polymerase chain reaction and direct sequencing / M. Bar-Eli, H. Ahuja, N. Gonzalez-Cadavid [et al.] // *Blood.* – 1989. – Vol. 73, № 1. – P. 281-283.
20. Anti-tumor efficacy of a potent and selective non-covalent KRASG12D inhibitor / J. Hallin, V. Bowcut, A. Calinisan [et al.] // *Nat. Med.* – 2022. – Vol. 28, № 10. – P. 2171-2182.
21. Application of comprehensive genomic profiling-based next-generation sequencing assay to improve cancer care in a developing country / C. Cifuentes, M. Lombana, H. Vargas [et al.] // *Cancer Control.* – 2023. – Vol. 30. – P. 10732748231175256.
22. Application of next-generation sequencing to improve cancer management: A review of the clinical effectiveness and cost-effectiveness / O. Tan, R. Shrestha, M. Cunich, D.J. Schofield. // *Clin. Genet.* – 2018. – Vol. 93, № 3. – P. 533-544.
23. Assessment of clinical benefit of integrative genomic profiling in advanced solid tumors / E.F. Cobain, Y.M. Wu, P. Vats [et al.] // *JAMA Oncol.* – 2021. – Vol. 7, № 4. – P. 525-533.
24. Association of Biomarker-Based Treatment Strategies With Response Rates and Progression-Free Survival in Refractory Malignant Neoplasms: A Meta-analysis / M. Schwaederle, M. Zhao, J.J. Lee [et al.] // *JAMA Oncol.* – 2016. – Vol. 2, № 11. – P. 1452-1459.

25. Bekaii-Saab, T.S. Practical considerations in screening for genetic alterations in cholangiocarcinoma / T.S. Bekaii-Saab, J. Bridgewater, N. Normanno // *Ann. Oncol.* – 2021. – Vol. 32. – P. 1111-1126.
26. Berger, M.F. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine / M.F. Berger, E.R. Mardis // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2018. – Vol. 15, № 6. – P. 353-365.
27. BGI. BGI Sentis Cancer Discovery Panel. – URL: <https://www.bgi.com/global/service/bgi-sentis-cancer-discovery-panel> (дата обращения: 11.08.2024).
28. Biliary Tract Cancers, National Comprehensive Cancer Network® (NCCN) Version 2.2023, 10.05.2023. – URL: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1517>.
29. Bourret, P. Genomic expertise in action: molecular tumour boards and decision-making in precision oncology / P. Bourret, A. Cambrosio // *Sociol Health Illn.* – 2019. – Vol. 41, № 8. – P. 1568-1584.
30. BRCA1 and BRCA2 mutations in ovarian cancer patients from Belarus: update / A. Savanevich, O. Ashuryk, C. Cybulski [et al.] // *Hered Cancer Clin. Pract.* – 2021. – Vol. 19. – P. 13.
31. Breast cancer experience of the molecular tumor board at the University of California, San Diego Moores Cancer Center / B.A. Parker, M. Schwaederlé, M.D. Scur [et al.] // *J. Oncol. Pract.* – 2015. – Vol. 11, № 6. – P. 442-449.
32. Cancer genome landscapes / B. Vogelstein, N. Papadopoulos, V.E. Velculescu [et al.] // *Science.* – 2013. – Vol. 339, № 6127. – P. 1546-1558.
33. Case Report: Progressive disease of BRCA2-mutant colon adenocarcinoma following talazoparib therapy / E. Polyanskaya, A. Lebedeva, O. Kuznetsova [et al.] // *Front. Oncol.* – 2023. – Vol. 13. – 1245547.
34. Chaudhari, V.S. Cost-effectiveness of precision molecular diagnostic tests for stage II colorectal cancer / V.S. Chaudhari, A.M. Issa // *Ann. Transl. Med.* – 2022. – Vol. 10, № 23. – P. 1260.
35. Circulating tumor DNA as a non-invasive substitute to metastasis biopsy for tumor genotyping and personalized medicine in a prospective trial across all tumor types / R. Lebofsky, C. Decraene, V. Bernard [et al.] // *Mol. Oncol.* – 2015. – Vol. 9, № 4. – P. 783-790.
36. CIViC is a community knowledgebase for expert crowdsourcing the clinical interpretation of variants in cancer / M. Griffith, N. Spies, K. Krysiak [et al.] // *Nat. Genet.* – 2017. – Vol. 49. – P. 170-174.
37. Clinical Actionability of Comprehensive Genomic Profiling for Management of Rare or Refractory Cancers / K.M. Hirshfield, D. Tolkunov, H. Zhong [et al.] // *Oncologist.* – 2016. – Vol. 21, № 11. – P. 1315-1325.

38. Clinical and analytical validation of FoundationOne® CDx, a comprehensive genomic profiling assay for solid tumors / C.A. Milbury, J. Creeden, W.K. Yip [et al.] // *PLoS One*. – 2022. – Vol. 17, № 3. – P. e0264138.
39. Clinical applicability and cost of a 46-gene panel for genomic analysis of solid tumours: Retrospective validation and prospective audit in the UK National Health Service / A. Hamblin, S. Wordsworth, J.M. Fermont [et al.] // *PLoS Med*. – 2017. – Vol. 14, № 2. – P. e1002230.
40. Clinical benefit of a precision medicine based approach for guiding treatment of refractory cancers / M. Radovich, P.J. Kiel, S.M. Nance [et al.] // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7. – P. 56491-56500.
41. Clinical benefit of comprehensive genomic profiling for advanced cancers in India / A. Mathew, S. Joseph, J. Boby [et al.] // *JCO Glob Oncol*. – 2022. – Vol. 8. – P. E2100421.
42. Clinical characterization and therapeutic outcomes of patients (pts) with colorectal cancer (CRC) harboring somatic BRCA1/2 mutations / D. Bhamidipati, J. Haro-Silerio, E.E.E. Dumbrava [et al.] // *JCO*. – 2024. – Vol. 42. – P. 134-134.
43. Clinical classification of BRCA1 DNA missense variants: H1686Q is a novel pathogenic mutation occurring in the ontogenetically invariant THV motif of the n-terminal BRCT domain / G. Giannini, C. Capalbo, L. Ottini [et al.] // *J. Clin. Oncol*. – 2008. – Vol. 26, № 25. – P. 4212-4215.
44. Clinical Outcomes of Molecular Tumor Boards: A Systematic Review / K.L. Larson, B. Huang, H.L. Weiss [et al.] // *JCO Precis Oncol*. – 2021. – Vol. 5. – P. PO.20.00495.
45. Clinical relevance of KRAS in human cancers / S. Jancík, J. Drábek, D. Radzioch, M. Hajdúch // *J. Biomed Biotechnol*. – 2010. – Vol. 2010. – P. 150960.
46. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence / M.J. Landrum, J.M. Lee, M. Benson [et al.] // *Nucleic Acids Res*. – 2018. – Vol. 46. – P. D1062-D1067.
47. Cohen, M.H. U.S. Food and Drug Administration Drug Approval Summary: conversion of imatinib mesylate (STI571; Gleevec) tablets from accelerated approval to full approval / M.H. Cohen, J.R. Johnson, R. Pazdur // *Clin. Cancer Res*. – 2005. – Vol. 11, № 1. – P. 12-19.
48. Comparative Analysis of Public Knowledge Bases for Precision Oncology / S. Pallarz, M. Benary, M. Lamping [et al.] // *JCO Precis Oncol*. – 2019. – Vol. 3. – P. PO.18.00371.
49. Comparison of a large NGS panel to hot-spot testing and small panels for the ability to accurately stratify advanced colorectal cancer patients to appropriate treatment pathways / S. Lyle, W. Powers, J. Xu [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2016. – Vol. 34, № 4_suppl. – P. 510.
50. Comparison of Large, Medium, and Small Solid Tumor Gene Panels for Detection of Clinically Actionable Mutations in Cancer / E. Vail, Song J, Xu J [et al.] // *Targeted Oncol*. – 2020. – Vol. 15, № 4. – P. 523-530.

51. Comparison of the clinical utility of two different size next generation sequencing (NGS) gene panels for solid tumours / B. Özdemir, M. Charrier, C.L. Gerard [et al.] // MAP 2020 Virtual Congress, 9-10 October 2020. – 2020. – Vol. 31, № S5. – P. S1219
52. Comparison of treatment recommendations by molecular tumor boards worldwide / D.T. Rieke, M. Lamping, M. Schuh [et al.] // JCO Precis Oncol. – 2018. – Vol. 2. – P. 1-14.
53. Complex landscapes of somatic rearrangement in human breast cancer genomes / P.J. Stephens, D.J. McBride, M.L. Lin [et al.] // Nature. – 2009. – Vol. 462, № 7276. – P. 1005-1010.
54. Comprehensive genomic profiling in routine clinical practice leads to a low rate of benefit from genotype-directed therapy / T. Hilal, M. Nakazawa, J. Hodskins [et al.] // BMC Cancer. – 2017. – Vol. 17, № 1. – P. 602.
55. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma / Cancer Genome Atlas Research Network // Nature. – 2014. – Vol. 513, № 7517. – P. 202-209.
56. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer / Cancer Genome Atlas Network. // Nature. – 2012. – Vol. 487, № 7407. – P. 330-337.
57. Comprehensive review on the clinical impact of next-generation sequencing tests for the management of advanced cancer / S.N. Gibbs, D. Peneva, G. Cuyun Carter [et al.] // JCO Precis Oncol. – 2023. – Vol. 7. – P. e2200715.
58. Comprehensive tumor profiling identifies numerous biomarkers of drug response in cancers of unknown primary site: analysis of 1806 cases / Z. Gatalica, S.Z. Millis, S. Vranic [et al.] // Oncotarget. – 2014. – Vol. 5, № 23. – P. 12440-12447.
59. Concurrent alterations in EGFR-mutant lung cancers associated with resistance to EGFR kinase inhibitors and characterization of MTOR as a mediator of resistance / H.A. Yu, K. Suzawa, E. Jordan [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2018. – Vol. 24, № 13. – P. 3108-3118.
60. Cost Effectiveness of Sequencing 34 Cancer-Associated Genes as an Aid for Treatment Selection in Patients with Metastatic Melanoma / Y. Li, L.A. Bare, R.A. Bender [et al.] // Mol. Diagn. Ther. – 2015. – Vol. 19, № 3. – P. 169-177.
61. Cost-Effectiveness of Parallel Versus Sequential Testing of Genetic Aberrations for Stage IV Non-Small-Cell Lung Cancer in the Netherlands / H.B. Wolff, E.M.P. Steeghs, Z.A. Mfumbilwa [et al.] // JCO Precis Oncol. – 2022. – Vol. 6. – P. e2200201.
62. CRAC (Clinical Relevance of Alterations in Cancer): a Knowledge Base for the Selection of Molecularly Matched Therapy for Solid Tumors / A.A. Lebedeva, A.I. Kavun, E.M. Veselovsky [et al.] // Sovrem Tekhnologii Med. – 2022. – Vol. 14, № 6. – P. 15-23.
63. Delivering precision oncology to patients with cancer / J. Mateo, L. Steuten, P. Aftimos [et al.] // Nat. Med. – 2022. – Vol. 28, № 4. – P. 658-665.

64. Design, synthesis, and biological evaluation of novel substituted thiourea derivatives as potential anticancer agents for NSCLC by blocking K-Ras protein-effectors interactions / Y. Zhang, X. Meng, H. Tang [et al.] // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* – 2020. – Vol. 35, № 1. – P. 344-353.
65. Detection and differential diagnosis of cancer relapse using circulating tumor DNA profiling in a patient with synchronous breast and rectal cancer / S. Zhang, C. Hu, J. Fan [et al.] // *Cancer Biol. Ther.* – 2019. – Vol. 20, № 2. – P. 141-144.
66. Dienstmann, R. Precision therapy in RAS mutant colorectal cancer / R. Dienstmann, K. Connor, A.T. Byrne // *Gastroenterology.* – 2020. – Vol. 158, № 4. – P. 806-811.
67. Differential effects of oncogenic K-Ras and N-Ras on proliferation, differentiation and tumor progression in the colon / K.M. Haigis, K.R. Kendall, Y. Wang [et al.] // *Nat. Genet.* – 2008. – Vol. 40. – P. 600-608.
68. DLongwood. Archer FusionPlex Oncology Research. – URL: <https://www.dlongwood.com/en/products/archer-fusionplex-oncology-research/> (дата обращения: 15.09.2024).
69. DLongwood. OncoDeep. – URL: <https://www.dlongwood.com/en/products/oncodeep/> (дата обращения: 15.09.2024).
70. Drugging KRAS: current perspectives and state-of-art review / K. Parikh, G. Banna, S.V. Liu [et al.] // *J. Hematol. Oncol.* – 2022. – Vol. 15, № 1. – P. 152.
71. Efficacy and safety of olaparib monotherapy in germline BRCA1/2 mutation carriers with advanced ovarian cancer and three or more lines of prior therapy / S.M. Domchek, C. Aghajanian, R. Shapira-Frommer [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2016. – Vol. 140. – P. 199-203.
72. EGFR blockade reverts resistance to KRASG12C inhibition in colorectal cancer / V. Amodio, R. Yaeger, P. Arcella [et al.] // *Cancer Discov.* – 2020. – Vol. 10, № 8. – P. 1129-1139.
73. Emerging BRAF mutations in cancer progression and their possible effects on transcriptional networks / M. Śmiech, P. Leszczyński, H. Kono [et al.] // *Genes (Basel).* – 2020. – Vol. 11, № 11. – P. 1342.
74. Enabling a genetically informed approach to cancer medicine: a retrospective evaluation of the impact of comprehensive tumor profiling using a targeted next-generation sequencing panel / D.B. Johnson, K.H. Dahlman, J. Knol [et al.] // *Oncologist.* – 2014. – Vol. 19, № 6. – P. 616-622.
75. Epidermal Growth Factor Receptor Mutational Testing and Erlotinib Treatment Among Veterans Diagnosed With Lung Cancer in the United States Department of Veterans Affairs / J.A. Lynch, B. Berse, D. Chun [et al.] // *Clin. Lung Cancer.* – 2017. – Vol. 18, № 4. – P. 401-409.

76. Experience with precision genomics and tumor board indicates frequent target identification, but barriers to delivery / A.H. Bryce, J.B. Egan, M.J. Borad [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, № 16. – P. 27145-27154.

77. Final overall survival efficacy results of ivosidenib for patients with advanced cholangiocarcinoma with IDH1 mutation: the phase 3 randomized clinical ClarIDHy trial / A.X. Zhu, T. Macarulla, M.M. Javle [et al.] // *JAMA Oncol*. – 2021. – Vol. 7, № 11. – P. 1669-1677.

78. Finishing the euchromatic sequence of the human genome / International Human Genome Sequencing Consortium // *Nature*. – 2004. – Vol. 431. – P. 931-945.

79. First-line Herceptin monotherapy in metastatic breast cancer / C.L. Vogel, M.A. Cobleigh, D. Tripathy [et al.] // *Oncology*. – 2001. – Vol. 61, Suppl. 2. – P. 37-42.

80. FOENIX-CCA2: a phase II, open-label, multicenter study of futibatinib in patients (pts) with intrahepatic cholangiocarcinoma (iCCA) harboring FGFR2 gene fusions or other rearrangements / L. Goyal, F. Meric-Bernstam, A. Hollebecque [et al.] // *J. Clin. Oncol*. – 2020. – Vol. 38, Suppl. 15. – P. 108.

81. Foundation Medicine. FoundationOne CDx. – URL: <https://www.foundationmedicine.com/test/foundationone-cdx> (дата обращения: 15.01.2017).

82. Foundation Medicine. – URL: <https://www.foundationmedicine.com/portfolio> (дата обращения: 11.12.2021).

83. FoundationOne® CDx FDA Approval Press Release. – URL: <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm587273.htm> (дата обращения: 01.12.2023).

84. FoundationOne Liquid CDx. Technical Specifications. – URL: https://assets.ctfassets.net/w98cd481qyp0/wVEm7VtICYR0sT5C1VbU7/fd055e0476183a6acd4eae6b583e3a00/F1LCDx_Technical_Specs_072021.pdf (дата обращения: 11.12.2021).

85. Garraway, L.A. Lessons from the cancer genome / L.A. Garraway, E.S. Lander // *Cell*. – 2013. – Vol. 153, № 1. – P. 17-37.

86. Gastric Cancer, National Comprehensive Cancer Network® (NCCN) Version 2.2023, 12.08.2023. – URL: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1434>

87. Gemcitabine combined with the monoclonal antibody nimotuzumab is an active first-line regimen in KRAS wildtype patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer: a multicenter, randomized phase IIb study / B. Schultheis, D. Reuter, M.P. Ebert [et al.] // *Ann. Oncol*. – 2017. – Vol. 28. – P. 2429-2435.

88. Geneseeq. Solid Tumors. – URL: <https://na.geneseeq.com/solid-tumors/> (дата обращения: 12.03.2024).

89. Genetic characterisation of molecular targets in carcinoma of unknown primary / B. Clynick, B. Dessauvagie, G. Sterrett [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2018. – Vol. 16, № 1. – P. 185.
90. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors / M. Margulies, M. Egholm, W.E. Altman [et al.] // *Nature.* – 2005. – Vol. 437, № 7057. – P. 376-380.
91. Genomic and transcriptomic profiling expands precision cancer medicine: the WINTHER trial / J. Rodon, J.C. Soria, R. Berger [et al.] // *Nat. Med.* – 2019. – Vol. 25. – P. 751-758.
92. Genomic assessment of blood-derived circulating tumor DNA in patients with colorectal cancers: Correlation with tissue sequencing, therapeutic response, and survival / S. Kato, M.C. Schwaederle, P.T. Fanta [et al.] // *JCO Precis Oncol.* – 2019. – Vol. 3. – P. 1-16.
93. Genomic instability and DNA repair in cancer / B. Das, B. Choudhury, A. Kumar, V. Jyoti Baruah // *DNA Repair* / P. Behzadi. – IntechOpen, 2021. – 234 p.
94. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries / H. Sung, J. Ferlay, R.L. Siegel [et al.] // *CA Cancer J. Clin.* – 2021. – Vol. 71, № 3. – P. 209-249.
95. Gorodetska, I. BRCA genes: The role in genome stability, cancer stemness and therapy resistance / I. Gorodetska, I. Kozeretska, A. Dubrovska // *J. Cancer.* – 2019. – Vol. 10, № 9. – P. 2109-2127.
96. Greaves, M. Clonal evolution in cancer / M. Greaves, C.C. Maley // *Nature.* – 2012. – Vol. 481, № 7381. – P. 306-313.
97. Guardant Health. Guardant360 CDx. – URL: <https://www.guardantcomplete.com/products/guardant360-cdx> (дата обращения: 08.11.2022).
98. Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing-Based Oncology Panels: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists / L.J. Jennings, M.E. Arcila, C. Corless [et al.] // *J. Mol. Diagn.* – 2017. – Vol. 19, № 3. – P. 341-365.
99. Gutierrez, C. HER2: biology, detection, and clinical implications / C. Gutierrez, R. Schiff // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2011. – Vol. 135, № 1. – P. 55-62.
100. Haeno, H. The evolution of two mutations during clonal expansion / H. Haeno, Y. Iwasa, F. Michor // *Genetics.* – 2007. – Vol. 177, № 4. – P. 2209-2221.
101. Hanahan, D. Cancer hallmarks intersect with neuroscience in the tumor microenvironment / D. Hanahan, M. Monje // *Cancer Cell.* – 2023. – Vol. 41, № 3. – P. 573-580.
102. Hanahan, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions / D. Hanahan // *Cancer Discov.* – 2022. – Vol. 12, № 1. – P. 31-46.
103. Hanahan, D. Hallmarks of cancer: the next generation / D. Hanahan, R.A. Weinberg // *Cell.* – 2011. – Vol. 144, № 5. – P. 646-674.

104. Hanahan, D. The hallmarks of cancer / D. Hanahan, R.A. Weinberg // *Cell*. – 2000. – Vol. 100, № 1. – P. 57-70.
105. HER2 positivity predicts unresponsiveness to EGFR-targeted treatment in metastatic colorectal cancer / A. Sartore-Bianchi, A. Amatu, L. Porcu [et al.] // *Oncologist*. – 2019. – Vol. 24, № 10. – P. 1395-1402.
106. High-throughput genomics and clinical outcome in hard-to-treat advanced cancers: results of the MOSCATO 01 trial / C. Massard, S. Michiels, C. Féré [et al.] // *Cancer Discov*. – 2017. – Vol. 7, № 6. – P. 586-595.
107. Identification of new ALK and RET gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies / D. Lipson, M. Capelletti, R. Yelensky [et al.] // *Nat. Med*. – 2012. – Vol. 18, № 3. – P. 382-384.
108. Identifying Actionable Variants in Cancer – The Dual Web and Batch Processing Tool MTB-Report / N.S. Kurz, J. Perera-Bel, C. Höltermann [et al.] // *Stud. Health Technol. Inform*. – 2022. – Vol. 296. – P. 73-80.
109. Impact of precision medicine in diverse cancers: A meta-analysis of phase II clinical trials / M. Schwaederle, M. Zhao, J.J. Lee [et al.] // *J. Clin. Oncol*. – 2015. – Vol. 33, № 32. – P. 3817-3825.
110. Implementation and Clinical Utility of an Integrated Academic-Community Regional Molecular Tumor Board / M.E. Burkard, D.A. Deming, B.M. Parsons [et al.] // *JCO Precis Oncol*. – 2017. – Vol. 1. – P. PO.16.00022.
111. Implementation and outcomes of a molecular tumor board at Herbert-Herman Cancer Center, Sparrow Hospital / H. Trivedi, D. Acharya, U. Chamarthy [et al.] // *Acta Med. Acad*. – 2019. – Vol. 48, № 1. – P. 105-115.
112. Implementation and use of whole exome sequencing for metastatic solid cancer / M. Réda, C. Richard, A. Bertaut [et al.] // *EBioMedicine*. – 2020. – Vol. 51. – P. 102624.
113. Implementation and utilization of the molecular tumor board to guide precision medicine / S. Harada, R. Arend, Q. Dai [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, № 34. – P. 57845-57854.
114. Implementation of a Molecular Tumor Board: The Impact on Treatment Decisions for 35 Patients Evaluated at Dartmouth-Hitchcock Medical Center / L.J. Tafe, I.P. Gorlov, F.B. de Abreu [et al.] // *Oncologist*. – 2015. – Vol. 20, № 9. – P. 1011-1018.
115. Initiative for Molecular Profiling and Advanced Cancer Therapy (IMPACT): An MD Anderson Precision Medicine Study / A.M. Tsimberidou, D.S. Hong, Y. Ye [et al.] // *JCO Precis Oncol*. – 2017. – Vol. 2017. – P. PO.17.00002.

116. Integrated clinicomolecular characterization identifies RAS activation and CDKN2A deletion as independent adverse prognostic factors in cancer of unknown primary / T. Bochtler, A. Reiling, V. Endris [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2020. – Vol. 146, № 11. – P. 3053-3064.
117. Key Lessons Learned from Moffitt's Molecular Tumor Board: The Clinical Genomics Action Committee Experience / T.C. Knepper, G.C. Bell, J.K. Hicks [et al.] // *Oncologist.* – 2017. – Vol. 22, № 2. – P. 144-151.
118. Khotskaya, Y.B. Next-Generation Sequencing and Result Interpretation in Clinical Oncology: Challenges of Personalized Cancer Therapy / Y.B. Khotskaya, G.B. Mills, K.R. Mills Shaw // *Annu Rev Med.* – 2017. – Vol. 68. – P. 113-125.
119. KRASG12C inhibition with sotorasib in advanced solid tumors / D.S. Hong, M.G. Fakih, J.H. Strickler [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2020. – Vol. 383, № 13. – P. 1207-1217.
120. LBA16 Primary analysis of efficacy and safety in the CUPISCO trial: A randomised, global study of targeted therapy or cancer immunotherapy guided by comprehensive genomic profiling (CGP) vs platinum-based chemotherapy (CTX) in newly diagnosed, unfavourable cancer of unknown primary (CUP) / L. Mileskin, T. Bochtler, C. Pauli [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2023. – Vol. 34. – P. S1254-S1255.
121. Lee, A. Sotorasib: a review in KRAS G12C mutation-positive non-small cell lung cancer / A. Lee // *Target Oncol.* – 2022. – Vol. 17, № 6. – P. 727-733.
122. Leiphrakpam, P.D. PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway as a Target for Colorectal Cancer Treatment / P.D. Leiphrakpam, C. Are. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2024. – Vol. 25, № 6. – P. 3178.
123. MacConaill, L.E. Existing and emerging technologies for tumor genomic profiling / L.E. MacConaill // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Vol. 31, № 15. – P. 1815-1824.
124. Mahipal, A. Risks and benefits of phase 1 clinical trial participation / A. Mahipal, D. Nguyen // *Cancer Control.* – 2014. – Vol. 21, № 3. – P. 193-199.
125. Maxam, A.M. A new method for sequencing DNA / A.M. Maxam, W. Gilbert // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1977. – Vol. 74. – P. 560-564.
126. McCormick, F. KRAS as a Therapeutic Target / F. McCormick // *Clin. Cancer Res.* – 2015. – Vol. 21. – P. 1797-801.
127. Mechanisms of inactivation of PTCH1 gene in nevoid basal cell carcinoma syndrome: modification of the two-hit hypothesis / S. Pan, Q. Dong, L.S. Sun, T.J. Li // *Clin. Cancer Res.* – 2010. – Vol. 16, № 2. – P. 442-450.
128. MedlinePlus. What is the difference between precision medicine and personalized medicine? What about pharmacogenomics? – URL: <https://medlineplus.gov/genetics/understanding/precisionmedicine/precisionvspersonalized/> (дата обращения: 08.08.2022).

129. Memorial Sloan Kettering-Integrated Mutation Profiling of Actionable Cancer Targets (MSK-IMPACT): A Hybridization Capture-Based Next-Generation Sequencing Clinical Assay for Solid Tumor Molecular Oncology / D.T. Cheng, T.N. Mitchell, A. Zehir [et al.] // *J. Mol. Diagn.* – 2015. – Vol. 17, № 3. – P. 251-264.
130. Meta-analysis of the prognostic impact of TP53 co-mutations in EGFR-mutant advanced non-small-cell lung cancer treated with tyrosine kinase inhibitors / M.G. Ferrara, L. Belluomini, A. Smimmo [et al.] // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2023. – Vol. 184. – P. 103929.
131. Meyerson, M. Advances in understanding cancer genomes through second-generation sequencing / M. Meyerson, S. Gabriel, G. Getz // *Nat. Rev. Genet.* – 2010. – Vol. 11, № 10. – P. 685-696.
132. Molecular profiling diagnosis in unknown primary cancer; accuracy and ability to complement standard pathology / F.A. Greco, W.J. Lenington, D.R. Spigel [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2013. – Vol. 105. – P. 782-790.
133. Molecular profiling for precision cancer therapies / E.R. Malone, M. Oliva, P.J.B. Sabatini [et al.] // *Genome Med.* – 2020. – Vol. 12, № 1. – P. 8.
134. Molecular profiling of patients with pancreatic cancer: Initial results from the Know Your Tumor initiative / M.J. Pishvaian, R.J. Bender, D. Halverson [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2018. – Vol. 24. – P. 5018-5027.
135. Molecular tumour boards and molecular diagnostics for patients with cancer in The Netherlands: Experiences, challenges, and aspirations / A.E.C.A.B. Willemsen, S. Krausz, M.J.L. Ligtenberg [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2019. – Vol. 121. – P. 34–36.
136. Molecular tumor boards: Current practice and future needs / D.L. van der Velden, C.M.L. van Herpen, H.W.M. van Laarhoven [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2017. – Vol. 28. – P. 3070-3075.
137. Moscow, J.A. The evidence framework for precision cancer medicine / J.A. Moscow, T. Fojo, R.L. Schilsky // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2018. – Vol. 15, № 3. – P. 183-192.
138. Multicenter comparison of molecular tumor boards in The Netherlands: Definition, composition, methods, and targeted therapy recommendations / B. Koopman, H.J.M. Groen, M.J.L. Ligtenberg [et al.] // *The Oncologist.* – 2021. – Vol. 26, № 8. – P. E1347-e1358.
139. National Human Genome Research Institute. DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP). – URL: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data> (дата обращения: 01.04.2023).
140. Negative hyperselection of patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer for panitumumab: A biomarker study of the phase III PARADIGM trial / K. Shitara, K. Muro, J. Watanabe [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2023. – Vol. 41, № 4_suppl. – P. 11.

141. Next-generation sequencing facilitates differentiating between multiple primary lung cancer and intrapulmonary metastasis: a case series / C. Liu, C. Liu, X. Zou [et al.] // *Diagn Pathol.* – 2021. – Vol. 16, № 1. – P. 21.
142. Next-Generation Sequencing in Oncology: Genetic Diagnosis, Risk Prediction and Cancer Classification / R. Kamps, R.D. Brandão, B.J. Bosch [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18, № 2. – P. 308.
143. Next-generation sequencing of the BRCA1 and BRCA2 genes for the genetic diagnostics of hereditary breast and/or ovarian cancer / D. Trujillano, M.E. Weiss, J. Schneider [et al.] // *J. Mol. Diagn.* – 2015. – Vol. 17, № 2. – P. 162-170.
144. Next-Generation Sequencing Panels for the Diagnosis of Colorectal Cancer and Polyposis Syndromes: A Cost-Effectiveness Analysis / C.J. Gallego, B.H. Shirts, C.S. Bennette [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2015. – Vol. 33, № 18. – P. 2084-2091.
145. Next-generation sequencing-based genomic profiling: Fostering innovation in cancer care? / G.S. Fernandes, D.F. Marques, D.M. Girardi [et al.] // *Clinics (Sao Paulo).* – 2017. – Vol. 72, № 10. – P. 588-594.
146. Nimotuzumab combined with gemcitabine versus gemcitabine in KRAS wild-type locally advanced or metastatic pancreatic cancer: A prospective, randomized-controlled, double-blinded, multicenter, and phase III clinical trial / S. Qin, Y. Bai, Z. Wang [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2022. – Vol. 40, Suppl. 17. – P. LBA4011.
147. Nipavect: Phase II study of niraparib and panitumumab in advanced RAS WT colorectal cancer / O.B. Alese, M. Diab, O.B. Gbolahan [et al.] // *JCO.* – 2023. – Vol. 41. – P. 3579-3579.
148. Nomenclature for the description of sequence variants: Human Genome Variation Society. – URL: <https://www.hgvs.org/mutnomen> (дата обращения: 07.11.2024).
149. Novel metrics to measure coverage in whole exome sequencing datasets reveal local and global non-uniformity / Q. Wang, C.S. Shashikant, M. Jensen [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7. – P. 885.
150. Olaparib (O) in patients (pts) with colorectal cancer (CRC) with ATM mutation (mut): Results from the Targeted Agent and Profiling Utilization Registry (TAPUR) study / A. Behl, M. Rothe, P. Magnat [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2023. – Vol. 41, № 4_suppl. – P. 122.
151. Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas / F. Sanchez-Vega, M. Mina, J. Armenia [et al.] // *Cell.* – 2018. – Vol. 173, № 2. – P. 321-337.
152. OncoKB: a precision oncology knowledge base / D. Chakravarty, J. Gao, S.M. Phillips [et al.] // *JCO Precis Oncol.* – 2017. – Vol. 2017. – P. PO.17.00011.

153. Ostrem, J.M.L. Direct small-molecule inhibitors of KRAS: from structural insights to mechanism-based design / J.M.L. Ostrem, K.M. Shokat // *Nat. Rev. Drug. Discov.* – 2016. – Vol. 15, № 11. – P. 771-785.
154. Overall Survival (OS) of Phase 3 CodeBreak 300 Study of Sotorasib plus Panitumumab (Soto + Pani) versus Investigator's Choice of Therapy for KRAS G12C-Mutated Metastatic Colorectal Cancer (mCRC) / M. Fakih, L. Salvatore, T. Esaki [et al.] // *JCO.* – 2024. – Vol. 42. – P. LBA3510.
155. Pancreatic Adenocarcinoma, National Comprehensive Cancer Network® (NCCN) Version 2.2023, 06.19.2023. – URL: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1455>.
156. Park, Y.M. Moving closer towards a comprehensive view of tumor biology and microarchitecture using spatial transcriptomics / Y.M. Park, D.C. Lin // *Nat. Commun.* – 2023. – Vol. 14. – P. 7017.
157. Pemigatinib for previously treated, locally advanced or metastatic cholangiocarcinoma: a multicentre, open-label, phase 2 study / G.K. Abou-Alfa, V. Sahai, A. Hollebecque [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2020. – Vol. 21. – P. 671-684.
158. Personalized medicine in a phase I clinical trials program: the MD Anderson Cancer Center initiative / A.M. Tsimberidou, N.G. Iskander, D.S. Hong [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2012. – Vol. 18, № 22. – P. 6373-6383.
159. Personalized medicine in the oncology clinic: Implementation and outcomes of the Johns Hopkins Molecular Tumor Board / W.B. Dalton, P.M. Forde, H. Kang [et al.] // *JCO Precis Oncol.* – 2017. – Vol. 2017. – PO.16.00046.
160. Phase I Trial of a Tablet Formulation of Pilaralisib, a Pan-Class I PI3K Inhibitor, in Patients with Advanced Solid Tumors / G. Edelman, J. Rodon, J. Lager [et al.] // *Oncologist.* – 2018. – Vol. 23. – P. 401-e38.
161. Precision medicine for patients with advanced biliary tract cancers: An effective strategy within the prospective MOSCATO-01 trial / L. Verlingue, D. Malka, A. Allorant [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2017. – Vol. 87. – P. 122-130.
162. Prior, I.A. A comprehensive survey of Ras mutations in cancer / I.A. Prior, P.D. Lewis, C. Mattos // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72. – P. 2457-2467.
163. Prioritizing targets for precision cancer medicine / F. Andre, E. Mardis, M. Salm [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2014. – Vol. 25, № 12. – P. 2295-2303.
164. Prognostic Impact of TP53 Mutations in Metastatic Nonsquamous Non-small-cell Lung Cancer / L. Mathiot, B. Nigen, T. Goronflot [et al.] // *Clin Lung Cancer.* – 2024. – Vol. 25, № 3. – P. 244-253.e2.

165. Prospective comprehensive genomic profiling of advanced gastric carcinoma cases reveals frequent clinically relevant genomic alterations and new routes for targeted therapies / S.M. Ali, E.M. Sanford, S.J. Klemper [et al.] // *Oncologist*. – 2015. – Vol. 20, № 5. – P. 499-507.
166. Prospective study comparing outcomes in patients with advanced malignancies on molecular alteration-matched versus non-matched therapy / J.J. Wheler, R. Yelensky, B. Stephen [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33, Suppl, 115. – Abstr 11019.
167. Ras conformational ensembles, allostery, and signaling / S. Lu, H. Jang, S. Muratcioglu [et al.] // *Chem Rev.* – 2016. – Vol. 116, № 11. – P. 6607-6665.
168. Real-World Impact of Comprehensive Genomic Profiling on Biomarker Detection, Receipt of Therapy, and Clinical Outcomes in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer / J. Wallenta Law, B. Bapat, C. Sweetnam [et al.] // *JCO Precision Oncology*. – 2024. – Vol. 8. – P. E2400075.
169. Recent and Future Strategies to Overcome Resistance to Targeted Therapies and Immunotherapies in Metastatic Colorectal Cancer / G. Dazio, S. Epistolio, M. Frattini [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2022. – Vol. 11, № 24. – P. 7523.
170. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group / F. Mosele, J. Remon, J. Mateo [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2020. – Vol. 31, № 11. – P. 1491-1505.
171. Relevance of a molecular tumor board (MTB) for patients' enrolment in clinical trials: experience of the Institut Curie / C. Basse, C. Morel, M. Alt [et al.] // *ESMO Open*. – 2018. – Vol. 3, № 3. – P. E000339.
172. Role of next-generation sequencing technologies in personalized medicine / S. Morganti, P. Tarantino, E. Ferraro [et al.] // *P5 eHealth: An Agenda for the Health Technologies of the Future* / eds. G. Pravettoni, S. Triberti. – Cham: Springer International Publishing, 2020. – P. 125-154.
173. Rucaparib monotherapy in patients with pancreatic cancer and a known deleterious BRCA mutation / R.T. Shroff, A. Hendifar, R.R. McWilliams [et al.] // *JCO Precis Oncol.* – 2018. – Vol. 2018. – PO.17.00316.
174. Sanger, F. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase / F. Sanger, A.R. Coulson // *J. Mol. Biol.* – 1975. – Vol. 94. – P. 441-448.
175. Sherlock: a comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria / K. Nykamp, M. Anderson, M. Powers [et al.] // *Genetics Med.* – 2020. – Vol. 22, № 1. – P. 1105-1117.
176. Somatic genomic testing in patients with metastatic or advanced cancer: ASCO provisional clinical opinion / D. Chakravarty, A. Johnson, J. Sklar [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2022. – Vol. 40, № 11. – P. 1231-1258.

177. Sotorasib plus Panitumumab in Refractory Colorectal Cancer with Mutated KRAS G12C / M.G. Fakih, L. Salvatore, T. Esaki [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2023. – Vol. 389, № 23. – P. 2125-2139.
178. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists / M.M. Liu, M. Datto, E.J. Duncavage [et al.] // *J. Mol. Diagn JMD.* – 2017. – Vol. 1. – P. 4-23.
179. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology / S. Richards, N. Aziz, S. Bale [et al.] // *Genet Med.* – 2015. – Vol. 17, № 5. – P. 405-424.
180. Stratton, M.R. The cancer genome / M.R. Stratton, P.J. Campbell, P.A. Futreal // *Nature.* – 2009. – Vol. 458, № 7239. – P. 719-724.
181. Structural pharmacological studies on EGFR T790M/C797S / L.L. Kong, R. Ma, M.Y. Yao [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2017. – Vol. 488, № 2. – P. 266-272.
182. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer / D.J. Slamon, W. Godolphin, L.A. Jones [et al.] // *Science.* – 1989. – Vol. 244, № 4905. – P. 707-712.
183. Systematic pan-cancer analysis of mutation-treatment interactions using large real-world clinicogenomics data / R. Liu, S. Rizzo, S. Waliyany [et al.] // *Nat. Med.* – 2022. – Vol. 28, № 8. – P. 1656-1661.
184. Talazoparib (Tala) in patients (pts) with colorectal cancer (CRC) with BRCA1/2 mutations (mut): Results from the Targeted Agent and Profiling Utilization Registry (TAPUR) study / K.J. Yost, M. Rothe, P.K. Mangat, [et al.] // *JCO.* – 2024. – Vol. 42. – P. 106.
185. Targeted capture-based NGS is superior to multiplex PCR-based NGS for hereditary BRCA1 and BRCA2 gene analysis in FFPE tumor samples / F. Zakrzewski, L. Geldon, A. Rump [et al.] // *BMC Cancer.* – 2019. – Vol. 19. – P. 396.
186. Tearing down the walls: FDA approves next generation sequencing (NGS) assays for actionable cancer genomic aberrations / M. Allegretti, A. Fabi, S. Buglioni [et al.] // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2018. – Vol. 37, № 1. – P. 47.
187. TEMPUS. Genomic Profiling. – URL: <https://www.tempus.com/oncology/genomic-profiling/xt-xr> (дата обращения: 15.03.2022).
188. TEMPUS | ONCOLOGY. xF+ Gene List. – URL: https://www.tempus.com/wp-content/uploads/2022/12/Tempus-xFPlus_Gene-Panel.pdf (дата обращения: 15.03.2022).

189. The allelic context of the C797S mutation acquired upon treatment with third-generation EGFR inhibitors impacts sensitivity to subsequent treatment strategies / M.J. Niederst, H. Hu, H.E. Mulvey [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2015. – Vol. 21, № 17. – P. 3924-3933.
190. The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis project / J.N. Weinstein, E.A. Collisson, G.B. Mills [et al.] // *Nat. Genet.* – 2013. – Vol. 45, № 10. – P. 1113-1120.
191. The cost of molecular-guided therapy in oncology: a prospective cost study alongside the MOSCATO trial / A. Pagès, S. Foulon, Z. Zou [et al.] // *Genet Med.* – 2017. – Vol. 19, № 6. – P. 683-690.
192. The first report of K-Umbrella Gastric Cancer Study: An open label, multi-center, randomized, biomarker-integrated trial for second-line treatment of advanced gastric cancer (AGC) / S. Rha, C. Lee, H. Kim [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2022. – Vol. 40, № 16_suppl. – P. 4001.
193. The Landscape of Actionable Genomic Alterations in Cell-Free Circulating Tumor DNA from 21,807 Advanced Cancer Patients / O.A. Zill, K.C. Banks, S.R. Fairclough [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2018. – Vol. 24, № 15. – P. 3528-3538.
194. The liquid biopsy in the management of colorectal cancer patients: Current applications and future scenarios / N. Normanno, A. Cervantes, F. Ciardiello [et al.] // *Cancer Treat Rev.* – 2018. – Vol. 70. – P. 1-8.
195. The NEXT-1 (Next generation pErsonalized tX with mulTi-omics and preclinical model) trial: prospective molecular screening trial of metastatic solid cancer patients, a feasibility analysis / S.T. Kim, J. Lee, M. Hong [et al.] // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6, № 32. – P. 33358-33368.
196. The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP / C.H. Yun, K.E. Mengwasser, A.V. Toms [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* – 2008. – Vol. 105, № 6. – P. 2070-2075.
197. Thermo Fisher. Oncomine Dx Target Test. – URL: <https://www.thermofisher.com/ru/ru/home/clinical/diagnostic-testing/condition-disease-diagnostics/oncology-diagnostics/oncomine-dx-target-test/oncomine-dx-target-test-us-only.html> (дата обращения: 05.02.2024).
198. Thusberg, J. Performance of mutation pathogenicity prediction methods on missense variants / J. Thusberg, A. Olatubosun, M. Vihinen // *Hum. Mutat.* – 2011. – Vol. 32. – P. 358-368.
199. Tumor genomic profiling guides patients with metastatic gastric cancer to targeted treatment: The VIKTORY umbrella trial / J. Lee, S.T. Kim, K. Kim [et al.] // *Cancer Discov.* – 2019. – Vol. 9, № 10. – P. 1388-1405.
200. Tumor mutation burden derived from small next generation sequencing targeted gene panel as an initial screening method / Y. Tang, Y. Li, W. Wang [et al.] // *Translational Lung Cancer Research.* – 2020. – Vol. 9, № 1. – P. 71-81.

201. U.S. Food and Drug Administration. Erbitux: Highlights of Prescribing Information. – URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2021/125084s279lbl.pdf (дата обращения: 06.08.2021).
202. U.S. Food and Drug Administration. ROZLYTREK: Highlights of Prescribing Information.– URL: https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/212725s000lbl.pdf&ved=2ahUKEwiG2b2GoqiL_AxXGKxAIHcCYBR8QFnoECCEQAQ&usg=AOvVaw2A-Ou8H3tlx2Y1XW-5RtHn (дата обращения: 06.08.2021).
203. U.S. Food and Drug Administration. Vectibix: Highlights of Prescribing Information. – URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2021/125147s210lbl.pdf (дата обращения: 06.08.2021).
204. U.S. Food and Drug Administration. VITRAKVI: Highlights of Prescribing Information. – URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/210861s008lbl.pdf (дата обращения: 07.11.2022).
205. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2 / D.J. Slamon, B. Leyland-Jones, S. Shak [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2001. – Vol. 344, № 11. – P. 783-792.
206. Usefulness and real-world outcomes of next generation sequencing testing in patients with cancer: an observational study on the impact of selection based on clinical judgement / R. Colomer, J. Miranda, N. Romero-Laorden [et al.] // EClinicalMedicine. – 2023. – Vol. 60. – P. 102029.
207. Utilization of genetic tests: analysis of gene-specific billing in Medicare claims data / J.A. Lynch, B. Berse, W.D. Dotson [et al.] // Genet Med. – 2017. – Vol. 19, № 8. – P. 890-899.
208. Variant interpretation using population databases: Lessons from gnomAD / S. Gudmundsson, M. Singer-Berk, N.A. Watts [et al.] // Hum. Mutat. – 2022. – Vol. 43, № 8. – P. 1012-1030.
209. Vogelstein, B. Cancer genes and the pathways they control / B. Vogelstein, K.W. Kinzler // Nat. Med. – 2004. – Vol. 10, № 8. – P. 789-799.
210. Voutsadakis, I.A. Pancreatic adenocarcinomas without KRAS, TP53, CDKN2A and SMAD4 mutations and CDKN2A/CDKN2B copy number alterations: a review of the genomic landscape to unveil therapeutic avenues / I.A. Voutsadakis, A. Digkila // Chin Clin. Oncol. – 2023. – Vol. 2, № 1. – P. 2.
211. When should we order a next generation sequencing test in a patient with cancer? / R. Colomer, R. Mondejar, N. Romero-Laorden [et al.] // EClinicalMedicine. – 2020. – Vol. 25. – P. 100487.

212. Whole-exome sequencing and clinical interpretation of formalin-fixed, paraffin-embedded tumor samples to guide precision cancer medicine / E.M. Van Allen, N. Wagle, P. Stojanov [et al.] // *Nat Med.* – 2014. – Vol. 20, № 6. – P. 682-688.

213. Whole-exome sequencing of metastatic cancer and biomarkers of treatment response / H. Beltran, K. Eng, J.M. Mosquera [et al.] // *JAMA Oncol.* – 2015. – Vol. 1, № 4. – P. 466-474.

214. Whole-genome sequencing of liver cancers identifies etiological influences on mutation patterns and recurrent mutations in chromatin regulators / A. Fujimoto, Y. Totoki, T. Abe [et al.] // *Nat. Genet.* – 2012. – Vol. 44, № 7. – P. 760-764.

215. Zanidatamab for HER2-amplified, unresectable, locally advanced or metastatic biliary tract cancer (HERIZON-BTC-01): a multicentre, single-arm, phase 2b study / J.J. Harding, J. Fan, D.Y. Oh [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2023. – Vol. 24. – P. 772-782.