

Сергеева Е.Ю.

Жидкостная биопсия: перспективы применения у пациентов со злокачественной меланомой

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, 660022, Красноярск, Россия, ул. Партизана Железняка, д. 1

Жидкостная биопсия – метод, который в последние годы, часто применяют как альтернативу традиционной тканевой биопсии. У жидкостной биопсии есть целый ряд преимуществ – неинвазивность, более короткое время, необходимое для исследования, высокая чувствительность, возможность мониторинга эволюции и гетерогенности злокачественной опухоли, мониторинга эффективности воздействия лекарственных препаратов в режиме реального времени. Применение жидкостной биопсии особенно актуально при таких злокачественных новообразованиях, как меланома, когда проведение традиционной биопсии может быть затруднено. Цель обзора – обобщить информацию о различных вариантах жидкостной биопсии, проанализировать преимущества и недостатки использования циркулирующих опухолевых клеток, циркулирующей опухолевой ДНК и внеклеточных везикул для данного метода. Материалами послужили результаты исследований по данной теме отечественных и зарубежных авторов и собственные опубликованные данные за последние 27 лет, с 1997 по 2024 г. В статье обобщены современные данные о различных видах жидкостной биопсии. Для жидкостной биопсии используются циркулирующие опухолевые клетки, циркулирующая опухолевая ДНК и внеклеточные везикулы. Рассматриваются современные методы выделения циркулирующих опухолевых клеток и дальнейшего анализа ДНК, РНК, протеома. В обзоре проведен анализ современных методов детекции циркулирующей опухолевой ДНК, проанализированы их преимущества и недостатки. Внеклеточные везикулы – это гетерогенная группа выделяемых различными клетками пузырьков, защищенных от внешнего окружения двойной липидной мембраной. Для использования внеклеточных везикул при проведении жидкостной биопсии необходимо их выделить и провести дальнейший анализ их содержимого, белков и нуклеиновых кислот. В обзоре проанализированы наиболее эффективные современные методы их выделения и анализа, а также показаны преимущества использования внеклеточных везикул для жидкостной биопсии. Таким образом, применение жидкостной биопсии может помочь решить целый ряд задач при диагностике и лечении пациентов с меланомой.

Ключевые слова: жидкостная биопсия; меланома; внеклеточные везикулы

Для цитирования: Сергеева Е.Ю. Жидкостная биопсия: перспективы применения у пациентов со злокачественной меланомой. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2025; 69(3): 113–120.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.113-120

Для корреспонденции: Сергеева Екатерина Юрьевна, e-mail: e.yu.sergeeva@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело финансовой поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.02.2025

Принята к печати 25.08.2025

Опубликована 30.09.2025

Sergeeva E.Yu.

Liquid biopsy: Prospects for use in patients with malignant melanoma

Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, 1 Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

Liquid biopsy is a method that has been frequently used in recent years as an alternative to traditional tissue biopsy. Liquid biopsy has a number of advantages, including non-invasiveness, a shorter analysis time, high sensitivity, and the opportunity of monitoring of tumor evolution and heterogeneity and real-time drug effectiveness. The use of liquid biopsy is especially important in malignancies, including melanoma, where traditional biopsy may be difficult. The aim of the review is to summarize the information about various methods of liquid biopsy and to assess the advantages and disadvantages of using circulating tumor cells, circulating tumor DNA and extracellular vesicles in this method. The materials were the data reported by Russian and international studies as well as our data published during the past 27 years, from 1997 through 2024. The article summarizes modern data on different types of liquid biopsy. The method of liquid biopsy uses circulating tumor cells, circulating tumor DNA, and extracellular vesicles. The review addresses modern methods of circulating tumor cell isolation and further DNA, RNA and proteome analysis. Also, this review focuses on

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.113-120

modern methods of circulating DNA detection and their advantages and disadvantages. Extracellular vesicles are heterogeneous, as secreted by various cells and protected from the external environment by a double lipid membrane. The use of extracellular vesicles for liquid biopsy requires their isolation followed by analysis of their content, proteins and nucleic acids. The review discusses the most effective modern methods of extracellular vesicle isolation and analysis along with the advantages of their use for liquid biopsy. Thus, the use of liquid biopsy can help solving various tasks in diagnostics and treatment of patients with malignant tumors, including melanoma.

Keywords: liquid biopsy; melanoma; extracellular vesicles

For citation: Sergeeva E.Yu. Liquid biopsy: prospects for use in patients with malignant melanoma. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(3): 113–120. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.113-120

For correspondence: Ekaterina Yu. Sergeeva, Doctor of biological sciences, prof. of the Department of pathological physiology, Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation, e-mail: e.yu.sergeeva@mail.ru

Information about the author:

Sergeeva E.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-2089-6022>

Financing. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 24.02.2025

Accepted 25.08.2025

Published 30.09.2025

Введение

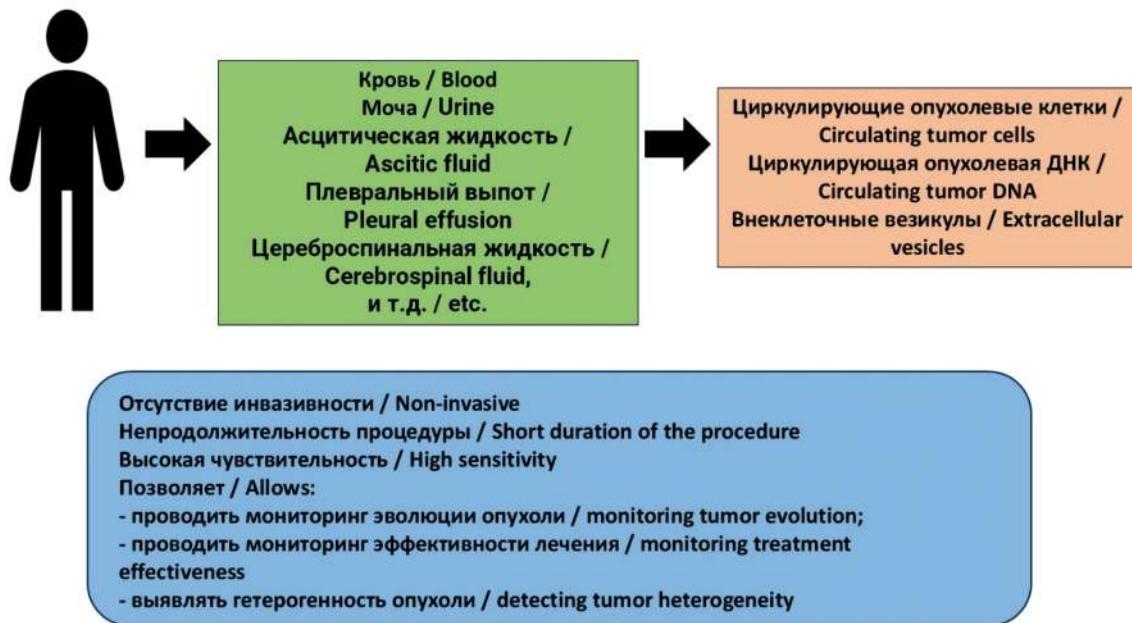
В последние годы стало понятно, что традиционное использование для молекулярного профайлинга опухолей образцов ткани, полученных при резекции опухоли недостаточно удобно и информативно. Это связано не только с техническими сложностями при получении тканей опухолей определенных локализаций, но прежде всего, с опухолевой гетерогенностью. Поэтому всё более широко стали применять жидкостную биопсию (ЖБ), имеющую, по сравнению с традиционным подходом, множество преимуществ [1]. К числу таких преимуществ относится неинвазивность ЖБ, в то время как тканевая биопсия (ТБ) – инвазивное вмешательство. Время, необходимое для ЖБ, меньше, чем требуется для ТБ. ЖБ позволяет проводить мониторинг эволюции злокачественной опухоли, мониторинг эффективности воздействия лекарственных препаратов в режиме реального времени, выявлять пространственную и временную гетерогенность злокачественного новообразования [2]. Для проведения ЖБ могут быть использованы кровь, моча, асцитическая жидкость, жидкость из плевральной полости и ликвор. Анализируют циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), циркулирующую опухолевую ДНК (цоДНК) или внеклеточные везикулы (ВВ) (рис. 1). В отличие от ТБ, при которой анализируется ткань только определенного участка опухоли, возможность исследовать ЦОК, цоДНК и ВВ позволяет выявить не только все клоны опухолевых клеток и изменения этих клонов по мере развития опухоли, но и индивидуальные характеристики клеток каждого клона.

Существуют такие виды злокачественных новообразований, при которых использование ЖБ может приобрести особую значимость. К числу таких заболеваний относятся злокачественные новообразования легких и меланома ряда локализаций. Количество случаев меланомы экспоненциально увеличивается, что может быть связано с целым рядом факторов, в том числе, метаболическими нарушениями [3]. Кроме того, показатели смертности при меланоме превышают таковые при других формах кожных злокачественных новообразований, меланома быстро начинает метастазировать в другие ткани и органы [4].

В данном обзоре рассмотрены различные виды биологических материалов, исследуемых с помощью жидкостной биопсии, проанализированы наиболее эффективные подходы применительно к диагностике, мониторингу и персонализированному лечению злокачественной меланомы.

Исследование ЦОК при проведении ЖБ

Источником ЦОК является первичная опухоль. Отделившись от неё, клетки попадают в систему циркуляции крови и образуют метастазы в отдаленных от первичной опухоли органах и тканях [5]. Не вызывает сомнений, что исследование морфологических особенностей опухолевых клеток может помочь выявить важные механизмы воздействия целого ряда факторов на опухолевый рост и прогрессию [6]. Известно, что морфологические особенности ЦОК могут варьировать в зависимости от стадии заболевания [7]. Для того, чтобы предотвратить воздействие окислительного стресса и клеток иммунной про-

**Рис. 1.** Преимущества ЖБ при сравнении с ТБ.**Fig. 1.** Advantages of LB over TB.

воопухоловой защиты, ЦОК могут образовывать агрегаты с другими клетками крови, и, в виде опухолового эмбола, более быстро достигать мест, где будут образованы метастазы. Важную роль в предотвращении гибели ЦОК путем аноикиса, являющегося вариантом апоптоза, играет взаимодействие их с тромбоцитами [8]. Важным преимуществом анализа ЦОК является исследование состояния опухоли в режиме реального времени, что помогает выбрать более эффективную терапию. Следует отметить, что количество ЦОК, как правило, крайне незначительно – одна ЦОК на один миллион лейкоцитов [9].

Первым этапом при проведении ЖК с использованием ЦОК является их выделение. Существуют методы, основанные на иммуноаффинности опухоловых клеток, ассоциированные с положительным или отрицательным обогащением, а также опирающиеся на биологические особенности опухоловых клеток – их размер или плотность [10].

При положительном обогащении захват ЦОК может быть ориентирован на специфические биомаркеры, расположенные на поверхности опухоловых клеток. Тем не менее, многообразие антигенов опухоловых клеток вносит определенные сложности в данный подход. При отрицательном обогащении удаляются неопухоловые клетки, а оставшаяся популяция опухоловых клеток является гетерогенной. Методы, основанные на биологических особенностях опухоловых клеток, чаще всего ориентированы

на то, что размер ЦОК, как правило, превышает размер неопухоловых клеток [11]. После выделения ЦОК проводят анализ ДНК, РНК, протеома при помощи различных современных методов исследования, включающих разнообразные модификации ПЦР, флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH), секвенирование и др.

В последнее время все чаще применяют сочетание различных методик. Так, использование комбинированного подхода, включающего секвенирование нового поколения Next Generation Sequencing (NGS), капельный метод цифровой ПЦР droplet digital PCR и FDA-cleared platform CellSearch позволило, при исследовании циркулирующих клеток меланомы, проводить мониторинг гетерогенности опухоли. Это может стать критерием для изменения схем лечения и подключения иммунотерапии второй линии и комбоиммунотерапии при снижении эффективности таргетных препаратов [12]. При проведении жидкостной биопсии с использованием сочетания иммуномагнитного выделения клеток, экспрессионной панели и двух видов ПЦР – вложенной ПЦР и ПЦР в режиме реального времени было установлено, что повышение экспрессии CD 146 в циркулирующих клетках меланомы при проведении иммунотерапии было ассоциировано с так называемой псевдопрогрессией заболевания, обусловленной развитием воспаления и усилением инфильтрации опухоли активированными иммунокомпетентными клетками [13].

Исследование цоДНК при проведении ЖБ

Циркулирующая опухолевая ДНК составляет всего лишь от 0,1 до 10% от всей циркулирующей внеклеточной ДНК (цвДНК). В норме уровень цвДНК в плазме крови составляет 10–100 нг/мл [14]. Существует достаточно много источников цвДНК, повышение ее происходит при некрозе либо апоптозе, при лизисе опухолевых клеток, есть так называемая «метаболическая» ДНК, источником которой могут быть активированные лимфоциты, «экзогенная ДНК» инфекционных агентов и др. Известно, что воспаление и физическая активность тоже могут способствовать повышению уровня цвДНК [15]. Установлено, что уровень цоДНК во многом обусловлен локализацией злокачественной опухоли, стадией заболевания и ответом организма на противоопухолевую терапию – F. Diehl et al. 2008 [16].

Для определения содержания цоДНК/цвДНК используется ряд технологий, к которым относятся капельный метод цифровой ПЦР (ddPCR), метод гранул, эмульсии, амплификации, магнетизма (BEAMing), при котором используется сочетание эмульсионной ПЦР и проточной цитометрии, глубокое секвенирование меченых ампликонов (TAm-Seq), персонализированный профайлинг опухоли методом глубокого секвенирования (CAPP-Seq), бисульфитное секвенирование всего генома (WGBS-Seq), полноэхомное (WES) и полногеномное (WGS) секвенирование.

ddPCR можно использовать при выявлении заранее известных редких мутаций и подсчета количества копий, содержащихся в 0,01–1% генетического материала. Так, для более эффективного использования BRAF/MEK ингибиторов, было проведено исследование цоДНК/цвДНК методом ddPCR у пациентов с метастазирующей меланомой. Выявили мутации BRAF, NRAS, TP53, GNAS и MET, что позволило персонифицировать терапевтический подход [17]. Использование ddPCR для сравнения интермиттирующего и обычного дозирования дабрафениба и траметиниба у пациентов с прогрессирующей меланомой позволило сделать вывод об отсутствии ожидаемых результатов у исследуемых пациентов [18].

BEAMing тоже используется для выявления заранее известных мутаций. К преимуществам этого метода относятся низкая стоимость и высокая чувствительность, позволяющая выявлять мутации в 0,01% генетического материала [19].

Чувствительность метода TAm-Seq составляет ~ 97%, он позволяет выявлять мутации, содержащиеся не менее, чем в 2% генетического материала, позволяет проводить одновременное секвенирование миллионов молекул ДНК, но требует предварительного определения анализируемых мутаций.

CAPP-Seq позволяет определять мутации цоДНК/цвДНК, используя большие геномные библиотеки и генные сигнатуры отдельных пациентов. Выявляются специфические для каждого пациента генетические альтерации, идентифицируются множественные разнообразные мутации у пациентов с одним и тем же типом злокачественного образования, что позволяет оценить гетерогенность опухолей. Этот метод может быть использован для самой ранней диагностики опухолей. Он позволяет выявлять инсерции, делеции, однонуклеотидные варианты, вариации числа копий генов, генетические перестановки, но не фузии (слияния) генов. У пациентов с метастатической меланомой этот метод позволил определить мутации BRAF, NRAS, TP53, GNAS и MET как потенциальных маркеров заболевания, что подтвердило значимость использования ЖБ в случаях, когда проведение ТБ затруднено [17]. Использование CAPP-Seq для персонализированного профайлинга у пациентов с IV стадией меланомы позволило установить, что высокий уровень цоДНК коррелирует с низкой выживаемостью пациентов, а снижение уровня цоДНК ассоциировано с более благоприятным прогнозом. Кроме того, благодаря этому методу были выявлены альтернативные мутации в генах рецептора фактора роста сосудистого эндотелия, рецептора эпидермального фактора роста, фосфатидилинозитол-3-киназы/АКТ, mTOR, ALK/MET, циклин-зависимой киназы 4/6 у пациентов с BRAF-негативной меланомой, что позволило персонализировать таргетную терапию [20].

Полноэхомное секвенирование позволяет проанализировать все присутствующие в опухоли мутации, идентифицировать потенциальные онкогены и онкосупрессоры, но чувствительность этого метода ниже, чем у вышеупомянутых. Полногеномное секвенирование способно помочь проанализировать весь геном, провести сравнительную характеристику значимости как заранее известных мутаций, так и мутаций с неясной значимостью в канцерогенезе, но этот метод имеет ряд недостатков, к числу которых относятся высокая стоимость и сложность интерпретации данных [21]. WGBS-Seq является золотым стандартом для анализа метилирования ДНК, но, так как существуют разные степени деградации ДНК, обусловленные метилированием, чувствительность этого метода имеет ограничения [22, 23].

Таким образом, каждый из вышеупомянутых методов имеет свои преимущества и ограничения. Поэтому, в последние годы, исследователи стали использовать различные комбинации методических подходов. Так, использование комбинированного подхода, включающего секвенирование нового поколения Next Generation Sequencing (NGS), капельный метод цифровой ПЦР droplet digital PCR и FDA-cleared platform CellSearch позволило, при исследовании циркулирующей опухолевой ДНК и циркулирую-

ших клеток меланомы, проводить мониторинг гетерогенности опухоли, что может стать основанием для изменения схем лечения и подключения иммунотерапии второй линии и комбоиммунотерапии при снижении эффективности таргетных препаратов [12].

При одновременном проведении жидкостной биопсии с анализом циркулирующей опухолевой ДНК, при использовании секвенирования нового поколения и ПЦР-анализа ДНК выделенной из формалин-фиксированных парaffинизированных образцов ткани меланомы, полученной от пациентов с прогрессирующей опухолью были установлены мутации генов *CTNNB1* и *TP53*, играющие важную роль в резистентности как к таргетной терапии ингибиторами *BRAF* и *MEK*, так и к иммунотерапии заболевания, что, предположительно, связано с блокадой апоптоза опухолевых клеток [24].

Комбинированное использование детекции *BRAFV600* мутаций в трех вариантах – в ткани опухоли и при проведении жидкостной биопсии с анализом циркулирующей опухолевой ДНК и внеклеточных везикул – было более эффективным для выявления мутационного статуса опухоли. Это связано с тем, что вследствие гетерогенности опухоли, результаты обычной биопсии были недостаточно корректными. Сочетание вышеупомянутых методов позволило применить персонифицировать терапию и более точно прогнозировать развитие болезни [25].

Исследование внеклеточных везикул при проведении ЖБ

Внеклеточные везикулы – это гетерогенная группа пузырьков, выделяемых различными клетками и защищенных от внешнего окружения двойной липидной мембраной. Размер ВВ, как правило, находится в диапазоне 30–60 нм, они содержатся в различных жидкостях человеческого организма, включая кровь, плазму, мочу, цереброспинальную жидкость [26]. Уже не вызывает сомнений то, что ВВ играют важнейшую роль в различных межклеточных коммуникациях. Их взаимодействие с клеткой-реципиентом осуществляется путем эндоцитоза, фагоцитоза, прямого слияния или связывания с рецептором и может быть одним из ключевых событий развития метастазов. ВВ содержат множество биомолекул, включающих ДНК, РНК, белки, ферменты. Содержащиеся во ВВ миРНК могут иметь важное значение в патогенезе злокачественного новообразования. Так, при проведении жидкостной биопсии плазмы крови пациентов с метастазирующей меланомой, с использованием высокопродуктивного, основанного на ПЦР метода профайлинга миРНК, было установлено повышение экспрессии miR-412-3p, miR-507 и miR-1203, содержащихся в экзосомах. Данные миРНК способны связываться с 3'UTR гена *TNFSF4*, что приводит к сниже-

нию синтеза иммунорегуляторного белка OX40L. Таким образом, данные полученные при проведении жидкостной биопсии подтверждают иммуносупрессивную роль miR-412-3p, miR-507 и miR-1203 при прогрессировании меланомы [27].

В селекции содержимого ВВ важную роль играют окисление и другие редокс-зависимые процессы, а, значит и факторы про- и антиоксидантной системы, принимающие участие в регуляции окислительного стресса, воспаления и канцерогенеза [28, 29].

Исследование ВВ при проведении ЖБ имеет целый ряд преимуществ. Прежде всего, количество ВВ в 1 мл составляет приблизительно 10^9 , в то время как количество ЦОК исчисляется единицами. ВВ секретируются живыми клетками и отражают многообразную информацию о клетках, от которых они произошли, источником же цДНК являются апоптотические или погибшие опухолевые клетки. Кроме того, наличие у ВВ двуслойной липидной мембранны делает ВВ более стабильными к воздействию факторов опухолевого микроокружения и позволяет увеличить время хранения образцов, предшествующее изоляции и детекции ВВ [30] (рис. 2).

Первым этапом жидкостной биопсии с использованием ВВ является их выделение. К традиционным методам выделения ВВ относят ультрацентрифугирование, включающее дифференциальное и градиентное центрифугирование. При проведении дифференциального центрифугирования использование различных скоростей процесса позволяет провести разделение содержимого исследуемого образца и выделить ВВ. При градиентном ультрацентрифугировании происходит разделение исследуемого образца на слои, различной плотности, ВВ содержатся в слое 1,15–1,19 г/мл [31].

Ультрафильтрация – метод, ориентированный на размер выделяемых образований, при котором используют мембранные фильтры с порами [32]. Для проведения пропитации используют высокогидрофильный полимер, взаимодействующий с молекулами воды, окружающими мембрану ВВ [33]. К новым методам относят метод, основанный на иммуноаффинности/иммуномагнетизме, метод разделения на основе физических признаков, метод выделения с использованием липидов мембран ВВ, метод акустической изоляции, термофоретический метод и ряд других [30].

Согласно стандарту, для идентификации ВВ необходимо использовать вестерн-блоттинг верификацию и не менее двух методов, позволяющих охарактеризовать единичные ВВ [34]. Осуществляется оценка как визуальных характеристик различными методами электронной микроскопии [35] так и количественных характеристик методами, включающими метод динамического рассеяния све-

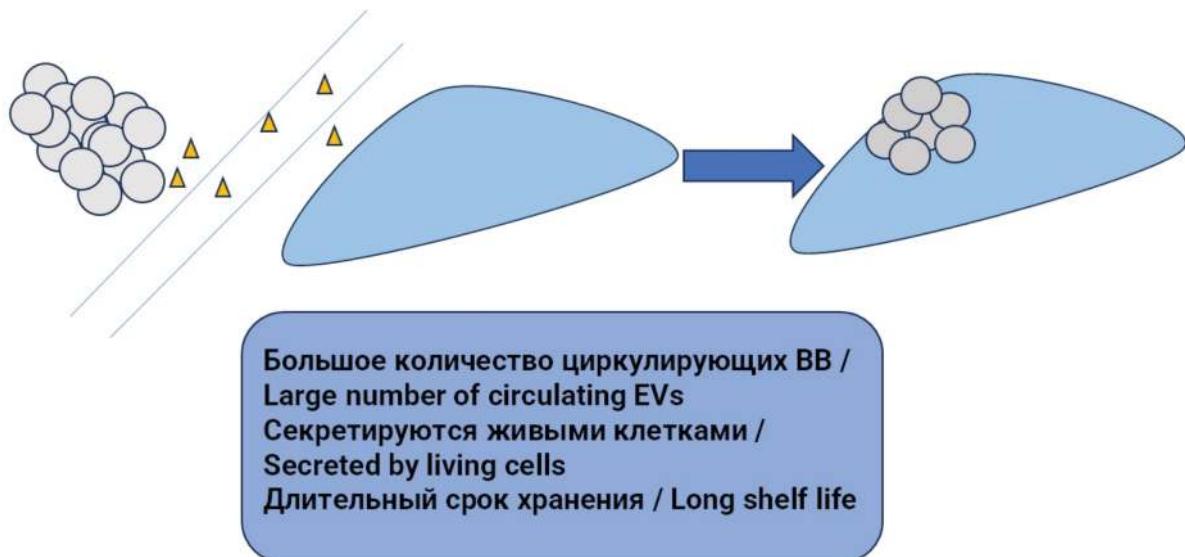


Рис. 2. Роль ВВ в контексте метастазирования и преимущества их использования для ЖБ.

Fig. 2. The role of EVs in the context of metastasis and the benefits of their use for LB.

та, анализ отслеживания наночастиц, настраиваемое резистивное импульсное зондирование [36, 37].

Для анализа белков, содержащихся в мембранах и цитоплазме ВВ существуют как традиционные, так и новые методы. К традиционным методам относятся вестерн-блоттинг и ферментно-связанный иммunoсорбентный анализ (ELISA). Новые методы включают колориметрическую детекцию, флюoresцентную детекцию, электрохимическую детекцию, детекцию поверхностного плазмонного резонанса и ряд других методов [38–40].

К традиционным методам исследования белков ВВ относятся ПЦР в режиме реального времени с обратной транскрипцией, ДНК-микроципирование (микроэррэй) и секвенирование нового поколения [41]. Тем не менее, каждый из этих методов имеет свои недостатки. При помощи ПЦР можно анализировать только заранее известные последовательности, точность метода микроэррэй не всегда соответствует необходимой для проводимого исследования, а секвенирование нового поколения имеет высокую стоимость и определенные сложности при интерпретации полученных данных [41, 42]. Поэтому в последнее время появляются новые методы, к числу которых относятся метод цифровой капельной ПЦР, упомянутый выше, молекулярные маячковые зонды, ДНК – тетраэдрические зонды и ряд других методов [30, 43].

В целом, следует отметить, что есть ряд ограничений метода ЖБ для использования в клинической практике. Они включают невозможность гистологической оценки опухоли и отсутствие, на сегодняшний день, клинической

валидации, которая заключается в клинически подтвержденной аналитической эффективности метода.

Заключение

Таким образом, ЖБ может быть использована при проведении биопсии злокачественных новообразований, к числу которых относится и меланома, при которых затруднена традиционная тканевая биопсия. Важное значение ЖБ может иметь для ранней диагностики с детекцией потенциальных проонкогенных мутаций и прогноза дальнейшего развития заболеваний, ранней оценки ответа/резистентности при противоопухолевой терапии, в том числе, оценки ответа на иммунотерапию при использовании ингибиторов контрольных точек, общей оценки эффективности не только терапевтического, но и хирургического лечения. При помощи ЖБ можно осуществлять постоянную оценку и мониторинг опухолевой гетерогенности, что может сыграть ключевую роль в успешности проводимого лечения.

Литература (п.п. 1–5; 7–40; 42; 43 см. References)

6. Фефелова Ю.А., Жуков Е.Л., Сергеева Е.Ю., Михайлова А.К. Морфологические особенности экспериментальной меланомы В16 при ограничении калорийности питания. *Сибирское медицинское обозрение*. 2019; (6): 96–99. <https://doi.org/10.20333/2500136-2019-6-96-99>
41. Палкина Н.В., Зенайшвили Р.Д., Рукша Т.Г. Роль экзосом в диагностике и лечении иммуноопосредованных дерматозов, лече-

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.113-120

нии кожных ран и алопеции. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2024; 100(2): 8–17. <https://doi.org/10.25208/vdv11876>

References

1. Kopetz S., Murphy D.A., Pu J., Ciardiello F., Desai J., Van Cutsem E., et al. Molecular profiling of BRAF-V600E-mutant metastatic colorectal cancer in the phase3 BEACON CRC trial. *Nat Med.* 2024; 30(11): 3261–71. <https://doi.org/10.1038/s41591-024-03235-9>
2. Lone S.N., Nisar S., Masoodi T., Singh M., Rizwan A., Hashem S., et al. Liquid biopsy: a step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. *Mol Cancer.* 2022; 21(1): 79. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01543-7>
3. Sergeeva E., Ruksha T., Fefelova Y. Effects of obesity and calorie restriction on cancer development. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(11): 9601. <https://doi.org/10.3390/ijms24119601>
4. Matthews N.H., Li W.Q., Qureshi A.A., Weinstock M.A., Cho E. Epidemiology of Melanoma. In: Ward W.H., Farma J.M., editors. *Cutaneous Melanoma: Etiology and Therapy* [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; 2017. Chapter 1. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK481862>
5. Cherdynseva N.V., Litviakov N.V., Denisov E.V., Gervas P.A., Cherdynsev E.S. Circulating tumor cells in breast cancer: functional heterogeneity, pathogenetic and clinical aspects. *Exp Oncol.* 2017; 39(1): 2–11.
6. Fefelova Yu.A., Zhukov E.L., Sergeeva E.Yu., Mihaylova A.K. Morphological features of experimental B16 melanoma in case of food calories limitation. *Sibirskoe Meditsinsko Obozrenie.* 2019; (6): 96–99. <http://doi.org/10.20333/2500136-2019-6-96-99> (in Russian)
7. Lin D., Shen L., Luo M., Zhang K., Li J., Yang Q., et al. Circulating tumor cells: biology and clinical significance. *Signal Transduct Target Ther.* 2021; 6(1): 404. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00817-8>
8. Tang M., Zhang Z., Wang P., Zhao F., Miao L., Wang Y., et al. Advancements in precision nanomedicine design targeting the anoikis-platelet interface of circulating tumor cells. *Acta Pharm Sin B.* 2024; 14(8): 3457–75. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.04.034>
9. Young R., Pailler E., Billiot F., Drusch F., Barthelemy A., Oulhen M., et al. Circulating tumor cells in lung cancer. *Acta Cytol.* 2012; 56: 655–60. <https://doi.org/10.1159/000345182>
10. Bankó P., Lee S.Y., Nagygyörgy V., Zrínyi M., Chae C.H., Cho D.H., et al. Technologies for circulating tumor cell separation from whole blood. *J Hematol Oncol.* 2019; 12(1): 48. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0735-4>
11. Hao S.J., Wan Y., Xia Y.Q., Zou X., Zheng S.Y. Size-based separation methods of circulating tumor cells. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018; 125: 3–20. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.01.002>
12. Scaini M.C., Catoni C., Poggiana C., Pigozzo J., Piccin L., Leone K., et al. A multiparameter liquid biopsy approach allows to track melanoma dynamics and identify early treatment resistance. *NPJ Precis Oncol.* 2024; 8(1): 78. <https://doi.org/10.1038/s41698-024-00567-0>
13. Rapanotti M.C., Cugini E., Nuccetelli M., Terrinoni A., Di Raimondo C., Lombardo P., et al. MCAM/MUC18/CD146 as a Multifaceted Warning Marker of Melanoma Progression in Liquid Biopsy. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(22): 12416. <https://doi.org/10.3390/ijms222212416>
14. Fleischhacker M., Schmidt B. Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer – A survey. *Biochim Biophys Acta.* 2007; 1775(1): 181–232. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2006.10.001>
15. Megquier K., Husted C., Rhoades J., White M.E., Genereux D.P., Chen F.L., et al. Impact of preanalytical factors on liquid biopsy in the canine cancer model. *bioRxiv.* 2024: 2024.07.29.605605. <https://doi.org/10.1101/2024.07.29.605605>
16. Diehl F., Schmidt K., Choti M.A., Romans K., Goodman S., Li M., et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med.* 2008; 14(9): 985–990. <https://doi.org/10.1038/nm.1789>
17. Kaneko A., Kanemaru H., Kajihara I., Mijiddorj T., Miyauchi H., Kuriyama H., et al. Liquid biopsy-based analysis by ddPCR and CAPP-Seq in melanoma patients. *J Dermatol Sci.* 2021; 102(3): 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2021.04.006>
18. Dayimu A., Gupta A., Matin R.N., Nobes J., Board R., Payne M., et al. A randomised phase 2 study of intermittent versus continuous dosing of dabrafenib plus trametinib in patients with BRAFV600 mutant advanced melanoma (INTERIM). *Eur J Cancer.* 2024; 196: 113455. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2023.113455>
19. Loree J.M., Dowers A., Tu D., Jonker D.J., Edelstein D.L., Quinn H., et al. Expanded Low Allele Frequency RAS and BRAFV600E Testing in Metastatic Colorectal Cancer as Predictive Biomarkers for Cetuximab in the Randomized CO.17 Trial. *Clin Cancer Res.* 2021; 27(1): 52–59. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-2710>
20. Aoude L.G., Brosda S., Ng J., Lonie J.M., Belle C.J., Patel K., et al. Circulating Tumor DNA: A Promising Biomarker for Predicting Recurrence in Patients with BRAF-Negative Melanoma. *J Mol Diagn.* 2023; 25(10): 771–781. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2023.06.014>
21. Imperial R., Nazer M., Ahmed Z., Kam A.E., Pluard T.J., Bahaj W., et al. Matched Whole-Genome Sequencing (WGS) and Whole-Exome Sequencing (WES) of Tumor Tissue with Circulating Tumor DNA (ctDNA) Analysis: Complementary Modalities in Clinical Practice. *Cancers.* 2019; 11(9): 1399. <https://doi.org/10.3390/cancers11091399>
22. Wardenaar R., Liu H., Colot V., Colomé-Tatché M., Johannes F. Evaluation of MeDIP-chip in the context of whole-genome bisulfite sequencing (WGBS-seq) in Arabidopsis. *Methods Mol Biol.* 2013; 1067: 203–24. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-607-8_13
23. Hon G.C., Hawkins R.D., Caballero O.L., Lo C., Lister R., Pelizzola M., et al. Global DNA hypomethylation coupled to repressive chromatin domain formation and gene silencing in breast cancer. *Genome Res.* 2012; 22(2): 246–58. <https://doi.org/10.1101/gr.125872.111>
24. Olbryt M., Rajczykowski M., Bal W., Fiszer-Kierzkowska A., Cortez A.J., Mazur M., et al. NGS Analysis of Liquid Biopsy (LB) and Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) Melanoma Samples Using Oncomine™ Pan-Cancer Cell-Free Assay. *Genes.* 2021; 12(7): 1080. <https://doi.org/10.3390/genes12071080>
25. García-Silva S., Vico-Alonso C., Meyer L., Enderle D., Sanchez J.A., Onteniente M.D.M., et al. Improved Sensitivity in BRAFV600E Detection in Combined Tissue and Extracellular Vesicle-Based Liquid Biopsy in Melanoma. *J Invest Dermatol.* 2023; 143(8): 1606–10. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2023.01.025>
26. Dobra G., Bukva M., Szabo Z., Bruszel B., Harmati M., Gyukity-Sebestyen E., et al. Small Extracellular Vesicles Isolated from Serum May Serve as Signal-Enhancers for the Monitoring of CNS Tumors. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(15): 5359. <https://doi.org/10.3390/ijms21155359>
27. Sabato C., Noviello T.M.R., Covre A., Coral S., Caruso F.P., Besharat Z.M., et al. A novel microRNA signature for the detection of melanoma by liquid biopsy. *J Transl Med.* 2022; 20(1): 469. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03668-1>
28. Wei H., Chen Q., Lin L., Sha C., Li T., Liu Y., et al. Regulation of exosome production and cargo sorting. *Int J Biol Sci.* 2021; 17(1): 163–77. <https://doi.org/10.7150/ijbs.53671>

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.03.113-120

29. Sergeeva E.Yu., Dunaevskaya S.S., Deulina V.V., Fefelova Yu.A. Catalases: oxidative stress, inflammation and carcinogenesis. *Sibirskoe Meditsinskoе Obozrenie*. 2024; (4): 18–22.
30. Yu D., Li Y., Wang M., Gu J., Xu W., Cai H., et al. Exosomes as a new frontier of cancer liquid biopsy. *Mol Cancer*. 2022; 21(1): 56. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01509-9>
31. Vidal M., Mangeat P., Hoekstra D. Aggregation reroutes molecules from a recycling to a vesicle-mediated secretion pathway during reticulocyte maturation. *J Cell Sci*. 1997; 110(Pt 16): 1867–77. <https://doi.org/10.1242/jcs.110.16.1867>
32. Taylor D.D., Shah S. Methods of isolating extracellular vesicles impact down-stream analyses of their cargoes. *Methods*. 2015; 87: 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.02.019>
33. Weng Y., Sui Z., Shan Y., Hu Y., Chen Y., Zhang L., et al. Effective isolation of exosomes with polyethylene glycol from cell culture supernatant for in-depth proteome profiling. *Analyst*. 2016; 141(15): 4640–46. <https://doi.org/10.1039/c6an00892e>
34. Théry C., Witwer KW., Aikawa E., Alcaraz M.J., Anderson J.D., Andriantsitohaina R., et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018; 7(1): 1535750. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>
35. Sharma S., Rasool H.I., Palanisamy V., Mathisen C., Schmidt M., Wong D.T., et al. Structural-mechanical characterization of nanoparticle exosomes in human saliva, using correlative AFM, FESEM, and force spectroscopy. *ACS Nano*. 2010; 4(4): 1921–6. <https://doi.org/10.1021/nn901824n>
36. Street J.M., Koritzinsky E.H., Glispie D.M., Star R.A., Yuen P.S. Urine Exosomes: An Emerging Trove of Biomarkers. *Adv Clin Chem*. 2017; 78: 103–22. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2016.07.003>
37. Bachurski D., Schuldner M., Nguyen P.H., Malz A., Reiners K.S., Grenzi P.C., et al. Extracellular vesicle measurements with nanoparticle tracking analysis – An accuracy and repeatability comparison between NanoSight NS300 and ZetaView. *J Extracell Vesicles*. 2019; 8(1): 1596016. <https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1596016>
38. Xia Y., Liu M., Wang L., Yan A., He W., Chen M., et al. A visible and colorimetric aptasensor based on DNA-capped single-walled carbon nanotubes for detection of exosomes. *Biosens Bioelectron*. 2017; 92: 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.01.063>
39. Liu C., Xu X., Li B., Situ B., Pan W., Hu Y., et al. Single-Exosome-Counting Immunoassays for Cancer Diagnostics. *Nano Lett*. 2018; 18(7): 4226–32. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.8b01184>
40. Zeng S., Baillargeat D., Ho H.P., Yong K.T. Nanomaterials enhanced surface plasmon resonance for biological and chemical sensing applications. *Chem Soc Rev*. 2014; 43(10): 3426–52. <https://doi.org/10.1039/c3cs60479a>
41. Palkina N.V., Zenaishvili, R.D., Ruksha, T.G. The role of exosomes in the diagnostics and treatment of immune mediated skin disorders, wounds and alopecia. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2024; 100(2): 8–17. <https://doi.org/10.25208/vdv11876> (in Russian)
42. Gandham S., Su X., Wood J., Nocera A.L., Alli S.C., Milane L., et al. Technologies and Standardization in Research on Extracellular Vesicles. *Trends Biotechnol*. 2020; 38(10): 1066–98. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.05.012>
43. Mateescu B., Kowal E.J., van Balkom B.W., Bartel S., Bhattacharyya S.N., Buzás E.I., et al. Obstacles and opportunities in the functional analysis of extracellular vesicle RNA – an ISEV position paper. *J Extracell Vesicles*. 2017; 6(1): 1286095. <https://doi.org/10.1080/20013078.2017.1286095>

Сведения об авторе:

Сергеева Екатерина Юрьевна, доктор биол. наук, проф. каф. патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова ФГБОУ ВО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, e-mail: e.yu.sergeeva@mail.ru