

УДК: 616.348/.351-006.6-003.2:575-073.756.8:681.31

**РОЛЬ И МЕСТО ВНЕКЛЕТОЧНОГО ДНК В ДИАГНОСТИКЕ И
ПРОГНОЗИРОВАНИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**

(Обзор зарубежной литературы)

Тилляшайхов М.Н., Баймаков С.Р., Аширметов А.Х., Болтаев Ш.Ш., Юнусов С.Ш.
РСНПМЦОиР, ТГСИ

**ВОЗМОЖНОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОГО
ДНК ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ**

(Обзор зарубежной литературы)

Тилляшайхов М.Н., Баймаков С.Р., Аширметов А.Х., Болтаев Ш.Ш., Юнусов С.Ш.
РСНПМЦОиР, ТГСИ

Аннотация: Колоректальный рак в последние годы считается одним из актуальных проблем медицины. Учитывая развитие медицинской технологии диагностирование КРР ежегодно достигает более 1,8 миллиона, что возносит КРР на третье место по диагностированию среди всех онкологических патологий, а летальность достигает до 881000 случаев и по данному показателю занимает второе место. Высокая смертность связана с наличием отдаленных или скрытых метастазов. В последние годы в диагностике КРР большую роль играет выявление внеклеточной онкологической ДНК. вкДНК позволяет выявить наличие остаточного рака с большей точностью, относительно существующих лабораторно-инструментальных методов диагностики, что дает возможность выбора необходимости химиотерапии в послеоперационном периоде.

Ключевые слова: колоректальный рак, внеклеточной онкологической ДНК.

**POSSIBILITIES OF CLINICAL USE OF EXTRACELLULAR DNA IN
COLORECTAL CANCER**

(Review of foreign literature)

Tillyashaykhov M.N., Baymakov S.R., Ashirmetov A.Kh., Boltaev Sh.Sh., Yunusov
S.Sh.

RSSPMCOR, TSDI

Abstract: Colorectal cancer in recent years has been considered one of the urgent problems of medicine. Considering the development of medical technology, the diagnosis of CRC reaches more than 1.8 million annually, which makes CRC the third most diagnosed among all oncological pathologies, and the mortality rate reaches 881,000 cases and takes second place in this indicator. High mortality is associated with the presence of distant or latent metastases. In recent years, detection of extracellular oncological DNA has played an important role in the diagnosis of colorectal cancer. vcDNA makes it possible to detect the presence of residual cancer with greater accuracy compared to existing laboratory and instrumental diagnostic methods, which makes it possible to choose the need for chemotherapy in the postoperative period.

Key words: colorectal cancer, extracellular oncological DNA.

**КОЛОРЕКТАЛ РАКДА ХУЖАЙРАДАН ТАШҚАРИ ДНКНИНГ КЛИНИК
ҚЎЛЛАНИЛИШИ**

(Хорижий адабиётлар шархи)

Тилляшайхов М.Н., Баймаков С.Р., Аширметов А.Х., Болтаев Ш.Ш., Юнусов
С.Ш.

РИОРИАТМ, ТДСИ

Хулоса: Сўнги йилларда колоректал саратон тиббиётнинг долзарб муаммоларидан бири ҳисобланади. Тиббий технологияларнинг ривожланишини ҳисобга олган ҳолда, КРС диагностикаси ҳар йили 1,8 миллиондан ошади, бу эса КРСни энг кўп ташхис қўйилган барча онкологик патологиялар орасида учинчи ўринни эгаллайди ва ўлим даражаси 881 минг ҳолатга етиб, ушбу кўрсаткич бўйича иккинчи ўринни эгаллайди. Юқори ўлим узоқ ёки яширин метастазларнинг мавжудлиги билан боғлиқ. Сўнги йилларда колоректал саратон касаллигини аниқлашда хужайрадан ташқари онкологик ДНКни аниқлаш муҳим рол ўйнади. Хужайрадан ташқари ДНКни лаборатория ва инструментал диагностика усуллари билан таққослаганда қолдиқ саратон мавжудлигини аниқроқ аниқлашга имкон беради, бу эса операциядан кейинги даврда кимётерапия заруратини белгилашга имкон беради.

Калит сўзлар: колоректал саратон, хужайрадан ташқари онкологик ДНК.

Колоректальный рак (КРР) в последние годы становится все более тяжелым бременем для глобального здравоохранения. КРР по частоте диагностирования стоит на 3-м месте и на 2-м месте по частоте летальности от рака [1]. За один год во всем мире диагностируется более 1,8 миллиона новых выявленных случаев заболевания и регистрируется 881 000 смертей [2]. Кроме того, по прогнозам специалистов, к 2030 году темпы роста числа новых случаев заболевания и смертности вырастут до 60% [3,4].

Такая высокая смертность, к сожалению, связано с скрытыми и выявляемыми отдаленными метастазами на момент постановки диагноза примерно у половины больных с КРР. По данным литературы, 20% вновь диагностированных больных имеют *de novo* клинически явные метастазы; более того, у 10% больных с локальным и у 30% с регионарными очагами заболевание в конечном итоге рецидивирует, чаще всего в виде диссеминированного процесса [5]. Такие больные, по-видимому, уже имеют скрытые микрометастазы, выявление которых и назначение системного лечения после локального удаления может повысить их шансы на излечение.

При выявлении рака на ранних стадиях выживаемость значительно возрастает, так как есть возможность удаления опухоли хирургическим путем или проведение лечения более мягкими режимами химиотерапии [2]. При этом, если средняя 5-летняя выживаемость на ранней стадии составляет 91%, то в поздней стадии она снижается до 26% [4], а у больных с метастатическим КРР - даже до 13% [5], поскольку большинство последних получают паллиативную системную терапию без лечебной цели.

Учитывая выше сказанное, выявление опухолей на более ранних стадиях имеет важное значение для лечения рака. В такой ситуации становится очевидным необходимость создания системы более ранней диагностики, когда вмешательства могут быть излечимыми, а также более точных диагностических и прогностических биомаркеров как для локализованного, так и для прогрессирующего заболевания.

На сегодняшний день использование различных подходов, включающие измерение СЕА и СА19-9, анализ фекальной оккультной крови и компьютерную томографию позволяют выявить КРР и снижение смертности связанные с метастазами [7,8]. Учитывая низкую чувствительность и специфичность, применение этих методов в обнаружении опухолей остается ограниченным. Кроме того, хотя биопсия на основе колоноскопии является бесценным инструментом для диагностики и прогнозирования, его повторное применение во время лечения и наблюдения за КРР не рекомендуется [9-11].

Большие надежды в последнее время в выявлении рака на ранней стадии дает циркулирующая в крови внеклеточная опухолевая ДНК (вкДНК) [12], так как считается более чувствительным методом обнаружения злокачественных новообразований, чем визуализация или другие традиционные подходы. Такую чувствительность можно использовать несколькими способами: ранняя диагностика колоректального рака до появления клинических или рентгенологических проявлений и при выявлении

минимальной остаточной болезни, определяемой как обнаружение вкДНК без каких-либо других клинических признаков рецидива заболевания у больных, завершивших все потенциально лечебные методы лечения [13,14]. У больных с рентгенологически выраженным заболеванием вкДНК, по-видимому, из-за более высокой чувствительности к изменениям опухолевой нагрузки, способно помочь в адаптации интенсивности терапии в условиях неоадьювантной терапии, а также в мониторинге опухолевого ответа у нуждающихся в паллиативном лечении [15]. Кроме того, качественные оценки типов aberrаций и их последующих изменений в структуре вкДНК могут помочь в оценке эволюции опухоли и гетерогенности, которые приводят к возникновению резистентности, а также в выборе наиболее подходящих методов лечения [16,17].

Согласно данным многих отечественных и зарубежных авторов, внеклеточная ДНК (вкДНК) относится к фрагментированной ДНК, которая попадает в кровоток в результате некроза или секреции апоптотических клеток, а также активного высвобождения интактными клетками. Он состоит как из ДНК опухолевого происхождения (вкДНК), так и неопухолевого происхождения, отражая разрушения гематопозитических, иммунных и стромальных клеток крови [18-20].

Внеклеточная ДНК может быть обнаружена в виде фрагментов от 150 до 10 000 бп, подавляющее большинство обнаруживается на пике 166 бп, соответствующем размеру одной нуклеосомы, как это обычно происходит при апоптозе [21,22]. Циркулирующая вкДНК, как правило, имеет более короткие по длине фрагменты, чем вкДНК здорового человека, что является основой для отбора фрагментов от 90 до 150 бп с целью повышения чувствительности обнаружения анализов вкДНК [23,24]. Поскольку они непрерывно высвобождаются неопластическими клетками, подвергаются быстрой деградации нуклеазами крови и, наконец, очищаются печенью и почками, то обладают коротким периодом полураспада в циркуляции (от 16 мин до 2,5 ч) [25]. Быстрый оборот вкДНК в циркуляции делает его привлекательной мишенью для обнаружения в реальном времени динамики мутаций и опухолевой нагрузки [26].

У здоровых людей вкДНК выявляется в низких концентрациях, примерно 3-22 нг на 1 мл плазмы. Отношение вкДНК к вкДНК варьирует от крайне низкого (<0,01%) до высокого (90%) в зависимости от типа опухоли и стадии [27,28]. И хотя доля вкДНК имеет значительные колебания, он более специфичен, поскольку определяется мутациями и геномными изменениями, которые являются отличительными признаками рака и являются потенциальным суррогатом всей опухоли [29].

Увеличение концентрации вкДНК в крови больных раком, относительно здоровых людей связано с быстрой скоростью клеточного оборота в злокачественных опухолях [30]. При увеличении общей концентрации вкДНК ядерного происхождения у больных раком по сравнению со здоровыми людьми, то наблюдается снижение митохондриального уровня вкДНК [22].

Профиль вкДНК больного раком клинически информативен, по крайней мере, в двух основных отношениях: может быть использован для определения динамики роста опухоли путем оценки количества вкДНК в крови, а также он может предоставить информацию о конкретных активных мутациях, которые могут направлять терапию [31,32]. Причем, первое не только хорошо согласовывалось с тестированием микросателлитной нестабильности генома на тканевой основе, но и показало более высокую специфичность, точность и чувствительность с пределом обнаружения 0,1% содержания опухоли [33,34]. Тогда как, второе предлагает многообещающий неинвазивный подход для отслеживания с помощью такого инструмента прогрессирования заболевания в режиме реального времени во время клинических испытаний или терапии для ее корректировки [35].

Несколько исследований показали потенциальную диагностическую и прогностическую ценность вкДНК для различных типов рака, и недавние сообщения

предполагают, что низкие уровни вкДНК связаны с более благоприятным исходом, чем высокие уровни [14,36]. Большинство исследований было сосредоточено на молекулярной характеристике циркулирующей опухолевой ДНК и потенциальном использовании для мониторинга после операции и системной терапии [37,38]. Только несколько исследований непосредственно проанализировали потенциальную прогностическую ценность количественного определения общей вкДНК при метастатическом заболевании.

Для КРР, по данным литературы, установлено, что уровни вкДНК в крови повышены у больных с карциномой по сравнению со здоровыми людьми. При большом количестве вкДНК, высвобождаемого в систему кровообращения в результате апоптоза или некроза опухолевых клеток, количество вкДНК может отражать метастазирование [39]. Было обнаружено, что концентрация вкДНК была значительно выше в группе больных раком толстой кишки, чем в группах полипа толстой кишки и аденомы. Кроме того, концентрация вкДНК положительно коррелировала с размером опухоли у пациентов с колоректальной карциномой [40].

При колоректальном раке частота обнаружения вкДНК зависит от объема опухоли и колеблется от 73% при локализованном заболевании до почти 100% при метастатическом [41]. Кроме того, частота обнаружения вкДНК значительно снижается после лечебной резекции, варьируя от 10% -15% у больных со II стадией заболевания до почти 50% у больных с IV стадией заболевания [41,42,43].

Известно, что только хирургия может вылечить подавляющее большинство больных с ранней стадией рака толстой кишки. Так, ретроспективный анализ данных Шведского регистра колоректального рака показал, что 5-летняя безрецидивная выживаемость составляет 78% только при хирургическом вмешательстве в подгруппе низкого риска больных III стадии (пациенты с T1-T3, болезнью N1 и отсутствием дополнительных факторов риска) и от 78% до 91% 5-летней безрецидивной выживаемости больных со II стадией заболевания [44]. При этом, если рассматривать всех больных III стадии как единую группу, то почти 50% из них могут быть вылечены только хирургическим путем [46].

В настоящее время локализованный рак толстой кишки принято лечить путем хирургического вмешательства и, если есть подозрение на наличие остаточных раковых клеток, химиотерапии после операции. Решение о назначении терапии, направленной на ликвидацию клинически неочевидного минимального остаточного заболевания для достижения излечения, принимается с учетом клинико-патологических характеристик опухоли.

Однако стратификация риска, основанная на клинико-патологических характеристиках, является еще не совсем точной и приводит к недостаточному или чрезмерному лечению у значительного числа больных [47].

Новые исследования показывают, что вкДНК может выявить наличие остаточного рака после операции с гораздо большей точностью, чем имеющиеся в настоящее время инструменты, и может помочь в принятии решения о необходимости химиотерапии после операции.

Кроме того, последовательный мониторинг вкДНК после завершения окончательной терапии потенциально может обнаружить рецидив рака гораздо раньше, чем обычные методы наблюдения, которые могут обеспечить критическое окно возможностей для дополнительных терапевтических вмешательств с лечебными намерениями [48].

Используя анализ вкДНК на основе платформы Safe-SeqS, основанный на опухолевой информации, Tie et al. показали, что вкДНК значительно превосходит стандартные клинико-патологические характеристики в качестве прогностического маркера, на основании результатов двух проспективных многоцентровых когортных

исследованиях, одно из которых проводилось у больных II стадии ($n = 230$) [49], а другое - у больных III стадии ($n = 96$) [42].

Путем многофакторного анализа было установлено, что послеоперационный статус вкДНК оставался самым сильным независимым предиктором безрецидивной выживаемости (OR 28; 95% DI 11-68) и превосходил любой отдельный клинико-патологический фактор риска или любую комбинацию клинико-патологических факторов в прогнозировании рецидива рака [50]. Исследование показало, что больные с обнаруживаемой на 30-е послеоперационные сутки вкДНК были в семь раз (OR 7,2; 95% DI 2,7-19,0; $p < 0,001$) более склонны к рецидиву рака по сравнению с больными с необнаруживаемым вкДНК. При этом, среднее время опережения от времени обнаружения вкДНК до рецидива опухоли, диагностированного с помощью визуализационных исследований, составило 8,7 месяца (диапазон 0,8–16,5 месяца; $p < 0,001$), тогда как, повышение уровня СЕА не имело значительного времени опережения.

В последнее время для разработки прогностических моделей в данной области стали применяться такие методы машинного обучения, как искусственные нейронные сети (ANNs), байесовские сети, векторные машины поддержки (SVM) и деревья решений (DTs) [51].

Результаты анализа ряда переменных показателей жидкой биопсии, включающее количество, генетический и эпигенетический профиль вкДНК, на большой ретроспективной когорте из 289 здоровых людей и 983 больных с различными типами рака, с использованием модели прогнозирования DT для выявления и классификации здоровых и онкологических больных показало очень обнадеживающие результаты даже на ранних стадиях КРР (специфика 0,89 (0,84-0,94; 95% CI) и чувствительность 0,72 (0,67-0,76; 95% CI)).

Эти данные демонстрируют потенциал анализов показателей вкДНК в качестве инструмента массового скрининга для ранней диагностики КРР благодаря своей неинвазивной природе и возможности замены традиционной колоноскопии и иммунохимического анализа кала на скрытую кровь, с минимальным риском перфорации, более высокой чувствительности, быстротой и простотой процедуры (забор крови) и без необходимости любых предварительных требований (ограничение диеты и обширная подготовка кишечника) [52,53].

Однако современные исследования в основном сосредоточены на выявлении рака у больных, которые уже были диагностированы, поскольку все еще остаются важные проблемы, связанные с их более широким использованием и внедрением в клинические условия. В первую очередь, это ряд ограничений в обнаружении вкДНК, поскольку результаты его анализа зависят от различных источников выделения, методов, размера выборки, времени сбора крови и различий в условиях между первичными и рецидивными опухолями [54,55]. Стандартизация всех этих факторов в различных исследованиях, а также процедуры сбора и хранения крови будут ключевыми для обеспечения согласованности результатов.

Таким образом, анализ вкДНК на основе жидкой биопсии в настоящее время становится привлекательной заменой традиционной ранней молекулярной диагностики опухолевой ткани, оценки эффективности лечения, мониторинга динамики (прогрессирования) опухоли и прогнозирования рецидива рака. Относительная неинвазивность вкДНК в сочетании с чувствительным геномным анализом рака характеризуют его как мощного биомаркера.

Хотя последние технологические достижения позволили облегчить обогащение и обнаружение вкДНК, необходимы дальнейшие исследования для соответствующей стандартизации и клинической валидации данного метода тестирования с точки зрения повторяемости, воспроизводимости и других клинически значимых параметров.

Надеемся, что в ближайшем будущем серийное тестирование вкДНК станет компонентом рутинной клинической практики в отношении лечения КРР, а уже установленные его прогностические способности могут быть интегрированы в новые схемы дифференцированного лечения и позволят избавить больных от ненужной токсичности, вызванной неэффективной химиотерапией.

Литература/References

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J. Clin.* 2020;70:7–30. doi: 10.3322/caac.21590.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018;68:394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
3. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut.* 2017;66:683–691. doi: 10.1136/gutjnl-2015-310912.
4. Vuik FER, Nieuwenburg SAV, Bardou M, Lansdorp-Vogelaar I, Dinis-Ribeiro M et al. Increasing incidence of colorectal cancer in young adults in Europe over the last 25 years. *Gut.* 2019 Oct; 68(10): 1820–1826. doi: 10.1136/gutjnl-2018-317592
5. Granados-Romero JJ, Valderrama-Treviño AI, Contreras-Flores EH, Barrera-Mera B, Herrera Enríquez Met al. Colorectal cancer: A review. *Int. J. Res. Med. Sci.* 2017; 5:4667. doi: 10.18203/2320-6012.ijrms20174914.
6. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J. Clin.* 2018; 68:7–30.
7. Berretta M, Alessandrini L, De Divitiis C, Nasti G, Lleshi A et al. Serum and tissue markers in colorectal cancer: State of art. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2017; 111:103–116. doi: 10.1016/j.critrevonc.2017.01.007.
8. Liu Z, Zhang Y, Niu Y, Li K, Liu X et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic and Prognostic Serum Biomarkers of Colorectal Cancer. *PLoS ONE.* 2014; 9:e103910. doi: 10.1371/journal.pone.0103910.
9. Bhardwaj M, Gies A, Werner S, Schrotz-King P, Brenner H Blood-Based Protein Signatures for Early Detection of Colorectal Cancer: A Systematic Review. *Clin. Transl. Gastroenterol.* 2017;8:e128. doi: 10.1038/ctg.2017.53.
10. Vatandoost N, Ghanbari J, Mojaver M, Avan A, Ghayour-Mobarhan M et al. Early detection of colorectal cancer: From conventional methods to novel biomarkers. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2016;142:341–351. doi: 10.1007/s00432-015-1928-z.
11. Saluja H, Young GP, Kholmurodova F, Symonds EL Variables Associated with Detection of Methylated BCAT1 or IKZF1 in Blood from Patients Without Colonoscopically Evident Colorectal Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2021 Jan 26. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-20-1609.
12. Donaldson J, Park BH Circulating tumor DNA: measurement and clinical utility. *Annu. Rev. Med.* 2018;69:223–234.
13. Norcic G Liquid Biopsy in Colorectal Cancer-Current Status and Potential Clinical Applications. *Micromachines.* 2018;9:300. doi: 10.3390/mi 9060300.
14. Kolenčik D, Shishido SN, Pitule P, Mason J, Hicks J, Kuhn P Liquid Biopsy in Colorectal Carcinoma: Clinical Applications and Challenges. *Cancers.* 2020;12:1376. doi: 10.3390/cancers12061376.
15. Dasari A, Morris VK, Allegra CJ, Atreya C, Benson AlB et al. ctDNA applications and integration in colorectal cancer: an NCI Colon and Rectal–Anal Task Forces whitepaper *Nat Rev Clin Oncol.* 2020; 17(12): 757–770. doi: 10.1038/s41571-020-0392-0
16. Li K, Luo H, Huang L, Luo H, Zhu X Microsatellite instability: A review of what the oncologist should know. *Cancer Cell Int.* 2020;20:16. doi: 10.1186/s12935-019-1091-8.
17. Bedin C, Enzo MV, Del Bianco P, Pucciarelli S, Nitti D Agostini M Diagnostic and prognostic role of cell-free DNA testing for colorectal cancer patients. *Int. J. Cancer.* 2017;140:1888–1898. doi: 10.1002/ijc.30565.
18. Merker JD, Oxnard GR, Compton C, Diehn M, Hurley P et al. Circulating Tumor DNA Analysis in Patients with Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. *J. Clin. Oncol.* 2018;36:1631–1641. doi: 10.1200/JCO.2017.76.8671.

19. Stewart CM, Kothari PD, Mouliere F, Mair R, Somnay S et al. The value of cell-free DNA for molecular pathology. *J. Pathol.* 2018;244:616–627. doi: 10.1002/path.5048.
20. Fiala C, Diamandis EP New approaches for detecting cancer with circulating cell-free DNA. *BMC Med.* 2019;17:159. doi: 10.1186/s12916-019-1400-z.
21. Cristiano S, Leal A, Phallen J, Fiksel J, Adleff V et al. Genome-wide cell-free DNA fragmentation in patients with cancer. *Nature* 2019;570:385–389. 10.1038/s41586-019-1272-6
22. [Grabuschnig S](#), [Bronkhorst AJ](#), [Holdenrieder S](#), [Rodriguez IR](#), [Schliep KP](#) et al. Putative Origins of Cell-Free DNA in Humans: A Review of Active and Passive Nucleic Acid Release Mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov; 21(21): 8062. doi: [10.3390/ijms21218062](#)
23. Mouliere F, Chandrananda D, Piskorz AM, Moore EK, Morris J et al. Enhanced detection of circulating tumor DNA by fragment size analysis. *Sci. Transl. Med.* 2018;10:eaat4921. doi: 10.1126/scitranslmed.aat4921.
24. [Yasuaki Ishida](#), [Shinichi Takano](#), [Shinya Maekawa](#), [Tatsuya Yamaguchi](#), [Takashi Yoshida](#) et al. Fractionated small cell-free DNA increases possibility to detect cancer-related gene mutations in advanced colorectal cancer. *JGH Open.* 2020 Oct; 4(5): 978–986. doi: 10.1002/jgh3.12379
25. Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, Mouliere F, Brenton JD et al. Liquid biopsies come of age: Towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat. Rev. Cancer.* 2017;17:223–238. doi: 10.1038/nrc.2017.7.
26. [Yan-yan Yan](#), [Qiao-ru Guo](#), [Feng-hua Wang](#), [Rameshwar Adhikari](#), [Zhuang-yan Zhu](#) et al. Cell-Free DNA: Hope and Potential Application in Cancer. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 639233. doi: [10.3389/fcell.2021.639233](#)
27. Aucamp J, Bronkhorst AJ, Badenhorst CPS, Pretorius PJ The diverse origins of circulating cell-free DNA in the human body: A critical re-evaluation of the literature. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 2018;93:1649–1683. doi: 10.1111/brv.12413.
28. Suraj S, Dhar C, Srivastava S Circulating nucleic acids: An analysis of their occurrence in malignancies. *Biomed. Rep.* 2016;6:8–14. doi: 10.3892/br.2016.812.
29. Bi F, Wang Q, Dong Q, Wang Y, Zhang L, Zhang J Circulating tumor DNA in colorectal cancer: Opportunities and challenges. *Am. J. Transl. Res.* 2020; 12:1044.
30. Cescon DW, Bratman SV, Chan SM, Siu LL Circulating tumor DNA and liquid biopsy in oncology. *Nat. Cancer.* 2020;1:276–290. doi: 10.1038/s43018-020-0043-5.
31. Antoniotti C, Pietrantonio F, Corallo S, De Braud F, Falcone A, Cremolini C. Circulating Tumor DNA Analysis in Colorectal Cancer: From Dream to Reality. *J. Clin. Oncol. Precis. Oncol.* 2019;1–14. doi: 10.1200/PO.18.00397.
32. Klein-Scory S, Wahner I, Maslova M, Al-Sewaidi Y, Pohl M et al. Evolution of RAS Mutational Status in Liquid Biopsies During First-Line Chemotherapy for Metastatic Colorectal Cancer *Front Oncol.* 2020; 10: 1115. doi: 10.3389/fonc.2020.01115
33. Willis J, Lefterova MI, Artyomenko A, Kasi PM, Nakamura Y et al. Validation of Microsatellite Instability Detection Using a Comprehensive Plasma-Based Genotyping Panel. *Clin. Cancer Res.* 2019;25:7035–7045. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1324.
34. Odegaard JI, Vincent JJ, Mortimer S, Vowles JV, Ulrich BC et al. Validation of a Plasma-Based Comprehensive Cancer Genotyping Assay Utilizing Orthogonal Tissue- and Plasma-Based Methodologies. *Clin. Cancer Res.* 2018; 24:3539–3549. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3831.
35. Ignatiadis M., Sledge G.W., Jeffrey S.S. Liquid biopsy enters the clinic—Implementation issues and future challenges. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2021;1–16. doi: 10.1038/s41571-020-00457-x.
36. [Mai-Britt Worm Ørntoft](#), [Sarah Østrup Jensen](#), [Nadia Øgaard](#), [Tenna Vesterman Henriksen](#), [Linnea Ferm](#) et al. Age-stratified reference intervals unlock the clinical potential of circulating cell-free DNA as a biomarker of poor outcome for healthy individuals and patients with colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2021 Apr 1; 148(7): 1665–1675. doi: [10.1002/ijc.33434](#)
37. Masaki Nakamura, Shun-Ichiro Kageyama, Masahide Seki, Ayako Suzu ki, Masayuki Okumura et al. Liquid Biopsy Cell-free DNA Biomarkers in Patients With Oligometastatic Colorectal Cancer Treated by Ablative Radiotherapy *Anticancer Research* February 2021;41(2):829-834; DOI: <https://doi.org/10.21873/anticancer.14835>
38. [Yu-Min Yeh](#), [Peng-Chan Lin](#), [Chung-Ta Lee](#), [Shang-Hung Chen](#), [Bo-Wen Lin](#) et al. Treatment monitoring of colorectal cancer by integrated analysis of plasma concentration and sequencing of circulating tumor DNA. *Mol Cancer.* 2020; 19: 150. doi: [10.1186/s12943-020-01273-8](#)

39. Boysen AK, Schou JV, Jensen BV, Nielsen D, Sørensen BS et al. Prognostic and predictive value of circulating DNA for hepatic arterial infusion of chemotherapy for patients with colorectal cancer liver metastases. *Mol Clin Oncol*. 2020 Dec; 13(6): 77. doi: 10.3892/mco.2020.2147
40. [Ying Hu](#), [Yawei Chen](#), [Hao Guo](#), [Jianing Yu](#), [Yanhui Chen](#) et al. Molecular Alterations in Circulating Cell-Free DNA in Patients with Colorectal Adenoma or Carcinoma. *Cancer Manag Res*. 2020; 12: 5159–5167. doi: 10.2147/CMAR.S244520
41. Bettgowda C, Sausen M, Leary RJ, Kinde I, Wang Y. et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci. Transl. Med*. 2014;6:224ra24. doi: 10.1126/scitranslmed.3007094.
42. Tie J, Cohen JD, Wang Y, Christie M, Simons K et al. Circulating Tumor DNA Analyses as Markers of Recurrence Risk and Benefit of Adjuvant Therapy for Stage III Colon Cancer. *JAMA Oncol*. 2019 doi: 10.1001/jamaoncol.2019.3616.
43. Diehn M, Alizadeh A, Adams H, Lee J, Klassen S, Palma J Early prediction of clinical outcomes in resected stage II and III colorectal cancer (CRC) through deep sequencing of circulating tumor DNA (ctDNA) *J. Clin. Oncol*. 2017;35:3591. doi: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.3591.
44. Osterman E, Glimelius B Recurrence Risk After Up-to-Date Colon Cancer Staging, Surgery, and Pathology: Analysis of the Entire Swedish Population. *Dis. Colon. Rectum*. 2018;61:1016–1025. doi: 10.1097/DCR.0000000000001158.
46. Bockelman C, Engelmann BE, Kaprio T, Hansen TF, Glimelius B. Risk of recurrence in patients with colon cancer stage II and III: A systematic review and meta-analysis of recent literature. *Acta Oncol. Stockh. Swed*. 2015;54:5–16. doi: 10.3109/0284186X.2014.975839.
47. Osumi H, Shinozaki E, Yamaguchi K, Zembutsu H Clinical utility of circulating tumor DNA for colorectal cancer. *Cancer Sci*. 2019;110:1148–1155. doi: 10.1111/cas.13972.
48. Crigna AT, Samec M, Koklesova L, Liskova A, Giordano FA et al. Cell-free nucleic acid patterns in disease prediction and monitoring—hype or hope? *EPMA J*. 2020 Dec; 11(4): 603–627. doi: 10.1007/s13167-020-00226-x
49. Tie J, Wang Y, Tomasetti C, Li L, Springer S et al. Circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer. *Sci. Transl. Med*. 2016;8:346–392. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf6219.
50. [Chakrabarti S](#), [Hao Xie](#), [Urrutia R](#) and [Mahipal A](#) The Promise of Circulating Tumor DNA (ctDNA) in the Management of Early-Stage Colon Cancer: A Critical Review. [Cancers \(Basel\)](#). 2020; 12(10): 2808. doi:10.3390/cancers12102808
51. Tanos R, Tosato G, Otandault A, Al Amir Dache Z, Pique Lasorsa L et al. Machine Learning-Assisted Evaluation of Circulating DNA Quantitative Analysis for Cancer Screening. *Adv Sci (Weinh)*. 2020 Sep; 7(18): 2000486. doi: 10.1002/advs.202000486
52. Carroll MRR., Seaman HE, Halloran SP Tests and investigations for colorectal cancer screening. *Clin. Biochem*. 2014;47:921–939. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.04.019.
53. Pox CP, Altenhofen L, Brenner H, Theilmeier A, Stillfried DV, Schmiegel W Efficacy of a Nationwide Screening Colonoscopy Program for Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2012;142:1460–1467.e2. doi: 10.1053/j.gastro.2012.03.022.
54. Fleischhacker M, Schmidt B Pre-analytical issues in liquid biopsy—Where do we stand? *J. Lab. Med*. 2020;44:117–142. doi: 10.1515/labmed-2019-0167.
55. Salvianti F, Gelmini S, Costanza F, Mancini I, Sonnati G et al. The pre-analytical phase of the liquid biopsy. *New Biotechnol*. 2020;55:19–29. doi: 10.1016/j.nbt.2019.09.006.

УДК: 316.46.058-61

THE PERSONAL QUALITIES OF THE LEADER IN THE HEALTH CARE

Khalmatova M.A.

Tashkent State dental institute

The leader is a person who directs and coordinates the activities of performers who must necessarily submit to him, and in the framework of the established authority to fulfill all his