

## Потенциальные предикторы эффективности анти-EGFR-терапии при метастатическом раке толстой кишки

М.Ю. Федянин, А.А. Трякин, С.А. Тюлядин  
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Контакты: Михаил Юрьевич Федянин fedianinmu@mail.ru

В 80 % случаев рака толстой кишки (РТК) отмечена гиперэкспрессия гена рецептора к эпидермальному фактору роста (EGFR). Заблокировать работу данного рецептора можно с помощью моноклональных антител, два из которых — цетуксимаб и панитумумаб — уже используются в клинике. Одним из первых успехов в персонализированном подходе в лечении РТК было определение эффективности терапии анти-EGFR-препаратами у больных с диким типом гена KRAS в опухоли. Принимая во внимание стоимость препаратов, актуальным становится вопрос о поиске потенциальных предикторов эффективности терапии анти-EGFR-препаратами при метастатическом РТК с диким типом гена KRAS. Особенно важно это у больных с потенциально операбельными метастазами РТК. В обзоре рассмотрены клинические и молекулярные предикторы эффективности анти-EGFR-терапии.

**Ключевые слова:** метастатический колоректальный рак, анти-EGFR-терапия, предикторы эффективности

### Potential predictors of anti-EGFR-treatment efficacy in metastatic colorectal cancer

M. Yu. Fedyanin, A. A. Tryakin, S. A. Tjulandin

N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

EGFR overexpression can be diagnosed in 80 % colorectal cancer patients. This receptor can be blocked by monoclonal antibodies, 2 of them (cetuximab, panitumumab) are already used in clinical practice. Anti-EGFR-treatment efficacy in patients with wild-type KRAS was one the first successes of personalized colorectal cancer treatment. Considering treatment costs, further search for potential predictors of anti-EGFR-therapy in wild-type KRAS patients is an important question. This is especially important for patients with potentially resectable colon cancer metastases. Clinical and molecular predictors of anti-EGFR-treatment efficacy are discussed in this article.

**Key words:** metastatic colorectal cancer, anti-EGFR-treatment, efficacy predictors

В 60–80 % случаев рака толстой кишки (РТК) отмечена гиперэкспрессия гена рецептора к эпидермальному фактору роста (EGFR), что ассоциировано с неблагоприятным прогнозом. Антитела, блокирующие EGFR, — цетуксимаб и панитумумаб — показали свою эффективность во всех линиях терапии метастатического рака толстой кишки (мРТК). Сигнал через рецептор от эпидермального фактора роста (EGF) передается через ряд внутриклеточных белковых молекул на геном клетки и оказывает влияние на такие клеточные процессы, как дифференцировка, пролиферация, миграция, ангиогенез, апоптоз [1, 2]. Одной из таких молекул-передатчиков является белок KRAS. При наличии активирующей мутации в гене KRAS, имеющей место у 40–45 % больных, нарушается работа данного пути, и применение моноклональных антител к EGFR становится неэффективным. На сегодняшний день отсутствие мутации KRAS — единственный молекулярный маркер, используемый в лечении мРТК и предсказывающий эффективность анти-EGFR-антител [3–5]. Тем не менее не более половины пациентов отвечают на данную терапию, что делает актуальным дальнейший поиск потенци-

альных предикторов эффективности терапии анти-EGFR-препаратами при мРТК с диким типом гена KRAS. Данному вопросу и посвящен настоящий обзор.

### Клинические маркеры эффективности анти-EGFR-терапии

В качестве клинических маркеров эффективности анти-EGFR-терапии при РТК рассматривались выраженность высыпаний на кожных покровах, ранний ответ на терапию и уровень магния в сыворотке крови.

#### Кожная токсичность

Известно, что EGFR высоко экспрессирован в нормальных тканях, в том числе и в коже. Поэтому кожная токсичность может служить индикатором степени насыщения тканей организма рецепторами к EGF. Сыпь чаще проявляется в виде акнеформных высыпаний, наблюдается в среднем у 80 % больных. Начинается обычно после 1 нед лечения и достигает максимума после 2–3 нед терапии. Наличие и степень выраженность кожной токсичности ассоциировано с более высокими показателями объективного ответа и выживаемости у больных с мРТК [6]. Возникла идея достижения оптимальной индивидуальной терапевтической дозы у каждого пациента, осно-

вываясь на степени выраженности кожной токсичности. Было инициировано исследование EVEREST, включившее 89 пациентов, где в экспериментальной группе дозу цетуксимаба (в комбинации с иринотеканом) постепенно увеличивали у больных без выраженной (0–I степени) кожной токсичности после 3 нед терапии до достижения выраженных симптомов кожной токсичности или дозы 500 мг/м<sup>2</sup> 1 раз в неделю [6]. Частота достижения объективного эффекта была недостоверно выше в группе с эскалацией дозы цетуксимаба (46 % против 21,1 %,  $p = 0,39$ ). По результатам многофакторного анализа только статус гена *KRAS* предсказывал развитие объективного ответа на терапию цетуксимабом.

Основными ограничениями в использовании такого предиктивного маркера является то, что выраженная сыпь может наблюдаться и у пациентов, резистентных к анти-EGFR-препаратам, и наоборот, эффект может наблюдаться и у пациентов без кожной токсичности. Экспрессия EGFR в опухолевых клетках не коррелирует с эффектом на терапию моноклональными антителами к EGFR (см. ниже). Механизм сыпи на анти-EGFR-препараты до конца не ясен. Сыпь может отражать и степень насыщения тканей EGFR, может быть проявлением иммунного ответа, или может быть связанной с полиморфизмом гена *EGFR* [7].

Таким образом, применение такого маркера, как раннее наступление кожной токсичности, не является фактором, на который можно ориентироваться в ожидании эффекта от применения анти-EGFR-препаратов.

#### **Наступление раннего объективного ответа**

В первых исследованиях неселективного назначения ингибиторов анти-EGFR-антител была отмечена корреляция наступления раннего объективного эффекта и наличия дикого типа гена *KRAS* [8–11]. У пациентов с диким типом гена и уменьшением размеров опухолевых узлов более чем на 9,66 % за 6 нед терапии медиана продолжительности жизни была статистически значимо выше в сравнении с пациентами без уменьшения опухоли (74,9 против 30,6 нед) [11]. Данные находки были подтверждены и в исследовании BOND [9], где при многофакторном анализе влияния признаков на выживаемость раннее уменьшение опухоли оказалось значимее степени проявлений кожной токсичности. Анализ объединенных данных исследований OPUS и CRYSTAL также подтвердил взаимосвязь наступления раннего уменьшения опухоли и удлинение времени до прогрессирования и продолжительности жизни [8]. Под «ранним ответом» подразумевалось уменьшение максимальных размеров опухолевых очагов к 8-й неделе терапии на  $\geq 20$  %. При этом выигрыш в выживаемости был более значим для пациентов, получавших комбинацию цетуксимаба с химиотерапией (ХТ), в сравнении с одной ХТ. В исследовании CO.17, в котором проводилось сравнение монотерапии цетуксимабом с симптоматической терапией, была также подтверждена связь

раннего ответа на лечение и времени до прогрессирования у больных с диким типом гена *KRAS* [10]. Таким образом, подтверждение раннего ответа на терапию с анти-EGFR-препаратами на 6–8-й неделе лечения служит удобным и простым предиктором эффективности терапии при мРТК. Однако остается непонятным его практическое значение. Значит ли, что пациенты со стабилизацией заболевания после 8 нед ХТ с цетуксимабом не выигрывают от его назначения и препарат может быть отменен? Чтобы ответить на этот вопрос, необходимо проведение рандомизированного исследования, в котором часть таких больных продолжала терапию цетуксимабом, а часть – нет.

#### **Уровень магния в сыворотке крови**

Магний играет важную роль в процессах регуляции процессов пролиферации, а гипомагниемия способствует остановке клеточного деления [12, 13]. Так как рецепторы к EGF экспрессированы в восходящем колоне петли Генле в почках (место реабсорбции магния), то блокирование данных рецепторов моноклональными антителами может способствовать усилению выведения магния [14]. В клинических исследованиях выявлена взаимосвязь между наличием гипомагниемии и длительностью терапии анти-EGFR-препаратами [15]. По результатам анализа 14 исследований, риск развития гипомагниемии при терапии цетуксимабом или панитумумабом составлял 17 % [16]. В исследовании 68 больных мРТК без стратификации по статусу гена *KRAS* было показано, что в случае снижения уровня магния на 20 % в сроки 1–3 нед после 1 введения анти-EGFR-препарата чаще регистрировался объективный ответ (64 % против 25,6 %;  $p = 0,004$ ), с увеличением времени до прогрессирования и продолжительность жизни [17]. Во 2-м исследовании, проведенном уже у 143 больных с диким типом гена *KRAS*, наилучший ответ на терапию комбинации цетуксимаба и иринотекана был зарегистрирован у пациентов со снижением более чем на 50 % уровня магния в течение первых 4 нед терапии: 55,8 % против 16,7 %,  $p < 0,0001$  [18]. На этом фоне контрастно смотрятся результаты исследования CO.17, показавшего противоположные результаты: более низкие показатели общей выживаемости при снижении уровня магния более 20 % в течение 4-й недели терапии цетуксимабом: ОР 2,08; 95 % ДИ 1,32–3,29,  $p = 0,002$  [19]. Таким образом, в настоящее время данный фактор не следует рекомендовать для определения чувствительности опухоли к анти-EGFR-антителам. Кроме того, достижение гипомагниемии также ассоциировано с развитием и более грозных осложнений, в том числе и диареи.

#### **Молекулярные факторы резистентности к анти-EGFR-терапии**

##### **Экспрессия EGFR**

Гиперэкспрессия EGFR на опухолевых клетках выявляется у 60–80 % больных РТК [20]. По аналогии

с HER2/неу позитивным раком молочной железы было высказано предположение, что интенсивность иммуногистохимической окраски рецептора к EGF будет служить биомаркером, предсказывающим эффективность анти-EGFR-терапии при РТК. Однако большое количество исследований по применению анти-EGFR-препаратов при мРТК не показало корреляции эффекта терапии с интенсивностью окрашивания EGFR [21–24]. Одни из предполагаемых объяснений таких клинических несоответствий – различия в эпитопах, связываемых анти-EGFR моноклональными антителами и иммуногистохимическими маркерами. Другим объяснением служит длительность хранения послеоперационного опухолевого материала, в результате чего происходит каталитическая деградация рецепторов на поверхности клеточной мембраны [25]. Следует отметить и несоответствие гиперэкспрессии рецептора EGFR и амплификации гена. Так, если гиперэкспрессия EGFR представлена в 60–80 % опухолей толстой кишки, амплификация гена выявляется только в 17 % первичных опухолей и 23 % метастатических очагов, позитивных, согласно иммуногистохимическому исследованию (ИГХ), по EGFR [26]. Также отмечено различие в экспрессии EGFR между первичной опухолью толстой кишки и метастазами, поэтому применение ИГХ-результатов по первичной опухоли для предсказания эффективности лечения метастатической болезни может быть не адекватным [27]. В других работах отмечена неодинаковая экспрессия EGFR в различных участках первичной опухоли.

Возможно, в совокупности выше представленные причины приводят к отсутствию корреляции между эффективностью терапии ингибиторами EGFR и экспрессией данного рецептора в опухоли.

#### Мутации в гене и увеличение числа копий гена EGFR

Если при аденокарциноме легкого наличие активирующих мутаций гена *EGFR* является сильным предиктором эффективности ингибиторов тирозинкиназы данного рецептора (гефетиниб, эрлотиниб) [28], то при РТК наличие мутаций в гене *EGFR* крайне редкая ситуация. Но даже при их наличии эффективность анти-EGFR-терапии не возрастает [29, 30].

Увеличение числа копий гена *EGFR* вследствие полисомии, реже амплификации гена предположительно может приводить к увеличению экспрессии EGFR. Частота встречаемости данного фактора в популяции больных РТК, по данным разных авторов, колеблется от 6 до 51 % [25, 31]. При этом в отличие от других опухолей, при РТК наблюдается умеренное увеличение числа копий гена *EGFR* (в 3–5 раз) [26, 31]. В большинстве работ отмечается корреляция между увеличением числа копий гена *EGFR* и достижением объективного ответа на

терапию с анти-EGFR моноклональными антителами (табл. 1). Даже среди пациентов с химиорефрактерным заболеванием, при числе копий гена *EGFR* более 2, возможно достижение объективного эффекта анти-EGFR-терапии у 21–89 % больных. Применяемые методы оценки данного параметра широко распространены: флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), хромогенная гибридизация *in situ* (CISH), полимеразная цепная реакция (ПЦР). Не установлено преимущество какого-либо из методов определения копийности гена. Тем не менее в единственном из исследований, не показавшим различий в достижении объективного эффекта при увеличении числа копий гена, применялся метод ПЦР [32]. В то же время при применении методов FISH или CISH всегда обнаруживалась изучаемая корреляция. Как видно из табл. 1, пороговое значение копийности гена *EGFR* для предсказания эффективности терапии моноклональными антителами к EGFR находится в пределах от 2 до 6 копий гена. Сообщается о низкой корреляции между копийностью гена *EGFR* между первичной опухолью и метастатическими очагами, что говорит о целесообразности биопсии метастатического очага перед началом ХТ [33].

Таким образом, применение данного параметра предсказания эффективности анти-EGFR-терапии при РТК показывает обнадеживающие результаты и может быть рекомендован в проспективных исследованиях в качестве предполагаемого биомаркера эффективности панитумумаба и цетуксимаба.

Таблица 1. Ассоциация числа копий гена EGFR и эффективности терапии анти-EGFR-препаратами

Ссылка	N	Схема терапии	Число копий гена EGFR	Объективный ответ, %
Moroni et al. [31]	31	Цетуксимаб/панитумумаб + ХТ	≥ 3 < 3	89* 5
Lievre et al. [34]	30	Цетуксимаб + ХТ	≥ 6 < 6	27* 0
Lenz et al. [32]	34	Цетуксимаб	Нет данных	Нет различий
Frattini et al. [35]	27	Цетуксимаб + ХТ	≥ 4 < 4	22* 14
Capuzzo et al. [26]	85	Цетуксимаб + ХТ	≥ 2,92 < 2,92	32,6* 2,4
Sartore-Bianchi et al. [36]	92	Панитумумаб	≥ 2,47 < 2,47	30* 0
Personeni et al. [37]	87	Цетуксимаб + ХТ	≥ 2,83 < 2,83	Нет данных
Laurent-Puig et al. [38]	138	Цетуксимаб + ХТ	≥ 2 < 2	71* 37
Scartozzi et al. [39]	44	Цетуксимаб + иринотекан	≥ 2,6 < 2,6 ≥ 2,12 < 2,12	60* 9 36* 6

\*Статистически значимые различия.

**HER2 (ErbB-2)**

EGFR относится к семейству рецепторов HER (ErbB). Последнее включает в себя также такие рецепторы, как HER2 (ErbB-2), HER3 (ErbB-3) и HER4 (ErbB-4). При этом рецептор EGFR может передавать сигнал в клетку, образуя гетеродимеры с другими рецепторами своего семейства. Это потенциально может влиять на эффективность применения анти-EGFR-препаратов. В 2 предклинических работах было показано, что наличие амплификации гена *HER-2* в опухолях РТК приводит к активации нижележащего сигнального пути и тем самым ограничивает эффект блокирования EGFR моноклональными антителами [33, 40]. Опубликованное в 2013 г. исследование по изучению роли амплификации HER-2 в опухолях у 170 больных мРТК с диким типом гена *KRAS*, получавших терапию цетуксимабом или панитумумабом, подтвердило предклинические находки. У 34/170 (20 %) была выявлена амплификация HER-2. Увеличение числа копий гена *HER-2* вследствие полисомии было выявлено у 77/170 (45 %) больных. При сравнении пациентов с высоким уровнем амплификации и без амплификации различий в объективном ответе получено не было. Тем не менее время до прогрессирования и продолжительность жизни больных с амплификацией HER-2 была статистически значимо ниже: 2,5 и 3,2 мес против 6,7 и 13 мес соответственно. В противоположность этому, у больных с увеличением числа копий гена *HER2* (в следствие полисомии) частота объективных эффектов на анти-EGFR-терапию была выше: 45 и 17 % ( $p < 0,001$ ), без различий в продолжительности жизни (12,7 и 9,7 мес,  $p = 0,36$ ). Интересно, что у 90 % больных с увеличением числа копий гена *EGFR* отмечалось и увеличение числа копий гена *HER2* [41].

Такое различие в эффективности анти-EGFR-препаратов между опухолями с амплификацией и увеличением числа копий гена *HER2* в следствии полисомии

может быть связано с различиями в дерегулировании рецептора HER2. В случае амплификации гена данные изменения становятся ведущими в процессе поддержания опухолевого роста. То есть данный сигнальный путь будет всегда активирован вне зависимости от блокирования рецептора к эпидермальному фактору роста моноклональными антителами. Увеличение числа копий гена *HER2* вследствие полисомии 7 хромосомы возникает в результате хромосомной нестабильности, а в опухолевой клетке сохраняется значимая роль других молекулярных изменений [41]. Авторы сделали вывод, что наличие увеличения числа копий гена *HER2* (вследствие полисомии) при диком типе гена *KRAS* может быть предиктором эффективности терапии моноклональными антителами к EGFR. В литературе также представлены данные по корреляции между экспрессией гена *HER4* (ERB-4) и ответом на терапию цетуксимабом у больных с мРТК [42].

**Лиганды к EGFR**

Лигандами к рецептору эпидермального фактора роста наряду с эпидермальным фактором роста (EGF) являются HB-EGF (heparin-binding EGF), трансформирующий фактор роста- $\alpha$  (TGF $\alpha$ ), амфигулин (AREG), эпигулин (EREG), epigen, betacellulin (BTC), neuregulin-1, -2, -3 и -4. В ретроспективном исследовании, проведенном на 156 больных с мРТК, получивших терапию цетуксимабом, ни уровень мРНК EGF, ни TGF $\alpha$  не имели предикторного или прогностического значения, независимо от статуса гена *KRAS*. Эти данные были подтверждены и в исследовании Baker et al. [42]. Тогда как при проведении терапии цетуксимабом у пациентов с высоким уровнем AREG или EREG значимо был ниже риск смерти: ОР 0,47,  $p = 0,0002$  [43]. Аналогичные результаты были получены и в других исследованиях [44–46] (табл. 2). Гены *AREG* и *EREG* находятся на хромосоме 4q13.3

**Таблица 2.** Влияние уровня экспрессии EREG и AREG на эффективность терапии анти-EGFR-препаратами

Ссылка	N	Схема терапии	Уровень EREG и AREG	Медиана времени до прогрессирования	Медиана продолжительности жизни
Pentheroudakis et al. [43]	156 164	Цетуксимаб + ХТ	↑ EREG ↓ EREG ↑ AREG ↓ AREG	Нет данных	36 мес* 23 мес 29 мес* 16 мес
Khambata-Ford et al. [46]	110	Цетуксимаб	↑ EREG ↓ EREG ↑ AREG ↓ AREG	103,5 дней* 57 дней 115,5 дней* 57 дней	Нет данных
Jacobs et al. [44]	208 211	Цетуксимаб	↑ EREG ↓ EREG ↑ AREG ↓ AREG	ОР = 0,61 (95 % ДИ, 0,51 to 0,73)* ОР = 0,60 (95 % ДИ, 0,50 to 0,74)*	65 нед* 31 нед ОР = 0,65 (95 % ДИ, 0,54 to 0,78)*
Saridaki et al. [45]	112	Цетуксимаб + ХТ	↑ EREG ↓ EREG ↑ AREG ↓ AREG	6,1 мес* 3,6 мес 5,0 мес* 3,8 мес	17,6 мес* 10,7 мес 20,2 мес* 10,7 мес

\*Статистически значимые отличия; ОР – отношение рисков; ДИ – доверительный интервал.

и экспрессируются опухолевыми клетками по аутокринному механизму. Экспрессия обоих лигандов значимо выше при диком типе гена *KRAS* и *BRAF*. Наличие же активирующих мутаций в гене *KRAS* или *BRAF* сами по себе ведут к постоянной активации сигнального пути RAS/RAF/MAPK, что не требует дополнительной активации EGFR дополнительной выработкой AREG или EREG опухолевой клеткой.

Наиболее сильно с объективным эффектом при терапии цетуксимабом коррелировала высокая экспрессия EREG. AREG и EREG не являются биологически идентичными молекулами. AREG связывает только EGFR, тогда как EREG, наряду с EGFR, может образовывать комплекс с HER4 (ERB-4), тем самым пролонгируя активацию сигнального пути RAS/RAF/MAPK [47]. Более сильная предикторная роль экспрессии EREG в отношении терапии цетуксимабом также была показана и в других исследованиях [45, 46, 48]. В исследовании NCI-CTG017 высокий уровень экспрессии EREG у больных с диким типом гена *KRAS* был ассоциирован с увеличением времени до прогрессирования (5,4 против 1,9 мес) и продолжительности жизни (9,8 против 5,1 мес) при терапии цетуксимабом [49].

Таким образом, наряду с увеличением числа копий гена *EGFR*, повышение экспрессии амфирегулина и, в большей степени, эпирегулина, ассоциировано с более высокой эффективностью анти-EGFR-терапии при мПТК и диком типе гена *KRAS*.

#### Другие гены сигнального пути RAS/RAF/MEK/ERK/MAPK

*NRAS* относится к семейству онкогенов RAS, ген которого расположен на 1 хромосоме [50]. *NRAS* отличается от *KRAS* концевым участком белковой молекулы, что определяет его отличие в транспортировке, во внутриклеточном расположении и функции [51]. Мутация гена *NRAS* встречается в 3–5 % случаях РТК, чаще в кодоне 61. Как и при мутации *BRAF*, мутации *KRAS* и *NRAS* взаимоисключающие [51, 52]. Наличие мутации в гене *NRAS* определяет наличие резистентности к анти-EGFR-терапии РТК [52–54].

***BRAF***. Сигнал с молекулы *KRAS* передается на молекулу *BRAF*. При возникновении активирующей мутации в гене *BRAF* сигнал будет проходить ниже по сигнальному пути независимо от ингибирования вышележащих молекул. В эпидемиологическом исследовании 649 больных с разными стадиями РТК мутация гена *BRAF* в опухоли была выявлена в 17 % случаев [55]. Мутации в гене *BRAF* у больных с мПТК выявляются у 10 % пациентов. Наиболее частый вариант мутации – V600E. Мутации в гене *BRAF* и *KRAS* – события взаимоисключающие. Прогностическая роль мутации в гене *BRAF* при ранних стадиях, в отличие от диссеминированного процесса, точно не определена. К примеру, в анализе объединенных данных исследований CRISTAL и OPUS у пациентов с метастатическим раком и с мутацией гена

*BRAF* частота достижения объективных эффектов в группе с анти-EGFR-препаратом составила 13,2 против 40,9 %, время до прогрессирования – 3,7 против 7,7 мес и медиана продолжительности жизни – 9,9 против 21,1 мес [56]. В адьювантных же исследованиях QUASAR и PETACC-3 не было выявлено различий в безрецидивной выживаемости в зависимости от наличия мутации в гене [57, 58]. Однако в последнем исследовании выявлено статистически значимое отличие в выживаемости после развития метастазов у больных с мутацией (7,5 против 25,2 мес) [59]. Анти-EGFR-терапия также не эффективна при наличии мутации [53, 56, 60–66]. Отмечена связь наличия мутации в гене *BRAF* с состоянием системы репарации неспаренных оснований ДНК. При микросателлитной нестабильности частота мутаций гена *BRAF* доходит до 50 %, тогда как при микросателлитно стабильных опухолях присутствие мутации в гене – событие крайне редкое [67]. При этом только в последнем случае наличие мутации в гене *BRAF* ассоциировано с низкими показателями выживаемости [58, 59].

Таким образом, если исключить больных с мутацией гена *BRAF* из общего числа пациентов с мПТК и диким типом гена *KRAS*, то еще 10 % больных можно не назначать неэффективную в данной группе больных анти-EGFR-терапию.

#### *PI3K*

*PI3K* – семейство из 3 типов белков, отличающихся по структуре. Активация IA типа *PI3K* происходит при активации рецепторов на цитоплазматической мембране. Сигнал передается на нижележащие молекулы АКТ и mTOR. Сама молекула IA *PI3K* состоит из 2 субъединиц, при этом мутации в гене могут затрагивать регионы, ответственные за структуру обеих субъединиц (*PIK3CA* и *PI3KR1*). В 10–20 % опухолей толстой кишки выявляются мутации гена *PIK3CA*. Эти мутации могут сочетаться с мутациями в гене *KRAS* или *BRAF*. Данные по прогностическому значению наличия мутации в гене *PIK3CA* у больных РТК противоречивы. В ряде исследований подчеркивается негативное прогностическое значение мутации, особенно у больных с диким типом гена *KRAS*. Так, по данным исследования Kato et al., наличие мутации в гене *PIK3CA* являлось независимым негативным прогностическим фактором в отношении безрецидивной выживаемости у больных с II–III стадией РТК [68]. В исследовании Ogino et al. выявленное негативное прогностическое значение мутации в гене было более выражено у больных II–III стадией и с диким типом гена *KRAS* (ОР = 3,8), но не у больных с мутацией в гене *KRAS* (ОР = 1,25) [60]. В 2 крупных исследованиях у метастатических больных наличие мутации в гене *PI3KCA* не было ассоциировано с низкими показателями выживаемости [61, 62]. В 60–65 % случаев мутация затрагивает экзон 9, в 20–25 % – экзон 20. При этом данные мутации функционально различны.

Мутация в 9-м экзоне не приводит к нарушению связывания регуляторной субъединицы P13K с комплексом RAS-GTF (p85). А так как для передачи сигнала на нижележащие молекулы пути необходимо связывание комплекса KRAS с P13K, то анти-EGFR-препараты будут эффективны при данной мутации. При мутации в 20-м экзоне гена *PIK3CA* возникающие структурные изменения затрагивают киназный домен и молекула P13K будет активна независимо от состояния KRAS и не требует связывания с комплексом RAS-GTF. Таким образом, теоретически анти-EGFR-терапия при мутации в 20-м экзоне должна быть неэффективна. Следовательно, эти мутации необходимо рассматривать отдельно.

В предклинических работах было показано, что наличие активирующей мутации в гене *PIK3CA* ассоциировано с первичной резистентностью к цетуксимабу [63, 64]. При ретроспективном анализе клинических исследований предикторное значение наличия мутации в гене для анти-EGFR-препаратов у больных РТК было подтверждено в большинстве исследований (табл. 3). При этом дифференцированное значение локализации мутации в отношении резистентности подтверждено не было, за исключением одной работы. Объективный ответ на ХТ с анти-EGFR-препаратами у больных с мутацией в гене *PIK3CA* колебался по разным данным от 0 до 13,6 %. Также достоверно ниже были показатели и времени до прогрессирования [65].

В наиболее крупном исследовании Европейского консорциума [52] (356 больных мРТК, получавших лечение цетуксимабом) при мутации в гене *PIK3CA* статистически значимо реже достигался объективный ответ (17,7 против 37,7 %,  $p = 0,015$ ). При этом отмечалась тенденция к различиям во времени до прогрессирования и продолжительности жизни в сравнении с пациентами, у которых опухоль не имела мутации. При исследовании влияния локализации мутации было показано, что наличие мутации в экзоне 9 не влияло на достижение объективного эффекта, времени до прогрессирования и продолжительности жизни. Тогда как наличие мутации в экзоне 20 предсказывало

наличие резистентности к анти-EGFR-препаратам. Единственным исследованием, выбивающимся из общего ряда, была работа Pranen et al. Среди 200 пациентов с рефрактерных к иринотекану опухолями мутация в гене *PIK3CA* встречалась в равной пропорции среди больных с или без объективного ответа на терапию цетуксимаб +/- иринотекан (13 против 11 % соответственно) [66].

### PTEN

PTEN – опухолевый супрессор, регулятор активности молекулы P13K. При потере функции PTEN происходит повышение уровня активной формы P13K [63, 69, 70]. Дисфункция PTEN может быть результатом мутации в гене *PTEN*, эпигенетических изменений в гене (гиперметилирование промотора), потери гетерозиготности 10q23 хромосомы. При РТК потеря гетерозиготности 10q23 хромосомы встречается в 23 % случаев. Встречаемость гиперметилирования промотора гена *PTEN* варьирует от 2,2 % в опухолях с микросателлитной стабильностью до 19,9 % опухолей с микросателлитной нестабильностью [71]. Также при микросателлитной нестабильности выше частота и мутаций в гене *PTEN*, в среднем на все опухоли частота мутации гена составляет 5 % [71]. Иммуногистохимическое отсутствие экспрессии PTEN выявляется в 19–42 % опухолей толстой кишки [71, 36] и может сочетаться с мутациями таких генов, как *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, и полисомией EGFR [36, 38]. Если конкордантность наличия мутации гена *KRAS* в первичной опухоли и в метастатических очагах достигает 95 %, то по изменению функции PTEN – только в 60 % [72, 73]. Чаше дисфункция PTEN наблюдается в метастатических очагах. Поэтому имеет смысл выполнять биопсию метастатических очагов.

В предклинических работах выявлена резистентность к цетуксимабу клеточных линий РТК с дисфункцией PTEN [63]. Ретроспективный анализ клинических работ показал, что нормальная функция PTEN была ассоциирована с развитием объективного ответа на комбинацию ХТ и анти-EGFR-препаратов (табл. 4).

Таблица 3. Ассоциация функции P13K и эффективностью анти-EGFR-терапии

Ссылка	N	Схема терапии	Статус P13K	Объективный ответ, %	Медиана времени до прогрессирования, мес
Sartore-Bianchi et al. [36]	109	Панитумумаб/цетуксимаб +/- ХТ	Мутация дикий тип	0* 23,4	4* 2
Souglakos et al. [65]	168	Цетуксимаб + ХТ	Мутация дикий тип	Нет данных	2,85 3,02
Pranen et al. [66]	200	Цетуксимаб +/- иринотекан	Мутация дикий тип	21,7 18,6	6 4,4
De Roock et al. [52]	358	Цетуксимаб/панитумумаб +/-ХТ	Мутация в 9-м экзоне	28,6	5,87
			Мутация в 20-м экзоне, дикий тип	0* 36,8	2,87* 6

\*Статистически значимые отличия.

Таблица 4. Ассоциация функции PTEN и эффективности анти-EGFR-терапии

Ссылка	N	Схема терапии	Функция PTEN	Объективный ответ, %
Frattini et al. [35]	27	Цетуксимаб + иринотекан	↓ N	0* 63
Loupakis et al. [73]	59	Цетуксимаб + иринотекан	↓ N	5* 36
Sartore-Bianchi et al. [36]	80	Панитумумаб/цетуксимаб	↓ N	3* 35
Perrone et al. [74]	20	Цетуксимаб + иринотекан	↓ N	0 45
Laurent-Puig et al. [38]	162	Цетуксимаб + ХТ	↓ N	46 45
Razis et al. [75]	72 (ИГХ)	Цетуксимаб +/- ХТ	↓ N	50
	66 (FISH)			31
				13*
				42

\*Статистически значимые отличия.

В большинстве исследований уровень PTEN определялся иммуногистохимически. Loupakis et al. при изучении дисфункции PTEN в первичной опухоли не выявили взаимосвязи с объективным ответом. В то же время подтвердили наличие ассоциации дисфункции PTEN в метастатических очагах и низким объективным эффектом [73]. В исследовании Laurent-Puig et al. взаимосвязи статуса PTEN и объективного эффекта терапии не было выявлено. Однако в группе с диким типом гена KRAS наличие дисфункции PTEN было статистически значимо ассоциировано с более низкой продолжительностью жизни [38]. В исследовании Perrone et al. отсутствие корреляции статуса PTEN с объективным ответом может являться результатом небольшого количества больных в исследовании. Также нормальная функция PTEN определялась таким маркером, как наличие повышенного числа копий гена PTEN [74].

Вероятно, полученные противоречивые данные могут быть объяснены различиями в образцах, в которых определяли состояние PTEN, – в ряде негативных исследований в качестве материала для анализа выступала первичная опухоль, а не метастазы. Кроме этого, уровень PTEN определяется иммуногистохимически, и пока нет рекомендованного общего порогового значения, ниже которого диагностируется дисфункция PTEN.

#### ***c-Met и рецептор к инсулиноподобному фактору роста тирозинкиназы 1 (IGF1R)***

c-Met – трансмембранный тирозинкиназный рецептор к фактору роста гепатоцитов, вовлечен в процессы клеточной пролиферации и апоптоза. Активация c-Met может приводить к активации молекул сигнальных путей RAS/RAF/MEK/MAPK и PI3K/AKT/mTOR [76]. Повышение активности c-Met чаще встречается при мутациях KRAS [77]. Оценка экспрессии c-Met может быть проведена иммуноблоттингом

или иммуногистохимически [78, 79]. Частота выявления гиперэкспрессии c-Met может достигать 74 %, и ассоциирована с низкими показателями времени до прогрессирования и продолжительности жизни при терапии цетуксимабом больных РТК [78, 80]. При этом увеличение числа копий гена c-Met не явилось предиктором резистентности к цетуксимабу [26]. Принимая во внимание небольшое количество больных в исследованиях, посвященных роли c-Met при РТК, необходимо накапливать дальнейшие данные по валидации данного предполагаемого маркера резистентности к анти-EGFR-терапии.

IGF1R – рецептор к инсулиноподобному фактору роста тип 1 – трансмембранный тирозинкиназный рецептор, участвующий в процессах канцерогенеза, роста опухолевых клеток. Активация IGF1R может приводить к активации молекул сигнальных путей RAS/RAF/MEK/MAPK и PI3K/AKT/mTOR [81]. Гиперэкспрессия IGF1R выявляется в 50–90 % опухолей толстой кишки, может определяться иммуногистохимически [82]. Предклинические работы показали более агрессивное течение РТК, неблагоприятный прогноз заболевания и резистентность опухоли к анти-EGFR-препаратам при гиперэкспрессии данного рецептора [83]. Однако в клинических ретроспективных исследованиях гиперэкспрессия IGF1R, наоборот, явилась благоприятным прогностическим фактором при мРТК [26, 78]. В обоих исследованиях не подтверждена резистентность опухоли к цетуксимабу при наличии гиперэкспрессии рецептора.

#### ***p53***

p53 – опухолевый супрессор, участвующий в апоптозе. Нарушения в работе гена могут приводить к активации онкогенов. Может являться потенциальным кандидатом для предсказания резистентности к анти-EGFR-препаратам. Известно, что при дисфункции PTEN и активации PI3K наблюдается и повышение активности p53. То есть p53 прекращает передачу сигнала по PI3K пути [84]. Поэтому было сделано предположение, что анти-EGFR-антитела будут работать только при инактивации p53 в опухолевых клетках – когда путь с EGFR на PI3K и ниже будет активным. С другой стороны, в предклинических работах было показано, что при наличии мутации в гене RAS применение ингибиторов нижележащих молекул сигнального пути (ингибитора MEK) было эффективно только при диком типе гена p53. Дисфункция p53 в клеточных линиях РТК значительно снижает уровень фосфорилирования MAPK и определяет развитие резистентности к ингибиторам EGFR-KRAS-BRAF-MER-ERK-MAPK пути [85]. Таким образом, в предклинике были получены противоречивые данные о роли p53. В клиническом исследовании Oden-Gangloff et al. мутация p53 выявлена в опухоли 64 % пациентов и была ассоциирована с достижением контроля болезни и более

длительным временем до прогрессирования у пациентов с диким типом гена *KRAS*, кому проводилась терапия цетуксимабом [86]. Учитывая небольшое количество пациентов в исследовании, данные находки должны быть подтверждены на данных более крупных исследований лечения анти-EGFR-препаратами больных метастатическим РТК.

### Заключение

Одним из первых успехов в персонализированном подходе в лечении РТК было определение эффективности терапии анти-EGFR-препаратами у больных с диким типом гена *KRAS* в опухоли. Однако даже у этой группы пациентов объективный ответ достигается только у половины больных. Учитывая стоимость лечения, необходимо выделить группу пациентов, у которых назначение данных препаратов будет наиболее выигрышно. Особенно это важно у больных с потенциально операбельными метастазами РТК. Из представленных

данных литературы определение маркеров чувствительности к анти-EGFR-терапии (дикий тип гена *KRAS*, *NRAS* и *BRAF*, высокое число копий гена *EGFR*, отсутствие дисфункции *PTEN*, высокая экспрессия амфирегулина и эпирегулина) позволяет достичь объективного эффекта у 70 % больных. Тогда как при обратных показателях объективный ответ достигается только у 0–3 % больных, которым назначаются анти-EGFR-препараты. А в сочетании с достижением раннего объективного эффекта (по данным обследования после 3 курсов) данные показатели помогают выделить больных, у которых следует ожидать эффекта от назначения анти-EGFR-препаратов. В настоящее время проводятся исследования с целью изучения роли различных полиморфизмов генов *EGFR*, *EGF*, циклина D1, C фрагмента  $\gamma$  рецептора в предсказывании эффективности терапии анти-EGFR-препаратами. Но получаемые данные противоречивы и требуют валидации в проспективных исследованиях на большом числе больных.

## ЛИТЕРАТУРА

- Mendelsohn J., Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer. *J Clin Oncol* 2003;21(14):2787–99.
- Mayer A., Takimoto M., Fritz E. et al. The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen, epidermal growth factor receptor, and mdr gene expression in colorectal cancer. *Cancer* 1993;71(8):2454–60.
- Custodio A., Feliu J. Prognostic and predictive biomarkers for epidermal growth factor receptor-targeted therapy in colorectal cancer: Beyond KRAS mutations. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013;85(1):45–81.
- Di Fiore F., Blanchard F., Charbonnier F. et al. Clinical relevance of KRAS mutation detection in metastatic colorectal cancer treated by cetuximab plus chemotherapy. *Br J Cancer* 2007;96:1166–9.
- Lievre A., Bachet J.B., Boige V. et al. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2008;26:374–9.
- Tejpar S., Humblet Y., Vermorken J.B. et al. Relationship of efficacy with KRAS status (wild type versus mutant) in patients with irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer (mCRC), treated with irinotecan (q2w) and escalating doses of cetuximab (q1w): the EVEREST experience (preliminary data). *J Clin Oncol* 2008;26(Suppl.) [abstract 4001].
- Graziano F., Ruzzo A., Loupakis F. et al. Pharmacogenomic profiling for cetuximab plus irinotecan therapy in patients with refractory advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:1427–34.
- Piessevaux H., Buysse M., de Roock W. et al. Radiological tumor size decrease at week 6 is a potent predictor of outcome in chemorefractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab (BOND trial). *Ann Oncol* 2008;19:508–15.
- Piessevaux H., Van Cutsem E., Bokemeyer C. et al. Early tumor shrinkage and long-term outcome in metastatic colorectal cancer (mCRC): assessment of predictive utility across treatment arms in the CRYSTAL and OPUS studies. *J Clin Oncol* 2011;29(Suppl.) [abstract 3572].
- Van Hazel G.A., Tu D., Tebbutt N.C. et al. Early change in tumor size from waterfall plot analysis and RECIST response as predictor of overall survival (OS) in advanced, chemotherapy-refractory colorectal cancer (ACRC): NCIC CTG/AGIT CO.17 study. *J Clin Oncol* 2011;29(Suppl.) [abstract 3602].
- De Roock W., Piessevaux H., De Schutter J. et al. KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *Ann Oncol* 2008;19:508–15.
- Rubin H. Central roles of Mg<sup>2+</sup> and MgATP<sup>2-</sup> in the regulation of protein synthesis and cell proliferation: significance for neoplastic transformation. *Adv Cancer Res* 2005;93:1–58.
- Rubin H. The logic of the membrane, magnesium, mitosis (MMM) model for the regulation of animal cell proliferation. *Arch Biochem Biophys* 2007;458:16–23.
- Whang R., Hampton E.M., Whang D.D. Magnesium homeostasis and clinical disorders of magnesium deficiency. *Ann Pharmacother* 1994;28:220–6.
- Fahik M.G., Wilding G., Lombardo J. Cetuximab-induced hypomagnesemia in patients with colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2006;6:152–6.
- Petrelli F., Borrono K., Cabiddu M. et al. Risk of anti-EGFR monoclonal antibody-related hypomagnesemia: systematic review and pooled analysis of randomized studies. *Expert Opin Drug Saf* 2012;11 Suppl 1:S9–19.
- Vincenzi B., Santini D., Galluzzo S. et al. Early magnesium reduction in advanced colorectal cancer patients treated with cetuximab plus irinotecan as predictive factor of efficacy and outcome. *Clin Cancer Res* 2008;14:4219–24.
- Vincenzi B., Galluzzo S., Santini S. et al. Early magnesium modifications as a surrogate marker of efficacy of cetuximab-based anticancer treatment in KRAS wild-type advanced colorectal cancer patients. *Ann Oncol* 2011;22:1141–6.
- Vickers M.M., Karapetis C.S., Tu D. et al. The influence of hypomagnesemia (hMg) on overall survival (OS) in a phase III randomized study of cetuximab (CET) plus best supportive care (BSC) versus BSC: NCIC CTG/AGITG CO.17. *J Clin Oncol* 2011;(Suppl.) [abstract 3601].
- Goldstein N.S., Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV colon adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system. *Cancer* 2001;92:1331–46.

21. Pérez-Soler R., Chachoua A., Hammond L.A. et al. Determinants of tumor response and survival with erlotinib in patients with non-smallcell lung cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:3238–47.
22. Maughan T.S., Adams R.A., Smith C.G. et al. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3MRC COIN trial. *Lancet* 2011;377:2103–14.
23. Tol J., Koopman M., Cats A. et al. Chemotherapy, bevacizumab and cetuximab in metastatic colorectal cancer. *N Eng J Med* 2009;360:563–72.
24. Cunningham D., Ruff P., Rother M. et al. Randomised open-label phase 3 study (PRIME) of panitumumab plus FOLFOX4 compared with FOLFOX4 alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: analysis of efficacy by epidermal growth factor receptor status and severity of skin toxicity. In: Abstract presented at 12th Australasian gastro-intestinal trials group annual meeting. 2010.
25. Shia J., Klimstra D.S., Li A.R. et al. Epidermal growth factor receptor expression and gene amplification in colorectal carcinoma: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization study. *Mod Pathol* 2005;18:1350–6.
26. Cappuzzo F., Finocchiaro G., Rossi E. et al. EGFR FISH assay predicts for response to cetuximab in chemotherapy refractory colorectal cancer patients. *Ann Oncol* 2008;19:717–23.
27. Scartozzi M., Bearzi I., Berardi R. et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) status in primary colorectal tumors does not correlate with EGFR expression in related metastatic sites: implications for treatment with EGFR-mono-clonal antibodies. *J Clin Oncol* 2004;22:4772–8.
28. Taron M., Ichinose Y., Rosell R. et al. Activating mutations in the tyrosine kinase domain of the epidermal growth factor receptor are associated with improved survival in gefitinib-treated chemorefractory lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2005;11:5878–85.
29. Barber T.D., Vogelstein B., Kinzler K.W., Velculescu V.E. Somatic mutations of EGFR in colorectal cancers and glioblastoma. *N Eng J Med* 2004;351:2883.
30. Tsuchihashi Z., Khambata-Ford S., Hanna N., Jänne P.A. Responsiveness to cetuximab without mutations in EGFR. *N Eng J Med* 2005;353:208–9.
31. Moroni M., Veronese S., Benvenuti S. et al. Gene copy number for epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to anti-EGFR treatment in colorectal cancer: a cohort study. *Lancet Oncol* 2005;6:279–86.
32. Lenz H-J., Van Cutsem E., Khambata-Ford S. et al. Multicenter phase II and translational study of cetuximab in metastatic colorectal carcinoma refractory to irinotecan, oxaliplatin, and fluoropyrimidines. *J Clin Oncol* 2006;24:4914–21.
33. Bertotti A., Migliardi G., Galimi F. et al. A molecularly annotated platform of patient-derived xenografts ('xenopatients') identifies HER2 as an effective therapeutic target in cetuximab-resistant colorectal cancer. *Cancer Discov* 2011;1:508–23.
34. Lièvre A., Bachelot J.B., Le Corre D. et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 2006;66:3992–5.
35. Frattini M., Saletti P., Romagnani E. et al. PTEN loss of expression predicts cetuximab efficacy in metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2007;97:1139–45.
36. Sartore-Bianchi A., Moroni M., Veronese S. et al. Epidermal growth factor receptor gene number and clinical outcome of metastatic colorectal cancer treated with panitumumab. *J Clin Oncol* 2007;17:895–904.
37. Personeni N., Fieuw S., Piessevaux H. et al. Clinical usefulness of EGFR gene copy number as a predictive marker in colorectal cancer patients treated with cetuximab: a fluorescent in situ hybridization study. *Clin Cancer Res* 2008;14:5869–76.
38. Laurent-Puig P., Cayre A., Manceau G. et al. Analysis of PTEN, BRAF and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:5924–30.
39. Scartozzi M., Bearzi I., Mandolesi A. et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) gene copy number (GCN) correlates with clinical activity of irinotecan-cetuximab in KRAS wild-type colorectal cancer: a fluorescence in situ (FISH) and chromogenic in situ hybridization (CISH) analysis. *BMC Cancer* 2009;9:303.
40. Yonesaka K., Zejnullahu K., Okamoto I. et al. Activation of ERBB2 signaling causes resistance to the EGFR-directed therapeutic antibody cetuximab. *Sci Transl Med* 2011;3(99):99ra86.
41. Martin V., Landi L., Molinari F. et al. HER2 gene copy number status may influence clinical efficacy to anti-EGFR monoclonal antibodies in metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2013;108(3):668–75.
42. Baker J.B., Dutta D., Watson D. et al. Tumour gene expression predicts response to cetuximab in patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2011;104:488–95.
43. Pentheroudakis G., Kotoula V., De Roock W. et al. Biomarkers of benefit from cetuximab-based therapy in metastatic colorectal cancer: interaction of EGFR ligand expression with RAS/RAF, PIK3CA genotypes. *BMC Cancer* 2013;13:49. doi:10.1186/1471-2407-13-49.
44. Jacobs B., De Roock W., Piessevaux H. et al. Amphiregulin and epiregulin mRNA expression in primary tumors predicts outcome in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2009;27:5068–74.
45. Saridaki Z., Tzardi M., Papadaki C. et al. Impact of KRAS, BRAF, PIK3CA mutations, PTEN, AREG, EREG expression and skin rash in  $\geq 2$  line cetuximab-based therapy of colorectal cancer patients. *PLoS One* 2011;6:e15980.
46. Khambata-Ford S., Garrett C.R., Meropol N.J. et al. Expression of epiregulin and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2007;25:3230–7.
47. Shelly M., Pinkas-Kramarski R., Guarino B.C. et al. Epiregulin is a potent pan-ErbB ligand that preferentially activates heterodimeric receptor complexes. *J Biol Chem* 1998;273:10496–505.
48. Koutras A.K., Kalogeris K.T., Dimopoulos M.A. et al. Evaluation of the prognostic and predictive value of HER family mRNA expression in high-risk early breast cancer: a Hellenic Cooperative Oncology Group (HeCOG) study. *Br J Cancer* 2008;99:1775–85.
49. Jonker D.J., Karapetis C., Harbison C. et al. High epiregulin (EREG) gene expression plus K-ras wild-type (WT) status as predictors of cetuximab benefit in the treatment of advanced colorectal cancer (ACRC): results from NCIC CTG CO.17 – a phase III trial of cetuximab versus best supportive care (BSC). *J Clin Oncol* 2009;27(Suppl.) [abstract 4016].
50. Malumbres M., Barbacid M. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat Rev Cancer* 2003;3:459–65.
51. Haigis K.M., Kendall K.R., Wang Y. et al. Differential effects of oncogenic K-Ras and N-Ras on proliferation, differentiation and tumor progression in the colon. *Nat Genet* 2008;40:600–8.
52. De Roock W., Claes B., Bernasconi D. et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol* 2010;11:753–62.
53. Seymour M.T., Brown S.R., Richman S. et al. Addition of panitumumab to irinotecan: results of PICCOLO, a randomized controlled trial in advanced colorectal cancer (aCRC). *J Clin Oncol* 2011;29(Suppl.) [abstract 3523].
54. Oliner K., Peeters M., Siena S. et al. Evaluation of the gene mutations beyond KRAS as predictive biomarkers or response to panitumumab in a randomized, phase III monotherapy study of metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol* 2011;29(Suppl.) [abstract 3530].
55. Ogino S., Noshio K., Kirkner G.J. et al. CpG island methylator phenotype,

- microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut* 2009;58:90–6.
56. Bokemeyer C., Kohne C., Rougier P. et al. Cetuximab with chemotherapy (CT) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer (mCRC): analysis of the CRYSTAL and OPUS studies according to KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol* 2010;28(Suppl.) [abstract 3506].
57. Hutchins G., Southward K., Handley K. et al. Value of mismatch repair, KRAS and BRAF mutations in predicting recurrence and benefits from chemotherapy in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:1261–70.
58. Roth A., Tejpar S., Delorenzi M. et al. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *J Clin Oncol* 2009;28:466–74.
59. Roth A., Klingbiel D., Yan P. et al. Molecular and clinical determinants of survival following relapse after curative treatment of stage II–III colon cancer (CC): results of the translational study of PETACC 3-EORTC 40993-SAKK 60-00 trial. *J Clin Oncol* 2010;28(Suppl.) [abstract 3504].
60. Ogino S., Katsuhiko N., Gregory J. et al. PIK3CA mutation is associated with poor prognosis among patients with curatively resected colon cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:1477–84.
61. Cappuzzo F., Varella-Garcia M., Finocchiaro G. et al. Primary resistance to cetuximab therapy in EGFR FISH positive colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2008;99:83–9.
62. Tol J., Dijkstra J.R., Klomp M. et al. Markers for EGFR pathway activation as predictor of outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with or without cetuximab. *Eur J Cancer* 2010;46:1997–2009.
63. Jhaver M., Goel S., Wilson A.J. et al. PIK3CA mutation/PTEN expression status predicts response of colon cancer cells to epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab. *Cancer Res* 2008;68:1953–61.
64. Samuels Y., Diaz L.A., Schmidt-Kittler O. et al. Mutant PIK3CA promotes cell growth and invasion of human cancer cells. *Cancer Cell* 2005;7:561–73.
65. Souglakos J., Philips J., Wang R. et al. Prognostic and predictive value of common mutations for treatment response and survival in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2009;101:465–72.
66. Prenen H., De Schutter J., Jacobs B. et al. PIK3CA mutations are not a major determinant of resistance to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab in metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:3184–8.
67. Wang L., Cunningham J.M., Winters J.L. et al. BRAF mutations in colon cancer are not likely attributable to defective DNA mismatch repair. *Cancer Res* 2003;63:5209–12.
68. Kato S., Iida S., Higuchi T. et al. PIK3CA mutation is predictive of poor survival in patients with colorectal cancer. *Int J Cancer* 2007;121:1771–8.
69. Cully M., You H., Levine A.J. Mak T.W. Beyond PTEN mutations: the PI3K pathway as an integrator of multiple inputs during tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2006;6:184–92.
70. Di Cristofano A., Pandolfi P.P. The multiple roles of PTEN in tumor suppression. *Cell* 2000;100:387–90.
71. Goel A., Arnold C.N., Niedwiecki D. et al. Frequent inactivation of PTEN by promoter hypermethylation in microsatellite instability-high sporadic colorectal cancers. *Cancer Res* 2004;64:3014–21.
72. Molinari F., Martin V., Saletti P. et al. Differing deregulation of EGFR and downstream proteins in primary colorectal cancer and related metastatic sites may be clinically relevant. *Br J Cancer* 2009;100:1087–94.
73. Loupakis F., Pollina L., Stasi I. et al. PTEN expression and KRAS mutations on primary tumours and metastases in the prediction of benefit from cetuximab plus irinotecan for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:2622–9.
74. Perrone F., Lampis A., Orsenigo M. et al. PIK3CA/PTEN deregulation contributes to impaired responses to cetuximab in metastatic colorectal cancer patients. *Ann Oncol* 2009;20:84–90.
75. Razis E., Briassoulis E., Vrettou E. et al. Potential value of PTEN in predicting cetuximab response in colorectal cancer: an exploratory study. *BMC Cancer* 2008;13(8):234.
76. Jiang W., Hiscox S., Matsumoto K., Nakamura T. Hepatocyte growth factor/Scatter factor, its molecular, cellular and clinical implications in cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 1999;29:209–48.
77. Long I.S., Han K., Li M. et al. Met receptor overexpression and oncogenic K-ras mutation cooperate to enhance tumorigenicity of colon cancer cells *in vivo*. *Mol Cancer Res* 2003;1:393–401.
78. Inno A., Di Salvatore M., Cenci T. et al. Is there a role for IGF1R and c-Met pathways in resistance to cetuximab in metastatic colorectal cancer? *Clin Colorectal Cancer* 2011;10:325–32.
79. Fukuura T., Miki C., Inoue T. et al. Serum hepatocyte growth factor as an index of disease status of patients with colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 1998;78:454–9.
80. Engelman J.A., Zejnullahu K., Mitsudomi T. et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science* 2007;316:1039–43.
81. Khandwala H.M., Mc Cutcheon I.E., Flybjerg A., Friend K.E. The effects of insulin-like growth factors on tumorigenesis and neoplastic growth. *Endocr Reviews* 2000;21:215–44.
82. Koda M., Reszec J., Sulkowska M. et al. Expression of the insulin-like growth factor-I receptor and proapoptotic Bax and Bak proteins in human colorectal cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1030:377–83.
83. Chakravarti A., Loeffler J.S., Dyson N.J. Insulin-like growth factor receptor I mediates resistance to anti-epidermal growth factor receptor therapy in primary human glioblastoma cells through continued activation on phosphoinositide 3-kinase signaling. *Cancer Res* 2002;62:200–7.
84. Kim J.S., Lee C., Bonifant C.L. et al. Activation of p53-dependent growth suppression in human cells by mutations in PTEN or PIK3CA. *Mol Cell Biol* 2007;27:662–77.
85. Wang Z., Li Y., Liu E.T., Yu Q. Susceptibility to cell death induced by blockade of MAPK pathway in human colorectal cancer cells carrying Ras mutations is dependent on p53 status. *Biochem Biophys Res Commun* 2004 Sep 17;322(2):609–13.
86. Oden-Gangloff A., Di Fiore F., Bibeau F. et al. TP53 mutations predict disease control in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab-based chemotherapy. *Br J Cancer* 2009;100:1330–5.