

Соматические мутации при колоректальном раке: опыт региона

Н.А. Огнерубов^{✉1,2}, Е.Н. Ежова²

¹ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина», Тамбов, Россия;

²ГБУЗ «Тамбовский областной онкологический клинический диспансер», Тамбов, Россия

Аннотация

Введение. Колоректальный рак является одним из самых распространенных злокачественных новообразований в экономически развитых странах мира, занимает 3 и 2-е место в структуре заболеваемости и смертности. Современные знания о молекулярной характеристике колоректального рака необходимы для реализации принципа персонализированной терапии.

Цель. Изучить региональные особенности геномного ландшафта опухоли при колоректальном раке.

Материалы и методы. В ретроспективное исследование с 2019 по 2022 г. включены 153 пациента с I–IV стадией колоректального рака в возрасте от 32 до 80 лет, медиана – 63,8 года. Исследования проведены на образцах ДНК, выделенной из парафиновых блоков опухолевой ткани методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Мужчин – 43,8%, женщин – 56,2%.

Результаты. Соматические мутации выявлены у 48,4% пациентов. Максимальное количество мутаций выявлено в гене *KRAS* – 60 (81%). Частота достоверно выше у женщин относительно мужчин. Мутации *KRAS* преобладают в ободочной кишке по сравнению с прямой, составляя 66,7 и 33,3% соответственно. В опухолях правой половины ободочной кишки эти мутации выявлены в 18,3% случаев, а в левой – у 48,4%. Мутации *NRAS* обнаружены в 9,5% наблюдений, в основном при опухолях левой половины ободочной кишки. Мутации *BRAF* диагностированы у 6 больных, причем женщин среди них – 5, а опухоли локализовались в правой половине кишки. Наибольшая частота мутаций *KRAS* наблюдалась в 12 и 13-м кодонах, составляя 86,7%. У большинства больных встречалась мутация G12V – 25%, за ней следовали G12D – 20% и G12A – 16,6%.

Заключение. Соматические мутации в генах семейства *RAS* и *BRAF* при колоректальном раке в Тамбовской области выявлены в 48,4% наблюдений. Среди них отмечается превалирование мутаций *KRAS* – 81% у лиц женского пола. Онкогенные мутации *KRAS* являются предикторами ответа на лечение и прогноз.

Ключевые слова: колоректальный рак, соматические мутации, *NRAS*, *KRAS*, *BRAF*

Для цитирования: Огнерубов Н.А., Ежова Е.Н. Соматические мутации при колоректальном раке: опыт региона. *Consilium Medicum*. 2022;24(5):291–296. DOI: 10.26442/20751753.2022.5.201796

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2022 г.

ORIGINAL ARTICLE

Somatic mutations in colorectal cancer: regional experience

Nikolai A. Ognerubov^{✉1,2}, Elena N. Ezhova²

¹Derzhavin Tambov State University, Tambov, Russia;

²Tambov Regional Oncological Clinical Dispensary, Tambov, Russia

Abstract

Introduction. Colorectal cancer is one of the most common malignant neoplasms in economically developed countries, ranking 3rd and 2nd in the structure of morbidity and mortality, respectively. Current knowledge about the molecular features of colorectal cancer is necessary to implement the principle of personalized therapy.

Aim. To study regional features of tumor genomic landscape in colorectal cancer.

Materials and methods. The retrospective study from 2019 to 2022 included 153 patients with stage I–IV colorectal cancer aged 32 to 80 years, with a median of 63.8 years. DNA samples extracted from paraffin blocks of tumor tissue were analyzed using a real-time polymerase chain reaction. The study patients included 43.8% of males and 56.2% of females.

Results. Somatic mutations were detected in 48.4% of patients. The maximum number of mutations was detected in the *KRAS* gene – 60 (81%). The mutation rate was significantly higher in females versus males. *KRAS* mutations predominate in the colon compared to the rectum, accounting for 66.7 and 33.3%, respectively. In tumors of the right colon, these mutations were detected in 18.3% of cases, and in the left colon, 48.4%. *NRAS* mutations were found in 9.5% of cases, mainly in tumors of the left colon. *BRAF* mutations were diagnosed in 6 patients, 5 of them were women, and the tumors were localized in the right colon. The highest rate of *KRAS* mutations was observed in codons 12 and 13, accounting for 86.7% of cases. The G12V mutation occurred in the majority of patients (25%), followed by G12D (20%) and G12A (16.6%).

Conclusion. Somatic mutations in *RAS* and *BRAF* genes in colorectal cancer were detected in 48.4% of patients in the Tambov region. Among them, there is a predominance of *KRAS* mutations – 81% in females. *KRAS* oncogenic mutations are predictors of treatment response and prognosis.

Keywords: colorectal cancer, somatic mutations, *NRAS*, *KRAS*, *BRAF*

For citation: Ognerubov NA, Ezhova EN. Somatic mutations in colorectal cancer: regional experience. *Consilium Medicum*. 2022;24(5):291–296. DOI: 10.26442/20751753.2022.5.201796

Введение

Колоректальный рак является 3-м по распространенности среди злокачественных нозологий в мире. В 2020 г., по данным Globocan, выявлено 1 931 590 новых случаев – 10%. В то же время в структуре смертности он занимает 2-е мес-

то, составляя 935 173 случая – 9,4% [1]. Эпидемиология колоректального рака в мире представлена в табл. 1.

Максимальные показатели заболеваемости и смертности наблюдаются в странах Азии, составляя 52,3 и 54,2% соответственно. В европейских странах на их долю приходится

Информация об авторах / Information about the authors

✉ **Огнерубов Николай Алексеевич** – д-р мед. наук, проф., канд. юрид. наук, зав. каф. онкологии ФГБОУ ВО «ТГУ им. Г.Р. Державина», зам. глав. врача по клинико-экспертной работе ГБУЗ ТООКД, засл. работник высшей школы РФ, засл. врач РФ. E-mail: ognerubov_n.a@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4045-1247

Ежова Елена Николаевна – зав. клинико-диагностической лаб. ГБУЗ ТООКД

✉ **Nikolai A. Ognerubov** – D. Sci. (Med.), Prof., Cand. Sci. (Law), Derzhavin Tambov State University, Tambov Regional Oncological Clinical Dispensary. E-mail: ognerubov_n.a@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4045-1247

Elena N. Ezhova – Head of Clinical Diagnostic Laboratory, Tambov Regional Oncological Clinical Dispensary

26,9 и 26,2%. Заболеваемость колоректальным раком имеет выраженные гендерные различия. Так, абсолютное число заболевших мужчин составило 1 065 960 случаев, а женщин – 865 630, соотношение между ними 1,2:1 [1].

Мировые стандартизированные показатели заболеваемости среди мужчин составили 23,4, а среди женщин – 16,2, аналогичные показатели смертности – 19,5 и 9,0 соответственно.

Колоректальный рак является гетерогенным заболеванием. Степень распространенности опухолевого процесса при постановке диагноза оценивается по величине опухоли, состоянию регионарных лимфатических узлов и наличию или отсутствию отдаленных метастазов. Она является надежным инструментом для прогнозирования, определения тактики лечения, включая адъювантные мероприятия.

Опухоли, локализующиеся в различных отделах ободочной и прямой кишки, имеют свои клинические и морфологические особенности, включая различные подходы в выборе современных методов лечения и исходов заболевания. Такой биологический полиморфизм колоректального рака обусловлен генетическим и эпигенетическим фоном болезни [2].

В связи с этим идентификация молекулярных прогностических маркеров, которые способны распознавать пациентов с большой вероятностью развития у них рецидива или пользы от адъювантной терапии, может существенно улучшить прогноз, течение заболевания и продолжительность жизни.

В последние десятилетия при колоректальном раке достигнут значительный прогресс в выделении и характеристике различных генетических изменений, способствующих злокачественной трансформации.

Е. Fearon, В. Vogelstein в 1990 г. предложили поэтапную модель канцерогенеза колоректального рака. Согласно этой модели вначале происходит инактивация гена *APC*, за которой следуют соматические мутации в гене *KRAS* на этапе аденоматозного полипа, и наконец при развитии злокачественной опухоли происходит делеция 18q хромосомы и инактивация гена-супрессора *TP53* [3].

Внедрение секвенирования следующего поколения позволило наиболее полно оценить широкий и разнообразный спектр мутаций генов *KRAS*, *NRAS* и *HRAS* при злокачественных новообразованиях, включая колоректальный рак. Среди них ген *KRAS* принимает участие в сигнальных путях, обеспечивающих регуляцию клеточной пролиферации, дифференцировку и выживание. Соматические мутации *KRAS* при колоректальном раке встречаются в 35–50% случаев, достигая максимума при метастатическом опухолевом процессе [4–7].

Практически все мутации *KRAS*, расположены в кодонах 12, 13 и 61, а также реже в 146 и 59-м кодонах. Причем у большинства пациентов наблюдается мутация *KRAS* G12, за которой следуют мутации G13, A146, Q61 и K117 [4, 5, 7].

Мутации в гене *NRAS* при опухолях толстой кишки наблюдаются в 5–10% случаев [7].

В настоящее время известно, что определенные изменения на молекулярном уровне могут способствовать возникновению, прогрессированию и метастазированию колоректального рака [8].

Мутации в гене *KRAS*, а также в *NRAS* используются в качестве биомаркеров при выборе вариантов лечения, поскольку известно, что они способствуют развитию естественной резистентности при лечении ингибиторами рецептора EGFR и мутации *BRAF* [9–11]. Наличие любых мутаций в гене *KRAS* ухудшает прогноз течения заболевания по сравнению с его диким типом [12]. Поэтому при выборе рациональной тактики лечения необходимо отдавать предпочтение лекарственной терапии.

Таким образом, мутации в гене *KRAS* в настоящее время используются для прогнозирования эффективности неоадъювантной таргетной терапии [13].

Кроме того, в литературе имеются сообщения о прогностической роли ряда профилей экспрессии генов, включая

Таблица 1. Заболеваемость и смертность по поводу колоректального рака в мире (Globocan, 2020), абс. (%)

Регион	Заболеваемость	Смертность
Азия	1 009 400 (52,3)	506 449 (54,2)
Европа	519 820 (26,9)	244 824 (26,2)
Северная Америка	180 575 (9,3)	63 967 (6,8)
Латинская Америка и Карибский бассейн	134 943 (7)	69 435 (7,4)
Африка	66 198 (3,4)	42 875 (4,6)

Таблица 2. Частота соматических мутаций и распределение по полу при колоректальном раке (n=74), абс. (%)

Мутации в гене	Количество	Пол	
		мужской	женский
<i>KRAS</i>	60 (81,0)	28 (46,7)	32 (53,3)
<i>NRAS</i>	7 (9,5)	2 (28,6)	5 (71,4)
<i>BRAF</i>	6 (8,1)	1 (16,7)	5 (83,3)
<i>HER2 neu</i>	1 (1,4)	–	1
Итого	74 (100)	31 (41,9)	43 (58,1)

целесообразность назначения различных режимов, последовательность и схемы химио- и таргетной терапии, а также оценку клинического эффекта [14, 15].

Такой современный технологический подход позволяет лучше представить канцерогенез колоректального рака и разработать новые доступные методы лечения с помощью таргетной и иммунотерапии на основе персонализированной медицины [16].

Генетические обследования в настоящее время являются весьма дорогостоящей процедурой. Это диктует определенные экономические условия для нужд практического здравоохранения в плане определения биомаркеров при колоректальном раке, поскольку наличие мутаций в генах является основой ген-направленной терапии. К таким относят мутации в генах семейства RAS – *KRAS* и *NRAS*, *BRAF* и *MSI*.

Дальнейшие исследования мутационной активности при злокачественных опухолях колоректальной зоны будут способствовать реализации принципа персонализированной терапии.

Материалы и методы

В исследование включены 153 больных колоректальным раком с I–IV стадией в возрастном интервале от 32 до 80 лет, медиана – 63,8 года. Пациенты находились на различных диагностических этапах, а также получали специальные методы лечения в Тамбовском областном онкологическом клиническом диспансере в период с марта 2019 по март 2022 г. Мужчин – 67 (43,8%), женщин – 86 (56,2%). У всех пациентов гистологически выявлена аденокарцинома различной степени дифференцировки с преобладанием низкодифференцированного варианта. Молекулярно-генетическое исследование проводилось на образцах ДНК, выделенных из парафиновых блоков опухолевой ткани, полученной при биопсии или интраоперационно. Генотипирование выполняли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Всем пациентам определялись мутации в генах *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, амплификация гена *HER2 neu* и микросателлитная нестабильность. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программы Statistica v.13.

Результаты

Из обследованных 153 пациентов с колоректальным раком различные соматические активирующие мутации обнаружены у 74 (48,4%), т.е. практически в 1/2 случаев (табл. 2).

Максимальное количество мутаций выявлено в генах белков семейства RAS, составляя 67 (90,5%) случаев. Причем чаще всего они наблюдались в гене *KRAS* – 60 (81,0%).

Таблица 3. Распределение частоты мутаций в гене KRAS в зависимости от локализации колоректального рака (n=60), абс. (%)

Отдел	Всего	Пол	
		мужской	женский
<i>Ободочная кишка</i>			
слепая	5 (8,3)	5 (17,9)	–
восходящий отдел	4 (6,7)	1 (3,6)	3 (9,4)
поперечно-ободочная	2 (3,3)	2 (7,1)	–
нисходящий отдел	9 (15,1)	4 (14,3)	5 (15,6)
Сигмовидная кишка	20 (33,3)	6 (21,4)	14 (43,7)
Прямая кишка	20 (33,3)	10 (35,7)	10 (31,3)
Итого	60 (100)	28 (100)	32 (100)

Таблица 4. Распределение частоты мутаций в гене KRAS в зависимости от стадии опухолевого процесса (n=60), абс. (%)

Стадия (TNM)	Всего	Пол	
		мужской	женский
I	2 (3,3)	–	2 (6,3)
II	7 (11,7)	3 (10,7)	4 (12,5)
III	24 (40,0)	11 (39,3)	13 (46)
IV	27 (45,0)	14 (50,0)	13 (46)

Статистический анализ по полу позволил установить, что они чаще, в 1,4 раза, выявляются у женщин по сравнению с мужчинами – 43 (58,1%) и 31 (41,9%) соответственно. Однако различия между ними по критерию χ^2 статистически недостоверны ($p>0,05$).

Мутации в гене NRAS выявлены только у 7 (4,6%) больных, что в 8,6 раза реже, чем в гене KRAS. Различия между ними статистически достоверны ($p<0,05$). У женщин они наблюдались в 2 раза чаще, чем у мужчин.

Известно, что развитие колоректального рака предусматривает как этап обязательные мутации в гене KRAS. Нами изучена частота мутаций в гене KRAS в зависимости от локализации опухоли в толстой кишке (табл. 3).

Полученные данные свидетельствуют о преобладании мутаций относительно других отделов ободочной кишки в гене KRAS при злокачественных новообразованиях, локализующихся в сигмовидной и прямой кишке, где они диагностированы с одинаковой частотой – по 33,3%.

Нами проведен сравнительный анализ частоты мутаций в гене KRAS в ободочной и прямой кишке. Мутации KRAS

в опухолях ободочной кишки наблюдались в 66,7% случаев, превышая таковые в 2 раза при опухолях прямой кишки. Различия достоверны ($p<0,05$). В опухолях правой половины (проксимальный отдел) ободочной кишки, включающей слепую, восходящую и поперечно-ободочную кишку, мутации выявлены у 11 (27,5%) пациентов. В левой ее половине – дистальный отдел (селезеночный угол, нисходящий отдел и сигмовидная кишка) – они отмечены у 29 (48,3%) больных. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о преобладании мутаций в гене KRAS при опухолях левой половины ободочной кишки. Различия между ними статистически значимы ($p<0,05$).

Анализ указанных особенностей также позволил установить наличие определенных гендерных различий. Мутации в гене KRAS выявлены у 28 мужчин и 32 женщин. Проведенные статистические исследования по критерию χ^2 позволили установить достоверные различия о преобладании частоты мутаций у женщин ($\chi^2=0,003$). Так, максимальная частота мутаций в гене KRAS у мужчин констатирована при опухолях прямой кишки, составляя при этом 35,7%, а у женщин – при злокачественных новообразованиях сигмовидной кишки – 43,7%. Весьма интересным оказался факт одинаковой частоты мутаций у лиц обоего пола в случаях поражения нисходящего отдела ободочной кишки, составляя при этом 14,3 и 15,6%.

Согласно полученным результатам частота соматических мутаций в гене KRAS при метастатическом (IV стадия) и местнораспространенном (III стадия) колоректальном раке наблюдалась у – 27 (45%) и 24 (40%) пациентов соответственно. Эти данные свидетельствуют о преобладании мутаций у больных с распространенным опухолевым процессом. При II стадии они отмечены только у 7 (11,7%); табл. 4.

Анализ спектра соматических активирующих мутаций в гене KRAS у больных колоректальным раком позволил выявить 13 типов мутаций во 2, 3 и 4 экзонах. Подавляющее большинство вариантов мутаций наблюдалось в 12-м кодоне 2-го экзона. Они обнаружены в 47 (78,4%) наблюдений. Статистическая значимость относительно других кодонов установлена на уровне $p\leq 0,05$. Что касается мутаций в 13, 61, 146 и 59-м кодонах, то они констатированы в 8,3, 5 и 8,3% соответственно (рис. 1, табл. 5).

Чаще всего наблюдалась мутация G12V, при которой происходит точечная замена глицина на валин – 15 (25,0%) случаев. Второе место по частоте заняла мутация G12D (замена глицина на аспарагиновую кислоту), составляя 12 (20,0%) случаев. На долю мутации G12A (замена глицина на аланин) приходится 10 (16,6%) случаев, занимают третье место.

Таблица 5. Спектр активирующих мутаций в гене KRAS при колоректальном раке (n=60), абс. (%)

	Всего	2-й экзон				3-й экзон		4-й экзон	
		12-й кодон		13-й кодон		61-й кодон		146 и 59-й кодоны	
		мужчины	женщины	мужчины	женщины	мужчины	женщины	мужчины	женщины
G12V	15 (25)	6 (10,0)	9 (15,0)						
G12D	12 (20)	5 (8,3)	7 (11,7)						
G12A	10 (16,6)	6 (10,0)	4 (6,7)						
G12Rfs*22	2 (3,3)	2 (3,3)	–						
G12C	1 (1,7)	–	1 (1,7)						
G12L	1 (1,7)	1 (1,7)	–						
G13D	5 (8,3)			4 (6,6)	1 (1,7)				
Q61H	2 (3,3)					1 (1,7)	1 (1,7)		
Q61K	1 (1,7)					1 (1,7)	–		
A146V	3 (5,0)							–	3 (5,0)
A146T	1 (1,7)							1 (1,7)	–
A59T	1 (1,7)							–	1 (1,7)
Итого	60 (100)	21 (35,0)	26 (43,4)	4 (6,6)	1 (1,7)	2 (3,4)	1 (1,7)	1 (1,7)	4 (6,7)
		47 (78,4)		5 (8,3)		3 (5,0)		5 (8,3)	

Мутация G12C в 12-м кодоне (точечная замена глицина на цистеин), с которой связан плохой прогноз и развитие лекарственной резистентности в 5% случаев при колоректальном раке, выявлена только в 1 случае.

В 13-м кодоне 2-го экзона в 5 (8,3%) случаях отмечались мутации *KRAS* G13D (замена глицина на аспарагиновую кислоту).

Мутация *KRAS* A146 обнаружена у 4 (6,7%) больных. Наряду с известными вариантами мутаций гена *KRAS* существуют редкие, одним из которых является миссенс-вариант A59T. Мы обнаружили его у женщины с опухолью сигмовидной кишки IV стадии.

Гендерные различия позволили выявить преобладание у мужчин мутаций *KRAS* G12A (n=6) и G12V (n=6). У женщин также отмечено преобладание мутаций типа G12V – у 9 пациенток.

Весьма подробный анализ различных мутаций представлен в табл. 5.

Соматические активирующие мутации в гене *NRAS* обнаружены у 7 (4,6%) пациентов с колоректальным раком, возрастной интервал колебался от 51 до 71 года, медиана – 61,6 года. Из них 5 пациентов представлены женщинами и только 2 – мужчинами. Таким образом, мутации в гене *NRAS* встречаются в 2,5 раза чаще у лиц женского пола. Метастатический опухолевый процесс наблюдался у подавляющего числа больных – 6 (85,7%) пациентов, а III стадия представлена у 1 пациентки. Что касается локализации первичной опухоли, то в 4 случаях она находилась в сигмовидной кишке, в нисходящем отделе у 1 больной и в прямой кишке у 2 пациентов, т.е. имеется преобладание опухоли по латеральности слева. У большинства больных встречались мутация *NRAS* G12D (n=2) и G13D (n=2). Нормальной аминокислотой в кодонах 12 и 13 гена *NRAS* является глицин, а в кодоне 61 – глутамин. Активирующие мутации обнаружены в 12, 13 и 61-м кодонах 2 и 3-го экзона, составляя 2 (28,6%), 3 (42,8%) и 2 (28,6%) соответственно. Всего выявлено 5 различных вариантов мутаций *NRAS*. Среди них наибольшее количество находилось в 13-м кодоне (табл. 6).

Мутации в онкогене *BRAF* обнаружены в 6 случаях. Из них женщин – 5 и 1 мужчина, в возрастном интервале от 40 до 73 лет, медиана – 63,4 года. Известно, что около 90% мутаций в этом гене сопровождается заменой глутамата на валин в кодоне 600 – V600E. Во всех случаях мы наблюдали мутации только в этом кодоне. В 5 наблюдениях исходно установлена IV стадия опухолевого процесса, а при гистологическом исследовании – низкодифференцированная аденокарцинома. Первичная опухоль локализовалась в слепой кишке у 1 пациентки, в восходящем отделе – в 2 случаях, в поперечно-ободочной кишке – у 2 больных, а в сигмовидной – только в 1 наблюдении у мужчины.

Изложенные события свидетельствуют о преобладании мутаций *BRAF* у лиц женского пола и при опухоли правой половины ободочной кишки – 5 пациенток. Кроме того, у больной 73 лет с опухолью поперечно-ободочной кишки наряду с мутацией *BRAF* выявлена коассоциация с микросателлитной нестабильностью (MSI).

У пациентки 61 года с раком прямой кишки IV стадии обнаружена амплификация гена *HER2 neu* в коассоциации с низким уровнем PDL-1.

Таким образом, полученные данные позволили констатировать наличие соматических мутаций, ассоциированных с колоректальным раком, у 48,4% пациентов Тамбовской области. Среди них мутации в гене *KRAS* являются наиболее значимыми, на долю которых приходится 39,2%. Причем мутации *KRAS* достоверно чаще выявляются при опухолях левой половины ободочной кишки, составляя 48,4%. У большинства пациентов с колоректальным раком наблюдалась мутация *KRAS* G12V – 15 (25%), за ней следуют мутации G12D – 12 (20%) и G12A – 10 (16,6%). В нашем исследовании встретился крайне редкий миссенс-вариант мутации A59T в 1 наблюдении.

Рис. 1. Частота мутаций генов и распределение вариантов мутаций гена *KRAS* у больных колоректальным раком, %.

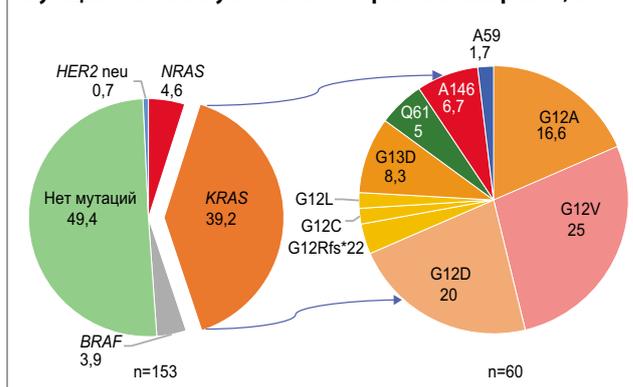


Таблица 6. Спектр мутаций в гене *NRAS* при колоректальном раке (n=7)

	Всего	12-й кодон		13-й кодон		61-й кодон	
		мужчины	женщины	мужчины	женщины	мужчины	женщины
G12D	2	–	2				
G13D	2			1	1		
G13A	1			–	1		
Q61K	1					1	–
Q61R	1					–	1
Итого	7	2 (28,6%)		3 (42,8%)		2 (28,6%)	

NRAS-мутации выявлены у 7,8% пациентов, а мутации в гене *BRAF* обнаружены в 8,1% случаев.

Обсуждение

Несмотря на достигнутые современные успехи в усовершенствовании ранней диагностики и лечении, колоректальный рак является 3-м по частоте распространенности и 2-й причиной смерти во всем мире [1].

Колоректальный рак, как и многие другие солидные опухоли, представляет собой гетерогенное заболевание, при котором выделяют различные варианты, обусловленные клиническими и/или молекулярными и генетическими особенностями.

Причиной развития злокачественных опухолей толстой кишки могут быть мутации в генах, которые кодируют синтез различных белков семейства RAS. Они включают в себя HRAS, KRAS, NRAS и RRAS, а также другие гомологичные белки. Эти белки принимают участие в активации сигнальных путей тирозинкиназы, что приводит к мутациям генов. Так, активация рецепторов эпидермального фактора роста EGFR стимулирует пролиферативную активность, способность к дифференцировке, метастазированию, ингибированию апоптоза и индукции ангиогенеза. Длительная постоянная активация RAS сопровождается развитием злокачественного процесса.

Соматические мутации в генах семейства RAS обнаружены примерно в 30% всех опухолей человека, что предполагает их доминирующую роль в канцерогенезе [17]. Причем частота мутаций в гене RAS при колоректальном раке составляет около 85% при спорадическом варианте, а остальные 15% имеют фенотип высокочастотной микросателлитной нестабильности [18–20].

Мутационная активность RAS посредством точечной аминокислотной замены в кодоне 12, 13 или 61 охарактеризована как маркер прогрессирования нормальных или доброкачественных клеток в сторону злокачественности [21]. Мутации в гене *KRAS* составляют около 85% всех мутаций RAS [22].

На сегодняшний день известно, что наибольшая клиническая ценность принадлежит гену *KRAS*, поскольку мутации в нем встречаются уже при аденомах толстой кишки, а также особую роль в пролиферативной активности клеток играет белок RAS [23].

N. Irahara и соавт. в 2010 г. проанализировали 772 случая колоректального рака, сообщив при этом о наличии мутаций в гене *KRAS* у 277 (36%) пациентов [24].

Наиболее известны онкогенные мутации в генах *KRAS* и *NRAS* в 12, 13-м кодонах (2-й экзон), 59, 61-м кодонах (3-й экзон) и 117, 146-м кодонах (4-й экзон). Активирующие мутации *KRAS* выявлены, по данным различных авторов, в 30–50% случаев при метастатическом колоректальном раке [25–27], а в гене *NRAS* – до 5%. Часто наблюдающиеся мутации в 12 и 13-м кодонах гена *KRAS* представляют собой замену глицина на аспарат – G12D, G13D [7].

В литературе вопрос о том, стоит ли рассматривать рак ободочной кишки и прямой как единое целое или как 2 самостоятельных заболевания, продолжает активно обсуждаться.

В 2004 г. M. Frattini и соавт. показали, что мутации в гене *KRAS* достоверно чаще встречались в толстой кишке по сравнению с прямой кишкой. Авторы считают, что мутации *KRAS* более специфичны для толстой кишки, чем для прямой. Они предлагают при колоректальном раке наряду с клиническим диагнозом выставлять и молекулярный диагноз с целью рационального выбора лекарственной терапии, т.е. обеспечить персонализированный подход к лечению [28].

Согласно полученным данным мутации *KRAS* при колоректальном раке выявлены у 81% пациентов. Этот показатель превышает данные литературы. Причем частота их обнаружения в опухолях ободочной кишки составила 66,7%, а в прямой кишке – 33,3%, т.е. мутации в опухолях ободочной кишки наблюдаются чаще, чем в прямой. Различия статистически достоверны.

Y. Qiu и соавт. (2022 г.) исследовали частоту мутаций как в первичной опухоли, так и в легочных метастазах у 19 больных колоректальным раком. При этом наиболее распространенными мутациями стали APC – 89,5%, TP53 – 89,5% и *KRAS* – 53,0% как в метастатической, так и в первичной опухоли, равно как и аминокислотная замена G12D в гене *KRAS* [29].

Мутации в гене *KRAS* являются наиболее часто встречающимися при злокачественных новообразованиях [3, 30]. Больные с их наличием плохо реагируют на стандартное лечение, а также при применении ингибиторов рецепторов EGFR, и при этом развивается первичная резистентность [31, 32].

В литературе имеются убедительные доказательства, что ингибирование активности мутантного *KRAS* может быть очень продуктивным при лечении [22].

Молекулярная гетерогенность *KRAS* хорошо известна. Она включает более 75% всех мутаций. Соматические онкогенные мутации в гене *KRAS* часто наблюдаются в 12, 13 и 61-м кодонах. Среди них миссенс-мутации G12X являются самыми частыми, на их долю приходится 89%. Причем этот остаток чаще всего мутирует с точечной заменой глицина на аспарат – G12D – 36%, затем следует замена на валин G12V – 23% и замена на цистеин G12C – 14% [33, 34].

Существуют редкие варианты мутаций, частота которых увеличивается по мере совершенствования технологии генетических исследований. К ним относится крайне редкая миссенс-мутация *KRAS* A59T с точечной заменой аланина на треонин. Частота ее встречаемости составляет 0,08% [5, 35]. E. Lou и соавт. в 2021 г. исследовали геномную базу данных 17 909 больных колоректальным раком. Мутация A59T выявлена в 14 случаях. Ее наличие является неблагоприятным фактором [5].

В нашем исследовании мутации в 12, 13 и 61-м кодонах 2 и 3-го экзонов гена *KRAS* наблюдались в подавляющем большинстве случаев – 91,6%. При этом мутация *KRAS* G12 наблюдалась у большинства больных, составляя 78,4%.

Из них у большинства пациентов встречалась мутация G12V – 25%, за которой следуют мутация G12D – 20% и G12A – 16,6%. Мутация G12C, с которой связан плохой прогноз и развитие лекарственной резистентности, выявлена нами только в одном случае.

Кроме того, мы обнаружили случай миссенс-мутации *KRAS* A59T у пациентки с опухолью сигмовидной кишки.

Наличие у пациентов с колоректальным раком опухолевых мутаций *KRAS* G12V, G12C, G12S свидетельствует о худших результатах лечения [4, 36]. Мутация *KRAS* A146 связана с плохой общей выживаемостью у пациентов с метастатическим колоректальным раком. Так, общая продолжительность жизни больных при этом оказалась значительно короче по сравнению с больными при наличии мутации G12, медиана – 10,7 и 26,4 мес соответственно [6]. Однако при неметастатическом колоректальном раке наличие в опухоли мутации *KRAS* A146 показало лучшую выживаемость, по сравнению с мутациями в других кодонах *KRAS* [4]. Пациенты с мутацией *KRAS* G13 имели наиболее благоприятный прогноз [4].

Частота мутаций в гене *NRAS* и их связь с канцерогенезом при колоректальном раке остается неопределенной. Мутированный *NRAS* подавляет апоптоз в развивающейся опухоли. По данным N. Irahara и соавт. 2010 г., мутации *NRAS* обнаружены у 5 (2,2%) из 225 страдающих колоректальным раком. Больше всего они встречались при левосторонней локализации опухоли и у женщин [24].

В литературе имеются указания, что мутации в гене *NRAS* появляются на более поздних стадиях развития злокачественной опухоли, а мутации *KRAS* возникают рано [37, 38].

Мутации в гене *NRAS* мы обнаружили у 7 (4,6%) больных колоректальным раком. В 2,5 раза преобладали женщины. Опухоли носили метастатический характер и в основном локализовались в левой половине ободочной кишки.

Мутации в гене *BRAF* чаще встречаются при опухолях правой половины ободочной кишки по сравнению с левосторонней локализацией и прямой кишкой [39, 40].

Согласно полученным нами данным мутации *BRAF* выявлены в 8,1% случаев, что превышает литературные данные, и в подавляющем большинстве встречались у лиц женского пола с IV стадией и опухолях правой половины ободочной кишки. Во всех случаях мутации *BRAF* обнаружены в кодоне V600E.

Таким образом, мутации в гене *KRAS* в настоящее время используются для прогнозирования эффективности неоадьювантной таргетной терапии [13].

Кроме того, в литературе имеются сообщения о прогностической роли ряда профилей экспрессии генов, включая целесообразность назначения различных режимов, последовательность и схемы химио- и таргетной терапии, а также оценку клинического эффекта [14, 15].

Такой современный технологический подход позволяет лучше представить канцерогенез колоректального рака и разработать новые доступные методы лечения с помощью таргетной и иммунотерапии на основе персонализированной медицины [16].

Заключение

Соматические мутации в генах *KRAS*, *NRAS* и *BRAF* при местнораспространенном и метастатическом колоректальном раке в Тамбовской области выявлены у 48,4% пациентов. Среди всех генетических маркеров мутации в гене *KRAS* имеют важное клиническое значение. Согласно полученным данным на их долю приходится 81,0%. Они достоверно чаще встречаются у женщин. Наибольшая частота мутаций *KRAS* наблюдается в 12 и 13-м кодонах, составляя 86,7%. Среди миссенс-мутаций *KRAS* G12 лидирующее положение занимает точечная аминокислотная замена глицина на валин G12V – 25%, на аспарагиновую кислоту G12D – 20% и на аланин G12A – 16,6%.

Мутации *KRAS* в 66,7% случаев обнаружены в опухолях ободочной и в 33,3% случаев прямой кишки. Проведенные исследования показали низкую частоту (9,5%) соматических мутаций *NRAS*. Мутации *BRAF* диагностированы у 8,1% больных с метастатическим опухолевым процессом. Полученные данные свидетельствуют о наличии регионарных особенностей геномного ландшафта при колоректальном раке. Онкогенные мутации *KRAS* являются предикторами ответа на лечение и прогноза заболевания. Молекулярно-генетические исследования при колоректальном раке являются основой реализации персонализированной терапии.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Литература/References

- Globocan cancer observatory, 2020. Available at: <https://gco.iarc.fr/>. Accessed: 25.07.2022.
- Reimers MS, Zeestraten EC, Kuppen PJ, et al. Biomarkers in precision therapy in colorectal cancer. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 2013;1:166-83.
- Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61(5):759-67. DOI:10.1016/0092-8674(90)90186-i.
- Van't Erve I, Wesdorp NJ, Medina JE, et al. *KRAS* A146 Mutations Are Associated With Distinct Clinical Behavior in Patients With Colorectal Liver Metastases. *JCO precision oncology*. 2021;5:PO.21.00223. DOI:10.1200/PO.21.00223
- Lou E, Xiu J, Baca Y, et al. Expression of Immuno-Oncologic Biomarkers Is Enriched in Colorectal Cancers and Other Solid Tumors Harboring the A59T Variant of *KRAS*. *Cells*. 2021;10(6):1275. DOI:10.3390/cells10061275
- Yaeger R, Chatila WK, Lipsyc MD, et al. Clinical sequencing defines the genomic landscape of metastatic colorectal cancer. *Cancer Cell*. 2018;33:125-36.e3. DOI:10.1016/j.ccell.2017.12.004
- Neumann J, Zeindl-Eberhart E, Kirchner T, Jung A. Frequency and type of *KRAS* mutations in routine diagnostic analysis of metastatic colorectal cancer. *Pathol Res Pract*. 2009;205:858-62. DOI:10.1016/j.prp.2009.07.010
- Coppede F, Lopomo A, Spisni R, Migliore L. Genetic and epigenetic biomarkers for diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20:943-56.
- Therkildsen C, Bergmann TK, Henriksen-Schnack T, et al. The predictive value of *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* and *PTEN* for anti-EGFR treatment in metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Acta Oncol*. 2014;53:852-64. DOI:10.3109/0284186X.2014.895036
- Vale CL, Tierney JF, Fisher D, et al. Does anti-EGFR therapy improve outcome in advanced colorectal cancer? A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev*. 2012;38:618-25. DOI:10.1016/j.ctrv.2011.11.002
- Van Cutsem E, Peeters M, Siena S, et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25:1658-64.
- Foltran L, De Maglio G, Pella N, et al. Prognostic role of *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* and *PIK3CA* mutations in advanced colorectal cancer. *Future Oncol*. 2015;11:629-40. DOI:10.2217/fon.14.279
- Heinemann V, Stintzing S, Kirchner T, et al. Clinical relevance of EGFR- and *KRAS*-status in colorectal cancer patients treated with monoclonal antibodies directed against the EGFR. *Cancer Treat Rev*. 2009;35:262-71.
- Des Guetz G, Schischmanoff O, Nicolas P, et al. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2009;45:1890-6.
- Sadanandam A, Lysyotis CA, Homicsko K, et al. A colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy. *Nat Med*. 2013;19:619-25.
- De Rosa M, Pace U, Rega D, et al. Genetics, diagnosis and management of colorectal cancer (Review). *Oncol Rep*. 2015;34:1087-96.
- Adjei AA. Ras signaling pathway proteins as therapeutic targets. *Curr Pharm Des*. 2001;7:1581-94.
- Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. *Nature*. 1998;396:643-9.
- Tsang AH, Cheng KH, Wong AS, et al. Current and future molecular diagnostics in colorectal cancer and colorectal adenoma. *World J Gastroenterol*. 2014;20:3847-57.
- Grady WM, Pritchard CC. Molecular alterations and biomarkers in colorectal cancer. *Toxicol Pathol*. 2014;42:124-39.
- Parikh C, Ren R. Mouse model for *NRAS*-induced leukemogenesis. *Methods Enzymol*. 2008;439:15-24. DOI:10.1016/S0076-6879(07)00402-8
- Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2003;3:11-22. DOI:10.1038/nrc969
- Vatansever S, Erman B, Gümüş ZH. Oncogenic G12D mutation alters local conformations and dynamics of K-Ras. *Scientific Reports*. 2019;9(1). DOI:10.1038/s41598-019-48029-z
- Irahara N, Baba Y, Noshio K, et al. *NRAS* Mutations Are Rare in Colorectal Cancer. *Diagnostic Molecular Pathology*. 2010;19(3):157-63. DOI:10.1097/pdm.0b013e3181c93fd1
- Peeters M, Kafatos G, Taylor A, et al. Prevalence of *RAS* mutations and individual variation patterns among patients with metastatic colorectal cancer: A pooled analysis of randomised controlled trials. *Eur J Cancer*. 2015;51:1704-13.
- Sepulveda AR, Hamilton SR, Allegra CJ, et al. Molecular biomarkers for the evaluation of colorectal cancer: Guideline from the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and American Society of Clinical Oncology. *Arch Pathol Lab Med*. 2017;141:625-57. DOI:10.5858/arpa.2016-0554-CP
- Munoz-Maldonado C, Zimmer Y, Medova M. A Comparative analysis of individual RAS mutations in cancer biology. *Front Oncol*. 2019;9:1088. DOI:10.3389/fonc.2019.01088
- Fratini M, Balestra D, Suardi S, et al. Different genetic features associated with colon and rectal carcinogenesis. *Clin Cancer Res*. 2004;10(12 Pt 1):4015-21. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-04-0031
- Qiu YY, Peng D, Wei ZQ, et al. Genetic Characteristics of Resectable Colorectal Cancer with Pulmonary Metastasis. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2022;2022:2033876. DOI:10.1155/2022/2033876
- Stephen AG, Esposito D, Bagni RK, McCormick F. Dragging ras back in the ring. *Cancer Cell*. 2014;25:272-81. DOI:10.1016/j.ccr.2014.02.017
- Pao W, Wang TY, Riely GJ, et al. *KRAS* mutations and primary resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib. *Plos Med*. 2005;2:57-61. DOI:10.1371/journal.pmed.0020017
- Lievre A, Bachtet JB, Le Corre D, et al. *KRAS* mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2006;17:42.
- Prior IA, Lewis PD, Mattos C. A comprehensive survey of Ras mutations in cancer. *Cancer Res*. 2012;72:2457-67. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-11-2612
- Lu S, Jang H, Muratcioglu S, et al. Ras Conformational Ensembles, Allostery, and Signaling. *Chemical Reviews*. 2016;116(11):6607-65. DOI:10.1021/acs.chemrev.5b00542
- Costigan DC, Dong F. The extended spectrum of RAS-MAPK pathway mutations in colorectal cancer. *Genes Chromosom. Cancer*. 2020;59:152-9.
- Jones RP, Sutton PA, Evans JP, et al. Specific mutations in *KRAS* codon 12 are associated with worse overall survival in patients with advanced and recurrent colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2017;116:923-9. DOI:10.1038/bjc.2017.37
- Demunter A, Stas M, Degreef H, et al. Analysis of N- and K-ras mutations in the distinctive tumor progression phases of melanoma. *J Invest Dermatol*. 2001;117:1483-9. DOI:10.1046/j.0022-202x.2001.01601.x
- Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*. 1988;319:525-32. DOI:10.1056/NEJM19880913190901
- Noshio K, Kawasaki T, Chan AT, et al. Cyclin D1 is frequently overexpressed in microsatellite unstable colorectal cancer, independent of CpG island methylator phenotype. *Histopathology*. 2008;53:588-98.
- Lan YT, Chang SC, Lin PC, et al. Clinicopathological and Molecular Features of Patients with Early and Late Recurrence after Curative Surgery for Colorectal Cancer. *Cancers*. 2021;13(8):1883. DOI:10.3390/cancers13081883

Статья поступила в редакцию / The article received: 01.08.2022

Статья принята к печати / The article approved for publication: 26.09.2022



OMNIDOCTOR.RU