

DOI: <https://doi.org/10.17816/dv106327>

Оригинальное исследование



# МикроРНК как диагностический маркер при Т-клеточных лимфомах кожи

О.Ю. Олисова<sup>1</sup>, В.В. Демкин<sup>2</sup>, Н.Г. Чернова<sup>3</sup>, Д.Р. Амшинская<sup>1</sup>, А.А. Казаков<sup>2</sup><sup>1</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация<sup>2</sup> Институт молекулярной генетики, Москва, Российская Федерация<sup>3</sup> Городская клиническая больница № 40, Москва, Российская Федерация

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** В последние годы благодаря развитию методов молекулярно-генетического анализа одним из перспективных маркеров для диагностики многих заболеваний человека становится микроРНК.

**Цель** — изучение микроРНК в плазме крови для ранней диагностики грибовидного микоза.

**Материал и методы.** В исследование были включены 30 пациентов с гистологически подтверждённым диагнозом Т-клеточной лимфомы кожи, у 25 был диагностирован грибовидный микоз, у 5 — синдром Сезари. Группу контроля составили 10 пациентов с доброкачественными лимфопролиферативными дерматозами. Пациентам проводилось определение микроРНК 223, 16, 326, 663, 423, 711 в плазме крови. Проведено также определение микроРНК в плазме у пациентов с Т-клеточными лимфомами кожи на ранних и поздних стадиях.

**Результаты.** Выявлена статистически значимая разница микроРНК 223, 16, 326, 711 в плазме крови у пациентов с грибовидным микозом в сравнении с пациентами с доброкачественными лимфопролиферативными дерматозами, микроРНК 663 у пациентов с Т-клеточными лимфомами кожи на ранней и поздней стадиях, а также микроРНК 223, 711 у пациентов с грибовидным микозом на ранней стадии в сравнении с пациентами с доброкачественными лимфопролиферативными дерматозами.

**Заключение.** Определение микроРНК 223, 16, 326, 711 в плазме крови может быть использовано для ранней диагностики Т-клеточной лимфомы кожи.

**Ключевые слова:** Т-клеточные лимфомы кожи; микроРНК.

## Для цитирования:

Олисова О.Ю., Демкин В.В., Чернова Н.Г., Амшинская Д.Р., Казаков А.А. МикроРНК как диагностический маркер при Т-клеточных лимфомах кожи // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2022. Т. 25, № 1. С. 5–16. DOI: <https://doi.org/10.17816/dv106327>

DOI: <https://doi.org/10.17816/dv106327>

Original study

# MicroRNA as a diagnostic marker in cutaneous T-cell lymphomas

Olga Yu. Olisova<sup>1</sup>, Vladimir V. Demkin<sup>2</sup>, Natalia G. Chernova<sup>3</sup>,  
Jessika R. Amshinskaya<sup>1</sup>, Andrey A. Kazakov<sup>2</sup><sup>1</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation<sup>2</sup> Institute of Molecular Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation<sup>3</sup> City Clinical Hospital № 40, Moscow, Russian Federation

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** In recent years, thanks to the development of methods of molecular genetic analysis, microRNA has become one of the promising markers for the diagnosis of many human diseases.

**AIMS:** to study microRNA as a new method for the diagnosis of fungal mycosis.

**MATERIALS AND METHODS:** The study included 30 patients with histologically confirmed diagnosis of T-cell lymphomas of the skin, 25 were diagnosed with fungal mycosis, 5 — Cesari syndrome. The control group consisted of 10 patients with benign lymphoproliferative dermatoses. The patients underwent the determination of microRNA 223, 16, 326, 663, 423, 711 in blood plasma. MicroRNA was also detected in plasma in patients with T-cell lymphomas of the skin at early and late stages.

**RESULTS:** Statistically significant difference of 223, 16, 326, 711 microRNAs in blood plasma was revealed in patients with fungal mycosis, compared with patients with benign lymphoproliferative dermatoses. Statistically significant difference of 663 microRNA in blood plasma was revealed in patients with T-cell lymphomas of the skin at early and late stages. A statistically significant difference of 223, 711 microRNAs in blood plasma was revealed in patients with fungal mycosis at an early stage compared with patients with benign lymphoproliferative dermatoses.

**CONCLUSION:** The determination of microRNA 223, 16, 326, 711 in blood plasma can be used for early diagnosis of T-cell lymphomas of the skin.

**Keywords:** skin T-cell lymphomas; microRNAs; skin lymphomas.

## For citation:

Olisova OYu, Demkin VV, Chernova NG, Amshinskaya JR. MicroRNA as a diagnostic marker in cutaneous T-cell lymphomas. *Russian journal of skin and venereal diseases*. 2022;25(1):5–16. DOI: <https://doi.org/10.17816/dv106327>

Received: 16.01.2022

Accepted: 10.02.2022

Published: 26.02.2022

## ОБОСНОВАНИЕ

Лимфомы кожи относятся к гетерогенной группе лимфопролиферативных заболеваний, характеризующихся клональной пролиферацией клеток лимфоидной ткани и очерченным спектром клинических, морфоиммунологических и генетических признаков.

С учётом морфофункциональной неоднородности выделяют Т-клеточные (60–65%) (ТКЛК), В-клеточные (20–25%) и НК-клеточные (10%) лимфомы кожи [1].

Среди ТКЛК наиболее часто (>50% случаев) встречается грибовидный микоз, около 25% составляют CD30+ лимфолиферативные заболевания кожи (первичная кожная анапластическая лимфома и лимфоматоидный папулёз), остальная часть приходится на редко встречаемые лимфомы.

Грибовидный микоз характеризуется усиленной пролиферацией Т-лимфоцитов и их накоплением в коже. Отличается вялотекущим прогрессирующим течением с эволюцией пятен и бляшек в узлы, содержащие злокачественные Т-клетки кожи. Примерно у 1/3 пациентов болезнь прогрессирует в агрессивную злокачественную стадию с неблагоприятным прогнозом, поражением лимфатических узлов и внутренних органов. Агрессивный вариант получил название синдрома Сезари. Синдром Сезари может возникать *de novo*. В этом случае болезнь часто протекает очень быстро и всегда заканчивается летальным исходом [2]. Клинические проявления грибовидного микоза и синдрома Сезари зачастую имитируют доброкачественные кожные заболевания, такие как экзема, атопический дерматит, фолликулит, псориаз, парapsoriasis и др. [3].

Средний возраст дебюта грибовидного микоза составляет 55–60 лет, в 1% случаев патология регистрируется в детском и подростковом возрасте [4]. Согласно статистическим данным, за последнее десятилетие во всём мире наблюдается рост заболеваемости грибовидным микозом — 0,6–0,7 случаев на каждые 100 000 жителей.

В настоящее время выделяют следующие подтипы грибовидного микоза: фолликулотропный, педжетоидный ретикулёз и синдром гранулематозной вялой кожи, в том числе более 15 атипичных форм: сиригготропную, буллёзную/везикулёзную, гранулематозную, гипер-/гипопигментную, моноочаговую, ладонно-подошвенную, гиперкератотическую, вегетирующую, ихтиозиформную, пигментно-пурпурозную, пустулёзную, папулёзную, эритродермическую, склеродермоподобную. При этом грибовидный микоз имеет пятнистую, бляшечную, опухолевую (узловую) стадию развития или протекает в виде эритродермии. Диагноз грибовидного микоза устанавливается на основании комплексной оценки клинической картины заболевания, гистологического исследования биоптатов, взятых из очага поражённой кожи, иммунофенотипирования по Т-клеточным маркерам (CD2, CD3, CD5 и CD7), а также анализа перестройки гена Т-клеточного

рецептора. Однако на ранних стадиях заболевания дифференциальная диагностика с использованием вышеперечисленных методов затруднена, так как ряд иммунологических изменений (усиление пролиферации CD4+-клеток, снижение уровня экспрессии CD7+-клеток и т.д.) может наблюдаться и при других заболеваниях кожи (псориаз, экзема, атопический дерматит и многие другие хронические дерматозы) [5].

В последние годы для проведения дифференциальной диагностики широко используется метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), с помощью которого производят анализ перестроек в TCRG и TCRB — генах Т-клеточного рецептора, что в свою очередь позволяет определять клональность Т-лимфоцитов в очаге поражения. Однако картина перестройки генов Т-клеточного рецептора, наблюдаемая при грибовидном микозе, зачастую совпадает с таковой, регистрируемой при различных дерматозах и/или иных системных заболеваниях кровеносной системы. Кроме того, аналогичные результаты могут быть получены и у практически здоровых лиц пожилого возраста [4, 6, 7].

Прогноз и выбор тактики лечения напрямую зависят от стадии заболевания: медиана общей выживаемости на ранних стадиях (Ib–IIa) составляет 12,9 лет, в то время как при IV стадии заболевания — не более 1,5 лет [8].

Как уже отмечалось выше, синдром Сезари относится к агрессивным кожным Т-клеточным лимфомам и характеризуется эритродермией, генерализованной лимфаденопатией и наличием в крови циркулирующих злокачественных Т-лимфоцитов (клеток Сезари) [9]. Синдром Сезари является редкой Т-клеточной лимфомой и составляет менее 5% всех первичных кожных лимфом. Болеют преимущественно люди пожилого возраста с преобладанием пациентов мужского пола, средний возраст дебюта заболевания составляет 60–65 лет [10].

В результате иммунофенотипирования лимфоцитов крови было выявлено, что пролиферирующими злокачественными лимфоцитами, проникающими в кожу, являются, предположительно, зрелые Т-лимфоциты, экспрессирующие CD3, CD4 и CD7, а также Т-лимфоциты памяти CD45RO, CCR4, CCR7, L-селектин и CD27 [11].

Гиперпролиферацию Т-лимфоцитов, обуславливающую развитие и прогрессирование синдрома Сезари, ряд исследователей связывает с мутационными изменениями генов, кодирующих активность супрессоров опухолевого роста, а также дифференцировку Т-лимфоцитов и их миграцию в кожу [9].

В последние годы благодаря развитию методов молекулярно-генетического анализа наиболее перспективным маркером диагностики многих заболеваний человека становится микроРНК (миРНК). Уникальные микроРНК участвуют во многих физиологических и патологических процессах, и сейчас уже известно, что нарушение регуляции миРНК вносит определённый вклад в развитие различных опухолей, в том числе при ТКЛК.

**Цель исследования** — изучение микроРНК как нового метода диагностики грибкового микоза.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

### Дизайн исследования

Одномоментное проспективное исследование.

### Критерии соответствия

**Критерии включения:** наличие диагностированной и подтвержденной по результатам гистологии и иммуногистохимии грибкового микоза и синдрома Сезари.

**Критерии не включения:** пациенты с В-клеточной лимфомой кожи, пациенты без подтвержденного диагноза.

**Критерии исключения:** нежелание пациента участвовать в исследовании.

### Условия проведения

Исследование выполнено на базе ФГБУ «Институт молекулярной генетики», входящего в состав Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт», Москва).

### Продолжительность исследования

Исследование проводилось с 2019 по 2022 г.

### Описание медицинского вмешательства

Обследование пациентов включало сбор анамнеза, осмотр, а также проведение лабораторного обследования. В основную группу были включены 30 пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом ТКЛК, у 25 был диагностирован грибковый микоз, у 5 — синдром Сезари. Группу контроля ( $n=10$ ) составили пациенты с доброкачественными лимфопрлиферативными дерматозами (парапсориаз и псевдолимфома кожи).

При первичном обращении одномоментно пациентам проводилось определение микроРНК 223, 16, 326, 663, 423, 711 в плазме крови. Выполнено также определение

микроРНК в плазме крови у пациентов с ТКЛК на ранних и поздних стадиях.

Исследование проводилось методом ПЦР на приборе BioRad CFX 96 (BioRad Laboratories Inc., США).

**Характеристика:** ПЦР-микс содержит ПЦР-буфер (10 мМ Tris HCL pH 8,3; 8% сахарозы; 50 мМ KCl; 0,5% Tween 20; 3% формамид; 4 мМ MgCl<sub>2</sub> и 180 μМ каждого из dNTP), а также праймеры, зонд, меченный по Hex, и одну единицу Taq ДНК полимеразы (и образец кДНК). Концентрация в реакционной смеси праймеров и зонда — 0,17 мкМ.

Во всех постановках каждый образец ставился в двух точках. Для расчётов брали среднее значение показаний прибора для этих двух точек.

### Этическая экспертиза

Исследование одобрено в рамках диссертационной работы «Диагностическая значимость микроРНК при Т-клеточных лимфомах кожи и разработка комбинированного метода лечения», заседание локального комитета по этике ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет) № 16-19 от 10.12.2019.

### Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0. Для подсчёта статистики применяли корреляционный анализ и ROC-анализ. Критическим уровнем значимости ( $p$ ) считали 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Объекты (участники) исследования

В исследование включены 40 пациентов, из них 20 мужчин и 20 женщин. Характеристика пациентов представлена в табл. 1.

**Таблица 1.** Характеристика пациентов

**Table 1.** Characteristics of patients

Характеристика	ГМ	СС	ДЛПД
Пациенты, $n$	25	5	10
Пол:			
• мужской ( $n=20$ ), абс.	8	4	8
• женский ( $n=20$ ), абс.	17	1	2
Возраст, лет, Me (Q1–Q3)			
• мужчины	56,5 (54,5–64,5)	59 (51,5–64,5)	50 (29,5–69,5)
• женщины	56 (47–64)	59 (48,7–66,2)	55,5 (55–56)

**Примечание.** ГМ — грибковый микоз; СС — синдром Сезари; ДЛПД — доброкачественные лимфопрлиферативные дерматозы.

**Note:** ГМ — fungal mycosis; СС — Cesari syndrome; ДЛПД — benign lymphoproliferative dermatoses.

**Таблица 2.** Определение микроРНК в плазме у пациентов с Т-клеточной лимфомой кожи

**Table 2.** Determination of micro-RNA in plasma in patients with skin T-cell lymphoma

МиР Ме (Q1–Q3)	ГМ	СС	ДЛПД	p
223*	27,4 (26,6–28,7)	26,7 (24,9–27,2)	25 (23,3–25,3)	0,014*
423	27,1 (26,0–30,1)	26,5 (23,7–28,7)	26,1 (24,9–26,5)	0,141
663	24,1 (0–30,5)	27,3 (0–28,1)	29,5 (28,1–30,5)	0,215
16*	16,2 (15,1–18,0)	15,3 (14,9–16,1)	14,9 (14,0–15,4)	0,015*
326*	32,1 (0–32,9)	31,3 (0–31,8)	33,8 (32,1–34,0)	0,046*
711*	35,2 (33,4–35,9)	34,1 (33,4–35,9)	31,1 (30,6–32,7)	0,02*

**Примечание.** \* Различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ ). ГМ — грибовидный микоз; СС — синдром Сезари; ДЛПД — доброкачественные лимфопролиферативные дерматозы.

**Note:** \* Differences in indicators are statistically significant ( $p < 0.05$ ). ГМ — fungal mycosis; СС — Cesari syndrome; ДЛПД — benign lymphoproliferative dermatoses.

**Таблица 3.** Определение микроРНК в плазме пациентов с Т-клеточной лимфомой кожи на ранних и поздних стадиях

**Table 3.** Determination of microRNA in plasma in patients with T-cell lymphoma of the skin at early and late stages

МиР Ме (Q1–Q3)	ТКЛК (ранняя стадия) n=21	ТКЛК (поздняя стадия) n=8	p
223	26,9 (24,9–28,7)	28,0 (27,1–29,9)	0,172
423	26,6 (25,1–28,7)	28,3 (25,1–32,5)	0,464
663*	28,1 (0–30,9)	0 (0–13,7)	0,036*
16	16,1 (14,5–17,4)	16,2 (15,2–18,2)	0,558
326	32,2 (0–33,4)	15,1 (0–32,2)	0,149
711	24,1 (33,4–35,4)	35,6 (33,7–36,1)	0,354

**Примечание.** \* Различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ ). ТКЛК — Т-клеточная лимфома кожи.

**Note:** \* Differences in indicators are statistically significant ( $p < 0.05$ ). ТКЛК — T-cell lymphoma of the skin.

**Таблица 4.** Сравнительная характеристика микроРНК в плазме пациентов с Т-клеточной лимфомой кожи на ранних стадиях с доброкачественными лимфопролиферативными дерматозами

**Table 4.** Comparative characteristics of microRNAs in plasma of patients with T-cell lymphoma of the skin in the early stages with benign lymphoproliferative dermatoses

МиР Ме (Q1–Q3)	ТКЛК (ранняя стадия)	Non-LCT	p
223*	27,0 (24,9–28,7)	25,0 (23,3–25,3)	0,022*
423	26,6 (25,1–28,7)	26,1 (24,9–26,5)	0,267
663	28,1 (0–30,9)	29,5 (28,1–30,5)	0,665
16	16,1 (14,5–17,4)	14,9 (14,0–15,4)	0,099
326	32,3 (0–33,4)	33,8 (32,1–34,0)	0,073
711*	34,1 (33,4–35,4)	31,1 (30,6–32,7)	0,001*

**Примечание.** \* Различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ ). ТКЛК — Т-клеточная лимфома кожи; non-LCT — нелокальная консолидирующая терапия.

**Note:** \* Differences in indicators are statistically significant ( $p < 0.05$ ). ТКЛК — T-cell lymphoma of the skin; non-LCT — non-local consolidation therapy.

## Основные результаты исследования

Выявлена статистически значимая разница микроРНК 223, 16, 326, 711 в плазме крови у пациентов с ТКЛК и грибовидным микозом в сравнении с пациентами с доброкачественными лимфопролиферативными дерматозами (табл. 2).

Не выявлено отличий микроРНК 423, 663 в плазме между исследуемыми группами пациентов. Статистически значимых отличий микроРНК в группах грибовидного микоза и синдрома Сезари не выявлено. Выявлена статистически значимая разница микроРНК 663 в плазме крови у пациентов с ТКЛК на ранней и поздней стадиях (табл. 3).

Выявлена статистически значимая разница микроРНК 223, 711 в плазме крови пациентов с ТКЛК на ранней стадии в сравнении с пациентами с доброкачественными лимфопролиферативными дерматозами (табл. 4).

## Корреляционный анализ

Корреляционная связь Mir-223 и Mir-16 в плазме, оценённая с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена, статистически значима ( $p=0,001$ ), прямая, заметной силы по шкале Чеддока, коэффициент корреляции ( $r$ ) 0,628.

Корреляционная связь Mir-223 и Mir-326 в плазме, оценённая с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена, статистически значима ( $p=0,014$ ), обратная, умеренной силы по шкале Чеддока,  $r=-0,386$ .

Корреляционная связь Mir-223 и Mir-711 в плазме, оценённая с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена, статистически значима ( $p=0,014$ ), прямая, умеренной силы по шкале Чеддока,  $r=0,384$ .

Корреляционная связь Mir-326 и Mir-711 в плазме, оценённая с помощью коэффициента ранговой

корреляции Спирмена, статистически значима ( $p=0,001$ ), обратная, умеренной силы по шкале Чеддока,  $r=-0,629$ .

## ROC-анализ

Площадь под ROC-кривой (receiver operator characteristic — *кривая вероятности*), соответствующая взаимосвязи mir-223 и ТКЛК, составила  $0,795 \pm 0,075$  с 95% доверительным интервалом (ДИ)  $0,647-0,942$  (рис. 1). Полученная модель была статистически значимой ( $p=0,002$ ). Пороговое значение mir-223 в точке cut off составило 25,3. При mir-223, равном или превышающем данное значение, прогнозировался высокий риск ТКЛК. Чувствительность и специфичность метода составили 84,0 и 66,7% соответственно.

Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи грибовидного микоза и mir-16, составила  $0,771 \pm 0,073$  (95% ДИ  $0,6627-0,914$ ); рис. 2. Полученная модель была статистически значимой ( $p=0,005$ ). Пороговое значение mir-16 в точке cut off составило 15,4. При mir-223, равном или превышающем данное значение, прогнозировался высокий риск ТКЛК. Чувствительность и специфичность метода составили 72,0 и 73,3% соответственно.

Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи ТКЛК и mir-663 в плазме крови, составила  $0,744 \pm 0,093$  (95% ДИ  $0,562-0,926$ ). Полученная модель была статистически значимой ( $p=0,045$ ). Пороговое значение mir-663 в точке cut off составило 12,0. При mir-663, равном или превышающем данное значение, прогнозировался более высокий риск поздней стадии ТКЛК. Чувствительность и специфичность метода составили 75,0 и 66,7% соответственно.

Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи ТКЛК и mir-711 в плазме, составила  $0,894 \pm 0,065$

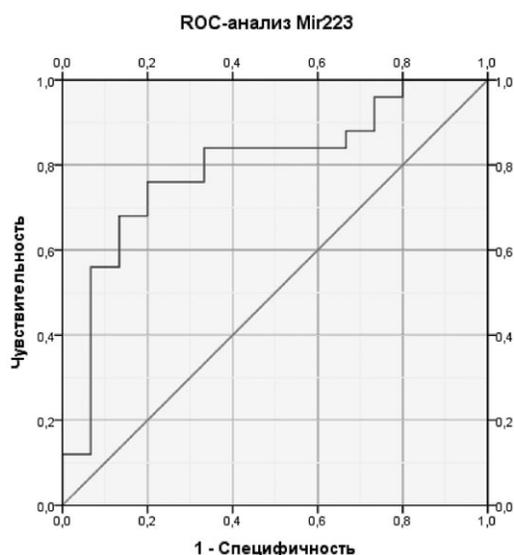


Рис. 1. Анализ чувствительности и специфичности микроРНК 223.

Fig. 1. Sensitivity and specificity analysis mir223.

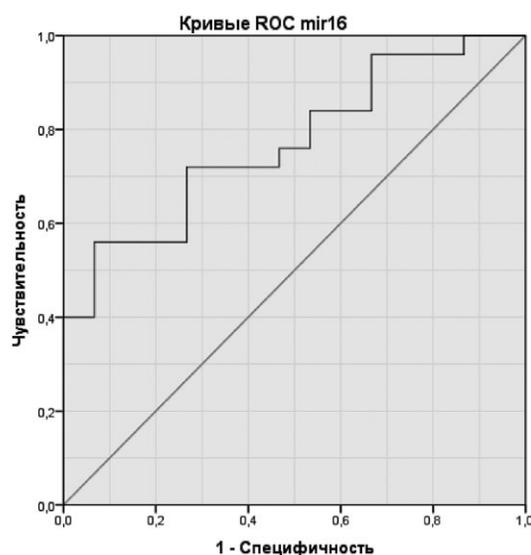


Рис. 2. Анализ чувствительности и специфичности микроРНК 16.

Fig. 2. Sensitivity and specificity analysis mir16.

(95% ДИ 0,767–0,918). Полученная модель была статистически значимой ( $p=0,001$ ). Пороговое значение miR-711 в точке cut off составило 33,2. При miR-711 в плазме, равном или превышающем данное значение, прогнозировался более высокий риск ранней стадии ТКЛК в сравнении со здоровыми пациентами. Чувствительность и специфичность метода составили 81 и 100% соответственно.

Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи ТКЛК и miR-223 в плазме, составила  $0,767 \pm 0,086$  (95% ДИ 0,599–0,935). Полученная модель была статистически значимой ( $p=0,022$ ). Пороговое значение miR-223 в точке cut off составило 25,9. При miR-223 в плазме, равном или превышающем данное значение, прогнозировался более высокий риск ранней стадии ТКЛК в сравнении со здоровыми пациентами. Чувствительность и специфичность метода составили 61,9 и 88,9% соответственно.

### Нежелательные явления

Нежелательные явления отсутствовали.

## ОБСУЖДЕНИЕ

МикроРНК — это небольшие (18–22 нуклеотида) некодирующие одноцепочечные молекулы РНК, выполняющие в организме регулируемую функцию. Большинство генов микроРНК расположены в межгенных пространствах и ориентированы в антисмысловом направлении по отношению к соседним генам. Около 40% микроРНК кодируются генами, лежащими в интронах и небелоккодирующих генах, а в некоторых случаях даже в экзонах длинных небелоккодирующих генов [12]. МикроРНК транскрибируются РНК-полимеразами II и III и после транскрипции генерируют первичные транскрипты (pri-miRNA). pri-miRNA далее процессируются в ядре. При процессинге образуется предшественница микроРНК (pre-miRNA), которая затем расщепляется до зрелой микроРНК под действием фермента РНК-азы DICER [13]. МикроРНК участвуют в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов путём комплементарного спаривания с участками матричной РНК (мРНК), что приводит к подавлению трансляции или провоцирует деградацию этих мРНК. Одна микроРНК может взаимодействовать и регулировать множество мишеней (в среднем >100), и большинство транскриптов генов, кодирующих белок, могут регулироваться несколькими зрелыми микроРНК [14]. В свою очередь, экспрессия и активность микроРНК также строго регулируются в клетке. В настоящее время определены не менее 1800 микроРНК, которые участвуют в регуляции около 1/3 генома человека [15]. В ходе изучения функций микроРНК при онкозаболеваниях были выделены два их подтипа — онкогенные, также известные как онкомиры (OncmiR), и супрессорные

(TSmiR), известные как супрессоры опухолевого роста [16]. Отмечено, что онкомиры стимулируют туморогенез путём блокировки мРНК, кодирующих T-супрессорные белки (TS) (например, miR-17-22, miR-125b и miR-125) [17]. Напротив, TS микроРНК подавляют трансляцию мРНК, кодирующих онкобелки (например, miR-133a, miR-145, miR-143). Нарушение функциональной активности TS микроРНК и подавление их экспрессии может привести к иницированию и прогрессированию онкогенеза. Кроме этого, было показано, что некоторые разновидности микроРНК могут провоцировать неконтролируемое деление нормальных клеток и формирование опухолей. Более того, отмечалось, что интерферирующие микроРНК, задействованные в одном из механизмов РНК-интерференции, могут провоцировать перемещение покоящихся клеток солидной опухоли в соседние ткани с последующей их интеграцией, что в свою очередь может привести к появлению метастазов [18].

Исследования, посвящённые анализу экспрессии микроРНК в образцах от пациентов с ТКЛК, начались относительно недавно. Первые исследования строились по принципу широкопрофильного скринингового изыскания, т.е. когда оценке подвергается весь или очень широкий спектр известных на момент исследования микроРНК. Такому подходу хорошо соответствуют технологии гибридизации на микрочипах и высокопроизводительное секвенирование, так как позволяют оценивать сразу большие массивы микроРНК и выявлять среди них мишени с дифференциальной экспрессией при различных формах ТКЛК [19, 20].

В пионерской работе с использованием гибридизации на микрочипах проанализирован профиль микроРНК в CD4+ Т-клетках периферической крови 21 пациента с синдромом Сезари. Показано существенное отличие профиля от такового в контрольной группе здоровых людей, а также у лиц с В-клеточными лимфомами [21]. Было идентифицировано 114 микроРНК, ассоциированных с синдромом Сезари, из которых 10 демонстрировали повышенную экспрессию, а большинство — сниженную. Впоследствии аналогичные исследования были проведены с разными формами ТКЛК (см. табл. 1). В целом, во всех работах были выявлены группы микроРНК с повышенной (индуцированной) и пониженной (супрессированной) экспрессией по отношению к контрольным клеткам здоровых доноров либо больных другими формами патологии.

Так, при использовании метода микрочипирования среди наиболее индуцированных микроРНК были отмечены следующие:

- при различных формах ТКЛК без дифференциации: miR-326, miR-663b, miR-711 [22], miR-130b, miR-142-3p, miR-155, miR-342-3p [23];
- при опухолевой стадии грибовидного микоза: miR-21, miR-92/92a, miR-93, miR-142-3p, miR-146a,

- miR-155, miR-425-5p [24], miR-21, miR-142-3p/5p, miR-146a, miR-155, miR-181a/b, miR-342-3p [27];
- при синдроме Сезари: miR-145, miR-574-5p, miR-200c, miR-199a\*, miR-143, miR-214, miR-518, miR-518a-3p [21], miR-214, miR-199a\*, miR-199a, miR-142-3p, miR-486, miR-29b, miR-146a, miR-34a, miR-18a, miR-21 [25];
  - при анапластической крупноклеточной лимфоме кожи: miR-92b, miR-30c\*, miR-29b\*, miR-155\*, miR-425-5p [26].

Среди наиболее супрессированных микроРНК отмечали следующие:

- при различных формах ТКЛК без дифференциации: miR-203 и miR-205 [22], miR-23b, miR-27b, miR-150, miR-200b/c, miR-203 [23];
- при опухолевой стадии грибовидного микоза: miR-302d, miR-483, miR-620 [24], miR-23b, miR-27b, miR-99a, miR-100, miR-141, miR-200a/b/c, miR-203, miR-205 [27];
- при синдроме Сезари: miR-342, miR-223, miR-150, miR-189(24\*), miR-186, miR-423-3p, miR-92, miR-181a, miR-191, miR-376a [21], miR-223, let-7c, let-7f [25];
- при кожной анапластической крупноклеточной лимфоме (С-ALCL): miR-197 [26].

Нетрудно заметить расхождения в профилях дифференциально экспрессирующихся микроРНК, полученных разными авторами. Эти различия могут быть объяснены как особенностями когорт обследованных пациентов с соответствующими заболеваниями и групп сравнения, так и различиями в конфигурациях микрочипов, производимых разными производителями в разное время. На роль конфигурации микрочипов прямо указывают результаты кросс-платформенного сравнения, проведённого с микрочипами двух производителей — Agilent (Калифорния, США) и Affymetrix (Калифорния, США) [23]. Авторы идентифицировали только 8 дифференциально экспрессировавшихся микроРНК, общих для обеих платформ, между пациентами с ТКЛК и доброкачественным воспалительным дерматозом: miR-27b, miR-130b, miR-150, miR-155, miR-200b, miR-200c, miR-203 и miR-342-3p. Следует повторить, что методическая сторона техник на основе микрочипов имеет ряд ограничений (см. выше), что вынуждает исследователей верифицировать полученные результаты другими методами.

Тем не менее некоторые микроРНК стабильно выявлялись как дифференциально экспрессирующиеся: в частности, среди микроРНК с повышенной экспрессией — miR-21, miR-142-3p, miR-146a, miR-155, miR-199a/199a\*, miR-214, miR-342-3p, miR-425-5p; среди микроРНК с пониженной экспрессией — miR-23b, miR-27b, miR-150, miR-200b, miR-203, miR-205, miR-223 [21].

С использованием высокопроизводительного секвенирования была проведена лишь одна работа

при изучении ТКЛК. Были проанализированы микроРНК CD4+ Т-клеток, выделенных из периферической крови пациентов с синдромом Сезари (1-я группа), пациентов с atopическим дерматитом (2-я группа) и здоровых доноров (3-я группа). При сравнении групп 1 и 2 были обнаружены 11 микроРНК, а при сравнении групп 1 и 3 — 17 микроРНК, экспрессии которых имели статистически значимые отличия между группами сравнения. Наиболее заметным отличием было повышение уровня miR-214/214\* и miR-199a/199a\* в группе 1 (синдром Сезари) [28], что совпадало с данными других исследований [21, 25].

В одной из работ для широкопрофильного исследования микроРНК (742 мишени) был применён метод количественной оценки ПЦР [22]. Изучены 55 архивных образцов биоптатов кожи пациентов с ранним и прогрессирующим грибовидным микозом. В результате исследования выявлены как повышено регулируемые микроРНК (miR-155, miR-146a, 146b-5p, miR-342-3p, let-7i\*), так и пониженно регулируемые микроРНК (miR-203, miR-205), отличающиеся при раннем грибовидном микозе и atopическом дерматите. При сравнении раннего грибовидного микоза с прогрессирующими формами ТКЛК были выявлены дополнительные микроРНК с повышенной экспрессией, включая микроРНК, которые являются частью онкогенных кластеров miR-17/92, 106b/25 и 106a/363 [22].

## ПЦР

Профилирование на основе количественной оценки ПЦР представляет собой надёжную воспроизводимую технологию при анализе небольшого числа микроРНК. Метод прост в постановке, требует меньше временных и материальных затрат, при этом обеспечивает более широкий динамический диапазон количественных оценок, что делает метод более удобным инструментом для диагностических целей. Учитывая эти особенности метода, а также тот факт, что ни одна микроРНК сама по себе не стала надёжным биомаркером для дифференциации различных форм ТКЛК между собой или от других заболеваний, исследователи стали предлагать наборы (сигнатуры) из нескольких видов микроРНК, называемых классификаторами, в качестве новых диагностических или прогностических инструментов.

В одном из первых классификаторов повышенную экспрессию miR-214 и miR-486 предлагали в качестве маркера синдрома Сезари, а повышенную экспрессию miR-21 связывали с прогнозом синдрома Сезари [25]. Повышение уровня miR-214 в CD4+-опухолевых Т-клетках пациентов с ТКЛК было подтверждено [2].

Для дифференциальной диагностики ТКЛК и доброкачественных поражений кожи был предложен классификатор, основанный на анализе 5 микроРНК: miR-326, miR-663b, miR-711, miR-203, miR-205 [5]. Точность

диагноза с помощью этого классификатора достигала 97% [5, 29].

МикроРНК, такие как miR-27b, miR-29b, miR-30c, miR-155, были использованы для дифференциации кожной анапластической крупноклеточной лимфомы и доброкачественного воспалительного дерматоза, а miR-16, miR-30b, miR-92a, miR-93 — для дифференциации грибовидного микоза на стадии опухоли и доброкачественного воспалительного дерматоза [26]. В той же работе была выявлена дифференциальная экспрессия miR-27b, miR-29b, miR-92a, miR-93, miR-155 между анапластической крупноклеточной лимфомой кожи и грибовидным микозом. Несмотря на полученные результаты, авторы не предложили готового классификатора для дифференциальной диагностики ТКЛК и доброкачественных поражений кожи [26]. В работе N.A. Nagad и соавт. [29] подтверждены повышенная экспрессия miR-16 при микозных грибах опухолевой стадии в сравнении с ранним заболеванием и подавление miR-93 во всех случаях лимфомы независимо от их стадии.

Для дифференциации различных подтипов ТКЛК (ранняя стадия грибовидного микоза — стадии I и IIa; более поздние стадии грибовидного микоза — стадии IIb, III и IV; другие типы ТКЛК, включая анапластическую крупноклеточную лимфому кожи, периферическую Т-клеточную лимфому и естественную киллерную/Т-клеточную лимфому) и их отличия от доброкачественных дерматозов были выбраны 5 микроРНК: miR-155, miR-200b, miR-203, miR-142-3p, miR-130b [23]. Профилирование по данным мишеням демонстрировало хорошую корреляцию с разными формами ТКЛК.

Ещё один классификатор, основанный на miR-106b-5p, miR-148a-3p, miR-338-3p, успешно разделял пациентов с грибовидным микозом на группы высокого и низкого риска прогрессирования заболевания. Классификатор был сильнее существующих прогностических факторов, основанных на клинических признаках [30].

Во всех процитированных выше работах aberrантная экспрессия микроРНК при ТКЛК была обнаружена в клеточном материале — клетках кожи, клетках инфильтратов кожи, лимфоцитах периферической крови. Учитывая, что микроРНК выводятся из клеток в кровоток через внеклеточные везикулы, циркулирующие микроРНК, выделенные из плазмы, могут служить отражением заболевания, локализованного в тканях и органах организма. Авторы одной из работ с использованием классификатора, состоящего из 3 микроРНК (miR-155, miR-203, miR-205), с помощью количественной ПЦР в реальном времени добились дифференциации ТКЛК с доброкачественными воспалительными заболеваниями кожи с точностью >90%, что открывает возможность использовать циркулирующие микроРНК плазмы для клинического мониторинга ТКЛК [31].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

МикроРНК контролируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне и могут выполнять контроль как про-, так и противоопухолевой активности. Поскольку микроРНК обладают высокой стабильностью и могут быть идентифицированы как в тканях, так и в кровотоке, их профили экспрессии в биологических образцах могут отражать статус прогрессирования заболевания.

Установление сигнатур микроРНК, имеющих диагностическое и/или прогностическое значение при различных формах рака кожи, является актуальной задачей современной науки и находится в стадии активной разработки.

Таким образом, определение микроРНК 223, 16, 326, 711 в плазме крови может быть использовано для ранней диагностики Т-клеточной лимфомы кожи.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНО

**Источник финансирования.** Исследование и публикации статьи осуществлены на личные средства авторского коллектива.

**Конфликт интересов.** Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

**Вклад авторов.** О.Ю. Олисова — набор пациентов; В.В. Демкин — написание раздела «Обсуждение»; Н.Г. Чернова — набор пациентов, лабораторная часть исследования; Д.Р. Амшинская — сбор материала, написание статьи; А.А. Казаков — постановка проб на микроРНК. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

## ADDITIONAL INFORMATION

**Funding source.** The research was carried out at the expense of the organization's budgetary funds.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Author contribution.** O.Yu. Olsiva — recruitment of patients; V.V. Demkin — writing the section "Discussion"; N.G. Chernova — recruitment of patients, taking blood for analysis; D.R. Amshinskaya — collecting material, writing an article; A.A. Kazakov — setting samples for microRNA. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis of literature, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Riou-Gotta M.O., Fournier E., Mermet I., et al. Primary cutaneous lymphomas: a population-based descriptive study of 71 consecutive cases diagnosed between 1980 and 2003 // *Leuk Lymphoma*. 2008. Vol. 49, N 8. P. 1537–1544. doi: 10.1080/10428190802136368
2. Kohnken R., Mishra A. MicroRNAs in cutaneous T-cell lymphoma: the future of therapy // *J Investigative Dermatol*. 2019. Vol. 139, N 3. P. 528–534. doi: 10.1016/j.jid.2018.10.035
3. Jawed S.I., Myskowski P.L., Horwitz S., et al. Primary cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome): part I. Diagnosis: clinical and histopathologic features and new molecular and biologic markers // *J Am Acad Dermatol*. 2014. Vol. 70, N 2. P. 205–222. doi: 10.1016/j.jaad.2013.07.049
4. Hristov A.C., Tejasvi T., Wilcox R.A. Mycosis fungoides and Sézary syndrome: 2019 update on diagnosis, risk-stratification, and management // *Am J Hematol*. 2019. Vol. 94, N 9. P. 1027–1041. doi: 10.1002/ajh.25577
5. Ralfkiaer U., Lindahl L.M., Litman T., et al. MicroRNA expression in early mycosis fungoides is distinctly different from atopic dermatitis and advanced cutaneous T-cell lymphoma // *Anticancer Res*. 2014. Vol. 34, N 12. P. 7207–7217.
6. Shen X., Wang B., Li K., et al. MicroRNA signatures in diagnosis and prognosis of cutaneous T-cell lymphoma // *J Invest Dermatol*. 2018. Vol. 138, N 9. P. 2024–2032. doi: 10.1016/j.jid.2018.03.1500
7. Горенкова Л.Г., Рыжикова Н.В., Моисеева Т.Н., и др. Т-клеточные лимфомы кожи (грибовидный микоз) в практике гематолога // *Гематология и трансфузиология*. 2020. Т. 65, № 1. С. 133.
8. Da Silva Almeida A.C., Abate F., Khiabani H., et al. The mutational landscape of cutaneous T-cell lymphoma and Sézary syndrome // *Nat Genet*. 2015. Vol. 47, N 12. P. 1465–1470. doi: 10.1038/ng.3442
9. Spicknall K.E. Sézary syndrome-clinical and histopathologic features, differential diagnosis, and treatment // *Semin Cutan Med Surg*. 2018. Vol. 37, N 1. P. 18–23. doi: 10.12788/j.sder.2018.005
10. Dummer R., Heald P.W., Nestle F.O., et al. Sézary syndrome T-cell clones display T-helper 2 cytokines and express the accessory factor-1 (interferon-gamma receptor beta-chain) // *Blood*. 1996. Vol. 88, N 4. P. 1383–1389.
11. Rodriguez A., Griffiths-Jones S., Ashurst J.L., Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units // *Genome Res*. 2004. Vol. 14, N 10. P. 1902–1910. doi: 10.1101/gr.2722704
12. Kozomara A., Griffiths-Jones S. miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data // *Nucleic Acids Res*. 2011. Vol. 39. P. 152–157. doi: 10.1093/nar/gkq1027
13. Peterson S.M., Thompson J.A., Ufkin M.L., et al. Common features of microRNA target prediction tools // *Frontiers Genetics*. 2014. Vol. 5. P. 23. doi: 10.3389/fgene.2014.00023
14. Di Leva G., Garofalo M., Croce C.M. MicroRNAs in cancer // *Annu Rev Pathol*. 2014. Vol. 9. P. 287–314. doi: 10.1146/annurev-pathol-012513-104715
15. Sadakierska-Chudy A. MicroRNAs: diverse mechanisms of action and their potential applications as cancer epitherapeutics // *Biomolecules*. 2020. Vol. 10, N 9. P. 1285. doi: 10.3390/biom10091285
16. Ma L., Teruya-Feldstein J., Weinberg R.A. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer // *Nature*. 2007. Vol. 449, N 7163. P. 682–688. doi: 10.1038/nature06174
17. Androvic P., Valihrach L., Elling J., et al. Two-tailed RT-qPCR: a novel method for highly accurate miRNA quantification // *Nucleic Acids Res*. 2017. Vol. 45, N 15. P. 144. doi: 10.1093/nar/gkx588
18. Leti F., DiStefano J.K. miRNA quantification method using quantitative polymerase chain reaction in conjunction with cq method // *Methods Mol Biol*. 2018. Vol. 1706. P. 257–265. doi: 10.1007/978-1-4939-7471-9\_14
19. Pistol Tanase C., Albulescu R., Neagu M. Application of 3D hydrogel microarrays in molecular diagnostics: advantages and limitations // *Expert Rev Mol Diagn*. 2011. Vol. 11, N 5. P. 461–464. doi: 10.1586/erm.11.30
20. Kappel A., Backes C., Huang Y., et al. MicroRNA in vitro diagnostics using immunoassay analyzers // *Clin Chem*. 2015. Vol. 61, N 4. P. 600–607. doi: 10.1373/clinchem.2014.232165
21. Ballabio E., Mitchell T., van Kester M.S., et al. MicroRNA expression in Sezary syndrome: identification, function, and diagnostic potential // *Blood*. 2010. Vol. 116, N 7. P. 1105–1113. doi: 10.1182/blood-2009-12-256719
22. Ralfkiaer U., Hagedorn P.H., Bangsgaard N., et al. Diagnostic microRNA profiling in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) // *Blood*. 2011. Vol. 118, N 22. P. 5891–5900. doi: 10.1182/blood-2011-06-358382
23. Van Kester M.S., Ballabio E., Benner M.F., et al. miRNA expression profiling of mycosis fungoides // *Mol Oncol*. 2011. Vol. 5, N 9. P. 273–280. doi: 10.1016/j.molonc.2011.02.003
24. Narducci M.G., Arcelli D., Picchio M.C., et al. MicroRNA profiling reveals that miR-21, miR486 and miR-214 are upregulated and involved in cell survival in Sézary syndrome // *Cell Death Dis*. 2011. Vol. 2, N 4. P. 151. doi: 10.1038/cddis.2011.32
25. Benner A., Zucknick M., Hielscher T., et al. High-dimensional Cox models: the choice of penalty as part of the model building process // *Biom J*. 2010. Vol. 52, N 1. P. 50–69. doi: 10.1002/bimj.200900064
26. Flores-Sandoval E., Eklund D.M., Bowman J.L. A Simple auxin transcriptional response system regulates multiple morphogenetic processes in the liverwort *Marchantia polymorpha* // *PLoS Genetics*. 2015. Vol. 11, N 5. P. e1005207. doi: 10.1371/journal.pgen.1005207
27. Qin J., Li Y., Cai Z., et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes // *Nature*. 2012. Vol. 490, N 7418. P. 55–60. doi: 10.1038/nature11450
28. Marstrand T., Ahler C.B., Ralfkiaer U., et al. Validation of a diagnostic microRNA classifier in cutaneous T-cell lymphomas // *Leuk Lymphoma*. 2014. Vol. 55, N 4. P. 957–958. doi: 10.3109/10428194.2013.815352
29. Hagag N.A., Ali Y.B., Elsharawy A.A., Talaat R.M. Clinical impact of circled miR-1291 in plasma of patients with liver cirrhosis (LC) and hepatocellular carcinoma (HCC): implication on glypican-3 expression // *J Gastrointest Cancer*. 2020. Vol. 51, N 1. P. 234–241. doi: 10.1007/s12029-019-00234-9
30. Dusílková N., Bašová P., Polívka J., et al. Plasma miR-155, miR-203, and miR-205 are biomarkers for monitoring of primary cutaneous T-cell lymphomas // *Int J Mol Sci*. 2017. Vol. 18, N 10. P. 2136. doi: 10.3390/ijms18102136

31. Hassan H., Salami A., Ghssein G., et al. Seroprevalence of *Brucella abortus* in cattle in Southern Lebanon using different

diagnostic tests // *Veterinary World*. 2020. Vol. 13, N 10. P. 2234–2242. doi: 10.1080/20008686.2018.1555445

## REFERENCES

1. Riou-Gotta MO, Fournier E, Mermet I, et al. Primary cutaneous lymphomas: a population-based descriptive study of 71 consecutive cases diagnosed between 1980 and 2003. *Leuk Lymphoma*. 2008;49(8):1537–1544. doi: 10.1080/10428190802136368
2. Kohnken R, Mishra A. MicroRNAs in cutaneous t-cell lymphoma: the future of therapy. *J Investigative Dermatol*. 2019;139(3):528–534. doi: 10.1016/j.jid.2018.10.035
3. Jawed SI, Myskowski PL, Horwitz S, et al. Primary cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome): part I. Diagnosis: clinical and histopathologic features and new molecular and biologic markers. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(2):205–222. doi: 10.1016/j.jaad.2013.07.049
4. Hristov AC, Tejasvi T, Wilcox RA. Mycosis fungoides and Sézary syndrome: 2019 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2019;94(9):1027–1041. doi: 10.1002/ajh.25577
5. Ralfkiaer U, Lindahl LM, Litman T, et al. MicroRNA expression in early mycosis fungoides is distinctly different from atopic dermatitis and advanced cutaneous T-cell lymphoma. *Anticancer Res*. 2014;34(12):7207–7217.
6. Shen X, Wang B, Li K, et al. MicroRNA signatures in diagnosis and prognosis of cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol*. 2018;138(9):2024–2032. doi: 10.1016/j.jid.2018.03.1500
7. Gorenkova LG, Ryzhikova NV, Moiseeva TN, et al. T-cell lymphomas of the skin (fungal mycosis) in the practice of a hematologist. *Hematol Transfusiol*. 2020;65(1):133. (In Russ).
8. Da Silva Almeida AC, Abate F, Khiabani H, et al. The mutational landscape of cutaneous T-cell lymphoma and Sézary syndrome. *Nat Genet*. 2015;47(12):1465–1470. doi: 10.1038/ng.3442
9. Spicknall KE. Sézary syndrome—clinical and histopathologic features, differential diagnosis, and treatment. *Semin Cutan Med Surg*. 2018;37(1):18–23. doi: 10.12788/j.sder.2018.005
10. Dummer R, Heald PW, Nestle FO, et al. Sézary syndrome T-cell clones display T-helper 2 cytokines and express the accessory factor-1 (interferon-gamma receptor beta-chain). *Blood*. 1996;88(4):1383–1389.
11. Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Res*. 2004;14(10):1902–1910. doi: 10.1101/gr.2722704
12. Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. *Nucleic Acids Res*. 2011;39:152–157. doi: 10.1093/nar/gkq1027
13. Peterson SM, Thompson JA, Ufkin ML, et al. Common features of microRNA target prediction tools. *Frontiers Genetics*. 2014;5:23. doi: 10.3389/fgene.2014.00023
14. Di Leva G, Garofalo M, Croce CM. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol*. 2014;9:287–314. doi: 10.1146/annurev-pathol-012513-104715
15. Sadakierska-Chudy A. MicroRNAs: diverse mechanisms of action and their potential applications as cancer epi-therapeutics. *Biomolecules*. 2020;10(9):1285. doi: 10.3390/biom10091285
16. Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer. *Nature*. 2007;449(7163):682–688. doi: 10.1038/nature06174
17. Androvic P, Valihrach L, Elling J, et al. Two-tailed RT-qPCR: a novel method for highly accurate miRNA quantification. *Nucleic Acids Res*. 2017;45(15):144. doi: 10.1093/nar/gkx588
18. Leti F, DiStefano JK. miRNA quantification method using quantitative polymerase chain reaction in conjunction with Cq method. *Methods Mol Biol*. 2018;1706:257–265. doi: 10.1007/978-1-4939-7471-9\_14
19. Pistol Tanase C, Albulescu R, Neagu M. Application of 3D hydrogel microarrays in molecular diagnostics: advantages and limitations. *Expert Rev Mol Diagn*. 2011;11(5):461–464. doi: 10.1586/erm.11.30
20. Kappel A, Backes C, Huang Y, et al. MicroRNA in vitro diagnostics using immunoassay analyzers. *Clin Chem*. 2015;61(4):600–607. doi: 10.1373/clinchem.2014.232165
21. Ballabio E, Mitchell T, van Kester MS, et al. MicroRNA expression in Sezary syndrome: identification, function, and diagnostic potential. *Blood*. 2010;116(7):1105–1113. doi: 10.1182/blood-2009-12-256719
22. Ralfkiaer U, Hagedorn PH, Bangsgaard N, et al. Diagnostic microRNA profiling in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). *Blood*. 2011;118(22):5891–5900. doi: 10.1182/blood-2011-06-358382
23. Van Kester MS, Ballabio E, Benner MF, et al. miRNA expression profiling of mycosis fungoides. *Mol Oncol*. 2011;5(9):273–280. doi: 10.1016/j.molonc.2011.02.003
24. Narducci MG, Arcelli D, Picchio MC, et al. MicroRNA profiling reveals that miR-21, miR486 and miR-214 are upregulated and involved in cell survival in Sézary syndrome. *Cell Death Dis*. 2011;2(4):151. doi: 10.1038/cddis.2011.32
25. Benner A, Zucknick M, Hielscher T, et al. High-dimensional Cox models: the choice of penalty as part of the model building process. *Biom J*. 2010;52(1):50–69. doi: 10.1002/bimj.200900064
26. Flores-Sandoval E, Eklund DM, Bowman JL. A Simple auxin transcriptional response system regulates multiple morphogenetic processes in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *PLoS Genetics*. 2015;11(5):e1005207. doi: 10.1371/journal.pgen.1005207
27. Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012;490(7418):55–60. doi: 10.1038/nature11450
28. Marstrand T, Ahler CB, Ralfkiaer U, et al. Validation of a diagnostic microRNA classifier in cutaneous T-cell lymphomas. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(4):957–958. doi: 10.3109/10428194.2013.815352
29. Hagag NA, Ali YB, Elsharawy AA, Talaat RM. Clinical impact of circled miR-1291 in plasma of patients with liver cirrhosis (LC) and hepatocellular carcinoma (HCC): implication on glypican-3 expression. *J Gastrointest Cancer*. 2020;51(1):234–241. doi: 10.1007/s12029-019-00234-9
30. Dusílková N, Bašová P, Polívka J, et al. Plasma miR-155, miR-203, and miR-205 are biomarkers for monitoring of primary cutaneous T-cell lymphomas. *Int J Mol Sci*. 2017;18(10):2136. doi: 10.3390/ijms18102136
31. Hassan H, Salami A, Ghssein G, et al. Seroprevalence of *Brucella abortus* in cattle in Southern Lebanon using different diagnostic tests. *Veterinary World*. 2020;13(10):2234–2242. doi: 10.1080/20008686.2018.1555445

**ОБ АВТОРАХ**

\* **Амшинская Джессика Рафаэлевна**, аспирант;  
адрес: Россия, 119435, Москва, ул. Большая Пироговская,  
д. 4, стр. 1;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3907-2189>;  
eLibrary SPIN: 6770-5019;  
e-mail: dr.jessika@yandex.ru

**Олисова Ольга Юрьевна**, д.м.н., профессор;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2482-1754>;  
eLibrary SPIN: 2500-7989;  
e-mail: olisovaolga@mail.ru

**Демкин Владимир Витальевич**, к.м.н.;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3408-6100>;  
e-library SPIN: 5130-8270;  
e-mail: vdemkin@img.ras.ru

**Чернова Наталья Геннадьевна**, к.м.н.,  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0827-4052>;  
eLibrary SPIN: 2683-1517;  
e-mail: ngchernova@mail.ru

**Казakov Андрей Аркадьевич**;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5559-6003>;  
e-mail: andrey20079@mail.ru

\* Автор, ответственный за переписку

**AUTHORS' INFO**

\* **Jessika R. Amshinskaya**, Graduate Student;  
address: 4/1 Bolshaya Pirogovskaya street,  
119435, Moscow, Russia;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3907-2189>;  
eLibrary SPIN: 6770-5019;  
e-mail: dr.jessika@yandex.ru

**Olga Yu. Olsiva**, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2482-1754>;  
eLibrary SPIN: 2500-7989;  
e-mail: olisovaolga@mail.ru

**Vladimir V. Demkin**, MD, Cand. Sci. (Med.);  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3408-6100>;  
e-library SPIN: 5130-8270;  
e-mail: vdemkin@img.ras.ru

**Natalia G. Chernova**, MD, Cand. Sci. (Med.);  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0827-4052>;  
eLibrary SPIN: 2683-1517;  
e-mail: ngchernova@mail.ru

**Andrey A. Kazakov**;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5559-6003>;  
e-mail: andrey20079@mail.ru

\* The author responsible for the correspondence