

УДК 616-006.04

**Н.В. Чебышев,**  
д.м.н., академик РАО, заслуженный профессор,  
заведующий кафедрой биологии и общей генетики  
Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

**Т.Ю. Дегтяревская,**  
к.б.н., доцент кафедры биологии и общей генетики  
Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

**Н.А. Сушенцев,**  
студент 3-го курса лечебного факультета  
Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

**А.С. Аракелян,**  
студент 2-го курса лечебного факультета  
Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

**А.К. Галева,**  
студент 2-го курса лечебного факультета  
Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

**N.B. Chebyshev,**  
MD, academician of Russian Academy of Education,  
honored prof., head of the chair of biology and general  
genetics of the I.M. Sechenov First MSMU

**T.Yu. Degtyarevskaya,**  
PhD, associate prof. of the chair of biology and general  
genetics of the I.M. Sechenov First MSMU

**N.A. Sushentsev,**  
3-d year student of the medical faculty  
of the I.M. Sechenov First MSMU

**A.S. Arakelyan,**  
2-nd year student of the medical faculty  
of the I.M. Sechenov First MSMU

**A.K. Galeeva,**  
2-nd year student of the medical faculty  
of the I.M. Sechenov First MSMU

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ ОПУХОЛЕВОЙ ДНК В КАЧЕСТВЕ МАРКЕРА СОСТОЯНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

## PERSPECTIVES OF USING CIRCULATING TUMOR DNA AS A MARKER OF MALIGNANT NEOPLASMS' STATUS

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

**Николай Васильевич Чебышев,** заведующий кафедрой биологии и общей генетики  
Адрес: 119991, г. Москва, ул. Трубевская, д. 8, стр. 2  
Телефон: 8 (495) 609–14–00  
E-mail: rektorat@mma.ru  
Статья поступила в редакцию: 22.09.2015  
Статья принята к печати: 29.09.2015

### CONTACT INFORMATION:

**Nikolay Vasilyevich Chebyshev,** head of the chair of biology and general genetics  
Address: 8–2 Trubetskaya, Moscow, 119991  
Tel.: 8 (495) 609–14–00  
E-mail: rektorat@mma.ru  
The article received: 22.09.2015  
The article approved for publication: 29.09.2015

**Аннотация.** В статье представлен обзор одного из наиболее интенсивно изучаемых в настоящее время методов диагностики онкологических заболеваний – генетического анализа циркулирующей опухолевой ДНК. Благодаря высокой чувствительности и специфичности, а также возможности применения при решении различных клинических задач – диагностике, контроле течения, оценке вероятности рецидива онкологических заболеваний, а также коррекции проводимого лечения при обнаружении резистентности опухоли к химиотерапевтическим препаратам – данный метод представляется наиболее перспективным с точки зрения внедрения в общественное здравоохранение. Тем не менее, высокая стоимость исследования, малое количество проведенных клинических испытаний и необходимость стандартизации на данный момент не могут позволить ему занять место в клинике.

**Annotation.** In this article the review of genetic analysis of circulating tumor DNA as one of the most intensively studied diagnostic methods in oncology is present. Due to its high sensitivity and specificity and the ability to be used in solving different clinical problems such as diagnosing and then monitoring of tumor burden, evaluating the probability of disease relapse and also correction of therapy used in case of detecting tumor's resistance to it, this method is one of the most perspective to be implemented into public healthcare. Nevertheless, its high cost, a little quantity of clinical trials and necessity of standardization cannot afford this method to be used in clinic now.

**Ключевые слова.** Циркулирующая опухолевая ДНК, онкология, диагностика рака, онкологические биомаркеры.

**Keywords.** Circulating tumor DNA, oncology, cancer diagnostics, cancer biomarkers.

## ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно возрастающие заболеваемость и смертность от онкологических заболеваний (ОЗ) заставляют рассматривать данную проблему не только как медико-социальную, но и экономическую. Согласно международным эпидемиологическим исследованиям [1, 2], частота ОЗ с 2008 по 2012 гг. увеличилась с 12,7 млн до 14,1 млн случаев соответственно, в то время как смертность от ОЗ возросла от 7,6 млн до 8,2 млн человек в указанный промежуток времени. По данным ВОЗ к 2030 году заболеваемость ОЗ может возрасти до 22 млн новых случаев в год [1], что в отсутствие успехов в модернизации существующей или создании новой тактики диагностики и лечения злокачественных новообразований (ЗН) может привести к пропорциональному увеличению смертности и финансовых затрат. Одним из наиболее быстро и успешно развивающихся направлений фундаментальной онкологии является онкогеномика. Основной целью данной дисциплины является систематизация знаний об ассоциированных с канцерогенезом мутациях с целью улучшения качества диагностики, прогнозирования и лечения ОЗ. В настоящее время накоплен обширный объем данных о мутациях, позволяющих определить молекулярный фенотип опухоли на различных этапах канцерогенеза, учитывая генетическую нестабильность и гетерогенность образующих ее клеток в каждом отдельном случае [3]. Возможность выявления мутаций-маркеров неблагоприятного прогноза (метастатический потенциал, резистентность к препаратам и др.) у каждого обследуемого пациента может стать серьезным шагом на пути к индивидуализации лечения онкологических больных. Удовлетворяя данным требованиям, метод генетического анализа циркулирующей опухолевой ДНК (цодНК) представляется чрезвычайно перспективным как для практического применения, так и для развития фундаментальных исследований в сфере онкологии.

*Выделение и генетический анализ цодНК.* цодНК может быть обнаружена в плазме крови в результате гибели опухолевых клеток путем некроза или апоптоза [4]. Впервые образцы цодНК были выделены и изучены на предмет специфических мутаций Sorenson и Vasioukhin в 1994 году [5, 6] при помощи ПЦР. Согласно данным многочисленных исследований [7-13] средняя длина цодНК составляет 150-200 пар оснований, а ее процентное содержание от циркулирующей ДНК здоровых клеток варьирует от 0,01% до 90% на самых ранних этапах развития ОЗ до его терминальной стадии соответственно, строго коррелируя с размерами первичной опухоли и количеством метастазов. В настоящее время многие авторы [8, 14-16] считают наиболее предпочтительным исследование цодНК с помощью метода цифровой

капельной ПЦР. Преимущества данной технологии заключаются не только в ее высокой чувствительности и специфичности, но и возможности проведения мультиплексного анализа полученных образцов цодНК, что позволяет сэкономить существенное количество времени для пациента, лечащего врача, а также персонала клинической лаборатории [17]. При этом следует учитывать, что в условиях ограниченности финансовых ресурсов в некоторых регионах РФ проведение данного исследования возможно с помощью метода количественной ПЦР, также зарекомендовавшего себя в работах многих исследователей [18, 19]. Тем не менее, его стоимость также является достаточно высокой, что представляет собой один из серьезнейших недостатков изучаемого исследования в целом.

*Области применения.* Установлено, что фрагменты цодНК содержат генетические дефекты, идентичные таковым в первичной опухоли и метастазах [20]. Приняв во внимание тот факт, что данные фрагменты выходят в плазму крови из всех частей опухоли, анализ цодНК можно считать “жидкой биопсией”. Будучи модифицированным специально для широкого использования в клинике, данный метод может найти применение в самых различных областях онкологии. Так, цодНК может быть использована в качестве биомаркера в дополнение к существующим белковым онкомаркерам. К иным областям применения данного метода относятся контроль эффективности хирургического вмешательства, раннее определение резистентности к терапии, оценка молекулярной гетерогенности опухоли, а также диагностика ЗН в организме пациента. Далее будут рассмотрены имеющиеся результаты исследований для каждой из описанных областей применения изучаемого метода.

*Диагностика ОЗ.* Как правило, диагностика ОЗ в доклиническом периоде возможна лишь при активном скрининге или случайном обнаружении, что объясняется рядом факторов, обсуждение которых лежит за рамками данной работы. Одним из таковых является практически полное отсутствие патогномичных симптомов, позволяющих идентифицировать ЗН с помощью физикальных методов исследования. Наиболее широко для первичной идентификации ЗН применяются методы лучевой диагностики. С помощью радиологических исследований минимальный размер обнаруживаемой опухоли составляет 7-10 мм, что соответствует порядку 1 млрд клеток, тогда как ~50 млн опухолевых клеток достаточно для обнаружения фрагментов цодНК с помощью описанных ранее разновидностей ПЦР [21]. Существующие ограничения разрешения изображения при проведении томографических исследований создают трудности не только для определения наличия, но и принадлежности опухоли к доброкачественному или злокачественному

типу [22, 23]. Патологоанатомическая верификация опухоли после взятия биопсии также может быть невозможна вследствие ее малого размера и высокого риска обострения состояния пациента. Исследование плазмы крови на наличие белковых онкомаркеров также нельзя считать диагностически ценным при малом размере ЗН вследствие обратно пропорционального размеру возрастания частоты ложноотрицательных результатов [24]. В то же время в ряде клинических исследований [25] удавалось достичь стопроцентной специфичности и более чем девяностопроцентной чувствительности при анализе плазмы крови пациенток с раком груди на наличие фрагментов цоДНК с мутациями гена RIK-3SA, кодирующего протеинкиназу, участвующую в регуляции клеточного цикла, апоптоза, миграции клеток и трансмембранного транспорта некоторых веществ. Постоянно обновляющиеся литературные данные [25-27] позволяют сделать вывод о том, что анализ цоДНК во многих случаях является наиболее чувствительным и специфичным среди известных методов диагностики ЗН на самых ранних этапах развития ОЗ.

*Контроль течения ОЗ.* Контроль динамики развития ОЗ в контексте применяемой терапии может представлять серьезные трудности, от эффективности преодоления которых зависит выживаемость и качество жизни пациента. Изменения радиологической картины далеко не всегда способны помочь составить истинное представление о динамике изменения очага малигнизации вследствие невозможности отличить опухолевую ткань от окружающей ее здоровой, вовлеченной в воспалительный процесс. Проведение повторных биопсий или игольной аспирации также может быть затруднительным вследствие высокой травматичности, неудобного места расположения опухоли и зачастую низкой информативности данных методик в связи с гетерогенностью изучаемых образцов. Эти, а также многие другие причины заставляют исследователей более активно изучать возможность использования белковых онкомаркеров плазмы крови для контроля эффективности лечения ОЗ. Однако не существует единого мнения об эффективности их использования как при первичной диагностике, так и при контроле динамики развития ОЗ. В последнее время в литературе значительное количество мета-аналитических статей [28-30] посвящено доказательству необходимости пересмотра тактики исследования и применения белковых онкомаркеров в клинике вследствие немалого количества противоречащих друг другу результатов клинических исследований. Преимущество исследования цоДНК заключается в том, что ее период полужизни в крови составляет от 15 мин до нескольких часов в отличие от недели и более для многих белковых онкомаркеров [31, 32], что позволяет отследить состояние ЗН буквально в

настоящий момент. Изменения структуры цоДНК часто наблюдаются до появления изменений на радиологической картине [33, 11]. Вместе с тем, не существует более специфичного для каждой отдельной опухоли маркера, чем цоДНК. Reinert с соавт. [34] с помощью цифровой капельной ПЦР проанализировали 151 образец плазмы крови на наличие цоДНК со специфичными для каждой отдельной опухоли толстой кишки мутациями у одиннадцати пациентов после проведения хирургического удаления ЗН. У шести пациентов после операции были обнаружены фрагменты цоДНК, характерные для клеток удаленной опухоли, что предшествовало дальнейшему рецидиву. В то же время у оставшихся пяти пациентов цоДНК обнаружена не была, что во всех случаях не сопровождалось рецидивом ЗН. Похожие результаты были получены Sanmamed [35] и Lipson [36] с соавт. при исследованиях пациентов с меланомой кожи. В одной из работ [35] описан положительный терапевтический эффект при повышении дозы ингибиторов BRAF, серин/треониновой протеинкиназы, регулирующей процессы клеточного роста. Необходимость данного решения была продиктована увеличением количества цоДНК с мутацией V600E в гене BRAF по мере прогрессирования заболевания. В другом исследовании [36] уровень цоДНК со специфичными для меланомы кожи мутациями положительно коррелировал с клиническими и радиологическими данными, а в одном случае позволил предсказать прогрессирование ОЗ. Повышение концентрации цоДНК при прогрессировании ОЗ и ее понижение при успешном лечении наблюдается в подавляющем большинстве проведенных клинических испытаний. Так, Dawson с соавт. [11] обнаружили цоДНК с характерными соматическими мутациями у 97% пациенток с метастатическим раком груди, в то время как повышение синтеза ракового антигена СА15-3 и наличие циркулирующих опухолевых клеток было выявлено у 78% и 87% испытуемых соответственно. Изменение концентрации цоДНК в динамике заболевания показало лучшую корреляцию с истинным состоянием ЗН, чем иные маркеры. Более того, анализ цоДНК зарекомендовал себя в качестве надежного метода оценки риска возникновения рецидива ОЗ. Так, кроме вышеупомянутых работ, касающихся пациентов с ЗН толстого кишечника [34] и меланомой кожи [35, 36], позитивные результаты продемонстрированы для пациентов с раком желудка [37], легкого [38], печени [39] и др. органов. Таким образом, проведенные клинические исследования позволяют возлагать определенные надежды на использование изучаемого метода в целях контроля успешности проводимого лечения. Несомненно следует учитывать малое количество испытуемых, характерное для подавляющего большинства исследований, связанных с анализом цоДНК, однако

полученные результаты уже послужили поводом для расширения клинических испытаний.

*Оценка резистентности к терапии.* Резистентность ЗН к проводимой терапии наблюдается вследствие накопления мутаций в опухолевых клетках, приводящего к их молекулярной гетерогенности [40, 41]. Исследование генома клеток опухоли, в частности с помощью анализа цоДНК, позволяет не только определить наиболее подходящую тактику лечения на наиболее раннем этапе пребывания пациента в стационаре, но и необходимость ее изменения или комбинирования с другими методами лечения при обнаружении резистентных клонов. Данный подход уже сумел оправдать себя в серии работ, в ходе которых изучалась возможность модификации таргетной терапии лейкемии, рака легкого и меланомы кожи посредством анализа цоДНК [42, 43]. Таким образом, проведенный анализ литературы показал исключительную перспективность изучения цоДНК как маркера состояния ЗН, в первую очередь, благодаря возможности успешного применения данного исследования фактически на всех этапах ведения онкологических больных. Полученные результаты на нынешнем, все еще начальном, этапе изучения данного метода вселяют оптимизм и, что не менее важно, указывают на то, в каких направлениях он должен быть доработан. И хотя нет никаких сомнений в том, что в данный момент не существует возможности для внедрения исследуемого метода в систему здравоохранения РФ в силу его высокой стоимости и слабой изученности, имеются достаточно веские основания для того, чтобы рассчитывать на это в течение обозримого будущего.

*Существующие проблемы.* Среди существующих проблем самого метода исследования цоДНК наиболее важной и парадоксальной является чрезмерный объем накопленных данных в сфере онкогеномики. Крупнейшая постоянно обновляющаяся база данных о соматических мутациях, ассоциированных с ОЗ, COSMIC насчитывает более двух миллионов известных мутаций [44], однако пока лишь немногие из них можно назвать действительно изученными как с точки зрения роли в канцерогенезе, так и с точки зрения распространенности среди различных популяций пациентов. Таким образом, для того, чтобы анализ цоДНК стал достаточно надежным инструментом для клиницистов, необходимо, прежде всего, оценить, какие мутации можно с максимальной уверенностью назвать наиболее специфичными для каждого вида ЗН в каждой из описанных ранее областей применения данного метода — от первичной диагностики до контроля вероятности рецидива. В конечном счете, целью такого подхода, по мнению авторов, должно быть создание диагностических панелей, способных с известной степенью эффективности быть использованными

ми на любом этапе обследования онкологических больных. Разработка подобных панелей способна не только снизить стоимость данного исследования, вплотную приблизив его к возможности внедрения в общественное здравоохранение, но, что гораздо важнее, дать клиницистам возможность применять его в особо сложных ситуациях, где его проведение может иметь решающее значение для жизни пациента.

#### Список литературы

1. Stewart B. W., Wild C. P., Adewole I. F. et al. World Cancer Report 2014. WHO Press, 2014. — 630 p.
2. Jemal A., Bray F., Center M. M. et al. Global Cancer Statistics. CA CANCER J CLIN 2011; 61:69–90.
3. Пальцев М.А., Залетаев Д.В., Стрельников В.В. и др. Системы генетических и эпигенетических маркеров в диагностике онкологических заболеваний. М. «Медицина». 2009. 384 с.  
[Paltsev M.A., Zaletaev D.V., Strelnikov V.V. et al. Systems of genetic and epigenetic markers in the diagnosis of cancer. М. «Meditsina». 2009. 384 p.]
4. Attie T.J.I., Go A. V., Mulders M.A.M. et al. The Origin of Circulating Free DNA. Clinical Chemistry 2007; 53-12.
5. Sorenson G. D., Pribish D. M., Valone F. H. et al. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. 1994; 3, 67-71.
6. Vasioukhin V., Anker P., Maurice P. et al. Point mutations of the N-ras gene in the blood plasma DNA of patients with myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukemia. Br. J. Haematol. 1994; 86, 774-779.
7. Marzese D.M., Hirose H., Hoon D.S. Diagnostic and prognostic value of circulating tumor-related DNA in cancer patients. Exp. Rev. Mol. Diagn. 2013; 13, 827–844.
8. Taly V., Pekin D., Benhaim L. et al. Multiplex picodroplet digital PCR to detect KRAS mutations in circulating DNA from the plasma of colorectal cancer patients. Clin. Chem. 2013; 59, 1722–1731.
9. Higgins M.J., Jelovac D., Barnathan E. et al. Detection of tumor PIK3CA status in metastatic breast cancer using peripheral blood. Clin. Cancer Res. 2012; 18, 3462–3469.
10. Spindler K.L., Pallisgaard N., Vogelius I. et al. Quantitative cell-free DNA, KRAS, and BRAF mutations in plasma from patients with metastatic colorectal cancer during treatment with cetuximab and irinotecan. Clin. Cancer Res. 2012; 18, 1177–1185.
11. Dawson, S.J., Tsui, D.W., Murtaza, M. et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. N. Engl. J. Med. 2013; 368, 1199–1209.
12. Dowler Nygaard, A., Spindler, K.L., Pallisgaard, N et al. Levels of cell-free DNA and plasma KRAS during treatment of advanced NSCLC. Oncol. Rep. 2014; 31, 969–974.
13. Kukita, Y., Uchida, J., Oba, S. et al. Quantitative identification of mutant alleles derived from lung cancer in plasma cell-free DNA via anomaly detection using deep sequencing data. PLoS ONE 2013; 8, e81468.

14. Kinugasa H., Nouso K., Tanaka T. et al. Droplet digital PCR measurement of HER2 in patients with gastric cancer. *British Journal of Cancer* 2015; 112, 1652-1655.
15. Andersen R. F., Karen-Lise G. S., Brandslund I. et al. Improved sensitivity of circulating tumor DNA measurement using short PCR amplicons. *Clinica Chimica Acta* 2015; 439, 97-101.
16. Kristof J., Bruening E., Wong S. et al. Absolute quantification of EGFR activation and resistance mutations as well as copy number in circulating nucleic acids by droplet digital PCR. *Cancer Res* 2013; 73, 3491.
17. Hindson C. M., Chevillet J. R., Briggs H. A. et al. Absolute quantification by droplet digital PCR versus analog real-time PCR. *Nature Methods* 2013; 10, 1003-1005.
18. Umetani N., Kim J., Hiramatsu S. et al. Increased integrity of free circulating DNA in sera of patients with colorectal or periampullary cancer: direct quantitative PCR for ALU repeats. *Clinical Chemistry* 2006; 52, 1062-1069.
19. Tomita H., Ichikawa D., Ikoma D. et al. Quantification of circulating plasma DNA fragments as tumor markers in patients with esophageal cancer. *Anticancer Research* 2007; 27, 2737-2741.
20. Diaz L.A. Jr., Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J. Clin. Oncol.* 2014; 32, 579-586.
21. Diaz L.A. Jr., Williams R.T., Wu J. et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. *Nature* 2012; 486, 537-540.
22. Kauhanen S.P., Komar G., Seppanen M.P. et al. A prospective diagnostic accuracy study of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography, multidetector row computed tomography, and magnetic resonance imaging in primary diagnosis and staging of pancreatic cancer. *Ann. Surg.* 2009; 250, 957-963.
23. Casali, M.; Froio, A.; Carbonelli, C.; Versari, A. PET/CT imaging in oncology: Exceptions that prove the rule. *Case Rep. Oncol. Med.* 2013; 865-032.
24. Pavlou M. P., Diamandis E. P., Blasutig I. M. The long journey of cancer biomarkers from the bench to the clinic. *Clinical Chemistry* 2013; 59, 147-157.
25. Beaver J. A., Jelovac D., Balukrishna S. et al. Detection of Cancer DNA in Plasma of Patients with Early-Stage Breast Cancer. *Clin Cancer Res*, 2014; 20, 2643.
26. Bettgowda C., Sausen M., Leary R. J. et al. Detection of Circulating Tumor DNA in Early- and Late-Stage Human Malignancies. *Science Translational Medicine* 2014; 6, 224.
27. Kaur S., Baine M. J., Jain M. et al. Early diagnosis of pancreatic cancer: challenges and new developments. *Biomarkers in Medicine* 2012; 6, 597-612.
28. Diamandis E. P. The failure of protein biomarkers to reach the clinic: why, and what can be done to address the problem? *BMC Medicine* 2012; 10, 87.
29. Wu L., Xiaoqanq Q. Cancer biomarker detection: recent achievements and challenges. *Chem. Soc. Rev.* 2015; 44, 2963-2997.
30. Hernandez B., Parnell A., Pennington S. R. Why have so few proteomic biomarkers 'survived' validation? (Sample size and independent validation considerations). *Proteomics*, 2014; 14, 1587-1592.
31. McLarty J.L., Yeh C. Circulating cell-free DNA: The blood biopsy in cancer management. *MOJ Cell. Sci. Rep.* 2015; 2, 0021.
32. Diehl F., Schmidt K., Choti, M.A. et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat. Med.* 2008; 14, 985-990.
33. Dawson S.J., Rosenfeld N., Caldas C. Circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369, 93-94.
34. Reinert T., Scholer L.V., Thomsen R., et al. Analysis of circulating tumour DNA to monitor disease burden following colorectal cancer surgery. *Gut*; 2015.
35. Sanmamed M.F., Fernandez-Landazuri S., Rodriguez C. et al. Quantitative cell-free circulating BRAFV600E mutation analysis by use of droplet digital PCR in the follow-up of patients with melanoma being treated with BRAF inhibitors. *Clin. Chem.* 2015; 61, 297-304.
36. Lipson E.J., Velculescu, V.E., Pritchard T.S. et al. Circulating tumor DNA analysis as a real-time method for monitoring tumor burden in melanoma patients undergoing treatment with immune checkpoint blockade. *J. Immunother. Cancer* 2014; 2, 42.
37. Hamakawa T., Kukita Y., Kurokawa Y. et al. Monitoring gastric cancer progression with circulating tumour DNA. *Br. J. Cancer* 2015; 112, 352-356.
38. Oxnard G.R., Paweletz C.P., Kuang Y. et al. Noninvasive detection of response and resistance in EGFR-mutant lung cancer using quantitative next-generation genotyping of cell-free plasma DNA. *Clin. Cancer Res.* 2014; 20, 1698-1705.
39. Ono A., Fujimoto A., Yamamoto Y. et al. Circulating tumor DNA analysis for liver cancers and its usefulness as a liquid biopsy. *Cellular And Molecular Gastroenterology And Hepatology*, 2015.
40. Arnedos M., Soria J.C., Andre F. et al. Personalized treatments of cancer patients: A reality in daily practice, a costly dream or a shared vision of the future from the oncology community? *Cancer Treat. Rev.* 2014; 40, 1192-1198.
41. Arnedos M., Vielh P., Soria J.C. et al. The genetic complexity of common cancers and the promise of personalized medicine: Is there any hope? *J. Pathol.* 2014; 232, 274-282.
42. Blair B.G., Bardelli A., Park B.H. Somatic alterations as the basis for resistance to targeted therapies. *J. Pathol.* 2014; 232, 244-254.
43. Diaz L.A. Jr., Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J. Clin. Oncol.* 2014; 32, 579-586.
44. Forbes S. A., Beare D., Gunasekaran P. et al. COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer. *Nucl. Acids Res.* 2015; 43, 805-811.