

Профиль экспрессии микроРНК в диагностическом субстрате первичной кожной Т-клеточной неходжкинской лимфомы

Ю.А. Веряскина¹, И.Б. Ковынев², В.В. Пахомова³, С.Е. Титов^{1,4}, М.С. Войтко², К.С. Цигулёв², В.В. Онипченко³

¹ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

³ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический кожно-венерологический диспансер», Новосибирск, Россия

⁴АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Первичные Т-клеточные лимфомы кожи (ТКЛК) представляют собой гетерогенную группу экстранодальных неходжкинских лимфом, которые на момент постановки диагноза локально ограничиваются кожей. Диагностика ТКЛК часто затруднена, поскольку на определенных этапах развития этого гемобластоза имеются клинические сходства с такими неопухолевыми дерматологическими заболеваниями, как хронический экзематозный дерматит, псориаз, красный волосяной лишай или грибковые инфекции. В патогенезе ТКЛК участвуют как генетические, так и эпигенетические факторы, в частности, микроРНК (миРНК).

Ц е л ь . Выявление миРНК, позволяющих дифференцировать ТКЛК от доброкачественных образований (ДО) кожи, и определение их роли в генетических путях, участвующих в развитии ТКЛК.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Методом ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени проведен анализ уровней экспрессии миРНК-181a, -155, -574, -148b, -191, -26a, -21, -124, -221, -200b, -20a, -92a, -145, let-7a и let-7d в 5 фиксированных формалином и залитых парафином образцах биопсии кожи пациентов с диагнозом «ТКЛК», а также 20 образцах биопсии кожи пациентов с диагнозом «псориаз» (контрольная группа).

Р е з у л ь т а т ы . Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между образцами ТКЛК и ДО показал статистически значимое увеличение уровней миРНК-181a, -155, -574, -148b и -191 в опухолевых образцах ($p < 0.05$). В ходе ROC-анализа установлено, что миРНК-155 и миРНК-181a являются высокочувствительными и специфичными маркерами для диагностики ТКЛК.

З а к л ю ч е н и е . Анализ уровней экспрессии миРНК может быть перспективным инструментом для дифференциальной диагностики дерматотропных лимфоидных гемобластозов и негемопоэтических болезней кожи.

Ключевые слова: микроРНК, первичные кожные Т-клеточные лимфомы, неходжкинские лимфомы.

Образец цитирования: Веряскина Ю.А., Ковынев И.Б., Пахомова В.В., Титов С.Е., Войтко М.С., Цигулёв К.С., Онипченко В.В. Профиль экспрессии микроРНК в диагностическом субстрате первичной кожной Т-клеточной неходжкинской лимфомы // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):116-129. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-116-129

Поступила в редакцию 06.11.2024
Прошла рецензирование 27.11.2024
Принята к публикации 05.12.2024

Автор, ответственный за переписку
Веряскина Юлия Андреевна: ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН». 630090, г. Новосибирск, просп. акад. Лаврентьева, 8/2.
E-mail: microrna@inbox.ru

Received 06.11.2024
Revised 27.11.2024
Accepted 05.12.2024

Corresponding author
Yulia A. Veryaskina: Institute of Molecular and Cellular Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 8/2, Acad. Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia.
E-mail: microrna@inbox.ru

MicroRNA expression profile in the diagnostic substrate of primary cutaneous T cell non-Hodgkin's lymphoma

Yu.A. Veryaskina¹, I.B. Kovynev², V.V. Pakhomova³, S.E. Titov^{1, 4}, M.S. Voitko², K.S. Tsigulev², V.V. Onipchenko³

¹Institute of Molecular and Cellular Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

³Novosibirsk Regional Clinical Skin and Venereal Diseases Dispensary, Novosibirsk, Russia

⁴Vector-Best, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Primary cutaneous T cell lymphomas (CTCL) are a heterogeneous group of extranodal non-Hodgkin's lymphomas that are locally limited to the skin at diagnosis. The diagnosis of CTCL is often difficult, since at certain stages of development, this hematological malignancy has clinical similarities with non-neoplastic dermatological diseases such as chronic eczematous dermatitis, psoriasis, lichen ruber, or fungal infections. Both genetic and epigenetic factors, in particular microRNAs (miRNAs), are involved in the pathogenesis of CTCL.

A i m . To identify the miRNAs that differentiate CTCL from benign skin lesions (BSL) and determine their role in genetic pathways involved in the development of CTCL.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . Real-time reverse transcription PCR was used to analyze the expression levels of miRNA-181a, -155, -574, -148b, -191, -26a, -21, -124, -221, -200b, -20a, -92a, -145, let-7a, and let-7d in 5 formalin-fixed paraffin-embedded skin biopsy samples from patients with CTCL and 20 skin biopsy samples from patients with psoriasis (control group).

R e s u l t s . Comparative analysis of miRNA expression levels between CTCL and BSL samples showed a statistically significant increase in the levels of miRNA-181a, -155, -574, -148b and -191 in tumor samples ($p < 0.05$). ROC analysis showed that miRNA-155 and miRNA-181a are highly sensitive and specific markers for the diagnosis of CTCL.

C o n c l u s i o n . Analysis of miRNA expression levels may be a promising tool for the differential diagnosis between dermatotropic lymphoid hematological malignancies and non-hematological skin diseases.

Keywords: microRNA, primary cutaneous T cell lymphomas, non-Hodgkin's lymphomas.

Citation example: Veryaskina Yu.A., Kovynev I.B., Pakhomova V.V., Titov S.E., Voitko M.S., Tsigulev K.S., Onipchenko V.V. MicroRNA expression profile in the diagnostic substrate of primary cutaneous T cell non-Hodgkin's lymphoma. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):116-129. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-116-129

ВВЕДЕНИЕ

Первичные кожные лимфомы представляют собой гетерогенную группу экстра nodальных неходжкинских лимфом, которые на момент постановки диагноза локально ограничиваются кожей [1]. В отличие от nodальных неходжкинских лимфом, большинство из которых происходят из В-клеток, примерно 75 % первичных кожных лимфом имеют Т-клеточное происхождение [2]. Диагностика Т-клеточной лимфомы кожи (ТКЛК) основана на сочетании клинической картины заболевания, гистологического исследования биоптата кожного лоскута и дополнительных лабораторных тестов, таких как проточная цитометрия периферической крови и анализ клональности рецепторов Т-клеток [3]. Ранняя

INTRODUCTION

Primary cutaneous lymphomas are a heterogeneous group of extranodal non-Hodgkin's lymphomas that are locally limited to the skin at diagnosis [1]. In contrast to nodal non-Hodgkin's lymphomas, most of which are B-cell derived, approximately 75% of primary cutaneous lymphomas are of T-cell origin [2]. The diagnosis of cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) is based on a combination of clinical presentation, histological examination of skin biopsy specimens, and additional laboratory tests such as flow cytometry of peripheral blood and the analysis of T-cell receptor clonality [3]. Early diagnosis and accurate classification are important for selecting treatment modalities, as lymphomas can vary significantly in grade, prognosis, and

диагностика и точная классификация имеют важное значение для выбора вариантов лечения, поскольку лимфомы могут существенно различаться по степени злокачественности, прогнозу и ответу на лечение [4]. Диагностика ТКЛК часто затруднена, поскольку на определенных этапах развития этого гемобластоza имеются клинические сходства с такими неопухолевыми заболеваниями кожи, как хронический экзематозный дерматит, псориаз, красный волосяной лишай, лекарственные дермопатии или грибковые инфекции [5]. Кроме того, отмечаются случаи одновременного наличия у пациента как ТКЛК, так и псориаза [6]. Ретроспективные исследования показали, что для постановки окончательного диагноза может потребоваться до 4 лет и несколько биопсий кожи [2]. На ранних стадиях заболевания клетки ТКЛК присутствуют только в небольшом количестве, и актуальной задачей является поиск молекулярно-генетических маркеров, способных повысить точность раннего распознавания данной опухоли. Исследования в этой области способствуют пониманию молекулярного ландшафта, лежащего в основе ТКЛК, и выявлению новых диагностических биомаркеров [7, 8]. Y. Zhang et al. показали, что анализ *TOX* и *PDCD1* способен дифференцировать ранний грибковидный микоз, являющийся наиболее частой клинической формой ТКЛК, от доброкачественного дерматита [9]. М. Nebozhyn et al. отмечают, что анализ 5 генов – *STAT4*, *GATA-3*, *PLS3*, *CD1D* и *TRAIL* позволяет с высокой точностью идентифицировать пациентов с ТКЛК при анализе мононуклеарных клеток периферической крови [10]. В другой работе предлагается использование анализа экспрессии гена *TMEM244* как потенциального диагностического маркера крови, отличающего подтипы ТКЛК и доброкачественную эритродермию [11]. I.V. Litvinov et al. в своем исследовании подтвердили, что гены *TOX*, *FYB*, *LEF1*, *CCR4*, *ITK*, *EED*, *POU2AF*, *IL26*, *STAT5*, *BLK*, *GTSF1* и *PSORS1C2* дифференциально экспрессируются между различными ТКЛК и доброкачественными образованиями кожи [5].

В патогенезе ТКЛК участвуют как генетические, так и эпигенетические факторы [12]. Модификация гистонов, метилирование ДНК и aberrantная экспрессия микроРНК (миРНК) являются эпигенетическими событиями, участвующими в развитии и прогрессировании ТКЛК [13]. U. Ralfkiaer et al. выявили 38 миРНК, которые дифференциально экспрессируются между грибковидным микозом на ранней стадии и атопиче-

response to treatment [4]. Diagnosis of CTCL is often difficult because at certain stages of development, this hematological malignancy has clinical similarities with such non-neoplastic skin diseases as chronic eczematous dermatitis, psoriasis, lichen ruber, drug-induced dermopathies or fungal infections [5]. In addition, Scott et al. reported the cases of coexistence of psoriasis and cutaneous T cell lymphoma [6]. Retrospective studies have shown that it may take up to 4 years and several skin biopsies to make a final diagnosis [2]. In the early stages of the disease, CTCL cells are small in numbers, and the search for molecular genetic markers that can improve the accuracy of early diagnosis of this tumor is an urgent task. Research in this field contributes to the understanding the molecular landscape underlying CTCL and the identification of new diagnostic biomarkers [7, 8]. Zhang et al. showed that the *TOX* and *PDCD1* analysis is capable of differentiating early mycosis fungoides, which is the most common clinical form of CTCL, from benign dermatitis [9]. Nebozhyn et al. note that quantitative PCR of 5 genes – *STAT4*, *GATA-3*, *PLS3*, *CD1D* and *TRAIL* allows for reliably identification of patients with CTCL analyzing peripheral blood mononuclear cells [10]. Another study proposes the use of the analysis of the *TMEM244* gene expression as a potential diagnostic blood marker that distinguishes CTCL subtypes from benign erythroderma [11]. Litvinov et al. confirmed that the genes *TOX*, *FYB*, *LEF1*, *CCR4*, *ITK*, *EED*, *POU2AF*, *IL26*, *STAT5*, *BLK*, *GTSF1* and *PSORS1C2* being differentially expresses between different CTCL and benign skin lesions [5].

Both genetic and epigenetic factors are involved in the pathogenesis of CTCL [12]. Histone modification, DNA methylation, and aberrant expression of microRNAs (miRNAs) are epigenetic events involved in the development and progression of CTCL [13]. Ralfkiaer et al. identified 38 miRNAs that are differentially expressed between early-stage mycosis fungoides and atopic dermatitis, and also described the dynamics of changes in miRNA expression levels during CTCL progression [14]. Another authors reported that a useful tool based on the analysis of the expression of miRNA-155, miRNA-203 and miRNA-205 was developed which allows for the identification of CTCL markers in blood plasma with high sensitivity and specificity [15].

Although a number of papers have been published to date aimed at studying the role of miRNAs in the development and progression of CTCL, there are still insufficient diagnostic markers for routine diagnosis.

ским дерматитом, а также отметили динамику изменения уровней экспрессии миРНК при прогрессировании ТКЛК [14]. В другом исследовании отмечается, что разработан классификатор на основе анализа экспрессии миРНК-155 и отношения миРНК-203/миРНК-205, позволяющий с высокой чувствительностью и специфичностью идентифицировать маркеры ТКЛК в плазме крови [15].

Хотя на сегодняшний день опубликован ряд работ, направленных на изучение роли миРНК в развитии и прогрессировании ТКЛК, диагностических маркеров для рутинной диагностики все еще недостаточно.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление миРНК, позволяющих дифференцировать ТКЛК от доброкачественных образований кожи, и определение их роли в генетических путях, участвующих в лимфоогенезе ТКЛК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинические образцы. В исследование включены 5 фиксированных формалином и заливных парафином (FFPE) образцов биоптатов кожного лоскута пациентов с подтвержденным диагнозом «ТКЛК», а также 20 образцов биопсии кожи пациентов с установленным диагнозом «псориаз», которые сформировали контрольную группу доброкачественных образцов (ДО). Материал был получен с соблюдением требований российского законодательства, от каждого пациента получено письменное информированное согласие, все данные были обезличены. Настоящее исследование одобрено этическим комитетом Новосибирского государственного медицинского университета (протокол № 158 от 21.03.2024).

Выделение общей РНК из FFPE. В пробирку, содержащую три парафиновых среза биоптата ткани в объеме 15 мкм для последующей депарафинизации, добавляли 1 мл минерального масла. Затем пробирку встряхивали в течение 10 с и инкубировали в термошейкере при 65 °С и 1300 об./мин в течение 2 мин. Затем образцы центрифугировали при 13 000–15 000 г в течение 4 мин. Надосадочную жидкость удаляли, не разрушая осадок. К осадку добавляли 1 мл 96% этанола, затем встряхивали в течение 10 с и центрифугировали при 13 000–15 000 г в течение 4 мин. Надосадочную жидкость удаляли, не разрушая осадок, затем добавляли 1 мл 70% этанола и центрифугировали при 13 000–15 000 г в течение 2 мин. Полученный осадок далее использовали для выделения нуклеиновых кислот.

AIM OF THE RESEARCH

To identify miRNAs that differentiate CTCL from benign skin lesions and to determine their role in genetic pathways involved in CTCL lymphomagenesis.

MATERIALS AND METHODS

Clinical samples. A study included 5 formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) skin flap biopsy samples from patients with a confirmed diagnosis of CTCL, as well as 20 skin biopsy samples from patients with a verified diagnosis of psoriasis, which formed the control group of benign samples (BS). The material was obtained in compliance with the requirements of Russian legislation, each patient provided written informed consent, and all data were depersonalized. This study was approved by the Ethics Committee of the Novosibirsk State Medical University (Protocol No. 158 dated 21.03.2024).

Isolation of total RNA from FFPE. One milliliter of mineral oil was added to a tube containing three 15-µm paraffin-embedded tissue biopsy sections for subsequent deparaffinization. The tube was then shaken for 10 s and incubated in a thermoshaker at 65°C and 1300 rpm for 2 min. The samples were then centrifuged at 13 000–15 000 g for 4 min. A supernatant was removed without disrupting the precipitate. One milliliter of 96% ethanol was added to the precipitate, shaken for 10 s, and centrifuged at 13 000–15 000 g for 4 min. The supernatant was removed without disrupting the precipitate, then 1 ml of 70% ethanol was added and centrifuged at 13 000–15 000 g for 2 min. The obtained precipitate was then used to isolate nucleic acids.

Each sample was added 600 µl of lysis buffer. The samples were incubated in the thermoshaker for 15 min at 65°C. An equal volume of isopropanol and 10 µl of magnetic sorbent were then added. A solution was thoroughly mixed and kept at room temperature for 5 min. After centrifugation for 10 min at 14 000 g, the supernatant was removed and the precipitate was washed with 500 µl of 70% ethanol and 300 µl of acetone. The obtained RNA was dissolved in 290 µl of deionized water.

Selection of miRNAs. The studied miRNAs were chosen based on the literature data. A panel of 15 miRNAs was formed: miRNA-181a, -155, -574, -148b, -191, -26a, -21, -124, -221, -200b, -20a, -92a, -145, let-7a and let-7d. For normalization, miRNA-103a was used, which was selected based on [16]. All oligonucleotides were synthesized at Vector-Best (Novosibirsk, Russia). Oligonucleotides were selected using the PrimerQuest tool (<https://eu.idtdna.com/> (accessed June 1, 2020)). The

К каждому образцу добавляли 600 мкл лизирующего буфера. Образцы были инкубированы в термошейкере в течение 15 мин при 65 °С. Затем был добавлен равный объем изопропанола и 10 мкл магнитного сорбента. Раствор был тщательно перемешан и выдержан при комнатной температуре в течение 5 минут. После центрифугирования в течение 10 мин при 14 000 g супернатант был удален, а осадок был промыт 500 мкл 70% этанола и 300 мкл ацетона. Полученную РНК растворили в 290 мкл деионизированной воды.

Выбор миРНК. Спектр исследуемых миРНК был составлен на основе литературных данных. Была сформирована панель из 15 миРНК: миРНК-181a, -155, -574, -148b, -191, -26a, -21, -124, -221, -200b, -20a, -92a, -145, let-7a и let-7d. Для нормализации использовали миРНК-103a, которая была выбрана на основе литературных данных [16]. Все олигонуклеотиды были синтезированы в АО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия). Олигонуклеотиды были выбраны с помощью инструмента PrimerQuest (<https://eu.idtdna.com/> (дата обращения: 1 июня 2020 г.)). Значение E варьировалось в диапазоне 92.5–99.7 % в зависимости от используемой системы.

Обратная транскрипция. Для синтеза комплементарной ДНК (кДНК) обратную транскрипцию проводили в объеме 30 мкл. Реакционная смесь содержала 3 мкл образца РНК и буферный раствор для обратной транскрипции (ОТ) с праймером ОТ (АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия). Концентрация общей РНК находилась в диапазоне 120–180 нг/мкл; оптическая плотность 260/280 и 260/230 составляла ≥ 1.9 и ≥ 1.5 соответственно. Реакционную смесь инкубировали при 16 °С в течение 15 мин, затем при 42 °С в течение 15 мин, после чего проводили тепловую инактивацию при 95 °С в течение 2 мин.

ПЦР в реальном времени. Экспрессию миРНК оценивали методом ПЦР в реальном времени с использованием системы детекции CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, США). Общий объем каждой реакционной смеси составлял 30 мкл; реакционная смесь содержала 3 мкл кДНК, 1× ПЦР-буфер (АО «Вектор-Бест», Россия), 0.5 мкл каждого праймера и 0.25 мкл зонда с двойной меткой. Протокол ПЦР был следующим: инкубация при 50 °С в течение 2 мин, затем предварительная денатурация при 94 °С в течение 2 мин, затем 50 циклов денатурации (94 °С в течение 10 с), отжига и удлинения (60 °С в течение 20 с).

E value varied in the range of 92.5–99.7% depending on the system used.

Reverse transcription. For complementary DNA (cDNA) synthesis, reverse transcription was performed in a volume of 30 μ l. A reaction mixture contained 3 μ l of RNA sample and a buffer solution for reverse transcription (RT) with RT primer (Vector-Best, Novosibirsk, Russia). The concentration of total RNA was in the range of 120–180 ng/ μ l; the absorbance of 260/280 and 260/230 was ≥ 1.9 and ≥ 1.5 , respectively. The reaction mixture was incubated at 16°C for 15 min, then at 42°C for 15 min, finally, heat inactivation was performed at 95°C for 2 min.

Real-time PCR. The miRNA expression was detected by real-time PCR using a CFX96 detection system (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). The total volume of each reaction mixture was 30 μ l; the reaction mixture contained 3 μ l cDNA, 1× PCR buffer (Vector-Best, Russia), 0.5 μ l of each primer, and 0.25 μ l of a double dye probe. The PCR protocol was as follows: incubation at 50°C for 2 min, then pre-denaturation at 94°C for 2 min, then 50 cycles of denaturation (94°C for 10 s), annealing, and extension (60°C for 20 s).

Statistical analysis. The analysis was performed using the Mann-Whitney *U*-test and Statistica v13.1 software. Values of *p* less than 0.05 were considered statistically significant. Diagnostic values were assessed using ROC analysis and IBM SPSS software.

RESULTS

Comparative analysis of miRNA expression levels between CTCL and benign samples. The comparative analysis of miRNA expression levels between CTCL and BS showed a statistically significant increase in the levels of miRNA-181a, -155, -574, -148b and miRNA-191 in tumor samples ($p < 0.05$) (Table 1). Below, we will consider miRNAs for which the median expression levels between CTCL and BS differ by more than 2 times.

To investigate the possibility of using miRNA-181a and miRNA-155 as new potential biomarkers for the differential diagnosis between CTCL and BS, we performed ROC analysis for two selected cohorts. Fig. 1 shows the ROC curves for miRNA-155 and miRNA-181a, and Table 2 presents the AUC, sensitivity, and specificity values of the studied biomarkers. The results indicate that miRNA-155 and miRNA-181a are highly sensitive and specific markers for the diagnosis of primary CTCL.

Analysis of the miRNA-mRNA interaction network. Next, we performed bioinformatic analy-

Статистический анализ. Анализ был выполнен с использованием *U*-критерия Манна – Уитни на программной платформе Statistica v13.1. Значения *p* менее 0.05 считались статистически значимыми. Диагностические значения были оценены с помощью ROC-анализа на программной платформе IBM SPSS.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между образцами ТКЛК и ДО. Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между образцами ТКЛК и ДО показал статистически значимое увеличение уровней миРНК-181a, -155, -574, -148b и миРНК-191 в опухолевых образцах ($p < 0.05$) (табл. 1). Далее мы будем рассматривать миРНК, для которых медианные значения уровней экспрессии между ТКЛК и ДО различаются более чем в 2 раза.

Для исследования возможности использования миРНК-181a и миРНК-155 в качестве новых потенциальных биомаркеров для дифференциальной диагностики ТКЛК и ДО мы провели ROC-анализ в двух выбранных когортах. На рис. 1 показаны ROC-кривые для миРНК-155 и миРНК-181a, а в табл. 2 представлены значения AUC, чувствительности и специфичности тестируемых биомаркеров. Результаты показывают, что миРНК-155 и миРНК-181a являются высокочувствительными и специфичными маркерами для диагностики первичной ТКЛК.

sis for the target genes of miRNA-155 and miRNA-181a, which were statistically significantly associated with the diagnosis of CTCL. The data on miRNA target genes involved in such biological pathways as Pathways in cancer, Cell cycle, Apoptosis and T cell receptor signaling were obtained from the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) database. We identified a total of 85 experimentally confirmed targets using MirTarbase v9.0, of which 64 genes are involved in the regulation of cancer-associated pathways. It is significant that some of the target genes are controlled by both miRNAs. Thus, the genes *KRAS*, *CDKN1B*, *STAT3*, *PTEN*, *FOS*, *SMAD2*, *ETS1*, *CTNNB1* are regulated by both miRNA-155 and miRNA-181a. The obtained data are presented using the capabilities of the miRNet 2.0 resource (Fig. 2). MiRNet is a miRNA-centric network visual analytics platform (<https://www.mirnet.ca/miRNet/home.xhtml>).

DISCUSSION

The comparative analysis of miRNA expression levels between CTCL and benign samples showed a statistically significant increase in the levels of miRNA-181a, -155, -574, -148b and miRNA-191 in tumor samples ($p < 0.05$).

Blood cell division and maturation occur during an intensive and complex process known as hematopoiesis, which can be regulated by various mechanisms, including miRNAs [17]. Georgantas et al. showed that miRNA-17, -24, -146, -155, -128, and

Таблица 1. Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между образцами Т-клеточной лимфомы кожи и доброкачественными образцами

Table 1. The comparative analysis of miRNA expression levels between cutaneous T cell lymphoma and benign samples

миРНК / miRNA	Различие уровней экспрессии Difference in expression levels	<i>p</i>
миРНК-181a / miRNA-181a	2.68	0.001129
миРНК-155 / miRNA-155	2.51	0.006716
миРНК-574 / miRNA-574	1.58	0.008916
миРНК-148b / miRNA-148b	1.38	0.024250
миРНК-191 / miRNA-191	1.36	0.004933
миРНК-26a / miRNA-26a	1.35	0.363042
миРНК-21 / miRNA-21	1.01	0.800618
миРНК-124 / miRNA-124	-1.43	0.129632
миРНК-221 / miRNA-221	1.01	0.587358
миРНК-200b / miRNA-200b	-1.78	0.079586
миРНК-20a / miRNA-20a	-1.13	0.363042
миРНК-92a / miRNA-92a	-1.13	0.971262
миРНК-145 / miRNA-145	1.05	0.587358
let-7a	1.33	0.150435
let-7d	1.27	0.325181

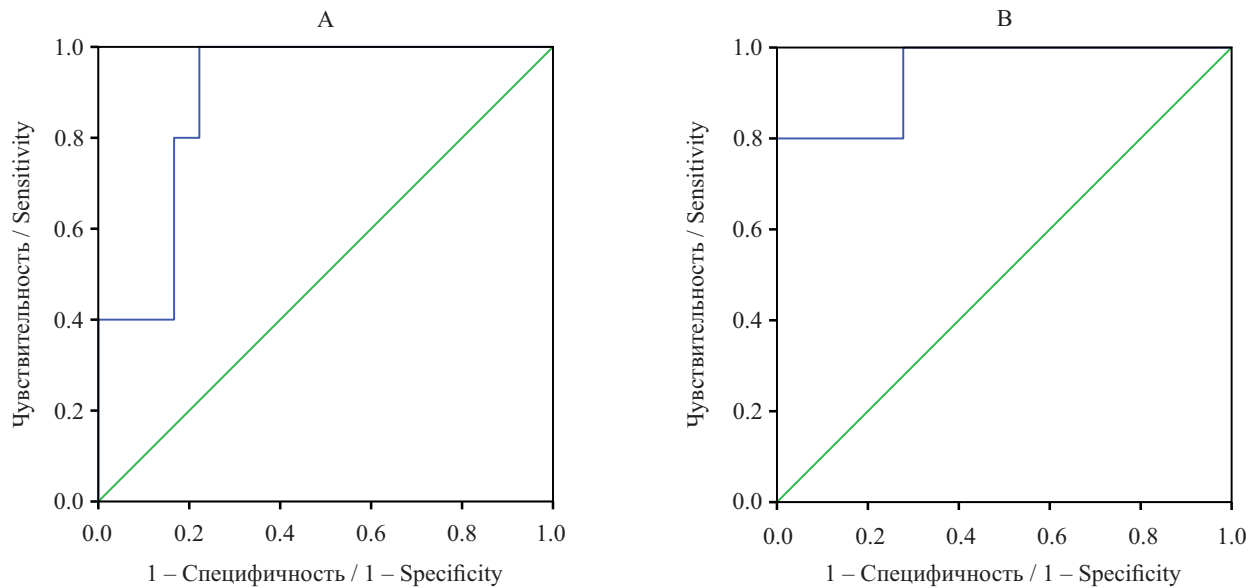


Рис. 1. ROC-кривые для миРНК-155 (А) и миРНК-181а (В) при дифференциальной диагностике между Т-клеточной лимфомой кожи и доброкачественными образцами
Fig. 1. ROC curves for miRNA-155 (A) and miRNA-181a (B) in the differential diagnosis between cutaneous T cell lymphoma and benign samples

Анализ сети взаимодействия миРНК – мРНК. Далее мы провели биоинформатический анализ целевых генов миРНК-155 и миРНК-181а, статистически значимо связанных с диагностикой ТКЛК. Из базы данных Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) получены данные о генах-мишенях миРНК, вовлеченных в такие биологические пути, как Pathways in cancer, Cell cycle, Apoptosis и T cell receptor signaling. Мы идентифицировали в общей сложности 85 экспериментально подтвержденных мишеней с помощью MirTarbase v9.0, из них 64 гена участвуют в регуляции путей, ассоциированных с раком. Стоит отметить, что часть генов-мишеней находится под контролем обеих миРНК. Так, гены *KRAS*, *CDKN1B*, *STAT3*, *PTEN*, *FOS*, *SMAD2*, *ETS1*, *CTNNB1* регулируются как миРНК-155, так и миРНК-181а. Полученные данные представлены с использованием возможностей ресурса miRNet 2.0 (рис. 2). MiRNet представляет собой платформу визуальной аналитики сети миРНК (<https://www.mirnet.ca/miRNet/home.xhtml>).

-181a orchestrate the differentiation of hematopoietic stem cells, noting the special role of miRNA-155 in the regulation of myelopoiesis and erythropoiesis [18]. Another authors reported that miR-181a regulates erythroid cell enucleation via the regulation of Xpo7 expression [19]. MiRNAs are regulators of normal hematopoiesis; therefore, their aberrant expression can contribute to the development of hematological malignancies [17].

In addition to the fact that miRNAs regulate erythropoiesis, megakaryopoiesis, and granulopoiesis, they are also important participants in the differentiation pathway of B and T lymphocytes [20]. Rodriguez et al. found that miRNA-155 plays a key role in lymphopoiesis and function of the immune system [21]. Seddiki et al. showed that miRNA-155 has a high level of expression in both B and T cells and is involved in the formation of the transcriptome of lymphoid cells and, in particular, in the differentiation of T cells [22]. Tan et al. found that miRNA-155, -181b, -15a, -16, -15b, -34a, -9, -30, let-7a, -125b, -217 and miRNA-185 modulate the

Таблица 2. Значения AUC, чувствительности и специфичности для миРНК-155 и миРНК-181а при дифференциальной диагностике между Т-клеточной лимфомой кожи и доброкачественными образцами
Table 2. AUC, sensitivity, and specificity values for miRNA-155 and miRNA-181a in the differential diagnosis between cutaneous T cell lymphoma and benign samples

миРНК / miRNA	AUC	Чувствительность / Sensitivity, %	Специфичность / Specificity, %
миРНК-155/miRNA-155	0.889	80	83
миРНК-181a/miRNA-181a	0.95	80	84

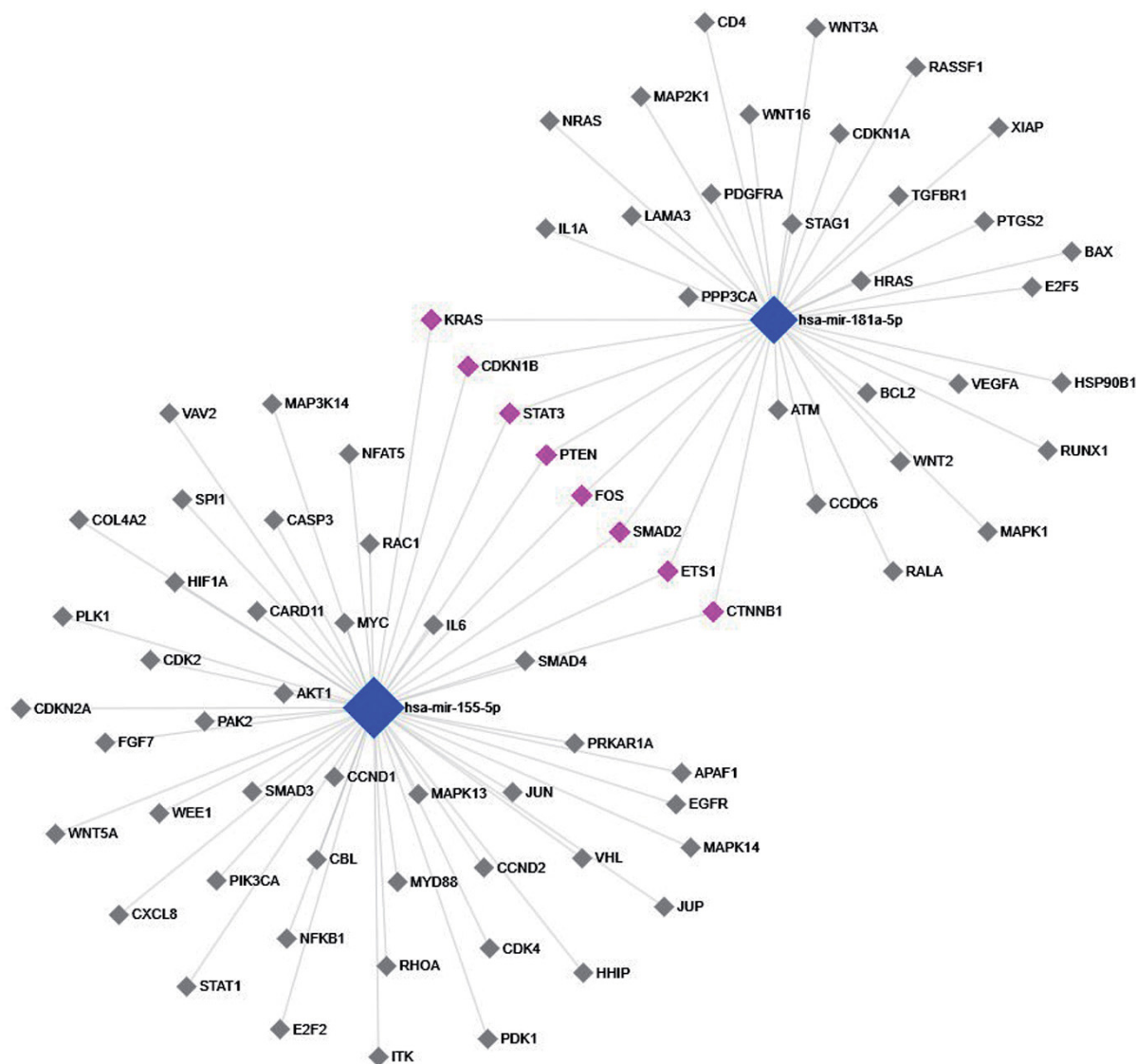


Рис. 2. Анализ генов-мишеней миРНК-155 и миРНК-181а с использованием miRnet 2.0.
Синие ромбы – миРНК, серые и фиолетовые ромбы – их гены-мишени
Fig. 2. The analysis of miRNA-155 and miRNA-181a target genes using miRnet 2.0.
Blue diamonds are miRNAs, gray and purple diamonds are their target genes

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между образцами ТКЛК и ДО показал статистически значимое увеличение уровней миРНК-181а, -155, -574, -148b и миРНК-191 в опухолевых образцах ($p < 0.05$).

Деление и созревание клеток крови происходят в ходе интенсивного и сложного процесса, известного как гемопоэз, который может регулироваться различными механизмами, включая миРНК [17]. R.W. Georgantas et al. показали, что миРНК-17, -24, -146, -155, -128 и -181а контролируют дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток, отметив особую роль миРНК-155 в

expression of genes involved in B-cell maturation [23]. Grigoryev et al. identified 71 miRNAs differentially expressed during the immune response, in particular, 12 miRNAs with increased expression: miRNA-221, -210, -98, -29b, -155, -218, -455, -449, -548d, -222, -132, and -18a and miRNAs with decreased expression: miRNA-181a, -223, -224, -150, -146b, -126, -127, -376a, -100, -99a, -125b, and -26a in activated T lymphocytes [24]. Dynamic changes in miRNA production may be an important regulator of gene expression during T cell differentiation [25]. Li et al. described significant dynamics of miRNA-181a expression during T cell maturation [26]. The level of miRNA-155 expression is regu-

регуляции миелопоэза и эритропоэза [18]. В другом исследовании отмечено, что miR-181a регулирует энуклеацию эритроидных клеток посредством регуляции экспрессии Хро7 [19]. МиРНК являются регуляторами нормального кроветворения, следовательно, их aberrантная экспрессия может способствовать развитию гематологических опухолей [17].

Помимо того что миРНК регулируют эритропоэз, мегакариопоэз и гранулопоэз, они также являются важными участниками пути дифференцировки В- и Т-лимфоцитов [20]. А. Rodriguez et al. установили, что миРНК-155 играет ключевую роль в лимфопоэзе и функционировании иммунной системы [21]. N. Seddiki et al. показали, что миРНК-155 имеет высокий уровень экспрессии как в В-, так и Т-клетках и участвует в формировании транскриптома лимфоидных клеток и, в частности, в дифференцировке Т-клеток [22]. L.P. Tan et al. установили, что миРНК-155, -181b, -15a, -16, -15b, -34a, -9, -30, let-7a, -125b, -217 и миРНК-185 модулируют экспрессию генов, участвующих в созревании В-клеток [23]. V.A. Grigoryev et al. выявили 71 миРНК, дифференциально экспрессирующуюся при иммунном ответе, в частности, 12 миРНК с повышенной экспрессией: миРНК-221, -210, -98, -29b, -155, -218, -455, -449, -548d, -222, -132 и -18a и миРНК с пониженной экспрессией: миРНК-181a, -223, -224, -150, -146b, -126, -127, -376a, -100, -99a, -125b и -26a в активированных Т-лимфоцитах [24]. Динамические изменения в продукции миРНК могут быть важным регулятором экспрессии генов во время дифференцировки Т-клеток [25]. Q.J. Li et al. описали существенную динамику экспрессии миРНК-181a во время созревания Т-клеток [26]. Уровень миРНК-155 регулируется на различных стадиях дифференцировки Т-клеток [27]. В другом исследовании отмечается, что миРНК-181a участвует в развитии и активации Т-клеток и противовирусных Т-клеточных реакциях, а снижение экспрессии миРНК-181a в Т-лимфоцитах может способствовать возникновению возрастных дефектов адаптивного иммунитета [28]. МиРНК являются ключевыми регуляторами широкого спектра фундаментальных клеточных процессов [29]. При этом нарушение активации генов, участвующих в пролиферации клеток, дифференцировке или апоптозе, связано с возникновением и прогрессированием целого ряда опухолей. Таким образом, миРНК могут выполнять роль онкогенов или супрессоров опухолей, в зависимости от функции генов-мишеней, которые они регулируют [30].

lated at different stages of T cell differentiation [27]. Another authors showed that miRNA-181a is involved in the development and activation of T cells and antiviral T cell responses, and a decrease in miRNA-181a expression in T-lymphocytes can contribute to age-related defects in adaptive immunity [28]. MiRNAs are key regulators of a wide range of essential cellular processes [29]. Moreover, deactivation of genes involved in cell proliferation, differentiation, or apoptosis is associated with the occurrence and progression of a number of tumors. Thus, miRNAs can act as oncogenes or tumor suppressors, depending on the regulated function of the target genes [30].

We performed bioinformatic analysis and found that miRNA-155 and miRNA-181a regulate 64 target genes related with cancer-associated biological pathways, with 8 genes – *KRAS*, *CDKN1B*, *STAT3*, *PTEN*, *FOS*, *SMAD2*, *ETS1*, *CTNNB1* are regulated by both miRNAs. *PTEN* is one of the most frequently inactivated tumor suppressor genes, and changes in *PTEN* levels are observed in a wide range of human cancers, including hematological malignancies [31]. A decrease in *PTEN* levels was detected in T cell acute lymphoblastic leukemia, diffuse large B cell lymphoma, and mantle cell lymphoma [32]. The *ETS1* proto-oncogene is a transcription factor that is essential to the lymphoid cell development and functioning. Its role as both an oncogene and a suppressor is noted depending on the type of lymphoma, as well as the importance of a cellular landscape in the function of *ETS1* [33]. To date, the role of *STAT3* as a mediator of development, normal physiology, and pathology of many diseases, including cancer, has been well studied [34]. *STAT3* is an oncogenic driver in several types of B cell lymphoma and most T cell lymphomas [35]. Sommer et al. showed that *STAT3* is an oncogene and protects CTCL tumor cells from apoptosis [36]. In addition, *STAT3* can operate as an oncogene in CTCL by inhibiting the expression of miRNA-22, which is a tumor suppressor [37]. The development and progression of CTCL is based on a complex cascade of signaling pathways involving both miRNAs and their target genes, and changes in these signaling networks promote malignant proliferation and survival and migration of T cells, inflammation and suppression of immune regulation of malignant T cell clones, forming a special microenvironment in the affected skin areas, that stimulates disease progression [38, 39]. Further studies of miRNA-mRNA interactions will expand our knowledge of the pathogenesis of CTCL.

Мы провели биоинформатический анализ и выявили, что под контролем миРНК-155 и миРНК-181а находятся 64 гена-мишени, которые связаны с биологическими путями, ассоциированными с раком, при этом 8 генов – *KRAS*, *CDKN1B*, *STAT3*, *PTEN*, *FOS*, *SMAD2*, *ETS1*, *CTNNB1* находятся под контролем обеих миРНК. *PTEN* является одним из наиболее часто инактивируемых генов-супрессоров опухолей, и изменение уровней *PTEN* наблюдается в широком спектре видов рака у человека, включая гематологические патологии [31]. Снижение уровня *PTEN* отмечено при Т-клеточном остром лимфобластном лейкозе, диффузной В-крупноклеточной лимфоме, мантийноклеточной лимфоме [32]. Протоонкоген *ETS1* является фактором транскрипции, необходимым для развития и функционирования лимфоидных клеток. Отмечается его роль как онкогена, так и супрессора в зависимости от типа лимфом, указывается на важность клеточного контекста в функции *ETS1* [33]. На сегодняшний день хорошо изучена роль *STAT3* в качестве медиатора развития, нормальной физиологии и патологии многих заболеваний, включая рак [34]. *STAT3* является онкогенным драйвером в нескольких типах В-клеточной лимфомы и большинстве Т-клеточных лимфом [35]. V.H. Sommer et al. показали, что *STAT3* является онкогеном и защищает опухолевые клетки ТКЛК от апоптоза [36]. Кроме того, *STAT3* может выполнять свою роль онкогена при ТКЛК за счет подавления экспрессии миРНК-22, являющейся супрессором опухолей [37]. В основе развития и прогрессирования ТКЛК лежит сложный каскад сигнальных путей, включающих как миРНК, так и их гены-мишени, и изменения в этих сигнальных сетях способствуют злокачественной пролиферации и выживанию и миграции Т-клеток, воспалению и подавлению иммунной регуляции злокачественных клонов Т-клеток, создавая в зоне кожных поражений особую микросреду, которая стимулирует прогрессирование заболевания [38, 39]. Дальнейшие исследования взаимодействий миРНК – мРНК позволят расширить знания в области патогенеза ТКЛК.

На основе ROC-анализа мы показали, что миРНК-155 и миРНК-181а являются высокочувствительными и специфичными маркерами для диагностики ТКЛК.

На сегодняшний день не вызывает сомнения, что миРНК являются перспективными биомаркерами для раннего выявления и оценки прогноза В-клеточных неходжкинских злокачественных лимфом (В-НХЗЛ) [40]. Основной мас-

Based on ROC analysis, we showed that miRNA-155 and miRNA-181a are highly sensitive and specific markers for the diagnosis of CTCL.

There is currently no doubt, that miRNAs are promising biomarkers for the early diagnosis and assessing the B cell non-Hodgkin's lymphomas (B-NHL) prognosis [40]. The main data set obtained is based on the study of B-NHL, and papers focusing on the role of miRNAs as biomarkers of CTCL are significantly smaller.

Talaat et al. demonstrated that miRNA-93 is an additional diagnostic tool that will allow for early diagnosis of mycosis fungoides [41]. Sørensen et al. described differential expression of miRNA-155, -142, and miRNA-146b when comparing mycosis fungoides with psoriasis-related skin lesions [42]. Ralfkiaer et al. developed a score based on the analysis of miRNA-155, -203, and miRNA-205 expression levels with high specificity and sensitivity for differential diagnosis between CTCL and non-neoplastic skin diseases [16]. Shen et al. propose using a combination of miRNA-155, -200b, -203, -142 and miRNA-130b to verify CTCL and benign inflammatory dermatosis [43].

Drawing a parallel between the data published already and the miRNA spectrum in our study, we can conclude that we also observe a statistically significant increase in the expression of miRNA-155 ($p < 0.05$). At the same time, we did not find significant changes in the expression of miRNA-200b in the tumor substrate of T cell non-Hodgkin's lymphomas with primary skin lesions.

CONCLUSION

Generally, despite the search for prognostic markers in CTCL is a present-day and relevant task of molecular biology, the data obtained have not yet been integrated into routine clinical practice. To validate the data obtained, multicenter studies are needed, including large analysis set. The study of a great number of molecular biomarkers involved in the pathogenesis of CTCL will allow the development of a more advanced diagnostic system and personalization of cytoreductive therapy.

Funding. The research was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 24-25-20059 and the Ministry of Science and Innovation Policy of the Novosibirsk region (Agreement No. p-76).

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

сив полученных данных основан на исследовании В-НХЗЛ, и значительно меньше научных работ, направленных на изучение роли миРНК как биомаркеров ТКЛК.

I.M. Talaat et al. доказали, что миРНК-93 представляет собой дополнительный диагностический инструмент, который позволит проводить раннюю диагностику грибкового микоза [41]. S.T. Sørensen et al. отметили дифференциальную экспрессию миРНК-155, -142 и миРНК-146b при сравнении грибкового микоза с поражениями кожи при псориазе [42]. U. Ralfkiaer et al. разработали классификатор, основанный на анализе уровней экспрессии миРНК-155, -203 и миРНК-205, с высокой специфичностью и чувствительностью для дифференциальной диагностики между ТКЛК и неопухолевыми заболеваниями кожи [16]. X. Shen et al. предлагают использовать комбинацию миРНК-155, -200b, -203, -142 и миРНК-130b для верификации ТКЛК и доброкачественного воспалительного дерматоза [43].

Проводя параллель с уже опубликованными данными и спектром миРНК, проанализированным в настоящем исследовании, можно сделать вывод, что мы также наблюдаем статистически значимое увеличение уровня экспрессии миРНК-155 ($p < 0.05$). Вместе с тем нами не отмечено зна-

чимых изменений экспрессии миРНК-200b в опухолевом субстрате Т-клеточных неходжкинских лимфом с первичным поражением кожи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом следует отметить, что, несмотря на то, что поиск прогностических маркеров при ТКЛК является современной и актуальной задачей молекулярной биологии, полученные данные до сих пор не интегрированы в рутинную клиническую практику. Для валидации полученных данных необходимы многоцентровые исследования, включающие большие выборки анализируемых образцов. Изучение большого количества молекулярных биомаркеров, участвующих в патогенезе ТКЛК, позволит создать более совершенную систему диагностики и персонализировать циторедуктивную терапию.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 24-25-20059 и Министерства науки и инновационной политики Новосибирской области по соглашению № р-76.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dobos G., Pohrt A., Ram-Wolff C. et al. Epidemiology of cutaneous T-cell lymphomas: a systematic review and meta-analysis of 16,953 patients // *Cancers (Basel)*. 2020;12(10):2921. DOI: 10.3390/cancers12102921.
2. Hristov A.C., Tejasvi T., Wilcox R.A. Cutaneous T-cell lymphomas: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management // *Am. J. Hematol.* 2023;98(1):193-209. DOI: 10.1002/ajh.26760.
3. Brunner P.M., Jonak C., Knobler R. Recent advances in understanding and managing cutaneous T-cell lymphomas // *F1000Res*. 2020;9(F1000 Faculty Rev):331. DOI: 10.12688/f1000research.21922.1.
4. Sokołowska-Wojdyło M., Olek-Hrab K., Ruckemann-Dziurdzińska K. Primary cutaneous lymphomas: diagnosis and treatment // *Postępy Dermatol. Alergol.* 2015;32(5):368-383. DOI: 10.5114/pdia.2015.54749.
5. Litvinov I.V., Tetzlaff M.T., Thibault P. et al. Gene expression analysis in Cutaneous T-Cell Lymphomas (CTCL) highlights disease heterogeneity and potential diagnostic and prognostic indicators // *Oncoimmunology*. 2017;6(5):e1306618. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1306618.
6. Scott J., Lai C., Coltart G. et al. Coexistence of psoriasis and cutaneous T-cell lymphoma // *Clin. Exp. Dermatol.* 2023;48(10):1155-1159. DOI: 10.1093/ced/llad213.
7. Choi J., Goh G., Walradt T. et al. Genomic landscape of cutaneous T cell lymphoma // *Nat. Genet.* 2015;47(9):1011-1019. DOI: 10.1038/ng.3356.

REFERENCES

1. Dobos G., Pohrt A., Ram-Wolff C. et al. Epidemiology of cutaneous T-cell lymphomas: a systematic review and meta-analysis of 16,953 patients. *Cancers (Basel)*. 2020;12(10):2921. DOI: 10.3390/cancers12102921.
2. Hristov A.C., Tejasvi T., Wilcox R.A. Cutaneous T-cell lymphomas: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am. J. Hematol.* 2023;98(1):193-209. DOI: 10.1002/ajh.26760.
3. Brunner P.M., Jonak C., Knobler R. Recent advances in understanding and managing cutaneous T-cell lymphomas. *F1000Res*. 2020;9(F1000 Faculty Rev):331. DOI: 10.12688/f1000research.21922.1.
4. Sokołowska-Wojdyło M., Olek-Hrab K., Ruckemann-Dziurdzińska K. Primary cutaneous lymphomas: diagnosis and treatment. *Postępy Dermatol. Alergol.* 2015;32(5):368-383. DOI: 10.5114/pdia.2015.54749.
5. Litvinov I.V., Tetzlaff M.T., Thibault P. et al. Gene expression analysis in Cutaneous T-Cell Lymphomas (CTCL) highlights disease heterogeneity and potential diagnostic and prognostic indicators. *Oncoimmunology*. 2017;6(5):e1306618. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1306618.
6. Scott J., Lai C., Coltart G. et al. Coexistence of psoriasis and cutaneous T-cell lymphoma. *Clin. Exp. Dermatol.* 2023;48(10):1155-1159. DOI: 10.1093/ced/llad213.
7. Choi J., Goh G., Walradt T. et al. Genomic landscape of cutaneous T cell lymphoma. *Nat. Genet.* 2015;47(9):1011-1019. DOI: 10.1038/ng.3356.

8. Park J., Daniels J., Wartewig T. et al. Integrated genomic analyses of cutaneous T-cell lymphomas reveal the molecular bases for disease heterogeneity // *Blood*. 2021;138(14):1225-1236. DOI: 10.1182/blood.2020009655.
9. Zhang Y., Wang Y., Yu R. et al. Molecular markers of early-stage mycosis fungoides // *J. Invest. Dermatol.* 2012;132(6):1698-1706. DOI: 10.1038/jid.2012.13.
10. Nebozhyn M., Loboda A., Kari L. et al. Quantitative PCR on 5 genes reliably identifies CTCL patients with 5% to 99% circulating tumor cells with 90% accuracy // *Blood*. 2006;107(8):3189-3196. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2813.
11. Rassek K., Iżykowska K., Żurawek M. et al. *TMEM244* gene expression as a potential blood diagnostic marker distinguishing Sézary syndrome from mycosis fungoides and benign erythroderma // *J. Invest. Dermatol.* 2023;143(2):344-347.e3. DOI: 10.1016/j.jid.2022.08.046.
12. Tensen C.P., Quint K.D., Vermeer M.H. Genetic and epigenetic insights into cutaneous T-cell lymphoma // *Blood*. 2022;139(1):15-33. DOI: 10.1182/blood.2019004256.
13. Zhang P., Zhang M. Epigenetics in the pathogenesis and treatment of cutaneous T-cell lymphoma // *Front. Oncol.* 2021;11:663961. DOI: 10.3389/fonc.2021.663961.
14. 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;34(12):7207-7217. Erratum in: *Anticancer Res.* 2015;35(2):1219.
15. 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.
16. Ralfkiaer U., Hagedorn P.H., 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.
17. Kotaki R., Koyama-Nasu R., Yamakawa N., Kotani A. miRNAs in normal and malignant hematopoiesis // *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(7):1495. DOI: 10.3390/ijms18071495.
18. Georgantas R.W. 3rd, Hildreth R., Morisot S. et al. CD34+ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007;104(8):2750-2755. DOI: 10.1073/pnas.0610983104.
19. Figueroa A.A., Fasano J.D., Martinez-Morilla S. et al. miR-181a regulates erythroid enucleation via the regulation of Xpo7 expression // *Haematologica*. 2018;103(8):e341-e344. DOI: 10.3324/haematol.2017.171785.
20. Lazare S.S., Wojtowicz E.E., Bystrykh L.V., de Haan G. microRNAs in hematopoiesis // *Exp. Cell Res.* 2014;329(2):234-238. DOI: 10.1016/j.yexcr.2014.08.033.
21. Rodriguez A., Vigorito E., Clare S. et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function // *Science*. 2007;316(5824):608-611. DOI: 10.1126/science.1139253.
22. Seddiki N., Brezar V., Ruffin N. et al. Role of miR-155 in the regulation of lymphocyte immune function and disease // *Immunology*. 2014;142(1):32-38. DOI: 10.1111/imm.12227.
8. Park J., Daniels J., Wartewig T. et al. Integrated genomic analyses of cutaneous T-cell lymphomas reveal the molecular bases for disease heterogeneity. *Blood*. 2021;138(14):1225-1236. DOI: 10.1182/blood.2020009655.
9. Zhang Y., Wang Y., Yu R. et al. Molecular markers of early-stage mycosis fungoides. *J. Invest. Dermatol.* 2012;132(6):1698-1706. DOI: 10.1038/jid.2012.13.
10. Nebozhyn M., Loboda A., Kari L. et al. Quantitative PCR on 5 genes reliably identifies CTCL patients with 5% to 99% circulating tumor cells with 90% accuracy. *Blood*. 2006;107(8):3189-3196. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2813.
11. Rassek K., Iżykowska K., Żurawek M. et al. *TMEM244* gene expression as a potential blood diagnostic marker distinguishing Sézary syndrome from mycosis fungoides and benign erythroderma. *J. Invest. Dermatol.* 2023;143(2):344-347.e3. DOI: 10.1016/j.jid.2022.08.046.
12. Tensen C.P., Quint K.D., Vermeer M.H. Genetic and epigenetic insights into cutaneous T-cell lymphoma. *Blood*. 2022;139(1):15-33. DOI: 10.1182/blood.2019004256.
13. Zhang P., Zhang M. Epigenetics in the pathogenesis and treatment of cutaneous T-cell lymphoma. *Front. Oncol.* 2021;11:663961. DOI: 10.3389/fonc.2021.663961.
14. 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;34(12):7207-7217. Erratum in: *Anticancer Res.* 2015;35(2):1219.
15. 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.
16. Ralfkiaer U., Hagedorn P.H., 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.
17. Kotaki R., Koyama-Nasu R., Yamakawa N., Kotani A. miRNAs in normal and malignant hematopoiesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(7):1495. DOI: 10.3390/ijms18071495.
18. Georgantas R.W. 3rd, Hildreth R., Morisot S. et al. CD34+ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007;104(8):2750-2755. DOI: 10.1073/pnas.0610983104.
19. Figueroa A.A., Fasano J.D., Martinez-Morilla S. et al. miR-181a regulates erythroid enucleation via the regulation of Xpo7 expression. *Haematologica*. 2018;103(8):e341-e344. DOI: 10.3324/haematol.2017.171785.
20. Lazare S.S., Wojtowicz E.E., Bystrykh L.V., de Haan G. microRNAs in hematopoiesis. *Exp. Cell Res.* 2014;329(2):234-238. DOI: 10.1016/j.yexcr.2014.08.033.
21. Rodriguez A., Vigorito E., Clare S. et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science*. 2007;316(5824):608-611. DOI: 10.1126/science.1139253.

23. Tan L.P., Wang M., Robertus J.L. et al. miRNA profiling of B-cell subsets: specific miRNA profile for germinal center B cells with variation between centroblasts and centrocytes // *Lab. Invest.* 2009;89(6):708-716. DOI: 10.1038/labinvest.2009.26.
24. Grigoryev Y.A., Kurian S.M., Hart T. et al. MicroRNA regulation of molecular networks mapped by global microRNA, mRNA, and protein expression in activated T lymphocytes // *J. Immunol.* 2011;187(5):2233-2243. DOI: 10.4049/jimmunol.1101233.
25. Wu H., Neilson J.R., Kumar P. miRNA profiling of naïve, effector and memory CD8 T cells // *PLoS One.* 2007;2(10):e1020. DOI: 10.1371/journal.pone.0001020.
26. Li Q.J., Chau J., Ebert P.J. et al. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection // *Cell.* 2007;129(1):147-161. DOI: 10.1016/j.cell.2007.03.008.
27. Dudda J.C., Salaun B., Ji Y. et al. MicroRNA-155 is required for effector CD8+ T cell responses to virus infection and cancer // *Immunity.* 2013;38(4):742-753. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.12.006.
28. Kim C., Ye Z., Weyand C.M., Goronzy J.J. miR-181a-regulated pathways in T-cell differentiation and aging // *Immun. Ageing.* 2021;18(1):28. DOI: 10.1186/s12979-021-00240-1.
29. Ben-Hamo R., Efroni S. MicroRNA regulation of molecular pathways as a generic mechanism and as a core disease phenotype // *Oncotarget.* 2015;6(3):1594-1604. DOI: 10.18632/oncotarget.2734.
30. Macfarlane L.A., Murphy P.R. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer // *Curr. Genomics.* 2010;11(7):537-561. DOI: 10.2174/138920210793175895.
31. Luongo F., Colonna F., Calapà F. et al. PTEN tumor-suppressor: the dam of stemness in cancer // *Cancers (Basel).* 2019;11(8):1076. DOI: 10.3390/cancers11081076.
32. Wang X., Huang H., Young K.H. The PTEN tumor suppressor gene and its role in lymphoma pathogenesis // *Aging (Albany NY).* 2015;7(12):1032-1049. DOI: 10.18632/aging.100855.
33. Luchtel R.A. ETS1 function in leukemia and lymphoma // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2024;1459:359-378. DOI: 10.1007/978-3-031-62731-6_16.
34. Carpenter R.L., Lo H.W. STAT3 target genes relevant to human cancers // *Cancers (Basel).* 2014;6(2):897-925. DOI: 10.3390/cancers6020897.
35. Zhu F., Wang K.B., Rui L. STAT3 activation and oncogenesis in lymphoma // *Cancers (Basel).* 2019;12(1):19. DOI: 10.3390/cancers12010019.
36. Sommer V.H., Clemmensen O.J., Nielsen O. et al. *In vivo* activation of STAT3 in cutaneous T-cell lymphoma. Evidence for an antiapoptotic function of STAT3 // *Leukemia.* 2004;18(7):1288-1295. DOI: 10.1038/sj.leu.2403385.
37. Sibbesen N.A., Kopp K.L., Litvinov I.V. et al. Jak3, STAT3, and STAT5 inhibit expression of miR-22, a novel tumor suppressor microRNA, in cutaneous T-Cell lymphoma // *Oncotarget.* 2015;6(24):20555-20569. DOI: 10.18632/oncotarget.4111.
38. Rendón-Serna N., Correa-Londoño L.A., Velásquez-Lopera M.M., Bermudez-Muñoz M. Cell signaling in cutaneous T-cell lymphoma microenvironment: promising targets for molecular-specific treatment // *Int. J. Dermatol.* 2021;60(12):1462-1480. DOI: 10.1111/ijd.15451.
39. Sun Z., Yao X., Ding X. et al. MicroRNAs and their signaling pathway in mycosis fungoides // *Medicine*
22. Seddiki N., Brezar V., Ruffin N. et al. Role of miR-155 in the regulation of lymphocyte immune function and disease. *Immunology.* 2014;142(1):32-38. DOI: 10.1111/imm.12227.
23. Tan L.P., Wang M., Robertus J.L. et al. miRNA profiling of B-cell subsets: specific miRNA profile for germinal center B cells with variation between centroblasts and centrocytes. *Lab. Invest.* 2009;89(6):708-716. DOI: 10.1038/labinvest.2009.26.
24. Grigoryev Y.A., Kurian S.M., Hart T. et al. MicroRNA regulation of molecular networks mapped by global microRNA, mRNA, and protein expression in activated T lymphocytes. *J. Immunol.* 2011;187(5):2233-2243. DOI: 10.4049/jimmunol.1101233.
25. Wu H., Neilson J.R., Kumar P. miRNA profiling of naïve, effector and memory CD8 T cells. *PLoS One.* 2007;2(10):e1020. DOI: 10.1371/journal.pone.0001020.
26. Li Q.J., Chau J., Ebert P.J. et al. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection. *Cell.* 2007;129(1):147-161. DOI: 10.1016/j.cell.2007.03.008.
27. Dudda J.C., Salaun B., Ji Y. et al. MicroRNA-155 is required for effector CD8+ T cell responses to virus infection and cancer. *Immunity.* 2013;38(4):742-753. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.12.006.
28. Kim C., Ye Z., Weyand C.M., Goronzy J.J. miR-181a-regulated pathways in T-cell differentiation and aging. *Immun. Ageing.* 2021;18(1):28. DOI: 10.1186/s12979-021-00240-1.
29. Ben-Hamo R., Efroni S. MicroRNA regulation of molecular pathways as a generic mechanism and as a core disease phenotype. *Oncotarget.* 2015;6(3):1594-1604. DOI: 10.18632/oncotarget.2734.
30. Macfarlane L.A., Murphy P.R. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer. *Curr. Genomics.* 2010;11(7):537-561. DOI: 10.2174/138920210793175895.
31. Luongo F., Colonna F., Calapà F. et al. PTEN tumor-suppressor: the dam of stemness in cancer. *Cancers (Basel).* 2019;11(8):1076. DOI: 10.3390/cancers11081076.
32. Wang X., Huang H., Young K.H. The PTEN tumor suppressor gene and its role in lymphoma pathogenesis. *Aging (Albany NY).* 2015;7(12):1032-1049. DOI: 10.18632/aging.100855.
33. Luchtel R.A. ETS1 function in leukemia and lymphoma. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2024;1459:359-378. DOI: 10.1007/978-3-031-62731-6_16.
34. Carpenter R.L., Lo H.W. STAT3 target genes relevant to human cancers. *Cancers (Basel).* 2014;6(2):897-925. DOI: 10.3390/cancers6020897.
35. Zhu F., Wang K.B., Rui L. STAT3 activation and oncogenesis in lymphoma. *Cancers (Basel).* 2019;12(1):19. DOI: 10.3390/cancers12010019.
36. Sommer V.H., Clemmensen O.J., Nielsen O. et al. *In vivo* activation of STAT3 in cutaneous T-cell lymphoma. Evidence for an antiapoptotic function of STAT3. *Leukemia.* 2004;18(7):1288-1295. DOI: 10.1038/sj.leu.2403385.
37. Sibbesen N.A., Kopp K.L., Litvinov I.V. et al. Jak3, STAT3, and STAT5 inhibit expression of miR-22, a novel tumor suppressor microRNA, in cutaneous T-Cell lymphoma. *Oncotarget.* 2015;6(24):20555-20569. DOI: 10.18632/oncotarget.4111.

- (Baltimore). 2022;101(25):e29248. DOI: 10.1097/MD.00000000000029248.
40. Solé C., Arnaiz E., Lawrie C.H. MicroRNAs as biomarkers of B-cell lymphoma // *Biomark. Insights*. 2018;13:1177271918806840. DOI: 10.1177/1177271918806840.
 41. Talaat I.M., Abdelmaksoud R.E., Guimei M. et al. Potential role for microRNA-16 (miR-16) and microRNA-93 (miR-93) in diagnosis and prediction of disease progression in mycosis fungoides in Egyptian patients // *PLoS One*. 2019;14(10):e0224305. DOI: 10.1371/journal.pone.0224305.
 42. Sørensen S.T., Litman T., Glud M. et al. miRNA signature in early-stage mycosis fungoides // *Acta Derm. Venereol*. 2022;102:adv00785. DOI: 10.2340/actadv.v102.628.
 43. 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.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Веряскина Юлия Андреевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-3799-9407.

Ковынев Игорь Борисович – д-р мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Пахомова Вера Владимировна – заместитель главного врача по медицинской части, врач-дерматовенеролог ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический кожно-венерологический диспансер», Новосибирск, Россия.

Титов Сергей Евгеньевич – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН»; старший научный сотрудник АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-9401-5737.

Войтко Мария Сергеевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия.

Цигулёв Константин Сергеевич – студент 6-го курса ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Онипченко Вера Викторовна – главный внештатный специалист по дерматовенерологии и косметологии Новосибирской области, главный врач ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический кожно-венерологический диспансер», Новосибирск, Россия.

38. Rendón-Serna N., Correa-Londoño L.A., Velásquez-Lopera M.M., Bermudez-Muñoz M. Cell signaling in cutaneous T-cell lymphoma microenvironment: promising targets for molecular-specific treatment. *Int. J. Dermatol*. 2021;60(12):1462-1480. DOI: 10.1111/ijd.15451.
39. Sun Z., Yao X., Ding X. et al. MicroRNAs and their signaling pathway in mycosis fungoides. *Medicine (Baltimore)*. 2022;101(25):e29248. DOI: 10.1097/MD.00000000000029248.
40. Solé C., Arnaiz E., Lawrie C.H. MicroRNAs as biomarkers of B-cell lymphoma. *Biomark. Insights*. 2018;13:1177271918806840. DOI: 10.1177/1177271918806840.
41. Talaat I.M., Abdelmaksoud R.E., Guimei M. et al. Potential role for microRNA-16 (miR-16) and microRNA-93 (miR-93) in diagnosis and prediction of disease progression in mycosis fungoides in Egyptian patients. *PLoS One*. 2019;14(10):e0224305. DOI: 10.1371/journal.pone.0224305.
42. Sørensen S.T., Litman T., Glud M. et al. miRNA signature in early-stage mycosis fungoides. *Acta Derm. Venereol*. 2022;102:adv00785. DOI: 10.2340/actadv.v102.628.
43. 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.

ABOUT THE AUTHORS

Yulia A. Veryaskina – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cellular Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-3799-9407.

Igor B. Kovynev – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Vera V. Pakhomova – Deputy Chief Physician for Medical Affairs, Dermatovenereologist, Novosibirsk Regional Clinical Skin and Venereal Diseases Dispensary, Novosibirsk, Russia.

Sergey E. Titov – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cellular Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Senior Researcher, Vector-Best, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-9401-5737.

Maria S. Voitko – Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Konstantin S. Tsigulev – 6-year Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Vera V. Onipchenko – Chief Non-staff Specialist on Dermatovenereology and Cosmetology of the Novosibirsk Region, Chief Physician, Novosibirsk Regional Clinical Skin and Venereal Diseases Dispensary, Novosibirsk, Russia.