

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ
ИМЕНИ Н.Н. ПЕТРОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

АНОХИНА

Екатерина Михайловна

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АНТИ-СТЛА-4 ТЕРАПИИ
ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМЫ**

14.01.12 – онкология

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

Проценко Светлана Анатольевна

доктор медицинских наук

Балдуева Ирина Александровна

доктор медицинских наук

Санкт-Петербург – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ АНТИ-CTLA-4 ИММУНОТЕРАПИИ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	10
Глава 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	27
2.1 Материал.....	27
2.1.1 Характеристика пациентов, включенных в исследование	27
2.2 Методы.....	32
2.2.1 Оценка эффективности иммунотерапии ипилимумабом	32
2.2.2 Оценка токсичности иммунотерапии ипилимумабом	33
2.2.3 Оценка содержания субпопуляций иммунокомпетентных клеток периферической крови методом проточной цитофлуориметрии у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб	35
2.2.4 Изучение прогностических факторов иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой.....	39
2.2.5 Статистическая обработка результатов.....	42
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	44
3.1 Оценка клинической эффективности анти-CTLA-4 иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой во 2-й и последующих линиях противоопухолевого лечения	44
3.1.1 Результаты и обсуждение	45
3.2 Оценка токсичности иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой.....	49
3.2.1 Результаты.....	49
3.2.2 Оценка влияния пола, возраста, и индекса массы тела на частоту возникновения иммуноопосредованных нежелательных явлений 3-4 степени тяжести на фоне анти-CTLA-4 иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой кожи	55
3.2.3 Обсуждение	58

3.3 Применение алгоритмов диагностики и лечения иммуноопосредованных нежелательных явлений современной иммунотерапии у больных диссеминированной меланомой, получавших анти-CTLA-4 иммунотерапии ипилимумабом	60
3.3.1 Диагностика	61
3.3.2 Симптомы.....	64
3.3.3 Дообследование	67
3.3.4 Обследование больных с развившимися иммуноопосредованными нежелательными явлениями	69
3.3.5 Длительность наблюдения за пациентом при проведении иммунотерапии	70
3.3.6 Принципы терапии	70
3.3.7 Результаты, клинические примеры, обсуждение	73
3.3.8 Практические рекомендации.....	77
3.4 Анализ иммунологических показателей периферической крови у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб	77
3.4.1 Результаты и обсуждение	78
3.5 Поиск прогностических факторов иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой.....	94
3.5.1 Результаты.....	95
3.5.2 Обсуждение.....	104
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	109
ВЫВОДЫ.....	113
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	114
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	115
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	117

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Меланому характеризуют неуклонный рост показателей заболеваемости, агрессивность, высокий метастатический потенциал опухоли, резистентность к стандартной цитостатической терапии, крайне неблагоприятный прогноз при диссеминированных формах заболевания наряду с преимущественным поражением лиц молодого и среднего возраста, что обуславливает чрезвычайную социальную значимость поиска эффективных способов лечения данного заболевания [39, 158, 183, 218].

Ипилимумаб (ИПИ) – ингибитор CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4), является первым препаратом из нового класса ингибиторов контрольных точек, одобренным FDA (Food and drug administration) в 2011 г. для лечения больных с распространенными формами меланомы. Еще на этапе регистрационного клинического исследования стало очевидным, что спектр клинических эффектов и токсичности ИПИ кардинально отличается от всех ранее применяемых вариантов иммунологического лечения [109]. С вхождения ИПИ в клиническую практику началась новая эра онкоиммунологии в лечении онкологических заболеваний.

С 2010 г. активно изучается эффективность и профиль иммуноопосредованных нежелательных явлений ИПИ. Ипилимумаб первым продемонстрировал увеличение общей выживаемости у небольшой группы больных диссеминированной меланомой, которая и после 3-х летнего периода наблюдения сохраняется на уровне приблизительно 20-25% без заметной дальнейшей тенденции к снижению продолжительности жизни пациентов [156, 161]. Это дает надежду на возможное излечение данной категории больных.

Механизм действия ИПИ обуславливает его уникальный иммуноопосредованный спектр токсичности. Иммуноопосредованные нежелательные реакции 3-4 ст. тяжести могут иметь жизнеугрожающий характер, но в целом профиль токсичности изучен и имеет приемлемый характер [66, 104].

Отличительной особенностью ИПИ по сравнению с более новыми и эффективными препаратами из группы ингибиторов PD-1 (programmed cell death protein 1) является его фиксированный курс лечения не более 4-х введений, что также определяет его фармакоэкономические преимущества.

Вместе с тем, нерешенной задачей клинической онкоиммунологии остается поиск предиктивных и прогностических факторов с целью индивидуализации показаний к

проведению терапии ИПИ. Для определения предрасполагающих к увеличению эффекта от иммунотерапии ИПИ факторов необходимо более глубокое изучение иммунологических процессов, протекающих на фоне лечения. Несомненно, в эпоху точной медицины понимание механизмов, благодаря которым пациенты резистентны или получают недостаточный эффект на фоне терапии ингибиторами контрольных точек, а также страдают от тяжелой формы иммуноопосредованной токсичности, имеет первостепенное значение для персонализированного определения категории пациентов, наилучшим образом соответствующих этому варианту лечения.

Степень разработанности темы

Начиная с 1908 г., когда Р. Ehrlich впервые предположил, что иммунная система способна подавлять канцерогенез, и до настоящего времени продолжается изучение внутренних механизмов подавления опухолевого роста, обеспечивающих «иммунологический надзор над раком».

Экспериментальные исследования, которые проводились J.F. Brunet, P.S. Linsley et al. с 1987 г., показали высокую значимость антигена цитотоксических Т-лимфоцитов 4 класса (CTLA-4) в качестве мишени для иммунотерапии. Ключевым событием, послужившим толчком к развитию исследований в области иммуноонкологии, стало открытие J. Allison в 1995 г. активирующего влияния на развитие Т-клеточного ответа блокады рецептора CTLA-4.

С момента внедрения ИПИ в клиническую практику в 2011 г. работы по поиску прогностических и предиктивных факторов и биомаркеров велись непрерывно: J.D. Wolchok (2017), J.S. Weber (2017), С. Hua (2016), S.K. Quirk (2015), D.M. Pardoll (2012), S. Kelderman (2014) и др.

В настоящее время интерес вызывает изучение на фоне терапии ингибиторами контрольных точек иммунного статуса онкологических больных и динамического изменения субпопуляций иммунокомпетентных клеток. В этот период существенный вклад в развитие этой темы внесли А. Martens (2016), А.А. Tarhini (2014), К. Wistuba-Hamprecht (2017) и другие. В Научном отделе онкоиммунологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова под руководством д.м.н. И.А. Балдуевой уже более 20 лет активно изучается иммунологический профиль больных меланомой на фоне различных видов иммунотерапии.

Цель исследования

Улучшение результатов лечения больных диссеминированной меланомой.

Задачи исследования

1. Оценить клиническую эффективность анти-CTLA-4 иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой во 2-й и последующих линиях противоопухолевого лечения.
2. Изучить токсичность иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой.
3. Оценить существующие алгоритмы диагностики и лечения иммуноопосредованных нежелательных явлений у этой категории пациентов.
4. Провести анализ иммунологических показателей периферической крови у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб.
5. Изучить прогностические факторы иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой.

Научная новизна в диссертационной работе

- Изучены эффективность и токсичность анти-CTLA-4 терапии ипилимумабом на популяции больных диссеминированной меланомой.
- Выявлена связь динамики изменения иммунологических показателей до и после терапии ипилимумабом с увеличением продолжительности жизни у больных диссеминированной меланомой по результатам анализа 21 субпопуляции иммунокомпетентных клеток периферической крови.
- Комплексный кластерный анализ динамики показателей иммунного статуса выявил разнонаправленную динамику субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток у больных диссеминированной меланомой на фоне терапии ипилимумабом.
- Многофакторный регрессионный анализ Кокса позволил выделить независимые прогностические факторы, ассоциированные с иммунологическим ответом на терапию ипилимумабом у этой категории больных.
- Полученные результаты позволяют утверждать о важности планирования рандомизированных проспективных клинических исследований с целью подтверждения клинического значения исследованных общеклинических факторов и иммунологических биомаркеров терапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой.

Научная и практическая значимость работы

1. Доказана практическая целесообразность применения анти-CTLA-4 терапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой во 2-й и последующих линиях противоопухолевого лечения.
2. Целесообразно исследование иммунологических показателей периферической крови у больных диссеминированной меланомой на фоне терапии ипилимумабом (двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов) в качестве прогностических маркеров.
3. Разработаны принципы, алгоритмы диагностики и лечения иммуноопосредованных нежелательных явлений, которые внедрены в повседневную клиническую практику с целью оптимизации лекарственного лечения пациентов, получающих иммуноонкологические препараты. Для более детального разбора этих алгоритмов коллективом авторов разработано учебное пособие: «Алгоритмы диагностики и лечения иммуноопосредованных нежелательных явлений».

Материалы и методы исследования

В исследование всего были включены 95 больных диссеминированной меланомой, с признаками прогрессирования опухолевого процесса после как минимум 1-й линии лечебной системной лекарственной терапии, получавших лечение ипилимумабом в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова с сентября 2012 г. по март 2016 г.

Оценка эффективности и токсичности терапии ипилимумабом, а также анализ иммунных статусов проведены у всех включенных в исследование пациентов. Исследование прогностических факторов выполнено у 67 больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб.

Материалом для исследования иммунологических показателей служили свежие образцы периферической крови больных. Оценка содержания субпопуляций иммунокомпетентных клеток проводилась методом проточной цитофлуориметрии.

Данные по рассматриваемым пациентам, получивших лечение ипилимумабом, хранились в базе данных Microsoft Office Access 2010. Статистическую обработку данных проводили с использованием R (ver. 3.5.2).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Анти-CTLA-4 иммунотерапия препаратом ипилимумаб эффективна во 2-й и последующих линиях лекарственной терапии больных диссеминированной меланомой.
2. Терапия ипилимумабом обладает приемлемым и изученным спектром токсичности у пациентов с диссеминированной меланомой. Пол, возраст, индекс массы тела не являлись прогностическими факторами развития токсичности ипилимумаба ($p>0,05$).
3. Общепринятые алгоритмы диагностики и лечения иммуноопосредованных нежелательных явлений применялись при развитии иммуноопосредованной токсичности и оказались эффективными во всех случаях своевременного обращения пациентов, не повлияв на показатели общей выживаемости ($p=0,886$).
4. Увеличение значений двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов (CD3+CD4+CD8+), NK-клеток, активированных NK-клеток (CD3-CD16+56+NKG2D+) по сравнению с исходным уровнем ассоциировались с более низкими показателями общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой на фоне терапии ипилимумабом.
5. При проведении многофакторного анализа системная терапия глюкокортикостероидами на момент начала лечения ипилимумабом, низкий уровень лактатдегидрогеназы и увеличение относительной разницы двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов статистически значимо влияли на показатели общей выживаемости больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб ($p<0,05$).

Степень достоверности и апробации результатов

Основные положения диссертации представлены на VI Международном Молодежном Медицинском Конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения – 2015» (Санкт-Петербург, 2-4 декабря 2015 г.); V Всероссийском конкурсе научных работ молодых ученых (Санкт-Петербург, 25 марта 2015 г.); Научно-практической школе «Меланома кожи: современная диагностика и лечение» (Санкт-Петербург, 22-23 сентября 2016 г.); Научно-практической школе «Современная лекарственная терапия меланомы кожи» (Санкт-Петербург, 15 мая 2017 г.); Научно-практическом семинаре «Актуальные вопросы иммунотерапии солидных опухолей» (Санкт-Петербург, 22 сентября 2017 г.); Научно-практической школе SPOT-Science and Practice in Oncology Training (Санкт-Петербург, 04 декабря 2017 г.); Заседании Общества онкологов Санкт-Петербурга № 516 «Эволюция лекарственной терапии: от гормонотерапии до онкоиммунологии» (Санкт-Петербург, 16 декабря 2017 г.); VII Международном Молодежном Медицинском Конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения – 2017» (Санкт-Петербург,

6-8 декабря 2017 г.); Научно-практической конференции «Комбинированное лечение меланомы кожи: современный взгляд» (Санкт-Петербург, 26-27 апреля 2018 г.); Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы ранней диагностики и лечения опухолей кожи» (Санкт-Петербург, 14 мая 2018 г.); VI Петербургском онкологическом Форуме «Белые ночи – 2018» (Санкт-Петербург, 7 июля 2018 г.); Научно-практической конференции «Актуальные вопросы иммунотерапии солидных опухолей» (Санкт-Петербург, 21-22 сентября 2018 г.); Научно-практической школе SPOT-Science and Practice in Oncology Training (Санкт-Петербург, 05 февраля 2019 г.); 4-ой ежегодной международной онлайн конференции PRISM в рамках конгресса "Меланома и опухоли кожи" Ассоциации специалистов по проблемам меланомы (Москва, 17.05.2019 г.); V Петербургском онкологическом Форуме «Белые ночи – 2019» (Санкт-Петербург, 22 июня 2019 г.).

Личный вклад автора

Автор лично принимала участие в определении лечебной тактики, объема обследования, иммунологических исследованиях, коррекции осложнений лечения и дальнейшем наблюдении за больными диссеминированной меланомой, получавшим анти-CTLA-4 иммунотерапию ипилимумабом в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России. Автором самостоятельно выполнен сбор данных, статистическая обработка и анализ полученных результатов, на основании чего сформулированы заключение и выводы по материалам исследования. На разных этапах работы полученные результаты подготавливались для публикации и представления на научно-практических мероприятиях различного уровня.

Публикации

По результатам диссертации опубликовано 13 печатных работ соискателя, в том числе 6 статей – в журналах, рекомендованных ВАК МОН РФ для соискателей ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 132 страницах и состоит из 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 219 источников, из них 20 отечественных и 199 зарубежных изданий. Диссертация содержит 17 таблиц и иллюстрирована 39 рисунками.

Глава 1
СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ АНТИ-СТЛА-4
ИММУНОТЕРАПИИ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМЫ
(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Меланома – это опухоль нейроэктодермального происхождения, возникающая в результате злокачественной трансформации пигментных клеток меланоцитов, в норме отвечающих за окрашивание глаз, кожи и волос человека благодаря продуцированию меланина. Опухоль преимущественно локализуется в коже, значительно реже в сетчатке глаза, на слизистых оболочках, на связках и апоневрозах, встречается во всех возрастных группах, в том числе у детей и подростков. Меланома является одной из наиболее злокачественных опухолей человека, характеризующаяся частым рецидивированием и метастазированием лимфогенным и гематогенным путём почти во все органы. Общеизвестным этиологическим фактором меланомы кожи является избыточное ультрафиолетовое излучение, повреждающее меланоциты кожи. К факторам риска меланомы кожи относятся фототип кожи населения и уровень солнечной экспозиции в регионе проживания [29].

На протяжении последних десятилетий в мире отмечается неуклонный рост заболеваемости меланомой кожи, а ежегодный прирост заболеваемости составляет 3-7% [39, 158, 183]. Так, в США, Великобритании, Швеции и Норвегии число случаев меланомы увеличилось более чем на 3% за последние несколько лет. По оценкам ряда авторов, такая тенденция сохранится по крайней мере до 2022 г. [218]. На территории Российской Федерации меланома является одной из ведущих локализаций в общей (оба пола) структуре онкологической заболеваемости – 14,4%. В 2017 г. зарегистрировано 4 351 новых случаев впервые в жизни установленного диагноза меланомы кожи, при этом «грубый» показатель заболеваемости в 2017 г. составил 7,13 на 100 000 населения (6,39 для мужчин и 8,65 для женщин), среднегодовой темп прироста находился на уровне 3,3%, а прирост за 10-летний период составил – 40,26%. Стандартизированный показатель заболеваемости в 2017 г. находился в пределах 4,51-4,93 у мужчин и женщин соответственно на 100 000 населения. Кумулятивный риск развития меланомы кожи в 2017 г. у обоих полов составил 0,55%. Средний возраст больных меланомой с впервые в жизни установленным диагнозом составил 61,6 лет. Наибольшее абсолютное число заболевших меланомой кожи зарегистрировано в 2017 г. в возрастном диапазоне 65-69 лет – 1 611 случаев. Следует отметить рост заболеваемости среди лиц молодого возраста. Наибольший удельный вес заболеваемости в 2017 г. отмечен в возрасте

25-29 лет. У всех заболевших в возрасте до 30 лет меланома развивается в 5,4% случаев [6]. Стандартизированный показатель заболеваемости населения Северо-Западного Федерального округа России меланомой кожи за 2016 г. находился в пределах 5,11-5,06 у мужчин и женщин соответственно на 100 000 населения. В структуре онкологической заболеваемости населения Северо-Западного Федерального округа России в 2017 г. зарегистрировано 813 случаев первичного установления диагноза меланома (оба пола) – 2,29%, в Санкт-Петербурге – 591 случай (2,25%) [7]. Меланома составляет не более 4% всех новообразований кожи, но на её долю приходится примерно 80% случаев летальных исходов. Общая 5-летняя выживаемость пациентов, имеющих отдаленные метастазы, составляет менее 5% [205]. Индивидуальный риск смерти при данной патологии составляет примерно 2% [135]. Смертность от меланомы в Российской Федерации в 2017 г. составила 3 713 человек, а Северо-Западном Федеральном округе – 472 случая [6]. Если при ранней стадии заболевания 5-летняя выживаемость превышает 90%, то при II стадии составляет около 65%, при локально-регионарной стадии (III) снижается до 45%, а при метастатической (IV стадия) не превышает 10%. К сожалению, в России около 19-25% пациентов на момент постановки диагноза имеют запущенную стадию (III-IV) заболевания [2, 6].

Применение системной химиотерапии с использованием дакарбазина и других стандартных цитостатических агентов ни в одном из исследований не показало влияния на общую выживаемость больных неоперабельной или метастатической меланомой [133, 187, 207]. Высокая агрессивность, раннее возникновение отдаленных метастазов, резистентность к стандартной цитостатической терапии, крайне неблагоприятный прогноз наряду с преимущественным поражением лиц молодого и среднего возраста обуславливают чрезвычайную социальную значимость поиска эффективных способов лечения данного заболевания. Благодаря достижениям фундаментальных наук в настоящее время наблюдается определенный «прорыв» в познаниях о биологии меланомы. За последние годы удалось расшифровать сложный молекулярно-генетический профиль меланомы и показать, насколько гетерогенна опухоль; открыты новые пути сигнальной трансдукции, определены и изучаются молекулярные мишени таргетной терапии [14, 91]. В настоящее время вызывает особый интерес направление, изучающее влияние иммунной системы на канцерогенез и механизмы, связанные с ускользанием опухоли от иммунологического надзора [34, 58, 179].

Меланома – иммуногенная опухоль. В отличие от других часто встречающихся разновидностей опухолей, меланомы нередко демонстрируют склонность индуцировать иммунный ответ. В частности, в ткани меланом часто присутствует лимфоцитарная инфильтрация, причём выраженность этого феномена коррелирует с прогнозом заболевания [215]. Именно для меланом отмечены достоверные случаи спонтанного регресса заболевания

[132]. Данный процесс обусловлен инфильтрацией опухоли иммунокомпетентными клетками, что подтверждается клиническими исследованиями, обнаружившими выраженную лимфоидную инфильтрацию у больных со спонтанной регрессией меланомы [70, 134, 185]. Часть меланом экспрессирует специфические антигены, которые могут использоваться в качестве эффективных мишеней для различных видов иммунотерапии [180, 212]. Кроме того, меланома относится к опухолям с большим количеством соматических мутаций. Считается, что большее число соматических мутаций увеличивает вероятность появления неоантигенов – аминокислотных последовательностей, которые в норме не встречаются в нормальных тканях, а потому могут служить сигналом для распознавания иммунной системы [138].

Экспериментальные исследования, которые проводились с 1987 г., показали высокую значимость антигена цитотоксических Т-лимфоцитов 4 класса (CTLA-4) в качестве мишени для иммунотерапии [21, 108, 157]. CTLA-4 блокирует инициацию иммунного ответа на этапе активации наивных Т-лимфоцитов в лимфатическом узле, экспрессируется главным образом на поверхности иммунных клеток, но может обнаруживаться и на опухолевых клетках [136, 150, 176]. Ключевым событием, давшим толчок к развитию исследований в области иммуноонкологии, стало открытие J. Allison в 1995 г. активирующего влияния на развитие Т-клеточного ответа блокады рецептора CTLA-4 [125]. Это открытие изменило взгляд исследователей на иммунотерапию. Если ранее все изучавшиеся подходы предполагали попытки стимулировать иммунный ответ, то теперь на первый план вышло удаление угнетающих факторов его развития, так называемых блокаторов иммунного ответа или иммунологического синапса [9, 166]. Важнейшей отличительной особенностью нового направления следует считать его универсальность, которая подтверждается эффективностью препаратов при различных злокачественных опухолях. Первоначально эффективность их применения была продемонстрирована у больных нерезектабельной меланомой. В частности, антитела против CTLA-4 были оценены в ранних клинических исследованиях для лечения других злокачественных новообразований, таких как рак предстательной железы, почечно-клеточный рак, неходжкинская лимфома и немелкоклеточный рак легкого [22, 113, 155].

В стандарты лечения меланомы уже давно входят такие неспецифические иммуномодуляторы, как интерлейкин-2 и альфа-интерферон, которые применяются в качестве адъювантной или лечебной монотерапии, комбинированной химиоиммунотерапии [28, 68, 98, 112, 165, 186, 190]. Однако результаты исследований различных иммунологических подходов, включавших, в частности, цитокины, ЛАК-клетки, вакцины, весьма скромные [76]. В 2011 г. арсенал лекарственной терапии метастатической меланомы кожи существенно расширился за счет включения такого эффективного препарата, как ипилимумаб.

Ипилимуаб (ИПИ) представляет собой человеческое моноклональное антитело класса иммуноглобулинов G1 (IgG1) к четвертому антигену цитотоксических-лимфоцитов (CTLA4) [109]. Этот препарат является первым зарегистрированным представителем нового класса противоопухолевых средств – блокаторов негативных (тормозных) сигналов в иммунологическом синапсе. Уникальная особенность препарата состоит в том, что он воздействует не на опухоль, а на иммунную систему пациента, возвращая ей способность контроля над опухолью. Известно, что для активации Т-лимфоцита необходима презентация специфического для него антигена в контексте молекулы главного комплекса гистосовместимости. Результат такого взаимодействия зависит от ко-стимулирующих молекул на поверхности антиген-презентирующей клетки и Т-лимфоцита. Одной из таких молекул является CTLA-4. Этот рецептор конкурирует с рецептором CD28 за связывание с антигеном CD80 на поверхности Т-лимфоцита. В результате взаимодействия CD28 и CD80 происходит активация Т-лимфоцита. CTLA-4 имеет более высокую аффинность к CD80. Их связывание приводит к остановке иммунного ответа и гибели лимфоцита [52]. CTLA-4 постоянно экспрессируется только на CD4+CD25+-регуляторных клетках, в то время как на активированных Т-клетках его экспрессия подвергается индукции [196].

В рамках ряда клинических исследований I-II фазы было продемонстрировано, что ипилимуаб у 20-30% больных диссеминированной меланомой обеспечивает длительные объективные ответы и стабилизации, увеличение времени без прогрессирования и общей выживаемости [25, 75]. ИПИ оказался первым препаратом, успешно показавшим возможность увеличения выживаемости больных диссеминированной меланомой с помощью иммунотерапии в исследовании III фазы [109]. В этом исследовании ИПИ вводился в дозе 3 мг/кг либо в монотерапии, либо в сочетании с вакциной gp100 и сравнивался с монотерапией вакциной gp100. Исследование показало снижение риска смерти больных на 32% и увеличение медианы выживаемости с 6,4 до 10,1 мес. Эти результаты вызвали огромный резонанс в онкологическом сообществе, так как впервые продемонстрировали увеличение общей выживаемости по сравнению с группой сравнения. В качестве контроля была выбрана вакцина gp100, ранее показавшая определенную эффективность при метастатической меланоме.

В регистрационное исследование было включено 676 больных, рандомизация которых проводилась по 3 группам в соотношении 3:1:1. В первой группе (403 больных) пациенты получали ипилимуаб в дозе 3 мг/кг в комбинации с вакциной gp100, во второй группе (137 больных) – ипилимуаб в монорежиме, в 3 контрольной группе (136 больных) использовалась только вакцина. Полученные результаты показали, что ипилимуаб достоверно увеличивал общую выживаемость по сравнению с вакциной. Добавление вакцины к ипилимуабу не привело к увеличению его эффективности – медиана общей выживаемости

(ОВ) в комбинированной группе не отличалась от этого показателя в группе ипилимумаба. Следует отметить тот факт, что среди включенных в исследование пациентов 12% имели метастатическое поражение головного мозга, а 37,6% – повышенный уровень ЛДГ.

В исследовании CA 184-024 (фаза III) сравнивали эффективность комбинаций ИПИ с дакарбазином и дакарбазина с плацебо в первой линии терапии метастатической меланомы. Оказалось, что добавление ИПИ к химиотерапии дакарбазином приводит к увеличению продолжительности жизни. В группе «ипилимуаб + дакарбазин» медиана ОВ составила 11,2 месяца, в группе дакарбазина – 9,1 месяца. Кроме того, медиана длительности терапевтических эффектов в группе «ипилимуаб + дакарбазин» в два раза превысила аналогичный показатель в группе «дакарбазин + плацебо» (19,3 против 8,1 месяца) [120].

Ипилимумаб продемонстрировал активность и у группы пациентов с метастатическим поражением головного мозга. В клиническом исследовании II фазы лечение ИПИ проводили 51 пациенту с метастазами меланомы в головной мозг. Частичный регресс достигнут в четырех случаях, в пяти – стабилизация заболевания. Суммарный контроль над заболеванием составил 18% [168].

На сегодняшний день накоплен большой опыт применения ИПИ у больных метастатической меланомой. При длительном наблюдении ИПИ продемонстрировал не только трехлетнюю, но и пятилетнюю и семилетнюю выживаемость при сохранении удовлетворительного качества жизни [161]. Свыше 4 800 пациентов принимали участие в клинических исследованиях, программах расширенного доступа, а также получали лечение в рамках клинической практики [156]. Согласно имеющимся данным, трехлетняя общая выживаемость больных, получавших ИПИ, достигает 20%, семь лет переживают 17% пациентов. Таким образом, после трех лет наблюдения кривая общей выживаемости выходит на плато. При этом наиболее длительный период наблюдения за пациентами с момента начала терапии ИПИ составил 9,9 года. Важно отметить, что далеко не у всех пациентов, которые пережили трех-, четырех- или пятилетний рубеж, был достигнут полный объективный ответ на лечение. У части из этих больных сохранялись опухолевые очаги по данным инструментальных методов исследования. Подобные наблюдения еще раз демонстрируют, что существующие инструментальные методы (КТ, ПЭТ, МРТ, УЗИ) не всегда отражают реальную динамику течения заболевания [119].

Однако, несмотря на доказанную эффективность, терапия ИПИ обладает широким спектром нежелательных явлений, получивших название иммуноопосредованных (иоНЯ). Развитие нежелательных явлений при терапии иммуноонкологическими препаратами тесно связано с механизмом действия, а именно с подавлением тех процессов в организме, которые обычно отвечают за торможение аутоагрессии иммунной системы против своих же клеток и

тканей. Считается, что основную роль в развитии иоНЯ при проведении иммунотерапии играет гиперактивация Т-лимфоцитов. Однако возможно вовлечение других иммунных клеток и механизмов: активация натуральных киллеров, секреция антител В-лимфоцитами, активация гранулоцитов и экспрессия цитокинов [153]. Аутоиммунное воспаление может возникать в различных органах-мишенях: коже, желудочно-кишечном тракте, печени, почках, гипофизе, щитовидной железе, легких, органах зрения, нервной системе и др. [36, 48, 61, 65]. Таким образом, иммунный ответ может служить источником многообразных аутоиммунных и аллергических расстройств, затрагивающих каждый орган и каждую систему [4, 10].

Так, в исследовании А. Bertrand, у 72% больных диссеминированной меланомой кожи, получавших терапию ипилимумабом, наблюдалось развитие иоНЯ, из них 24% имели тяжелую степень, отмечены летальные исходы менее чем в 1% случаев [104]. Среднее время до наступления НЯ 2-4 степени тяжести составило 6,86 недель от начала лечения, но этот показатель способен варьировать, и иоНЯ могут проявляться через несколько месяцев после окончания лечения [151, 216]. На сегодняшний день считается общепринятым тот факт, что общее количество иоНЯ в клинических исследованиях занижено ввиду сложности их распознавания и регистрации [219]. Особое место занимает выявление в анамнезе иоНЯ при проведении предшествующих линий иммунотерапии. Выраженные осложнения иммунологического лечения в прошлом, как проявления общей реактивности организма, могут быть предвестниками развития серьезных и жизнеугрожающих иоНЯ на фоне терапии ингибиторами контрольных точек [32].

Практически все описанные на сегодня случаи летальных исходов от нежелательных явлений были связаны с поздними обращениями больных или их отказом от своевременного и адекватного лечения, поэтому ранняя диагностика и адекватное лечение нежелательных явлений имеют решающее значение для сведения к минимуму вероятности развития жизнеугрожающих состояний [66]. В настоящее время разработаны алгоритмы лечения иоНЯ, как международные, так и российские, которые дают поэтапные рекомендации по их выявлению и лечению [12, 20, 131].

Внедрение в клиническую практику современных иммунотерапевтических препаратов позволило изменить прогноз для многих больных различными злокачественными новообразованиями. Американское Общество Клинической Онкологии (American Society of Clinical Oncology, ASCO) признало иммунотерапию главным достижением в области онкологии в 2015 г. [31]. А в октябре 2018 г. James P. Allison и Tasuku Honjo получили Нобелевскую премию за разработку методики терапии злокачественных опухолей, которая основана на угнетении тормозных механизмов иммунной системы.

В настоящее время только один препарат – ипилимумаб, ввиду более длительной истории его изучения, демонстрирует впечатляющие результаты длительной выживаемости у пациентов с диссеминированной меланомой. До появления ИПИ 3-х летняя общая выживаемость составляла <20% у больных метастатической меланомой (n=1 158) [15, 158]. Объединенный анализ общей выживаемости больных метастатической меланомой, получавших лечение ипилимумабом, включающий 1 861 пациентов в 10 проспективных и 2 обсервационных исследованиях, демонстрирует 3-х летнюю общую выживаемость на уровне 22%, при этом не сообщается о случаях смерти среди пациентов, переживших более 7 лет (17%) [156]. Поэтому одним из основных научных направлений последних лет является выявление прогностических и предиктивных факторов для прогнозирования течения заболевания и эффективности лечения.

Одним из изучаемых факторов может являться количество ранее проведенных линий терапии. В настоящее время известно, что при проведении каждой последующей линии терапии снижается эффективность лечения [5, 11, 17]. Однако, это было доказано в отношении больных, получающих химиотерапию, в то время как для иммунотерапии подобные данные отсутствуют. Тем не менее, предполагается рациональной меньшая эффективность лечения у ранее интенсивно предлеченных больных.

При рассмотрении возраста в качестве прогностического критерия не было выявлено преимущества какой-либо возрастной группы в отношении эффекта иммунотерапии ипилимумабом. Несколько исследований подтвердили также, что у пожилых пациентов эффективность и переносимость ИПИ были аналогичными общей популяции пациентов [60, 116].

Представляет интерес выявление больных с повышенным риском неблагоприятного течения заболевания на основании молекулярно-генетического профиля опухоли. Около 50% меланом имеют мутации BRAF (более 90% из них V600E) и могут обнаруживаться как в первичном очаге, так и в метастазах [89, 184]. По данным Российской скрининговой программы, мутация BRAF встречается с частотой 60,6% (627 мутаций из 1 035 исследований), чаще у молодых пациентов (до 50 лет – 72,9%, старше 50 лет – 57,1%; p=0,00003). В возрастной группе 30-39 лет частота мутации BRAF достигает 81% [85]. Подавляющее большинство мутаций в гене BRAF определяются в кодоне V600 [184]. По данным литературы отмечен более неблагоприятный прогноз у пациентов с выявленными мутациями в гене BRAF, чем у пациентов без мутаций [62]. В рандомизированном двойном слепом исследовании III фазы CheckMate 067 сравнивалась эффективность применения комбинации ниволумаба и ипилимумаба с монотерапией ниволумабом или ИПИ [58]. При подгрупповом анализе после 3-х лет наблюдения у пациентов с наличием мутации BRAF медиана ОВ не была достигнута в группе комбинации и в группе ниволумаба, а в группе ИПИ составила 24,6 мес. Трехлетняя ОВ

у этих пациентов составила 68% в группе комбинации и 56% в группе ниволумаба. Для пациентов с диким типом BRAF медиана ОВ была достигнута во всех группах (39,1; 35,8 и 18,5 мес. соответственно в группах комбинации, ниволумаба и ипилимумаба) [149]. Представленные данные свидетельствуют, что наличие мутации BRAF не ухудшает эффект иммуноонкологического лечения. Однако, прицельно в качестве прогностического или предиктивного фактора терапии иммуноонкологическими препаратами мутация BRAF не рассматривалась.

Большинство данных, полученных в крупных клинических исследованиях, относится к метастатической меланоме кожи. Пациенты с редкими локализациями распространенной меланомы, как правило, не включаются в подобные исследования. Небольшое число ретроспективных описаний отдельных случаев или серий случаев лечения ингибиторами контрольных точек больных метастатической меланомой слизистых оболочек, которое приводится в литературе, свидетельствует о более низкой частоте ответов на лечение и меньшей выживаемости без прогрессирования у таких пациентов по сравнению с больными меланомой кожи. Так, например, в работе A.N. Shoushtari et al., в которую было включено 35 больных с меланомой слизистых оболочек, были получены следующие результаты: частота объективного ответа на лечение PD-1-ингибитором – 23% (95% ДИ 10-40%); медиана выживаемости без прогрессирования составила 3,9 мес. при медиане периода наблюдения 10,6 мес. [197]. Разочаровывающие результаты были получены в ретроспективной серии наблюдений для метастатической увеальной меланомы: из 56 пациентов 48 (86%) получали предшествующую терапию, причем у 35 (63%) было проведено лечение ипилимумабом. У трех пациентов был зафиксирован объективный ответ на ИПИ, а у 8 – стабилизация заболевания. Тридцать восемь пациентов (68%) получали пембролизумаб, 16 (29%) – ниволумаб, а 2 (4%) – атезолизумаб. Объективный ответ на лечение наблюдался у 2-х пациентов (3,6% (95% ДИ 1,8-22,5%)). Стабилизация (>6 месяцев) наблюдалась у 5 пациентов (9%). Средний показатель времени до прогрессирования составил 2,6 месяца (95% ДИ 2,4-2,8 месяца), а медиана общей выживаемости – 7,6 месяца (95% ДИ 0,7-14,6 месяца) [57]. Таким образом, гистологический тип может являться важным предиктивным маркером успеха иммунотерапии при метастатической меланоме кожи. Однако, как в итальянских, так и в британских Программах Расширенного Доступа были получены данные о возможности лечения ипилимумабом пациентов с метастатической увеальной меланомой, которые были исключены из регистрационного исследования из-за разной биологии опухоли. В обеих программах результаты лечения ипилимумабом у пациентов с увеальной меланомой не отличались от эффектов лечения больных с распространенной меланомой кожи, а 1-летняя общая выживаемость составила 39% и 31% соответственно [56, 117].

На сегодняшний день появляются работы по теме выявления связи между вероятностью развития эффекта терапии и наличием и степенью тяжести иоНЯ. Выявление подобной корреляции актуально для дальнейшего изучения ввиду отсутствия в настоящее время достоверных предиктивных факторов эффективности терапии ингибиторами блокаторов контрольных точек [118, 147, 159, 170, 172].

В мета-анализе 137 клинических исследований, оценивающим различные варианты иммунотерапии рака (в том числе 11 общих иммуностимуляторов, 84 вакцины, 28 моноклональных антител и 16 различных терапевтических групп), также была выявлена связь между витилиго-подобной депигментацией кожи и увеличением общей выживаемости ($p < 0,024$), но корреляция с терапией ингибиторами контрольных точек не была определена однозначно [214]. Витилиго также ассоциировалось с увеличением частоты объективных ответов в группе пациентов с метастатической меланомой, получавших терапию пембролизумабом [35], и общей выживаемости в группе пациентов, получавших ниволумаб [144]. Однако, оба исследования были относительно небольшими, что требует большей доказательной базы для определения того, является ли витилиго предиктором увеличения клинического ответа или общей выживаемости у пациентов, получающих терапию ингибиторами контрольных точек [170].

По данным зарубежных исследователей применение системной терапии глюкокортикостероидами (ГКС) для купирования иоНЯ не приводит к уменьшению противоопухолевого эффекта терапии ингибиторами контрольных точек [162, 170]. Иммунотерапия ингибиторами иммунных контрольных точек приводит к развитию иоНЯ, связанных с противоопухолевым иммунным ответом и опосредованных различными механизмами. IFN- γ , который секретируется активированными CD8⁺ цитотоксическими Т-лимфоцитами, воздействует на моноциты/макрофаги и вызывает синдром выброса цитокинов (IL-6, TNF- α) [64]. Также применение ингибиторов иммунных контрольных точек приводит к элиминации Treg [171], что ассоциировано с увеличением количества эозинофилов в опухоли и индукцией воспаления [79]. При деплеции Treg прекращается их ингибирующее действие на ДК, на которых повышается экспрессия ко-стимуляторных молекул. В результате поляризации иммунного ответа по типу Th2 увеличивается продукция цитокинов 2 типа (IL-4, IL-5 и IL-13), которые способствуют миграции эозинофилов [50], росту и активации тучных клеток, продуцирующих гистамин и простагландины, а также синтезу IgE плазматическими клетками [94], что приводит к развитию иоНЯ. Эозинофилы секретируют вещества, которые являются хемоаттрактантами для этих клеток. Кроме того, под действием IL-4 и TNF- α они продуцируют CCL17 и CCL22 и привлекают Th2. Однако IFN- γ и TNF- α приводят к экспрессии эозинофилами CCL5, CXCL9 и CXCL10, которые способствуют миграции CD8⁺ Т-лимфоцитов,

также под действием IFN- γ опухолеассоциированные макрофаги приобретают фенотип M1, что способствует элиминации опухоли [79]. Простагландины, IL-1 и TNF- α , источником которых являются макрофаги и тучные клетки в тканях, воздействуют на незрелые ДК и приводят к созреванию из них индукторов Th2 иммунного ответа, что повышает количество Th2 лимфоцитов и уровень цитокинов 2 типа, усиливая иоНЯ. В то же время эффект IFN- γ на незрелые ДК заключается в развитии индукторов Th1 иммунного ответа [137].

ГКС используются для лечения иоНЯ, связанных с иммунотерапией. Они блокируют транскрипцию провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6 и TNF- α [67]. Также применение ГКС вызывает апоптоз наивных Т-лимфоцитов и ингибирует их пролиферацию. Клетки эффекторной памяти меньше подвержены апоптозу, индуцированному ГКС, что может быть связано с кислой сфингомиелиназой [26]. ГКС не подавляют цитотоксическую активность активированных CD8⁺ ЦТЛ, их пролиферацию и секрецию IFN- γ [93], что обеспечивает эффективный противоопухолевый ответ. Также показана способность ГКС стимулировать секрецию противовоспалительного цитокина IL-10 CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетками и блокировать продукцию IL-4, IL-5 и IL-13 [94]. Это приводит к снижению содержания цитокинов 2 типа на фоне сохранения секреции IFN- γ (способствует поляризации в направлении Th1) и повышению уровня IL-10. Последний в синергизме с ГКС ингибирует пролиферацию CD4⁺ Т-лимфоцитов [188]. Так как эта популяция клеток включает Treg, их пролиферация также будет ингибирована при применении ГКС, несмотря на то, что IL-10 способствует экспансии Treg в опухоли и тканях [52]. Treg оказывают ингибирующее влияние на ДК, которые приобретают толерогенный фенотип [213], но в присутствии ГКС их эффект будет ослаблен. Однако ГКС напрямую подавляют созревание ДК [92]. Кроме того, было показано, что IL-10 способствует приобретению M2 фенотипа ОАМ и экспрессии ими PD-L1 [194]. Использование ингибиторов PD-1 и PD-L1 будет нейтрализовать эффект этих клеток при сохранении популяции M1 ОАМ, индуцированных IFN- γ .

Таким образом, несмотря на лимфодеплецию и ингибирование созревания ДК, применение ГКС существенно не влияет на противоопухолевый иммунный ответ, опосредованный CD8⁺ клетками эффекторной памяти, подавляя эффект Th2 лимфоцитов и снижая иоНЯ.

Хорошо известно, что воспалительный ответ тесно связан с иммунной резистентностью у онкологических больных. Многие фундаментальные исследования также обнаружили, что воспалительный ответ может способствовать пролиферации и метастазированию опухолей [141, 163]. В клинической практике существует несколько показателей в тестах периферической крови, которые могут отражать уровень воспаления у онкологических больных. К таким показателям можно отнести количество лейкоцитов, нейтрофилов, тромбоцитов,

лактатдегидрогеназу, С-реактивный белок, эозинофилы, а также нейтрофилы. Биологически вероятно, что некоторые обычно доступные маркеры периферической крови, такие как количество лимфоцитов, могут дать представление о функциональной активности иммунной системы и, следовательно, возможном противоопухолевом эффекте на фоне терапии ингибиторами контрольных точек [150]. Если прогностическая роль подобных доступных маркеров периферической крови подтвердится, то их преимущество будет заключаться в том, что они легко применимы в реальной онкологической практике и, следовательно, смогут быстро интегрироваться в процесс принятия клинических решений.

Уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ) характеризует более злокачественный фенотип меланомы кожи и предполагает большую метаболическую активность опухоли. В работах последних лет, применявших иммуногистохимический метод для определения степени экспрессии ЛДГ, была также выявлена связь между толщиной опухоли и экспрессии в ней ЛДГ, что может косвенно свидетельствовать о большей агрессивности клинического течения опухолей с повышением данного маркера в сыворотке крови. По данным ряда зарубежных работ выявлено значительное сокращение общей выживаемости у пациентов, которым проводилось лечение ипилимумабом на исходно высоком уровне ЛДГ, что подтверждает его независимую прогностическую роль [116, 126, 154, 160].

В одной из работ, посвященной поиску прогностических и предиктивных маркеров, исследователи изучали результативность лечения ипилимумабом, используя простые клинические показатели. Авторы определяли три независимых неблагоприятных прогностических фактора: повышенный уровень ЛДГ, общее состояние по шкале ECOG более 0 и количество органов, пораженных метастазами меланомы (>2). Используя эти клинические прогностические факторы, авторы выделяют 3 группы пациентов: благоприятного прогноза (отсутствуют неблагоприятные факторы), группу промежуточного прогноза (1 неблагоприятный фактор) и группу плохого прогноза (более 2 неблагоприятных факторов, $n=73$). Соответственно, 12- и 18-месячная общая выживаемость в этих группах составила 85 и 73% (группа благоприятного прогноза), 41 и 29% (промежуточный прогноз) и 12 и 6% (группа плохого прогноза) ($p<0,001$) [160]. Выделенные факторы не должны использоваться в качестве строгих критериев для отбора пациентов на терапию ипилимумабом в реальной клинической практике, но могут помочь выделить группу пациентов, у которых польза от проводимой терапии может быть наибольшей.

Роль неспецифического индикатора системного воспалительного ответа в организме – С-реактивного белка (СРБ) активно изучается в настоящее время в аспекте применения ипилимумаба. По данным ряда зарубежных работ выявлена корреляция исходного уровня СРБ с общей выживаемостью [83]. Также у пациентов, у которых исходный уровень С-реактивного

белка был 2 мг/л или выше, было отмечено значительное уменьшение времени до прогрессирования заболевания.

Изменения базового и наблюдаемого после начала терапии ИПИ уровня лейкоцитов периферической крови, включая лимфоциты, эозинофилы, нейтрофилы, соотношение нейтрофилов к лимфоцитам и количество моноцитов, являются многообещающими прогностическими маркерами крови, которые показали корреляцию с ответом на терапию иммуноонкологическими препаратами.

По данным литературы, отмечена корреляция между количеством эозинофилов в периферической крови и общей выживаемостью больных неоперабельной меланомой на фоне применения ипилимумаба. Ретроспективный анализ 123 пациентов, получавших ИПИ, показал, что исходное абсолютное количество эозинофилов $\geq 0,1$ и относительное их количество $\geq 1,75\%$ достоверно ассоциировалось с улучшением общей выживаемости ($p=0,002$ и $p<0,0001$ соответственно). Для 119 пациентов медиана общей выживаемости составила 9,7 месяца [173]. Однако полученные данные требуют подтверждения в рамках проведения контролируемых исследований.

Поскольку ИПИ блокирует CTLA-4, экспрессируемый в различных популяциях лимфоцитов, высокий уровень лимфоцитов периферической крови может отражать большую способность иммунной системы развивать сильные противоопухолевые эффекты на фоне терапии ипилимумабом [182]. Потенциальная связь между количеством лимфоцитов и реакцией на ИПИ была исследована в нескольких исследованиях. У пациентов с меланомой, получавших ИПИ, повышенное абсолютное количество лимфоцитов через 2-12 недель после начала лечения было связано с увеличением ответа на терапию и общей выживаемости [82, 104, 110, 182]. Эти результаты были продемонстрированы при изучении небольших когорт в пределах от 51 до 95 пациентов с меланомой, получавших ИПИ. В одном из крупнейших исследований по изучению связи между уровнем лимфоцитов периферической крови и ответом на иммуноонкологическое лечение ($n=616$) не было обнаружено связи с абсолютным количеством лимфоцитов, но увеличение относительного количества на исходном уровне коррелировало с увеличением общей выживаемости [40]. Так же J.D. Wolchok et al. не обнаружили взаимосвязи между повышенным абсолютным количеством лимфоцитов и ответом на иммунотерапию ниволумабом и ИПИ у пациентов с меланомой, хотя исследуемая группа была небольшой ($n=53$) и не оценивалось относительное количество лимфоцитов. Аналогичные несоответствия в результатах были продемонстрированы для количества эозинофилов и нейтрофилов, а также для соотношений нейтрофилов и лимфоцитов [41, 42, 99, 145].

Изменчивость в дизайне исследований затрудняет сравнение их результатов. Например, P.F. Ferrucci и коллеги (2016) провели крупнейшее на сегодняшний день исследование для

оценки влияния уровня лейкоцитов на эффективность лечения ИПИ у пациентов с меланомой (n=720). Исследователям были доступны для анализа только абсолютные подсчеты нейтрофилов и общего количества лейкоцитов, но не подсчет лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и базофилов. Таким образом, целесообразно провести большое исследование, оценивающее все субпопуляции лейкоцитов, чтобы определить наиболее вероятный маркер ответа на терапию или развития токсичности [42].

Ипилимумаб и другие ингибиторы контрольных точек иммунной системы являются новым вариантом лечения меланомы и других распространенных видов рака. Тем не менее, значительная часть пациентов не реагирует на данный вид терапии, в то время как они могут быть подвержены ряду потенциально опасных для жизни иоНЯ. Потенциальные предикторы токсичности ингибиторов контрольных точек были исследованы менее тщательно, чем предикторы ответа. Хотя наличие исходной саркопении и кахексии в последнее время связывают с возникновением тяжелой токсичности, связанной с лечением [199]. По данным нескольких небольших исследований было показано, что у пациентов, получавших ИПИ, на фоне развития иоНЯ наблюдалось расширение Т-клеточного репертуара [106], в то время как увеличение количества эозинофилов также было связано с развитием иоНЯ [63].

Для ИПИ характерно развитие наиболее выраженных иоНЯ со стороны желудочно-кишечного тракта, включающие афтозные стоматиты, эзофагит, гастрит, диарею и колит [78, 115]. Серьезные осложнения, такие как перфорация кишечника, редки, но потенциально смертельны. К сожалению, никаких специфических серологических маркеров для прогноза развития колита на фоне терапии анти-CTLA-4 моноклональных антител до сих пор не выявлено. Исследование стула на фоне развития иммуноопосредованного колита должно быть выполнено для того, чтобы исключить инфекционные причины диареи, и в нескольких докладах рассматривалась потенциальная роль фекальных лейкоцитов и кальпротектина как диагностических или прогностических маркеров [189]. Эндоскопическое исследование показывает воспалительные изменения, но раннее обследование при отсутствии симптомов не имеет прогностического значения.

Начиная с 1908 г., когда Пол Эрлих впервые предположил, что иммунная система способна подавлять канцерогенез [77], и до настоящего времени продолжено изучение внутренних механизмов подавления опухоли, обеспечивающих «иммунологический надзор за раком». Взаимоотношения иммунной системы и злокачественной опухоли представляют собой сложную иерархическую систему, динамически развивающуюся по мере развития опухоли. Существование иммуноредактирования рака в настоящее время является общепринятым понятием, раскрывающим механизмы избегания опухоли от иммунного надзора [97]. Рост опухоли в основном контролируется CD4 и CD8 Т-клетками [102]. Во время развития опухоли

иммуноредактирование рака происходит согласно трем фазам: элиминации, равновесия и ускользания [46, 73, 142, 174]. После клеточной трансформации возникающие опухолевые очаги вызывают иммунный ответ, который специфически устраняет эти очаги, тем самым защищая хозяина от рака; это относится к этапу ликвидации. Однако, если иммунный ответ не способен полностью уничтожить опухоль во время фазы равновесия, но все же предотвращает рост опухоли, процесс неполной элиминации способствует генерации вариантов опухолевых клеток со сниженной иммуногенностью [27]. После этого процесса опухолевые клетки с низкой иммуногенностью способны пролиферировать до объема клинически проявляющейся опухоли. Термин «иммунологический надзор» более применим к ранним стадиям защиты хозяина от опухолевых заболеваний. Концепция иммуноредактирования рака включает в себя не только события на ранних стадиях развития опухоли, но также и последствия этого процесса для формирования иммуногенности растущей опухоли. Процесс иммуноредактирования оказывает существенное влияние на формирование неоантигенного ландшафта опухолей для индукции и расширения иммунных ответов Т-клеток, которые определяют эффективность иммунотерапии [47, 81, 90, 140].

Помимо индуцированного Т-клетками отбора опухолевых клеток с пониженной иммуногенностью, другим важным механизмом, влияющим на опухоль-супрессивные ответы Т-лимфоцитов, является стимуляция дисфункционального состояния, анергии или даже апоптоза иммунных клеток, что также может негативно влиять на эффективность иммунотерапии [124]. При определенных условиях подавление цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL) может быть спровоцировано прямым межклеточным контактом с соответствующей клеткой-мишенью. Опухоли способны подавлять активность Т-клеток после того, как они мигрируют в опухолевую ткань, где они сталкиваются с микроокружением опухоли (ТМЕ). ТМЕ состоит из опухолевых клеток, незлокачественных стромальных клеток, включая сосудистую сеть опухоли, и инфильтрирующих строму иммунных клеток. Перекрестные взаимодействия и механизмы адаптации в этих компонентах ТМЕ во время опухолевой прогрессии приводят к возникновению устойчивости к противоопухолевому иммунитету [121]. Другие иммуносупрессивные механизмы ТМЕ могут приводить к истощению Т-клеток, которое в норме развивается для предотвращения разрушения иммунной системой из-за аутоиммунных реакций, проявляется потерей эффекторной функции и активацией ингибирующих рецепторов [191, 217]. Характерными признаками истощения являются постоянное усиление дисфункции Т-клеток вследствие постоянного воздействия антигена, повышенная экспрессия множественных ингибиторных рецепторов (CTLA-4, PD-1, LAG-3, 2B4, TIM3 и др.), прогрессирующая потеря секреции эффекторных цитокинов (IL-2, интерфероновая гамма, фактора некроза опухоли альфа), нарушенный метаболизм клеток и заметно отличающийся

транскрипционный профиль. Постепенная дисфункция истощенных Т-клеток сопровождается экспрессией рецепторов контрольных точек, которые связывают ингибирующие сигналы с ядром при взаимодействии с лигандами на клетках-мишенях. Истощение может быть обратимым. Одним из путей восстановления эффекторной функции Т-клеток может служить блокирование ингибиторных рецепторов путем применения антагонистических антител, т.е. ингибирование иммунных контрольных точек.

Иммунотерапия рака реализует свой эффект через механизмы активации или реактивации терапевтического противоопухолевого действия в иммунной системе. Существуют различные стратегии для модуляции иммунной системы и для индукции или расширения опухолеспецифических Т-клеток: введение терапевтических противораковых вакцин против опухолевых антигенов [51, 101, 202]; применение цитокинов, таких как ИЛ-2 [181]; клеточная терапия, включая адоптивный перенос опухолево-реактивных лимфоцитов [167] или генетически модифицированных аутологичных Т-клеток, экспрессирующих рецепторы химерных антигенов (CAR), таких как CD19 [169]; использование онколитической виротерапии для стимуляции гибели опухолевых клеток и развития противоопухолевого иммунитета, опосредованного Т-клетками [38, 128, 148, 192]; и иммунная блокада контрольных точек, нацеленная на регуляторные пути Т-клеток [178]. Хотя большинство фармацевтических препаратов используются в готовом виде, последний подход обеспечивает привлекательный вариант лечения, обусловленный терапевтическим эффектом на иммунную систему, который стимулирует ответы Т-клеток и впоследствии направлен преимущественно на отдельные неоантигены опухоли [139, 175].

На сегодняшний день понимание иммунологического взаимодействия в системе «опухоль-хозяин» базируется на многочисленных работах, посвященных изучению лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TIL). Существуют многочисленные исследования, убедительно показывающие, что степень инфильтрации опухоли лимфоцитами определяет прогноз течения заболевания и выживаемость больных с различными нозологическими формами онкологических заболеваний [152, 200, 210, 211]. Увеличение числа TIL в опухоли в процессе лечения положительно коррелирует с эффективностью ИПИ [24].

Из-за методологической сложности определения циркулирующих субпопуляций Т-лимфоцитов периферической крови до настоящего времени не установлено клинически значимых иммунологических показателей, достоверно прогнозирующих клинический исход после лечения ипилимуабом. Такие биомаркеры могут быть полезны для выбора пациентов, которые могут получить наибольший эффект от иммунотерапии, и наоборот, для направления пациентов с низким шансом на альтернативное лечение.

В ранних исследованиях с применением ИПИ сообщалось о корреляции между благоприятным клиническим исходом и возникновением аутоиммунитета после приема ипилимумаба [37, 159]. Ипилимумаб действует опосредованно через иммунные клетки, позволяя активировать Т-лимфоциты: CD4 + Т-хелперные клетки [193], CD8 + цитотоксические Т-клетки [111, 206] нацелены на ассоциированные с меланомой антигены [88] или неоантигены [90, 209] и способны атаковать раковые клетки, реализуя эффект ИПИ.

Т-регуляторные клетки (Tregs) конститутивно экспрессируют большие количества CTLA-4 [87] на их поверхности, что делает их прямыми потенциальными мишенями ипилимумаба. Однако, имеются противоречивые данные о динамических изменениях частоты циркулирующих Tregs и их влиянии на исход лечения ИПИ [103, 107]. Базовые изменения в регуляторных Т-клетках в нескольких исследованиях были связаны с ответом на терапию ипилимумабом. В комбинированной модели высокое абсолютное количество эозинофилов, относительное количество лимфоцитов и CD4 + CD25 + FoxP3 + Treg на момент начала лечения было связаны с лучшей выживаемостью пациентов метастатической меланомой, получавших ипилимумаб. У 43,5% пациентов с наилучшей сигнатурой биомаркера частота ответа составила 30%, а медиана выживаемости – 16 месяцев. Напротив, пациенты с худшими биомаркерами (27,5%) имели только 3% ответов и медиану выживаемости 4 месяца [43].

Для клеточного иммунитета взаимоотношения между CD4 и CD8 Т-клетками при подавлении опухоли являются особой характеристикой иммунной системы, поскольку взаимодействия между CD4 и CD8 Т-клетками происходят под воздействием как адаптивного плеча иммунной системы, так и требуют антигенной стимуляции обеих Т-клеточных популяций для запуска противоопухолевого иммунитета. В более широком смысле перекрестные взаимодействия этих Т-лимфоцитов являются частью ракового иммунного цикла [45, 53]. При динамическом изучении иммунологических параметров на фоне лечения ИПИ отмечено, что раннее увеличение абсолютного числа лимфоцитов в сочетании с отсроченным увеличением частоты CD4 + и CD8 + Т-клеток характеризуют пациентов с наилучшим эффектом. Пациенты с отсроченным увеличением CD8 + Т-клеток в дополнение к увеличению абсолютного числа лимфоцитов и CD4 + Т-клеток имели 1-летнюю общую выживаемость 93,3% и частоту развития клинического ответа на терапии ИПИ 71,4% [110].

В некоторых исследованиях авторы представляют данные о том, что не только Т-клеточные популяции, но и CD3⁻ лимфоциты необходимы для развития эффекта ИПИ в ранней фазе лечения. В качестве возможных кандидатов на эти CD3⁻ клетки рассматриваются В-лимфоциты и естественные клетки-киллеры (NK). В клиническом исследовании T.L. Frankel et al. у пациента наблюдалась регрессия нескольких метастазов рака поджелудочной железы после введения ипилимумаба. Исследователи стремились охарактеризовать иммунные клетки,

ответственные за эту регрессию, изучив опухоль инфильтрирующие лимфоциты (TIL) из регрессировавшего метастатического очага, иссеченного у этого пациента. В TIL преобладали NK-клетки (92% – CD56+) с небольшим количеством T-клеток (12% – CD3+). Большинство (88%) NK-клеток были CD56brightCD16-. После клеточной сортировки TIL выделенная субпопуляция CD56+CD16-CD3- показала реактивность и цитотоксичность аутологичной опухоли, а также клеточных линий рака поджелудочной железы и предстательной железы. Результаты этого исследования представляют собой первое сообщение об очевидной специфичности CD56+CD16- NK-клеток к клеточным линиям рака поджелудочной железы и предстательной железы, связанное с регрессией опухоли после лечения иммуномодулирующим агентом [100]. В других исследованиях было показано, что ИПИ запускает антителозависимую клеточную цитотоксичность клеточных линий меланомы, экспрессирующих CTLA-4, через высвобождение TNF α клетками CD16⁺NK [198] и может провоцировать лизис Treg через неклассические CD16⁺ моноциты [114]. А низкие уровни CD20⁺ В-клеток, инфильтрирующих опухоль на момент начала и после лечения, ассоциировались с худшим прогнозом у пациентов с меланомой, получавших ИПИ [103]. Необходимы дальнейшие исследования, которые помогут в изучении В-клеток и NK-клеток, чтобы охарактеризовать их потенциальную роль в качестве биомаркеров при терапии ИПИ.

В настоящее время только около 20% пролеченных ИПИ пациентов с метастатическими формами меланомы имеют стойкий длительный ответ, в то время как все пациенты потенциально подвержены риску побочных эффектов. Поэтому помимо изучения общеклинических прогностических и предиктивных маркеров эффективности терапии ипилимумабом существует острая необходимость в поиске надежных предсказательных биомаркеров периферической крови, так как они могут влиять на выбор или последовательность лечения, если будут определены до начала лечения. Кроме того, исходные биомаркеры при сравнении с более поздними значениями на фоне лечения, могут выявить изменения, способные потенциально предсказать побочные эффекты или эффект терапии до того, как выполнена рентгенологическая оценка. Эти суррогатные маркеры могут помочь решить клиническую задачу, продолжать ли текущее лечение или перейти на альтернативные варианты на ранней стадии. Конкретные изменения, происходящие во время лечения, могут служить предсказательными факторами получения пользы от применяемого препарата.

Глава 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материал

В исследование всего были включены 95 больных диссеминированной меланомой, с признаками прогрессирования опухолевого процесса после как минимум 1-й линии лечебной системной лекарственной терапии, получавших лечение ИПИ в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова с сентября 2012 г. по март 2016 г.

От всех пациентов или их законных представителей было получено письменное добровольное информированное согласие на проведение анти-CTLA-4 иммунотерапии препаратом ИПИ.

2.1.1 Характеристика пациентов, включенных в исследование

Для участия в исследовании после подписания информированного согласия рассматривался 141 пациент с установленным диагнозом меланомы неоперабельной III и IV стадий, из которых 95 пациентов смогли получить анти-CTLA-4 иммунотерапии ИПИ, так как они подходили по критериям включения и не соответствовали критериям исключения из исследования.

Критерии включения в исследование:

- морфологически верифицированный диагноз диссеминированной или местно распространенной нерезектабельной меланомы;
- проведение ранее как минимум 1 лечебной линии системной противоопухолевой терапии;
- ECOG оценка 0-2;
- возраст ≥ 18 лет;
- Ожидаемая продолжительность жизни 2 месяца и более;
- адекватная сердечная функция (\leq XCH II ФК класс по NYHA), компенсированная гипертоническая болезнь \leq II стадии или артериальная гипертензия ≤ 2 степени;
- адекватная гемопозитическая функция на момент начала лечения: абсолютное содержание нейтрофилов (ANC) $\geq 1,5 \times 10^9$ /л; тромбоциты $\geq 100 \times 10^9$ /л; уровень гемоглобина ≥ 90 г/л;

- адекватная функция печени (отсутствие повышения трансаминаз и билирубина более 1 ст. (NCICTCAE v4.0), за исключением пациентов с метастатическим поражением печени, у которых допустима 2 ст. повышения указанных показателей);
- адекватная функция почек: креатинин в периферической крови ≤ 115 мкмоль/л или клиренс более 50 мл/мин;
- согласие пациентов применять надежные методы контрацепции на протяжении всего исследования;
- наличие добровольно подписанного пациентом или его законным представителем информированного согласия на проведение анти-CTLA-4 иммунотерапии препаратом ИПИ.

Критерии исключения из исследования:

- наличие непролеченных путем проведения лучевой терапии на весь объем головного мозга или стереотаксической лучевой терапии метастазов в головном мозге или его оболочках; наличие неврологической симптоматики отека головного мозга;
- вторичный (приобретенный) иммунодефицит (по клинико-лабораторным данным), наличие активных гепатитов В и С;
- неконтролируемое инфекционное заболевание или другое тяжелое сопутствующее заболевание;
- ECOG 3 и более;
- беременность и лактация;
- участие в любом клиническом исследовании лекарственного или иммунобиологического препарата;
- аллергическая реакция на препарат.

В исследование вошли 5 пациентов с меланомой редких локализаций: увеальная меланома – 3 пациента, меланома слизистых – 2 пациента. Только у 1-го больного на момент начала терапии отмечалась III стадия без отдалённых метастазов. Остальные больные получали лечение по поводу IV стадии заболевания. Стадирование проводилось в соответствии с классификацией TNM 7 издание 2009 г. [84]. Как видно из табл. 1, при этом подстадия M1a наблюдалась у 10,5% больных, M1b – у 12,6%, а M1c (метастазы в печени, головном мозге, костях или распространение в любые отдаленные органы с повышением уровня лактатдегидрогеназы (ЛДГ)) – у 75,8% больных, что считается неблагоприятной локализацией отдаленных метастазов для проведения иммунотерапии. Метастатическое поражение головного мозга в нашем исследовании на момент начала терапии ИПИ было выявлено у 24 (25,3%) больных диссеминированной меланомой.

Таблица 1 – Характеристика пациентов, включенных в исследование

Характеристика	Абс. число	%
Всего больных	95	100
Меланома кожи	86	90,53
Меланома без первично выявленного очага	4	4,21
Увеальная меланома	3	3,16
Меланома слизистых	2	2,11
Пол:		
Мужской	51	53,68
Женский	44	46,32
Средний возраст	53 года	
Диапазон	18-77 лет	
Линия лечения:		
1	7	8,42
2	58	61,05
3	18	18,95
4	9	9,47
5	2	2,11
6	1	1,05
Линия иммунотерапии:		
1	45	47,37
2	33	34,74
3	11	11,58
4-7	6	6,32
Стадия заболевания:		
ШС	1	1,05
M1a	10	10,53
M1b	12	12,63
M1c	72	75,79
Мутация BRAF		
Есть	43	45,26
Нет	27	28,42
Не определялась	25	26,32

Продолжение таблицы 1

Характеристика	Абс. число	%
ECOG		
0	60	63,16
1	30	31,58
2	5	5,26
3	0	0

У 56 больных (58,9%) отмечалось повышение уровня ЛДГ выше референсных значений до начала и в период терапии ИПИ, что является прогностически неблагоприятным маркером течения заболевания, из них у 24 (25,2%) пациентов повышение уровня ЛДГ было зафиксировано в 2 раза выше верхней границы нормы (ВГН).

Из 95 больных, включенных в исследование, молекулярно-генетическое тестирование на наличие мутации в гене BRAF проведено у 70 пациентов (73,6%), у 25 больных (26,3%) анализ не проведен. В нашем исследовании у 45,3% больных определена мутация BRAF, мутация NRAS выявлена у 4 пациентов. Пациентов с мутацией C-kit не было выявлено. В рамках исследования терапия ИПИ проводилась во 2-й линии системного противоопухолевого лечения вне зависимости от молекулярно-генетического статуса и факта проведения терапии ингибиторами тирозинкиназы в 1-й линии терапии.

Все больные ранее получили от 1 до 6 линий лекарственной терапии (химиотерапия, таргетная терапия, иммунотерапия). Линии иммунотерапии включают и ранее проведенную адъювантную иммунотерапию, и лечебные иммунологические режимы. В 1 линии системного лекарственного лечения 7 пациентов получали терапию ИПИ, что обусловлено проведением химиотерапии в адъювантном режиме.

На рис. 1 представлена методика лечения ИПИ в рамках исследования. В рамках программы ИПИ вводился в дозе 3 мг/кг 1 раз в 21 день. Препарат разводили в 200 мл 0,9% раствора NaCl. Время введения у всех пациентов составляло 90 минут. Проведение премедикации перед началом введения ИПИ не требовалось согласно данным официальной инструкции к препарату. Всего каждому пациенту проводилось до 4 введений препарата – индукционный курс лечения. Лечение продолжали до достижения 4 циклов терапии, появления достоверных признаков прогрессирования процесса (в сочетании с симптоматическим ухудшением состояния больного) или непереносимой токсичности лечения. В случае достижения клинического эффекта (т.е. отсутствия признаков прогрессирования болезни) после окончания терапии (после 12 недель лечения) и развития прогрессирования процесса

впоследствии допускалось повторное включение больного в данную программу (реиндукция эффекта). Из 95 больных реиндукцию получили 6 больных. При наличии признаков прогрессирования процесса по системе RECIST v1.1 [143], в случае отсутствия при этом клинических признаков ухудшения состояния, проводилась повторная оценка эффективности через 1 мес. Следующая линия терапии начиналась только при подтверждении дальнейшего прогрессирования процесса.

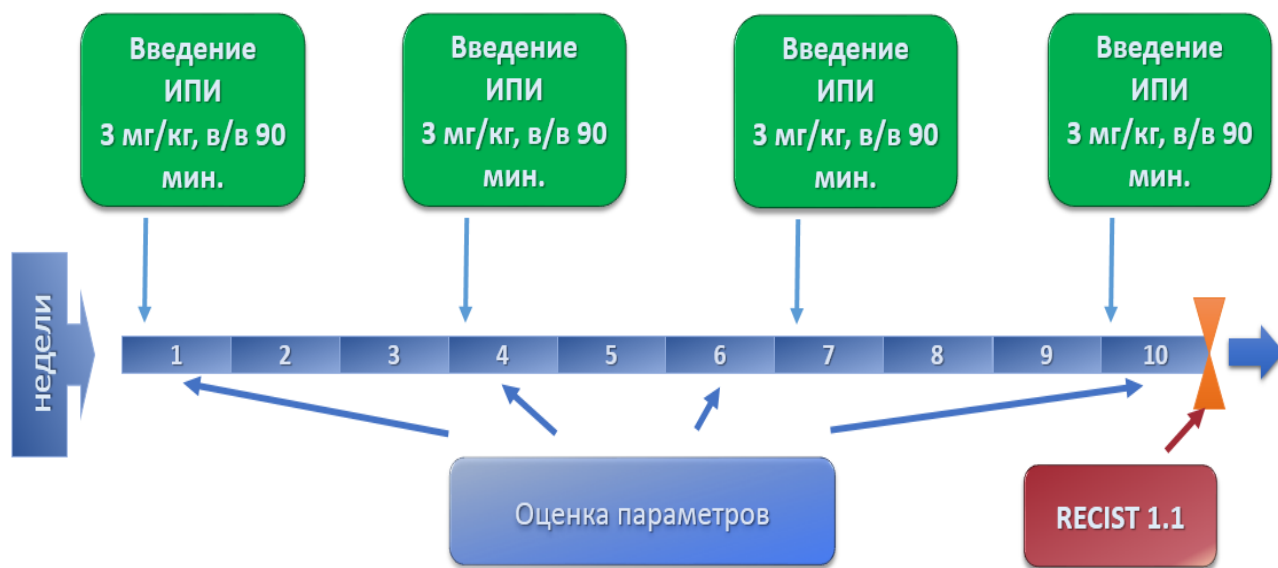


Рисунок 1 – Методика лечения ипилимумабом в рамках исследования

У 95 больных проведено 315 введений ИПИ в рамках индукционного лечения (в среднем – 3,3): 58 больных (61,1%) получили 4 введения препарата, 16 (16,8%) – 3 введения, 14 (14,7%) – 2 введения и по 1 введению – 7 пациентов (7,4%).

Перед каждым введением проводилась оценка следующих параметров периферической крови: клинического анализа крови с подсчетом количества тромбоцитов и лейкоцитарной формулы, биохимического анализа крови (общий белок, альбумин, щелочная фосфатаза, амилаза, АСТ, АЛТ, билирубин общий, прямой билирубин, креатинин, глюкоза, липаза, мочевины, мочевая кислота, калий, натрий, кальций, С-реактивный белок, ЛДГ), оценка функции щитовидной железы (ТТГ, свТ4), общий анализ мочи, иммунологическое обследование в объеме 18 показателей. Исследование иммунологических показателей проводили с помощью метода проточной цитофлуориметрии (см. Методы, пункт 2.2.3). Далее установленное в том же объеме клинико-биохимическое и иммунологическое обследование проводилось при первой рентгенологической оценке эффекта иммунотерапии ИПИ (на 12

неделе от начала лечения) и в период динамического наблюдения за пациентом при достижении объективного ответа в интервале 1 раз в 3 месяца.

При возникновении нежелательных явлений объем дообследования соответствовал диагностическому минимуму, необходимому для верификации осложнений лечения.

Для оценки клинической эффективности иммунотерапии ИПИ использовали критерии RECIST 1.1. Оценка нежелательных явлений проводилась по шкале токсичности СТСАЕ v.4.03 [59].

2.2 Методы

2.2.1 Оценка эффективности иммунотерапии ипилимумабом

Оценка эффективности лечения ИПИ проводилась у 95 больных диссеминированной меланомой по системе RECIST 1.1. Оценка времени до прогрессирования заболевания (ВДП) проводилась от начала терапии до первых признаков прогрессирования или до смерти больного от основного заболевания. Оценка общей выживаемости (ОВ) проводилась от начала терапии до смерти больного от любой причины. Под объективным ответом (ОО) понимали полный или частичный регресс, оценённый по системе RECIST 1.1. Под клиническим эффектом (КЭ) понимали полный регресс, частичный регресс и стабилизацию опухолевого процесса по системе RECIST 1.1. Минимальное время наблюдения за больными составило 36 мес., максимальное время наблюдения – 73,63 мес., медиана времени наблюдения – 10,27 мес. При анализе ВДП и ОВ цензурировано 21% и 16,8% наблюдений, соответственно. Проводился не прямой сравнительный анализ эффекта иммунотерапии ИПИ с результатами регистрационного исследования препарата ипилимумаб F.S. Hodi et al. (2010) [109]. Характеристика больных в группе сравнения представлена в табл. 2.

Таблица 2 – Характеристика пациентов, включенных в группу сравнения (F.S. Hodi et al., 2010 г.)

Характеристика	Абс. число	%
Всего больных	137	100
Пол:		
Мужской	81	59,12
Женский	56	40,88
Средний возраст	56,8 лет	

Продолжение таблицы 2

Характеристика	Абс. число	%
Стадия заболевания:		
III	1	0,73
M1a	14	10,22
M1b	22	16,06
M1c	100	72,99
Уровень ЛДГ на момент начала лечения		
≤ВГН	84	61,31
>ВГН	53	38,69
ECOG		
0	72	52,55
1	64	46,72
2	1	0,73
3	0	0

2.2.2 Оценка токсичности иммунотерапии ипилимумабом

У 95 больных диссеминированной меланомой, получавших ИПИ, проводилась оценка нежелательных явлений по шкале токсичности СТСАЕ v.4.03. Оценка частоты возникновения нежелательных явлений иммунотерапии ИПИ сравнивалась с результатами регистрационного исследования препарата ипилимумаб F.S. Nodi et al. (2010). Описание групп нежелательных явлений в группе сравнения представлена в табл. 3.

Таблица 3 – Нежелательные явления терапии ипилимумабом в группе сравнения (F.S. Nodi et al., 2010 г.)

Группы нежелательных явлений (НЯ)	Все НЯ, n (%)	3 степень выраженности, n (%)	4 степень выраженности, n (%)
Общее количество	127 (96,9)	49 (37,4)	11 (8,4)
НЯ, связанные с терапией	105 (80,2)	25 (19,1)	5 (3,8)

Продолжение таблицы 3

Группы нежелательных явлений (НЯ)	Все НЯ, n (%)	3 степень выраженности, n (%)	4 степень выраженности, n (%)
Слабость	55 (42,0)	9 (6,9)	0
Анорексия	35 (26,7)	2 (1,5)	35 (26,7)
Лихорадка	16 (12,2)	0	0
Головная боль	19 (14,5)	3 (2,3)	0
Кашель	21 (16,0)	0	0
Одышка	19 (14,5)	4 (3,1)	1 (0,8)
Анемия	15 (11,5)	4 (3,1)	0
Иммунноопосредованные НЯ (иоНЯ)	80 (61,1)	16 (12,2)	3 (2,3)
Дерматологические иоНЯ	57 (43,5)	2 (1,5)	0
Зуд	32 (24,4)	0	0
Сыпь	25 (19,1)	1 (0,8)	0
Витилиго	3 (2,3)	0	0
Желудочно-кишечные иоНЯ	38 (29,0)	10 (7,6)	0
Диарея	36 (27,5)	6 (4,6)	0
Колит	10 (7,6)	7 (5,3)	0
Эндокринные иоНЯ	10 (7,6)	3 (2,3)	2 (1,5)
Гипотиреоз	2 (1,5)	0	0
Гипопитуитаризм	3 (2,3)	1 (0,8)	1 (0,8)
Гипофизит	2 (1,5)	2 (1,5)	0
Надпочечниковая недостаточность	2 (1,5)	0	0
Печеночные иоНЯ	5 (3,8)	0	0
Повышение АЛТ	2 (1,5)	0	0
Повышение АСТ	1 (0,8)	0	0
Гепатиты	1 (0,8)	0	0
Другие	6 (4,6)	2 (1,5)	1 (0,8)

2.2.2.1 Оценка влияния пола, возраста и индекса массы тела на частоту возникновения иммуноопосредованных нежелательных явлений 3-4 степени тяжести на фоне терапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой

Проводилась оценка влияния пола, возраста и индекса массы тела (ИМТ) на частоту возникновения иоНЯ 3-4 ст. тяжести. Анализ проведен у 91 из 95 пациентов ввиду исключения 4 пациентов с НЯ 5 степени тяжести с летальным исходом, связь тонатогенеза которых с проводимым лечением невозможно исключить или подтвердить полностью.

Оценка влияния ИМТ на частоту возникновения иммуноопосредованных нежелательных явлений 3-4 ст. тяжести проведена у 64 пациентов ввиду отсутствия клинических данных по данным медицинской документации о росте пациентов, необходимого для расчета данного показателя.

2.2.3 Оценка содержания субпопуляций иммунокомпетентных клеток периферической крови методом проточной цитофлуориметрии у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

Проведен графический анализ показателей иммунных статусов у 95 больных диссеминированной меланомой, получавших ИПИ в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Интерпретации подвергался результат сравнения иммунологических показателей перед 1 введением ИПИ с данными последних перед оценкой эффекта ИПИ тестов. Фенотипы определяемых субпопуляций иммунологических показателей представлены в табл. 4.

Таблица 4 – Основные субпопуляции иммунокомпетентных клеток и их фенотип

Номер	Показатель	Фенотип
1	Т- лимфоциты	CD3+CD19-
2	В- лимфоциты	CD3- CD19+
3	Т- хелперы	CD3+CD4+
4	Активированные Т-хелперы	CD3+CD4+CD25+

Продолжение таблицы 4

Номер	Показатель	Фенотип
5	Активированные CD38+ Т-хелперы	CD3+CD38+CD4+
6	Цитотоксические Т-лимфоциты	CD3+CD8+
7	Активированные CD38+ цитотоксические Т-лимфоциты	CD3+CD38+CD8+
8	Активированные NKG2D+ цитотоксические Т-лимфоциты	CD3+CD8+NKG2D+
9	Двойные положительные CD4+CD8+ Т-лимфоциты	CD3+CD4+CD8+
10	НК-клетки	CD3-CD16+56+
11	НКТ-клетки, НКТ-подобные лимфоциты, $\gamma\delta$ -Т-клетки	CD3+CD16+56+
12	Т-регуляторные лимфоциты	CD4+CD25brightFoxP3+
13	Т-регуляторные лимфоциты	CD4+CD25brightCD127+
14	Иммунорегуляторный индекс	CD4+/CD8+
15	Наивные Т-клетки	CD3+CD45RA+CD62L+
16	Центральные Т-клетки памяти	CD3+CD45RA-CD62L+
17	Эффекторные Т-клетки памяти	CD3+CD45RA-CD62L-
18	CD1d+ лимфоциты	CD3-CD1d+
19	CD3+CD4+CTLA4+	
20	CD3+CD27+CD62L+	
21	CD3+CD28+CD62L+	

Исследование проводилось в лаборатории научного отдела онкоиммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России согласно разработанным рекомендациям. Для исследования использовалась цельная кровь больных с установленным диагнозом распространенной меланомы. Оценка содержания субпопуляций иммунокомпетентных клеток проводилась методом проточной цитофлуориметрии.

Принцип метода

Клетки окрашиваются моноклональными антителами, мечеными флюорохромными красителями к мембранным компонентам клеток. После окрашивания клеток происходит специфическое связывание моноклональных антител с клеточными структурами. На проточном цитометре BD FACS Canto™ II происходит регистрация флуоресценции, индуцированной излучением лазера. В проточном цитофлуориметре свет преобразуется в электрические сигналы, которые обрабатываются, и определяется количественная величина измеряемого параметра. Иммунофенотипирование – анализ гетерогенной популяции клеток с целью

выявления наличия и соотношения популяций интереса путем анализа поверхностных и внутриклеточных антигенов (маркеров), экспрессируемых клетками. Выявление и анализ антигенов производится с помощью конъюгированных с флуорохромами антител путем детекции флуоресцентного сигнала проточным цитофлуориметром.

Методика проведения анализа

1. Забор периферической крови осуществлялся в вакутейнеры 4 мл с антикоагулянтом ЭДТА.
2. Для поверхностного окрашивания в пробирку для цитофлуориметрического анализа (12×75 мм) помещали раствор моноклональных антител, меченых флуорохромом, в соответствии со схемой:
 - в 1 пробирку добавляли 20 мкл антител BD Leucogate™ (CD45 FITC / CD14 PE);
 - во 2 пробирку – 20 мкл раствора с изотипическим контролем (IgG1 FITC / IgG2a PE);
 - в 3 пробирку – 20 мкл антител CD3 FITC / CD19 PE;
 - в 4 пробирку – 20 мкл антител CD3 FITC / CD4 PE и 20 мкл Anti-HLA-DR PerCP;
 - в 5 пробирку – 20 мкл антител CD3 FITC / CD8 PE и 20 мкл Anti-HLA-DR PerCP;
 - в 6 пробирку – 20 мкл антител CD3 FITC / CD16 + CD56 PE;
 - в 7 пробирку – 20 мкл антител CD3 FITC / CD4 PE и 20 мкл CD8 PerCP;
 - в 8 пробирку – 20 мкл антител CD25 FITC, 20 мкл – CD4 PerCP-Cy™5.5 и 5 мкл- CD 127 Pe-Cy7;
 - в 9 пробирку – 20 мкл антител CD8 FITC/CD38 PE/CD3 PerCP;
 - в 10 пробирку – 20 мкл антител CD3 FITC, 20 мкл – CD4 PerCP-Cy™5.5 и 20 мкл CD38 PE;
 - в 11 пробирку – 20 мкл антител CD3 FITC, 20 мкл – CD45RA PE и 20 мкл CD62L APC;
 - в 12 пробирку – 20 мкл антител CD3 FITC и 20 мкл CD1d;
 - в 13 пробирку – 20 мкл антител CD3 FITC, 20 мкл – CD28 PE и 20 мкл CD62L APC;
 - в 14 пробирку – 20 мкл антител CD3 FITC, 20 мкл – CD27 PE и 20 мкл CD62L APC;
 - в 15 пробирку – 20 мкл антител CD25 FITC и 20 мкл – CD4 PerCP-Cy™5.5;
 - в 16 пробирку – 20 мкл антител CD3 FITC / CD4 PE.
3. Далее в каждую пробирку добавляли 100 мкл периферической крови, перемешивали при помощи вихревого встряхивателя 1-3 сек.
4. Образцы инкубировали в защищенном от света месте в течении 15-30 минут.
5. Для приготовления рабочего разведения (1X) лизирующего раствора FACS Lysing solution к одному объему маточного раствора FACS Lysing solution (10X) добавляли 9 объемов дистиллированной воды.
6. Для лизирования эритроцитов в пробу вносили по 1 мл рабочего раствора FACS Lysing Solution, перемешивали при помощи вихревого встряхивателя 1-3 сек. и инкубировали в защищенном от света месте в течении 15 минут.

7. Осаждали окрашенные клетки центрифугированием (250 g, 5 минут).
8. Сливали надосадочную жидкость, добавляли по 1 мл раствора для разбавления клеточной суспензии CellWASH в каждую пробирку.
9. Отмывали образцы с помощью центрифугирования (250 g, 5 минут), сливали надосадочную жидкость.
10. В пробирки 1-14 добавляли по 500 μ l раствора для разбавления клеточной суспензии CellWASH, перемешивали при помощи вихревого встряхивателя 1-3 сек.
11. Образцы в пробирках 1-14 для исследования поверхностных маркеров анализировали на проточном цитофлюориметре BD FACS Canto™ II.

Для выявления внутриклеточных антигенов в образцах 15-16 после поверхностного окрашивания (п. 2-9) проводили фиксацию клеток, пермеабиллизацию мембран и окрашивание цитоплазматических маркеров. Для этого:

1. Приготавливали рабочий раствор FoxP3 Buffer A разведением концентрата FoxP3 Buffer A (10X) в 10 раз дистиллированной водой комнатной температуры.
2. Готовили рабочий раствор Buffer C разведением концентрата FoxP3 Buffer B(50X) в 50 раз рабочим раствором FoxP3 Buffer A.
3. Для фиксации клеток после поверхностного окрашивания (п. 2-9) добавляли по 2 мл рабочего раствора FoxP3 Buffer A в каждую пробирку, перемешивали при помощи вихревого встряхивателя 1-3 сек, инкубировали в течение 10 минут при комнатной температуре в защищенном от света месте.
4. Центрифугировали при 250 g в течение 5 минут, затем удаляли буфер для фиксации.
5. Для промывки ресуспендировали клеточный осадок в 2 мл буфера Stain Buffer (FBS), центрифугировали при 250 g в течение 5 минут. Удаляли надосадочную жидкость.
6. Для пермеабиллизации клеток в каждую пробирку вносили по 0,5 мл рабочего раствора Buffer C, перемешивали при помощи вихревого встряхивателя 1-3 сек, инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре в защищенном от света месте.
7. Для промывки клеток добавляли 2 мл буфера Stain Buffer (FBS), центрифугировали при 250 g в течение 5 минут. Удаляли промывочный буфер. Повторяли промывку.
8. Для выявления внутриклеточных маркеров вносили раствор моноклональных антител, меченых флюорохромом, в соответствии со схемой:
 - в пробирку № 15 добавляли 20 мкл антител FoxP3, меченых PE;
 - в пробирку № 16-20 мкл антител CD152, меченых PE-Cy5.
9. Перемешивали при помощи вихревого встряхивателя 1-3 сек, инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре в защищенном от света месте.
10. Повторяли промывку клеток (п. 7).

11. Ресуспендировали клетки в 200 мкл Stain Buffer (FBS) и анализировали на проточном цитометре BD FACS Canto™ II, BD Biosciences, США.

Для подсчета абсолютного количества иммунокомпетентных клеток в периферической крови применялась двухплатформенная система анализа, расчет производился с использованием результатов гематологического анализатора. Для обработки данных использовали программное обеспечение BD FACSDiva v8.0.1.

2.2.4 Изучение прогностических факторов иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой

В исследовании у 67 пациентов с подтвержденным диагнозом метастатической или неоперабельной меланомы, получавших ИПИ, были изучены в качестве прогностических следующие общеклинические факторы и биомаркеры: уровень ЛДГ на момент начала лечения ИПИ, количество ранее проведенных линий иммунотерапии, факт проведения системной терапии глюкокортикостероидами (ГКС) на фоне терапии ИПИ, изменение уровня СРБ, абсолютного числа эозинофилов и лимфоцитов на фоне лечения, изменение следующих иммунологических показателей на фоне лечения: Т-лимфоциты (CD3+CD19-), В- лимфоциты (CD3- CD19+), Т-хелперы (CD3+CD4+), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3+CD8+), двойные положительные CD4+CD8+ Т-лимфоциты (CD3+CD4+CD8+). Характеристика группы пациентов с диагнозом диссеминированной меланомы кожи, включенных в исследование прогностических и предиктивных факторов иммунотерапии ИПИ представлена в табл. 5.

Таблица 5 – Характеристика группы пациентов с диагнозом диссеминированной меланомы кожи, включенных в исследование прогностических факторов иммунотерапии ИПИ

Характеристика	Абс. Число	%
Всего больных	67	100
Пол:		
Мужской	35	52,24
Женский	32	47,76
Средний возраст	53,18 лет	
Стадия заболевания:		
III	1	1,49
M1a	6	8,96
M1b	9	13,43
M1c	51	76,12

Продолжение таблицы 5

Характеристика	Абс. Число	%
Мутация BRAF		
Есть	43	64,18
Нет	24	35,82
Уровень ЛДГ на момент начала лечения		
≤ ВГН	29	43,28
> ВГН	38	56,72
ЕСОГ		
0	43	64,18
1	23	34,33
2	1	1,49
3	0	0

2.2.4.1 Изучение уровня ЛДГ на момент начала лечения ИПИ

в качестве прогностического фактора иммунотерапии диссеминированной меланомы кожи

Для анализа значимости уровня ЛДГ на момент начала лечения ИПИ в качестве прогностического фактора проводился анализ показателя в качестве ранжированных групп: уровень ЛДГ ниже ВГН (менее 220 Ед/л) – 43,2% (n=29), уровень ЛДГ выше ВГН (более 220 Ед/л) – 56,7% (n=38).

2.2.4.2 Изучение количества ранее проведенных линий иммунотерапии

в качестве прогностического фактора иммунотерапии ИПИ

у больных диссеминированной меланомой кожи

До начала терапии ИПИ все больные получили от 1 до 7 линий иммунотерапии. Для оценки влияния данного показателя на ОВ исследуемая группа пациентов в количестве 67 была разделена на 2 группы: пациенты, получавшие до начала лечения ИПИ 1-2 линии иммунотерапии – 56 (83,5%) и получавшие от 3 до 7 линий иммунотерапии – 11 (16,5%).

2.2.4.3 Изучение проведения системной терапии глюкокортикостероидами на фоне терапии ИПИ в качестве прогностического фактора у больных диссеминированной меланомой кожи

По данным анализа амбулаторных карт 67 пациентов, включенных в исследование, было сформировано 3 группы в соответствии с установленным фактом применения или отсутствия применения системной терапии глюкокортикостероидами (ГКС) на фоне терапии ИПИ и в период наблюдения с момента достижения клинического эффекта или объективного ответа до подтвержденного прогрессирования опухолевого процесса: 0 – не проводилась системная терапия ГКС – 50,8% (n=34), 1 – проводилась при метастазах в головном мозге и в костях позвоночника с противоотечной целью и при проведении противоболевой и гепатотропной терапии – 23,8% (n=16), 2 – проводилась для купирования иммуноопосредованных нежелательных явлений – 25,4% (n=17).

2.2.4.4 Изучение клинико-биохимических показателей периферической крови в качестве прогностических биомаркеров у больных диссеминированной меланомой кожи, получавших ИПИ

Проведена оценка влияния на ОВ абсолютного числа лимфоцитов, эозинофилов и уровня СРБ периферической крови у 67 пациентов, получавших ИПИ в рамках исследования. Проводилось динамическое сравнение выбранных показателей перед 1 введением ИПИ с данными анализов, срок выполнения которых был максимально приближен к оценке эффекта терапии ИПИ. Оценка клинических и биохимических показателей периферической крови проводилась по данным предоставленных пациентом исследований. Лаборатория выполнения клинико-биохимического обследования не была регламентирована.

2.2.4.5 Изучение клеток иммунной системы у больных диссеминированной меланомой методом проточной цитофлуориметрии

Выполнен анализ влияния на ОВ показателей иммунных статусов 67 пациентов с установленным диагнозом неоперабельной или метастатической меланомы, получавших ИПИ в «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Проводилось динамическое

сравнение выбранных иммунологических показателей перед 1 введением ИПИ с данными тестов, срок выполнения которых был максимально приближен к оценке эффекта терапии ИПИ. Исследование проводилось в лаборатории научного отдела онкоиммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России согласно разработанным рекомендациям. Для исследования использовалась цельная кровь больных с установленным диагнозом распространенной меланомы. Оценка содержания субпопуляций иммунокомпетентных клеток проводилась методом проточной цитофлуориметрии. Фенотип исследуемых субпопуляций иммунокомпетентных клеток представлен в табл. 6.

Таблица 6 – Субпопуляции исследуемых иммунокомпетентных клеток и их фенотип

Номер	Показатель	Фенотип
1	Т- лимфоциты	CD3+CD19-
2	В- лимфоциты	CD3- CD19+
3	Т- хелперы	CD3+CD4+
4	Цитотоксические Т-лимфоциты	CD3+CD8+
5	Двойные положительные CD4+CD8+ Т-лимфоциты	CD3+CD4+CD8+

2.2.5 Статистическая обработка результатов

Данные по рассматриваемым пациентам, получавшим лечение в рамках расширенного доступа к препарату ИПИ (184- EAP), хранились в базе данных Microsoft Office Access 2010. Статистическую обработку данных проводили с использованием R (ver. 3.5.2). Для систематизации и наглядного представления эмпирических данных использовали основные описательные статистики: среднее значение, минимум, максимум, медиана, среднеквадратическое отклонение, 25-й и 75-й процентиля, интерквартильный размах. Для проверки распределения на нормальность применяли критерий Шапиро-Уилка. При исследовании взаимосвязи между номинальными и порядковыми переменными использовали таблицы сопряженности, анализ которых проводили посредством точного теста Фишера (в случае дихотомических переменных) и рандомизационного критерия Монте-Карло (permutation test) при помощи пакета «gmodels» (ver. 2.18.1) [95]. При сравнении двух независимых выборок по количественным показателям применялся t-критерий Стьюдента, которому предшествовал анализ равенства дисперсий посредством F-критерия. Также в работе

проводился иерархический кластерный анализ (в качестве меры близости было выбрано расстояние Манхэттена), результаты которого визуализировались в формате тепловой карты при помощи пакета «gplots» (ver. 3.0.1.1) [96]. Построение кривых выживаемости проводили при помощи процедуры Каплана–Мейера. При сравнении кривых выживаемости в группах применяли логранговый критерий. Для оценки взаимосвязи между предикторными переменными и общей выживаемостью использовали регрессию Кокса (она же модель пропорциональных рисков Кокса). Анализ выживаемости и визуализацию проводили с помощью пакетов «survival» (ver. 2.38) [203] и «survminer» (ver. 0.4.3) [123]. Все различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Глава 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Оценка клинической эффективности анти-CTLA-4 иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой во 2-й и последующих линиях противоопухолевого лечения

Взгляд на иммунотерапию был кардинально изменен в 2011 г., когда работы по изучению активирующего влияния на развитие Т-клеточного ответа блокады рецептора CTLA-4, ведущиеся ещё с 1995 г., получили подтверждение в клинической практике [125]. Арсенал лекарственной терапии метастатической меланомы кожи тогда расширился за счет включения ипилимумаба – блокатора рецептора CTLA-4, который первым продемонстрировал в рандомизированных исследованиях возможность увеличить общую выживаемость больных меланомой, воздействуя исключительно на иммунную систему [120].

После одобрения ИПИ FDA в 2011 г. к применению в лечении диссеминированной меланомы по образцу регистрационного исследования была запущена программа расширенного доступа 184-EAP для получения большей информации о применении препарата в клинической практике.

При длительном наблюдении ИПИ продемонстрировал не только трехлетнюю, но и пятилетнюю выживаемость. Большинство из этих данных были получены в клинических исследованиях II и III фазы с регламентированными критериями включения. Программы расширенного доступа предполагают использование экспериментального препарата у пациентов с серьёзными или угрожающими жизни заболеваниями, которые не могут быть включены в клиническое исследование, потому что не соответствуют критериям включения, и которые испробовали все стандартные режимы терапии. Характеристика пациентов, включенных в программу расширенного доступа, более приближена к реальной практике по сравнению с клиническими исследованиями, поэтому результаты анализа могут отличаться.

В мае 2016 г. ИПИ был зарегистрирован на территории Российской Федерации для лечения больных с неоперабельной или метастатической меланомой при неэффективности или непереносимости предшествующей терапии.

В связи с этим представляется чрезвычайно важным и актуальным детально изучить эффективность анти-CTLA-4 иммунотерапии ИПИ у группы пациентов, характеристика которых максимально приближена к реальной клинической практике.

3.1.1 Результаты и обсуждение

Из 95 пациентов, получивших анти-CTLA-4 иммунотерапию ИПИ в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России с 2012 по 2016 гг., объективный ответ на проведенное лечение зарегистрирован у 12 больных: у 4 больных зарегистрирован полный регресс заболевания (ПР), у 8 – частичный регресс (ЧР), у 15 – стабилизация процесса (СЗ), у 62 – прогрессирование заболевания (ПЗ). По системе RECIST 1.1 частота объективного ответа составила 12,6% (4,2% – ПР, 8,4% – ЧР), у 15,8% наблюдалась СЗ. Частота клинического эффекта составила 28,4%. Минимальное время наблюдения за больными составило 36 мес., максимальное время наблюдения – 73,63 мес., медиана времени наблюдения – 10,27 мес. При анализе ВДП и ОВ цензурировано 21% и 16,8% наблюдений, соответственно. При оценке ВДП по системе RECIST 1.1 медиана составила 3,43 мес. (95% ДИ, 3,0-4,16 мес.). Медиана общей выживаемости равнялась 10,46 мес. (95% ДИ, 8,5-13,8 мес.). Доля пациентов, переживших 3-х летний период составила 20%. На рис. 2 и 3 представлена графическая интерпретация полученных данных.

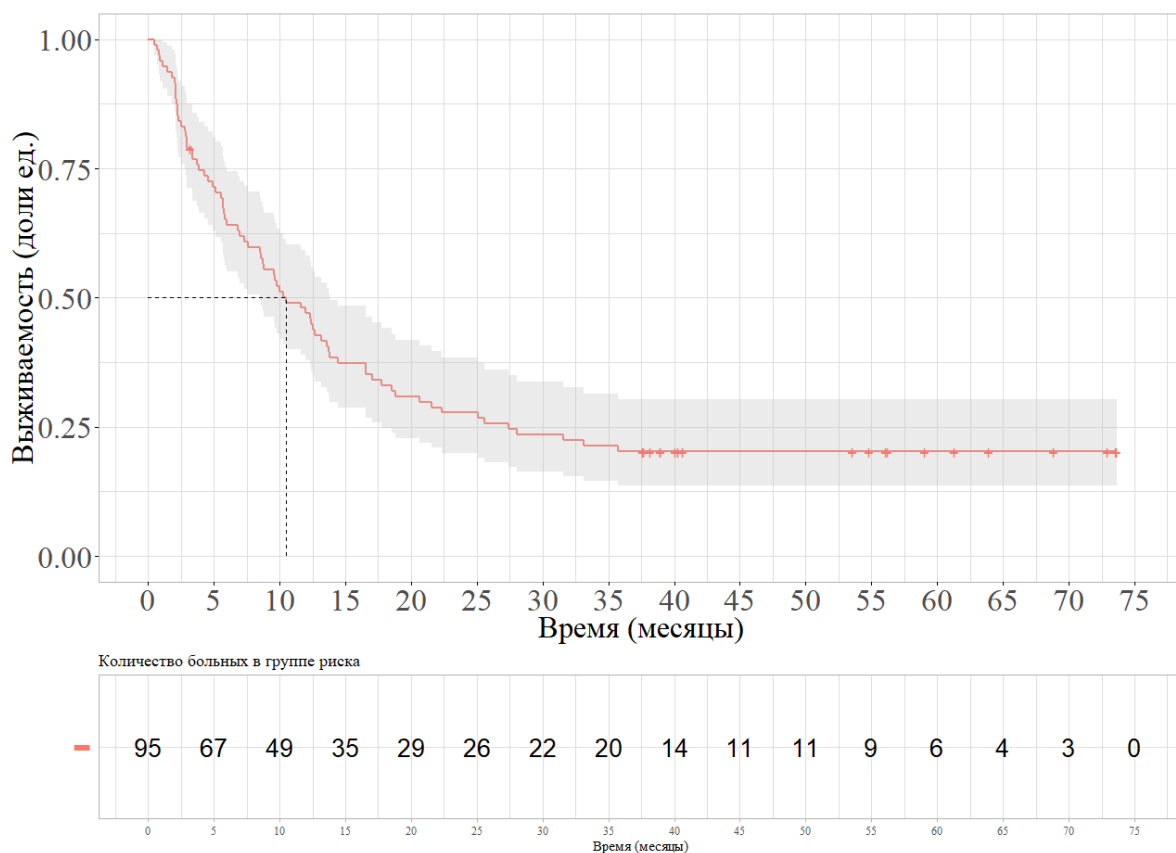


Рисунок 2 – График кривой общей выживаемости пациентов с диссеминированной меланомой, получивших анти-CTLA-4 иммунотерапию ИПИ в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

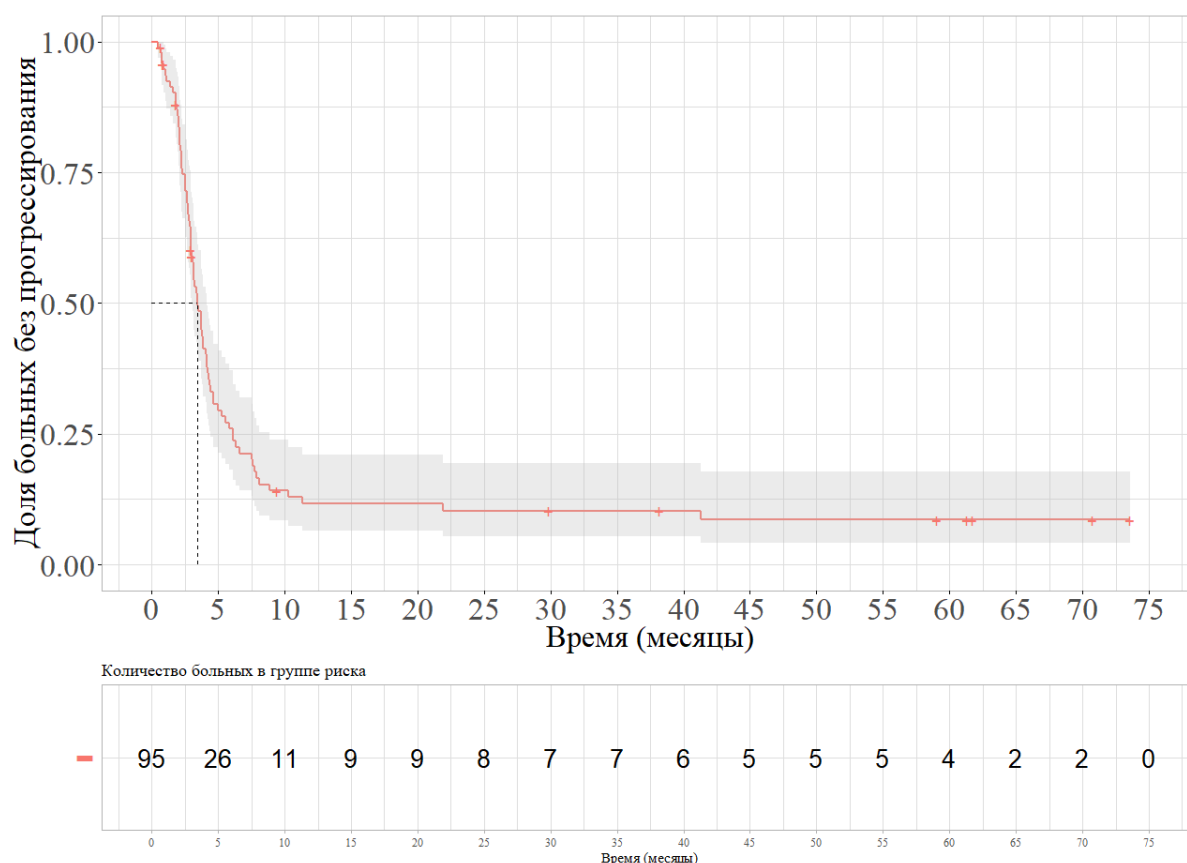


Рисунок 3 – График кривой времени до прогрессирования пациентов с диссеминированной меланомой, получивших анти-CTLA-4 иммунотерапию ИПИ в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

Динамическое наблюдение на момент 01.03.2019 г. продолжено за 19 (20%) больными, из которых 6 (6,3%) пациентов после окончания терапии ИПИ в рамках программы расширенного доступа более не получали системного противоопухолевого лечения ввиду сохранения клинического эффекта.

При проведении непрямого сравнительного анализа эффекта иммунотерапии ИПИ с результатами регистрационного исследования препарата ипилимумаб F.S. Hodi et al. (2010) было отмечено при оценке частоты объективных ответов увеличение количества полных регрессов (4,2% против 1,5%), более низкий уровень стабилизации (15,8% против 18,3%) и частичных регрессов заболевания (8,4% против 9,9%) по сравнению с регистрационным исследованием. Минимальное время наблюдения за больными в регистрационном исследовании составило 27,8 мес., в нашем исследовании – 36 мес. При сравнительной оценке показателей ОВ и ВДП выявлено увеличение медианы ВДП (3,43 мес.) в нашем исследовании по сравнению с регистрационными (2,86 мес.), значимых различий в медианах ОВ не отмечено. Данные непрямого сравнительного анализа представлены в табл. 7 и 8.

Таблица 7 – Непрямой сравнительный анализ частоты объективного ответа иммунотерапии ИПИ у больных диссеминированной меланомой с результатами регистрационного исследования препарата ипилимумаб

Эффект	Hodi F.S et al., 2010		НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, 2019	
	n=137		n=95	
Полный регресс	2	1,5%	4	4,2%
Частичный регресс	13	9,9%	8	8,4%
Объективный ответ	15	11,5%	12	12,6%
Стабилизация заболевания	24	18,3%	15	15,8%
Прогрессирование заболевания	70	53,4%	62	65,3%

Таблица 8 – Непрямой сравнительный анализ медиан ВДП и ОВ при проведении иммунотерапии ИПИ у больных диссеминированной меланомой с результатами регистрационного исследования препарата ипилимумаб

Эффект	Hodi F.S et al., 2010	НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, 2019
	медиана, мес.	медиана, мес.
Общая выживаемость	10,1 (95% ДИ, 8,0-13,8)	10,46 (95% ДИ, 8,5-13,8)
Время до прогрессирования	2,86 (95% ДИ, 2,7-3,0)	3,43 (95% ДИ, 3,0-4,16)

Все пациенты в регистрационном исследовании F.S. Hodi et al. (2010) получали монотерапию ИПИ в 1-й линии системного лекарственного лечения по поводу нерезектабельной или метастатической меланомы кожи. В группе сравнения отмечена сбалансированность по отношению к группе исследования по стадированию заболевания на момент начала лечения, распределению по полу и среднему возрасту пациентов. Доля пациентов в группе сравнения с повышением уровня ЛДГ выше ВГН на момент начала лечения ИПИ была ниже (39%) по сравнению с группой пациентов в нашем исследовании (59%). Основное количество пациентов в группе сравнения начали терапию ИПИ с уровнем ECOG 0 (52%) и ECOG 1 (47%), только у одного пациента отмечен уровень ECOG 2 на момент начала лечения. В настоящем исследовании доля пациентов с уровнем ECOG 1-2 на момент начала терапии ИПИ составила 37%, доля пациентов, получавших ИПИ в рамках 3-х и последующих

линий лечения составила 31%. Количество больных с установленной М1С на момент начала лечения ИПИ соответствовал 75% в нашем исследовании и 73% в регистрационном.

D. Schadendorf et al. (2015) сообщили об анализе ОВ 1861 пациента, получавших лечение ИПИ в 12 проспективных и ретроспективных исследованиях. В этом исследовании сообщалось, что при первичном анализе пациентов, получавших ИПИ в дозе 3 мг/кг, медианная ОВ составила 11,4 месяца (95% ДИ, 10,7-12,1). Этот отчет также включал данные поданализа для группы предлеченных больных, показатель медианы ОВ для которых составил 10,7 месяцев (95% ДИ, 9,6-11,4 мес.). Трехлетний показатель ОВ составил 22% для всей популяции, 26% для пациентов, ранее не получавших лечения, и 20% для ранее леченных пациентов [156]. По результатам этого анализа Программа расширенного доступа к ипилимумабу (ЕАР) включала данные 2 985 пациентов с неоперабельной или метастатической меланомой; медиана ОВ составляла 9,5 месяцев, а 3-х летняя частота ОВ составляла 21%. Примечательно, что пациенты, получавшие лечение в рамках ЕАР, в большинстве случаев имели неблагоприятные прогностические факторы, такие как метастатическое поражение головного мозга, состояние ECOG 2, наличие выраженной предлеченности или диагноз меланомы нежной локализации (глазной или слизистой).

Наши данные по ОВ и ВДП сопоставимы с результатами оценки эффекта анти-CTLA-4 иммунотерапии ИПИ И.В. Самойленко и соавт. (2015) в Программе расширенного доступа на территории Российской Федерации [16]. В данном предварительном анализе у 52 пациентов медиана ВДП составила 2,98 мес. (95% ДИ от 2,65 до 3,3 мес.), медиана общей выживаемости – 13,7 мес. (95% ДИ от 8 до 19,5 мес.), 1-летняя выживаемость зафиксирована на уровне 45,9±7,9%. Данные по 3-х летней выживаемости в данном анализе не представлены. Показатель 1-летней ОВ в нашем исследовании составил 47,37%.

Таким образом, в результате исследования можно сделать следующие выводы:

1. Анти-CTLA-4 иммунотерапия ИПИ обладает значимой клинической эффективностью в качестве 2-й и последующих линий лекарственной терапии у пациентов диссеминированной меланомой.

2. Результаты показателей ОВ, 3-х летней ОВ, медианы ВДП, полученные в нашем исследовании, соответствуют данным международных клинических исследований, включая показатели регистрационного исследования ИПИ F.S. Nodi et al. (2010), и данным мета-анализа зарубежной Программы расширенного доступа к ИПИ.

3. Полученные данные непрямого сравнительного анализа позволяют предположить, что на эффективность иммунотерапии ИПИ в нашем исследовании не повлиял факт включения пациентов с большей долей неблагоприятных факторов прогноза, таких как повышение уровня ЛДГ на момент начала лечения, по сравнению с регистрационным исследованием.

3.2 Оценка токсичности иммунотерапии ипилимуабом у больных диссеминированной меланомой

Препараты, устраняющие негативную регуляцию иммунного ответа, позволяют достигать длительной ремиссии у значительной части больных метастатической меланомой. Новые иммуноонкологические препараты коренным образом изменили стратегию лечения меланомы кожи и ее прогноз, а также установили новый лечебный стандарт для диссеминированной меланомы.

Особенности механизма действия ИПИ обуславливают совершенно отличный от других препаратов профиль токсичности. Его главной отличительной чертой является наличие иммуноопосредованных нежелательных реакций, сходных по механизму развития с аутоиммунными проявлениями. Большинство побочных реакций возникают во время проведения индукционной фазы лечения, и даже при развитии побочных реакций 3-4-й ст. тяжести в большинстве случаев имеют обратимый характер [170]. Основными способами лечения является отмена ИПИ, симптоматическая терапия и назначение ГКС. Смертность от осложнений лечения ингибиторами блокаторов иммунного ответа составляет менее 1%. Однако, опасность развития жизнеугрожающих нежелательных явлений, требует пристального наблюдения за больными как в период, так и после окончания терапии иммуноонкологическими препаратами. Для лечения осложнений необходимо своевременное назначение иммуносупрессивной терапии, что требует от лечащего врача-онколога наличие опыта терапии препаратами данной группы, осведомленности о спектре и особенностях течения иммуноопосредованных нежелательных явлений.

3.2.1 Результаты

У 95 пациентов диссеминированной меланомой, получавших анти-CTLA-4 иммунотерапию ИПИ в рамках индукционной фазы лечения в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России с 2012 по 2016 гг., было зарегистрировано 388 случаев иммуноопосредованных нежелательных явлений (иоНЯ). Любой степени иоНЯ наблюдались практически у всех пациентов (97,9%). Только у 2-х пациентов не было отмечено иоНЯ за период терапии ИПИ. Преимущественное большинство иоНЯ были 1-2 ст. тяжести и отмечены у 66 пациентов (69,47%). Осложнения лечения иммуноопосредованного характера 3-4 ст. тяжести были зарегистрированы у 25 пациентов (26,31%).

Наиболее частыми общими иоНЯ всех ст. тяжести являлись: слабость – 28 случаев

(29,47%), сыпь – 19 (20%), диарея – 17 (17,9%), болевой синдром – 14 (14,74%). По данным клинико-биохимического лабораторного обследования наиболее часто выявлялись: повышение липазы – 25 (26,32%), повышение АЛТ – 23 (24,21%), повышение креатинина – 18 (18,95%).

Доля иоНЯ 3-4 ст. тяжести от всех зарегистрированных составила 41 (10,56%). Терапия ИПИ была завершена до окончания индукционной фазы лечения у 7 пациентов по причине развития жизнеугрожающих иоНЯ 3-4 ст. тяжести, являющихся противопоказанием для продолжения иммунотерапии. Развитие у 2-х пациентов бессимптомного повышения уровня трансаминаз (АЛТ и АСТ) 4 ст. было расценено как аутоиммунный гепатит и потребовало прекращения терапии после 2 циклов лечения. Причиной завершения лечения стала также аллергическая реакция 2 ст. у 1-го больного после 2-х циклов лечения. Отмечалось развитие на фоне терапии ИПИ 2 случаев иммуноопосредованного колита 4 ст. тяжести, потребовавших специфического иммуносупрессивного лечения инфликсимабом (моноклональное антитело против фактора некроза опухоли α), 1 случай пневмонита 3 ст., 1 случай гипофизита 3 ст. тяжести. Ввиду прогрессирующей слабости 3 ст. на фоне терапии ИПИ, расцененной как иоНЯ, у 1 пациента было завершено лечение после 3-го введения препарата. В десяти случаях (10,53%) отмечено развитие отека головного мозга на фоне проведения терапии ИПИ у пациентов с метастатическим поражением головного мозга, что потребовало проведения противоотечной терапии ГКС. Четверо больных (4,21%) умерли от установленных НЯ, возможно связанных с проводимой терапией: от почечной недостаточности (n=1), от тромбоэмболии легочной артерии (n=1), от отека головного мозга на фоне прогрессирования процесса (n=2). У восьми пациентов зарегистрирована смерть по невыясненной причине на фоне лечения. Учитывая характер заболевания и степень распространения опухолевого процесса, оценить влияние терапии ИПИ на танатогенез у этих больных не представляется возможным. Частота встречаемости иоНЯ по ст. тяжести представлена в табл. 9.

Таблица 9 – Частота нежелательных явлений анти-CTLA-4 иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой кожи

Вид иоНЯ	Частота встречаемости иоНЯ по степени тяжести, n (%)					Общий итог, n (%)
	1	2	3	4	5	
Гипертиреоз	2 (2,10%)	–	–	–	–	2 (2,10%)
Гипотиреоз	–	1 (1,05%)	–	–	–	1 (1,05%)
Пневмонит	–	–	1 (1,05%)	–	–	1 (1,05%)
Аллергическая реакция	–	–	1 (1,05%)	–	–	1 (1,05%)
Аллопеция	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)

Продолжение таблицы 9

Вид иоНЯ	Частота встречаемости иоНЯ по степени тяжести,					Общий итог, n (%)
	n (%)					
	1	2	3	4	5	
Анемия	4 (4,21%)	4 (4,21%)	2 (2,10%)	–	–	10 (10,53%)
Анорексия	3 (3,16%)	1 (1,05%)	–	–	–	4 (4,21%)
Артралгии	1 (1,05%)	3 (3,16%)	–	–	–	4 (4,21%)
Астения	3 (3,16%)	3 (3,16%)	–	–	–	6 (6,32%)
Асцит	–	1 (1,05%)	–	–	–	1 (1,05%)
Болевой синдром	1 (1,05%)	13 (13,68%)	–	–	–	14 (14,74%)
Витилиго	3 (3,16%)	3 (3,16%)	–	–	–	6 (6,32%)
Гипергликемия	7 (7,37%)	1 (1,05%)	1 (1,05%)	–	–	9 (6,32%)
Гиперкальциемия	2 (2,10%)	–	–	–	–	2 (2,10%)
Гипертензия	–	–	1 (1,05%)	–	–	1 (1,05%)
Гипокалиемия	1 (1,05%)	–	1 (1,05%)	–	–	2 (2,10%)
Гипокальциемия	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Гипонатриемия	2 (2,10%)	–	2 (2,10%)	–	–	4 (4,21%)
Гипотония	3 (3,16%)	3 (3,16%)	–	–	–	6 (6,32%)
Гипофизит	–	–	1 (1,05%)	–	–	1 (1,05%)
Головная боль	3 (3,16%)	4 (4,21%)	1 (1,05%)	–	–	8 (8,42%)
Головокружение	5 (5,26%)	3 (3,16%)	–	–	–	8 (8,42%)
Гриппоподобный синдром	2 (2,10%)	–	–	–	–	2 (2,10%)
Депигментация волос	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Депигментация ресниц	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Депрессия	2 (2,10%)	–	–	–	–	2 (2,10%)
Диарея	6 (6,32%)	8 (8,42%)	3 (3,16%)	–	–	17 (17,9%)
Дисфагия	–	–	1 (1,05%)	–	–	1 (1,05%)
Дыхательная недостаточность	–	1 (1,05%)	–	–	–	1 (1,05%)
Зуд	6 (5,26%)	1 (1,05%)	–	–	–	7 (7,37%)
Кашель	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Колит	–	–	1 (1,05%)	2 (2,10%)	–	3 (3,16%)
Лимфопения	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)

Продолжение таблицы 9

Вид иоНЯ	Частота встречаемости иоНЯ по степени тяжести, n (%)					Общий итог, n (%)
	1	2	3	4	5	
Лихорадка	1 (1,05%)	5 (5,26%)	–	–	–	6 (6,32%)
Миалгии	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Нарушение вкуса	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Нарушение координации движений	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Нарушение сна	1 (1,05%)	1 (1,05%)	–	–	–	2 (2,10%)
Нейтропения	2 (2,10%)	–	–	–	–	2 (2,10%)
Обострение сопутствующего заболевания	1 (1,05%)	2 (2,10%)	–	–	–	3 (3,16%)
Одышка	–	1 (1,05%)	1 (1,05%)	–	–	2 (2,10%)
Отек головного мозга	1 (1,05%)	7 (7,37%)	–	–	2 (2,10%)	10 (10,53%)
Отек очагов	–	1 (1,05%)	–	–	–	1 (1,05%)
Отеки конечностей	–	2 (2,10%)	–	–	–	2 (2,10%)
Плеврит	–	2 (2,1%)	–	–	–	2 (2,10%)
Повышение АЛТ	17 (17,9%)	1 (1,05%)	3 (3,16%)	2 (2,10%)	–	23 (24,21%)
Повышение амилазы	9 (9,47%)	2 (2,10%)	–	–	–	11 (11,58%)
повышение АСТ	8 (8,42%)	1 (1,05%)	2 (2,10%)	2 (2,10%)	–	13 (13,68%)
Повышение билирубина	11 (11,58%)	2 (2,10%)	–	–	–	13 (13,68%)
Повышение креатинина	18 (18,95%)	–	–	–	–	18 (18,95%)
Повышение липазы	22 (23,16%)	2 (2,10%)	1 (1,05%)	–	–	25 (26,32%)
Повышение мочевины	4 (4,21%)	–	–	–	–	4 (4,21%)
Повышение мочевой кислоты	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Повышение щелочной фосфатазы	2 (2,10%)	–	–	–	–	2 (2,10%)
Повышение эозинофилов	17 (17,9%)	9 (9,47%)	–	–	–	26 (27,37%)
Почечная недостаточность хроническая	–	–	–	–	1 (1,05%)	1 (1,05%)

Продолжение таблицы 9

Вид иоНЯ	Частота встречаемости иоНЯ по степени тяжести,					Общий итог, n (%)
	n (%)					
	1	2	3	4	5	
Протеинурия	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Прочие кожные	–	1 (1,05%)	–	–	–	1 (1,05%)
Рвота	–	1 (1,05%)	–	–	–	1 (1,05%)
Сенсорная нейропатия	–	1 (1,05%)	–	–	–	1 (1,05%)
Слабость	8 (8,42%)	14 (14,73%)	6 (5,26%)	–	–	28 (29,47%)
Снижение веса	8 (8,42%)	3 (3,16%)	–	–	–	11 (11,58%)
Снижение ТТГ	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Судороги	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Сухость кожи	2 (2,10%)	–	–	–	–	2 (2,10%)
Сыпь/десквамация без дальнейшего уточнения	8 (8,42%)	5 (5,26%)	6 (5,26%)	–	–	19 (20%)
Тошнота	3 (3,16%)	5 (5,26%)	–	–	–	8 (8,42%)
Тробоэмболия	–	–	–	–	1 (1,05%)	1 (1,05%)
Тромбоцитопения	1 (1,05%)	1 (1,05%)	–	–	–	2 (2,10%)
Учащение мочеиспускания	1 (1,05%)	–	–	–	–	1 (1,05%)
Без осложнений	2 (2,10%)					
Смерть по невыясненным причинам	8 (8,42%)					

При проведении детального сравнительного анализа спектра иоНЯ с данными регистрационного исследования F.S. Nodi et al. (2010) отмечено меньшее количество явлений слабости, эндокринопатий, диареи и колитов и большее количество гепатитов тяжелой степени на фоне проведения иммунотерапии ИПИ. Общее количество иоНЯ 3-4 ст. тяжести в группе пациентов регистрационного исследования было зарегистрировано в 19 случаях (14,5%), в нашем исследовании количество иоНЯ тяжелой степени составило 41 (10,56%). Данные сравнительного анализа частоты возникновения иоНЯ при проведении иммунотерапии ИПИ у больных диссеминированной меланомой с результатами регистрационного исследования препарата ипилимумаб представлены в табл. 10.

Таблица 10 – Сравнительный анализ частоты возникновения иммуноопосредованных нежелательных явлений при проведении иммунотерапии ИПИ у больных диссеминированной меланомой с результатами регистрационного исследования препарата ипилиумаб F.S. Hodi et al. (2010)

Нежелательное явление	Hodi F.S. et al., 2010				НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, 2019			
	n=137				n=95			
	1-2 ст., %		3-4 ст., %		1-2 ст., %		3-4 ст., %	
Слабость/астения	46	35,1%	9	6,9%	28	29,4%	6	6,3%
Диарея	24	18,3%	6	4,6%	14	14,7%	3	3,1%
Колит	3	2,3%	7	5,3%	1	1,05%	2	1,9%
Сыпь	24	18,3%	1	0,8%	13	13,6%	6	6,31%
Эндокринные нарушения	7	5,3%	3	2,3%	4	4,2%	0	0,0%
Пневмонит	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	1	1,05%
Повышение АЛТ и АСТ	3	2,3%	0	0,0%	27	28,4%	9	9,4%
Гепатит	1	0,8%	0	0,0%	0	0,0%	2	2,1%

В нашем исследовании, по сравнению с регистрационным, выявлено большее количество явлений витилиго – у 6 пациентов (6,31%) по сравнению с регистрационным – 3 (2,3%), которое принято считать специфическим при проведении иммунологического лечения. Выявлен 1 случай развития иммуноопосредованного пневмонита 3 ст. тяжести после 3-го введения ИПИ, что представляет особый интерес, так как по международным данным явлений пневмонита на фоне лечения ИПИ не было отмечено. У одного пациента через 2 недели после планового окончания терапии ИПИ развилась клиническая и лабораторная картина гипофизарной недостаточности. Терапия глюкокортикостероидами по стандартному алгоритму позволила купировать все острые явления.

В регистрационном исследовании у 137 пациентов, получавших ИПИ в качестве монотерапии, количество выявленных НЯ, связанных с терапией, составило 105 (80,2%), а к иммуноопосредованным НЯ было отнесено 80 (61,1%). В нашем исследовании общее количество связанных с терапией ИПИ иоНЯ составило 388, что может быть обусловлено более лояльными критериями отбора, чем в рандомизированное клиническое исследование, изначально ослабленным общим состоянием пациентов и более тщательным мониторингом и регистрированием НЯ 1-2 степени.

3.2.2 Оценка влияния пола, возраста и индекса массы тела на частоту возникновения иммуноопосредованных нежелательных явлений 3-4 степени тяжести на фоне анти-CTLA-4 иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой кожи

В отличие от поиска предиктивных и прогностических маркеров эффективности анти-CTLA-4 иммунотерапии ИПИ, работы по изучению предрасполагающих факторов и характеристик пациентов к развитию более тяжелых форм иоНЯ ведутся не столь интенсивно. Получение данных о прогностических маркерах токсичности ИПИ позволит выделить группу пациентов, требующую более тщательного мониторинга появления иоНЯ на ранних этапах иммунологического лечения.

В нашем исследовании мы рассматривали пол, возраст и категории индекса массы тела в качестве потенциальных маркеров развития иоНЯ 3-4 ст. тяжести. Анализ был проведен у 91 больного диссеминированной меланомой, получавших терапию ИПИ в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России с 2012 по 2016 гг. Из анализа были исключены пациенты с летальным исходом и 5 степенью иоНЯ ввиду недоказанности связи танатогенеза с проводимым лечением у данных больных.

При оценке влияния пола на частоту развития иоНЯ 3-4 ст. тяжести пациенты были распределены в группы в зависимости от наличия или отсутствия данной степени осложнений по половому признаку. За индукционный период лечения у 12 мужчин и 13 женщин отмечено развитие иоНЯ 3-4 степени тяжести, у 37 мужчин и 29 женщин иммунологических осложнений лечения ИПИ 3-4 ст. не было зарегистрировано. Распределение пациентов по группам, включенных в исследование влияния пола на частоту возникновения иммуноопосредованных нежелательных явлений 3-4 ст. тяжести на фоне терапии ИПИ отображены на рис. 4.

В нашем исследовании при анализе данных не было выявлено влияния пола на частоту возникновения иоНЯ 3-4 ст. тяжести на фоне лечения ИПИ (точный критерий Фишера, $p=0,63$, отношение шансов 0,73, 95% ДИ 0,26-2,02).

У 89 из 95 пациентов, получавших ИПИ, проведен анализ влияния возраста на риск развития иоНЯ 3-4 ст. тяжести. Распределение пациентов было нормальным (критерий Шапиро–Уилка, $p=0,30$ в группе с наличием иоНЯ 3-4 ст., $p=0,74$ в группе без осложнений). В группе пациентов ($n=24$) с наличием иоНЯ 3-4 ст. тяжести средний возраст составил 55,2 лет, у пациентов без осложнений лечения тяжелой степени – 51,1 год. Предварительно проводили анализ равенства дисперсий в группах. Было установлено, что они статистически значимо не различались ($F_{(24,65)}=1,34$, $p=0,35$). Статистически значимого влияния возраста на риск развития иоНЯ не было выявлено ($t_{(89)}=1,33$, $p=0,19$). Ящичковые диаграммы возраста пациентов по наличию или отсутствию иоНЯ 3-4 ст. тяжести изображены на рис. 5.

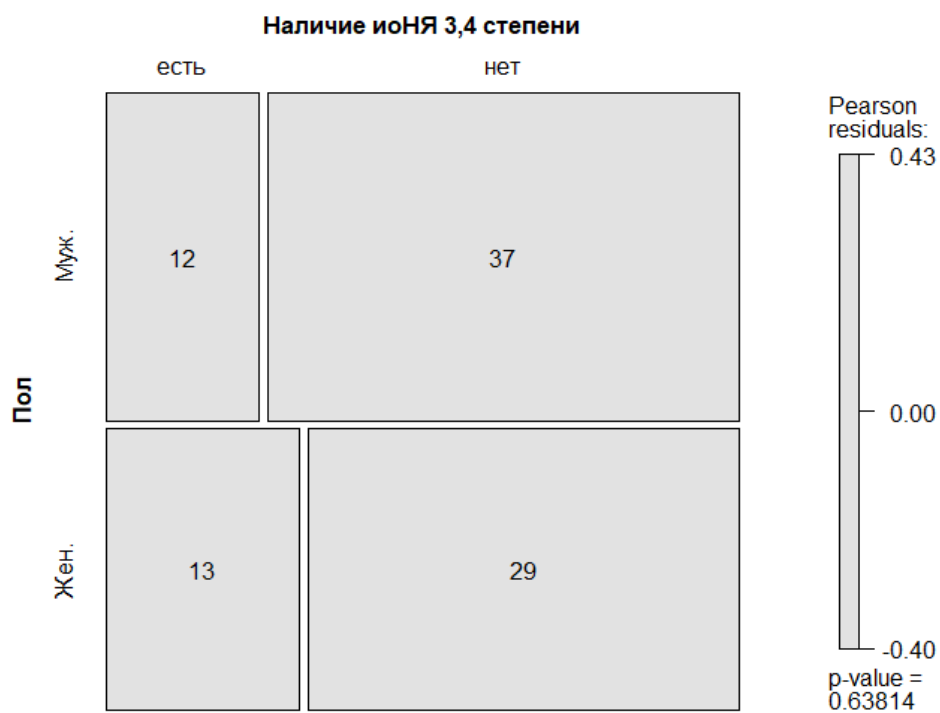


Рисунок 4 – Мозаичная диаграмма для пола и наличия иоНЯ 3-4 степени тяжести

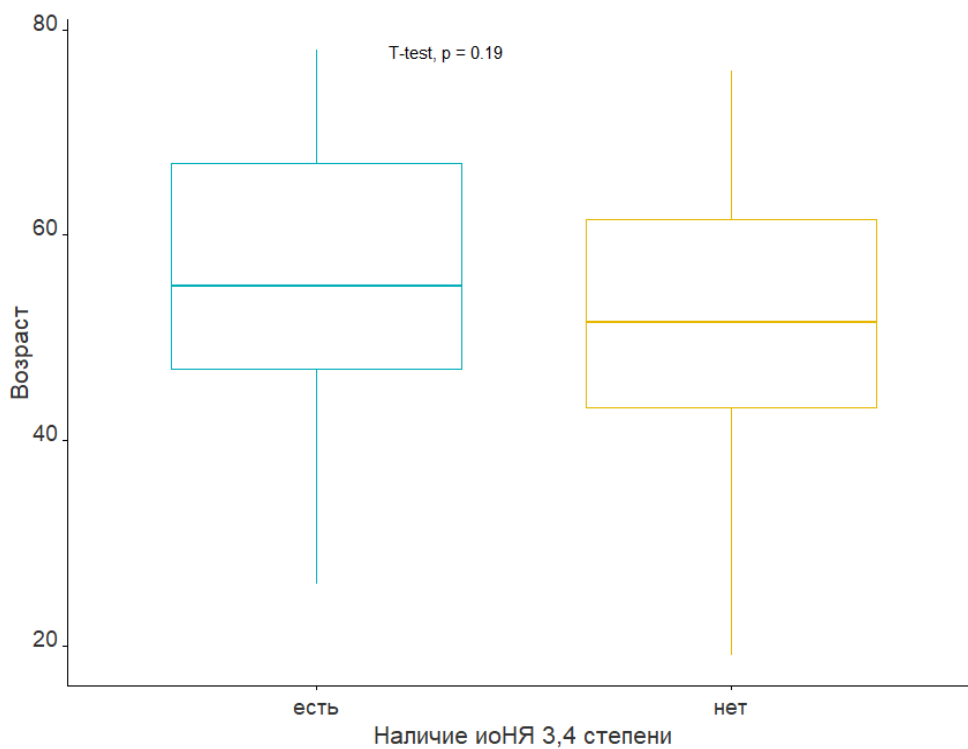


Рисунок 5 – Ящичковые диаграммы возраста пациентов по наличию или отсутствию иоНЯ 3-4 степени

В качестве возможного прогностического фактора развития иммуноопосредованной токсичности ИПИ 3-4 ст. тяжести в нашем исследовании у 64 пациентов рассматривался индекс массы тела (ИМТ). Пациенты были распределены в группы с наличием (n=16) и отсутствием иоНЯ 3-4 ст. тяжести (n=48) в зависимости от категорий индекса массы тела: дефицит веса, нормальный вес, избыточный вес, ожирение. По результатам анализа не выявлено влияния индекса массы тела на частоту возникновения иоНЯ 3-4 ст. тяжести на фоне лечения ИПИ (рандомизационный критерий Монте-Карло, $p=0,80$).

Характеристика групп пациентов для оценки влияния индекса массы тела на появление иоНЯ 3-4 степени тяжести представлена на рис. 6.

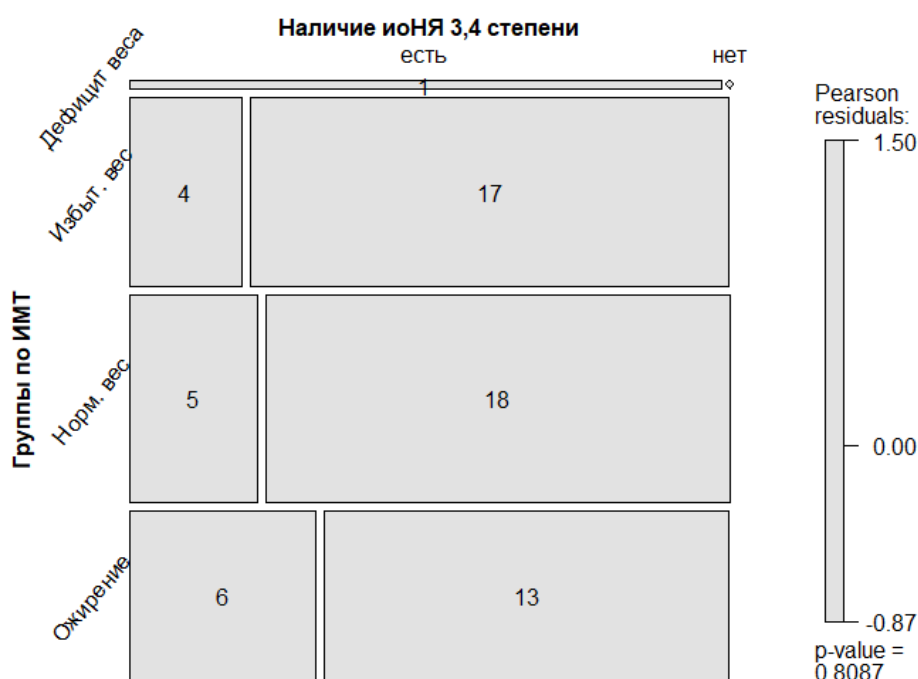


Рисунок 6 – Мозаичная диаграмма для групп ИМТ и наличия иоНЯ 3-4 степени

Таким образом, по результатам нашего исследования анти-CTLA-4 иммунотерапии ИПИ обладает приемлемым и изученным спектром токсичности у пациентов с диссеминированной меланомой. ИоНЯ наблюдались практически у всех пациентов (97,9%), однако у большинства (69,47%) соответствовали 1-2 ст. тяжести.

В регистрационном исследовании F.S. Nodi et al. (2010) у 137 пациентов, получавших ИПИ в качестве монотерапии, количество выявленных НЯ, связанных с терапией, составило 105 (80,2%), а к иммуноопосредованным НЯ было отнесено 80 (61,1%). В нашем исследовании общее количество связанных с терапией ИПИ иоНЯ составило 388, что может быть обусловлено более лояльными критериями отбора в наше исследование, чем в

рандомизированное клиническое исследование, изначально ослабленным общим состоянием пациентов с большим процентом прогностически неблагоприятных факторов. Достоверная связь летальных исходов у пациентов, получавших ИПИ в нашем исследовании, с проводимой иммунотерапией не была доказана.

Анализ спектра и частоты нежелательных явлений на фоне лечения ипилимумабом не выявил каких-либо существенных отклонений от данных, представленных в регистрационных исследованиях, кроме 1 случая клинически значимого пневмонита 3 ст. тяжести после 3 введения ИПИ.

В нашем исследовании не выявлено влияния пола, возраста и индекса массы тела на риск развития иоНЯ 3-4 ст. тяжести ($p > 0,05$).

3.2.3 Обсуждение

CTLA-4 является негативным регулятором активации и пролиферации Т-клеток, который ограничивает в норме иммунные реакции и ослабляет явления аутоиммунитета. Блокада CTLA-4 с помощью ипилимумаба ингибирует опосредованный CTLA-4 иммуномодулирующий эффект для усиления опухолеспецифических иммунных ответов, но также устраняет опосредованную CTLA-4 защиту от аутоиммунитета, что приводит к повышенной или избыточной иммунной активности. Следовательно, лечение ипилимумабом, как правило, вызывает связанные с лекарством иммуноопосредованные нежелательные явления, представляющие особый интерес и потенциально имеющие иммунологическую этиологию.

При лечении больных в условиях реальной клинической практики онкологам следует быть подготовленными к разнообразным потенциальным побочным реакциям. Понимание связи побочной реакции с иммунным механизмом действия и своевременное лечение помогут предотвратить наиболее грозные и печальные последствия.

Наибольшую сложность вызывает первичное выявление и верификация иоНЯ на ранних этапах развития, так как многие иммуноопосредованные осложнения протекают бессимптомно, а при ослабленном общем состоянии пациента различить иоНЯ и осложнения заболевания является непростой диагностической задачей. На сегодняшний день в арсенале практического онколога нет достоверных прогностических факторов или биомаркеров, способных помочь в раннем выявлении иоНЯ до проявления развернутой клинической картины или определить группу неблагоприятного прогноза для развития тяжелого аутоиммунитета.

Недавно общий профиль безопасности ипилимумаба был оценен в ретроспективном анализе, включающем 14 клинических испытаний I-III фазы у пациентов с метастатической меланомой без предшествующего аутоиммунного заболевания или иммуносупрессивного лечения [115]. Этот объединенный анализ показал, что частота встречаемости иоНЯ составляет 84,4%, а для иммуноопосредованных осложнений лечения 3-4 ст. тяжести – 25,3%; тем не менее, связанные с иоНЯ смертельные случаи отмечены только примерно у 1% пролеченных пациентов. Подобные результаты были представлены для большой моноцентрической серии, в которой 85% пациентов испытывали иоНЯ любой степени тяжести и 31% степени 3-4 [105]. Полученные результаты по оценке эффективности и безопасности ипилимумаба итальянской многоцентровой когорты с расширенным доступом, сообщили о возникновении иоНЯ любой степени у 33% пролеченных пациентов, а степень 3-4 описана только в 6% случаев [56]. В нашем исследовании иоНЯ 3-4 ст. тяжести зарегистрированы у 25 пациентов (26,31%).

Спектр иоНЯ в нашем исследовании был идентичен таковому в проведенных крупных исследованиях II-III фазы [195], кроме выявленного случая клинически значимого пневмонита 3 ст. после 3-го введения ИПИ.

Иммуноопосредованные нежелательные явления, которые влияют на эндокринную систему, заслуживают отдельного обсуждения, поскольку они создают значительные трудности с точки зрения выявления и управления. Гипофизит является вторым наиболее распространенным иоНЯ, связанным с прекращением лечения ИПИ. Развитие гипофизита на фоне лечения ИПИ может привести к глубокой симптоматике, однако легко обратимо при своевременном распознавании и правильном лечении. Однако эндокринопатии часто маскируются под неспецифические состояния, приписываемые другим причинам. У этих пациентов соответствующее медицинское вмешательство может быть отсрочено или назначено неверно. Поэтому включение эндокринолога в междисциплинарное ведение пациентов, получающих ипилимумаб, является оправданным. В нашем исследовании мы связываем низкий уровень выявленных эндокринопатий (4,2%) по сравнению с данными регистрационного исследования (7,6%) с трудностями дифференциальной диагностики данных состояний.

Важным фактором является клинический опыт онколога применения в своей врачебной практике препаратов из группы ингибиторов контрольных точек. Когда исторические данные о безопасности ранних клинических исследований ипилимумаба сравнивались, например, с данными более поздних исследований, то было отмечено снижение частоты перфорации кишечника с 0,9% до 0,5%, коррелировавшее с внедрением и последовательным использованием руководств по лечению иоНЯ и растущий опыт клинической практики [30, 122]. В нашем исследовании мы также отметили выросшее количество более раннего

выявления иоНЯ во временной период, приближающийся к окончанию исследования, чем в его начале, что привело к более эффективному купированию этих осложнений.

Эти данные свидетельствуют о том, что по мере того, как врачи приобретают больший опыт лечения пациентов ИПИ, они становятся лучше осведомлены о связанных с лечением иоНЯ, что позволяет проводить раннее их выявление и своевременное купирование. Признание того, что лечение иоНЯ, связанных с ИПИ, отличается, но не более сложно, чем НЯ, связанных с неиммунными агентами, может привести к повышению уверенности в использовании ипилимумаба в реальной клинической практике.

Сегодня появляются ретроспективные научные работы, посвященные как поиску потенциальных предикторов ответа терапии ингибиторами контрольных точек, так и токсичности, включая показатели периферической крови и клинические маркеры. Однако до настоящего времени они не были тщательно изучены в проспективных исследованиях. Принимая во внимание наличие доказательств эффективности иммуноонкологических препаратов, их растущего использования, это представляет собой важную неудовлетворенную область исследований, которой в настоящее время необходимо уделить особое внимание.

3.3 Применение алгоритмов диагностики и лечения иммуноопосредованных нежелательных явлений современной иммунотерапии у больных диссеминированной меланомой, получавших анти-CTLA-4 иммунотерапию ипилимумабом

Появление новых иммуноонкологических препаратов открыло новые возможности для терапии диссеминированных онкологических заболеваний. Войдя в клиническую практику, ингибиторы контрольных точек продемонстрировали высокую эффективность и приемлемую токсичность. Однако новый спектр токсичности, отличающийся от привычных осложнений лечения цитостатиками, потребовал разработки и апробации специальных алгоритмов купирования иоНЯ.

У всех пациентов в нашем исследовании иоНЯ 3-4 ст. тяжести, связанные с проводимой терапией ИПИ, были успешно купированы при помощи применения международных алгоритмов лечения иоНЯ. В процессе клинической апробации международных рекомендаций по лечению иоНЯ нами были сформулированы основные принципы данного вида терапии, конкретизированы алгоритмы диагностики, описана поэтапная модель купирования различных видов иоНЯ.

3.3.1 Диагностика

Определение риска иоНЯ должно быть проведено до начала иммунотерапии. Во время терапии оценка клинических данных с целью выявления иоНЯ должна проводиться при каждом визите пациента, лабораторных данных – каждые 2-4 недели в зависимости от риска развития того или иного иоНЯ. Учитывая всю сложность диагностики, пациент должен быть предупрежден о необходимости сообщать лечащему врачу о возникновении любых новых симптомов. Больного следует информировать о возможности развития осложнений иммунотерапии на любом этапе лечения – в начале, в процессе и после его окончания.

3.3.1.1 Обследование до начала иммунотерапии

Обследование до начала лечения проводится для оценки функции основных органов, которые могут пострадать при развитии иоНЯ, а также для выявления имеющихся аутоиммунных процессов. Пациенты, страдающие аутоиммунными расстройствами, особенно рассеянным склерозом, ревматоидным артритом и язвенным колитом, наиболее подвержены риску развития побочных явлений, и фактически эти состояния представляют собой потенциальное противопоказание к применению ипилимумаба. Тем не менее, недавно были опубликованы некоторые сообщения о возможности безопасного и эффективного применения ИПИ также у этих пациентов [44].

В план обследования входят: сбор жалоб и анамнеза, который должен быть направлен на выявление иммуноопосредованных заболеваний (иммунодефициты, ревматические аутоиммунные заболевания, аллергические реакции), патологии эндокринной системы (прежде всего, тиреоидной патологии и сахарного диабета, как первого, так и второго типа, а также несахарного мочеизнурения и надпочечниковой недостаточности), сопутствующей патологии ЖКТ (неспецифический язвенный колит, болезнь Крона и др.), перенесенных инфекционных заболеваний (дизентерия, холера), травм и оперативных вмешательств на органах ЖКТ, патологии печени (вирусные гепатиты, цирроз печени, болезнь Жильбера, жировой гепатоз печени). До начала иммунотерапии необходимо выяснить историю кожных заболеваний (псориаз, экзема, атопический дерматит, себорейный дерматит, аллергические реакции по типу крапивницы, наличие синдромов Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза в анамнезе), наличие в анамнезе распространенных грибковых и паразитарных

заболеваний кожи и слизистых оболочек. При распространенных грибковых и паразитарных кожных патологиях специфическая терапия должна быть проведена до начала иммунотерапии. Необходимо также обратить внимание на наличие патологии со стороны органов дыхания (травмы органов грудной клетки, оперативные вмешательства, перенесенные пневмонии, плевриты, идиопатический фиброз легких, туберкулез легких, терапия блеомицином или блеомицетином в анамнезе). Следует с тщательностью расспросить пациента о любой сопутствующей терапии (ГКС, иммунодепрессанты, препараты, действующие на тиреоидную функцию, стероидные контрацептивы, антидиабетические препараты), получаемой им до и в процессе иммунотерапии, а также о любых иоНЯ, отмечавшихся ранее:

- физикальное обследование;
- клинический анализ крови с лейкоцитарной формулой;
- биохимический анализ крови: общий белок, альбумин, ЩФ, амилаза, АСТ, АЛТ, билирубин общий, электролиты (калий, натрий, кальций), креатинин, глюкоза, липаза, мочевины, мочевая кислота, С-реактивный белок;
- эндокринологическое обследование: свТ3, свТ4, ТТГ, АТА, кортизол, глюкоза в плазме крови и моче.

При выявлении отклонений в результатах эндокринологического обследования или симптомов, которые могут свидетельствовать о нарушениях в эндокринной системе, обязательна консультация эндокринолога. Могут быть использованы следующие лабораторные обследования при выявлении подозрений на нарушения в эндокринной системе: гликозилированный гемоглобин, С-пептид (подозрительным считается снижение менее 3,0 нг/мл), кетоновые тела в моче, КЩР; при попытке выявления сахарного диабета 1 типа – определение титра антител к глютаматдекарбоксилазе (GAD, или GADA; нормальное значение не выше 1 ЕД/мл). При несахарном мочеизнурении: оценка объема потребляемой и выделяемой жидкости, удельного веса мочи. Характер и степень тяжести нарушений в эндокринной системе должны быть установлены до начала иммунотерапии и должна быть проведена их коррекция:

- ультразвуковое исследование (УЗИ) щитовидной железы;
- общий анализ мочи;
- оценка состояния органов грудной клетки;
- электрокардиограмма (ЭКГ);
- фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ).

По показаниям проводятся дополнительные обследования:

- функция внешнего дыхания (ФВД);
- сатурация кислорода крови (SpO₂);

- для женщин детородного возраста – тест на беременность;
- уровень ФСГ и ЛГ (при сохраненном менструальном цикле отмечать его день при взятии крови);
- для мужчин – уровень тестостерона;
- билирубин прямой в сыворотке крови;
- при меланоме обязательным является определение уровня ЛДГ;
- консультация гастроэнтеролога и выполнение фиброгастроуденоскопии (ФГДС) при наличии хронических патологических процессов в желудочно-кишечном тракте с минимальной активностью или неактивных.

При длительно существующих или впервые выявленных заболеваниях кожи необходима консультация дерматолога на предмет определения этиологии и активности заболевания, выполнение соскобов и посевов с кожи, дерматоскопического исследования.

Выявление хронического сопутствующего заболевания в активной фазе, острого инфекционного процесса является противопоказанием для начала лечения иммунологическими препаратами.

3.3.1.2 Обследование в процессе иммунотерапии

Частота обследований пациентов зависит от риска возникновения того или иного нежелательного явления в процессе лечения. При проведении лечения ИПИ, когда введение препаратов 1 раз в несколько недель либо циклами терапии, обследование рекомендуется перед каждым введением. При непрерывном лечении или в процессе терапии мониторинг должен соответствовать риску возникновения НЯ. Примерная схема наблюдения за пациентами представлена в табл. 11.

Таблица 11 – Рекомендуемый алгоритм наблюдения в процессе иммунотерапии для диагностики иммуноопосредованного нежелательного явления

Обследование	Анти-CTLA-4, анти-PD, анти-PD-L1
Осмотр	Перед каждым введением
Жизненно-важные показатели ¹	Перед каждым введением
Оценка сатурации кислорода	Перед каждым введением
КЩС, электролиты ²	Перед каждым введением

- отсутствие стула, явления кишечной непроходимости;
- повышение температуры тела.

Симптомы иоНЯ со стороны печени:

- повышение уровня трансаминаз, общего и прямого билирубина;
- эктеричность кожи и склер;
- выраженные тошнота и рвота, снижение аппетита;
- боль в правом подреберье;
- сонливость, апатия;
- потемнение мочи, светлый кал;
- кожный зуд без явлений сыпи;
- повышение температуры тела;
- повышение кровоточивости, появление экхимозов и гематом.

Симптомы иоНЯ со стороны кожи:

- сыпь;
- шелушение;
- кожный зуд;
- волдыри на коже или язвы во рту или на других слизистых оболочках;
- повышение температуры тела;
- появление кожных геморрагий.

Симптомы иммуноопосредованных эндокринопатий:

- изменение эндокринологических показателей по сравнению с исходным уровнем;
- утомляемость;
- мышечная слабость;
- ухудшение памяти;
- непроходящие и необычные головные боли;
- увеличение или потеря массы тела;
- неустойчивый стул;
- головокружение или потеря сознания;
- беспричинное повышение температуры тела;
- озноб;
- частые смены настроения;
- изменения поведения (снижение полового влечения, раздражительность, забывчивость);
- нарушение полей зрения;

- выпадение волос;
- гипотензия;
- изменение тембра голоса;
- сухость во рту;
- появление или усиление чувства жажды;
- изменение частоты мочеиспускания;
- нарушение электролитного баланса.

Симптомы иоНЯ со стороны легких:

- вновь возникший или ухудшившийся кашель;
- боль в грудной клетке;
- одышка;
- слабость;
- чувство нехватки воздуха;
- рентгенологические изменения по типу пневмонита;
- редко повышение температуры тела.

Симптомы иоНЯ со стороны почек:

- повышение уровня сывороточного креатинина;
- олигоурия;
- кровь в моче;
- повышение уровня белка в моче;
- слабость;
- потеря аппетита;
- периферические отеки нижних конечностей;
- редко повышение температуры тела.

Симптомы иоНЯ со стороны нервной системы:

- односторонняя или двусторонняя слабость в конечностях;
- сенсорные нарушения;
- парестезии;
- редко повышение температуры тела;
- редко судороги;
- боли в мышцах.

Симптомы синдрома выброса цитокинов:

- головная боль;
- миалгии;

- лихорадка;
- гипотония;
- тошнота;
- рвота;
- диарея;
- озноб;
- сыпь;
- одышка;
- олигурия.

3.3.3 Дообследование

Дополнительные обследования при подозрении на наличие колита:

- консультация гастроэнтеролога;
- посев кала на патогенную кишечную группу;
- определение токсинов (А и В) *C. Difficile* в стуле;
- копрограмма;
- фекальный кальпротектин;
- колоноскопия.

Дополнительные обследования при подозрении на гипопизит или надпочечниковую недостаточность:

- МРТ головного мозга;
- определение уровня ФСГ, ЛГ, тестостерона (у мужчин), ТТГ, кортизола и АКТГ в крови;
- определение уровня калия, натрия, кальция в крови;
- общий анализ мочи (с акцентом на удельный вес и объем, выделяемый за сутки);
- консультация эндокринолога.

Дополнительные обследования при подозрении на аутоиммунный тиреоидит, гипертиреоз или гипотиреоз, сахарный диабет 1 или 2 типа, несахарный диабет:

- определение свТ3, свТ4, ТТГ, АТА (антитиреоидных антител), глюкозы;
- консультация эндокринолога.

Дополнительные обследования при подозрении на пневмонит:

- КТ грудной клетки с контрастированием;

- оценка функции внешнего дыхания;
- оценка сатурации кислорода в крови.

Дополнительные обследования при подозрении на синдром повышенной проницаемости капилляров или синдром выброса цитокинов:

- определение СРБ;
- оценка сатурации кислорода в крови;
- контроль АД, ЧСС, температуры каждые 15-30 мин.;
- контроль водного баланса каждый час;
- контроль электролитов 2-3 раза в день;
- определение ИЛ-6, TNF, интерферона-гамма в крови;

Дополнительные обследования при наличии кожной токсичности:

- оценка состояния слизистых;
- оценка функции печени и почек (АЛТ, АСТ, билирубин, креатинин, мочевины);
- определение уровня IgE, триптазы;
- консультация дерматолога.

Дополнительные обследования при наличии нарушения функции печени:

- определение HBsAg, HCV;
- определение цитомегаловируса;
- оценка прямого и непрямого билирубина;
- оценка наличия опухолевых очагов в печени, признаков портальной гипертензии, тромбоза вен печени (КТ с контрастированием, МРТ с контрастированием, УЗИ печени).

Дополнительные обследования при подозрении на аутоиммунный панкреатит:

- амилаза, липаза, УЗИ брюшной полости и забрюшинного пространства.

Дополнительные обследования при подозрении на аутоиммунный миокардит:

- тропонин;
- ФВЛЖ;
- МРТ сердца с контрастированием.

Если по данным дообследования не выявлена другая этиология, симптомы НЯ должны быть расценены как иммуноопосредованные.

В спорных клинических ситуациях для окончательной верификации иоНЯ возможно рассмотрение целесообразности выполнения биопсии доступного очага с последующими цитологическим или гистологическим исследованиями (выявление лимфоцитарной инфильтрации) при условии наличия технической оснащенности, опыта хирурга в проведении подобных манипуляций, отсутствия риска для жизни пациента.

3.3.4 Обследование больных с развившимися иммуноопосредованными нежелательными явлениями

Интервалы в обследовании и интенсивность наблюдения за больными с развившимися иоНЯ определяются, прежде всего, тяжестью иоНЯ и эффективностью проводимой терапии. Вместе с тем, для ряда иоНЯ могут быть сформулированы рекомендации по частоте выполнения отдельных обследований. Характер и интенсивность обследования пациентов при развитии некоторых иоНЯ представлены в табл. 12.

Таблица 12 – Виды и частота рекомендуемого обследования при развитии некоторых иоНЯ

иоНЯ	Обследование	Частота
Гепатотоксичность 3-4 ст.	Оценка функции печени (АЛТ, АСТ, билирубин, альбумин)	Каждый день, при достижении улучшения – 1 раз в нед. до 1 ст.
Пневмонит 1 ст.	Оценка наличия симптомов	Каждые 2-3 дня
	КТ грудной клетки	Каждые 2-3 нед. или перед каждым циклом терапии
Пневмонит 2 ст.	Оценка наличия симптомов	Каждый день
Эндокринопатии	Характер и частоту обследований определяет эндокринолог в зависимости от вида и тяжести нарушений и требований по контролю за заместительной гормональной терапией	
Нарушение функции щитовидной железы 1-2 ст.	Свободные Т3 и Т4, ТТГ	1 раз в нед.
	АТА	1-кратно, повтор через 1 мес.
Нарушение функции щитовидной железы 3-4 ст.	Свободные Т3 и Т4, ТТГ (при подозрении на гипертиреоз и антитела к рецепторам ТТГ)	2 раза в нед.
Надпочечниковая недостаточность	АКТГ, кортизол	1 раз в 3 дня
	Калий и натрий	Ежедневно
Гипергликемия 2 ст.	Глюкоза	Ежедневно
Синдром выброса цитокинов 1 ст.	Жизненно-важные показатели (АД, ЧСС, температура, SpO ₂)	Каждые 2-3 ч.

Продолжение таблицы 12

иоНЯ	Обследование	Частота
Синдром выброса цитокинов 2 ст.	Жизненно-важные показатели (АД, ЧСС, температура, SpO ₂)	Каждые 60 мин или постоянный мониторинг
	Креатинин, мочеви́на, АЛТ, АСТ, билирубин, альбумин, калий, натрий	1 раз в день
Синдром выброса цитокинов 3-4 ст.	Жизненно-важные показатели (АД, ЧСС, температура, SpO ₂)	Постоянный мониторинг (АД каждые 15-30 минут или инвазивное измерение)
	Креатинин, мочеви́на, АЛТ, АСТ, билирубин, альбумин, калий, натрий, газы крови	2 раза в день

3.3.5 Длительность наблюдения за пациентом при проведении иммунотерапии

После окончания иммунотерапии мониторинг за пациентом с целью оценки возможных иоНЯ должен проводиться не менее 3 мес. с использованием графика, аналогичного графику во время терапии.

3.3.6 Принципы терапии

При лечении развившегося иоНЯ необходимо придерживаться нескольких общих принципов.

1. Ступенчатая терапия. При лечении всех иоНЯ используется ступенчатый подход. Начальная ступень выбирается исходя из тяжести развившегося иоНЯ, переход на более высокие ступени осуществляется при неэффективности проводимой терапии. Понижение терапии на более низкую ступень не осуществляется, отмена лечения происходит постепенно и медленно при условии значительного улучшения симптомов иоНЯ.

Осложнения лечения ингибиторами контрольных точек 1 и 2 ст. тяжести, как правило (за исключением иммуноопосредованных пневмонитов), не требуют прекращения иммунотерапии

и применения системных ГКС. В случае отсутствия улучшения в течение 7-10 дней на фоне проводимой симптоматической терапии осложнений 2 ст., принимается решение о назначении преднизолона в дозе 1 мг/кг массы тела пациента до купирования нежелательных явлений или уменьшения степени их тяжести до легкой. При выраженной степени тяжести осложнений терапия иммуноонкологическими препаратами приостанавливается или прекращается, назначается лечение высокими дозами преднизолона (1-2 мг/кг массы тела пациента). Обобщенная информация о ступенях терапии представлена в табл. 13.

Таблица 13 – Ступени терапии иоНЯ

Категория	1 ступень	2 ступень	3 ступень	4 ступень
Показания к применению ступени	1-2 ст. токсичности ¹	2 ¹ -3 ст. токсичности	4 ст., неэффективность предшествующей терапии	неэффективность предшествующей терапии
Препарат (иммунотерапевтическое средство)	Продолжение лечения	Перерыв в лечении ¹	Отмена терапии	Отмена терапии
Симптоматическая терапия	Применяются	Усиленная	Усиленная	Максимальная
Иммуносупрессивные средства	Нет	ГКС (преднизолон 1 мг/кг/сут. внутрь или в/в)	ГКС (преднизолон 2 мг/кг/сут. в/в)	ГКС (преднизолон 4 мг/кг/сут. в/в) и/или ингибиторы цитокинов (ИЛ-6, TNF, например – инфликсимаб), цитостатики (циклофосфамид, микофенолата мофетил)
Примечание – ¹ – клинически не значимые иоНЯ 2 ст.				

2. Во время лечения иоНЯ могут использоваться любые ГКС в эквивалентных преднизолону дозах.

3. Для отдельных, наиболее частых, иоНЯ, разработаны отдельные алгоритмы. При наличии таких алгоритмов им следует отдавать предпочтение при лечении соответствующих иоНЯ.

4. Дозы ингибиторов контрольных точек не редуцируются в зависимости от развития иоНЯ. Терапия либо продолжается в прежних дозах, либо полностью отменяется (в случае выраженного иоНЯ или недостаточного контроля за иоНЯ).

5. Обязательно проводятся противоязвенная терапия, коррекция электролитного состава крови с целью профилактики осложнений системного применения ГКС.

6. Длительная терапия ГКС, проводимая для купирования иоНЯ, может приводить к появлению нежелательных ятрогенных осложнений (в частности, стероидного диабета) и требует коррекции и наблюдения эндокринолога в течение всего времени и после окончания лечения.

7. Перед началом системной терапии ГКС необходимо исключить инфекционную этиологию осложнений.

8. При 3-4 ст. тяжести иоНЯ и длительной (более 3 недель) терапии ГКС целесообразно назначение противомикробных препаратов для профилактики оппортунистических инфекций.

9. При выраженной степени тяжести аутоиммунных осложнений при неэффективности терапии ГКС в высоких дозах в течение 3-5 дней и при условии исключения перфорации кишечника, перитонита, внутреннего кровотечения и активного инфекционного процесса, необходимо проведение терапии иммунодепрессантами (инфликсимаб, микофенолата мофетил).

10. Пациенты, получающие ГКС внутривенно, могут быть переведены на пероральный прием в эквивалентной дозе в начале периода постепенной отмены препарата или после достижения стойкого клинического улучшения. При переводе пациентов на эквивалентную дозу пероральных глюкокортикостероидов следует учитывать более низкую биодоступность последних.

11. При перерыве в лечении из-за иоНЯ возобновление терапии возможно только после купирования иоНЯ до 1 ст. или полного разрешения иоНЯ. Для возобновления иммунотерапии на фоне лечения системными ГКС доза последних к моменту начала терапии должна составлять не более 10 мг/сут (эквивалентно преднизолону). Увеличивать скорость снижения дозы ГКС для более быстрого начала терапии недопустимо.

3.3.7 Результаты, клинические примеры, обсуждение

За время проведения исследования в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России у 7 (7,36%) пациентов потребовалось стационарное лечение иммуноопосредованных осложнений 3-4 ст. тяжести ввиду их жизнеугрожающего характера, но летальных исходов по данным эпизодам зарегистрировано не было. В подтверждении эффективности применения описанных выше алгоритмов купирования иоНЯ демонстрируем несколько клинических случаев лечения осложнений лечения ИПИ 3-4 ст. тяжести у больных диссеминированной меланомой кожи, потребовавшие проведения специфического иммуносупрессивного пособия в условиях госпитализации в стационар.

Клинический случай 1.

Пациент С., 76 лет, с верифицированной узловой пигментной меланомой, pT4aN0M0. Была выявлена мутация BRAF V600E. 23.12.2015 г. начата терапия ИПИ в качестве 2 линии системного противоопухолевого лечения после применения ингибиторов тирозинкиназы. На момент начала лечения было отмечено появление новых единичных метастазов в легких, увеличение метастаза в правом надпочечнике, появление метастаза в надключичном лимфатическом узле справа. Пациенту проведено 2 инфузии ИПИ, а 3-е введение было отложено из-за появления сыпи 3 ст. тяжести. С 04.02.2016 г. по 10.02.2016 г. проводилась терапия преднизолоном в дозе 1 мг/кг согласно алгоритмам купирования иоНЯ, отмечено уменьшение интенсивности явлений сыпи до 1 ст. тяжести. 18.02.2016 г. выполнено 3-е введение ИПИ. Через сутки после 3-го введения ИПИ пациент отметил появление диареи до 10 эпизодов в сутки, о чем своевременно не сообщил лечащему врачу. 24.02.2016 г. пациент был госпитализирован в стационар в связи с жизнеугрожающим иоНЯ – эрозивно-язвенным колитом 4 ст. (рис. 7).

Проводилась инфузионная терапия преднизолоном в дозе 2 мг/кг (120 мг) в сутки в соответствии с алгоритмом купирования иоНЯ, терапия октреотидом, кишечными антисептиками, антибактериальная терапия, гидратация, строгая диета с ограничением лактозы, жиров и клетчатки, однако значимого эффекта терапии не наблюдалось. Отмечалось прогрессирующее снижение массы тела суммарно на 15 кг. 04.03.2016 г. выполнено однократное введение инфликсимаба в дозе 5 мг/кг, через сутки после которого отмечался клинический эффект в виде уменьшения количества эпизодов диареи. К 09.03.2016 г. тяжесть диареи снизилась до 2 степени. 10.03.2016 г. больной выписан из стационара в удовлетворительном состоянии с рекомендациями о продолжении терапии преднизолоном в дозе 120 мг в сутки парентерально. С 25.03.2016 г. произведена одномоментная редукция дозы

преднизолона до 50 мг в сутки с последующим постепенным снижением. Диарея купирована, общее состояние улучшилось, разрешено расширение диеты. 06.04.2016 г. выявлена двусторонняя полисегментарная пневмония, как проявление оппортунистической инфекции, купированная комбинированной антибактериальной терапией в течение 1 недели. По данным колоноскопии от 10.05.2016 г. сохранялись признаки поверхностного колита. К июню 2016 г. отмечались стабилизация веса, полное отсутствие симптомов иоНЯ, нормализация картины при колоноскопии.

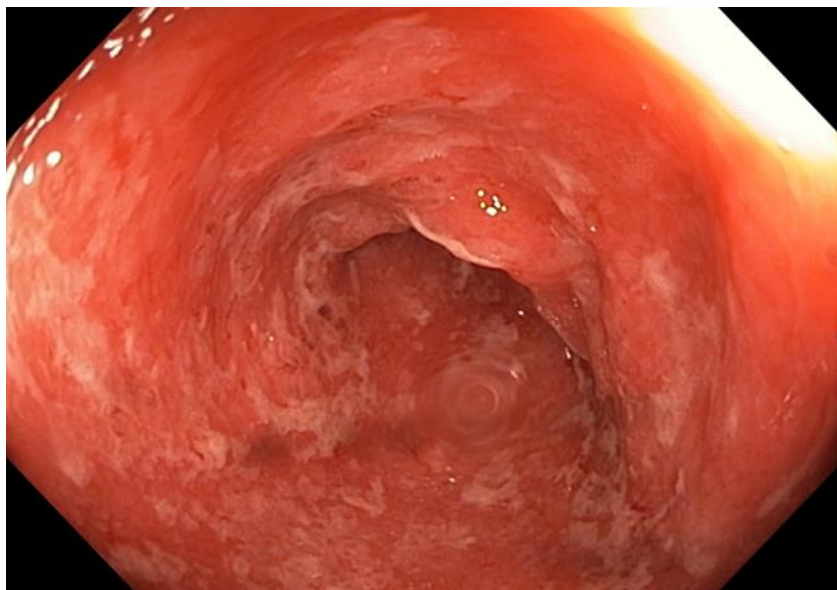


Рисунок 7 – Эрозивно-язвенный колит 4 степени тяжести на фоне терапии ипилимумабом по данным фиброколоноскопии

По данным контрольного обследования в объеме КТ органов грудной клетки и брюшной полости от 31.03.2016 г. отмечался частичный регресс метастазов в правом надпочечнике, в надключичном лимфатическом узле справа по сравнению с исследованием от 16.12.2015 г. Дальнейшая стабилизация опухолевого процесса сохраняется до 02.2019 г.

Клинический случай 2.

Пациент М., 61 года, с диагнозом «Меланома кожи спины pT2N0M0», болен с 2013 г. Генерализация процесса выявлена с 01.2015 г. – метастазы в паратрахеальных лимфатических узлах. По данным молекулярно-генетического исследования выявлена мутация NRAS Q61L. С 03.09.2015 г. начата анти-CTLA-4 иммунотерапия ИПИ в качестве 2-ой линии системного лекарственного лечения после химиотерапии дакарбазином. После 1 введения отмечено появление мелкопятнистой кожной сыпи 3 ст. в области передней грудной стенки, на верхних конечностях, передней брюшной стенке, в паховой и подколенных областях (рис. 8).



Рисунок 8 – Кожная токсичность 3 степени тяжести на фоне терапии ипилимумабом

Согласно алгоритмам лечения иоНЯ терапия ИПИ была приостановлена и начат приём преднизолона в дозе 1 мг/кг, внутрь, ежедневно, до полного купирования симптомов. С 07.10.2015 г. возобновлена терапия ипилимумабом, выполнено еще 2 введения. 19.11.2015 г. больной сообщил, что госпитализирован в стационар по месту жительства с явлениями лихорадки до фебрильных цифр, сухим кашлем. По данным рентгенографии органов грудной клетки от 17.11.2015 г. было выявлено усиление легочного рисунка в прикорневых и базальных отделах легких, более выраженное в S10 правого легкого, расширение тени средостения. Проводилась комбинированная инфузионная антибактериальная и противогрибковая терапия без эффекта в течение 3 суток. Состояние было расценено как иммуноопосредованный пневмонит 3 ст., потребовавшим прекращение терапии ипилимумабом (рис. 9). 23.11.2015 г. – 27.12.2015 г. проводилась инфузионная терапия преднизолоном в дозе 2 мг/кг согласно алгоритмам лечения иммуноопосредованных осложнений до полного купирования клинических и рентгенологических симптомов с последующим медленным снижением дозы препарата.

По данным контрольного обследования от 21.01.2016 г. отмечалось прогрессирование процесса в легких. Но ввиду длительной реабилитации по поводу компрессионного перелома позвоночного столба Th8 и Th11 специфическая противоопухолевая терапия не проводилась, наблюдалось прогрессирование с появлением метастазов в легких. Осенью 2016 г. пациент был включен в программу расширенного доступа к препарату ниволумаб. Лечение проводилось с ноября 2016 г. по ноябрь 2019 г. Эффект терапии – частичный регресс. В сентябре 2017 г. было отмечено повторное развитие иммуноопосредованного пневмонита на фоне терапии ниволумабом. В настоящее время сохраняется частичный регресс иммунотерапии, пациент динамически наблюдается.

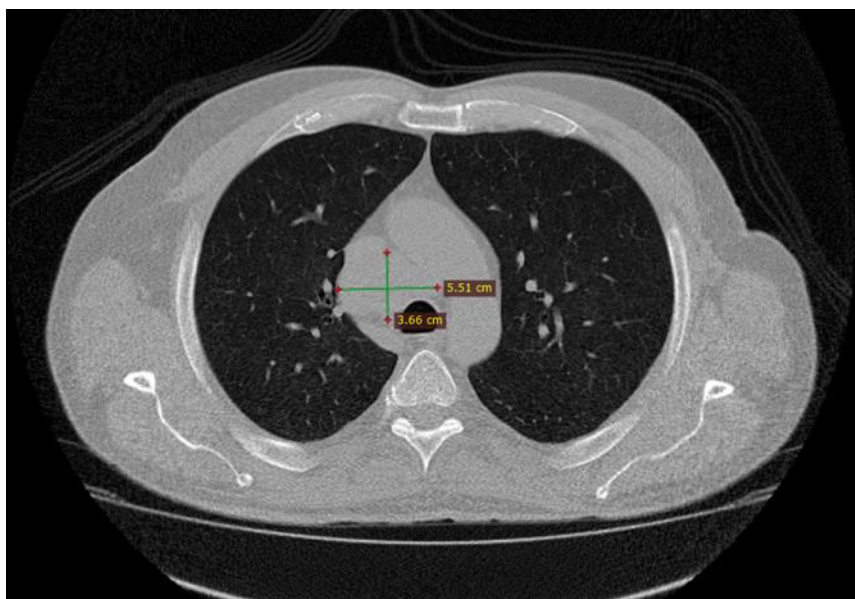


Рисунок 9 – Иммуноопосредованный пневмонит 3 степени тяжести на фоне терапии ипилимумабом

В ретроспективном анализе 836 пациентов, получавших ИПИ в дозах 3 мг/кг или 10 мг/кг в рамках клинических исследований, начало лечения ГКС в течение 5 дней после появления симптомов энтероколита привело к более быстрому разрешению данного иоНЯ, чем когда лечение стероидами было отсрочено на срок более 5 дней [74]. Эти данные подчеркивают важность тщательного мониторинга пациентов на наличие признаков и симптомов гастроинтестинальной токсичности с момента начала лечения ипилимумабом, своевременного выявления опасных для жизни побочных эффектов после начального периода лечения и привлечения многопрофильной группы специалистов, включая гастроэнтерологов, для консультирования по вопросам надлежащего ведения этой категории пациентов.

При накоплении онкологами опыта применения терапии ингибиторами контрольных точек происходит и постоянное пополнение знаний о специфических особенностях протекания различных иммунологических НЯ, что требует периодического обновления существующих алгоритмов и рекомендаций по диагностике и лечению иоНЯ.

По нашим данным, полученным в рамках лечения ИПИ больных диссеминированной меланомой, применение международных алгоритмов купирования иоНЯ оказалось эффективным во всех случаях, когда пациенты информировали лечащих онкологов о возникновении симптомов, несвойственных для их обычного самочувствия и проводили своевременное клиничко-лабораторное обследование. Мы отметили необходимость детализации и более тщательного описания некоторых алгоритмов для лучшей адаптации к практическому применению в реальных клинических ситуациях.

3.3.8 Практические рекомендации

Разработанные принципы и уточненные алгоритмы диагностики и лечения иоНЯ могут быть внедрены в повседневную клиническую практику с целью оптимизации лекарственного лечения пациентов, получающих иммуноонкологические препараты. Для более детального разбора этих алгоритмов коллективом авторов разработано учебное пособие: «Алгоритмы диагностики и лечения иммуноопосредованных нежелательных явлений» А.В. Новик, Е.М. Анохина, С.А. Проценко, Л.М. Берштейн, И.А. Балдуева, Н.Ю. Антимоник, Д.А. Носов, Н.Н. Петенко, А.И. Семенова, В.А. Чубенко, Д.И. Юдин, Т.Ю. Семиглазова, А.И. Кузнецова. Оно предназначено не только для врачей-ординаторов, аспирантов, врачей-онкологов, но будет также интересно врачам смежных специальностей: эндокринологам, офтальмологам, пульмонологам, гепатологам, гастроэнтерологам, неврологам, ревматологам и аллергологам-иммунологам, к которым могут обращаться пациенты с подобными проблемами.

3.4 Анализ иммунологических показателей периферической крови у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

Сегодня становится очевидным необходимость понимания фундаментальных иммунологических процессов, происходящих в организме онкологических пациентов на фоне проведения различных видов иммунотерапии [18]. Особый интерес сегодня вызывают работы, направленные на изучение иммунных реакций у онкологических больных при проведении терапии ингибиторами контрольных точек, так как в настоящее время данное иммуноонкологическое направление является наиболее перспективным и универсальным [3]. Ипилимумаб, антитело, которое блокирует CTLA-4, из класса ингибиторов контрольных точек было первым одобрено Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) для пациентов с прогрессирующей меланомой в 2011 г. Однако, хотя часть пациентов получает пользу от лечения ИПИ, это часто сопряжено с отсроченным рентгенологическим эффектом или значимой токсичностью. Следовательно, крайне важно идентифицировать те биомаркеры, которые смогут объяснить фармакодинамические изменения, понять потенциальные механизмы действия и найти новые корреляты, связанные с клиническими преимуществами или токсичностью лечения ИПИ.

В целом, иммунологический профиль пациентов, получавших ИПИ, изучен на сегодняшний день недостаточно. Большинство научных работ этого плана направлено

на изучение инфильтрирующих опухоль лимфоцитов и клеток микроокружения опухоли [8]. Нами было найдено лишь несколько отечественных исследований по выявлению иммунных биомаркеров периферической крови у больных метастатической меланомой, получавших терапию ИПИ, на территории Российской Федерации [1, 19]. Поэтому одной из задач нашего исследования стало изучение иммунного статуса больных распространенной меланомой, получавших ИПИ.

3.4.1 Результаты и обсуждение

В рамках настоящего исследования была оценена 21 популяция лимфоцитов периферической крови у больных диссеминированной меланомой на фоне лечения ИПИ в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Важным аспектом нашего исследования является факт использования свежих образцов периферической крови, так как согласно некоторым исследованиям это повышает точность анализа [201]. Проводилась оценка относительной разницы измерений иммунологических показателей перед началом лечения ИПИ и максимально приближенного теста к рентгенологической оценке эффекта. Рассматривались следующие популяции иммунокомпетентных клеток в абсолютных значениях: Т-лимфоциты (CD3+CD19-), В-лимфоциты (CD3- CD19+), Т-хелперы (CD3+CD4+), активированные Т-хелперы (CD3+CD4+CD25+), активированные CD38+ Т-хелперы (CD3+CD38+CD4+), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3+CD8+), активированные CD38+ цитотоксические Т-лимфоциты (CD3+CD38+CD8+), иммунорегуляторный индекс (CD4+/CD8+), NK-клетки (CD3-CD16+56+), NKT-клетки, активированные NK-клетки (CD3-CD16+56+NKG2D+), Т-регуляторные лимфоциты (CD4+CD25brightCD127), Т-регуляторные лимфоциты (CD4+CD25brightFoxP3+), двойные положительные CD4+CD8+ Т-лимфоциты (CD3+CD4+CD8+), CD3+CD4+CTLA4+, наивные Т-клетки (CD3+CD45RA+CD62L+), центральные Т-клетки памяти (CD3+CD45RA-CD62L+), эффекторные Т-клетки памяти (CD3+CD45RA-CD62L-), CD1d+ лимфоциты (CD3-CD1d+), CD3+CD27+CD62L+, CD3+CD28+CD62L+. Графический анализ предусматривал разделение динамического изменения основных популяций лимфоцитов периферической крови по уровню продолжительности жизни больных метастатической меланомой, получавших лечение ИПИ. Показатель ОВ после 3-х лет наблюдения в нашем исследовании составил 20%. Графический анализ исследуемых иммунологических показателей представлен на рис. 10-31. Шкалы на вертикальных осях правых графиков на указанных рисунках преобразованы с помощью гиперболического арксинуса.

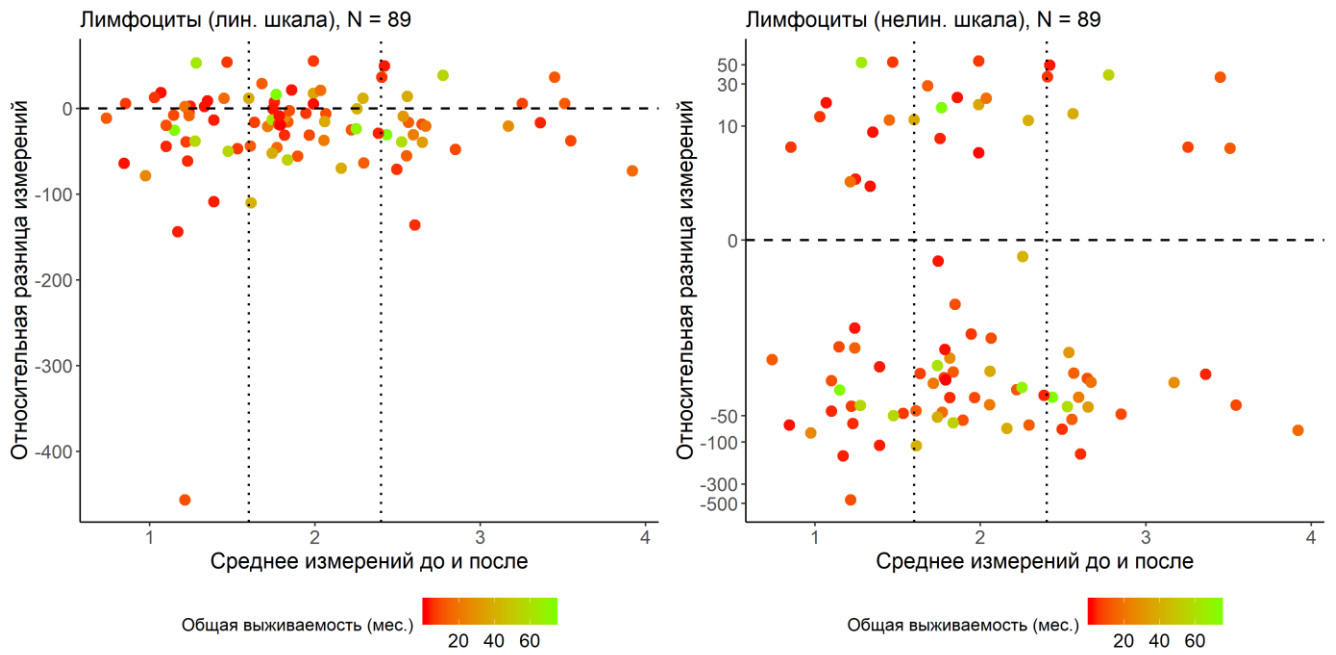


Рисунок 10 – Диаграмма рассеяния относительной разницы количества лимфоцитов периферической крови с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

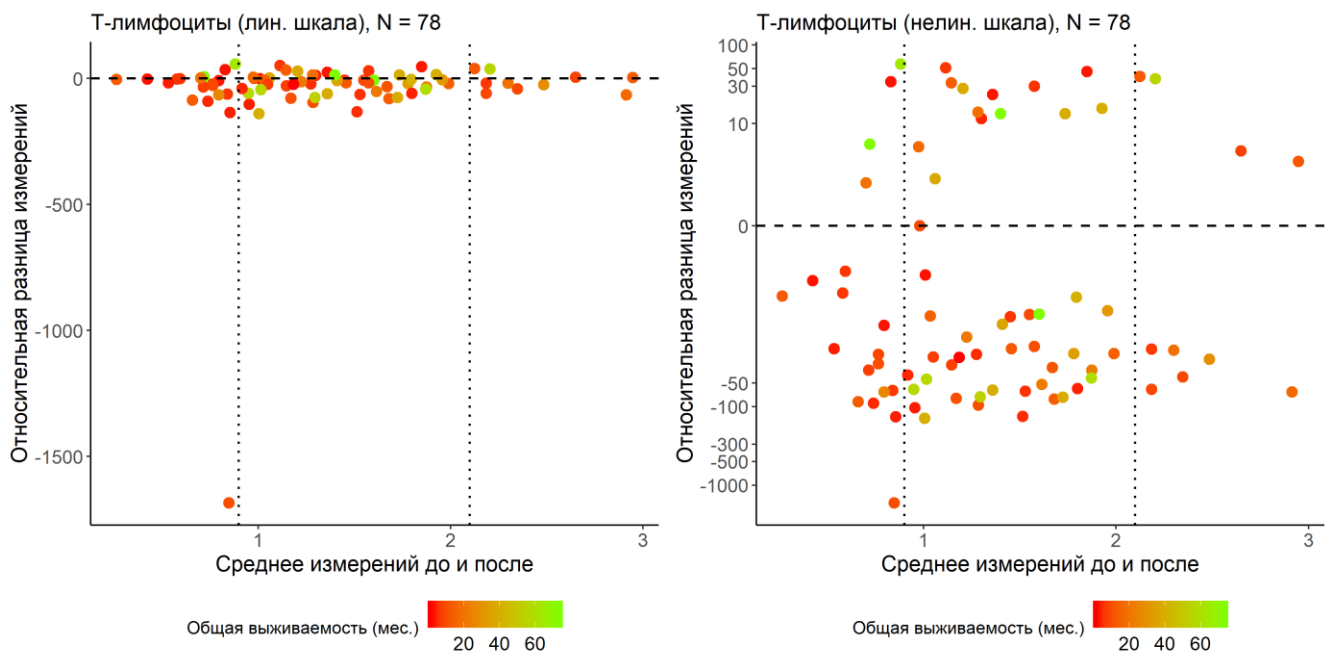


Рисунок 11 – Диаграмма рассеяния относительной разницы субпопуляции Т-лимфоцитов периферической крови с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

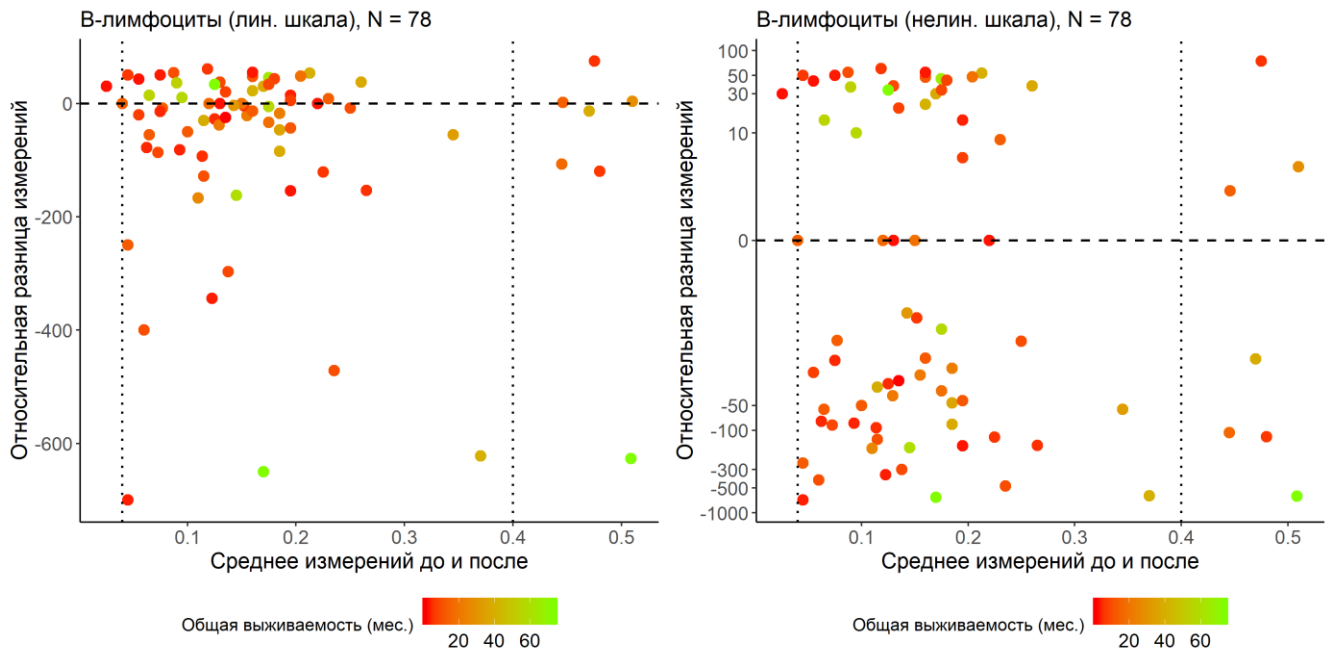


Рисунок 12 – Диаграмма рассеяния относительной разницы значений В-лимфоцитов периферической крови с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

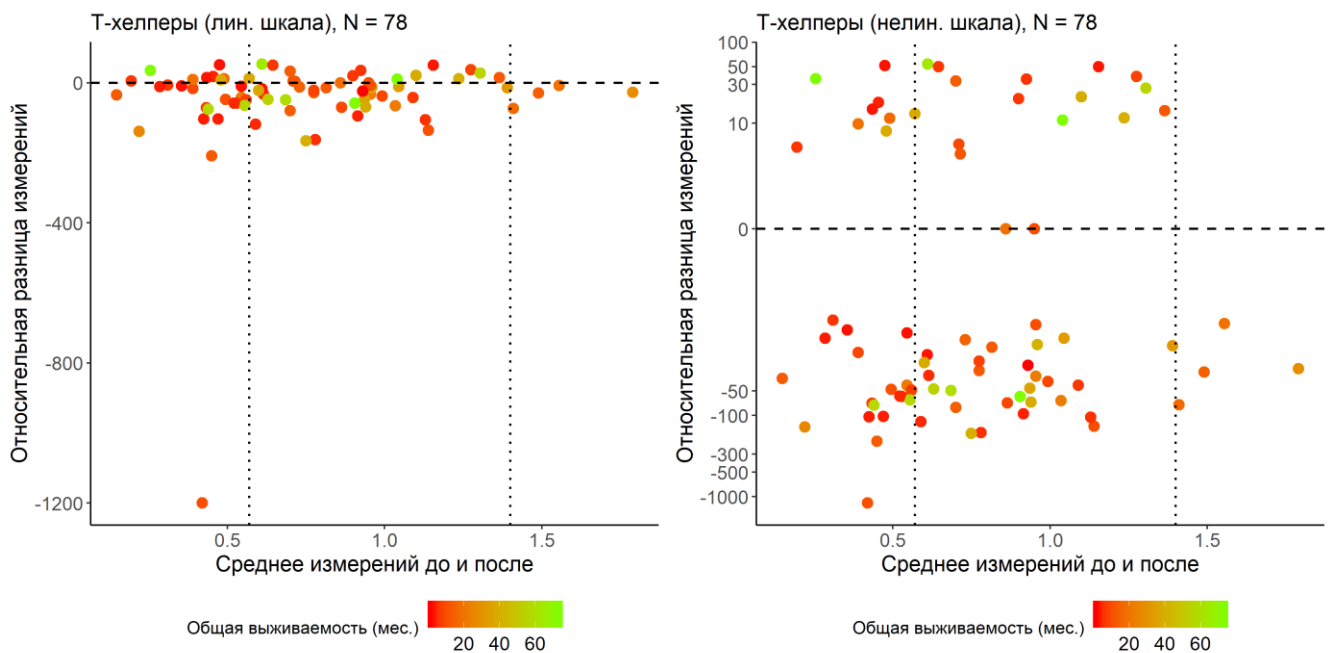


Рисунок 13 – Диаграмма рассеяния динамики показателей Т-хелперов периферической крови на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

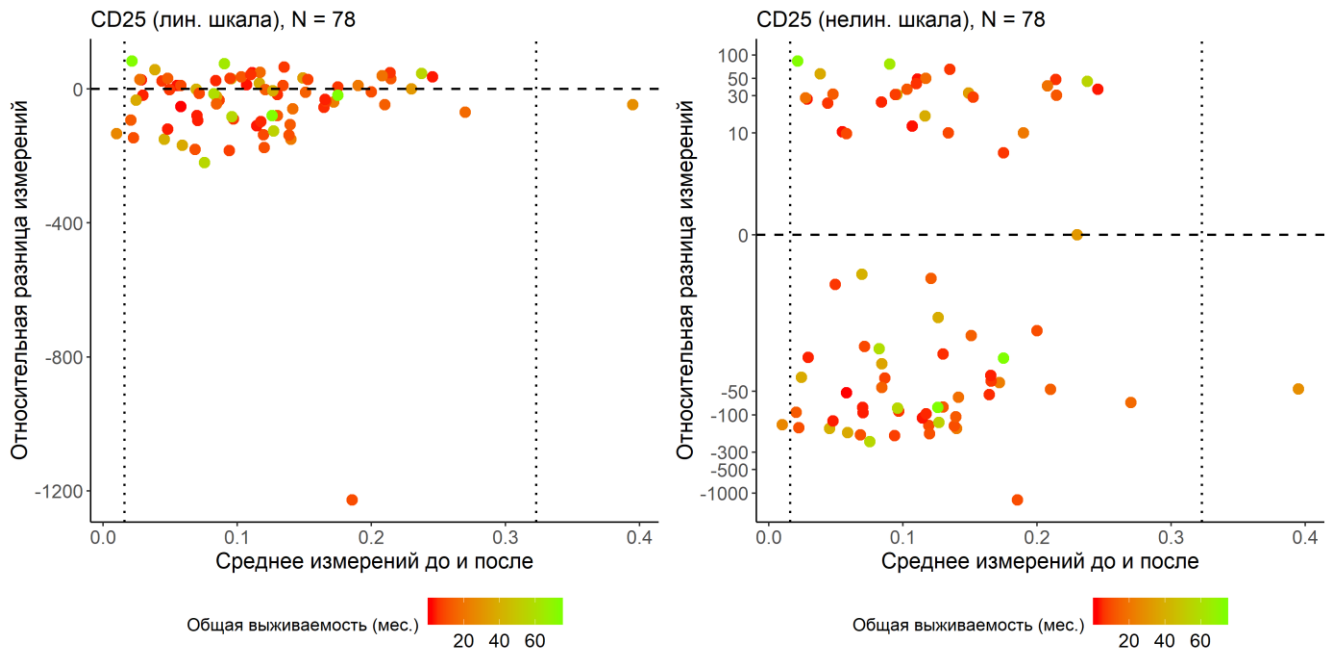


Рисунок 14 – Диаграмма рассеяния относительной разницы субпопуляции активированных Т-хелперов (CD3+CD4+CD25+) периферической крови с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

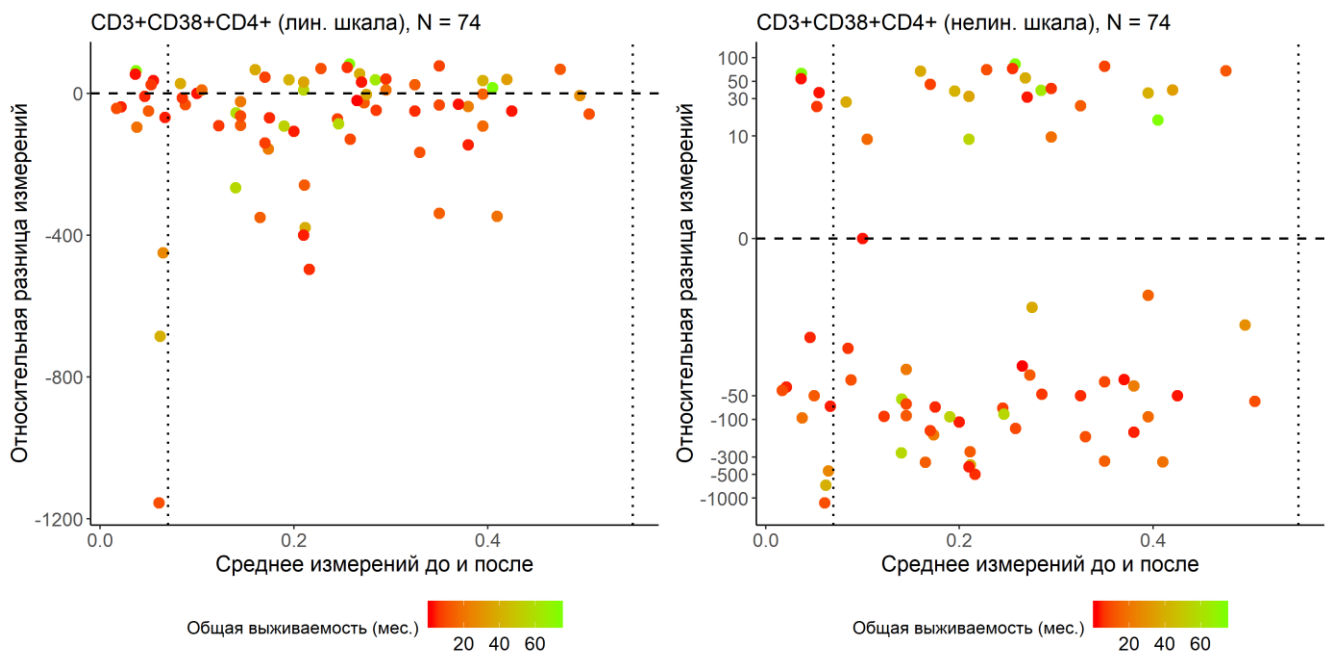


Рисунок 15 – Диаграмма рассеяния относительной разницы субпопуляции активированных Т-хелперов (CD3+CD38+CD4+) периферической крови на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

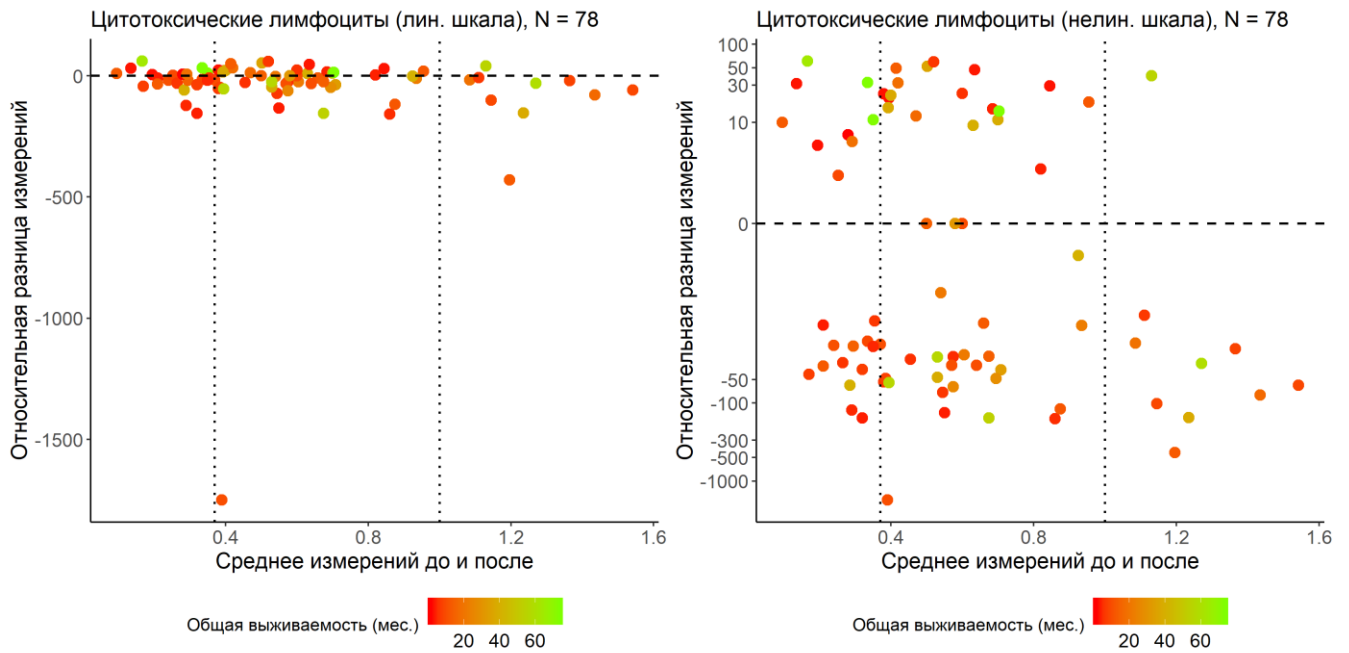


Рисунок 16 – Диаграмма рассеяния динамики показателей цитотоксических Т-лимфоцитов периферической крови на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

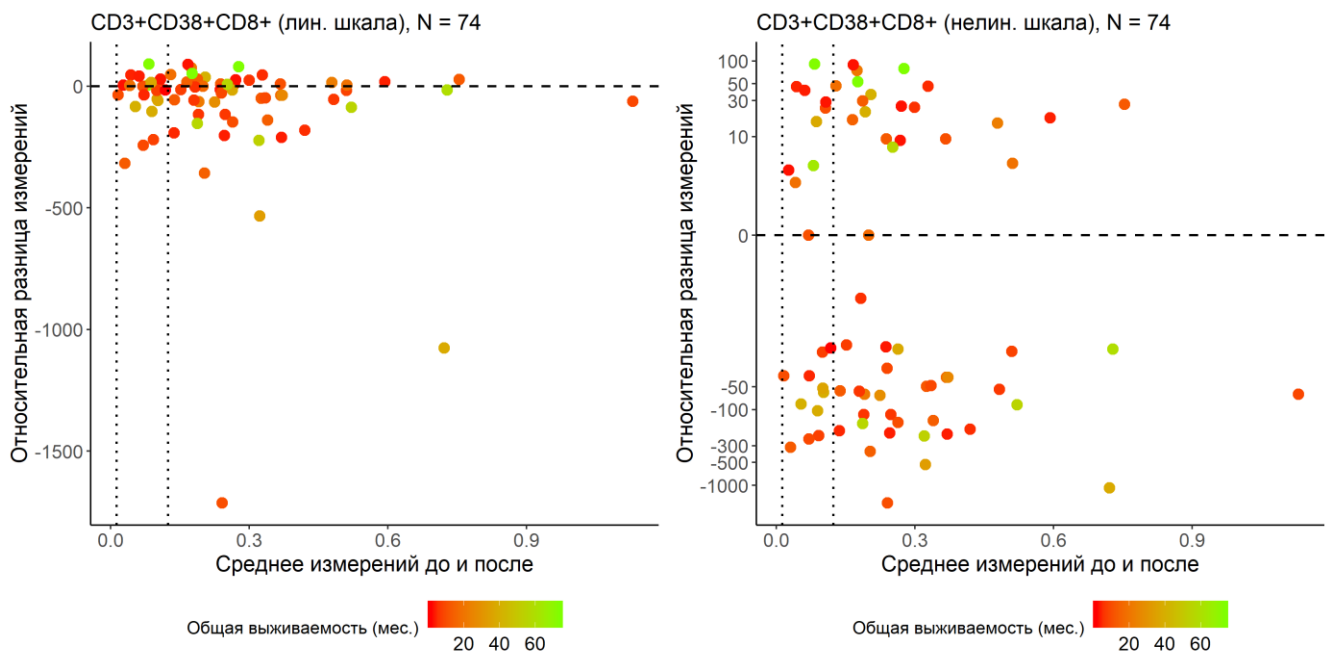


Рисунок 17 – Диаграмма рассеяния относительной разницы субпопуляции активированных CD38+ цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3+CD38+CD8+) периферической крови с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

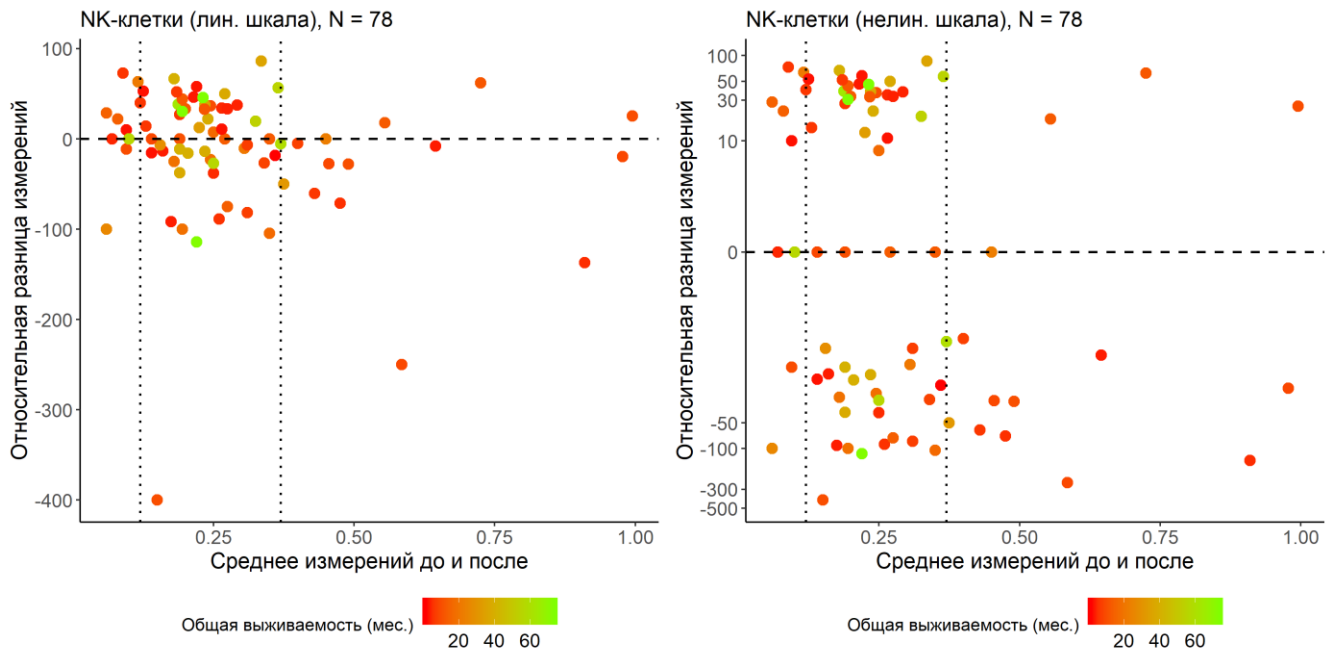


Рисунок 18 – Диаграмма рассеяния относительной разницы значений НК-клеток (CD3-CD16+56+) периферической крови с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

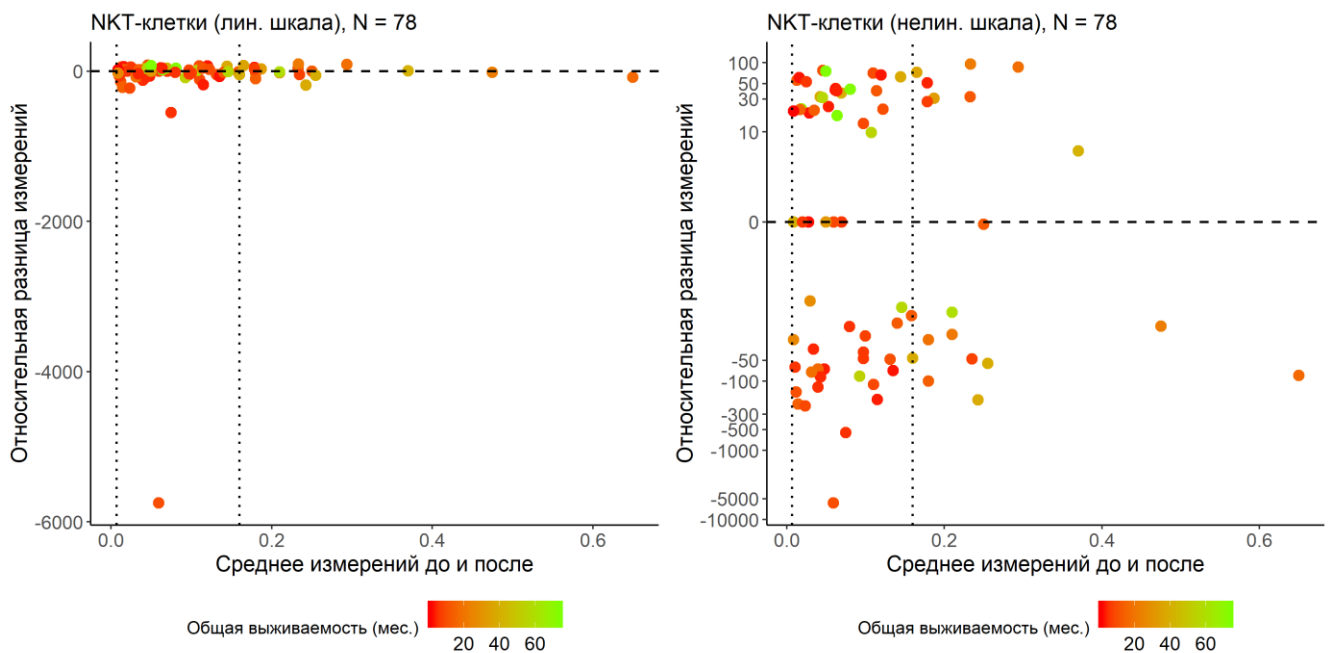


Рисунок 19 – Диаграмма рассеяния относительной разницы субпопуляции НКТ-клеток (CD3+CD16+56+) периферической крови на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

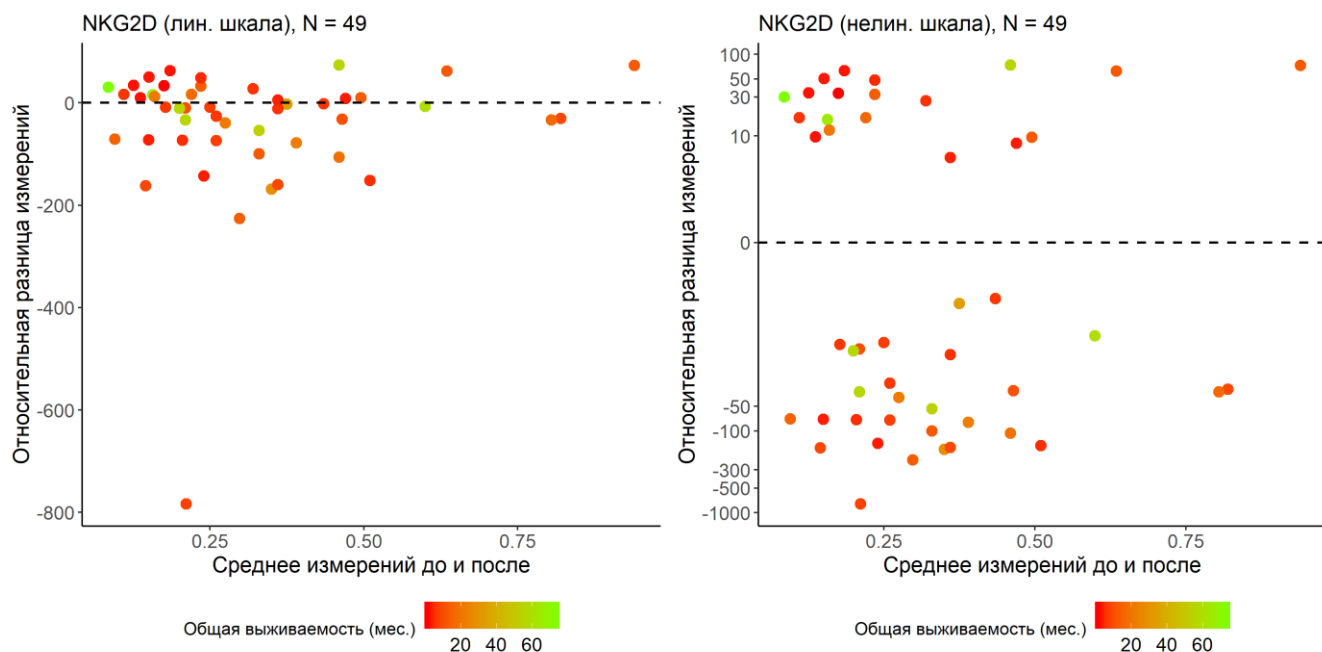


Рисунок 20 – Диаграмма рассеяния динамики показателей активированных НК-клеток (CD3-CD16+56+NKG2D+) периферической крови на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

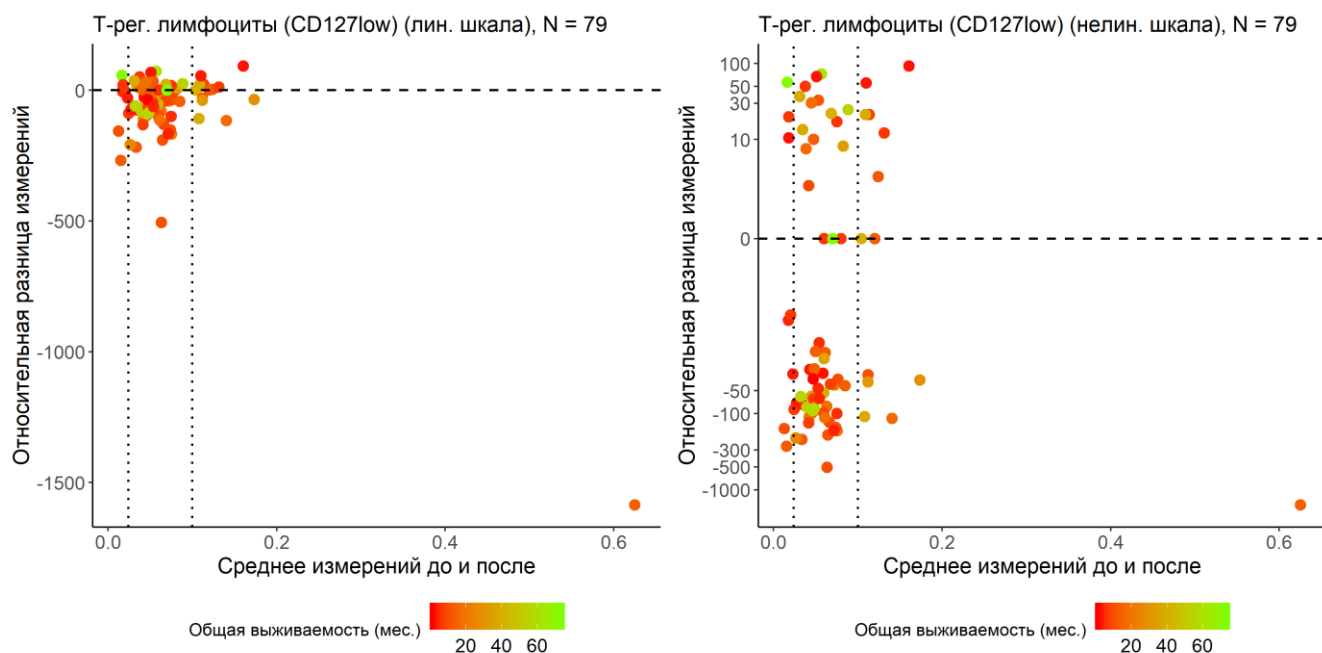


Рисунок 21 – Диаграмма рассеяния относительной разницы значений Т-регуляторных лимфоцитов (CD4+CD25brightCD127) периферической крови с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб.

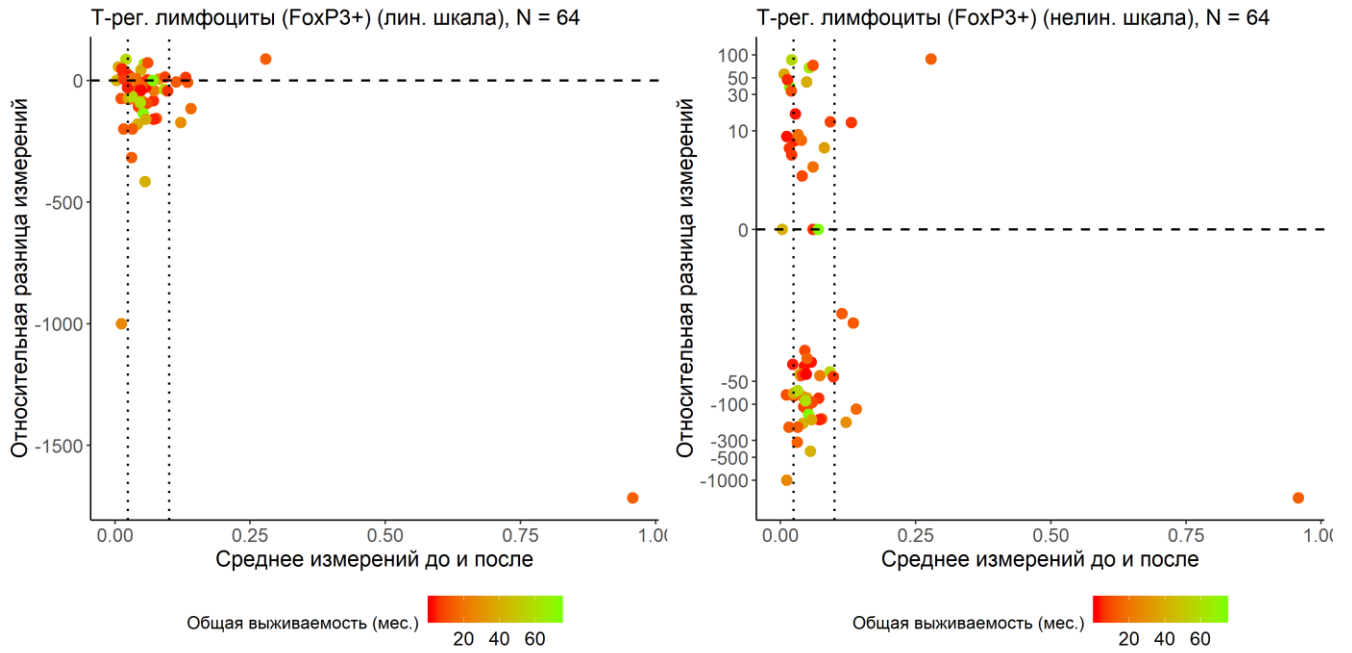


Рисунок 22 – Диаграмма рассеяния относительной разницы субпопуляции Т-регуляторных лимфоцитов (CD4+CD25brightFoxP3+) периферической крови на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

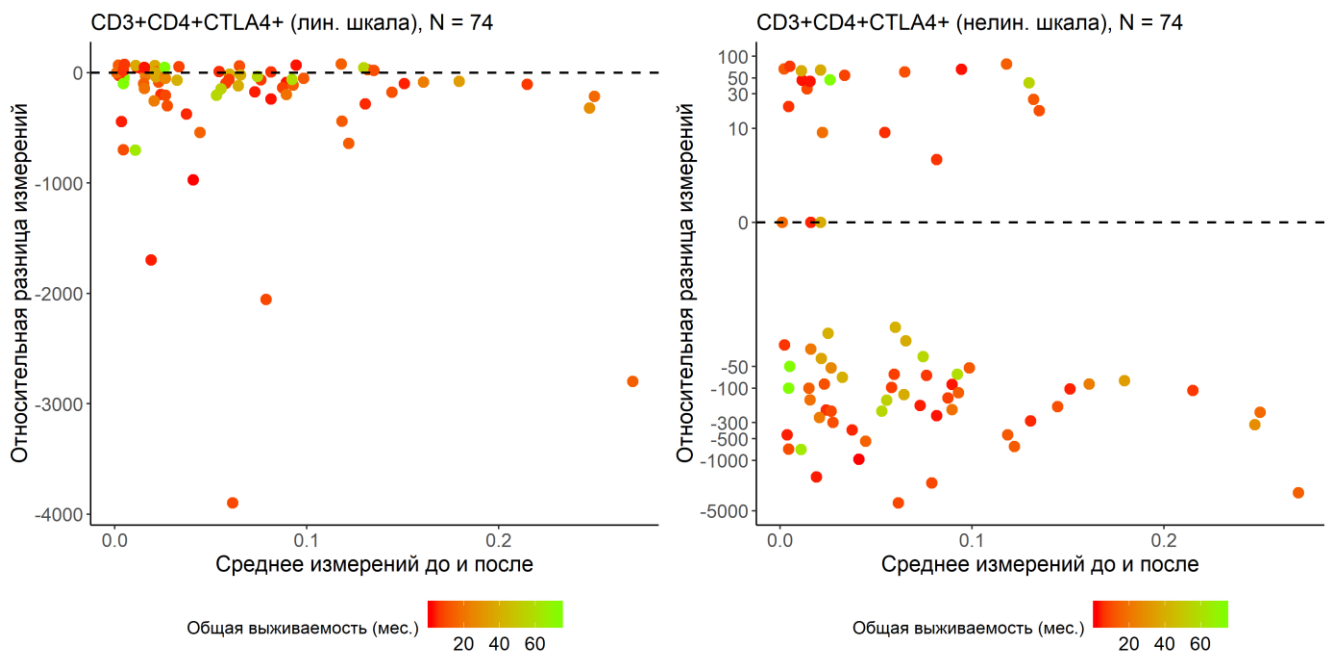


Рисунок 23 – Диаграмма рассеяния динамики показателей CD3+CD4+CTLA4+ периферической крови на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

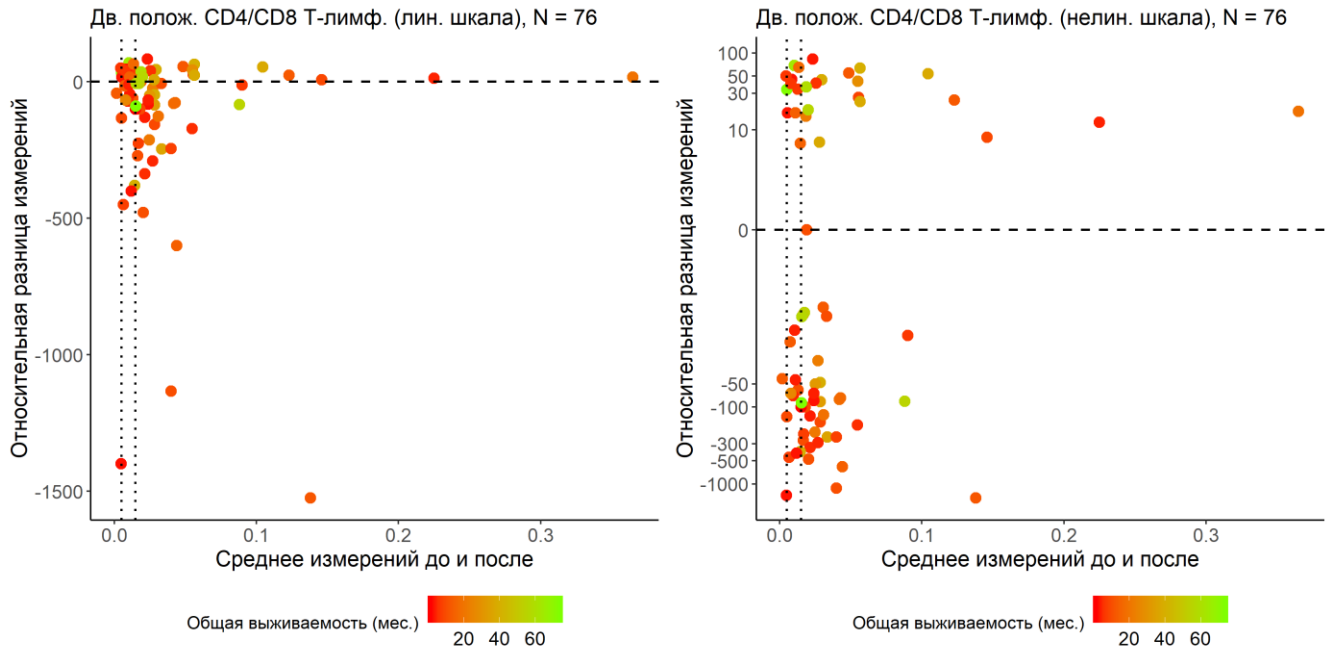


Рисунок 24 – Диаграмма рассеяния относительной разницы субпопуляции двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов (CD3+CD4+CD8+) периферической крови на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

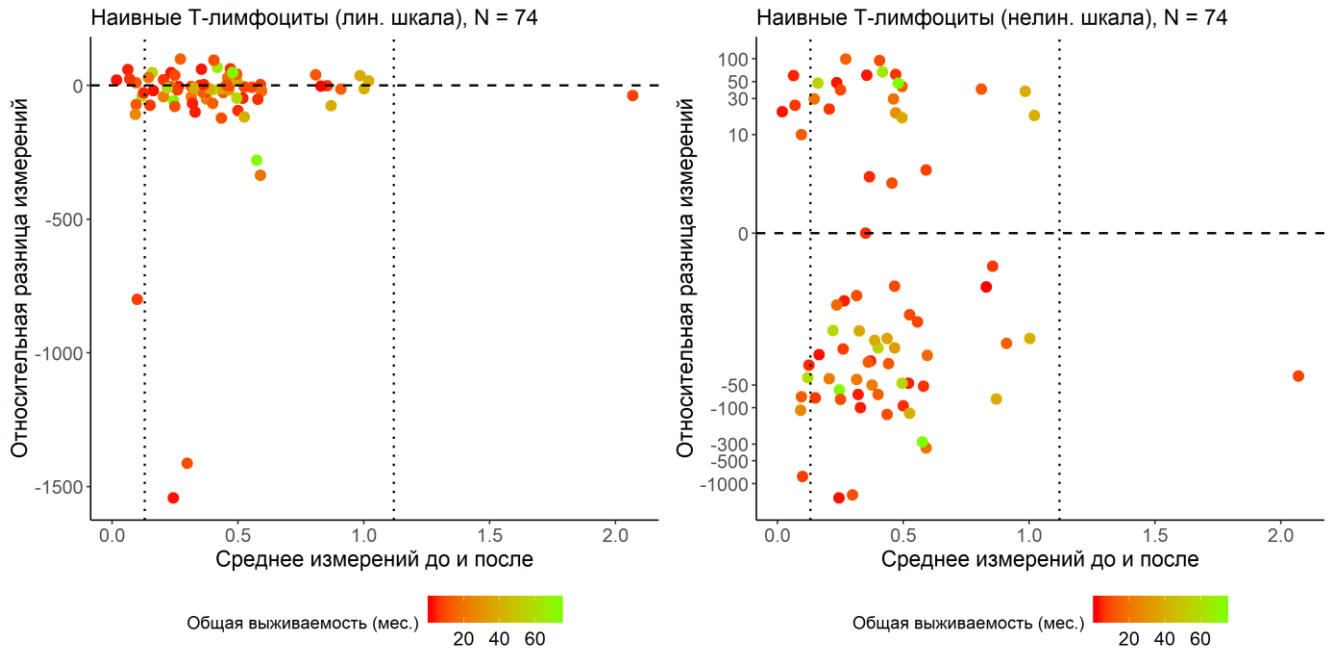


Рисунок 25 – Диаграмма рассеяния относительной разницы значений наивных Т-клеток (CD3+CD45RA+CD62L+) периферической крови с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

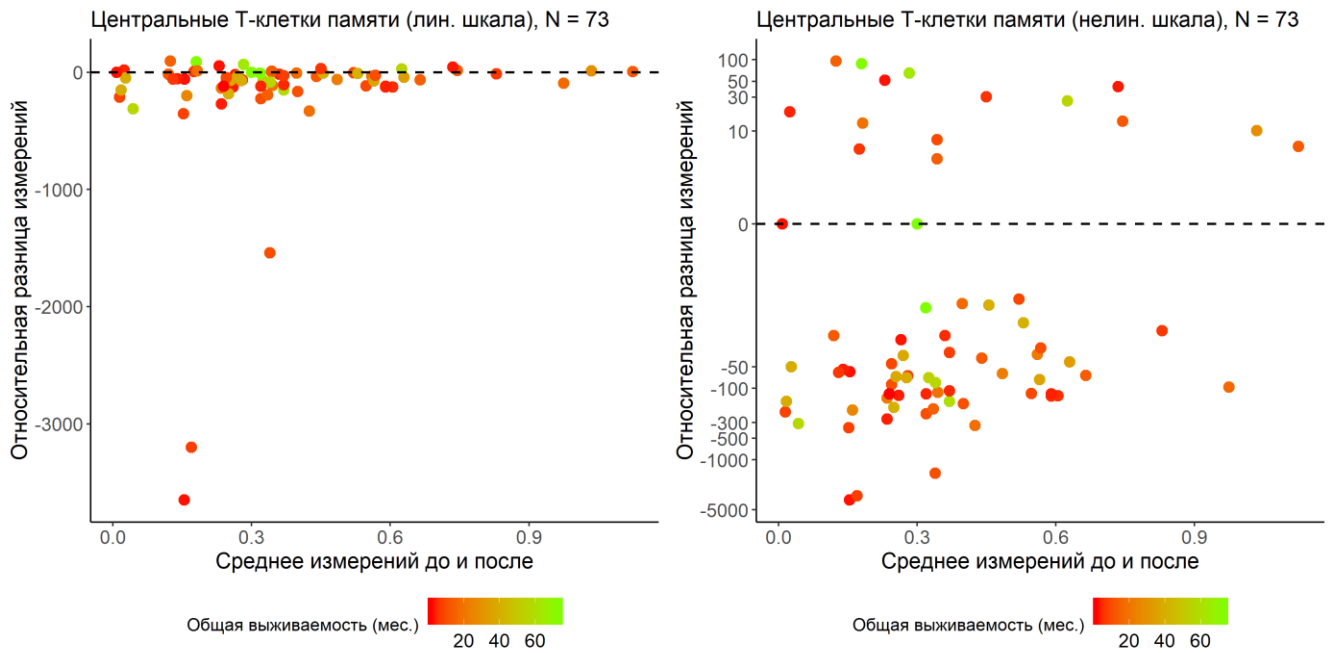


Рисунок 26 – Диаграмма рассеяния относительной разницы субпопуляции центральных Т-клеток памяти (CD3+CD45RA-CD62L+) периферической крови на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

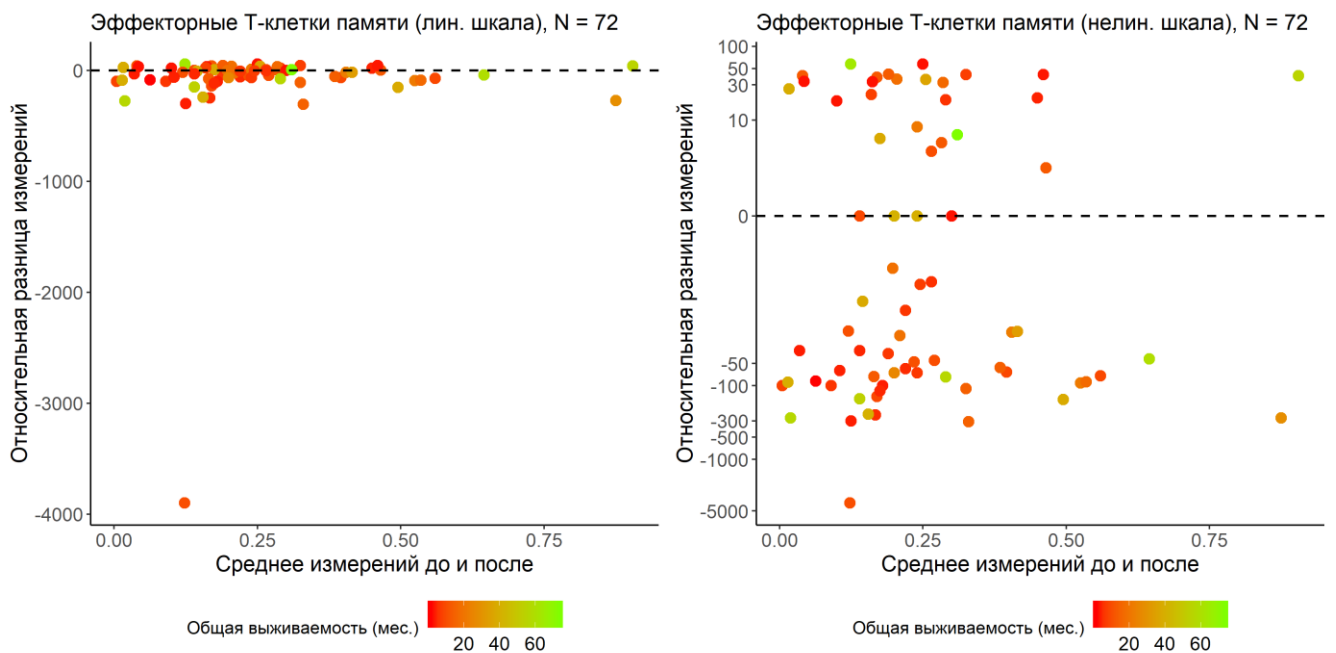


Рисунок 27 – Диаграмма рассеяния относительной разницы значений эффекторных Т-клеток памяти (CD3+CD45RA-CD62L-) периферической крови с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

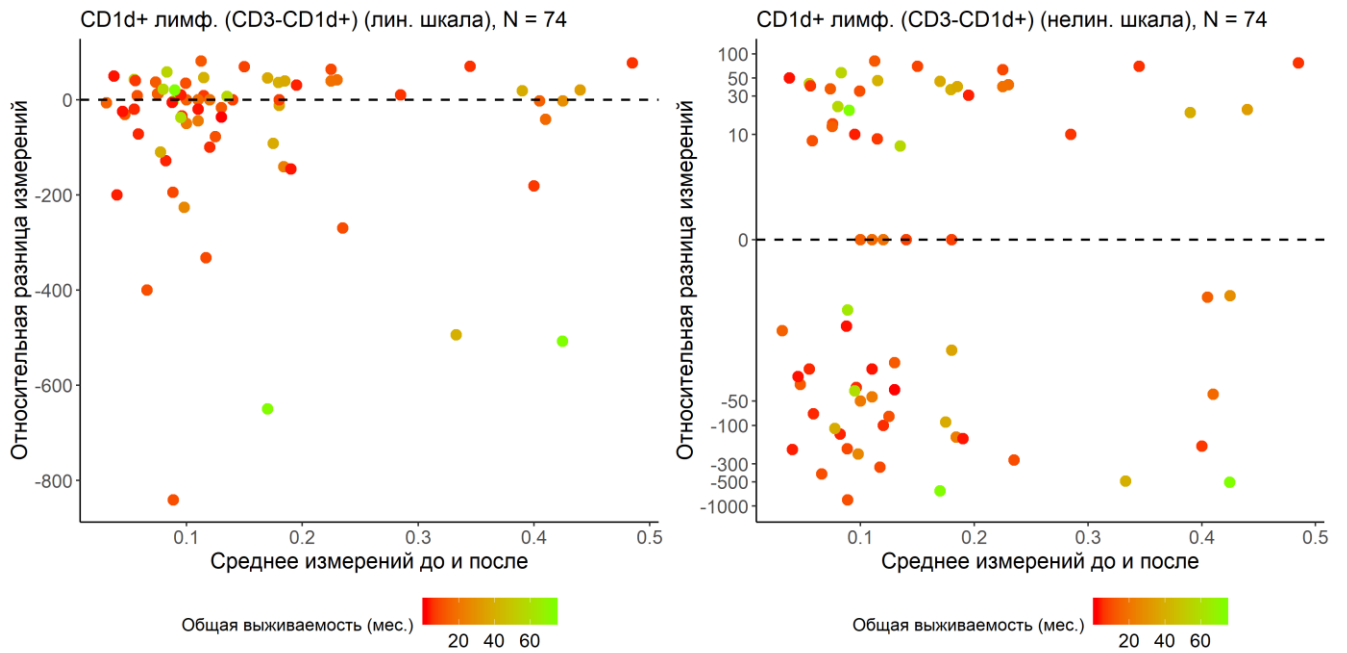


Рисунок 28 – Диаграмма рассеяния относительной разницы субпопуляции CD1d+ лимфоцитов (CD3-CD1d+) периферической крови на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

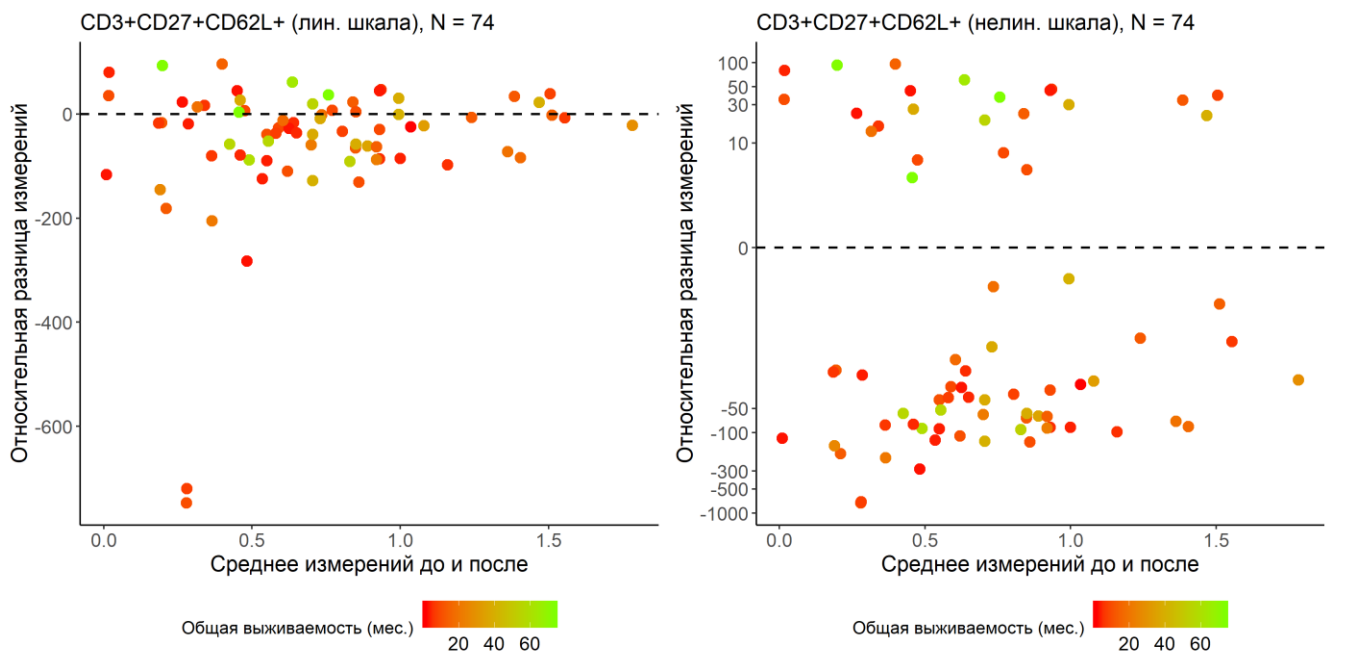


Рисунок 29 – Диаграмма рассеяния относительной разницы субпопуляции CD3+CD27+CD62L+ периферической крови с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

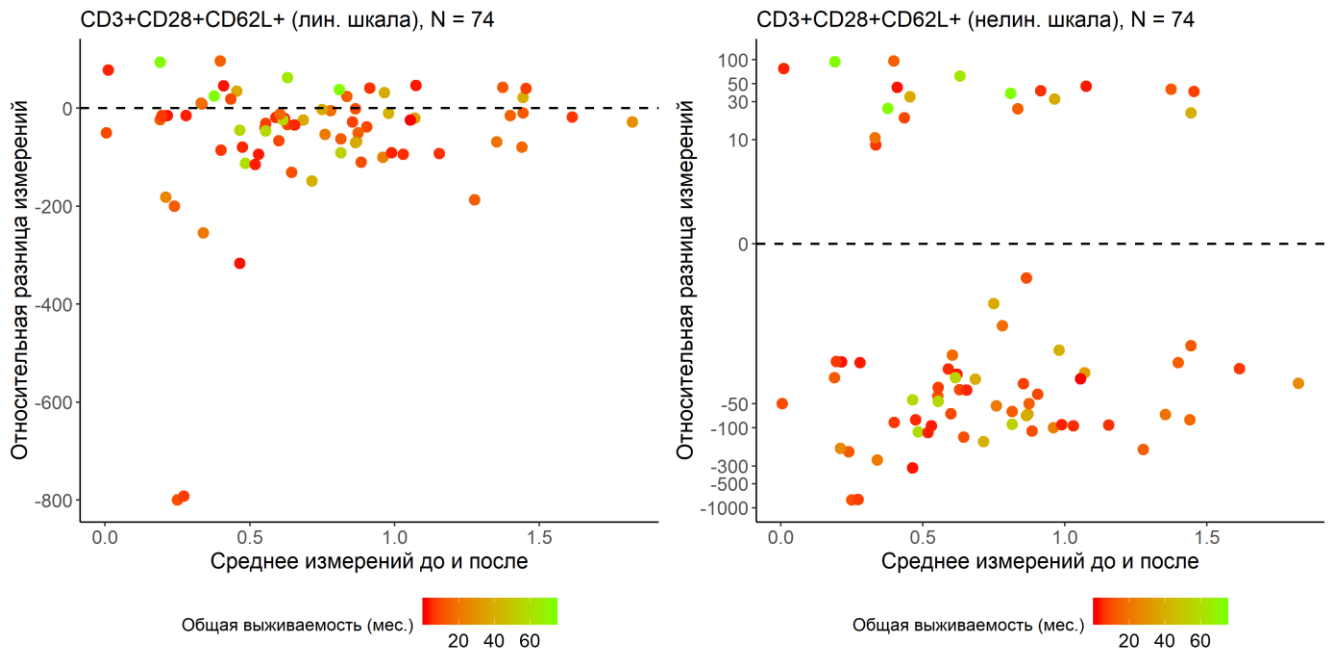


Рисунок 30 – Диаграмма рассеяния относительной разницы субпопуляции CD3+CD28+CD62L+ периферической крови на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

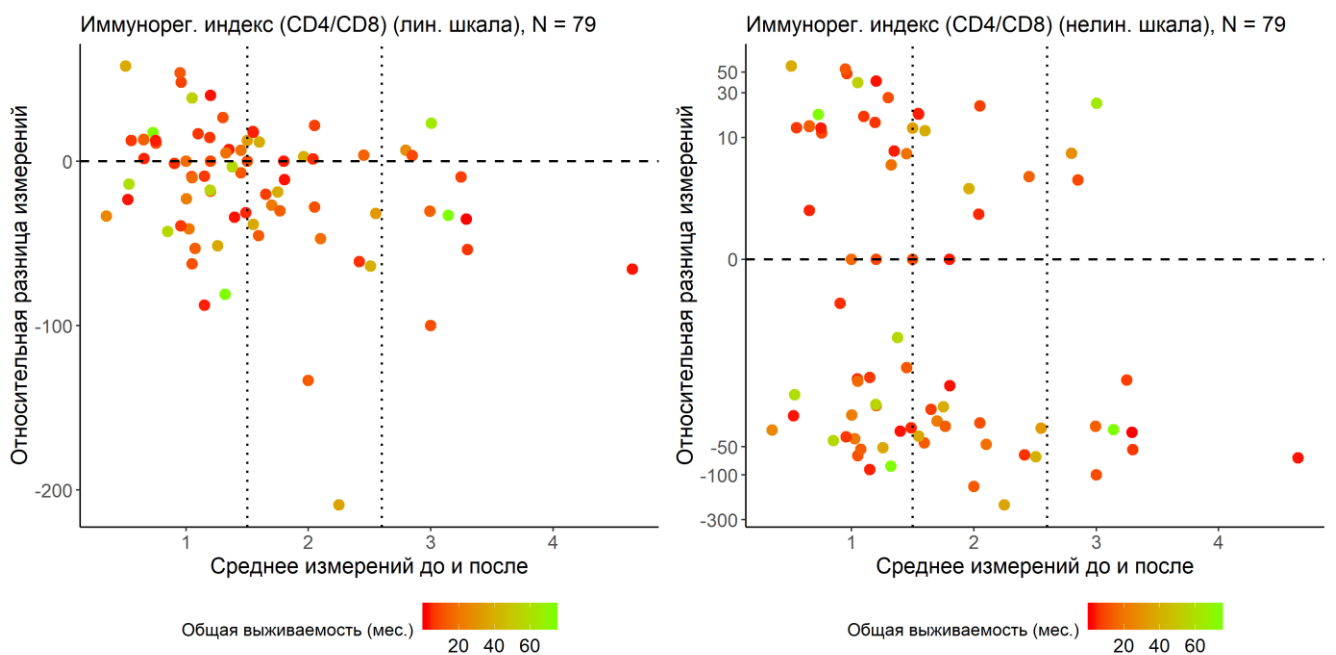


Рисунок 31 – Диаграмма рассеяния динамики показателей иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+) на фоне терапии ипилимумабом с указанием общей выживаемости у больных диссеминированной меланомой

По результатам оценки графического анализа субпопуляций иммунокомпетентных клеток периферической крови у больных неоперабельной или метастатической меланомой до и после терапии ИПИ, нами не было выявлено явных закономерностей, связывающих динамику изменения показателей с продолжительностью жизни данной категории пациентов. Однако, одной из отмеченных нами особенностей стало выделение группы пациентов с более низкой продолжительностью жизни при увеличении значений двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов на 100% и более по сравнению с исходными значениями.

Двойные положительные CD4+CD8+ Т-лимфоциты составляют 1-2% циркулирующих Т-лимфоцитов человека, но их частота увеличивается при некоторых заболеваниях. Фенотипические и функциональные свойства этих Т-лимфоцитов до сих пор окончательно не определены. Тем не менее, многочисленные исследовательские группы сообщили об увеличении частоты этих клеток у пациентов, страдающих от различных заболеваний, в том числе и от меланомы [72]. Было показано, что двойные положительные CD4+CD8+ Т-лимфоциты продуцируют провоспалительные цитокины и оказывают цитотоксическое действие. Исследователи обнаружили значительное увеличение частоты распознавания двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов в опухолях по сравнению с кровью. CD4+CD8+ Т-клетки в опухолевой ткани также секретировали повышенные уровни фактора некроза опухоли – альфа (TNF- α) в ответ на клеточную линию аутологичной меланомы по сравнению с CD8 + Т-клетками, что подтверждает противоопухолевую реактивность этой новой субпопуляции. Выявленная нами корреляция повышения уровня двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов на фоне терапии ИПИ с уменьшением продолжительности жизни больных и неизученность данного феномена послужили для дальнейшего изучения в нашем исследовании данной субпопуляции в качестве прогностического биомаркера.

Группа пациентов с показателями NK-клеток выше референсных значений характеризовалась снижением показателей общей выживаемости. Клетки натуральные киллеры (NK) играют центральную роль во врожденном иммунитете, поскольку они обеспечивают раннюю защиту от вирусных инфекций и, в целом, от патогенов. Тем не менее, NK-клетки за счет своей цитолитической активности также участвуют в иммунном противоопухолевом надзоре и предотвращают распространение метастатических опухолей. Роль NK-клеток при проведении терапии ингибиторами контрольных точек у больных меланомой остается только частично понятой. По данным некоторых исследований с небольшими когортами пациентов отмечено, что низкие базовые уровни NK-клеток и субпопуляции CD56^{bright} коррелировали с положительным ответом на ИПИ у больных метастатической меланомой [54, 129]. Эти предварительные данные схожи с нашими наблюдениями и требуют дальнейшего проспективного изучения на больших группах пациентов.

По нашим наблюдениям было отмечено увеличение показателя активированных НК-клеток (CD3-CD16+56+NKG2D+) на 50% и более по сравнению с данными до начала лечения ИПИ в группе пациентов с меньшей продолжительностью жизни. NKG2D является одним из доминантных активирующих рецепторов на НК-клетках и служит основным рецептором распознавания для обнаружения и уничтожения инфицированных и трансформированных клеток [127]. Первичные опухоли часто экспрессируют лиганды NKG2D: уничтожение НК-клетками как линии опухолевых клеток уротелия, так и клеток рака мочевого пузыря, по-видимому, вызвано обнаружением НК-клетками лигандов NKG2D MICA / MICB [23, 146]. Однако опухоли также имеют механизмы избегания от НК-клеток, несмотря на экспрессию лиганда NKG2D. Одним из таких механизмов является системное высвобождение лигандов NKG2D опухолями у онкологических больных [71, 208]. Считается, что секретированный лиганд NKG2D вызывает подавление экспрессии НК-клетками NKG2D, таким образом, лишая НК-клетку активирующего сигнала и облегчая ускользание опухоли. Недавно появились данные, свидетельствующие об активирующей противоопухолевой роли растворимых лигандов NKG2D. Высокоаффинный лиганд NKG2D мыши MULT1 может стимулировать НК-клетки и усиливать противоопухолевую активность [33]. Путь NKG2D является неотъемлемой частью иммунологического надзора и активной областью исследований в иммунотерапии, но при проведении терапии ингибиторами контрольных точек у больных диссеминированной меланомой он изучен недостаточно, что обуславливает отсутствие возможности определения NKG2D рецептора НК-клеток в качестве благоприятного или неблагоприятного прогностического фактора.

При дальнейшем графическом анализе полученных данных наше внимание привлекли эпизоды гиперповышения различных показателей на 500% и более от исходного уровня у некоторых больных меланомой на фоне лечения ИПИ. Анализ каждого отдельного показателя иммунного статуса выявил один или несколько подобных эпизодов, а при изучении всей серии иммунологических тестов и идентификации пациентов была отмечена тенденция к появлению отдельной группы больных со значительным повышением в динамике от начала терапии ИПИ большинства субпопуляций лимфоцитов. Общее количество пациентов в исследовании с подобными изменениями в иммунологических показателях составило не более 12 (12,6%) человек, у которых клиническая картина протекания заболевания на фоне применения ИПИ характеризовалась низкими значениями общей выживаемости. Исключением стали 3 (3,1%) пациента с гипервыбросом В-лимфоцитов на фоне лечения ИПИ, у которых отмечены максимальные показатели общей выживаемости более 3-х лет.

Таким образом, нами было выдвинуто предположение, что в общей группе пациентов с единой характеристикой по основному онкологическому заболеванию могут быть выделены

различные подгруппы, которые по-разному отвечают на терапию ИПИ ввиду иммунологических особенностей.

Подобные наблюдения сподвигли нас провести кластерный анализ, который был направлен на попытку объединения пациентов в группы по признаку близости изменений в значениях иммунологических показателей на фоне терапии ИПИ. Ведь понимание основополагающих признаков разделения больных, получающих терапию ингибиторами контрольных точек, на группы с увеличением и отсутствием влияния на продолжительность жизни поможет определить критерии персонализации данного вида лечения.

Иерархический кластерный анализ проведен в группе из 67 больных диссеминированной меланомой, получавших ИПИ в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Тепловая карта 20 показателей иммунного статуса на фоне терапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой представлена на рис. 32.

Градиент изменения оттенка в сторону белого цвета указывает на повышение иммунологического показателя в динамике.

При проведении анализа не было отмечено явного выделения кластера пациентов с идентичными изменениями иммунного статуса, которые были бы сопоставимы с клинической картиной заболевания. Однако, у пациентки с максимальным количеством эпизодов гиперповышения показателей, самыми высокими значениями Т-лимфоцитов (+1 680%), Т-хелперов (1 200%), НКТ-клеток (+5 700%), эффекторных клеток (+3 900%) и цитотоксических Т-лимфоцитов (+1 750%) по сравнению с исходными тестами не отмечено достижения клинического эффекта терапии ИПИ, а продолжительность жизни с момента начала иммунотерапии не превысила 9 месяцев. Это может служить основанием для дальнейшего изучения связи гиперактивации иммунной системы с прогнозом жизни и заболевания. У двух пациенток с явлениями отека головного мозга на фоне манифестации метастазов центральной нервной системы после 1 введения ИПИ выявлено идентичное повышение значений наивных и центральных Т-клеток памяти, CD3+CD27+CD62L+, CD3+CD28+CD62L+. Курс лечения ИПИ у данных пациенток не был завершен, а клиническая картина характеризовалась минимальной общей выживаемостью. Терапия ИПИ не была завершена также у 2 пациентов, у которых на фоне лечения развились жизнеугрожающие иоНЯ (пневмонит 3 ст. и гепатит 3 ст.), а иммунологический профиль отличался повышением В-лимфоцитов и CD1d+ лимфоцитов. Отмечена тенденция к снижению CD3+CD27+CD62L+, CD3+CD28+CD62L+, В-лимфоцитов, CD1d+ лимфоцитов, Т-регуляторных лимфоцитов (CD4+CD25brightCD127), активированных Т-хелперов (CD3+CD4+CD25+) в группе из 18 пациентов, однако единой связи с эффектом или токсичностью иммунотерапии ИПИ выявлено не было.

Таким образом, мы можем предположить наличие разделения больных с неоперабельной или метастатической меланомой, получавших анти-CTLA-4 иммунотерапию ИПИ, на группы в зависимости от реактивности показателей иммунного профиля пациентов, но представить достоверных данных в пользу этой гипотезы невозможно ввиду малой мощности нашего исследования.

Наши наблюдения свидетельствуют о важности проведения иммунологического обследования у данной категории пациентов перед и на фоне проведения терапии ингибиторами контрольных точек для поиска достоверных биомаркеров, которые будут возможно использовать в прогностических целях и для персонализации иммунотерапии.

Мы предлагаем для дальнейшего изучения в качестве одного из таких прогностических биомаркеров рассмотреть динамическое изменение уровня двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов у больных диссеминированной меланомой, получавших ИПИ.

3.5 Поиск прогностических факторов иммунотерапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой

Данные, полученные при изучении противоопухолевой иммунотерапии, уже подтвердили высокую эффективность и управляемую токсичность препаратов, блокирующих супрессивные регуляторные механизмы клеточного иммунного ответа при неоперабельной меланоме. Однако, на сегодняшний день иммунотерапия опухолей все еще находится на раннем этапе своего развития. Кроме того, высокая себестоимость современной иммунотерапии диссеминированной меланомы кожи определяет необходимость персонализации показаний к назначению данного вида терапии, что требует более глубокого изучения биологии противоопухолевого иммунитета и прогностических и предиктивных факторов, определяющих течение заболевания и эффективность лечения.

Ипилимумаб представляет собой моноклональное антитело против CTLA-4, и, хотя доля пациентов с распространенной меланомой, которые, по-видимому, получают пользу от лечения, остается скромной, прирост выживаемости составляет примерно 10% через 5 лет по сравнению с эффектами цитостатиков [69]. Кроме того, наблюдается очень низкий уровень смертности между 3 и 5 годами наблюдения [86], давая надежду, что есть категория пациентов, которые могут продолжать отвечать на лечение ИПИ еще в течение многих лет. Отличительной особенностью ИПИ по сравнению с более новыми и эффективными препаратами из группы ингибиторов PD-1 является его фиксированный курс лечения не более 4 введений, что также

определяет его фармакоэкономические преимущества. Поэтому поиск достоверных прогностических и предиктивных факторов и биомаркеров терапии ИПИ продолжает интересовать исследователей во всем мире.

В нашем исследовании мы рассматривали возможность влияния на показатели общей выживаемости у 67 больных метастатической меланомой, получавших ИПИ, следующих общеклинических факторов и потенциальных биомаркеров: уровень ЛДГ на момент начала лечения ИПИ, количество ранее проведенных линий иммунотерапии, факт проведения системной терапии глюкокортикостероидами на фоне терапии ИПИ, изменение уровня СРБ, абсолютного числа эозинофилов и лимфоцитов на фоне лечения, сравнение динамики показателей Т-лимфоцитов (CD3+CD19-), В-лимфоцитов (CD3- CD19+), Т-хелперов (CD3+CD4+), цитотоксические Т-лимфоцитов (CD3+CD8+), двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов (CD3+CD4+CD8+) до начала лечения и максимально приближенного теста перед первой рентгенологической оценкой эффекта ИПИ.

3.5.1 Результаты

Для оценки влияния выбранных потенциальных прогностических факторов на общую выживаемость 67 пациентов с диссеминированной меланомой, получавших ИПИ, мы применили регрессию Кокса. На основе теста отношения правдоподобия модель являлась статистически значимой ($p=0,0005$). Предварительные результаты множественного регрессионного анализа Кокса для оценки факторов риска смерти больных диссеминированной меланомой кожи, получавших ИПИ, представлены в табл. 14.

Таблица 14 – Предварительные результаты множественного регрессионного анализа Кокса для оценки факторов риска смерти больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

Фактор в модели	Beta	se(Beta)	Exp(Beta)	Верхний ДИ 95%	Нижний ДИ 95%	p- значение
ГКС (1)	1,4930	0,4121	4,4500	1,9843	9,9796	0,0003
ГКС (2)	0,0374	0,4366	1,0380	0,4412	2,4429	0,9317
Линия иммунотерапии (3+)	-0,3325	0,4875	0,7172	0,2758	1,8644	0,4952
С-реактивный белок	<0,0001	<0,0001	1,0000	1	1	0,0646

Продолжение таблицы 14

Фактор в модели	Beta	se(Beta)	Exp(Beta)	Верхний ДИ 95%	Нижний ДИ 95%	p- значение
ЛДГ (ниже ВГН)	-1,0390	0,3583	0,3536	0,1752	0,7138	0,0037
Эозинофилы	-0,0001	0,0001	0,9999	0,9997	1,0002	0,6592
Лимфоциты	0,0064	0,0072	1,0060	0,9923	1,0208	0,3743
Т-лимфоциты	0,0071	0,0052	1,0070	0,997	1,0174	0,1656
В-лимфоциты	-0,0011	0,0015	0,9989	0,996	1,0018	0,4471
Т-хелперы	-0,0056	0,0056	0,9944	0,9835	1,0054	0,3148
Цитотоксические лимфоциты	-0,0036	0,0026	0,9964	0,9913	1,0014	0,1602
Дв. полож. CD4+CD8+ Т-лимфоциты	-0,0019	0,0008	0,9981	0,9966	0,9997	0,0172

Примечание – Beta – коэффициент в регрессионной модели Кокса при соответствующем факторе; Exp(Beta) – экспонента Beta или отношение рисков. Допускает следующую интерпретацию: при увеличении значения исследуемого фактора на 1 единицу измерения риск более раннего наступления исхода увеличиваются в Exp(B); границы 95% ДИ отражают, в каких пределах с вероятностью 95% находится значение этого коэффициента для популяции, из которой была сформирована изучаемая выборка; ГКС(1) – проведение системной терапии глюкокортикостероидами при метастазах в головном мозге и в костях позвоночника с противоотечной целью и при проведении противоболевой и гепатотропной терапии; ГКС(2) – проведение системной терапии глюкокортикостероидами для купирования иммуноопосредованных нежелательных явлений; линия иммунотерапии (3+) – проведение до начала лечения ИПИ от 3 до 7 линий иммунотерапии; ЛДГ (ниже ВГН) – уровень ЛДГ на момент начала терапии ниже верхней границы нормы.

Прежде чем переходить к анализу результатов мы проверили следующие предположения модели:

1. Условие пропорциональности рисков. Риск наступления событий для любых двух пациентов в любой интервал времени пропорционален.

2. Отсутствие наблюдений, значительно влияющих на коэффициенты модели (выбросы).

Для проверки основного предположения регрессии Кокса (условие пропорциональности рисков) использовались графики масштабированных остатков Шёнфельда и базирующийся на

них критерий [204], реализованный в пакете «survminer» в виде функции «cox.zph» [123].
 Результаты анализа представлены в табл. 15 и рис. 33-35.

Таблица 15 – Результаты проверки условия пропорциональности рисков

Фактор в модели	p-значение
ГКС (1)	0,0931
ГКС (2)	0,9927
Линия иммунотерапии (3+)	0,7648
С-реактивный белок	0,5916
ЛДГ (ниже ВГН)	0,1611
Эозинофилы	0,7867
Лимфоциты	0,6597
Т-лимфоциты	0,0540
В-лимфоциты	0,2042
Т-хелперы	0,0165
Цитотоксические лимфоциты	0,3634
Дв. полож. CD4+CD8+ Т-лимфоциты	0,8025
Общий тест	0,3995

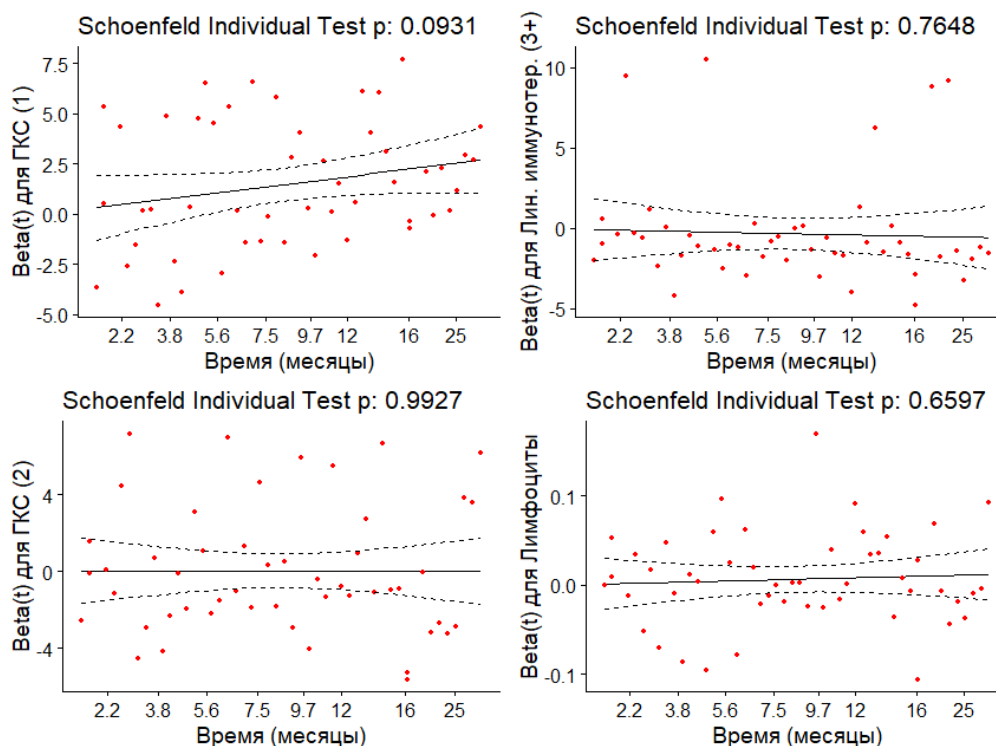


Рисунок 33 – Графики масштабированных остатков Шёнфельда для факта проведения системной терапии глюкокортикостероидами с противоотечной целью и для купирования юНЯ, для 3-х и более ранее проведенных линий иммунотерапии, для динамики изменения показателя лимфоцитов на фоне терапии ипилимумабом относительно времени

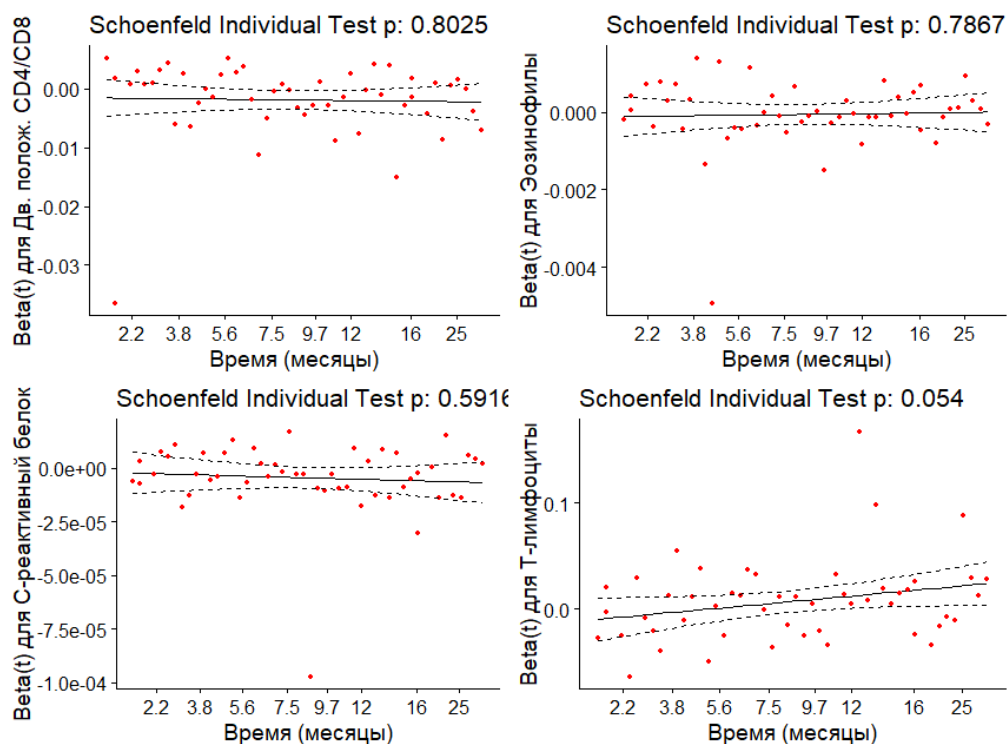


Рисунок 34 – Графики масштабированных остатков Шёнфельда для динамики изменения показателей двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов, С-реактивного белка, эозинофилов, Т-лимфоцитов на фоне терапии ипилимумабом относительно времени

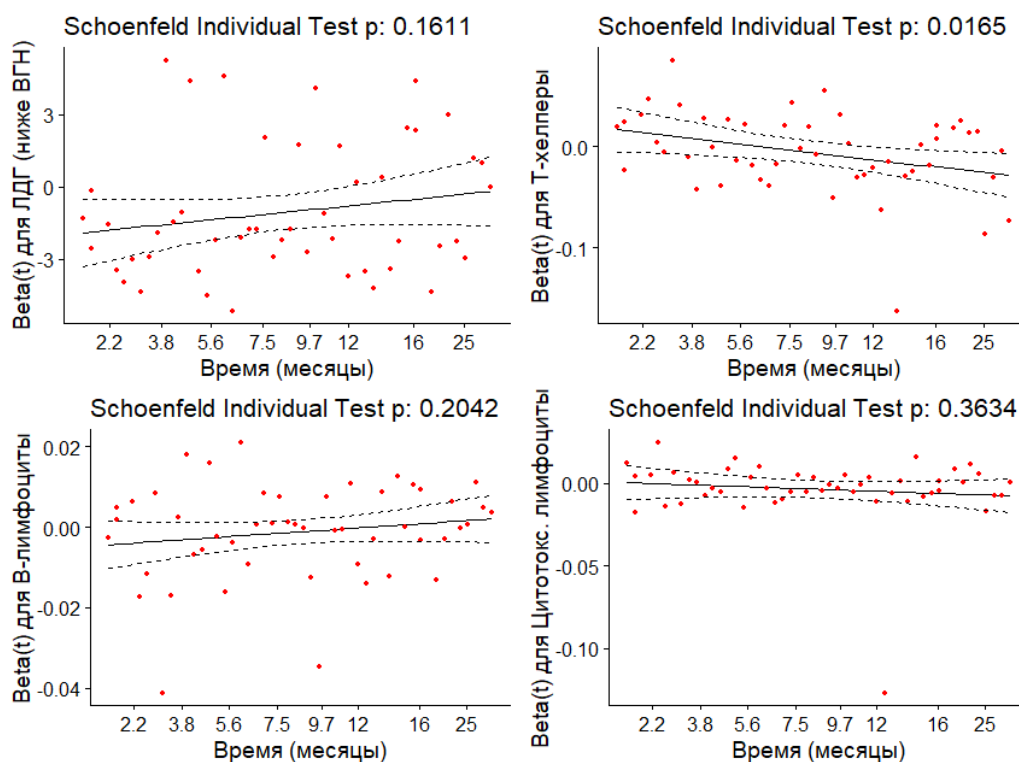


Рисунок 35 – Графики масштабированных остатков Шёнфельда для ЛДГ ниже верхней границы нормы, динамики изменения показателей В-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-лимфоцитов на фоне терапии ипилимумабом относительно времени

Графически при выполнении условия пропорциональных рисков остатки должны быть равномерно распределены вокруг нуля и не изменяться с течением времени (подогнанная прямая на графиках должна иметь угол наклона близкий к нулю). Результаты анализа показали, что несмотря на отсутствие статистически значимого нарушения предположения для модели в целом (Общий тест, $p=0,3995$), таковое наблюдается для фактора Т-хелперы ($p=0,0165$).

Для проверки наличия выбросов также применяется графический анализ (рис. 36), но уже для другого типа остатков – «dfbeta» [96]. По вертикали отложены разницы между исходными коэффициентами Beta и коэффициентами модели, из которой исключен один из пациентов (по горизонтали). Несмотря на наличие пациентов, которые влияют на один или несколько показателей значительно сильнее, чем остальные, сопоставление с коэффициентами исходной модели позволяет заключить отсутствие явных выбросов.

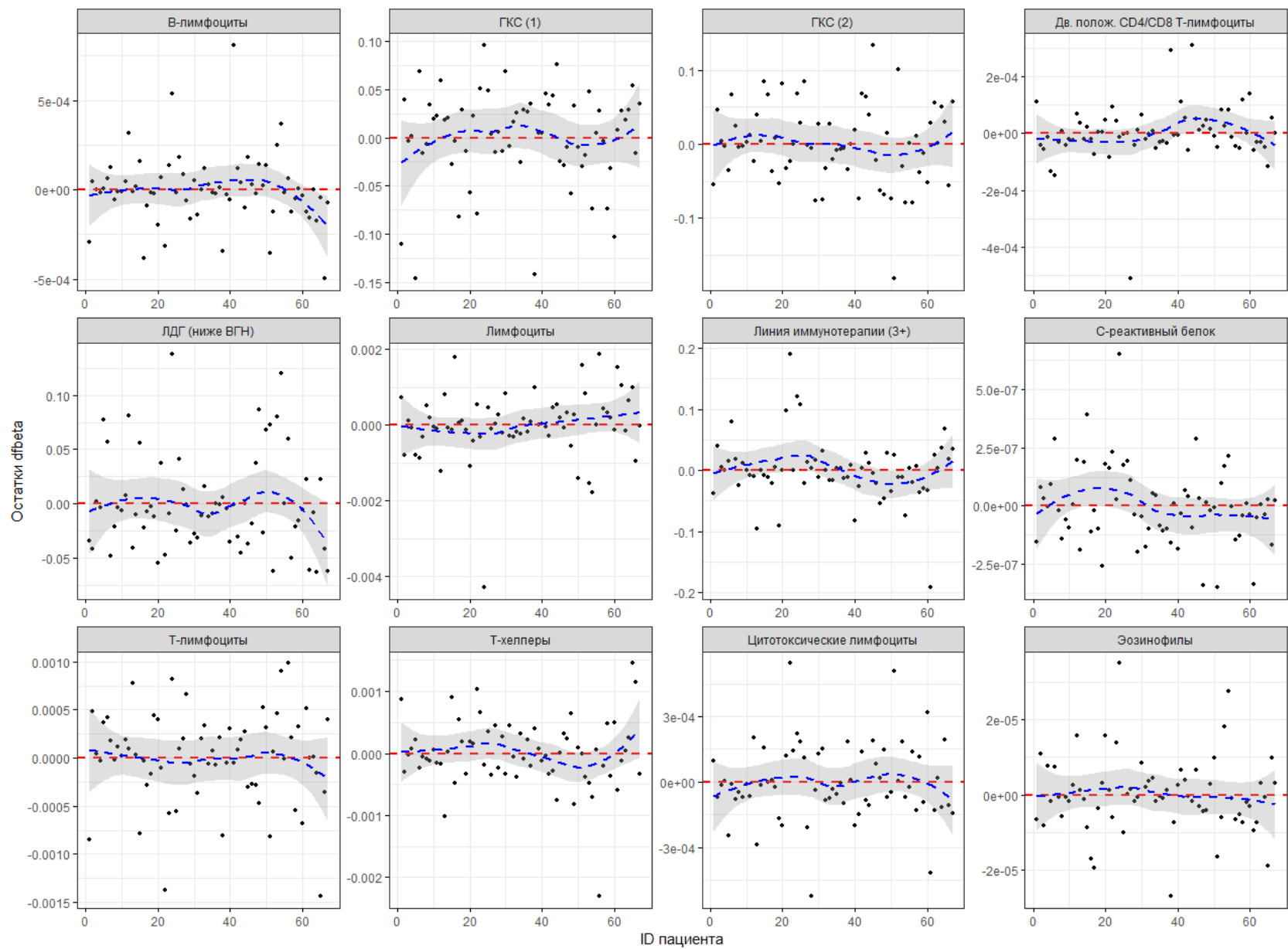


Рисунок 36 – Графический анализ проверки наличия выбросов

По результатам проверки предположений модели было принято решение исключить переменную Т-хелперы из модели. Результаты модели без Т-хелперов представлены в табл. 16 и 17.

Таблица 16 – Результаты множественного регрессионного анализа Кокса для оценки факторов риска смерти больных диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб

Фактор в модели	Beta	se(Beta)	exp(Beta)	Верхний ДИ 95%	Нижний ДИ 95%	р- значение
ГКС (1)	1,4140	0,4046	4,1110	1,8601	9,0835	0,0005
ГКС (2)	-0,0610	0,4258	0,9408	0,4084	2,1675	0,8861
Линия иммунотерапии (3+)	-0,2543	0,4712	0,7754	0,3079	1,9528	0,5894
С-реактивный белок	0,0000	0,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,0622
ЛДГ (ниже ВГН)	-1,0020	0,3516	0,3673	0,1844	0,7315	0,0044
Эозинофилы	-0,0001	0,0001	0,9999	0,9997	1,0002	0,5265
Лимфоциты	0,0047	0,0071	1,0050	0,9909	1,0187	0,5071
Т-лимфоциты	0,0030	0,0033	1,0030	0,9965	1,0095	0,3676
В-лимфоциты	-0,0014	0,0015	0,9986	0,9957	1,0015	0,3399
Цитотоксические лимфоциты	-0,0029	0,0027	0,9971	0,9919	1,0024	0,2833
Дв. полож. CD4+CD8+ Т-лимфоциты	-0,0019	0,0008	0,9981	0,9965	0,9996	0,0117

Таблица 17 – Результаты проверки основного предположения регрессии Кокса

Фактор в модели	р-значение
ГКС (1)	0,2340
ГКС (2)	0,5730
Линия иммунотерапии (3+)	0,9520
С-реактивный белок	0,5620
ЛДГ (ниже ВГН)	0,1050
Эозинофилы	0,9010
Лимфоциты	0,8400
Т-лимфоциты	0,8750
В-лимфоциты	0,4710
Цитотоксические лимфоциты	0,7460
Дв. полож. CD4+CD8+ Т-лимфоциты	0,6400
Общий тест	0,8220

При оценке влияния количества ранее проведенных линий иммунотерапии, факта применения системной терапии ГКС для купирования иоНЯ, изменения уровня СРБ, абсолютного числа эозинофилов и лимфоцитов на фоне лечения, динамики показателей Т-лимфоцитов (CD3+CD19-), В-лимфоцитов (CD3- CD19+), Т-хелперов (CD3+CD4+), цитотоксические Т-лимфоцитов (CD3+CD8+) на показатели общей выживаемости при проведении терапии ипилиумабом у больных диссеминированной меланомой статистического значения выявлено не было ($p>0,05$).

Из анализируемых потенциальных прогностических факторов влияние на общую выживаемость больных с диссеминированной меланомой, получавших ИПИ, оказали факт проведение системной терапии ГКС с противоотечной целью и при проведении противоболевой и гепатотропной терапии, уровень ЛДГ на момент начала лечения ИПИ ниже верхней границы нормы и динамика изменения показателей двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов ($p<0,05$).

Риск смерти достоверно увеличивался в 4,11 раза в группе пациентов метастатической меланомой, получавших системную терапию ГКС с противоотечной целью при наличии метастазов в головном мозге и в костях позвоночного столба или с включением ГКС в схемы при проведении противоболевой и гепатотропной терапии по сравнению с пациентами, которые за период лечения ИПИ не получали системной терапии ГКС ($p=0,0005$, 95% ДИ, 1,86-9,08). Графическое отображение анализа переменной представлено на рис. 37.

Но эти данные скорее характеризуют неблагоприятную группу пациентов с метастазами в головном мозге и выраженными осложнениями заболевания, которым требовалось проведение лечения ГКС в качестве пособий симптоматической и противоотечной терапии. Однако, статистически значимых различий риска смерти между группами пациентов, у которых применялись алгоритмы купирования иоНЯ с применением ГКС, по сравнению с больными, не получавшими ГКС на фоне терапии ИПИ, не было выявлено ($p=0,8861$). Это означает, что в нашем исследовании применение терапии ГКС для купирования иоНЯ тяжелой степени тяжести не снижало показатели общей выживаемости.

В нашем исследовании у пациентов с уровнем ЛДГ ниже верхней границы нормы перед началом лечения ИПИ риск смерти был ниже на 63,3% по сравнению с больными, которые характеризовались изначальным повышением уровня ЛДГ выше референсных значений ($p=0,0044$, 95% ДИ, 0,18-0,73). Графическое представление анализа переменной изображено на рис. 38.

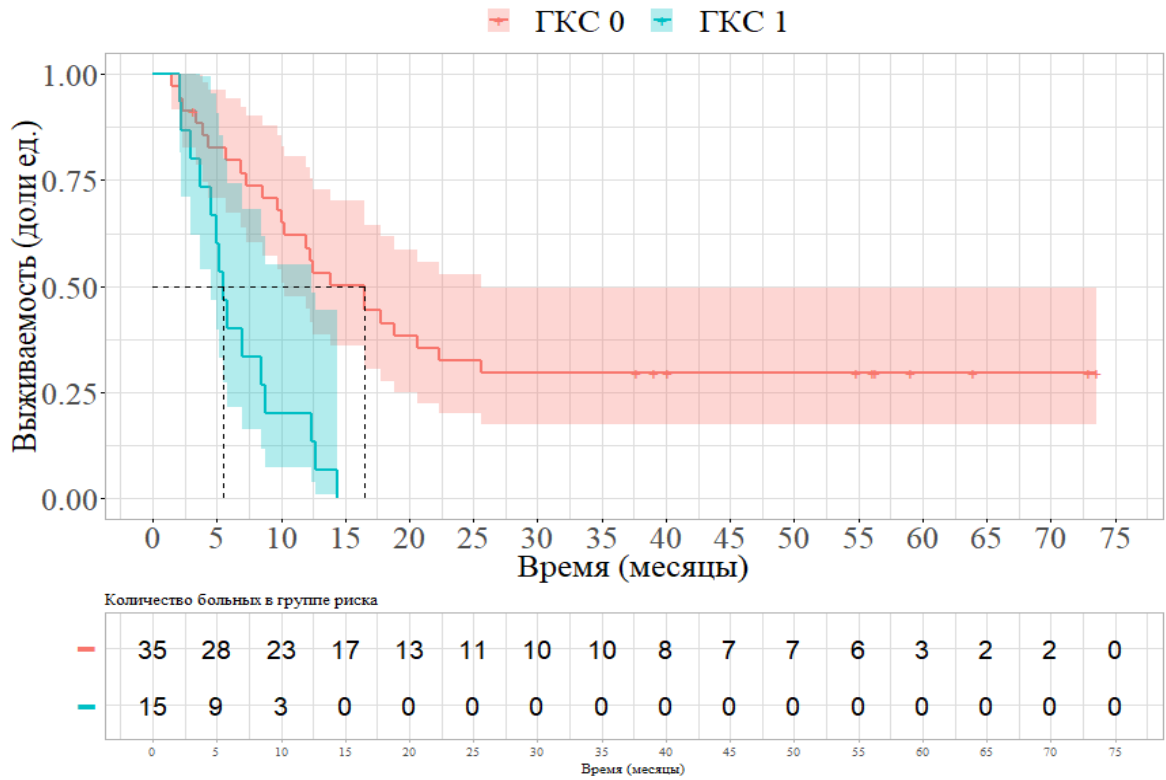


Рисунок 37 – Кривые Каплана–Мейера влияния на общую выживаемость применения ГКС с противоотечной целью на фоне терапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой

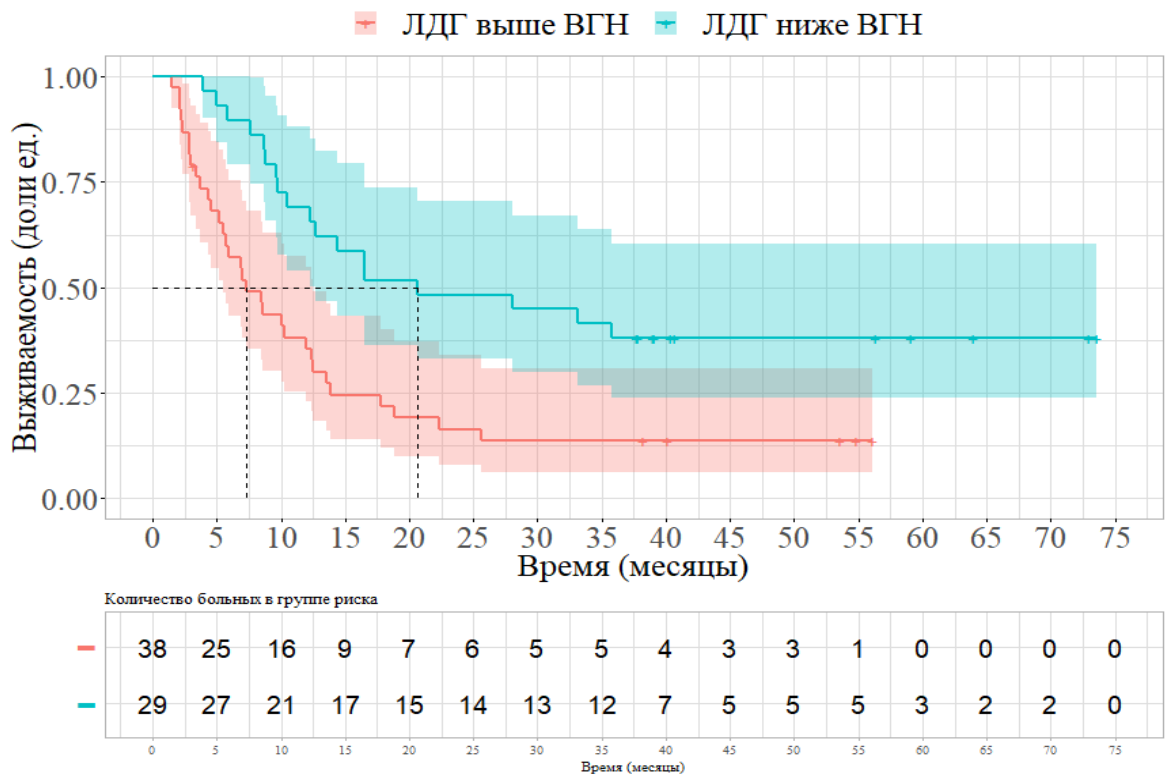


Рисунок 38 – График Каплана–Мейера влияния на общую выживаемость повышения уровня ЛДГ до начала лечения ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой

При увеличении относительной разницы двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов на единицу измерения риск смерти больных меланомой, получавших ИПИ, уменьшался на 0,2% ($p=0,0117$, 95% ДИ, 0,9965-0,9996). Таким образом, при увеличении относительной разницы двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов на 100% риск смерти снижался на 17,3%.

Для графического отображения анализа переменной было выполнено разделение больных на 2 группы более и менее медианы относительной разницы двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов (рис. 39).

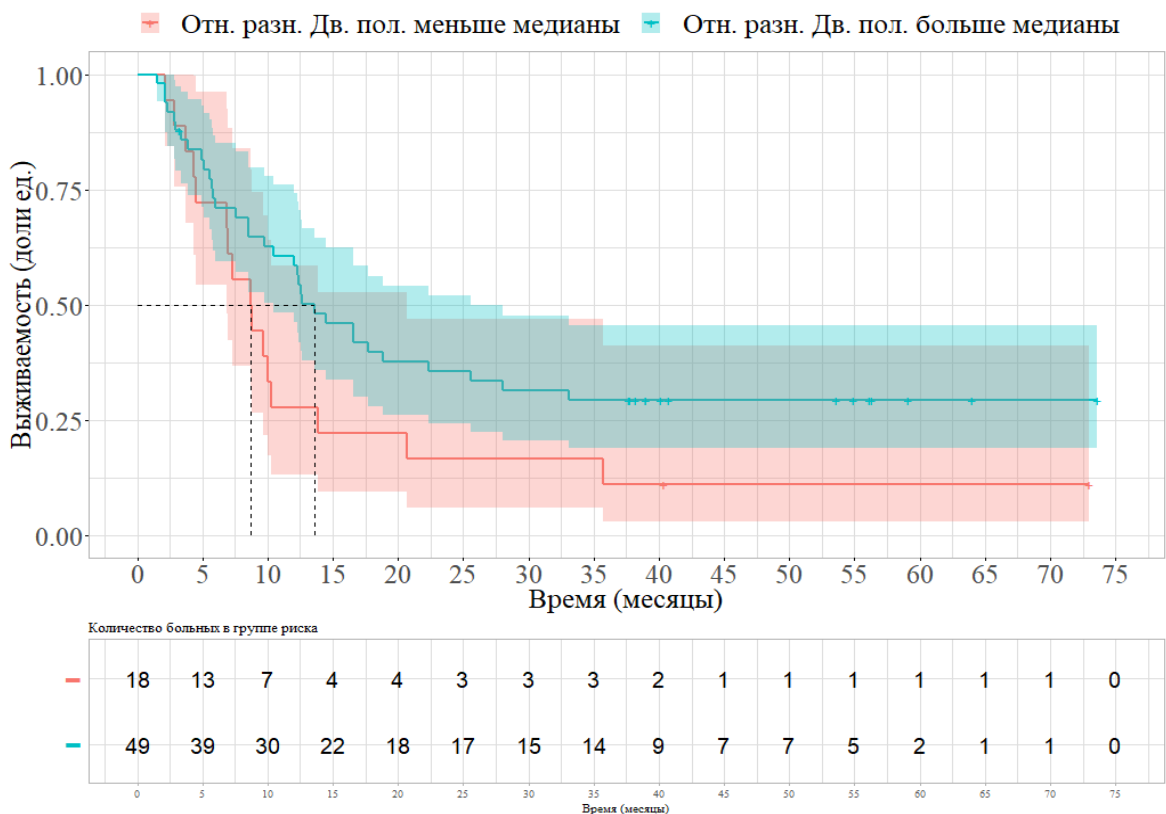


Рисунок 39 – Кривые Каплана–Мейера влияние на общую выживаемость изменения медианы относительной разницы двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов на фоне лечения ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой

3.5.2 Обсуждение

В период с 2000 по 2015 гг. FDA одобрило 51 новое лекарство для лечения диссеминированных солидных опухолей. По данным недавно проведенного анализа значительная клиническая польза наблюдалась только для 35% оцениваемых препаратов, одним из которых был ИПИ с рекомендациями для применения во 2-ой и последующих линиях

лечения [55]. Практическая целесообразность применения ИПИ диктует необходимость дальнейшего поиска прогностических и предиктивных факторов для персонализации показаний к назначению данного вида терапии.

Значение уровня ЛДГ для пациентов с диссеминированной меланомой рассматривалось многими авторами в качестве прогностического маркера. На сегодняшний день повышение ЛДГ признано неблагоприятным прогностическим фактором для пациентов с меланомой в целом и для больных, получающих терапию ингибиторами контрольных точек. Результаты многих исследований демонстрируют, что пациенты с распространенной меланомой и повышенным исходным уровнем ЛДГ имеют значительно более короткую продолжительность жизни по сравнению с больными, у которых уровень ЛДГ не превышал границы нормы, и степень увеличения ЛДГ во время лечения также коррелирует с эффектами ингибиторов контрольных точек [107, 177]. Дополнительной демонстрацией потенциальной клинической значимости уровня ЛДГ стал многофакторный анализ, проведенный А. Мартенсом и соавт. (2016), который выявил, что нормальный исходный уровень ЛДГ, абсолютное количество моноцитов, эозинофилов, относительное количество лимфоцитов и регуляторных Т-клеток (Treg) были связаны с улучшением выживаемости у пациентов с диссеминированной меланомой, получавших ипилимумаб. В этом анализе ЛДГ был сильным благоприятным прогностическим предиктором: медиана ОВ составила 10 месяцев для пациентов с исходным уровнем ЛДГ в 1-2 раза выше, чем верхний предел нормы, в то время как для пациентов с увеличением значений ЛДГ более 1-2 и более 2-3 раз, это было только 5 и 2 месяца соответственно ($p < 0,0001$) [43]. В нашем исследовании мы также получили данные, подтверждающие выраженный прогностический потенциал ЛДГ.

Если ЛДГ уже вошел в клиническую практику онколога для прогнозирования исхода заболевания при меланоме, то уровень СРБ пока не зарекомендовал себя в качестве достоверного прогностического биомаркера. По данным нескольких исследований СРБ рассматривался в роли неблагоприятного прогностического маркера, а снижение его уровня в периферической крови на 12-й неделе лечения ИПИ было связано с увеличением как контроля над заболеванием, так и выживаемости [107]. Наши результаты не позволяют рассматривать динамику уровня СРБ на фоне лечения ИПИ в качестве прогностического биомаркера.

До настоящего времени в крупных исследованиях не рассматривалось влияние на общую выживаемость количества проведенных линий предшествующей иммунотерапии перед началом лечения ингибиторами контрольных точек. Подобное исследование вызывает клинический интерес, так как сможет более точно определить место данного вида иммунотерапии в анамнезе лечения пациентов с неоперабельной меланомой.

И несмотря на то, что в нашем исследовании отсутствовало влияние количества проведенных линий предшествующей иммунотерапии на общую выживаемость больных диссеминированной меланомой на фоне лечения ИПИ, мы считаем целесообразным продолжить исследование этого параметра в более крупных исследованиях.

В нашем исследовании у 45,3 % пациентов на момент начала лечения ИПИ была определена мутация BRAF V600. По данным литературы мутация в гене BRAF рассматривается в качестве неблагоприятного прогностического фактора заболевания. Однако, влияние молекулярно-генетического статуса больных диссеминированной меланомой на эффективность терапии иммуноонкологическими препаратами до конца не определено. На преаналитическом этапе нами были получены данные о благоприятном влиянии отсутствия мутации BRAF на общую выживаемость больных, получавших терапию ИПИ [13]. Но при попытке включения данного фактора в регрессионный анализ Кокса в настоящем исследовании, он потерял свое статистическое значение, что требует дальнейшего изучения.

Существуют противоречивые данные о влиянии применения системной терапии глюкокортикостероидами (ГКС) на общую выживаемость больных, получающих терапию блокаторами супрессивных регуляторных механизмов клеточного иммунного ответа. Если при распространенной меланоме не получено убедительных данных о негативном влиянии ГКС на фоне лечения ИПИ [80], то при метастатическом немелкоклеточном раке легкого применение на фоне терапии ингибиторами контрольных точек преднизолона выше 20 мг в сутки ассоциируется с худшим прогнозом: медиана ОВ составила 3 месяца против 10 месяцев при дозе менее 20 мг ($p=0,005$) [164]. По результатам анализа наших собственных данных можно сделать предположение об отсутствии негативного влияния на общую выживаемость системного применения ГКС при лечении ингибиторами контрольных точек, если это обусловлено необходимостью купирования иоНЯ.

Введение ИПИ блокирует CTLA-4 и усиливает противоопухолевую функцию Т-клеток [147]. Однако точный механизм действия опосредованного ИПИ цитотоксического действия на опухоль остается не полностью понятным. Поэтому дальнейшее изучение иммунных факторов является перспективным направлением, а потенциальные иммунологические биомаркеры периферической крови наиболее применимы в клинической практике ввиду регулярной доступности. Важно, чтобы метод выявления биомаркеров периферической крови был удобным и неинвазивным, но нами не выявлено крупных проспективных исследований, подтверждающих значение и ценность циркулирующих иммунологических показателей в прогностическом плане.

В настоящем исследовании мы изучали изменения в рутинных показателях периферической крови (абсолютное число лимфоцитов и эозинофилов) и в частоте основных

циркулирующих иммунных популяций, включая показатели Т-лимфоцитов (CD3+CD19-), В-лимфоцитов (CD3- CD19+), Т-хелперов (CD3+CD4+), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3+CD8+), двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов (CD3+CD4+CD8+), у пациентов с меланомой диссеминированной стадии на фоне анти-CTLA-4 иммунотерапии ИПИ.

Спектр изучаемых в многофакторном анализе иммунологических показателей был ограничен основными субпопуляциями Т-лимфоцитов и В-лимфоцитами из-за стремления более достоверной статистической интерпритации данных, а также технологическими особенностями метода проточной цитофлуориметрии в виде идентичного набора антител для выполнения этих тестов. После проведения графического анализа относительной разницы изменения двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов до и после терапии ИПИ у больных диссеминированной меланомой было принято решение о включении данного показателя в многофакторный регрессионный анализ Кокса. Нашей целью было выявить корреляцию специфических изменений с влиянием на продолжительность жизни, чтобы иммунологические показатели могли рассматриваться в качестве кандидатов на роль суррогатных биомаркеров.

Единственным иммунологическим показателем в нашем исследовании, показавшим статистически значимое влияние на общую выживаемость, явился уровень двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов. Первоначально предполагалось, что эти клетки являются тимоцитами, которые преждевременно покинули тимус. Однако в последнее время исследования показали, что двойные положительные CD4+CD8+ Т-клетки в периферической крови экспрессируют маркеры созревания Т-клеток и не имеют маркеров тимусной стадии, что указывает на то, что CD4+CD8+ Т-лимфоциты циркулируют в виде зрелой популяции на периферии, наряду с обычным CD4+ и CD8+ Т-клетками. Несмотря на то, что функция двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов связана со множеством заболеваний и расстройств у человека, она остается плохо описанной и противоречивой. Взятые вместе, двойные положительные CD4+CD8+ Т-клетки, по-видимому, играют важную роль в периферической крови как мощные иммуносупрессоры или как клетки с высоким цитотоксическим потенциалом, и существует необходимость более глубокого изучения этой популяции, чтобы полностью выяснить их вклад в иммунную реакцию.

Как свидетельствуют результаты некоторых исследований, не наблюдается устойчивой тенденции, которая могла бы объяснить функцию двойных положительных CD4+CD8+ Т-клеток [49]. Таким образом, представляется вероятным, что данная субпопуляция Т-лимфоцитов находится под сильным влиянием пока еще не идентифицированных механизмов или условий окружающей среды. Двойные положительные CD4+CD8+ Т-лимфоциты, как

полагают некоторые исследователи, играют противоположные роли в иммунном ответе на различные виды рака. В условиях онкологического процесса функция этих Т-клеток, по-видимому, не может быть однозначно определена, возможно, вследствие различий в микроокружении между разными типами опухолей.

Таким образом, результаты нашей работы помогли выделить спектр прогностических факторов терапии ИПИ у больных неоперабельной и метастатической меланомой, особенности характеристики которых были максимально приближены к реальной клинической практике. По нашему мнению ориентироваться на полученные результаты при отборе групп пациентов для лечения ИПИ преждевременно ввиду ретроспективного характера и малой мощности нашего исследования, но нам удалось сделать вывод о важности иммунологического обследования у данной категории пациентов. В эпоху точной медицины понимание механизмов, благодаря которым пациенты резистентны или получают недостаточный эффект на фоне терапии ингибиторами контрольных точек, а также страдают от тяжелой формы иммуноопосредованной токсичности, имеет первостепенное значение для персонализированного выбора больных, наилучшим образом подходящих для этого варианта лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках работы проведен анализ отечественных, зарубежных и собственных исследований в области применения онкоиммунологических препаратов у больных неоперабельной или метастатической меланомой, в частности, ипилимумаба как представителя класса анти-CTLA-4-терапии. По данным литературы убедительно продемонстрирована эффективность анти-CTLA-4 иммунотерапии ИПИ по сравнению со стандартными режимами химиотерапии в лечении пациентов с распространенной меланомой. Отличительной особенностью ИПИ является возможность достижения полных эффектов или длительных стабилизаций у небольшой группы пациентов без тенденции к дальнейшему прогрессированию заболевания в течение многих лет. Общая выживаемость после проведения индукционного курса лечения ИПИ сохраняется на уровне приблизительно 20-25% на втором и третьем году периода наблюдения без заметной тенденции к снижению и после 5-летнего срока мониторинга пациентов. Ипилимумаб обладает уникальным иммуноопосредованным спектром токсичности, обусловленным его механизмом действия. Выраженные иммуноопосредованные нежелательные реакции могут иметь жизнеугрожающий характер, но в целом профиль токсичности имеет приемлемый характер. Нерешенной задачей клинической онкоиммунологии остается поиск предиктивных и прогностических факторов с целью индивидуализации показаний к проведению терапии ИПИ. Для определения предрасполагающих к получению лучшего эффекта от иммунотерапии ИПИ факторов необходимо более глубокое изучение иммунологических процессов, протекающих на фоне лечения. Несомненно, вызвало научный интерес изучение эффективности, токсичности терапии ИПИ, а также поиск прогностических и предиктивных факторов и изучение иммунологического профиля на максимально приближенной к реальной клинической практике популяции больных диссеминированной меланомой, получавших анти-CTLA-4-терапию.

Полученные в нашем исследовании данные демонстрируют, что терапия ИПИ обладает значимой клинической эффективностью в качестве второй и последующих линий лекарственной терапии у пациентов диссеминированной меланомой. Медиана ВДП по системе RECIST 1.1 составила 3,43 мес. (95% ДИ, 3,0-4,16 мес.). Медиана общей выживаемости равнялась 10,46 мес. (95% ДИ, 8,5-13,8 мес.). Доля пациентов, переживших 3-х летний период составила 20%.

Результаты показателей ОБ, 3-х летней ОБ, медианы ВДП, полученные в нашем исследовании, сопоставимы с данными регистрационного исследования ИПИ F.S. Hodi et al. (2010), и данными мета-анализа зарубежной Программы расширенного доступа к ИПИ.

ИоНЯ наблюдались практически у всех пациентов (97,9%), однако у большинства (69,47%) соответствовали 1-2 ст. тяжести. При оценке спектра токсических явлений терапии ИПИ в нашем исследовании выявлено 388 ИоНЯ. В регистрационном исследовании F.S. Nodi et al. (2010) у 137 пациентов, получавших ИПИ в качестве монотерапии, количество выявленных НЯ, связанных с терапией, составило 105 (80,2%), а к иммуноопосредованным НЯ было отнесено 80 (61,1%). Разница в показателях ИоНЯ 3-4 ст. (22,9% в исследовании F.S. Nodi et al. (2010) против 26,3% в нашем исследовании) может быть обусловлена более лояльными критериями отбора в наше исследование, чем в рандомизированное клиническое исследование, изначально ослабленным общим состоянием пациентов с большим процентом прогностически неблагоприятных факторов. Достоверная связь летальных исходов у пациентов, получавших ИПИ в нашем исследовании, с проводимой иммунотерапией не была доказана.

Анализ спектра и частоты нежелательных явлений на фоне лечения ИПИ не выявил каких-либо существенных отклонений от данных, представленных в регистрационных исследованиях, кроме 1 случая клинически значимого пневмонита 3 ст. тяжести после 3 введения ИПИ. При изучении возможных прогностических факторов токсичности ИПИ в нашем исследовании не выявлено влияния пола, возраста и индекса массы тела на риск развития ИоНЯ 3-4 ст. тяжести ($p > 0,05$). Полученные в нашей работе данные демонстрируют, что терапия ИПИ обладает приемлемым и изученным спектром токсичности у пациентов с диссеминированной меланомой.

По нашим наблюдениям, полученным в рамках лечения ИПИ больных диссеминированной меланомой, применение международных алгоритмов купирования ИоНЯ оказалось эффективным во всех случаях, когда пациенты своевременно информировали лечащих онкологов о возникновении симптомов аутоиммунитета.

По результатам оценки графического анализа субпопуляций иммунокомпетентных клеток периферической крови у больных неоперабельной или метастатической меланомой до и после терапии ИПИ, нами было отмечено выделение групп пациентов с более низкой продолжительностью жизни при увеличении значений двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов более чем на 100%, увеличении показателя активированных НК-клеток (CD3-CD16+56+NKG2D+) на 50% и более по сравнению с исходными значениями. Группа пациентов с показателями НК-клеток выше референсных значений также характеризовалась снижением показателей общей выживаемости.

При проведении кластерного анализа не было отмечено явного выделения группы пациентов с идентичными изменениями иммунного статуса, которые были бы сопоставимы с клинической картиной заболевания. Однако на основании выявленного биологического феномена в виде гипервыброса некоторых иммунологических показателей мы предположили

наличие разделения больных с неоперабельной или метастатической меланомой, получавших анти-CTLA-4 иммунотерапию ИПИ, на группы в зависимости от реактивности показателей иммунного профиля пациентов, что требует изучения в проспективных исследованиях с большей мощностью.

Наши наблюдения свидетельствуют о важности проведения иммунологического обследования у пациентов перед и на фоне проведения терапии ингибиторами контрольных точек для поиска достоверных биомаркеров, которые будет возможно использовать в прогностических целях и для персонализации иммунотерапии.

Из рассматриваемых потенциальных прогностических факторов влияние на общую выживаемость больных с диссеминированной меланомой, получавших ИПИ, оказали факт проведение системной терапии ГКС с противоотечной целью и при проведении противоболевой и гепатотропной терапии, уровень ЛДГ на момент начала лечения ИПИ ниже верхней границы нормы и динамика изменения показателей двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов ($p < 0,05$). Риск смерти достоверно увеличивался в 4,11 раза в группе пациентов метастатической меланомой, получавших системную терапию ГКС с противоотечной целью при наличии метастазов в головном мозге и в костях позвоночного столба или с включением ГКС в схемы при проведении противоболевой и гепатотропной терапии по сравнению с пациентами, которые за период лечения ИПИ не получали системной терапии ГКС ($p = 0,0005$, 95% ДИ, 1,86-9,08). Однако, статистически значимых различий риска смерти между группами пациентов, у которых применялись алгоритмы купирования иоНЯ с применением ГКС, по сравнению с больными, не получавшими ГКС на фоне терапии ИПИ, не было выявлено ($p = 0,8861$). Это означает, что в нашем исследовании применение терапии ГКС для купирования иоНЯ тяжелой степени тяжести не снижало показатели общей выживаемости.

В нашем исследовании повышение уровня ЛДГ у пациентов с диссеминированной меланомой подтвердило неблагоприятное прогностическое влияние на фоне терапии ИПИ: у пациентов с уровнем ЛДГ ниже верхней границы нормы перед началом лечения ИПИ риск смерти был ниже на 63,3% по сравнению с больными, которые характеризовались изначальным повышением уровня ЛДГ выше референсных значений ($p = 0,0044$, 95% ДИ, 0,18-0,73).

Единственным иммунологическим показателем в нашем исследовании, показавшим статистически значимое влияние на общую выживаемость, явился уровень двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов. При увеличении относительной разницы двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов на единицу измерения риск смерти больных меланомой, получавших ИПИ, уменьшался на 0,2% ($p = 0,0117$, 95% ДИ, 0,9965-0,9996). Таким образом, при увеличении относительной разницы двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов на 100% риск смерти снижался на 17,3%.

Полученные результаты позволяют утверждать о важности планирования рандомизированных проспективных клинических исследований с целью подтверждения клинического значения исследованных общеклинических факторов и иммунологических биомаркеров терапии ИПИ у больных неоперабельной или метастатической меланомой.

ВЫВОДЫ

1. Анти-CTLA-4 иммунотерапия препаратом ипилимумаб является эффективным методом лечения больных диссеминированной меланомой во 2-й и последующих линиях терапии. Медиана времени до прогрессирования по системе RECIST 1.1 составила 3,43 мес. (95% ДИ, 3,0-4,16 мес.). Медиана общей выживаемости равнялась 10,46 мес. (95% ДИ, 8,5-13,8 мес.). Частота объективного ответа составила 12,6% (4,2% – полный регресс, 8,4% – частичный регресс), у 15,8% наблюдалась стабилизация заболевания. Доля пациентов, переживших 3-х летний период составила 20%, что сопоставимо с данными международных клинических исследований.
2. Терапия ипилимумабом обладает приемлемым и изученным спектром токсичности у пациентов с диссеминированной меланомой. Иммуноопосредованные нежелательные явления наблюдались у 97,9% пациентов, однако у большинства (69,47%) соответствовали 1-2 ст. тяжести. Влияния изучаемых прогностических факторов (пола, возраста и индекса массы тела) на риск развития иммуноопосредованных нежелательных явлений 3-4 ст. тяжести ($p>0,05$) не было выявлено.
3. В исследуемой группе пациентов стационарное лечение по поводу жизнеугрожающих иммуноопосредованных нежелательных явлений 3-4 ст. тяжести потребовалось 7 (7,36%) больным. Эффект купирования иммуноопосредованных нежелательных явлений наблюдался у всех пациентов. Применение общепринятых алгоритмов диагностики и лечения иммуноопосредованных нежелательных явлений оказалось эффективным во всех случаях своевременного обращения пациентов и не повлияло на показатели общей выживаемости ($p=0,886$).
4. Анализ субпопуляций иммунокомпетентных клеток периферической крови у больных диссеминированной меланомой до и после терапии ипилимумабом позволил выделить группы пациентов с более низкими показателями общей выживаемости при увеличении значений двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов более чем на 100%, НК-клеток выше референсных значений, увеличении показателя активированных НК-клеток (CD3-CD16+56+NKG2D+) более чем на 50% по сравнению с исходными значениями. Кластерный анализ не выявил групп пациентов с идентичными изменениями иммунного статуса, сопоставимых с клинической картиной заболевания.

5. Многофакторный анализ общей выживаемости выявил независимые прогностические факторы:
- системная терапия глюкокортикостероидами на момент начала лечения ипилимумабом ($p=0,0005$, 95% ДИ, 1,86-9,08);
 - низкий уровень лактатдегидрогеназы ($p=0,0044$, 95% ДИ, 0,18-0,73);
 - увеличение относительной разницы двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов ($p=0,0117$, 95% ДИ, 0,9965-0,9996).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Доказана практическая целесообразность применения анти-CTLA-4 терапии ипилимумабом у больных диссеминированной меланомой во 2-й и последующих линиях противоопухолевого лечения.
2. Для определения клинической эффективности проводимой иммунотерапии у больных диссеминированной меланомой целесообразно проводить исследование иммунологических показателей (двойных положительных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов) периферической крови методом проточной цитофлуориметрии.
3. Для внедрения в повседневную клиническую практику разработаны принципы и уточнены алгоритмы диагностики и лечения иммуноопосредованных нежелательных явлений у пациентов, получающих иммуноонкологические препараты. Для более детального разбора этих алгоритмов коллективом авторов разработано учебное пособие: «Алгоритмы диагностики и лечения иммуноопосредованных нежелательных явлений».

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД	– артериальное давление
АКТГ	– адренокортикотропный гормон
АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
ВГН	– верхняя граница нормы
ВДП	– время до прогрессирования
ГКС	– глюкокортикостероиды
ДК	– дендритные клетки
ИЛ	– интерлейкин
ИМТ	– индекс массы тела
ИНФ	– интерферон
иоНЯ	– иммуноопосредованные нежелательные явления
ИПИ	– ипилимумаб
КТ	– компьютерная томография
ЛГ	– лютеинизирующий гормон
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
МРТ	– магнитно-резонансная томография
НЯ	– нежелательное явление
ОАМ	– опухолиассоциированные макрофаги
ОВ	– общая выживаемость
ППТ	– площадь поверхности тела
СРБ	– С-реактивный белок
ССД	– синдром Стивена-Джонса
ТТГ	– тиреотропный гормон
ТЭН	– токсический эпидермальный некролиз
свТ4	– свободный тироксин
Т3	– трийодтиронин
УЗИ	– ультрозвуковое исследование
ФВД	– функция внешнего дыхания
ФВЛЖ	– фракция выброса левого желудочка

ФГДС	– фиброгастродуоденоскопия
ФКС	– фиброколоноскопия
ФНО	– фактор некроза опухоли
ФСГ	– фолликулостимулирующий гормон
ЧД	– частота дыхания
ЧСС	– частота сердечных сокращений
ЩФ	– щелочная фосфатаза
ЭКГ	– электрокардиограмма
CAR	– chimeric antigen receptor – рецептор химерных антигенов
CAR-T cells	– chimeric antigen receptor T cells – химерный антиген рецептора Т-клеток
CTL	– cytotoxic T-lymphocyte – цитотоксический Т-лимфоцит
CTLA-4	– cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 – антиген цитотоксических Т-лимфоцитов
ECOG	– The Eastern Cooperative Oncology Group – восточная объединенная онкологическая группа
FoxP3	– Forkhead P3 – ядерный фактор транскрипции
IL	– interleukin – интерлейкин
IFN γ	– interferon gamma – интерферон гамма
NK	– natural killer – естественные клетки-киллеры
NKG2D	– natural killer group 2D receptor – рецептор NK-клеток группы 2D
PD-1	– programmed cell death protein 1 – белок запрограммированной гибели клеток
PD-L1	– programmed death-ligand 1 – лиганд PD-1
SpO ₂	– сатурация кислорода крови
Th	– Т хелперы
TIL	– Tumor-infiltrating lymphocytes – опухоль-инфильтрирующие лимфоциты
TNF- α	– tumor necrosis factor alpha – фактор некроза опухоли альфа
Treg	– регуляторные Т-лимфоциты
TME	– микроокружение опухоли

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Влияние ипилимумаба на субпопуляционную структуру лимфоцитов больных диссеминированной меланомой / З.Г. Кадагидзе [и др.] // *Практ. онкология.* – 2017. – Т. 18, № 3. – С. 285-297.
2. Демидов, Л.В. Индивидуализация лекарственного лечения меланомы кожи / Л.В. Демидов, К.В. Орлова // *Практ. онкология.* – 2013. – Т. 14, № 4. – С. 239.
3. Дендритно-клеточная иммунотерапия в сочетании с фотодинамической терапией и циклофосфамидом у больных диссеминированной меланомой кожи, резистентных к стандартным методам лечения / И.А. Балдуева [и др.] // *Эффективная фармакотерапия.* – 2017. – Т. 5 – С. 32-41.
4. Зайчик, А.Ш. Основы общей патологии. Ч. 1. / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов // *Основы общей патофизиологии : учеб. пособие для студентов медВУЗов.* – СПб.: ЭЛБИ, 1999. – 624 с.
5. Как изменились подходы к лекарственной терапии злокачественных опухолей (первому отечественному противоопухолевому препарату посвящается) / Т.Ю. Семиглазова [и др.] // *Вопр. онкологии.* – 2017. – Т. 63, № 2. – С. 346-352.
6. Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность) / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2018. – 250 с.
7. Мерабишвили, В.М. Злокачественные заболевания в Северо-Западном округе России (заболеваемость, смертность, контингенты, выживаемость больных) / В.М. Мерабишвили; под ред. проф. А.М. Беляева. – СПб., 2018. – 444 с.
8. Многопараметровое исследование иммунофенотипа лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, у онкологических больных / Т.Н. Заботина [и др.] // *Рос. онкол. журн.* – 2016. – Т. 21, № 1-2. – С. 51-54.
9. Новик, А.В. Принципы применения современной иммунотерапии в онкологии / А.В. Новик, И.А. Балдуева, Т.Л. Нехаева // *Клеточные технологии практическому здравоохранению : материалы конф.* – Екатеринбург, 2016. – С. 98-100.
10. Новик, А.В. Принципы современной иммунотерапии / А.В. Новик // *Фарматека.* – 2018. – № 7. – С. 10-18.

11. Орлова, Р.В. Обоснование принципов лекарственного лечения диссеминированных солидных опухолей (ДСО) : дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.14 / Орлова Р.В. – СПб., 2014. – 248 с.
12. Практические рекомендации по коррекции иммуноопосредованных нежелательных явлений / С.А. Проценко [и др.] // Злокачественные опухоли : практ. рекомендации RUSSCO. – 2017. – Т. 3, № s2. – С. 592-620.
13. Применение ипилимумаба у больных диссеминированной меланомой в рамках программы расширенного доступа: опыт ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России / Е.М. Анохина [и др.] // Вопросы онкологии – 2018. – Т. 64, №3. – С. 388-393.
14. Проценко, С.А. Таргетная терапия при меланоме, гастроинтестинальных стромальных опухолях, дерматофибросаркоме протуберанс / С.А. Проценко // Практ. онкология. – 2010. – Т. 11, № 3. – С. 162.
15. Самойленко, И.В. Ипилимумаб в лечении метастатической меланомы / И.В. Самойленко, Г.Ю. Харкевич, Л.В. Демидов // Мед. совет. – 2016. – № 10. – С. 84-92.
16. Самойленко, И.В. Применение блокатора рецепторов CTLA4 в лечении больных метастатической меланомой / И.В. Самойленко, Г.Ю. Харкевич, Л.В. Демидов // РМЖ. – 2015. – Т. 21, № 1. – С. 4-9.
17. Современные возможности персонализированной терапии метастатической меланомы / С.А. Проценко [и др.] // Современ. онкология. – 2014. – № 3. – С. 57-64.
18. Современные методы иммунотерапии метастатической меланомы / А.В. Новик [и др.] // Вопр. онкологии. – 2016. – Т. 62, № 5. – С. 580-587.
19. Субпопуляционная структура лимфоцитов больных меланомой в процессе таргетной иммунотерапии / О.В. Короткова [и др.] // Отечественные противоопухолевые препараты : материалы конф. – 2016. – Т. 15, № 1. – С. 51-52.
20. Харкевич, Г.Ю. Иммуно-опосредованные нежелательные явления ингибиторов блокаторов иммунного ответа / Г.Ю. Харкевич, К.В. Орлова // Практ. онкология. – 2016. – Т. 17, № 2. – С. 110-118.
21. A new member of the immunoglobulin superfamily-CTLA-4 / J.F. Brunet [et al.] // Nature. – 1987. – Vol. 328. – P. 267-270.
22. A pilot trial of CTLA-4 blockade with human anti- CTLA-4 in patients with hormone-refractory prostate cancer / E.J. Small [et al.] // Clin. Canc. Res. – 2007. – Vol. 13. – P. 1810-1815.
23. A possible mechanism of intravesical BCG therapy for human bladder carcinoma: involvement of innate effector cells for the inhibition of tumor growth / T. Higuchi [et al.] // Cancer Immunol. Immunother. – 2009. – Vol. 58. – P. 1245-1255.

24. A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma / O. Hamid [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2011. – Vol. 9. – P. 204-219.
25. A randomized, double-blind, placebo controlled, phase II study comparing the tolerability and efficacy of ipilimumab administered with or without prophylactic budesonide in patients with unresectable stage III or IV melanoma / J. Weber [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2009. – Vol. 15. – P. 5591-5598.
26. Acid sphingomyelinase is required for protection of effector memory T cells against glucocorticoid-induced cell death / D. Tischner [et al.] // *J. Immunol.* – 2011. – Vol. 187, № 9. – P. 4509-4516.
27. Adaptive immunity maintains occult cancer in an equilibrium state / C.M. Koebel [et al.] // *Nature.* – 2007. – Vol. 450. – P. 903-907.
28. Adjuvant interferon- α for the treatment of high-risk melanoma: An individual patient data meta-analysis / N.J. Ives [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2017. – Vol. 82. – P. 171-183.
29. Ali, Z. Melanoma epidemiology, biology and prognosis / Z. Ali, N. Yousaf, J. Larkin // *EJC.* – 2013. – Vol. 11, № 2. – P. 81-91.
30. An analysis of the effectiveness of specific guidelines for the management of ipilimumab-mediated diarrhea/colitis: prevention of gastrointestinal perforation and/or colectomy [abstract] / R. Lin [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26, Suppl., abstract 9063.
31. Annual Report on Progress Against Cancer From the American Society of Clinical Oncology / D.S. Dizon [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2016 – Vol. 34, № 9. – P. 987-1011.
32. Anti-PD-1 therapy in patients with advanced melanoma and preexisting autoimmune disorders or major toxicity with ipilimumab / A.M. Menzies [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2017. – Vol. 28, № 2. – P. 368-376.
33. Antitumor immunity. A shed NKG2D ligand that promotes natural killer cell activation and tumor rejection / W. Deng [et al.] // *Science.* – 2015. – Vol. 348. – P. 136-139.
34. Antonia, S.J. Immuno-oncology combinations: a review of clinical experience and future prospects / S.J. Antonia, J. Larkin, P.A. Ascierto // *Clin. Cancer Res.* – 2014. – Vol. 20, № 24. – P. 6258-6568.
35. Association of Vitiligo with tumor response in patients with metastatic melanoma treated with Pembrolizumab / C. Hua [et al.] // *JAMA Dermatol.* – 2016. – Vol. 152, № 1. – P. 45-51.
36. Autoimmunity associated with immunotherapy of cancer / M. Sally [et al.] // *Blood.* – 2011. – Vol. 118. – P. 499-509.

37. Autoimmunity correlates with tumor regression in patients with metastatic melanoma treated with anti-cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 / P. Attia [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 6043-53.
38. Barteel, M.Y. Tumor-localized secretion of soluble PD1 enhances oncolytic virotherapy / M.Y. Barteel, K.M. Dunlap, E. Barteel // *Cancer Res.* – 2017. – Vol. 77. – P. 2952-2963.
39. Barth, A. Prognostic factors in 1,521 melanoma patients with distant metastases / A. Barth, L.A. Wanek, D.L. Morton // *J. Am. Coll. Surg.* – 1995. – Vol. 181, № 3. – P. 193-201.
40. Baseline biomarkers for outcome of melanoma patients treated with pembrolizumab / B. Weide [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2016. – Vol. 22, № 22. – P. 5487-5496.
41. Baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with outcome of ipilimumab-treated metastatic melanoma patients / P.F. Ferrucci [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2015. – Vol. 112, № 12. – P. 1904-1910.
42. Baseline neutrophils and derived neutrophil-to-lymphocyte ratio: prognostic relevance in metastatic melanoma patients receiving ipilimumab / P.F. Ferrucci [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2016. – Vol. 27, № 4. – P. 732-738.
43. Baseline peripheral blood biomarkers associated with clinical outcome of advanced melanoma patients treated with Ipilimumab / A. Martens [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2016. – Vol. 22, № 12. – P. 2908-2918.
44. Bostwick, A.D. Rapid complete response of metastatic melanoma in a patient undergoing ipilimumab immunotherapy in the setting of active ulcerative colitis / A.D. Bostwick, A.K. Salama, A.B. Hanks // *J. Immunother Canc.* – 2015. – Vol. 3. – P. 19-26.
45. Cancer immune cycle: a video introduction to the interaction between cancer and the immune system / M. Preusser [et al.] // *ESMO Open.* – 2016. – Vol. 1. – P. e000056.
46. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape / G.P. Dunn [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2002. – Vol. 3. – P. 991-998.
47. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer / N.A. Rizvi [et al.] // *Science.* – 2015. – Vol. 348. – P. 124-128.
48. Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma / Q.G. Phan [et al.] // *PNAS.* – 2003. – Vol. 100. № 14 – P. 8372-8377.
49. CD4⁺/CD8⁺ double-positive T cells: more than just a developmental stage? / N.H. Overgaard [et al.] // *J. Leukoc. Biol.* – 2015. – Vol. 97, № 1. – P. 31-38.
50. CD4⁺ CD25⁺ T cells protect against experimentally induced asthma and alter pulmonary dendritic cell phenotype and function / I.P. Lewkowich [et al.] // *J. Exp. Medicine.* – 2005. – Vol. 202, № 11. – P. 1549-1561.

51. CD40 signaling drives potent cellular immune responses in heterologous cancer vaccinations / S. Nimanong [et al.] // *Cancer Res.* – 2017. – Vol. 77. – P. 1918-1926.
52. Chaudhary, B. Regulatory T Cells in the Tumor Microenvironment and Cancer Progression: Role and Therapeutic Targeting / B. Chaudhary, E. Elkord, T.L. Whiteside // *Vaccines.* – 2016. – Vol. 4, № 3. – P. 1-28.
53. Chen, D.S. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle / D.S. Chen, I. Mellman // *Immunity.* – 2013. – Vol. 39. – P. 1-10.
54. Circulating CD56bright NK cells inversely correlate with survival of melanoma patients / K. De Jonge [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 4487.
55. Clinical benefit, price and approval characteristics of FDA-approved new drugs for treating advanced solid cancer, 2000-015 / A. Vivot [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2017. – Vol. 28. – P. 1111-1116.
56. Clinical experience with Ipilimumab 3 mg/kg: real-world efficacy and safety data from an expanded access programme cohort / P. Ascierto [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2014. – Vol. 12. – P. 116.
57. Clinical outcomes in metastatic uveal melanoma treated with PD-1 and PD-L1 antibodies / A.P. Algazi [et al.] // *Cancer.* – 2016. – Vol. 122, № 21. – P. 3344-3353.
58. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma / J. Larkin [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2015. – Vol. 573, № 1. – P. 21-34.
59. Common terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE). Version 4.03. Department of Health and Human Services [Electronic resource] / National Institutes of Health. National Cancer Institute. – 2010. – Available at: https://www.eortc.be/services/doc/ctc/ctcae_4.03_2010-06-14_quickreference_5x7.pdf.
60. Comparison of efficacy of immune checkpoint inhibitors (ICIs) between younger and older patients: a systematic review and meta-analysis / T.F. Nishijima [et al.] // *Cancer Treat Rev.* – 2016. – Vol. 45. – P. 30-37.
61. Consolidation Therapy With Subcutaneous Alemtuzumab After Fludarabine and Rituximab Induction Therapy for Previously Untreated Chronic Lymphocytic Leukemia: Final Analysis of CALGB 10101 / T.S. Lin [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28, № 29. – P. 4500-4506.
62. Constitutive activation of the Ras-Raf signaling pathway in metastatic melanoma is associated with poor prognosis / R. Houben [et al.] // *J. Carcinog.* – 2004. – Vol. 3, № 1. – P. 6.
63. Correlation of absolute and relative eosinophil counts with immune-related adverse events in melanoma patients treated with ipilimumab; ASCO Annual Meeting Proceedings / K. Schindler [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 32, № 15, Suppl. abstr 9096.

64. Cytokine release syndrome / A. Shimabukuro-Vornhagen [et al.] // *J. Immunotherapy Cancer*. – 2018. – Vol. 6, № 1. – P. 56.
65. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma: a new cause of uveitis / M.R. Robinson [et al.] // *J. Immunother.* – 2004. – Vol. 27, № 6. – P. 478-479.
66. Davies, M. Safety of checkpoint inhibitors for cancer treatment: strategies for patient monitoring and management of immune-mediated adverse events / M. Davies, E.A. Duffield // *Immunotargets Ther.* – 2017. – Vol. 6. – P. 51-71.
67. Defining the role of glucocorticoids in inflammation / S. Ronchetti [et al.] // *Clinical Science*. – 2018. – Vol. 132, № 14. – P. 1529-1543.
68. DeVita, V.T. Jr. DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer: principles & practice of oncology / V.T. DeVita Jr., T.S. Lawrence, S.A. Rosenberg. – 10th edition. – Philadelphia, 2015. – 2280 p.
69. Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline / C. Garbe [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2016. – Vol. 63. – P. 201-217.
70. Dirk, M. Mechanisms of Regression / M. Dirk, M.D. Elston // *Clin. Med. Res.* – 2004. – Vol. 2, № 2. – P. 85-88.
71. Disulphide-isomerase-enabled shedding of tumour-associated NKG2D ligands / B.K. Kaiser [et al.] // *Nature*. – 2007. – Vol. 447. – P. 482-486.
72. Double positive CD4CD8 alphabeta T cells: a new tumor-reactive population in human melanomas / J. Desfrancois [et al.] // *PLoS One*. – 2010. – Vol. 5. – P. e8437.
73. Dunn, G.P. The three Es of cancer immunoediting / G.P. Dunn, L.J. Old, R.D. Schreiber // *Ann. Rev. Immunol.* – 2004. – Vol. 22. – P. 329-360.
74. Effectiveness of treatment guidance on diarrhea and colitis across ipilimumab studies [abstract] / S. O'Day [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 28, Suppl., abstract 8554.
75. Efficacy and safety of ipilimumab monotherapy in patients with previously treated, advanced melanoma: a multicenter single-arm phase II study / S.J. O'Day [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2010. – Vol. 21. – P. 1712-1717.
76. Eggermont, A.M. Melanoma and immunotherapy / A.M. Eggermont, D. Schadendorf // *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* – 2009. – Vol. 23, № 3. – P. 547-564.
77. Ehrlich, P. About the current state of carcinoma research / P. Ehrlich // *Ned Tijdschr Geneesk.* – 1909. – Vol. 5. – P. 273-290.
78. Enterocolitis in patients with cancer after antibody blockade of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 / K.E. Beck [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2006. – Vol. 24. – P. 2283-2289.
79. Eosinophils orchestrate cancer rejection by normalizing tumor vessels and enhancing infiltration of CD8⁺ T cells / R. Carretero [et al.] // *Nat. Immunology*. – 2015. – Vol. 16, № 6. – P. 609-617.

80. Evaluation of the effect of systemic corticosteroids for the treatment of immune-related adverse events (irAEs) on the development or maintenance of ipilimumab clinical activity / A. Amin [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27. – P. 9037.
81. Evolution of neoantigen landscape during immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer / V. Anagnostou [et al.] // *Cancer Discov.* – 2017. – Vol. 7. – P. 264-276.
82. Experience in daily practice with ipilimumab for the treatment of patients with metastatic melanoma: an early increase in lymphocyte and eosinophil counts is associated with improved survival / J. Delyon [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2013. – Vol. 24, № 6. – P. 1697-1703.
83. Extended Dose Ipilimumab with a Peptide Vaccine: Immune Correlates Associated with Clinical Benefit in Patients with Resected High-Risk Stage IIIc/IV Melanoma / A. Amod [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2011. – Vol. 17. – P. 896-906.
84. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification / C.M. Balch [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27. № 36. – P. 6199-6206.
85. First Russian nationwide molecular epidemiological study for melanoma: results of BRAF mutation analysis / G.A. Frank [et al.] // *Arkh. Patol.* – 2014. – Vol. 76. № 3. – P. 65-73.
86. Five-year survival rates for treatment-naïve patients with advanced melanoma who received ipilimumab plus dacarbazine in a phase III trial / M. Maio [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33, № 10. – P. 1191-1196.
87. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4⁺ T cells expressing the FoxP3 transcription factor / M. Miyara [et al.] // *Immunity.* – 2009. – Vol. 30. – P. 899-911.
88. Functional T cells targeting NY-ESO-1 or Melan-A are predictive for survival of patients with distant melanoma metastasis / B. Weide [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2012. – Vol. 30. – P. 1835-1841.
89. Garnett, M.J. Guilty as charged: B-RAF is a human oncogene / M.J. Garnett, R. Marais // *Cancer Cell.* – 2004. – Vol. 6, № 4. – P. 313-319.
90. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma / A. Snyder [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2014. – Vol. 371. – P. 2189-2199.
91. Glatz, K. Molecular heterogeneity of malignant melanomas / K. Glatz // *Pathologe.* – 2007. – Vol. 28, № 6. – P. 474-478.
92. Glucocorticoids affect human dendritic cell differentiation and maturation / L. Piemonti [et al.] // *J. Immunol.* – 1999. – Vol. 162, 11. – P. 6473-6481.
93. Glucocorticoids Do Not Inhibit Antitumor Activity of Activated CD8⁺ T Cells / C.S. Hinrichs [et al.] // *J. Immunother.* – 2005. – Vol. 28, № 6. – P. 517-524.

94. Glucocorticoids drive human CD8+T cell differentiation towards a phenotype with high IL-10 and reduced IL-4, IL-5 and IL-13 production / D.F. Richards [et al.] // *Eur. J. Immunology*. – 2000. – Vol. 30, № 8. – P. 2344-2354.
95. Gmodels: Various R Programming Tools for Model Fitting [Electronic resource] / R. Gregory [et al.]. – 2018. – Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=gmodels>.
96. Gplots: Various R Programming Tools for Plotting Data [Electronic resource] / R. Gregory [et al.]. – 2019. – Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=gplots>.
97. Hanahan, D. Hallmarks of cancer: the next generation / D. Hanahan, R.A. Weinberg // *Cell*. – 2011. – Vol. 144. – P. 646-674.
98. High-dose recombinant interleukin-2 therapy in patients with metastatic melanoma: long-term survival update / M.B. Atkins [et al.] // *Cancer J. Sci. Am.* – 2000. – Vol. 6, Suppl. 1. – P. S11-14.
99. High neutrophil to lymphocyte ratio measured before starting ipilimumab treatment is associated with reduced overall survival in patients with melanoma / J. Zaragoza [et al.] // *Br. J. Dermatol.* – 2016. – Vol. 174, № 1. – P. 146-151.
100. Identification and characterization of a tumor infiltrating CD56(+)/CD16 (-) NK cell subset with specificity for pancreatic and prostate cancer cell lines / T.L. Frankel [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2010. – Vol. 59. – P. 1757-1769.
101. Identification of glypican-3-derived long peptides activating both CD8+ and CD4+ T cells; prolonged overall survival in cancer patients with Th cell response / M.A. Sayem [et al.] // *Oncoimmunology*. – 2016. – Vol. 5. – P. e1062209.
102. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity / V. Shankaran [et al.] // *Nature*. – 2001. – Vol. 410. – P. 1107-1111.
103. Immune monitoring of the circulation and the tumor microenvironment in patients with regionally advanced melanoma receiving neoadjuvant ipilimumab / A.A. Tarhini [et al.] // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9. – P. e87705.
104. Immune related adverse events associated with anti-CTLA-4 antibodies: systematic review and meta-analysis / A. Bertrand [et al.] // *BMC Medicine*. – 2015. – Vol. 13. – P. 211-224.
105. Immune-Related Adverse Events, Need for Systemic Immunosuppression, and Effects on Survival and Time to Treatment Failure in Patients With Melanoma Treated With Ipilimumab at Memorial Sloan Kettering Cancer Center / T.Z. Horvat [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33, №28 – P. 1-6.
106. Immune Toxicities Elicited by CTLA-4 Blockade in Cancer Patients Are Associated with Early Diversification of the T-cell Repertoire / D.Y. Oh [et al.] // *Cancer Res.* – 2017. – Vol. 77, № 6. – P. 1322-1330.

107. Immunological and biological changes during ipilimumab treatment and their potential correlation with clinical response and survival in patients with advanced melanoma / E. Simeone [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2014. – Vol. 63, № 7. – P. 675-683.
108. Immunosuppression in vivo by a soluble form of the CTLA-4 T cell activation molecule / P.S. Linsley [et al.] // *Science.* – 1992. – Vol. 257. – P. 792-795.
109. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma / F.S. Hodi [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2010. – Vol. 363, № 8 – P. 711-723.
110. Increases in absolute lymphocytes and circulating CD4+ and CD8+ T cells are associated with positive clinical outcome of melanoma patients treated with ipilimumab / A. Martens [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2016. – Vol. 22, № 19. – P. 4848-4858.
111. Integrated NY-ESO-1 antibody and CD8+ T-cell responses correlate with clinical benefit in advanced melanoma patients treated with ipilimumab / J. Yuan [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2011. – Vol. 108. – P. 16723-16728.
112. Interferon alpha adjuvant therapy in patients with high-risk melanoma: a systematic review and meta-analysis / S. Mocellin [et al.] // *J. Nat. Cancer Inst.* – 2010. – Vol. 102, № 7. – P. 493-501.
113. Ipilimumab (anti-CTLA4 antibody) causes regression of metastatic renal cell cancer associated with enteritis and hypophysitis / J.C. Yang [et al.] // *J. Immunother.* – 2007. – Vol. 30. – P. 825-830.
114. Ipilimumab-dependent cell-mediated cytotoxicity of regulatory T cells ex vivo by nonclassical monocytes in melanoma patients / E. Romano [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2015. – Vol. 112. – P. 6140-6145.
115. Ipilimumab efficacy and safety in patients with advanced melanoma: a retrospective analysis of HLA subtype from four trials / J.D. Wolchok [et al.] // *Cancer Immun.* – 2010. – Vol. 20 – P. 9.
116. Ipilimumab for advanced melanoma: experience from the Spanish Expanded Access Program / A. Berrocal [et al.] // *Melanoma Res.* – 2014. – Vol. 24. – P. 577-83.
117. Ipilimumab in the real world: the UK expanded access programme experience in previously treated advanced melanoma patients / S. Ahmad [et al.] // *Melanoma Res.* – 2015. – Vol. 25. – P. 432-442.
118. Ipilimumab-induced colitis in patients with metastatic melanoma / K.M. De Felice [et al.] // *Melanoma Res.* – 2015. – Vol. 25. – P. 321-327.
119. Ipilimumab-Induced Immuno-mediated Adverse Events: Possible Pitfalls in 18F-FDG PET/CT Interpretation / L. Gilardi [et al.] // *Clinical Nuclear Med.* – 2014. – Vol. 39, Iss. 5. – P. 472-474.
120. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma / C. Robert [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – Vol. 364, № 26. – P. 2517-2526.

121. Junttila, M.R. Influence of tumour micro-environment heterogeneity on therapeutic response / M.R. Junttila, F.J. de Sauvage // *Nature*. – 2013. – Vol. 501. – P. 346-354.
122. Kahler, K.C. Treatment and side effect management of CTLA-4 antibody therapy in metastatic melanoma / K.C. Kahler, A. Hauschild // *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* – 2011. – Vol. 9. – P. 277- 286.
123. Kassambara, A. Survminer: Drawing Survival Curves using 'ggplot2' [Electronic resource] / A. Kassambara, M. Kosinski. – 2018. – Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=survminer>.
124. Klemm, F. Microenvironmental regulation of therapeutic response in cancer / F. Klemm, J.A. Joyce // *Trends Cell. Biol.* – 2015. – Vol. 25. – P. 198-213.
125. Krummel, M.F. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation / M.F. Krummel, J.P. Allison // *J. Exp. Med.* – 1995. – Vol. 182, № 2. – P. 459-465.
126. Lactate dehydrogenase as a selection criterion for ipilimumab treatment in metastatic melanoma / S. Kelderman [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2014. – Vol. 63. – P. 449-458.
127. Lanier, L.L. NKG2D receptor and its ligands in host defense / L.L. Lanier // *Cancer Immunol. Res.* – 2015. – Vol. 3. – P. 575-582.
128. Localized oncolytic virotherapy overcomes systemic tumor resistance to immune checkpoint blockade immunotherapy / D. Zamarin [et al.] // *Sci. Transl. Med.* – 2014. – Vol. 6. – P. 226ra32.
129. Low baseline levels of NK cells may predict a positive response to ipilimumab in melanoma therapy / J.K. Tietze [et al.] // *Exp. Dermatol.* – 2017. – Vol. 26. – P. 622-629.
130. Luke, J.J. PD-1 pathway inhibitors: the next generation of immunotherapy for advanced melanoma / J.J. Luke, P. Ott // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6, № 6. – P. 3479-3492.
131. Management of Immunotherapy – Related Toxicities (Immune Checkpoint Inhibitor – Related Toxicities) / NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology [Electronic resource] // Version 2.2019. – 2019. – Available at: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/immunotherapy.pdf.
132. McCardle, T.W. Completely regressed cutaneous melanocytic lesion revisited / T.W. McCardle, J.L. Messina, V.K. Sondak // *Semin. Oncol.* – 2009. – Vol. 36. – P. 498-503.
133. Metastatic melanoma: a review of current and future treatment options / E. Maverakis [et al.] // *Acta Derm. Venereol.* – 2015. – Vol. 95, № 5. – P. 516-524.
134. Mihm, M.C. Jr. Reflections on the Histopathology of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Melanoma and the Host Immune Response / M.C. Mihm Jr., J.J. Mule. // *Cancer Immunol. Res.* – 2015. – Vol. 3. – P. 827.

135. Miller, A.J. Melanoma / A.J. Miller, M.C. Mihm Jr. // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – Vol. 355, № 1. – P. 51-65.
136. Modulation of T-cell activation by malignant melanoma initiating cells / T. Schatton [et al.] // *Cancer Res.* – 2010. – Vol. 70, № 2. – P. 697-708.
137. Monocyte-derived DC maturation strategies and related pathways: a transcriptional view / L. Castiello [et al.] // *Cancer Immunol. Immunotherapy.* – 2011. – Vol. 60, № 4. – P. 457-466.
138. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes / M.S. Lawrence [et al.] // *Nature.* – 2013. – Vol. 499, № 7457. – P. 214-218.
139. Neoantigen-based cancer immunotherapy / S. Bobisse [et al.] // *Ann. Transl. Med.* – 2016. – Vol. 4. – P. 262.
140. Neoantigen landscape dynamics during human melanoma – T cell interactions / E.M. Verdegaal [et al.] // *Nature.* – 2016. – Vol. 536. – P. 91-95.
141. Neutrophils in cancer development and progression: Roles, mechanisms, and implications (Review) / X. Zhang [et al.] // *Int. J. Oncol.* – 2016. – Vol. 49, № 3. – P. 857-867.
142. New insights into cancer immunoediting and its three component phases – elimination, equilibrium and escape / D. Mittal [et al.] // *Curr. Opin. Immunol.* – 2014. – Vol. 27. – P. 16-25.
143. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised recist guideline (version 1.1) / E.A. Eisenhauer [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2009. – Vol. 45, № 2. – P. 228-247.
144. Nivolumab in resected and unresectable metastatic melanoma: characteristics of immune-related adverse events and association with outcomes / M. Freeman-Keller [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2016. – Vol. 22, № 4. – P. 886-894.
145. Nivolumab plus Ipilimumab in advanced melanoma / J.D. Wolchok [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol. 369, № 2. – P. 122-133.
146. NKG2D is a key receptor for recognition of bladder cancer cells by IL-2-activated NK cells and BCG promotes NK cell activation / E.M. García-Cuesta [et al.] // *Front Immunol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 284.
147. Novel cancer immunotherapy agents with survival benefit: Recent successes and next steps / P. Sharma [et al.] // *Cancer.* – 2011. – Vol. 11. – P. 805-812.
148. Oncolytic virotherapy including Rigvir and standard therapies in malignant melanoma / H.M. Babiker [et al.] // *Oncolytic Virother.* – 2017. – Vol. 6. – P. 11-18.
149. Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma / J.D. Wolchok [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2017. – Vol. 377, № 14. – P. 12.
150. Pardoll, D.M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy / D.M. Pardoll // *Nat. Rev. Cancer.* – 2012. – Vol. 12, № 4. – P. 252-264.

151. Patterns of onset and resolution of immune-related adverse events of special interest with ipilimumab / J.S. Weber [et al.] // *Cancer*. – 2013. – Vol. 119. № 9 – P. 1675-1682.
152. Paucity of tumor-infiltrating lymphocytes is an unfavorable prognosticator and predicts lymph node metastases in cutaneous melanoma patients / P. Donizy [et al.] // *Anticancer. Res.* – 2015. – Vol. 35, № 1. – P. 351-358.
153. PD-1 regulates germinal center B cell survival and the formation and affinity of long-lived plasma cells / K.L. Good-Jacobson [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2010. – Vol. 11. №6 – P. 535-542.
154. Personalised medicine: development and external validation of a prognostic model for metastatic melanoma patients treated with ipilimumab / S. Valpione [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2015. – Vol. 51, № 14. – P. 2086-2094.
155. Phase I study of ipilimumab, an anti-CTLA-4 monoclonal antibody, in patients with relapsed and refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma / S.M. Ansell [et al.] // *Clin. Canc. Res.* – 2009. – Vol. 15. – P. 6446-6453.
156. Pooled Analysis of Long-Term Survival Data From Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma / D. Schadendorf [et al.] // *J. Am. Soc. Clinical Oncol.* – 2015. – Vol. 33, № 17. – P. 1889-1894.
157. Postow, M.A. Targeting immune checkpoints: Releasing the restraints on anti-tumor immunity for patients with melanoma / M.A. Postow, J. Harding, J.D. Wolchok // *Cancer J.* – 2012. – Vol. 18, № 2 – P. 153-159.
158. Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system / C.M. Balch [et al.] // *J. Am. Soc. Clinical Oncol.* – 2001. – Vol. 19, № 16. – P. 3622-3634.
159. Prognostic factors related to clinical response in patients with metastatic melanoma treated by CTL- associated antigen-4 blockade / S.G. Downey [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2007. – Vol. 13. – P. 6681-6688.
160. Prognostic score for patients with advanced melanoma treated with ipilimumab / S. Diem [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2015. – Vol. 51, № 18. – P. 2785-2791.
161. Q-TWiST analysis comparing ipilimumab/dacarbazine vs placebo/dacarbazine for patients with stage III/IV melanoma / B. Sherrill [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2013. – Vol. 109, № 1. – P. 8-13.
162. Quirk, S.K. Agrawal. Immune-mediated adverse events of anticytotoxic T lymphocyte – associated antigen 4 antibody therapy in metastatic melanoma / S.K. Quirk, A.K. Shure, K. Devendra // *Translational Research*. – 2015. – Vol. 166, № 5. – P. 412-424.
163. Rakic, A. The complex interplay between neutrophils and cancer / A. Rakic, P. Beaudry, D.J. Mahoney // *Cell. Tissue Res.* – 2018. – Vol. 371, № 3. – P. 517-529.

164. Remon, J. Immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer (NSCLC): Approaches on special subgroups and unresolved burning questions / J. Remon, N. Vilariño, N. Reguart // *Cancer Treatment Reviews*. – 2018. – Vol. 64. – P. 21-29.
165. Results of a multicenter random-ized study to evaluate the safety and efficacy of combined immunotherapy with interleukin-2, interferon- α 2b and histamine dihydrochloride versus dacarbazine in patients with stage IV melanoma / M. Middleton [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2007. – Vol. 10. – P. 1691-1697.
166. Ribas, A. Releasing the brakes on cancer immunotherapy / A. Ribas // *N. Engl. J. Med.* – 2015. – Vol. 373, № 16. – P. 1490-1492.
167. Rosenberg, S.A. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer / S.A. Rosenberg, N.P. Restifo // *Science*. – 2015. – Vol. 348. – P. 62-68.
168. Safety and clinical activity of ipilimumab in melanoma patients with brain metastases: retrospective analysis of data from a phase 2 trial / J.S. Weber [et al.] // *Melanoma Res.* – 2011. Vol. 21. № 6. – P. 530-534.
169. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias / R.J. Brentjens [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 118. – P. 4817-4828.
170. Safety profile of Nivolumab monotherapy: a pooled analysis of patients with advanced melanoma / J.S. Weber [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2017. – Vol. 7. – P. 785-792.
171. Sasidharan Nair, V. Immune checkpoint inhibitors in cancer therapy: A focus on T-regulatory cells / V. Sasidharan Nair, E. Elkord // *Immunol. Cell. Biology*. – 2018. – Vol. 96, № 1. – P. 21-33.
172. Schadendorf, D. Efficacy and quality of life outcomes in patients with advanced melanoma (MEL) who discontinued treatment with nivolumab (NIVO) plus ipilimumab (IPI) due to toxicity in a phase III trial (CheckMate 067) / D. Schadendorf // *J. Clin. Oncol.* – 2017. – Vol. 35, № 34. – P. 3807-3814.
173. Schindler, K.H.K. Pretreatment levels of absolute and relative eosinophil count to improve overall survival (OS) in patients with metastatic melanoma under treatment with ipilimumab, an anti-CTLA-4 antibody. The Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. Chicago, USA / K.H.K. Schindler, M.A. Postow // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Suppl. 31, abstr. 9024.
174. Schreiber, R.D. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion / R.D. Schreiber, L.J. Old, M.J. Smyth // *Science*. – 2011. – Vol. 331. – P. 1565-1570.
175. Schumacher, T.N. Neoantigens in cancer immunotherapy / T.N. Schumacher, R.D. Schreiber // *Science*. – 2015. – Vol. 348. – P. 69-74.

176. Seliger, B. Expression and function of CTLA4 in melanoma / B. Seliger, M. Maio // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Vol. 31, abstr. – P. e20040.
177. Serum lactate dehydrogenase as an early marker for outcome in patients treated with anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma / S. Diem [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2016. – Vol. 114. – P. 256-261.
178. Sharma, P. The future of immune checkpoint therapy / P. Sharma, J.P. Allison // *Science.* – 2015. – Vol. 348. – P. 56-61.
179. Shih, K. Clinical impact of checkpoint inhibitors as novel cancer therapies / K. Shih, H. Arkenau, J. Infante // *Drugs.* – 2014. – Vol. 74, № 17. – P. 1993-2013.
180. Signatures of mutational processes in human cancer / L.B. Alexandrov [et al.] // *Nature.* – 2013. – Vol. 7463. – P. 415-421.
181. Sim, G.C. The IL-2 cytokine family in cancer immunotherapy / G.C. Sim, L. Radvanyi // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2014. – Vol. 25. – P. 377-390.
182. Single-institution experience with ipilimumab in advanced melanoma patients in the compassionate use setting / G.Y. Ku [et al.] // *Cancer.* – 2010. – Vol. 116, № 7. – P. 1767-1775.
183. Skin cancers [Electronic resource] / World Health Organization. – 2017. – Available from: <http://www.who.int/uv/faq/skincancer/en/index1>.
184. Sosman, J.A. Translating BRAF mutations into effective therapy for patients with melanoma : educational book / J.A. Sosman. – ASCO, 2011. – P. 367-372.
185. Spontaneous regression of metastatic cancer cells in the lymph node: a case report / N. Choi [et al.] // *BMC Res Notes.* – 2014. – Vol. 7. – P. 293.
186. Steiner, A. Comparison of the effects of three different treatment regimens of recombinant interferons (r-IFN alpha, r-IFN gamma, and r-IFN alpha + cimetidine) in disseminated malignant melanoma / A. Steiner, C. Wolf, H. Pehamberger // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 1987. – Vol. 113, № 5. – P. 459-465.
187. Surgical treatment of metastatic melanoma / W.S. Fletcher [et al.] // *Am. J. Surg.* – 1998. – Vol. 175, № 5. – P. 413-417.
188. Synergistic inhibitory activities of interleukin-10 and dexamethasone on human CD4+T cells / M. Brunetti [et al.] // *Transplantation.* – 2002. – Vol. 74, № 8. – P. 1152-1158.
189. Systematic review: colitis associated with anti-CTLA-4 therapy / A. Gupta [et al.] // *Aliment Pharmacol. Ther.* – 2015. – Vol. 42. – P. 406-417.
190. Systemic therapy for unresectable metastatic melanoma: impact of biochemotherapy on long-term survival / A.Y. Bedikian [et al.] // *J. Immunotoxicol.* – 2008. – Vol. 2. – P. 201-207.
191. T cell exhaustion: from pathophysiological basics to tumor immunotherapy / K. Catakovic [et al.] // *Cell. Commun Signal.* – 2017. – Vol. 15. – P. 1.

192. T-cell receptor affinity and avidity defines antitumor response and autoimmunity in T-cell immunotherapy / S. Zhong [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013. – Vol. 110. – P. 6973-6978.
193. T-helper-1-cell cytokines drive cancer into senescence / H. Braumuller [et al.] // *Nature.* – 2013. – Vol. 494. – P. 361-365.
194. Targeting the microenvironment in solid tumors / C. Belli [et al.] // *Cancer Treatment Reviews.* – 2018. – Vol. 65 – P. 22-32.
195. Tarhini, A. Immune-mediated adverse events associated with ipilimumab ctla-4 blockade therapy: The underlying mechanisms and clinical management / A. Tarhini // *Scientifica (Cairo).* – 2013. – Vol. 2013 – P. 57519.
196. The CD28/CTLA-4-B7 signaling pathway is involved in both allergic sensitization and tolerance induction to orally administered peanut proteins / F. Van Wijk [et al.] // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 178, № 11. – P. 6894-6900.
197. The efficacy of anti-PD-1 agents in acral and mucosal melanoma / A.N. Shoushtari [et al.] // *Cancer.* – 2016. – Vol. 122, № 21. – P. 3354-3362.
198. The engagement of CTLA-4 on primary melanoma cell lines induces antibody-dependent cellular cytotoxicity and TNF-alpha production / S. Laurent [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2013. – Vol. 11. – P. 108.
199. The impact of body composition parameters on ipilimumab toxicity and survival in patients with metastatic melanoma / L.E. Daly [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2017. – Vol. 116, № 3. – P. 310-317.
200. The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer: a meta-analysis / E.M. Ibrahim [et al.] // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2014. – Vol. 148, № 3. – P. 467-476.
201. The proportion of circulating CD45RO+CD8+ memory T cells is correlated with clinical response in melanoma patients treated with ipilimumab / J.K. Tietze [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2017. – Vol. 75. – P. 268-279.
202. Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials / I. Melero [et al.] // *Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 11. – P. 509-524.
203. Therneau, T. A Package for Survival Analysis in S [Electronic resource] / T. Therneau. – 2015. – Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=survival>.
204. Therneau, T. Modeling Survival Data: Extending the Cox Model / T. Therneau, P. Grambsch. – Springer, Berlin, 2000. – 287 p.
205. Thompson, J.F. Cutaneous melanoma / J.F. Thompson, R.A. Scolyer // *Lancet.* – 2005. – Vol. 365. – P. 687-701.
206. TIL therapy broadens the tumor-reactive CD8(+) T cell compartment in melanoma patients / P. Kvistborg [et al.] // *Oncoimmunology.* – 2012. – Vol. 1. – P. 409-418.

207. Treatments for metastatic melanoma: synthesis of evidence from randomized trials / P. Lui [et al.] // *Cancer Treat Rev.* – 2007. – Vol. 33, № 8. – P. 665-680.
208. Tumour-derived soluble MIC ligands impair expression of NKG2D and T-cell activation / V. Groh [et al.] // *Nature.* – 2002. – Vol. 419. – P. 734-738.
209. Tumor exome analysis reveals neoantigen-specific T-cell reactivity in an ipilimumab-responsive melanoma / N. Van Rooij [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Vol. 31. – P. e439-442.
210. Tumor-infiltrating lymphocytes and their significance in melanoma prognosis / T. Schatton [et al.] // *Methods Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 1102. – P. 287-324.
211. Tumor infiltrating lymphocytes (TIL) and prognosis in oral cavity squamous carcinoma: a preliminary study.; University of Michigan Head and Neck SPORE Program / G.T. Wolf [et al.] // *Oral. Oncol.* – 2015. – Vol. 51, № 1. – P. 90-95.
212. Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY'ESO'1 / P.F. Robbins [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 29. – P. 917-924.
213. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy / M. Binnewies [et al.] // *Nat. Medicine.* – 2018. – Vol. 24, № 5. – P. 541-550.
214. Vitiligo-like depigmentation in patients with stage III-IV melanoma receiving immunotherapy and its association with survival: a systematic review and meta-analysis / H.E. Teulings [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33, № 7. – P. 773-781.
215. Weber, J. Immunotherapy for melanoma / J. Weber // *Curr. Opin. Oncol.* – 2011. – Vol. 23, № 2. – P. 163-169.
216. Weber, J.S. Management of immunerelated adverse events and kinetics of response with ipilimumab / J.S. Weber, K.C. Kahler, A. Hauschild // *J. Clin. Oncol.* – 2012. – Vol. 30. – P. 2691-2697.
217. Wherry, E.J. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion / E.J. Wherry, M. Kurachi // *Nat. Rev. Immunol.* – 2015. – Vol. 15. – P. 486-499.
218. Whiteman, D.C. The growing burden of invasive melanoma: projections of incidence rates and numbers of new cases in six susceptible populations through 2031 / D.C. Whiteman, A.C. Green, C.M. Olsen // *J. Invest. Dermatol.* – 2016. – Vol. 136, № 6. – P. 1161-1171.
219. Yang, A. ClinicalTrials.gov for Facilitating Rapid Understanding of Potential Harms of New Drugs: The Case of Checkpoint Inhibitors / A. Yang, S. Baxi, D. Korenstein // *J. Oncol. Pract.* – 2018. – Vol. 2. – P. 72-76.