

Биомаркеры при метастатической меланоме кожи: можем ли мы точнее выбирать тактику лечения наших пациентов?

А.Р. Зарецкий¹, ORCID: 0000-0002-7778-6617, a-zaretsky@yandex.ru

Л.В. Демидов², ORCID: 0000-0002-8562-6082, demidov.lev@gmail.com

И.В. Самойленко^{2✉}, ORCID: 0000-0001-7150-5071, i.samoylenko@ronc.ru

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1

² Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина; 115478, Россия, Москва, Каширское шоссе, д. 23

Резюме

При наличии возрастающего количества альтернативных эффективных методов лечения пациентов увеличивается потребность в более точной селекции пациентов для проведения терапии (в сравнении, например, с наблюдением после радикального хирургического лечения), выбора оптимального способа терапии (предсказание первичной резистентности или, напротив, высокой чувствительности), а также критериев для прекращения лечения (полная элиминация опухоли) или смены терапии (молекулярное, т. е. предклиническое и прерадиологическое прогрессирование). Ответы на все эти вопросы мы ищем в разнообразных биомаркерах. Сегодня изучено много клинических маркеров (например, состояние по шкале ECOG или распространенность заболевания), молекулярно-генетических (например, таких, как мутации в генах *BRAF*, *NRAS*, *NF1*, *TMB*), иммунологических (например, инфильтрация опухоли лимфоцитами и экспрессия PD-L1, PD-L2, PD-1 или других контрольных точек иммунитета на опухолевых клетках и клетках микроокружения), а также факторов, циркулирующих в крови и плазме (например, соотношение клеток крови между собой, циркулирующая опухолевая ДНК или цитокины в периферической крови). В данной работе мы постарались проанализировать накопленные к настоящему времени сведения и попытаться соотнести их как с имеющейся клинической практикой и доступными способами лечения, так и наметить перспективы ближайших исследований в этой области. Имеющиеся сведения, на наш взгляд, могут повлиять на текущую рутинную практику врачей-онкологов и позволят аккуратнее выбирать терапию первой линии для получения от нее максимальной пользы и минимального вреда. Хотя вероятно, что для определения таких биомаркеров потребуются предпринять некоторые организационные усилия для изменения устоявшейся клинической практики.

Ключевые слова: ингибиторы BRAF, ингибиторы MEK, блокаторы контрольных точек иммунитета, тройная комбинация BRAFi + MEKi + aPD-L1, резистентность, чувствительность, циркулирующая опухолевая ДНК

Благодарности: Исследование проведено за счет средств федерального бюджета в рамках государственного задания на выполнение экспериментальной научной разработки «Разработка метода неинвазивной дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных пигментных новообразований кожи и слизистых оболочек на основе молекулярно-генетических технологий», № госрегистрации АААА-А20-120030290054-4.

Для цитирования: Зарецкий А.Р., Демидов Л.В., Самойленко И.В. Биомаркеры при метастатической меланоме кожи: можем ли мы точнее выбирать тактику лечения наших пациентов? *Медицинский совет*. 2021;(9):48–63. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-9-48-63>.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Biomarkers in metastatic melanoma of the skin: can we more accurately choose the tactics of treating our patients?

Andrew R. Zaretsky¹, ORCID: 0000-0002-7778-6617, a-zaretsky@yandex.ru

Lev V. Demidov², ORCID: 0000-0002-8562-6082, demidov.lev@gmail.com

Igor V. Samoylenko^{2✉}, ORCID: 0000-0001-7150-5071, i.samoylenko@ronc.ru

¹ Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia

² Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 23, Kashirskoye Shosse, Moscow, 115478, Russia

Abstract

With an increasing number of alternative effective therapies available for patients, there is an increasing need for a more accurate selection for therapy (compared to observation, for example, after radical surgical treatment), selection of the optimal therapy (prediction of primary resistance or, conversely, high sensitivity), and criteria for stopping treatment (complete tumor elimination) or changing therapy (molecular, i.e. preclinical and preradiological progression). We look for answers to all these questions in a variety

of biomarkers. Many clinical markers (e.g. ECOG performance status or disease prevalence), molecular genetic (e.g. such as mutations in the BRAF gene, NRAS, NF1, TMB), immunological (e.g. tumor infiltration by lymphocytes and expression of PD1, PDL2, PD1 or other «immune checkpoints» on tumor cells and microenvironmental cells), as well as factors circulating in the blood and plasma (e.g., blood cell-to-cell ratio, circulating tumor DNA or cytokines in the peripheral blood). In this study, we have tried to analyze the data accumulated so far and attempt to relate them both to current clinical practice and available therapies, as well as to outline the prospects for upcoming research in this area. In our opinion, the available data may influence the current routine practice of oncologists and allow for a more careful choice of first-line therapy to maximize benefit and minimize harm. Although it is likely that some organizational effort will be needed to change established clinical practice in order to identify such biomarkers.

Keywords: BRAF inhibitors, MEK inhibitors, immune checkpoint blockers, BRAFi + MEKi + aPDL1 triple combination, resistance, sensitivity, circulating tumor DNA

Acknowledgments: The study was conducted at the expense of the federal budget as part of the state assignment for experimental research "Development of a method for noninvasive differential diagnosis of benign and malignant pigmented neoplasms of the skin and mucous membranes based on molecular genetic technologies" state registration number AAAA-A20-120030290054-4.

For citation: Zaretsky A.R., Demidov L.V., Samoylenko I.V. Biomarkers in metastatic melanoma of the skin: can we more accurately choose the tactics of treating our patients? *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2021;(9):48–63. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-9-48-63>.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Впечатляющие успехи в области лечения метастатической меланомы, которые непрерывно транслируют на конференциях и в научных журналах ученые из разных стран на протяжении последних десяти лет, все же не должны позволять нам считать эту болезнь легко излечимой. Действительно, в 2021 г. исполнится ровно десять лет с момента регистрации первого препарата, который улучшил выживаемость с метастатической меланомой – ипилимумаба [1]. За эту декаду мы получили большой спектр лекарственных препаратов и их комбинаций, которые можем применять как при метастатической болезни, так и в адъювантном режиме у хирургически излеченных пациентов с высоким риском рецидива или прогрессирования заболевания. Эти препараты, судя по данным клинических исследований и реальной практики, могут помочь значительной части пациентов, но, к сожалению, далеко не всем из них. В условиях, когда у практикующего онколога может стоять выбор, какой вариант лечения назначить или вообще не назначать никаких лекарств и проводить только наблюдение, остро стоит вопрос об использовании таких подсказок, как биомаркеры, которые помогли бы решить такую проблему. В этом обзоре литературы мы постарались проанализировать накопленные к настоящему времени сведения о пользе или бесполезности тех или иных биомаркеров при меланоме и разобраться в причинах того, что они практически не используются для селекции правильной терапии.

Биомаркеры, как известно, могут иметь прогностический или предиктивный характер. Прогностические биомаркеры дают представление об общем исходе заболевания, но не предсказывают вероятность пользы от назначенного лечения. Предиктивные биомаркеры дают представление о вероятности терапевтического ответа болезни пациента на конкретное лечение. Также биомаркеры чрезвычайно заманчиво использовать для принятия решения об отмене терапии (при условном излечении пациента) или для смены терапии (при первых ранних признаках биомар-

керного прогрессирования заболевания до наступления признаков прогрессирования по данным радиологических исследований или, тем более, до клинического прогрессирования). Некоторые популярные на сегодня биомаркеры, которые попадают в одну из этих трех групп, мы объединили на схеме (по A. Tarhini с изменениями [2]) (рис. 1).

Прогностические биомаркеры могут использоваться для отбора пациентов для проведения определенной терапии и (или) для их стратификации при включении в клинические исследования и имеют наибольшее значение при локализованных стадиях меланомы. Предиктивные биомаркеры позволяют осуществлять в большей или меньшей степени точный, адресный и индивидуализированный подбор схемы лекарственного лечения и наиболее важны при метастатической меланоме.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПАТОГЕНЕЗ МЕЛАНОМЫ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОМАРКЕРЫ

Почти всегда метастатическую меланому можно отнести к одному из 9 молекулярно-генетических типов, выделенных в актуальной версии гистологической классификации ВОЗ [3]. Основой этой достаточно непростой классификации является уточненное понимание механизмов молекулярного и клеточного патогенеза злокачественной меланомы у человека. Наиболее важные из этих механизмов – это инициация опухоли, вызываемая ключевыми мутациями-драйверами, и обретение опухолью злокачественного потенциала, связанное с накоплением мутаций-модификаторов.

Подавляющее большинство случаев меланомы кожи и слизистых оболочек возникает из эпидермальных меланоцитов, в которых активируется ключевой сигнальный каскад MAPK вследствие драйверных мутаций в генах *BRAF*, *NRAS*, *KIT* и реже в некоторых других. Наличие данных драйверных мутаций определяет потенциальную чувствительность опухолей, происходящих из эпидермальных меланоцитов, к таргетной терапии. Прогрессирование

● **Рисунок 1.** Основные прогностические, предиктивные биомаркеры и биомаркеры для контроля эффективности терапии при меланоме кожи

● **Figure 1.** Main prognostic, predictive biomarkers and biomarkers for monitoring treatment efficacy in skin melanoma

Прогностические маркеры	Предиктивные биомаркеры	Маркеры резидуальной болезни или неэффективности проводимой терапии
<ul style="list-style-type: none"> • Уровень лактатдегидрогеназы; • Локализация метастатических очагов (стадия М); • Распространенность болезни 	<p>Валидированные</p> <ul style="list-style-type: none"> • Мутации p.V600E/K в гене <i>BRAF</i> <p>Перспективные</p> <ul style="list-style-type: none"> • Экспрессия сигнальных молекул (иммунных чекпойнтов) – PD-L1, LAG-3 и т. д. – в опухоли; • Мутационная нагрузка (ТМВ); • Инфильтрация опухоли цитотоксическими Т-лимфоцитами (CD8+); • Другие молекулярно-генетические нарушения в опухоли; • Экспрессия ИЛ-17; • Экспрессия генов, индуцируемых гамма-интерфероном; • Микробиом кишечника и т. д. 	<ul style="list-style-type: none"> • Уровень циркулирующей опухолевой ДНК; • Абсолютное число лимфоцитов и отношение числа нейтрофилов к числу лимфоцитов; • Пролиферация специфических субпопуляций Т-лимфоцитов; • Экспрессия сигнальных молекул (иммунных чекпойнтов) – PD-L1, LAG-3 и т. д. – в периферической крови; • Повышение экспрессии гранзима В; • Репертуары Т-клеточных рецепторов и т. д.

клона эпидермальных меланоцитов до злокачественной меланомы связано с накоплением множества дополнительных мутаций – как правило, из-за ультрафиолетового повреждения ДНК той или иной степени выраженности. При этом воздействие ультрафиолета индуцирует также большое количество мутаций-пассажира, которые в своей массе не участвуют в канцерогенезе и являются своеобразной нестираемой памятью о солнечных ожогах в детстве или молодости. Обилие данных мутаций (мутационная нагрузка) определяет потенциальную чувствительность этого типа меланом к иммунотерапии ингибиторами контрольных точек, а также вызывает существенные сложности при попытке выделить молекулярные факторы хорошего или плохого прогноза.

Меланомы кожи из голубых невусов, а также увеальные меланомы и крайне редко встречающиеся первичные меланомы ЦНС и некоторых других внутренних органов возникают из дермальных меланоцитов, в которых активируется другой сигнальный путь – эндотелиновый – вследствие драйверных мутаций в генах *GNAQ*, *GNA11*, *PLCB4* и *CYSLTR2*. Наличие соответствующих мутаций определяет устойчивость данной группы опухолей к современной таргетной терапии (специфических ингибиторов эндотелинового каскада в настоящее время, к сожалению, не разработано). Дальнейшие этапы канцерогенеза в этом случае, как правило, происходят без внешнего мутагенного воздействия, вследствие чего данные меланомы содержат крайне небольшое количество мутаций-модификаторов и практически лишены пассажирских мутаций. Из-за этого опухоли из дермальных меланоцитов обычно низкоиммуногенны и устойчивы к иммунотерапии ингибиторами контрольных точек. Вместе с тем небольшое количество молекулярных нарушений в этих опухолях позволяет успешно идентифицировать важные прогностические биомаркеры: так, именно при увеальной меланоме прогностическая классификация на основе профиля мутаций является практически общепринятой.

В канцерогенезе при кожной меланоме важное значение имеет несколько несвязанных напрямую с ультрафиолетом событий: это появление активирующей мутации в генах *BRAF* или *NRAS* или инактивация *NF1*. При увеальной меланоме наиболее часто драйверная мутация происходит в различных субъединицах G-белка. При меланоме слизистой оболочки мутации *BRAF* и *NRAS* встречаются гораздо реже, чем при меланоме кожи, а мутации в *KIT* наблюдаются в 7–25% случаев [3].

МУТАЦИИ В ГЕНЕ *BRAF*

Открытие роли мутаций *BRAF* при меланоме, неудачное применение сорафениба (первого неселективного ингибитора *BRAF* [4, 5]) и создание селективных ингибиторов мутантного белка *BRAF* (вемурафениба (PLX4032) вначале и целой серии потом), безусловно, сделали мутацию в гене *BRAF* предиктивным маркером ответа на таргетную терапию.

Двумя наиболее частыми мутациями в гене *BRAF* являются p.V600E и p.V600K [6]. Существуют наблюдения, согласно которым мутация *BRAF* p.V600E чаще встречается у лиц более молодого возраста с меланомой кожи после острого солнечного повреждения, в то время как *BRAF* p.V600K – у пациентов старшего возраста на коже с хроническим солнечным повреждением (например, на коже головы и шеи) [7].

Применение монотерапии ингибиторами *BRAF* после глубокого и яркого ответа на лечение приводило к быстрому развитию приобретенной резистентности в течение 6–8 мес. у подавляющего большинства пациентов. Во многих случаях резистентность развивалась за счет повышения активности *MEK*, *ERK* или *NRAS* [8]. Присоединение к терапии ингибиторов *MEK* (траметиниба, кобиметиниба и биниметиниба) привело практически к удвоению выживаемости без прогрессирования (ВБП) и общей выживаемости (ОВ) по сравнению с монотера-

пией ингибиторами BRAF [9–11]. В частности, новая комбинация энкорафениб + биниметиниб улучшает медиану ВБП с 7 до 15 мес. и ОВ с 16,9 до 33,6 мес. [12] по сравнению с монотерапией вемурафенибом.

Интересно также, что наличие мутации в гене *BRAF* в одном из исследований с иммунотерапевтическими препаратами, чей механизм действия не связан с активацией или блокированием MAPK-пути в опухоли, оказалось предиктивным в отношении эффективности комбинированной иммунотерапии по сравнению с монотерапией aPD1: 5-летняя ВБП в группе комбинированной иммунотерапии ипилимумабом (aCTLA4) и ниволумабом (aPD1) у *BRAF*-мутированных пациентов составила 38 против 22% (отношение рисков (ОР) 0,60, 95% доверительный интервал (ДИ): 0,43–0,86), в то время как среди пациентов без мутации такой разницы в 5-летней ВБП практически не наблюдается: 35 против 32% (ОР 0,89, 95% ДИ: 0,70–1,13) [13].

Таким образом, мутация в гене *BRAF* является необходимым условием для назначения комбинированной таргетной терапии BRAFi + MEKi. В то же время только наличия мутации в гене *BRAF* недостаточно, чтобы принять такое решение с учетом того, что 38% больных не будут прогрессировать пять лет и более при назначении иммунотерапии aPD1 + aCTLA4. А при выборе иммунотерапии наличие мутации в гене *BRAF* будет аргументом в пользу именно комбинированного режима aPD1 + aCTLA4 по сравнению с монорежимом.

У 5–10% пациентов с *BRAF*-мутацией обнаруживаются варианты, отличные от p.V600E/K. Несмотря на то что большинство из них сопровождаются активацией MAPK, их прогностическая и предиктивная роли в настоящее время до конца не понятны [14–16]. Редкие мутации, затрагивающие кодоны 600 или 601 гена *BRAF*, а также мутация p.L597R потенциально чувствительны к комбинации BRAFi + MEKi или к монотерапии MEK-ингибиторами. Наш собственный опыт терапии пациентов с мутациями p.V600R и p.K601E говорит о намного более скоротечном и неглубоком ответе на проводимую терапию по сравнению с мутациями p.V600E/K (данные не опубликованы). Редкие мутации в гене *BRAF*, не затрагивающие кодоны 600 и 601 (точечные замены в экзоне 11, делеции и точечные замены в начале экзона 15 и точечные замены в кодоне 597 за исключением p.L597R), судя по имеющимся ограниченному данным, могут быть потенциально чувствительны к монотерапии ингибиторами MEK, сорафенибом/регорфенибом или к комбинации ингибиторов MEK с мультикиназами ингибиторами; при этом применение вемурафениба и его аналогов при опухолях с такими мутациями чревато парадоксальным ускорением роста опухоли. Ввиду редкой встречаемости, высокого разнообразия и потенциальной лекарственной чувствительности данных мутаций представляется целесообразным внедрение в практику крупных онкологических центров рутинного тестирования меланом без мутаций в горячих точках генов *BRAF* и *NRAS* на редкие мутации в гене *BRAF*, а также организация многоцентровых исследований по таргетной терапии пациентов с этими мутациями и оперативное сообщение результатов, в т. ч. в формате презентации отдельных клинических случаев.

МУТАЦИИ В ГЕНЕ NRAS

Мутации в гене *NRAS* наблюдаются у 20–30% больных меланомой и, как правило, являются взаимоисключающими с мутацией в *BRAF* [3]. Мутации в гене *NRAS* чаще всего обнаруживаются в кодоне 61 и реже – в других горячих точках: в кодонах 12, 13, 59, 117 и 146. Меланома с мутацией в гене *NRAS* чаще обнаруживается в коже с хроническим солнечным повреждением [3]. Прогностическая роль мутации в гене *NRAS* в отношении выживаемости окончательно не продемонстрирована [17, 18]. Специфические ингибиторы белка NRAS в настоящее время не разработаны, что связано с фундаментальными сложностями в разработке такого рода ингибиторов. Из других подходов к таргетной терапии данной группы опухолей следует отметить попытку ингибирования MEK у пациентов с *RAS*-мутированной меланомой в рамках исследования NEMO. Ингибитор MEK (биниметиниб) улучшил ВБП по сравнению с химиотерапией, однако всего на несколько недель [19]. Подгрупповой анализ исследования NEMO также указывает на возможную роль ингибиторов MEK в увеличении чувствительности *NRAS*-мутированной меланомы к иммунотерапии. На этом основании ингибиторы MEK могут быть рекомендованы пациентам с *NRAS*-мутированной меланомой, которые не отвечают на иммунотерапию aPD1 или aPD1 + aCTLA4. У отдельных пациентов с *RAS*-мутированными эпителиальными опухолями показала определенную эффективность комбинация ингибиторов MEK с препаратами хлорохинового ряда, являющимися мощными блокаторами аутофагии. В настоящее время эта комбинация активно исследуется при аденокарциноме поджелудочной железы и колоректальном раке [20–22]; возможно, она заслуживает внимания и при меланоме с мутацией в гене *NRAS* при исчерпании стандартных терапевтических опций [12, 23].

МУТАЦИИ В ГЕНЕ KIT

Мутации в гене *KIT* редко встречаются в меланоме, возникающей на коже после острого солнечного повреждения (3–5%), но намного чаще (28–39%) их можно обнаружить при меланоме, возникающей на коже с хроническим солнечным повреждением, акральная и лентигозная меланомы и меланомы слизистых оболочек [3]. В отличие от генов *BRAF* и *NRAS*, ген *KIT* не имеет ярко выраженных горячих точек: активирующие мутации в нем широко разбросаны по более чем сотне позиций в экзонах 8, 9, 11, 13, 14, 17 и 18. Прогностическая и предиктивная роли каждой конкретной мутации в гене *KIT* достаточно индивидуальны и для многих мутаций остаются до конца не выясненными. В настоящее время в мире зарегистрировано 9 таргетных препаратов, способных высокоэффективно ингибировать белок KIT с теми или иными мутациями: иматиниб, сунитиниб, дасатиниб, нилотиниб, сорафениб, регорфениб, авапритиниб, рипретиниб и мидостаурин. Чувствительность *KIT*-мутированной опухоли к каждому из них зависит от конкретной мутации. Относительная редкость *KIT*-мутированных меланом

не позволяет провести большие рандомизированные исследования различных ингибиторов KIT. Завершенные клинические исследования, не использовавшие индивидуализированный подход к выбору таргетного препарата в зависимости от обнаруженной мутации, продемонстрировали достаточно скромные результаты. Так, по данным F.S. Hodi et al., частота ответов KIT-мутированной меланомы на иматиниб составила 29% (21%, исключая неподтвержденные ответы) [24]. В исследовании с нилотинибом, другим ингибитором KIT, частота объективного ответа (ЧОО) составила 26,2% (ни одного полного ответа не было зарегистрировано) и общую выживаемость 18 мес. [25]. Дасатиниб и сунитиниб также ограничено изучены для меланомы с мутацией в гене *KIT* с весьма неоднозначными результатами [26, 27]. В неселектированных когортах пациентов с KIT-мутированными меланомами наилучшие результаты таргетной терапии отмечены у пациентов с мутациями в экзонах 11 и 13; вместе с тем описаны случаи полных ответов меланом с мутацией в других экзонах гена *KIT* на таргетную терапию.

Таким образом, в настоящее время таргетные препараты – ингибиторы KIT могут быть рекомендованы пациентам с KIT-мутированной меланомой, которые не отвечают на иммунотерапию aPD1 или aPD1 + aCTLA4. При возможности следует отдавать предпочтение индивидуализированному выбору таргетного препарата в зависимости от характера мутации. Ввиду относительной редкости мутаций в гене *KIT* при меланоме и их высокого разнообразия особую ценность имеют организация совместных исследований, а также документирование и публикация каждого клинического случая.

Следует также иметь в виду, что предикторами потенциальной эффективности KIT-ингибиторов являются только точечные мутации в гене *KIT*. Амплификация данного гена встречается при меланоме существенно чаще, но она не имеет ни предиктивного, ни прогностического значений. Еще чаще – практически в 100% меланом может быть обнаружена экспрессия белка KIT (CD117), но ее выявление может быть ограничено полезно разве что при дифференциальной диагностике сложных случаев беспиgmentных меланомоподобных новообразований.

ДРУГИЕ МУТАЦИИ – КАНДИДАТЫ ДЛЯ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ

Повышение доступности технологий секвенирования следующего поколения, безусловно, позволяет врачам-онкологам получать все больше информации о генетических абберациях в опухоли конкретного пациента. Без сомнения, обнаружение драйверной мутации в генах *BRAF* или *NRAS* на текущий момент позволяет остановить поиск и переходить к эффективному лечению. Однако проблема первичной резистентности к таргетной терапии (до 10% больных с мутацией в гене *BRAF* не отвечают на комбинированную таргетную терапию), приобретенной резистентности и, самое важное, 20–30% случаев, не имеющих активирующих мутаций в *BRAF* или *NRAS*, однозначно, могут стать поводом выполнить широкое

молекулярное тестирование (например, широкое таргетное секвенирование одним из множества доступных сегодня коммерческих тестов).

Третьей по частоте мутацией, которую также можно обнаружить как у пациентов с мутациями в генах *BRAF* или *NRAS*, так и без них, является инактивирующая мутация в гене *NF1*, который кодирует нейрофибромин – белок, негативно регулирующий путь MAPK [3]. В настоящее время идет набор в небольшое неконтролируемое клиническое исследование у пациентов с рефрактерной к стандартному лечению меланомой и инактивирующей мутацией в гене *NF1* (NCT02465060), в котором изучают активность траметиниба, а на мышиных моделях комбинация MEK и ингибиторов PI3K или mTOR показала многообещающую активность [28].

В большинстве случаев в клетках меланомы обнаруживается инактивация гена *CDKN2A*, зачастую в комбинации с активацией генов *CCND1* или *CDK4/CDK6* [29]. Инактивирующие герминальные мутации в гене *CDKN2A* или активирующие мутации в гене *CDK4* обнаруживаются примерно у 20% пациентов с синдромом семейной меланомы и атипических невусов [29]. Наличие в опухоли двух и более мутаций в генах данной группы может быть ассоциировано с устойчивостью к комбинации mBRAFi + MEKi. Доклинические исследования и отдельные клинические наблюдения показывают, что ингибиторы CDK4/6 могут преодолевать устойчивость меланомы к таргетной терапии [30–32].

В увеальной меланоме в почти в 95% случаях можно обнаружить активирующую драйверную мутацию в горячих точках одного из четырех генов – *GNAQ*, *GNA11*, *PLCB4* и *CYSLTR2*. Эти гены являются частями одного и того же сигнального пути, включение любого из них вызывает одновременную активацию каскадов MAPK, AKT, PKC и YAP/TAZ [33, 34]. В настоящее время ситуация с разработкой таргетной терапии для данных мутаций отчасти напоминает ситуацию с мутациями в генах *RAS*. Исследования, направленные на поиск специфического ингибитора или других способов блокирования избыточного сигналинга от *GNAQ/GNA11*, идут весьма неактивно, однако не столько из-за фундаментальных сложностей, сколько ввиду относительной редкости этой молекулярной патологии. Специфические ингибиторы мутантных белков *GNAQ* и *GNA11* из группы депептидов, известные более 10 лет, так и не перешли на стадию клинических испытаний. Ингибиторы белка *CYSLTR2*, широко используемые для лечения бронхиальной астмы, с большой вероятностью не будут эффективны против его мутантной формы. В настоящее время основное внимание уделяется попыткам заблокировать эффекторные каскады, но значительных результатов пока достигнуть не удалось. Так, лечение ингибитором MEK селуметинибом по сравнению с монокимиотерапией дакарбазином показало существенную прибавку в ВБП, но не в общей выживаемости [35, 36]. В настоящее время активно исследуются различные комбинации ингибиторов MEK с ингибиторами PKC, AKT/mTOR и YAP/TAZ (NCT01430416, NCT01801358, NCT01430416,

NCT01801358), большинство из которых обладает как существенной потенциальной эффективностью, так и высокими рисками серьезной токсичности.

Появление генетических aberrаций в процессе лечения также может быть одним из механизмов возникновения резистентности к проводимой терапии. Так, примерно у 50% больных, которые получают комбинированную таргетную терапию mBRAFi + MEKi, резистентность возникает из-за дополнительных мутаций в сигнальном пути MAPK. Среди них следует упомянуть активирующие мутации в генах *RAS* и *MAP2K1/MAP2K2 (MEK1/MEK2)*, амплификацию генов *BRAF* и *MAP3K8 (COT)* и активацию генов рецепторных тирозинкиназ [37]. Другой механизм ускользания – это альтернативный сплайсинг гена *BRAF*, который делает невозможным связывание mBRAFi [38]. Иными механизмами возникновения резистентности могут быть амплификации генов *MET* и *MITF* [39]. Активация альтернативного сигнального пути (путей) – еще один возможный механизм резистентности к проводимой терапии. Активация пути PI3K-AKT за счет потери гена *PTEN* и многих других молекулярных нарушений предотвращает апоптоз клеток меланомы и стимулирует рост клеток, что приводит к устойчивости к ингибитору BRAF [40]. Клинические исследования по комбинированию BRAFi/MEKi и PI3K сталкиваются с трудностями в связи с дозозамещающей токсичностью (NCT01512251, NCT02159066), хотя доклинические исследования выглядят многообещающе [41].

ЭКСПРЕССИЯ PD-L1

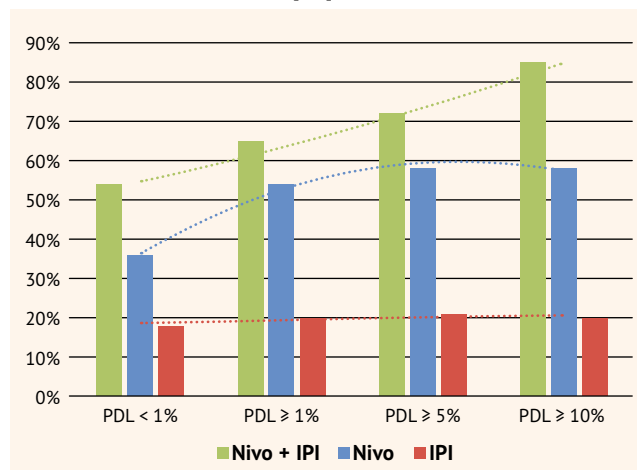
Экспрессия PD-L1 на опухолевых клетках, оцениваемая с помощью иммуногистохимического окрашивания, широко изучалась как предиктор клинического ответа на терапию анти-PD-1/PD-L1 и лучшей выживаемости. В нескольких крупных исследованиях была выявлена положительная связь между экспрессией PD-L1 и ответом на терапию aPD1+/aCTLA4 [33, 34, 42–45], в то время как в других не выявлено какой-либо значимой связи [45, 46]. Эти противоречивые результаты могут быть частично связаны с отсутствием четкого определения порога положительности PD-L1. Кроме того, разные специфические антитела к PD-L1 имеют разные дополнительные диагностические тесты, которые также имеют разные пороги положительности: так, в исследованиях с пембролизумабом положительность тканей в отношении PD-L1 определялась с использованием антитела 22C3 с порогом положительности $\geq 1\%$ опухолевых клеток, а для ниволумаба использовали антитело 28-8 с порогом положительности $\geq 5\%$ опухолевых клеток. Такой разброс нашел отражение и в результатах клинических исследований: в KEYNOTE-006, например, экспрессия PD-L1 была обнаружена в 80,5% образцов [43], тогда как в Checkmate-067 – только в 23,6% случаев, и даже при использовании порога определения $> 1\%$ в случае Checkmate-067 число позитивных образцов составляет 51,8% [13]. Очевидно, что положительная экспрессия PD-L1 связана с клинической пользой при применении ингибиторов контрольных точек иммунитета (ИКТИ), но клинические ответы также могут наблюдаться

и у пациентов с опухолями, в которых не выявляется экспрессии PD-L1. Таким образом, этот тест не может быть использован в текущем виде для отбора пациентов, которым не показана терапия aPD1 (рис. 2, 3) [13].

Интересно, что в клиническом исследовании комбинации ниволумаба и ипилимумаба для пациентов с любой положительной экспрессией PD-L1 (более 1%, более 5%) частота ответов на лечение и ВБП были сопоставимы между группами иммунологической комбинации и монотерапии aPD1, но в группах холодных опухолей (без экспрессии PD-L1) или, напротив, с очень высокой экспрессией PD-L1 (более 10%) комбинированная иммунотерапия имела явные численные преимущества. Статистическая значимость была достигнута, естественно, только в более многочисленной группе холодных опухолей. Конечно, наблюдаемые расхождения подчеркивают, что к определению экспрессии PD-L1 следует относиться более строго: необходимо учитывать потенциальную вариабельность экспрессии между первичным и метаста-

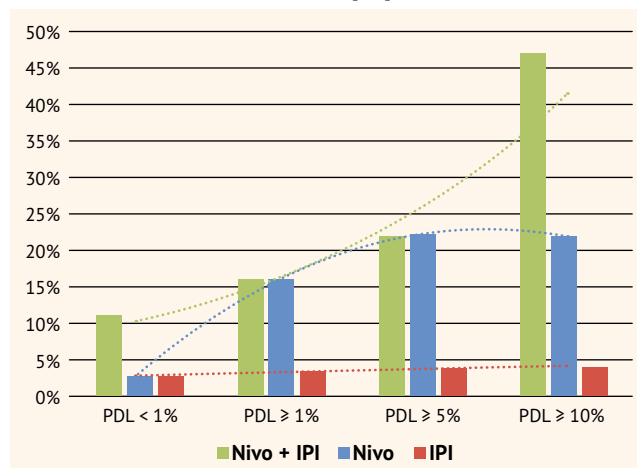
● **Рисунок 2.** Частота ответов на лечение в зависимости от экспрессии PD-L1 в опухоли, % [13]

● **Figure 2.** Frequency of response to treatment depending on tumor PD-L1 expression, % [13]



● **Рисунок 3.** Медиана выживаемости без прогрессирования в зависимости от экспрессии PD-L1 в опухоли, мес. [13]

● **Figure 3.** Median progression-free survival depending on tumor PD-L1 expression, months [13]



тическими очагами [47], а также изменение экспрессии с течением времени. Тем не менее полученные данные подталкивают нас к использованию этого биомаркера для выбора варианта иммунотерапии: экстремально низкая (менее 1%) или высокая (более 10%) экспрессии PD-L1 в опухоли, вероятно, могут стать аргументом к назначению более токсичного комбинированного лечения аCTLA4 + aPD1/aPDL1.

В новых исследованиях с применением тройных комбинаций (BRAFi + MEKi + aPDL1/aPD1) также было показано, что aPD1/aPDL1 достоверно улучшают ВБП по сравнению только с BRAFi + MEKi именно в популяции пациентов с экспрессией PD-L1 > 1% (рис. 4) [48]. Так, например, в исследовании TRIOLOGY у пациентов с экспрессией PD-L1 > 1% медиана ВБП в группе вемурафениба и кобиметиниба составила 11,4 мес. (158 пациентов), а в группе вемурафениба, кобиметиниба и атезолизумаба – 14,8 мес. (160 пациентов), отношение рисков составило 0,80 (95% ДИ: 0,60–1,06) [48]. Очень схожая картина была получена и в другом исследовании III фазы – COMBI-I: у пациентов с уровнем экспрессии белка PD-L1 > 1% отношение рисков составило 0,76 (95% ДИ: 0,54–1,07) в пользу тройной терапии (дабрафениб + траметиниб + спартализумаб против комбинированной таргетной терапии) [49]. Несмотря на отсутствие достоверности в выявленных различиях в популяции без учета уровня ЛДГ, полученные результаты представляются весьма интересными. Более того, такие второстепенные показатели, как длительность ответа на лечение или даже ВБП, в группе с нормальным уровнем ЛДГ оказались достоверно лучше на тройной терапии только у пациентов с уровнем экспрессии белка PD-L1 > 1% (22,7 против 12,9, ОР 0,67). При подтверждении

неслучайности этих данных соответствующий биомаркер можно было бы использовать для селекции кандидатов на тройную терапию, что было бы в высшей степени разумно с учетом ее потенциальной токсичности и высокой стоимости этой схемы лечения.

С учетом все большего числа возможных опций лечения больных метастатической меланомой в первой линии терапии (aPD1 + аCTLA4 или aPD1 или BRAFi + MEKi или aPD1/aPDL1 + BRAFi + MEKi) мы полагаем использование такого маркера, как уровень экспрессии PD-L1, весьма полезным. Вместе с тем рутинное использование этого биомаркера существенно затрудняется наличием различных тест-систем с разным порогом позитивности. Потенциальным решением проблемы могло бы стать внедрение в практику ПЦР-тестов, оценивающих уровень экспрессии мРНК гена *PD-L1* (*CD274*), однако такие тесты не дадут нам возможности оценить локализацию позитивных опухолевых и иммунных клеток, которая также может иметь высокие прогностическую и предиктивную ценности (см. следующий раздел).

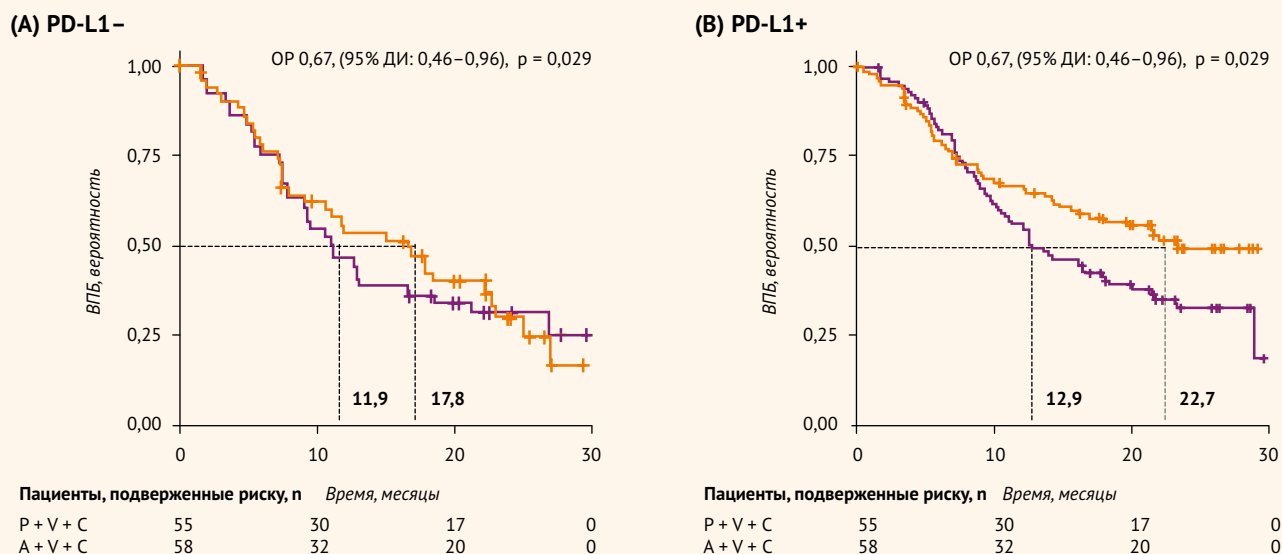
Отдельного исследования заслуживает оценка уровня экспрессии второго лиганда PD-1 – PD-L2 (*PDCD1LG2*), поскольку в результате мы теоретически смогли бы идентифицировать субпопуляцию пациентов, потенциально чувствительных к aPD1, но не к aPDL1.

ОПУХОЛЬ-ИНФИЛЬТРИРУЮЩИЕ ЛИМФОЦИТЫ

Совершенно очевидно, что взаимодействие опухоли и организма-хозяина, его иммунной системы подчинено эволюционному процессу, как и любое другое взаимодействие сложных биологических систем. Это взаимодействие не может быть ограничено только лишь активацией

● **Рисунок 4.** Преимущество в отношении выживаемости без прогрессирования при назначении тройной комбинации aPD1 + BRAFi + MEKi (атезолизумаб + вемурафениб + кобиметиниб) у пациентов с положительной экспрессией PD-L1 и нормальным уровнем лактатдегидрогеназы [48]

● **Figure 4.** Progression-free survival advantage of the triple combination aPD1 + BRAFi + MEKi (atezolizumab + vemurafenib + cobimetinib) in patients with positive PD-L1 expression and normal lactate dehydrogenase levels [48]



одного из механизмов PD-1/PD-L1, который к настоящему моменту находится в самом центре внимания ученых различных областей знаний.

Для меланомы (как впрочем, и для многих других опухолей, например, рака молочной железы или колоректального рака [50]) было многократно показано, что инфильтрация иммунными клетками опухоли (как первичной опухоли, так и метастатических узлов) может иметь прогностическое значение [51].

В целом инфильтрация опухоли иммунными клетками может быть классифицирована на три модели: с иммунным воспалением, иммунным фронтом и иммунной пустыней [52]. При воспалительном, или горячем, профиле опухоль диффузно инфильтрирована иммунными клетками, наблюдается высокая экспрессия PD-1 и PD-L1 как на опухолевых, так и на иммунных клетках – борьба иммунных клеток и опухоли в разгаре. Такой тип инфильтрации лучше всего связан с ответом на терапию ИКТИ [53, 54]. При наличии иммунного фронта опухоль практически не инфильтрирована лимфоцитами, которые остаются среди стромального компонента и не могут добраться до своих мишеней. Имеются сведения, что активация в опухоли сигнальных путей WNT и TGFβ может способствовать возникновению резистентности к иммунотерапии [55, 56]. Блокирование этих путей в моделях позволяет восстановить чувствительность к aPD1. Иммунная пустыня – фенотип опухолей, в которых практически не обнаруживается лимфоидных элементов. Такие опухоли (холодные) практически не отвечают на проводимую терапию aPD1 [52, 53].

Но, помимо общего количества и пространственной локализации иммунных клеток, инфильтрирующих опухоль, все большее значение придают их субпопуляциям: иначе говоря, становится важным, какие именно лимфоциты инфильтрируют опухоль [57]. В двух исследованиях была выявлена связь между присутствием именно эффекторных Т-клеток, оцениваемых по уровням перфорина и гранзима В, и наблюдаемым ответом на лечение aPD1 [58, 59]. У пациентов с меланомой PD-1 экспрессируется гетерогенными популяциями Т-клеток. Использование дополнительных маркеров, связанных с Т-клетками, таких как CTLA-1, LAG-3, TIGIT, может привести к различению популяций активных и уже истощенных Т-клеток [60].

Также можно отметить роль так называемой интерфероновой сигнатуры. Т-клеточный опосредованный уровень IFN-γ коррелирует с ответом на иммунотерапию. Пациенты с экспрессией генов, индуцируемых γ-интерфероном, выше медианных значений имели лучшую ВБП на комбинации атезолизумаба + вемурафениба + кобиметиниба [61] или на комбинации дабрафениба и траметиниба [62] или при монотерапии ипилимумабом или ниволумабом [63]. Эти данные позволяют предположить, что интерфероновая сигнатура при меланоме является скорее прогностическим, нежели предиктивным биомаркером.

СОСТАВ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

На протяжении многих лет состав клеток периферической крови изучался в качестве предиктивного или про-

гностического биомаркера [64, 65]. Так, по данным B. Weide et al., лучшие показатели ОБ и ВБП у пациентов с метастатической меланомой, получавших ипилимумаб, наблюдались при исходно высоком абсолютном числе эозинофилов, высоком относительном содержании лимфоцитов (RLC), высоком абсолютном числе моноцитов и высоким (!) относительном содержании иммуносупрессивных клеток, таких как регуляторные Т-лимфоциты (CD4+CD25+FOXP3+) и миелоидные супрессоры [66]. Во втором исследовании клиническая польза у пациентов, получавших пембролизумаб, была связана с низким уровнем ЛДГ и высоким относительным количеством лимфоцитов и эозинофилов [67]. Однако эти закономерности не всегда хорошо воспроизводятся в других исследованиях [68, 69].

Мало внимания уделялось роли врожденного иммунитета в контексте предиктивных маркеров современной противоопухолевой терапии. В самом деле, PD-1 экспрессируется на естественных киллерах и дендритных клетках, что может иметь значение для опухолей с потерей экспрессии HLA [70], в которых элиминация опухоли зависит от NK-клеток и может произойти на фоне применения aPD1 [69].

Тем не менее сегодня маркеры периферической крови могут мало дополнить другие, более надежные маркеры, предсказывающие эффект терапии или прогноз течения заболевания.

РАСТВОРИМЫЕ ФАКТОРЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Кроме хорошо известного прогностического фактора – активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) – было проведено много исследований других факторов, таких как опухолевые маркеры (S100B, HMB45), цитокины и хемокины, а также, например, уровень растворимого PD-L1 (sPD-L1). Так, по данным S. Hodi, уровни sPD-L1 перед лечением были повышены в сыворотке пациентов с меланомой IV стадии по сравнению со здоровыми донорами. Высокие уровни sPD-L1 перед лечением были связаны с повышенной вероятностью прогрессирования заболевания у пациентов, получавших aCTLA-4 или aPD1. Изменения уровня sPD-L1 сразу после начала лечения не позволяли отличить пациентов, которые ответят на лечение в будущем, от тех, у кого оно будет неэффективным. Однако эти различия становились намного более отчетливыми спустя 5 мес. терапии: пациенты с повышенным уровнем sPD-L1 имели большую вероятность развития частичного ответа [71]. Практическая ценность данного класса биомаркеров в настоящее время остается предметом интенсивных научных исследований.

МУТАЦИОННАЯ НАГРУЗКА ОПУХОЛИ

Опухоли с высокой частотой несинонимичных соматических мутаций (Tumor Mutational Burden – TMB), такие как меланома и рак легкого, генерируют повышенное количество неоантигенов, т. е. новых белков, способных вследствие своей новизны стать мишенями для активной

атаки со стороны иммунной системы [72]. В связи с этим уровень ТМВ считается высокоинформативным предиктором эффективности иммунотерапии.

Тем не менее результаты опубликованных клинических исследований показывают, что по крайней мере при меланоме высокая мутационная нагрузка связана с лучшей выживаемостью вне зависимости от типа проводимого лечения: так, у пациентов, которые получали комбинированную таргетную терапию в исследовании COMBI-d, в случае высокой мутационной нагрузки и нормального уровня ЛДГ трехлетняя ОВ составила 82% в сравнении с 30% у пациентов с повышенным ЛДГ и низкой мутационной нагрузкой [62]. Аналогичные данные были получены и при применении иммунотерапии: в адъювантном исследовании CheckMate-238, в котором применяли ипилиумаб и ниволумаб, в обеих группах лечения у пациентов с мутационной нагрузкой, превышающей медианное значение, определялся самый высокий клинический эффект [63]. Интересно, что в исследовании с тройными комбинациями aPD1 + BRAFi + MEKi именно у пациентов с высокой мутационной нагрузкой (более 10 мутаций на мегабазу) также отмечена тенденция к преимуществу от применения aPD1 в сравнении с BRAFi + MEKi (медиана ВБП 16,6 мес. против 10,9 мес., ОР 0,73, 95% ДИ: 0,52–1,02) [61].

Тест на уровень мутационной нагрузки в современной научной литературе оценивается как крайне перспективный предиктивный биомаркер. Однако для его использования в рутинной клинической практике необходимо ответить на множество вопросов. Так, не вполне ясно, какой уровень мутационной нагрузки следует считать высоким (где порог отсека): с большой вероятностью осмысленное пороговое значение маркера ТМВ будет различным для разных злокачественных опухолей, в т. ч. для меланом с разным уровнем экспозиции к ультрафиолету. Также нет однозначных данных о том, какое количество генетического материала необходимо просеквенировать для достоверной оценки уровня мутационной нагрузки. Отдельную проблему составляют субклональные мутации, которые при стандартном анализе увеличивают числовое значение ТМВ, но на деле являются скорее негативными предикторами эффективности иммунотерапии. Кроме того, анализ ТМВ – довольно ресурсозатратный тест, для которого все еще нет консенсуса по оценке и интерпретации результатов [73].

МИКРОБИОМ

Рост интереса к влиянию состава кишечной флоры (микробиома) на прогноз течения злокачественных опухолей может даже опережать таковой в смежных дисциплинах – в кардиологии и внутренних болезнях [74]. Накопленные данные указывают на важный вклад микробиома на разные процессы заболевания, включая канцерогенез [75], в связи с созданием про- или противоопухолевой воспалительной среды. Например, при колоректальном раке увеличивается доля *Fusobacterium nucleatum* в опухоли по сравнению с нормальными тканями.

В моделях на животных специфические изменения микробиоты кишечника приводили к развитию спонтанного противоопухолевого иммунного ответа и модулировали эффективность терапии aCTLA-4 и aPD1.

В исследованиях с участием пациентов с меланомой было показано, что значимые различия наблюдались в разнообразии и составе кишечного микробиома пациентов, ответивших и не ответивших на терапию. Анализ образцов фекального микробиома пациентов показал значительно более высокое альфа-разнообразие и относительную многочисленность бактерий семейства *Ruminococcaceae* (в обоих случаях $p < 0,01$) у пациентов с ответом на лечение [76]. Метагеномные исследования выявили функциональные различия кишечных бактерий у пациентов, ответивших на лечение, включая обогащение анаболических путей. Иммунное профилирование позволило предположить усиление системного и противоопухолевого иммунитета у пациентов с благоприятным составом кишечного микробиома, а также у стерильных мышей, получавших фекальные трансплантаты от пациентов, ответивших на лечение.

Такие данные позволили провести исследование, целью которого было модифицировать неблагоприятный состав микробиома на благоприятный. У 10 пациентов, резистентных к терапии aPD1, была выполнена трансплантация фекальной микробиоты от лиц, ответивших на лечение, после чего возобновлена терапия aPD1. У 3 пациентов был зарегистрирован ответ на лечение (2 частичных и 1 полный) [77].

Наконец, состав микробиоты кишечника также может быть связан с побочными эффектами: было показано, что присутствие видов из типа *Bacteroidetes* связано со снижением риска иммуноопосредованного колита [78].

Изучение кишечного микробиома в контексте прогностического или предиктивного биомаркера или даже компонента лечения к настоящему моменту все еще остается в плоскости научных исследований, но, безусловно, этот биомаркер может в ближайшей перспективе занять очень важное место в выборе тактики лечения пациентов с диссеминированной меланомой.

ЦИРКУЛИРУЮЩАЯ ОПУХОЛЕВАЯ ДНК

Циркулирующая опухолевая ДНК (цоДНК) – фрагменты ДНК опухолевых клеток, попадающие в циркуляцию вследствие апоптоза, некроза или активного выброса [79, 80]. В настоящее время бесспорно доказано, что мутации опухолевого происхождения у онкологических больных могут быть обнаружены в циркулирующей ДНК, выделенной из плазмы и сыворотки крови, а также из других биологических жидкостей (мочи, слюны, мокроты, желчи и пр.) и даже из выдыхаемого воздуха [81]. Исследование цоДНК позволяет дать оценку активности опухолевого процесса, а также с определенной степенью точности оценить молекулярный профиль опухоли и ее клональную архитектуру.

ДНК из опухоли попадает в циркуляцию наряду с ДНК из всех органов и тканей человека, поэтому даже при доста-

точно большом объеме метастатического поражения доля молекул опухолевого происхождения в циркулирующей ДНК редко превышает 1%. Вследствие этого для достоверного анализа цоДНК необходимо использовать достаточно сложные высокочувствительные лабораторные методики (избирательность от 1 : 1 000 до 1 : 100 000 и выше), а отрицательный результат теста на цоДНК всегда менее информативен, чем положительный.

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что уровень цоДНК при меланоме, так же как и при большинстве других злокачественных новообразований, является важным прогностическим биомаркером: более высокие исходные уровни цоДНК были статистически значимо связаны с большей опухолевой нагрузкой и меньшей выживаемостью без прогрессирования [82–84]. Было показано, что уровень цоДНК до операции может быть связан с ВБП у пациентов с меланомой III стадии высокого риска независимо от подстадии [85]. Интересно, что цоДНК в плазме крови, полученной после операции (в среднем через 2 нед.), выявлялась только у 12–36% пациентов с меланомой высокого риска [86, 87], но именно у этих пациентов и отмечались наихудшие результаты: медиана ВБП составила 4 мес. (95% ДИ: 0,1–10,0) у пациентов с детектируемой цоДНК по сравнению с 4,2 годами (95% ДИ 2,5 – не достигнуто) у пациентов, у которых цоДНК не была обнаружена. Чувствительность для прогнозирования рецидива составила 18–55%, специфичность – 95%, при этом прогностическая ценность положительного результата составила 79%, а отрицательного – 51% [86, 87]. У большинства пациентов с обнаруживаемой цоДНК рецидивы возникали в течение первого года после операции, что позво-

ляет предположить, что цоДНК в плазме может выявлять минимальную резидуальную болезнь, которая не доступна радиологической визуализации [86, 87].

Тест на присутствие цоДНК может играть крайне важную роль у пациентов после радикального хирургического лечения, поскольку положительный результат такого теста говорит о наличии остаточной болезни и теоретически способен выделить субпопуляцию пациентов, в наибольшей степени нуждающихся в проведении адъювантной терапии [88].

При метастатической болезни обнаружение цоДНК и ее количество также имеют прогностическое значение. В исследовании BREAK-2 было показано, что высокий исходный уровень цоДНК коррелирует с более низкой общей частотой ответа и более низкой выживаемостью без прогрессирования при применении таргетной терапии дабрафенибом [89]. Аналогичные результаты наблюдались и при иммунотерапии аCTLA4 [90] и aPD1 [91]. Более того, повышение уровня цоДНК может предшествовать радиологическому прогрессированию. К сожалению, по имеющимся данным цоДНК не позволяет предсказывать или мониторировать метастатическое поражение ЦНС [92].

Наконец, цоДНК можно потенциально использовать для мониторинга клональной эволюции опухоли на фоне таргетной терапии. При обнаружении потенциально резистентного опухолевого клона может быть полезным скорейшее подключение иммунотерапии – возможно, на фоне продолжения таргетных препаратов. Практическая эффективность такого подхода заслуживает проверки в проспективных рандомизированных исследованиях.

● **Таблица 1.** Некоторые биомаркеры при меланоме кожи и способы их оценки

● **Table 1.** Certain skin melanoma biomarkers and how to assess them

Биомаркер	Связь с лучшим клиническим исходом	Подтверждение в клиническом исследовании III фазы	Предиктивный/прогностический	Тип ткани для оценки биомаркера	Возможный способ оценки биомаркера
Мутационная нагрузка опухоли	Позитивная	Да	Предиктивный	Кровь или ткань опухоли	NGS WES или таргетные панели секвенирования генов
Экспрессия PD-L1	Позитивная	Да	Предиктивный	Ткань опухоли	IHC
Воспалительное микроокружение Т-клеток	Позитивный	Нет	Прогностический, Предиктивный	Ткань опухоли	NGS RNA-seq или иммуноокрашивание
Разнообразие микробиоты кишечника	Позитивный	Нет	Предиктивный	Оральная или кишечная	ПЦП или NGS
Отдельные виды кишечной микробиоты	Позитивный или негативный	Нет	Предиктивный	Оральная или кишечная	ПЦП или NGS
Мутации в генах сигнального пути WNT	Негативный	Нет	Предиктивный	Ткань опухоли или кровь	NGS WES, таргетные панели секвенирования генов или RNA-seq
Мутации в гене <i>JAK2</i> (редко)	Негативный	Нет	Предиктивный	Ткань опухоли или кровь	NGS WES или таргетные панели секвенирования генов
Мутации в гене <i>B2M</i>	Негативный	Нет	Предиктивный	Ткань опухоли или кровь	NGS WES или таргетные панели секвенирования генов
Амплификация генов <i>MDM2/MDM4</i>	Негативный	Нет	Предиктивный	Ткань опухоли или кровь	NGS WES или таргетные панели секвенирования генов

● **Таблица 2.** Влияние некоторых маркеров на потенциальную эффективность доступной терапии (оценочно) при метастатической меланоме

● **Table 2.** Effect of some markers on the potential efficacy of available therapy (estimated) in metastatic melanoma

Фактор / маркер	Вероятность (оценочная) полезности схемы лекарственной терапии			
ECOG > 2	BRAFi + MEKi	aPD1	–	–
Суммарные размеры опухоли (сумма таргетных очагов) > 10 см	BRAFi + MEKi	BRAFi + MEKi + aPD1/aPD1	aCTLAa+aPD1	aPD1
ЛДГ > ВГН	BRAFi + MEKi или BRAFi + MEKi + aPD1/aPD1	aCTLAa + aPD1	aPD1	–
PD-L > 1%	aPD1 или BRAFi + MEKi + aPD1/aPD1	aCTLAa + aPD1	BRAFi + MEKi	–
Мутация <i>NRAS</i>	aCTLAa + aPD1 или aPD1	MEKi (+/-гидроксихлорохин)	–	–
Мутация <i>KIT</i>	aCTLAa + aPD1 или aPD1	KITi (подбор в зависимости от мутации)	–	–

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разнообразие лекарственных подходов к терапии меланомы и наличие двух эффективных вариантов адъювантной лекарственной терапии, безусловно, ставят перед врачами и пациентами вопросы о том, как выбрать наиболее правильную стратегию лечения, которая приведет к максимальному эффекту с минимальным вредом. К настоящему моменту изучено немало биомаркеров, которые наряду с клиническими прогностическими факторами теоретически способны помочь сделать правильный выбор в самых разных клинических ситуациях.

Тем не менее в настоящее время единственным рутинно используемым прогностическим биомаркером при метастатической меланоме остается уровень ЛДГ, а единственным бесспорно валидированным предиктивным биомаркером – мутация *BRAF* p.V600E/K. В остальных

случаях мы, к сожалению, по традиции ссылаемся на недостаток качественных данных, которые могли бы однозначно разрешить все спорные вопросы.

Тем не менее, на наш взгляд, уже накопленных знаний вполне достаточно, чтобы рекомендовать некоторые новые биомаркеры – в частности, редкие мутации в гене *BRAF*, мутации в гене *NRAS*, результаты широкого молекулярного тестирования при меланоме без мутаций *BRAF* и *NRAS* и при прогрессировании на фоне проводимого лечения, уровень экспрессии белка PD-L1, количество копий генов *MDM2/MDM4* и уровень циркулирующей опухолевой ДНК в крови – к принятию во внимание при выборе и коррекции тактики лекарственного лечения пациентов с метастатической меланомой (табл. 1 (по L. Pilla et al. с изменениями [93]) и табл. 2).

Поступила / Received 04.05.2021
Поступила после рецензирования / Revised 28.05.2021
Принята в печать / Accepted 07.06.2021

Список литературы

- Hodi F.S., O'Day S.J., McDermott D.F., Weber R.W., Sosman J.A., Haanen J.B. et al. Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. *N Engl J Med.* 2010;363(8):711–723. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1003466>.
- Tarhini A., Kudchadkar R.R. Predictive and On-Treatment Monitoring Biomarkers in Advanced Melanoma: Moving toward Personalized Medicine. *Cancer Treat Rev.* 2018;71:8–18. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.09.005>.
- Bastian B., de la Fouchardiere A., Elder D., Gerami P., Lazar A., Massi D. et al. Genomic Landscapes of Melanoma. In: Elder D., Massi D., Scolyer R., Willemze R. (eds). *World Health Organisation classification of skin tumours*. 4th ed. Lyon, France International Agency for Research on Cancer; 2018. pp. 72–75.
- Flaherty K.T., Lee S.J., Zhao F., Schuchter L.M., Flaherty L., Kefford R. et al. Phase III Trial of Carboplatin and Paclitaxel with or without Sorafenib in Metastatic Melanoma. *J Clin Oncol.* 2013;31(3):373–379. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.42.1529>.
- Hauschild A., Agarwala S.S., Trefzer U., Hogg D., Robert C., Hersey P. et al. Results of a Phase III, Randomized, Placebo-Controlled Study of Sorafenib in Combination with Carboplatin and Paclitaxel as Second-Line Treatment in Patients with Unresectable Stage III or Stage IV Melanoma. *J Clin Oncol.* 2009;27(17):2823–2830. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.15.7636>.
- Davies H., Bignell G.R., Cox C., Stephens P., Edkins S., Clegg S. et al. Mutations of the *BRAF* Gene in Human Cancer. *Nature.* 2002;417(6892):949–954. <https://doi.org/10.1038/nature00766>.
- Menzies A.M., Haydu L.E., Visintin L., Carlino M.S., Howle J.R., Thompson J.F. et al. Distinguishing Clinicopathologic Features of Patients with V600E and V600K *BRAF*-Mutant Metastatic Melanoma. *Clin Cancer Res.* 2012;18(12):3242–3249. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-0052>.
- Nazarian R., Shi H., Wang Q., Kong X., Koya R.C., Lee H. et al. Melanomas Acquire Resistance to B-RAF(V600E) Inhibition by RTK or N-RAS Upregulation. *Nature.* 2010;468(7326):973–977. <https://doi.org/10.1038/nature09626>.
- Ascierto P.A., McArthur G.A., Dréno B., Atkinson V., Liszkay G., Di Giacomo A.M. et al. Cobimetinib Combined with Vemurafenib in Advanced BRAF(V600)-Mutant Melanoma (coBRIM): Updated Efficacy Results from a Randomised, Double-Blind, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(9):1248–1260. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30122-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30122-X).
- Dummer R., Ascierto P.A., Gogas H.J., Arance A., Mandal M., Liszkay G. et al. Overall Survival in Patients with BRAF-Mutant Melanoma Receiving Encorafenib plus Binimetinib versus Vemurafenib or Encorafenib (COLUMBUS): A Multicentre, Open-Label, Randomised, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol.* 2018;19(10):1315–1327. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30497-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30497-2).
- Robert C., Grob J.J., Stroyakovskiy D., Karaszewska B., Hauschild A., Levchenko E. et al. Five-Year Outcomes with Dabrafenib plus Trametinib in Metastatic Melanoma. *N Engl J Med.* 2019;381(7):626–636. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1904059>.
- Nti A.A., Serrano L.W., Sandhu H.S., Uyhazi K.E., Edelstein I.D., Zhou E.J. et al. Frequent Subclinical Macular Changes in Combined BRAF/MEK Inhibition with High-Dose Hydroxychloroquine as Treatment for Advanced Metastatic

- BRAF Mutant Melanoma: Preliminary Results From a Phase I/II Clinical Treatment Trial. *Retina*. 2019;39(3):502–513. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000002027>.
13. Larkin J., Chiarion-Sileni V., Gonzalez R., Grob J.J., Rutkowski P., Lao C.D. et al. Five-Year Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2019;381(16):1535–1546. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910836>.
 14. Dankner M., Lajoie M., Moldoveanu D., Nguyen T.T., Savage P., Rajkumar S. et al. Dual MAPK Inhibition Is an Effective Therapeutic Strategy for a Subset of Class II BRAF Mutant Melanomas. *Clin Cancer Res*. 2018;24(24):6483–6494. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-3384>.
 15. Menzer C., Menzies A.M., Carlino M.S., Reijers I., Groen E.J., Eigentler T. et al. Targeted Therapy in Advanced Melanoma With Rare BRAF Mutations. *J Clin Oncol*. 2019;37(33):3142–3151. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.00489>.
 16. Moiseyenko F.V., Egorenkov V.V., Kramchaninov M.M., Artemieva E.V., Aleksakhina S.N., Holmatov M.M. et al. Lack of Response to Vemurafenib in Melanoma Carrying BRAF K601E Mutation. *Case Rep Oncol*. 2019;12(2):339–343. <https://doi.org/10.1159/000500481>.
 17. Jakob J.A., Bassett R.L. Jr, Ng C.S., Curry J.L., Joseph R.W., Alvarado G.C. et al. NRAS Mutation Status Is an Independent Prognostic Factor in Metastatic Melanoma. *Cancer*. 2012;118(16):4014–4023. <https://doi.org/10.1002/cncr.26724>.
 18. Thomas N.E., Edmiston S.N., Alexander A., Groben P.A., Parrish E., Kricker A. et al. Association between NRAS and BRAF Mutational Status and Melanoma-Specific Survival among Patients with Higher-Risk Primary Melanoma. *JAMA Oncol*. 2015;1(3):359–368. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.0493>.
 19. Dummer R., Schadendorf D., Ascierto P.A., Arance A., Dutriaux C., Di Giacomo A.M. et al. Binimetinib versus Dacarbazine in Patients with Advanced NRAS-Mutant Melanoma (NEMO): A Multicentre, Open-Label, Randomised, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(4):435–445. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30180-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30180-8).
 20. Orlov S.V., Urtenova M.A., Sviridenko M.A., Nesterov D.V., Sokolova T.N., Iymanitov E.N. Rapid Improvement of the Performance Status and Reduction of the Tumor Size in KRAS-Mutated Colorectal Cancer Patient Receiving Binimetinib, Hydroxychloroquine, and Bevacizumab. *Case Rep Oncol*. 2020;13(2):985–989. <https://doi.org/10.1159/000509241>.
 21. Xavier C.B., Marchetti K.R., Castria T.B., Jardim D.L.F., Fernandes G.S. Trametinib and Hydroxychloroquine (HCQ) Combination Treatment in KRAS-Mutated Advanced Pancreatic Adenocarcinoma: Detailed Description of Two Cases. *J Gastrointest Cancer*. 2021;52(1):374–380. <https://doi.org/10.1007/s12029-020-00556-z>.
 22. Zhao H., Zheng B. Dual Targeting of Autophagy and MEK in KRAS Mutant Cancer. *Trends Cancer*. 2019;5(6):327–329. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2019.04.003>.
 23. Kinsey C.G., Camolotto S.A., Boespflug A.M., Guillen K.P., Foth M., Truong A. et al. Protective Autophagy Elicited by RAF→MEK→ERK Inhibition Suggests a Treatment Strategy for RAS-Driven Cancers. *Nat Med*. 2019;25(4):620–627. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0367-9>.
 24. Hodi F.S., Corless C.L., Giobbie-Hurder A., Fletcher J.A., Zhu M., Marino-Enriquez A. et al. Imatinib for Melanomas Harboring Mutationally Activated or Amplified KIT Arising on Mucosal, Acral, and Chronically Sun-Damaged Skin. *J Clin Oncol*. 2013;31(26):3182–3190. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.477836>.
 25. Guo J., Carvajal R.D., Dummer R., Hauschild A., Daud A., Bastian B.C. et al. Efficacy and Safety of Nilotinib in Patients with KIT-Mutated Metastatic or Inoperable Melanoma: Final Results from the Global, Single-Arm, Phase II TEAM Trial. *Ann Oncol*. 2017;28(6):1380–1387. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx079>.
 26. Kluger H.M., Dudek A.Z., McCann C., Ritacco J., Southard N., Jilaveanu L.B. et al. A Phase 2 Trial of Dasatinib in Advanced Melanoma. *Cancer*. 2011;117(10):2202–2208. <https://doi.org/10.1002/cncr.25766>.
 27. Decoster L., Vande Broek I., Neyns B., Majois F., Baurain J.F., Rottey S. et al. Biomarker Analysis in a Phase II Study of Sunitinib in Patients with Advanced Melanoma. *Anticancer Res*. 2015;35(12):6893–6899. Available at: <http://ar.iar-journals.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=26637913>.
 28. Whittaker S.R., Theurillat J.P., Van Allen E., Wagle N., Hsiao J., Cowley G.S. et al. A Genome-Scale RNA Interference Screen Implicates NF1 Loss in Resistance to RAF Inhibition. *Cancer Discov*. 2013;3(3):350–362. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0470>.
 29. Bishop D.T., Demenais F., Goldstein A.M., Bergman W., Bishop J.N., Bressac-de Paillerets B. et al. Geographical Variation in the Penetrance of CDKN2A Mutations for Melanoma. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(12):894–903. <https://doi.org/10.1093/jnci/94.12.894>.
 30. Caccia A.R., Indsto J.O., McLaren K.M., Mann G.J., Arends M.J. CDKN2A Mutation and Deletion Status in Thin and Thick Primary Melanoma. *Clin Cancer Res*. 2000;6(9):3511–3515. <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/6/9/3511.long>.
 31. Guo L., Qi J., Wang H., Jiang X., Liu Y. Getting under the Skin: The role of CDK4/6 in melanomas. *Eur J Med Chem*. 2020;204:112531. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112531>.
 32. Schettini F., De Santo I., Rea C.G., De Placido P., Formisano L., Giuliano M. et al. CDK 4/6 Inhibitors as Single Agent in Advanced Solid Tumors. *Front Oncol*. 2018;8:608. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00608>.
 33. Robert C., Ribas A., Schachter J., Arance A., Grob J.J., Mortier L. et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma (KEYNOTE-006): Post-Hoc 5-Year Results from an Open-Label, Multicentre, Randomised, Controlled, Phase 3 Study. *Lancet Oncol*. 2019;20(9):1239–1251. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30388-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30388-2).
 34. Tjulandin S., Demidov L., Moiseyenko V., Protsenko S., Semiglazova T., Odintsova S. et al. Novel PD-1 Inhibitor Prolglimab: Expanding Non-Resectable/Metastatic Melanoma Therapy Choice. *Eur J Cancer*. 2021;149:222–232. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2021.02.030>.
 35. Carvajal R.D., Sosman J.A., Quevedo J.F., Milhem M.M., Joshua A.M., Kuchachkar R.R. et al. Effect of Selumetinib vs Chemotherapy on Progression-Free Survival in Uveal Melanoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2014;311(23):2397–2405. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.6096>.
 36. Carvajal R.D., Piperno-Neumann S., Kapiteijn E., Chapman P.B., Frank S., Joshua A.M. et al. Selumetinib in Combination with Dacarbazine in Patients with Metastatic Uveal Melanoma: A Phase III, Multicenter, Randomized Trial (SUMIT). *J Clin Oncol*. 2018;36(12):1232–1239. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.1090>.
 37. Johnson D.B., Menzies A.M., Zimmer L., Eroglu Z., Ye F., Zhao S. et al. Acquired BRAF Inhibitor Resistance: A Multicenter Meta-Analysis of the Spectrum and Frequencies, Clinical Behaviour, and Phenotypic Associations of Resistance Mechanisms. *Eur J Cancer*. 2015;51(18):2792–2799. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.08.022>.
 38. Poulikakos P.I., Persaud Y., Janakiraman M., Kong X., Ng C., Moriceau G. et al. RAF Inhibitor Resistance Is Mediated by Dimerization of Aberrantly Spliced BRAF(V600E). *Nature*. 2011;480(7377):387–390. <https://doi.org/10.1038/nature10662>.
 39. Garraway L.A., Widlund H.R., Rubin M.A., Getz G., Berger A.J., Ramaswamy S. et al. Integrative Genomic Analyses Identify MITF as a Lineage Survival Oncogene Amplified in Malignant Melanoma. *Nature*. 2005;436(7047):117–122. <https://doi.org/10.1038/nature03664>.
 40. Paraiso K.H., Xiang Y., Rebecca V.W., Abel E.V., Chen Y.A., Munko A.C. et al. PTEN Loss Confers BRAF Inhibitor Resistance to Melanoma Cells through the Suppression of BIM Expression. *Cancer Res*. 2011;71(7):2750–2760. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-2954>.
 41. Aasen S.N., Parajuli H., Hoang T., Feng Z., Stokke K., Wang J. et al. Effective Treatment of Metastatic Melanoma by Combining MAPK and PI3K Signaling Pathway Inhibitors. *Int J Mol Sci*. 2019;20(17):4235. <https://doi.org/10.3390/ijms20174235>.
 42. Robert C., Schachter J., Long G.V., Arance A., Grob J.J., Mortier L. et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2015;372(26):2521–2532. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1503093>.
 43. Topalian S.L., Hodi F.S., Brahmer J.R., Gettinger S.N., Smith D.C., McDermott D.F. et al. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *N Engl J Med*. 2012;366(26):2443–2454. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200690>.
 44. Hodi F.S., Chiarion-Sileni V., Gonzalez R., Grob J.J., Rutkowski P., Cowey C.L. et al. Nivolumab plus Ipilimumab or Nivolumab Alone versus Ipilimumab Alone in Advanced Melanoma (CheckMate 067): 4-Year Outcomes of a Multicentre, Randomised, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol*. 2018;19(11):1480–1492. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30700-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30700-9).
 45. Wongchenko M.J., Ribas A., Dréno B., Ascierto P.A., McArthur G.A., Gallo J.D. et al. Association of Programmed Death Ligand-1 (PD-L1) Expression with Treatment Outcomes in Patients with BRAF Mutation-Positive Melanoma Treated with Vemurafenib or Cobimetinib Combined with Vemurafenib. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2018;31(4):516–522. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12670>.
 46. Nishino M., Ramaiya N.H., Hatabu H., Hodi F.S. Monitoring Immune-Checkpoint Blockade: Response Evaluation and Biomarker Development. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017;14(11):655–668. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.88>.
 47. Madore J., Vilain R.E., Menzies A.M., Kakavand H., Wilmott J.S., Hyman J. et al. PD-L1 Expression in Melanoma Shows Marked Heterogeneity within and between Patients: Implications for Anti-PD-1/PD-L1 Clinical Trials. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2015;28(3):245–253. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12340>.
 48. Ascierto P.A., Robert C., Lewis K., Gutzmer R., Stroyakovskiy D., Gogas H.J. et al. 1102P Clinical Benefit in BRAFV600 Mutation-Positive Melanoma Defined by Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) and/or Lactate Dehydrogenase (LDH) Status: Exploratory Analyses from the IMspire150 Study. *Ann Oncol*. 2020;31(Suppl 4):S745. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.1225>.
 49. Nathan P., Dummer R., Long G.V., Ascierto P.A., Tawbi H.A., Robert C. et al. LBA43 Spaltizumab plus Dabrafenib and Trametinib (Sparta-DabTram) in Patients (pts) with Previously Untreated BRAF V600-Mutant Unresectable or Metastatic Melanoma: Results from the Randomized Part 3 of the Phase III COMBI-i Trial. *Ann Oncol*. 2020;31(Suppl 4):S1172. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.1273>.
 50. Naito Y., Saito K., Shiiba K., Ohuchi A., Saigenji K., Nagura H., Ohtani H. CD8+ T Cells Infiltrated within Cancer Cell Nests as a Prognostic Factor in Human Colorectal Cancer. *Cancer Res*. 1998;58(16):3491–3494. Available at: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/58/16/3491.long>.

51. Киселевский М.В., Власенко Р.Я., Заботина Т.Н., Кадагидзе З.Г. Прогностическая значимость опухоли-инфильтрирующих лимфоцитов. *Иммунология*. 2019;40(1):74–83. <https://doi.org/10.24411/0206-4952-2019-11009>.
52. Havel JJ., Chowell D., Chan T.A. The Evolving Landscape of Biomarkers for Checkpoint Inhibitor Immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2019;19(3):133–150. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0116-x>.
53. Herbst R.S., Soria J.C., Kowanzet M., Fine G.D., Hamid O., Gordon M.S. et al. Predictive Correlates of Response to the Anti-PD-L1 Antibody MPDL3280A in Cancer Patients. *Nature*. 2014;515(7528):563–567. <https://doi.org/10.1038/nature14011>.
54. Tumeh P.C., Harvieu C.L., Yearley J.H., Shintaku I.P., Taylor E.J., Robert L. et al. PD-1 Blockade Induces Responses by Inhibiting Adaptive Immune Resistance. *Nature*. 2014;515(7528):568–571. <https://doi.org/10.1038/nature13954>.
55. Mariathasan S., Turley S.J., Nickles D., Castiglioni A., Yuen K., Wang Y. et al. TGF β Attenuates Tumour Response to PD-L1 Blockade by Contributing to Exclusion of T Cells. *Nature*. 2018;554(7693):544–548. <https://doi.org/10.1038/nature25501>.
56. Spranger S., Bao R., Gajewski T.F. Melanoma-Intrinsic β -Catenin Signalling Prevents Anti-Tumour Immunity. *Nature*. 2015;523(7559):231–235. <https://doi.org/10.1038/nature14404>.
57. Samoylenko I., Korotkova O.V., Shakhay E., Zabolina T., Berdnikov S., Tabakov D. et al. Recurrence-Free Survival (RFS) and Objective Response Rate (ORR) Phase 1/2 Study of Intravesical (IL) Neoadjuvant (Neo) Anti-PD1 Agents (aPD1) for Stage IIIB-IV Melanoma (MEL). *J Clin Oncol*. 2019;37(15 Suppl):e14171. https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.e14171.
58. Riaz N., Havel JJ., Makarov V., Desrichard A., Urba W.J., Sims J.S. et al. Tumor and Microenvironment Evolution during Immunotherapy with Nivolumab. *Cell*. 2017;171(4):934.e16–949.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.028>.
59. Rooney M.S., Shukla S.A., Wu C.J., Getz G., Hacohen N. Molecular and Genetic Properties of Tumors Associated with Local Immune Cytolytic Activity. *Cell*. 2015;160(1–2):48–61. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.12.033>.
60. Daud A.I., Loo K., Pauli M.L., Sanchez-Rodriguez R., Sandoval P.M., Taravati K. et al. Tumor Immune Profiling Predicts Response to Anti-PD-1 Therapy in Human Melanoma. *J Clin Invest*. 2016;126(9):3447–3452. <https://doi.org/10.1172/JCI87324>.
61. Lewis K., Ascierto P., Robert C., Munhoz R., Liszkay G., Marino L.D.L.C. et al. 307 Atezolizumab plus Vemurafenib and Cobimetinib Provides Favorable Survival Outcomes in Patients with High Tumor Mutation Burden and Proinflammatory Gene Signature in the Phase 3 IMspire150 Study. *J Immunother Cancer*. 2020;8(Suppl 3):A188–A189. <https://doi.org/10.1136/jitc.2020-SITC2020.0307>.
62. Flaherty K., Davies M.A., Grob J.J., Long G.V., Nathan P.D., Ribas A. et al. Genomic Analysis and 3-y Efficacy and Safety Update of COMBI-d: A Phase 3 Study of Dabrafenib (D) + Trametinib (T) vs D Monotherapy in Patients (pts) with Unresectable or Metastatic BRAF V600E/K-Mutant Cutaneous Melanoma. *J Clin Oncol*. 2016;34(15 suppl):9502. https://doi.org/10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.9502.
63. Weber J.S., Del Vecchio M., Mandalà M., Gogas H., Arance A.M., Dalle S. et al. 1310O – Adjuvant Nivolumab (NIVO) versus Ipilimumab (IPI) in Resected Stage III/IV Melanoma: 3-year Efficacy and Biomarker Results from the Phase III CheckMate 238 Trial. *Ann Oncol*. 2019;30:v533–v534. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz255>.
64. Самойленко И.В., Заботина Т.Н., Короткова О.В., Соловьев С.С., Михайлова И.Н., Хатырев С.А. и др. Взаимосвязь иммунофенотипа лимфоцитов с клиническим течением диссеминированной меланомой кожи. *Российский биотерапевтический журнал*. 2012;11(2):45a. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18890464>.
65. Михайлова И.Н., Петенко Н.Н., Шубина И.Ж., Самойленко И.В., Субраманиан С., Огородникова Е.В. и др. Иммунорегуляторные CD4⁺CD25⁺ Т-клетки у больных диссеминированной меланомой на фоне химиотерапии. *Иммунология*. 2010;31(3):143–146. Режим доступа: <https://www.medlit.ru/j/imm/imm1003143.htm>.
66. Weide B., Martens A., Hassel J.C., Berking C., Postow M.A., Bisschop K. et al. Baseline Biomarkers for Outcome of Melanoma Patients Treated with Pembrolizumab. *Clin Cancer Res*. 2016;22(22):5487–5496. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0127>.
67. Martens A., Wistuba-Hamprecht K., Geukes Foppen M., Yuan J., Postow M.A., Wong P. et al. Baseline Peripheral Blood Biomarkers Associated with Clinical Outcome of Advanced Melanoma Patients Treated with Ipilimumab. *Clin Cancer Res*. 2016;22(12):2908–2918. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2412>.
68. Кадагидзе З.Г., Заботина Т.Н., Короткова О.В., Табаков Д.В., Чертова А.И., Борунова А.А. и др. Влияние ипилимумаба на субпопуляционную структуру лимфоцитов больных диссеминированной меланомой. *Практическая онкология*. 2017;18(3):285–297. <https://doi.org/10.31917/1803285>.
69. Новик А.В., Проценко С.А., Балдуева И.А. Использование оценки состояния адаптивной иммунной системы у больных со злокачественными солидными опухолями в качестве предиктивных или прогностических факторов: систематический обзор. *Эффективная фармакотерапия*. 2020;16(33):58–75. Режим доступа: https://umedp.ru/articles/ispolzovanie_otsenki_sostoyaniya_adaptivnoy_immunnoy_sistemy_u_bolnykh_so_zlokachestvennyimi_solidsnymy.html.
70. Barry K.C., Hsu J., Broz M.L., Cueto F.J., Binnewies M., Combes A.J. et al. A Natural Killer-Dendritic Cell Axis Defines Checkpoint Therapy-Responsive Tumor Microenvironments. *Nat Med*. 2018;24(8):1178–1191. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0085-8>.
71. Zhou J., Mahoney K.M., Giobbie-Hurder A., Zhao F., Lee S., Liao X. et al. Soluble PD-L1 as a Biomarker in Malignant Melanoma Treated with Checkpoint Blockade. *Cancer Immunol Res*. 2017;5(6):480–492. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-16-0329>.
72. Schumacher T.N., Schreiber R.D. Neoantigens in Cancer Immunotherapy. *Science*. 2015;348(6230):69–74. <https://doi.org/10.1126/science.aaa4971>.
73. Goodman A.M., Kato S., Bazhenova L., Patel S.P., Frampton G.M., Miller V. et al. Tumor Mutational Burden as an Independent Predictor of Response to Immunotherapy in Diverse Cancers. *Mol Cancer Ther*. 2017;16(11):2598–2608. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-17-0386>.
74. Ashikhmin Ya.I., Syrkina A.L., Zamyatnin A.A. Jr, Zhang Y., Kopylov Ph.Yu. The Gut Microbiota in Cardiovascular Diseases: From Biomarkers and Potential Targets to Personalized Interventions. *Curr Pharmacogenomics Person Med*. 2018;16(1):75–85. <http://doi.org/10.2174/1875692116666180511170329>.
75. Chen J., Domingue J.C., Sears C.L. Microbiota Dysbiosis in Select Human Cancers: Evidence of Association and Causality. *Semin Immunol*. 2017;32:25–34. <http://doi.org/10.1016/j.smim.2017.08.001>.
76. Gopalakrishnan V., Spencer C.N., Nezi L., Reuben A., Andrews M.C., Karpinet T.V. et al. Gut Microbiome Modulates Response to Anti-PD-1 Immunotherapy in Melanoma Patients. *Science*. 2018;359(6371):97–103. <http://doi.org/10.1126/science.aan4236>.
77. Baruch E.N., Youngster I., Ben-Betzalel G., Ortenberg R., Lahat A., Katz L. et al. Fecal Microbiota Transplant Promotes Response in Immunotherapy-Refractory Melanoma Patients. *Science*. 2021;371(6529):602–609. <http://doi.org/10.1126/science.abb5920>.
78. Dubin K., Callahan M.K., Ren B., Khanin R., Viale A., Ling L. et al. Intestinal Microbiome Analyses Identify Melanoma Patients at Risk for Checkpoint-Blockade-Induced Colitis. *Nat Commun*. 2016;7:10391. <http://doi.org/10.1038/ncomms10391>.
79. Wan J.C.M., Massie C., Garcia-Corbacho J., Mouliere F., Brenton J.D., Caldas C. et al. Liquid Biopsies Come of age: Towards Implementation of Circulating Tumour DNA. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(4):223–238. <http://doi.org/10.1038/nrc.2017.7>.
80. Жуков Н.В., Зарецкий А.Р., Лукьянов С.А., Румянцев С.А. Исследование циркулирующей опухолевой ДНК (жидкая биопсия). Перспективы использования в онкологии. *Онкогематология*. 2014;9(4):28–36. Режим доступа: <https://oncohematology.abvpress.ru/ongm/article/view/129>.
81. Kazeminasab S., Emamalizadeh B., Jouyban-Gharamaleki V., Taghizadeh A., Khoubnasabjafari M., Jouyban A. Tips for Improving the Quality and Quantity of the Extracted DNA from Exhaled Breath Condensate Samples. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2020;39(5):688–698. <http://doi.org/10.1080/15257770.2019.1677910>.
82. Reid A.L., Freeman J.B., Millward M., Ziman M., Gray E.S. Detection of BRAF-V600E and V600K in Melanoma Circulating Tumour Cells by Droplet Digital PCR. *Clin Biochem*. 2015;48(15):999–1002. <http://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.12.007>.
83. Bidard F.C., Madic J., Mariani P., Piperno-Neumann S., Rampanou A., Servois V. et al. Detection Rate and Prognostic Value of Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA in Metastatic Uveal Melanoma. *Int J Cancer*. 2014;134(5):1207–1213. <http://doi.org/10.1002/ijc.28436>.
84. Sanmamed M.F., Fernández-Landázuri S., Rodríguez C., Zárate R., Lozano M.D., Zubiri L. 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(1):297–304. <http://doi.org/10.1373/clinchem.2014.230235>.
85. Lee J.H., Saw R.P., Thompson J.F., Lo S., Spillane A.J., Shannon K.F. et al. Pre-Operative ctDNA Predicts Survival in High-Risk Stage III Cutaneous Melanoma Patients. *Ann Oncol*. 2019;30(5):815–822. <http://doi.org/10.1093/annonc/mdz075>.
86. Newman A.M., Bratman S.V., To J., Wynne J.F., Eclov N.C., Modlin L.A. et al. An Ultrasensitive Method for Quantitating Circulating Tumor DNA with Broad Patient Coverage. *Nat Med*. 2014;20(5):548–554. <http://doi.org/10.1038/nm.3519>.
87. Tan L., Sandhu S., Lee R.J., Li J., Callahan J., Ftouni S. et al. Prediction and Monitoring of Relapse in Stage III Melanoma Using Circulating Tumor DNA. *Ann Oncol*. 2019 1;30(5):804–814. <http://doi.org/10.1093/annonc/mdz048>.
88. Dummer R., Hauschild A., Santinami M., Atkinson V., Mandalà M., Kirkwood J.M. et al. Five-Year Analysis of Adjuvant Dabrafenib plus Trametinib in Stage III Melanoma. *N Engl J Med*. 2020;383(12):1139–1148. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa2005493>.
89. Ascierto P.A., Minor D., Ribas A., Lebbe C., O'Hagan A., Arya N. et al. Phase II Trial (BREAK-2) of the BRAF Inhibitor Dabrafenib (GSK2118436) in Patients with Metastatic Melanoma. *J Clin Oncol*. 2013;31(26):3205–3211. <http://doi.org/10.1200/JCO.2013.49.8691>.
90. Gray E.S., Rizos H., Reid A.L., Boyd S.C., Pereira M.R., Lo J. et al. Circulating Tumor DNA to Monitor Treatment Response and Detect Acquired

- Resistance in Patients with Metastatic Melanoma. *Oncotarget*. 2015;6(39):42008–42018. <http://doi.org/10.18632/oncotarget.5788>.
91. Lee J.H., Long G.V., Boyd S., Lo S., Menzies A.M., Tembe V. et al. Circulating Tumour DNA Predicts Response to Anti-PD1 Antibodies in Metastatic Melanoma. *Ann Oncol*. 2017;28(5):1130–1136. <http://doi.org/10.1093/annonc/mdx026>.
 92. Wong S.Q., Raleigh J.M., Callahan J., Vergara I.A., Ftouni S., Hatzimihailis A. et al. Circulating Tumor DNA Analysis and Functional Imaging Provide Complementary Approaches for Comprehensive Disease Monitoring in Metastatic Melanoma. *JCO Precis Oncol*. 2017;1(1):1–14. <https://doi.org/10.1200/po.16.00009>.
 93. Pilla L., Alberti A., Di Mauro P., Gemelli M., Cogliati V., Cazzaniga M.E. et al. Molecular and Immune Biomarkers for Cutaneous Melanoma: Current Status and Future Prospects. *Cancers (Basel)*. 2020;12(11):3456. <https://doi.org/10.3390/cancers12113456>.
-
- ## References
1. Hodi F.S., O'Day S.J., McDermott D.F., Weber R.W., Sosman J.A., Haanen J.B. et al. Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. *N Engl J Med*. 2010;363(8):711–723. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1003466>.
 2. Tarhini A., Kudchadkar R.R. Predictive and On-Treatment Monitoring Biomarkers in Advanced Melanoma: Moving toward Personalized Medicine. *Cancer Treat Rev*. 2018;71:8–18. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.09.005>.
 3. Bastian B., de la Fouchardiere A., Elder D., Gerami P., Lazar A., Massi D. et al. Genomic Landscapes of Melanoma. In: Elder D., Massi D., Scolyer R., Willemze R. (eds.). *World Health Organisation classification of skin tumours*. 4th ed. Lyon, France International Agency for Research on Cancer; 2018, pp. 72–75.
 4. Flaherty K.T., Lee S.J., Zhao F., Schuchter L.M., Flaherty L., Kefford R. et al. Phase III Trial of Carboplatin and Paclitaxel with or without Sorafenib in Metastatic Melanoma. *J Clin Oncol*. 2013;31(3):373–379. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.42.1529>.
 5. Hauschild A., Agarwala S.S., Trefzer U., Hogg D., Robert C., Hersey P. et al. Results of a Phase III, Randomized, Placebo-Controlled Study of Sorafenib in Combination with Carboplatin and Paclitaxel as Second-Line Treatment in Patients with Unresectable Stage III or Stage IV Melanoma. *J Clin Oncol*. 2009;27(17):2823–2830. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.15.7636>.
 6. Davies H., Bignell G.R., Cox C., Stephens P., Edkins S., Clegg S. et al. Mutations of the BRAF Gene in Human Cancer. *Nature*. 2002;417(6892):949–954. <https://doi.org/10.1038/nature00766>.
 7. Menzies A.M., Haydu L.E., Visintin L., Carlino M.S., Howle J.R., Thompson J.F. et al. Distinguishing Clinicopathologic Features of Patients with V600E and V600K BRAF-Mutant Metastatic Melanoma. *Clin Cancer Res*. 2012;18(12):3242–3249. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-0052>.
 8. Nazarian R., Shi H., Wang Q., Kong X., Koya R.C., Lee H. et al. Melanomas Acquire Resistance to B-RAF(V600E) Inhibition by RTK or N-RAS Upregulation. *Nature*. 2010;468(7326):973–977. <https://doi.org/10.1038/nature09626>.
 9. Ascierto P.A., McArthur G.A., Dréno B., Atkinson V., Liskay G., Di Giacomo A.M. et al. Cobimetinib Combined with Vemurafenib in Advanced BRAF(V600)-Mutant Melanoma (coBRIM): Updated Efficacy Results from a Randomised, Double-Blind, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(9):1248–1260. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30122-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30122-X).
 10. Dummer R., Ascierto P.A., Gogas H.J., Arance A., Mandala M., Liskay G. et al. Overall Survival in Patients with BRAF-Mutant Melanoma Receiving Encorafenib plus Binimetinib versus Vemurafenib or Encorafenib (COLUMBUS): A Multicentre, Open-Label, Randomised, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol*. 2018;19(10):1315–1327. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30497-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30497-2).
 11. Robert C., Grob J.J., Stroyakovskiy D., Karaszewska B., Hauschild A., Levchenko E. et al. Five-Year Outcomes with Dabrafenib plus Trametinib in Metastatic Melanoma. *N Engl J Med*. 2019;381(7):626–636. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1904059>.
 12. Nti A.A., Serrano L.W., Sandhu H.S., Uyhazi K.E., Edelstein I.D., Zhou E.J. et al. Frequent Subclinical Macular Changes in Combined BRAF/MEK Inhibition with High-Dose Hydroxychloroquine as Treatment for Advanced Metastatic BRAF Mutant Melanoma: Preliminary Results From a Phase I/II Clinical Treatment Trial. *Retina*. 2019;39(3):502–513. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000002027>.
 13. Larkin J., Chiarion-Sileni V., Gonzalez R., Grob J.J., Rutkowski P., Lao C.D. et al. Five-Year Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2019;381(16):1535–1546. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910836>.
 14. Dankner M., Lajoie M., Moldoveanu D., Nguyen T.T., Savage P., Rajkumar S. et al. Dual MAPK Inhibition Is an Effective Therapeutic Strategy for a Subset of Class II BRAF Mutant Melanomas. *Clin Cancer Res*. 2018;24(24):6483–6494. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-3384>.
 15. Menzer C., Menzies A.M., Carlino M.S., Reijers I., Groen E.J., Eigentler T. et al. Targeted Therapy in Advanced Melanoma With Rare BRAF Mutations. *J Clin Oncol*. 2019;37(33):3142–3151. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.00489>.
 16. Moiseyenko F.V., Egorenkov V.V., Kramchaninov M.M., Artemieva E.V., Aleksakhina S.N., Holmatov M.M. et al. Lack of Response to Vemurafenib in Melanoma Carrying BRAF K601E Mutation. *Case Rep Oncol*. 2019;12(2):339–343. <https://doi.org/10.1159/000500481>.
 17. Jakob J.A., Bassett R.L.Jr, Ng C.S., Curry J.L., Joseph R.W., Alvarado G.C. et al. NRAS Mutation Status Is an Independent Prognostic Factor in Metastatic Melanoma. *Cancer*. 2012;118(16):4014–4023. <https://doi.org/10.1002/cncr.26724>.
 18. Thomas N.E., Edmiston S.N., Alexander A., Groben P.A., Parrish E., Kricker A. et al. Association between NRAS and BRAF Mutational Status and Melanoma-Specific Survival among Patients with Higher-Risk Primary Melanoma. *JAMA Oncol*. 2015;1(3):359–368. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.0493>.
 19. Dummer R., Schadendorf D., Ascierto P.A., Arance A., Dutriaux C., Di Giacomo A.M. et al. Binimetinib versus Dacarbazine in Patients with Advanced NRAS-Mutant Melanoma (NEMO): A Multicentre, Open-Label, Randomised, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(4):435–445. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30180-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30180-8).
 20. Orlov S.V., Urtenova M.A., Sviridenko M.A., Nesterov D.V., Sokolova T.N., Imyaninov E.N. Rapid Improvement of the Performance Status and Reduction of the Tumor Size in KRAS-Mutated Colorectal Cancer Patient Receiving Binimetinib, Hydroxychloroquine, and Bevacizumab. *Case Rep Oncol*. 2020;13(2):985–989. <https://doi.org/10.1159/000509241>.
 21. Xavier C.B., Marchetti K.R., Castria T.B., Jardim D.L.F., Fernandes G.S. Trametinib and Hydroxychloroquine (HCQ) Combination Treatment in KRAS-Mutated Advanced Pancreatic Adenocarcinoma: Detailed Description of Two Cases. *J Gastrointest Cancer*. 2021;52(1):374–380. <https://doi.org/10.1007/s12029-020-00556-z>.
 22. Zhao H., Zheng B. Dual Targeting of Autophagy and MEK in KRAS Mutant Cancer. *Trends Cancer*. 2019;5(6):327–329. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2019.04.003>.
 23. Kinsey C.G., Camolotto S.A., Boespflug A.M., Guillen K.P., Foth M., Truong A. et al. Protective Autophagy Elicited by RAF→MEK→ERK Inhibition Suggests a Treatment Strategy for RAS-Driven Cancers. *Nat Med*. 2019;25(4):620–627. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0367-9>.
 24. Hodi F.S., Corless C.L., Giobbie-Hurder A., Fletcher J.A., Zhu M., Marino-Enriquez A. et al. Imatinib for Melanomas Harboring Mutationally Activated or Amplified KIT Arising on Mucosal, Acral, and Chronically Sun-Damaged Skin. *J Clin Oncol*. 2013;31(26):3182–3190. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.47.7836>.
 25. Guo J., Carvajal R.D., Dummer R., Hauschild A., Daud A., Bastian B.C. et al. Efficacy and Safety of Nilotinib in Patients with KIT-Mutated Metastatic or Inoperable Melanoma: Final Results from the Global, Single-Arm, Phase II TEAM Trial. *Ann Oncol*. 2017;28(6):1380–1387. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx079>.
 26. Kluger H.M., Dudek A.Z., McCann C., Ritacco J., Southard N., Jilaveanu L.B. et al. A Phase 2 Trial of Dasatinib in Advanced Melanoma. *Cancer*. 2011;117(10):2202–2208. <https://doi.org/10.1002/cncr.25766>.
 27. Decoster L., Vande Broek I., Neyns B., Majois F., Baurain J.F., Rottey S. et al. Biomarker Analysis in a Phase II Study of Sunitinib in Patients with Advanced Melanoma. *Anticancer Res*. 2015;35(12):6893–6899. Available at: <http://ar.iiarjournals.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=26637913>.
 28. Whittaker S.R., Theurillat J.P., Van Allen E., Wagle N., Hsiao J., Cowley G.S. et al. A Genome-Scale RNA Interference Screen Implicates NF1 Loss in Resistance to RAF Inhibition. *Cancer Discov*. 2013;3(3):350–362. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0470>.
 29. Bishop D.T., Demenais F., Goldstein A.M., Bergman W., Bishop J.N., Bressac-de Paillerets B. et al. Geographical Variation in the Penetrance of CDKN2A Mutations for Melanoma. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(12):894–903. <https://doi.org/10.1093/jnci/94.12.894>.
 30. Cachia A.R., Indsto J.O., McLaren K.M., Mann G.J., Arends M.J. CDKN2A Mutation and Deletion Status in Thin and Thick Primary Melanoma. *Clin Cancer Res*. 2000;6(9):3511–3515. <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/6/9/3511.long>.
 31. Guo L., Qi J., Wang H., Jiang X., Liu Y. Getting under the Skin: The role of CDK4/6 in Melanomas. *Eur J Med Chem*. 2020;204:112531. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112531>.
 32. Schettini F., De Santo I., Rea C.G., De Placido P., Formisano L., Giuliano M. et al. CDK 4/6 Inhibitors as Single Agent in Advanced Solid Tumors. *Front Oncol*. 2018;8:608. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00608>.
 33. Robert C., Ribas A., Schachter J., Arance A., Grob J.J., Mortier L. et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma (KEYNOTE-006): Post-Hoc 5-Year Results from an Open-Label, Multicentre, Randomised, Controlled, Phase 3 Study. *Lancet Oncol*. 2019;20(9):1239–1251. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30388-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30388-2).
 34. Tjulandin S., Demidov L., Moiseyenko V., Protchenko S., Semiglazova T., Odintsova S. et al. Novel PD-1 Inhibitor Proglumab: Expanding Non-Resectable/Metastatic Melanoma Therapy Choice. *Eur J Cancer*. 2021;149:222–232. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2021.02.030>.

35. Carvajal R.D., Sosman J.A., Quevedo J.F., Milhem M.M., Joshua A.M., Kuchchadkar R.R. et al. Effect of Selumetinib vs Chemotherapy on Progression-Free Survival in Uveal Melanoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2014;311(23):2397–2405. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.6096>.
36. Carvajal R.D., Piperno-Neumann S., Kapiteijn E., Chapman P.B., Frank S., Joshua A.M. et al. Selumetinib in Combination with Dacarbazine in Patients with Metastatic Uveal Melanoma: A Phase III, Multicenter, Randomized Trial (SUMIT). *J Clin Oncol*. 2018;36(12):1232–1239. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.1090>.
37. Johnson D.B., Menzies A.M., Zimmer L., Eroglu Z., Ye F., Zhao S. et al. Acquired BRAF Inhibitor Resistance: A Multicenter Meta-Analysis of the Spectrum and Frequencies, Clinical Behaviour, and Phenotypic Associations of Resistance Mechanisms. *Eur J Cancer*. 2015;51(18):2792–2799. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.08.022>.
38. Poulikakos P.I., Persaud Y., Janakiraman M., Kong X., Ng C., Moriceau G. et al. RAF Inhibitor Resistance Is Mediated by Dimerization of Aberrantly Spliced BRAF(V600E). *Nature*. 2011;480(7377):387–390. <https://doi.org/10.1038/nature10662>.
39. Garraway L.A., Widlund H.R., Rubin M.A., Getz G., Berger A.J., Ramaswamy S. et al. Integrative Genomic Analyses Identify MITF as a Lineage Survival Oncogene Amplified in Malignant Melanoma. *Nature*. 2005;436(7047):117–122. <https://doi.org/10.1038/nature03664>.
40. Paraiso K.H., Xiang Y., Rebecca V.W., Abel E.V., Chen Y.A., Munko A.C. et al. PTEN Loss Confers BRAF Inhibitor Resistance to Melanoma Cells through the Suppression of BIM Expression. *Cancer Res*. 2011;71(7):2750–2760. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-2954>.
41. Aasen S.N., Parajuli H., Hoang T., Feng Z., Stokke K., Wang J. et al. Effective Treatment of Metastatic Melanoma by Combining MAPK and PI3K Signaling Pathway Inhibitors. *Int J Mol Sci*. 2019;20(17):4235. <https://doi.org/10.3390/ijms20174235>.
42. Robert C., Schachter J., Long G.V., Arance A., Grob J.J., Mortier L. et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2015;372(26):2521–2532. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1503093>.
43. Topalian S.L., Hodi F.S., Brahmer J.R., Gettinger S.N., Smith D.C., McDermott D.F. et al. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *N Engl J Med*. 2012;366(26):2443–2454. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200690>.
44. Hodi F.S., Chiarion-Sileni V., Gonzalez R., Grob J.J., Rutkowski P., Cowey C.L. et al. Nivolumab plus Ipilimumab or Nivolumab Alone versus Ipilimumab Alone in Advanced Melanoma (CheckMate 067): 4-Year Outcomes of a Multicentre, Randomised, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol*. 2018;19(11):1480–1492. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30700-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30700-9).
45. Wongchenko M.J., Ribas A., Dréno B., Ascierto P.A., McArthur G.A., Gallo J.D. et al. Association of Programmed Death Ligand-1 (PD-L1) Expression with Treatment Outcomes in Patients with BRAF Mutation-Positive Melanoma Treated with Vemurafenib or Cobimetinib Combined with Vemurafenib. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2018;31(4):516–522. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12670>.
46. Nishino M., Ramaiya N.H., Hatabu H., Hodi F.S. Monitoring Immune-Checkpoint Blockade: Response Evaluation and Biomarker Development. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017;14(11):655–668. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.88>.
47. Madore J., Vilain R.E., Menzies A.M., Kakavand H., Wilmott J.S., Hyman J. et al. PD-L1 Expression in Melanoma Shows Marked Heterogeneity within and between Patients: Implications for Anti-PD-1/PD-L1 Clinical Trials. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2015;28(3):245–253. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12340>.
48. Ascierto P.A., Robert C., Lewis K., Gutzmer R., Stroyakovskiy D., Gogas H.J. et al. 1102P Clinical Benefit in BRAFV600 Mutation-Positive Melanoma Defined by Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) and/or Lactate Dehydrogenase (LDH) Status: Exploratory Analyses from the IMspire150 Study. *Ann Oncol*. 2020;31(Suppl 4):S745. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.1225>.
49. Nathan P., Dummer R., Long G.V., Ascierto P.A., Tawbi H.A., Robert C. et al. LBA43 Spaltizumab plus Dabrafenib and Trametinib (Sparta-DabTram) in Patients (pts) with Previously Untreated BRAF V600-Mutant Unresectable or Metastatic Melanoma: Results from the Randomized Part 3 of the Phase III COMBI-i Trial. *Ann Oncol*. 2020;31(Suppl 4):S1172. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.2273>.
50. Naito Y., Saito K., Shiba K., Ohuchi A., Saigenji K., Nagura H., Ohtani H. CD8+ T Cells Infiltrated within Cancer Cell Nests as a Prognostic Factor in Human Colorectal Cancer. *Cancer Res*. 1998;58(16):3491–3494. Available at: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/58/16/3491.long>.
51. Kiselevskiy M.V., Vlasenko R.Ya., Zabolotina T.N., Kadagidze Z.G. Prognostic Significance of Tumor-infiltrating Lymphocytes. *Immunologiya*. 2019;40(1):74–83. (In Russ.) <https://doi.org/10.24411/0206-4952-2019-11009>.
52. Havel J.J., Chowell D., Chan T.A. The Evolving Landscape of Biomarkers for Checkpoint Inhibitor Immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2019;19(3):133–150. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0116-x>.
53. Herbst R.S., Soria J.C., Kowanetz M., Fine G.D., Hamid O., Gordon M.S. et al. Predictive Correlates of Response to the Anti-PD-L1 Antibody MPDL3280A in Cancer Patients. *Nature*. 2014;515(7528):563–567. <https://doi.org/10.1038/nature14011>.
54. Tumei P.C., Harview C.L., Yearley J.H., Shintaku I.P., Taylor E.J., Robert L. et al. PD-1 Blockade Induces Responses by Inhibiting Adaptive Immune Resistance. *Nature*. 2014;515(7528):568–571. <https://doi.org/10.1038/nature13954>.
55. Mariathasan S., Turley S.J., Nickles D., Castiglioni A., Yuen K., Wang Y. et al. TGF β Attenuates Tumour Response to PD-L1 Blockade by Contributing to Exclusion of T Cells. *Nature*. 2018;554(7693):544–548. <https://doi.org/10.1038/nature25501>.
56. Spranger S., Bao R., Gajewski T.F. Melanoma-Intrinsic β -Catenin Signalling Prevents Anti-Tumour Immunity. *Nature*. 2015;523(7559):231–235. <https://doi.org/10.1038/nature14404>.
57. Samoylenko I., Korotkova O.V., Shakhrya E., Zabolotina T., Berdnikov S., Tabakov D. et al. Recurrence-Free Survival (RFS) and Objective Response Rate (ORR) Phase 1/2 Study of Intravesical (IL) Neoadjuvant (Neo) Anti-PD1 Agents (aPD1) for Stage IIIB-IV Melanoma (ME). *J Clin Oncol*. 2019;37(15_Suppl):e14171. https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.e14171.
58. Riaz N., Havel J.J., Makarov V., Desrichard A., Urba W.J., Sims J.S. et al. Tumor and Microenvironment Evolution during Immunotherapy with Nivolumab. *Cell*. 2017;171(4):934.e16–949.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.028>.
59. Rooney M.S., Shukla S.A., Wu C.J., Getz G., Hacohen N. Molecular and Genetic Properties of Tumors Associated with Local Immune Cytolytic Activity. *Cell*. 2015;160(1–2):48–61. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.12.033>.
60. Daud A.I., Loo K., Pauli M.L., Sanchez-Rodriguez R., Sandoval P.M., Taravati K. et al. Tumor Immune Profiling Predicts Response to Anti-PD-1 Therapy in Human Melanoma. *J Clin Invest*. 2016;126(9):3447–3452. <https://doi.org/10.1172/JCI87324>.
61. Lewis K., Ascierto P., Robert C., Munhoz R., Liszkay G., Marino L.D.L.C. et al. 307 Atezolizumab plus Vemurafenib and Cobimetinib Provides Favorable Survival Outcomes in Patients with High Tumor Mutation Burden and Proinflammatory Gene Signature in the Phase 3 IMspire150 Study. *J Immunother Cancer*. 2020;8(Suppl 3):A188–A189. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-SITC2020.0307>.
62. Flaherty K., Davies M.A., Grob J.J., Long G.V., Nathan P.D., Ribas A. et al. Genomic Analysis and 3-y Efficacy and Safety Update of COMBI-d: A Phase 3 Study of Dabrafenib (D) + Trametinib (T) vs D Monotherapy in Patients (pts) with Unresectable or Metastatic BRAF V600E/K-Mutant Cutaneous Melanoma. *J Clin Oncol*. 2016;34(15_suppl):9502. https://doi.org/10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.9502.
63. Weber J.S., Del Vecchio M., Mandal M., Gogas H., Arance A.M., Dalle S. et al. 1310O – Adjuvant Nivolumab (NIVO) versus Ipilimumab (IPI) in Resected Stage III/IV Melanoma: 3-year Efficacy and Biomarker Results from the Phase III CheckMate 238 Trial. *Ann Oncol*. 2019;30:v533–v534. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz255>.
64. Samoilenko I.V., Zabolotina T.N., Korotkova O.V., Soloviev S.S., Mikhailova I.N., Khatyrev S.A. et al. Relationship of the Immunophenotype of Lymphocytes with the Clinical Course of Disseminated Melanoma of the Skin. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Biotherapeutic Journal*. 2012;11(2):45a. (In Russ.) Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18890464>.
65. Mikhailova I.N., Petenko N.N., Shubina I.Zh., Samoilenko I.V., Subramanian S., Ogorodnikova E.V. et al. Immunoregulatory CD4 + CD25 + T Cells in Patients with Disseminated Melanoma during Chemotherapy. *Immunologiya*. 2010;31(3):143–146. (In Russ.) Available at: <https://www.medlit.ru/j/imm/imm1003143.htm>.
66. Weide B., Martens A., Hassel J.C., Berking C., Postow M.A., Bisschop K. et al. Baseline Biomarkers for Outcome of Melanoma Patients Treated with Pembrolizumab. *Clin Cancer Res*. 2016;22(22):5487–5496. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0127>.
67. Martens A., Wistuba-Hamprecht K., Geukes Foppen M., Yuan J., Postow M.A., Wong P. et al. Baseline Peripheral Blood Biomarkers Associated with Clinical Outcome of Advanced Melanoma Patients Treated with Ipilimumab. *Clin Cancer Res*. 2016;22(12):2908–2918. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2412>.
68. Kadagidze Z.G., Zabolotina T.N., Korotkova O.V., Tabakov D.V., Chertkova A.I., Borunova A.A. et al. Effect of Ipilimumab on the Subpopulation Structure of Lymphocytes in Patients with Disseminated Melanoma. *Prakticheskaya onkologiya = Practical Oncology*. 2017;18(3):285–297. (In Russ.) <https://doi.org/10.31917/1803285>.
69. Novik A.V., Protchenko S.A., Baldueva I.A. Characteristics of Adoptive Immune System as Prognostic or Predictive Factors in the Patients with Solid Tumors: A Systematic Review. *Effektivnaya farmakoterapiya = Effective Pharmacotherapy*. 2020;16(33):58–75. (In Russ.) Available at: https://umedp.ru/articles/ispolzovanie_otsenki_sostoyaniya_adaptivnoy_immunnoy_sistemy_u_bolnykh_so_zlokachestvennymi_solidsnym.html.
70. Barry K.C., Hsu J., Broz M.L., Cueto F.J., Binnewies M., Combes A.J. et al. A Natural Killer-Dendritic Cell Axis Defines Checkpoint Therapy-Responsive Tumor Microenvironments. *Nat Med*. 2018;24(8):1178–1191. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0085-8>.
71. Zhou J., Mahoney K.M., Giobbie-Hurder A., Zhao F., Lee S., Liao X. et al. Soluble PD-L1 as a Biomarker in Malignant Melanoma Treated with Checkpoint Blockade. *Cancer Immunol Res*. 2017;5(6):480–492. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-16-0329>.

72. Schumacher T.N., Schreiber R.D. Neoantigens in Cancer Immunotherapy. *Science*. 2015;348(6230):69–74. <https://doi.org/10.1126/science.aaa4971>.
73. Goodman A.M., Kato S., Bazhenova L., Patel S.P., Frampton G.M., Miller V. et al. Tumor Mutational Burden as an Independent Predictor of Response to Immunotherapy in Diverse Cancers. *Mol Cancer Ther*. 2017;16(11):2598–2608. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-17-0386>.
74. Ashikhmin Ya.I., Syrkina A.L., Zamyatin A.A. Jr, Zhang Y., Kopylov Ph.Yu. The Gut Microbiota in Cardiovascular Diseases: From Biomarkers and Potential Targets to Personalized Interventions. *Curr Pharmacogenomics Person Med*. 2018;16(1):75–85. <http://doi.org/10.2174/1875692116666180511170329>.
75. Chen J., Domingue J.C., Sears C.L. Microbiota Dysbiosis in Select Human Cancers: Evidence of Association and Causality. *Semin Immunol*. 2017;32:25–34. <http://doi.org/10.1016/j.smim.2017.08.001>.
76. Gopalakrishnan V., Spencer C.N., Nezi L., Reuben A., Andrews M.C., Karpinet T.V. et al. Gut Microbiome Modulates Response to Anti-PD-1 Immunotherapy in Melanoma Patients. *Science*. 2018;359(6371):97–103. <http://doi.org/10.1126/science.aan4236>.
77. Baruch E.N., Youngster I., Ben-Betzalel G., Ortenberg R., Lahat A., Katz L. et al. Fecal Microbiota Transplant Promotes Response in Immunotherapy-Refractory Melanoma Patients. *Science*. 2021;371(6529):602–609. <http://doi.org/10.1126/science.abb5920>.
78. Dubin K., Callahan M.K., Ren B., Khanin R., Viale A., Ling L. et al. Intestinal Microbiome Analyses Identify Melanoma Patients at Risk for Checkpoint-Blockade-Induced Colitis. *Nat Commun*. 2016;7:10391. <http://doi.org/10.1038/ncomms10391>.
79. Wan J.C.M., Massie C., Garcia-Corbacho J., Mouliere F., Brenton J.D., Caldas C. et al. Liquid Biopsies Come of age: Towards Implementation of Circulating Tumour DNA. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(4):223–238. <http://doi.org/10.1038/nrc.2017.7>.
80. Zhukov N.V., Zaretsky A.R., Lukyanov S.A., Romyantsev S.A. Circulating Tumor DNA Detection (Liquid Biopsy): Prospects in Oncology. *Onkologematologiya = Oncohematology*. 2014;9(4):28–36. (In Russ.) Available at: <https://oncohematology.abvpress.ru/ongm/article/view/129>.
81. Kazeminasab S., Emamalizadeh B., Jouyban-Gharamaleki V., Taghizadeh A., Khoubnasabjafari M., Jouyban A. Tips for Improving the Quality and Quantity of the Extracted DNA from Exhaled Breath Condensate Samples. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2020;39(5):688–698. <http://doi.org/10.1080/15257770.2019.1677910>.
82. Reid A.L., Freeman J.B., Millward M., Ziman M., Gray E.S. Detection of BRAF-V600E and V600K in Melanoma Circulating Tumour Cells by Droplet Digital PCR. *Clin Biochem*. 2015;48(15):999–1002. <http://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.12.007>.
83. Bidard F.C., Madić J., Mariani P., Piperno-Neumann S., Rampanou A., Servois V. et al. Detection Rate and Prognostic Value of Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA in Metastatic Uveal Melanoma. *Int J Cancer*. 2014;134(5):1207–1213. <http://doi.org/10.1002/ijc.28436>.
84. Sanmamed M.F., Fernández-Landázuri S., Rodríguez C., Zárate R., Lozano M.D., Zubiri L. 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(1):297–304. <http://doi.org/10.1373/clinchem.2014.230235>.
85. Lee J.H., Saw R.P., Thompson J.F., Lo S., Spillane A.J., Shannon K.F. et al. Pre-Operative ctDNA Predicts Survival in High-Risk Stage III Cutaneous Melanoma Patients. *Ann Oncol*. 2019;30(5):815–822. <http://doi.org/10.1093/annonc/mdz075>.
86. Newman A.M., Bratman S.V., To J., Wynne J.F., Eclov N.C., Modlin L.A. et al. An Ultrasensitive Method for Quantitating Circulating Tumor DNA with Broad Patient Coverage. *Nat Med*. 2014;20(5):548–554. <http://doi.org/10.1038/nm.3519>.
87. Tan L., Sandhu S., Lee R.J., Li J., Callahan J., Ftouni S. et al. Prediction and Monitoring of Relapse in Stage III Melanoma Using Circulating Tumor DNA. *Ann Oncol*. 2019;30(5):804–814. <http://doi.org/10.1093/annonc/mdz048>.
88. Dummer R., Hauschild A., Santinami M., Atkinson V., Mandalà M., Kirkwood J.M. et al. Five-Year Analysis of Adjuvant Dabrafenib plus Trametinib in Stage III Melanoma. *N Engl J Med*. 2020;383(12):1139–1148. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa2005493>.
89. Ascierto P.A., Minor D., Ribas A., Lebbe C., O'Hagan A., Arya N. et al. Phase II Trial (BREAK-2) of the BRAF Inhibitor Dabrafenib (GSK2118436) in Patients with Metastatic Melanoma. *J Clin Oncol*. 2013;31(26):3205–3211. <http://doi.org/10.1200/JCO.2013.49.8691>.
90. Gray E.S., Rizos H., Reid A.L., Boyd S.C., Pereira M.R., Lo J. et al. Circulating Tumor DNA to Monitor Treatment Response and Detect Acquired Resistance in Patients with Metastatic Melanoma. *Oncotarget*. 2015;6(39):42008–42018. <http://doi.org/10.18632/oncotarget.5788>.
91. Lee J.H., Long G.V., Boyd S., Lo S., Menzies A.M., Tembe V. et al. Circulating Tumor DNA Predicts Response to Anti-PD1 Antibodies in Metastatic Melanoma. *Ann Oncol*. 2017;28(5):1130–1136. <http://doi.org/10.1093/annonc/mdx026>.
92. Wong S.Q., Raleigh J.M., Callahan J., Vergara I.A., Ftouni S., Hatzimihailis A. et al. Circulating Tumor DNA Analysis and Functional Imaging Provide Complementary Approaches for Comprehensive Disease Monitoring in Metastatic Melanoma. *JCO Precis Oncol*. 2017;1(1):1–14. <https://doi.org/10.1200/po.16.00009>.
93. Pilla L., Alberti A., Di Mauro P., Gemelli M., Cogliati V., Cazzaniga M.E. et al. Molecular and Immune Biomarkers for Cutaneous Melanoma: Current Status and Future Prospects. *Cancers (Basel)*. 2020;12(11):3456. <https://doi.org/10.3390/cancers12113456>.

Информация об авторах:

Зарецкий Андрей Ростиславович, научный сотрудник отдела молекулярных технологий научно-исследовательского института трансляционной медицины, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1; Scopus Author ID: 57130636900; SPIN-код: 2891-9533; Author ID: 882141; a-zaretsky@yandex.ru

Демидов Лев Вадимович, д.м.н., профессор, заведующий отделением онкодерматологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина; 115478, Россия, Москва, Каширское шоссе, д. 23; Scopus Author ID: 6602828686; SPIN-код: 5362-6386; Author ID: 173317; demidov.lev@gmail.com

Самойленко Игорь Вячеславович, к.м.н., старший научный сотрудник отделения онкодерматологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина; 115478, Россия, Москва, Каширское шоссе, д. 23; Scopus Author ID: 57206666589; SPIN-код: 3691-8923; Author ID: 520864; WoS Researcher ID: AAQ-2321-2020; i.samoylenko@ronc.ru

Information about the authors:

Andrew R. Zaretsky, Researcher, Department of Molecular Technologies, Research Institute of Translational Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia; Scopus Author ID: 57130636900; Author ID: 882141; a-zaretsky@yandex.ru

Lev V. Demidov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Oncodermatology, Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 23, Kashirskoye Shosse, Moscow, 115478, Russia; Scopus Author ID: 6602828686; Author ID: 173317; demidov.lev@gmail.com

Igor V. Samoylenko, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Oncodermatology, Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 23, Kashirskoye Shosse, Moscow, 115478, Russia; Scopus Author ID: 57206666589; Author ID: 520864; WoS Researcher ID: AAQ-2321-2020; i.samoylenko@ronc.ru