

# ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ микроРНК В КАЧЕСТВЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ПРОГНОСТИЧЕСКИХ БИОМАРКЕРОВ МЕЛАНОМЫ

С.В. Чулкова<sup>1,2</sup>, Д.А. Рябчиков<sup>1</sup>, И.А. Дудина<sup>3</sup>, А.М. Казаков<sup>1</sup>, А.В. Егорова<sup>2</sup>, К.С. Титов<sup>4</sup>,  
М.Н. Хагажеева<sup>1</sup>, И.А. Гладилина<sup>1,2</sup>, З.М. Галаева<sup>2</sup>, Н.В. Лепкова<sup>2</sup>, Н.Н. Тупицын<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;  
Россия, 115478 Москва, ул. Каширское шоссе, 24;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России;  
Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1а;

<sup>3</sup>ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи  
и медицинских технологий ФМБА России»; Россия, 115682 Москва, Ореховый бульвар, 28;

<sup>4</sup>ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова Департамента  
здравоохранения г. Москвы»; Россия, 111123 Москва, шоссе Энтузиастов, 86

**Контакты:** Светлана Васильевна Чулкова [chulkova@mail.ru](mailto:chulkova@mail.ru)

Несмотря на недавние достижения таргетной и иммунной терапии, 5-летняя общая выживаемость при постановке диагноза меланомы на III–IV стадии составляет 50 и 10–20 % соответственно. Современные биомаркеры меланомы, которые используются в клинической практике, не обладают достаточной эффективностью при ранней диагностике и оценке прогноза. В последнее десятилетие циркулирующие микроРНК (миРНК) все чаще стали рассматриваться в качестве идеальных биомаркеров меланомы. В данной статье представлены особенности биогенеза миРНК, а также приведен критический обзор циркулирующих миРНК как перспективных диагностических и прогностических биомаркеров меланомы.

**Ключевые слова:** микроРНК, меланома, циркулирующие биомаркеры, канцерогенез

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-4-51-56

## THE PROSPECTS FOR THE USE OF microRNA AS DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC MELANOMA BIOMARKERS

S.V. Chulkova<sup>1,2</sup>, D.A. Ryabchikov<sup>1</sup>, I.A. Dudina<sup>3</sup>, A.M. Kazakov<sup>1</sup>, A.V. Egorova<sup>2</sup>, K.S. Titov<sup>4</sup>, M.N. Khagazheeva<sup>1</sup>,  
I.A. Gladilina<sup>1,2</sup>, Z.M. Galaeva<sup>2</sup>, N.V. Lepkova<sup>2</sup>, N.N. Tupitsyn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;  
24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115478, Russia;

<sup>2</sup>N.I. Pirogov Russian National Research Medical University; 1 Ostrovitianov St., Moscow 117997, Russia

<sup>3</sup>FSBI FNKC FMBA of Russia; 28 Bul'var Orekhoviy, Moscow 115682, Russia;

<sup>4</sup>MCSC the Loginov Moscow Clinical Scientific Center Is State Institution Funded By Moscow Health Department;  
86 Shosse Entuziastov, Moscow 111123, Russia

Despite recent advances in targeted and immune therapy, 5-year overall survival in stages III–IV of melanoma is 50 and 10–20 %, respectively. Modern melanoma biomarkers, which are used in clinical practice, are not sufficiently effective for early diagnosis and prognosis assessment. In the last decade, circulating microRNAs (miRNAs) have come to be regarded as “ideal” melanoma biomarkers. This article presents the characteristics of miRNA biogenesis, as well as provides a critical review of circulating miRNAs as promising diagnostic and prognostic melanoma biomarkers.

**Key words:** microRNA, melanoma, circulating biomarkers, carcinogenesis

### Введение

За последние 20 лет понимание молекулярных основ развития и прогрессирования меланомы выросло в геометрической прогрессии. Меланома — клинически разнообразное и молекулярно гетерогенное заболевание, имеющее большое количество перспек-

тивных диагностических и прогностических биомаркеров различных классов, а также потенциальных мишеней для воздействия лекарственных агентов [1].

Несмотря на недавние достижения таргетной и иммунной терапии, 5-летняя общая выживаемость при постановке диагноза меланомы на III–IV стадии

составляет лишь 50 и 10–20 % соответственно [2]. Современные биомаркеры меланомы, которые используются в клинической практике для диагностики и оценки эффективности лечения, не обладают достаточной эффективностью. Например, высокий уровень лактатдегидрогеназы в сыворотке крови пациентов с меланомой указывает на текущее (не на прогнозируемое) прогрессирование заболевания а концентрация кальций-связывающего белка S100B резко увеличена лишь на III–IV стадии [3–5]. Это создает острую необходимость поиска новых циркулирующих биомаркеров, которые бы позволили выявлять меланому на ранних стадиях, прогнозировать риски прогрессирования заболевания и определять оптимальный вариант лечения.

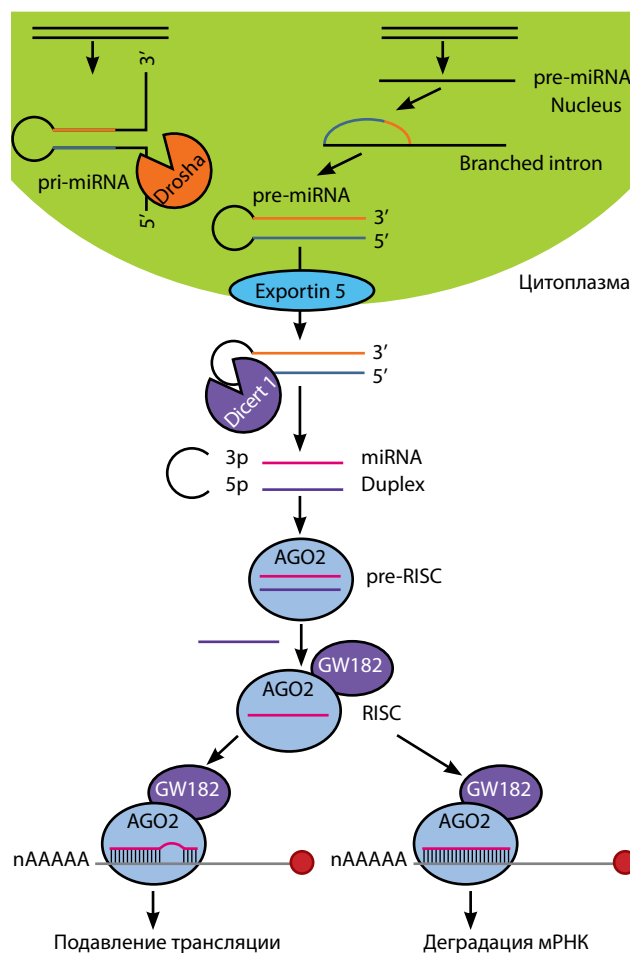
В последнее десятилетие особое внимание сосредоточено на небольших некодирующих последовательностях РНК—микроРНК (миРНК), которые влияют на экспрессию большого числа генов и являются важными регуляторами многих клеточных процессов: пролиферации, дифференцировки, регенерации, миграции, апоптоза. По данным мировой литературы, миРНК имеют стабильный уровень в сыворотке крови, устойчивы к разрушению РНКазой и другими ферментами, обладают высокой специфичностью и чувствительностью, поэтому претендуют на роль идеальных биомаркеров [1]. В данной статье представлены особенности биогенеза миРНК, а также приведен критический обзор циркулирующих миРНК как перспективных диагностических и прогностических биомаркеров меланомы.

#### Биогенез, функции и внеклеточный транспорт микроРНК

МиРНК представляет собой группу небольших (19–25 нуклеотидов) белок-некодирующих последовательностей РНК, которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. С момента открытия Y. Lee и соавт. 1-й миРНК в 1993 г. у нематоды *Caenorhabditis elegans* число новых молекул увеличивается ежегодно в десятки и сотни раз [6]. Согласно базе данных miRBase, 38 589 зрелых миРНК зарегистрировано у 271 вида. Известно, что в геноме человека кодируется 2661 миРНК, которые регулируют работу около 30 % генов [1].

Основные функции миРНК – связывание с определенной последовательностью мРНК и нарушение процесса трансляции, что приводит к изменению или предотвращению синтеза белка [7]. Развитие технологий секвенирования позволило определить, что посттранскрипционный контроль экспрессии генов осуществляется при участии белков Argonaute (AGO). МиРНК являются наиболее хорошо охарактеризованными AGO-ассоциированными посттранскрипционными регуляторами, которые следуют по специфическому пути биогенеза с участием ферментов комплекса Drosha/DGCR8 и Dicer [8, 9].

Рассмотрим более подробно биогенез миРНК, представленный на рисунке. Молекулы-предшественники миРНК (pri-miRNAs) транскрибируются в ядре с их родственных генов. Как только миРНК транскрибируется, она подвергается дальнейшему процессингу, чтобы стать зрелой миРНК [10]. Итак, pri-miRNAs расщепляются ферментами Drosha и DGCR8 с образованием 60–70 нуклеотидных предшественников миРНК (pre-miRNAs) [10, 11]. Далее pre-miRNAs транспортируются в цитоплазму с помощью Exportin-5 при участии регулятора нуклеоплазматического транспорта – Ran-GTP. В цитоплазме pre-miRNA расщепляются ферментом Dicer, в результате чего образуется небольшой миРНК-дуплекс [12–14]. Одна из цепей дуплекса является направляющей и далее из нее будет образована зрелая миРНК. Направляющая цепь миРНК взаимодействует с белком AGO2, который является каталитическим компонентом RNA-induced silencing complex (RISC). Впоследствии другая комплементарная цепь исключается из комплекса [15].



Биогенез миРНК (адаптировано из [1])  
miRNA biogenesis (adapted from [1])

Зрелая миРНК направляет RISC к специфическим мишеням на мРНК. Следует отметить, что только зрелая миРНК способна обеспечить распознавание в мРНК последовательности, которая была бы комплементарна ключевой последовательности (seed sequence) миРНК [10]. Посадка RISC-комплекса на мРНК-мишень происходит по правилу спаренных оснований Уотсона–Крика, инициируя подавление экспрессии генов либо через механизм подавления трансляции, либо путем деградации мРНК. Было доказано, что степень комплементарности последовательностей между миРНК и мишенью на мРНК определяет механизм подавления: достаточная (почти идеальная) комплементарность приводит к деградации мРНК, а недостаточная (несовершенная) приводит к подавлению трансляции [16]. Из-за неабсолютного соответствия последовательности между миРНК и мишенью 1 миРНК может подавлять большое количество прямых генов-мишеней, а 1 мРНК может регулироваться несколькими миРНК [17].

Почему же циркулирующие миРНК рассматриваются в качестве идеальных биомаркеров? МиРНК, как и многие другие опухолевые биомаркеры, также появляются в кровотоке после апоптоза или некроза опухолевых клеток, но данный путь не является основным. В кровотоке миРНК обычно инкапсулированы и циркулируют в комплексе с липидными частицами, образуя экзосомы. Также молекулы миРНК в системном кровотоке часто связаны с различными защитными белками — AGO2 или нуклеофозмином. Именно поэтому циркулирующие миРНК стабильны, не разрушаются в кровотоке и имеют период полураспада до 24 ч [18].

В кровотоке миРНК присутствуют в чрезвычайно низких концентрациях, но достаточных для обнаружения с использованием стандартной методики количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени [1]. Можно выделить несколько причин, приводящих к количественным и качественным различиям в экспрессии специфических миРНК у пациентов с меланомой по сравнению с контрольной группой. Во-первых, это связано с увеличением экспрессии миРНК, обычно онкогенных, опухолевыми клетками и/или, напротив, с уменьшением экспрессии миРНК (как правило, онкосупрессорных). Во-вторых, не только опухолевые клетки высвобождают миРНК. Такое свойство также установлено у Т-лимфоцитов и других представителей опухолевого микроокружения, поэтому выделение миРНК в кровотоки происходит постоянно, не прерывисто [19]. Выдвинута гипотеза, что такое сложное взаимодействие миРНК с различными клетками может являться формой межклеточной коммуникации, хотя механизмы, посредством которых определенные миРНК секретируются и поглощаются, остаются неизвестными.

#### **Циркулирующие микроРНК как диагностические маркеры меланомы**

Недавние исследования сообщают о значительном изменении профиля экспрессии миРНК в сыворотке и плазме крови пациентов с меланомой по сравнению с контрольной группой. Исследовательская группа под руководством P. Leidinger в 2010 г. была одной из первых, которая оценила экспрессию более 900 миРНК у 24 пациентов с меланомой по сравнению с 20 здоровыми людьми [20]. Используя методику микрочипирования и последующей количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени, авторы идентифицировали 21 миРНК, уровень которых при меланоме снижен, и 30 миРНК, уровень которых повышен. Авторы указали, что использование диагностической сигнатуры из 16 миРНК (let-7d, miРНК-186, -18a, -145, -99a, -664, -501-5p, -378, -9c, -1280, -365, -1249, -328, -422a, -30d и -17) позволяет с 95 % специфичности и 98,9 % чувствительности выявить пациентов с меланомой. Необходимо отметить, что треть пациентов имели IV стадию заболевания, и данная сигнатура не может быть использована при ранней диагностике, но данное исследование продемонстрировало перспективность изучения миРНК как будущих диагностических биомаркеров. Существует большое количество аналогичных исследований, сравнивающих экспрессию миРНК у пациентов с меланомой I–IV стадии и здоровой контрольной группой [21–23]. Авторами было выделено большое количество молекул миРНК, экспрессия которых имела статистически значимую разницу между группами, но эти данные представляют больше научный интерес и не могут быть использованы в повседневной клинической практике.

Сравнение профиля циркулирующих миРНК при I–II, III–IV стадии меланомы и здоровой группой — следующий этап изучения диагностических миРНК. С. Margue и соавт., исследовав 1066 молекул миРНК ( $n = 126$ ) с использованием количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени, определили, что экспрессия миРНК-204-5p, -182-5p, -301a-3p, -200c-3p, -28-5p, -27a-3p, -197-3p и -374a-5p понижена у пациентов с меланомой I–IV стадии по сравнению с контрольной группой, а экспрессия миРНК-193b-3p, -720, -205-5p, -126-5p, -211-5p, -720, -206, -550a-3p, -627-5p и -629-5p, напротив, повышена [22]. Вместе с тем они определили, что миРНК-301-3p, -200c-3p, -126-5p, -374a-5p и -211-5p являются потенциальными биомаркерами меланомы I–II стадии, а остальные миРНК могут быть использованы только для диагностики меланомы III–IV стадии. В других исследованиях были установлены особенности экспрессии миРНК-200c-3p, -29c-5p, -324-3p у пациентов с меланомой III–IV стадии по сравнению со здоровой контрольной группой [23–25]. При III–IV стадии меланомы 5-летняя общая выживаемость составляет 10–50 %, выбор лечебных методик ограничен,

поэтому перспективен поиск миРНК как диагностических маркеров I–II стадии. К сожалению, на сегодняшний день не выделены специфичные молекулы миРНК, которые могут быть эффективно использованы для ранней диагностики меланомы.

Особый интерес представляют работы по сравнению профиля экспрессии миРНК меланомы и доброкачественных невусов. В 2010 г. в исследовании I. Satzger и соавт. были идентифицированы 3 миРНК (миРНК-15b, -210 и -34a), которые могут быть использованы при дифференциальной диагностике меланомы и меланоцитарного невуса [26]. Уровень миРНК-15b и -210 был повышен при меланомах по сравнению с доброкачественными невусами, в то время как уровень миРНК-34a понижен. Кроме того, в 2012 г. Y. Xu и соавт. определили, что миРНК-203, -205 значительно активированы при злокачественной меланоме по сравнению с доброкачественными невусами [27]. Далее, в 2013 г. J. Kozubek и соавт. пришли к выводу, что уровень экспрессии миРНК-203, -204-5p, -205-5p, -211-5p, -23b-3p, -26a-5p и -26b-5p значительно снижен при меланоме по сравнению с доброкачественными невусами ( $n = 101$ ) [28]. Эта тема заслуживает дальнейшего изучения, так как клиническая и гистологическая дифференциальная диагностика меланомы и диспластического невуса часто осложнена, а появление дополнительной опции неинвазивной диагностики позволило бы уточнить результат.

В настоящее время только в одном исследовании изучен экзосомально-ассоциированный пул миРНК у пациентов с меланомой. E. Alegre и соавт. продемонстрировали, что уровень миРНК-125b был значительно снижен в сывороточных экзосомах пациентов с прогрессирующей меланомой по сравнению с больными меланомой без прогрессирования и здоровыми людьми [29]. Однако не было обнаружено различий при сравнении уровней сывороточной миРНК в данных группах. Важно, что в другом исследовании под руководством S. Achberger показано, что уровни миРНК-125b в плазме повышены у пациентов с уvealной меланомой по сравнению со здоровой контрольной группой, причем уровень миРНК-125b при метастазировании выше, чем при ранних стадиях [30]. Необходимо отметить, что плазма и сыворотка имеют разные профили экспрессии миРНК, что, возможно, связано с различной чувствительностью к условиям экстракции во время приготовления сыворотки/плазмы или обогащения экзосом.

#### **Циркулирующие микроРНК как прогностические маркеры меланомы**

На сегодняшний день для идентификации циркулирующих миРНК как прогностических биомаркеров меланомы было предпринято уже несколько попыток разными группами ученых. Обнаружение таких

биомаркеров позволило бы разделить пациентов на группы высокого и низкого риска рецидива после хирургического лечения меланомы. N.H. Fleming и соавт. в 2015 г. продемонстрировали, что уровни миРНК-150, -15b, -425 и -30d в сыворотке крови повышаются с увеличением стадии меланомы [31]. Оказалось, что сигнатура из этих 4 миРНК совместно с оценкой стадии позволяет эффективно выявлять рецидивы меланомы и стратифицировать с высокой чувствительностью пациентов на группы высокого и низкого риска рецидивов (RFS  $p < 0,001$ , общая выживаемость  $p = 0,005$ ). Авторами достоверно установлено, что уровень миРНК-15b в сыворотке значительно увеличен после случившегося рецидива по сравнению с дорецидивными показателями ( $p < 0,001$ ).

Группа ученых под руководством E.B. Friedman в 2012 г. при исследовании более 300 миРНК идентифицировали сигнатуру из 5 молекул (миРНК-150-5p, -15b-5p, -199a-5p, -33a-5p и -425-5p), которые могут быть использованы для стратификации пациентов на группы высокого и низкого риска со значительной разницей безрецидивной выживаемости как в когорте обнаружения ( $n = 80$ ), так и валидации ( $n = 50$ ) ( $p = 0,0036$ ,  $p = 0,0093$  соответственно) [32]. Как и в исследовании N.H. Fleming и соавт., уровень миРНК-150-5p был повышен в сыворотке пациентов с меланомой высокого риска рецидива, а уровень сывороточной миРНК-15b-5p, напротив, был понижен в данной группе пациентов [31].

Оценка уровней миРНК в сыворотке крови пациентов с целью прогноза и мониторинга процесса метастазирования является заманчивой идеей, так как на IV стадии 5-летняя общая выживаемость составляет  $< 15\%$  из-за высокой устойчивости опухоли к химиолучевой терапии [33, 34]. D. Hanniford и соавт. в 2015 г. продемонстрировали снижение экспрессии миРНК-382 и -516b, которые подавляли инвазию *in vivo* и метастазирование *in vitro*, в агрессивных первичных меланомах по сравнению с неагрессивными (95 % доверительный интервал – 25,6–50,2; миРНК-382: 19,5, 95 % доверительный интервал – 12,2–26,9,  $p = 0,009$ ; миРНК-516b: 12,5, 95 % доверительный интервал – 7,7–17,4,  $p < 0,001$ , t-критерий Стьюдента) [35]. В исследовании G. Saldanha и соавт. 2016 г. определена прогностическая роль миРНК-10b: экспрессия миРНК-10b была в 3,7 раза выше у пациентов с метастатическим заболеванием по сравнению с контрольной группой ( $p = 0,005$ ) [36]. M. Qi и соавт. в 2014 г. обнаружили, что миРНК-146, -27, -877 и -186 дифференциально экспрессированы при метастатических меланомах (контрольная группа – неметастатическая меланома кожи) ( $p < 0,05$ ) [37].

V. Armand-Labit и соавт. в 2016 г. представили многообещающий прогностический показатель, обнаружив, что миРНК-1246 и -185 достоверно ассоциированы с метастатической меланомой



с чувствительностью 90,5 % и специфичностью 89,1 % [38]. L. Cui и соавт. обнаружили, что miРНК-301a активируется при метастатической меланоме, что коррелирует с плохим прогнозом [39]. И наоборот, подавление экспрессии опухолевого супрессора меланомы miРНК-365 в исследовании под руководством J. Vai и соавт. коррелировало с метастазированием в лимфатические узлы и клинической стадией заболевания [40].

### Заключение

Заболеваемость меланомой с каждым годом растет во всем мире и, несмотря на разработку новых методов лечения, резистентность к терапии также

увеличивается. В данной статье мы описали сложность биогенеза miРНК при меланоме, доказали, что данные молекулы играют решающую роль в канцерогенезе. Уже сделаны первые шаги в изучении miРНК как перспективных диагностических и прогностических биомаркеров, но данные неполные и часто противоречивые. Важно повторить эти исследования после разработки серии стандартизированных эталонных процедур для количественного определения циркулирующих miРНК, чтобы обеспечить воспроизводимость полученных результатов. Только тогда некоторые из описанных miРНК могут быть использованы в клинической практике при ранней диагностике, оценке прогноза и эффективности.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Mumford S.L., Towler B.P., Pashler A.L. et al. Circulating MicroRNA biomarkers in melanoma: tools and challenges in personalised medicine. *Biomolecules* 2018;8(2):21. DOI: 10.3390/biom8020021.
- Cancer Research UK Melanoma Survival (accessed on 13 January 2018). Available on: <http://www.cancer-researchuk.org/about-cancer/melanoma/survival>.
- Finck S.J., Giuliano A.E., Morton D.L. LDH and melanoma. *Cancer* 1983;51(5):840–3. DOI: 10.1002/1097-0142(19830301)51:5<840::AID-CNCR28205-10516>3.0.CO;2-7.
- Deichmann M., Benner A., Bock M. et al. S100-β, melanoma-inhibiting activity, and lactate dehydrogenase discriminate progressive from nonprogressive American Joint Committee on Cancer stage IV melanoma. *J Clin Oncol* 1999;17(6):1891–6. DOI: 10.1200/JCO.1999.17.6.1891.
- Karonidis A., Mantzourani M., Gogas H., Tsoutsos D. Serum S100-β levels correlate with stage, N status, mitotic rate and disease outcome in melanoma patients independent to LDH. *J Buon* 2017;22(5):1296–302.
- Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993;75(5):843–54. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-y.
- Carmell M.A., Xuan Z., Zhang M.Q., Hannon G.J. The Argonaute family: tentacles that reach into RNAi, developmental control, stem cell maintenance, and tumorigenesis. *Genes Dev* 2002;16(21):2733–42. DOI: 10.1101/gad.1026102.
- Okamura K., Phillips M.D., Tyler D.M. et al. The regulatory activity of microRNA\* species has substantial influence on microRNA and 3' UTR evolution. *Nat Struct Mol Biol* 2008;15(4):354–63. DOI: 10.1038/nsmb.1409.
- Bartel D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004;116(2):281–97.
- Рябчиков Д.А., Абдуллаева Э.И., Дудина И.А. и др. Роль микро-РНК в канцерогенезе и прогнозе злокачественных новообразований молочной железы. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России* 2018;18(2):1–20. Доступно по: <http://vestnik.mrcr.ru/vestnik/v18/docs/ryabchikov.pdf>. [Ryabchikov D.A., Abdullaeva E.I., Dudina I.A. et al. The role of micro-RNA in cancerogenesis and breast cancer prognosis. *Vestnik Rossiyskogo nauchnogo tsentra rentgenoradiologii Minzdrava Rossii* = *J of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center* 2018; 18(2):[1–20]. DOI: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5.
- Lee Y., Ahn C., Han J. et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003;425(6956):415–9. DOI: 10.1038/nature01957.
- Iwasaki S., Kobayashi M., Yoda M. et al. Hsc70/Hsp90 chaperone machinery mediates ATP-dependent RISC loading of small RNA duplexes. *Mol Cell* 2010;39(2):292–9. DOI: 10.1016/j.molcel.2010.05.015.
- Kawamata T., Tomari Y. Making RISC. *Trends Biochem Sci* 2010;35(7):368–76. DOI: 10.1016/j.tibs.2010.03.009.
- Kwak P.B., Tomari Y. The N domain of Argonaute drives duplex unwinding during RISC assembly. *Nat Struct Mol Biol* 2012;19(2):145–51. DOI: 10.1038/nsmb.2232.
- Khvorova A., Reynolds A., Jayasena S.D. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell* 2003;115(2):209–16. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00801-8.
- Macfarlane L.A., Murphy P.R. MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Curr Genomics* 2010;11(7):537–61. DOI: 10.2174/138920210793175895.
- Selbach M., Schwanhauser B., Thierfelder N. et al. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature* 2008;455:58–63. DOI: 10.1038/nature07228.
- Sohel M.H. Extracellular/Circulating MicroRNAs: Release Mechanisms, Functions and Challenges. *Achiev Life Sci* 2016;10:175–86. DOI: 10.1016/j.als.2016.11.007.
- Romano G., Kwong L.N. miRNAs, melanoma and microenvironment: an intricate network. *Int J Mol Sci* 2017;18(11):2354. DOI: 10.3390/ijms18112354.
- Leidinger P., Keller A., Borries A. et al. High-throughput miRNA profiling of human melanoma blood samples. *BMC Cancer* 2010;10:262. DOI: 10.1186/1471-2407-10-262.
- Van Laar R., Lincoln M., van Laar B. Development and validation of a plasma-based melanoma biomarker suitable for clinical use. *Br J Cancer* 2018;118:857–66. DOI: 10.1038/bjc.2017.477.
- Margue C., Reinsbach S., Philippidou D. et al. Comparison of a healthy miRNome with melanoma patient miRNomes: are microRNAs suitable

- serum biomarkers for cancer? *Oncotarget* 2015;6:12110–27. DOI: 10.18632/oncotarget.3661.
23. Fogli S., Polini B., Carpi S. et al. Identification of plasma microRNAs as new potential biomarkers with high diagnostic power in human cutaneous melanoma. *Tumour Biol* 2017;39(5):1010428317701646. DOI: 10.1177/1010428317701646.
  24. Philippidou D., Schmitt M., Moser D. et al. Signatures of microRNAs and selected microRNA target genes in human melanoma. *Cancer Res* 2010;70(10):4163–73. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4512.
  25. Greenberg E., Besser M.J., Ben-Ami E. et al. A comparative analysis of total serum miRNA profiles identifies novel signature that is highly indicative of metastatic melanoma: a pilot study. *Biomarkers* 2013;18:502–8. DOI: 10.3109/1354750X.2013.816777.
  26. Satzger I., Mattern A., Kuettler U. et al. MicroRNA-15b represents an independent prognostic parameter and is correlated with tumor cell proliferation and apoptosis in malignant melanoma. *Int J Cancer* 2010;126(11):2553–62. DOI: 10.1002/ijc.24960.
  27. Xu Y., Brenn T., Brown E.R. et al. Differential expression of microRNAs during melanoma progression: miR-200c, miR-205 and miR-211 are downregulated in melanoma and act as tumour suppressors. *Br J Cancer* 2012;106(3):553–61. DOI: 10.1038/bjc.2011.568.
  28. Kozubek J., Ma Z., Fleming E. et al. In-depth characterization of microRNA transcriptome in melanoma. *PLoS One* 2013;8(9):72699. DOI: 10.1371/journal.pone.0072699.
  29. Alegre E., Sanmamed M.F., Rodriguez C. et al. Study of circulating microRNA-125b levels in serum exosomes in advanced melanoma. *Arch Pathol Lab Med* 2014;138(6):828–32. DOI: 10.5858/arpa.2013-0134-OA.
  30. Achberger S., Aldrich W., Tubbs R. et al. Circulating immune cell and microRNA in patients with uveal melanoma developing metastatic disease. *Mol Immunol* 2014;58:182–6. DOI: 10.1016/j.molimm.2013.11.018.
  31. Fleming N.H., Zhong J., da Silva I.P. et al. Serum-based miRNAs in the prediction and detection of recurrence in melanoma patients. *Cancer* 2015;121(1):51–9. DOI: 10.1002/cncr.28981.
  32. Friedman E.B., Shang S., de Miera E.V. et al. Serum microRNAs as biomarkers for recurrence in melanoma. *J Transl Med* 2012;10:155. DOI: 10.1186/1479-5876-10-155.
  33. Stark M.S., Bonazzi V.F., Boyle G.M. et al. miR-514a regulates the tumour suppressor NF1 and modulates BRAFi sensitivity in melanoma. *Oncotarget* 2015;6(19):17753–63.
  34. Garbe C., Eigentler T.K. Diagnosis and treatment of cutaneous melanoma: State of the art 2006. *Melanoma Res* 2007;17:117–27. DOI: 10.1097/CMR.0b013e328042bb36.
  35. Hanniford D., Segura M.F., Zhong J. et al. Identification of metastasis-suppressive microRNAs in primary melanoma. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2015;107(3):494. DOI: 10.1093/jnci/dju494.
  36. Saldanha G., Elshaw S., Sachs P. et al. microRNA-10b is a prognostic biomarker for melanoma. *Mod Pathol* 2016;29(2):112–21. DOI: 10.1038/modpathol.2015.149.
  37. Qi M., Huang X., Zhou L., Zhang J. Identification of differentially expressed microRNAs in metastatic melanoma using next-generation sequencing technology. *Int J Mol Med* 2014;33(5):1117–21. DOI: 10.3892/ijmm.2014.1668.
  38. Armand-Labit V., Meyer N., Casanova A. et al. Identification of a circulating microRNA profile as a biomarker of metastatic cutaneous melanoma 2016; *Acta Derm Venereol* 96(1):29–34.
  39. Cui L., Li Y., Lv X. et al. Expression of microRNA-301a and its functional roles in malignant melanoma. *Cell Physiol Biochem* 2016;40(1–2):230–44. DOI: 10.1159/000452540.
  40. Bai J., Zhang Z., Li X., Liu H. MicroRNA-365 inhibits growth, invasion and metastasis of malignant melanoma by targeting NRP1 expression. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(5):4913–22.

#### Вклад авторов

С.В. Чулкова, Д.А. Рябчиков, И.А. Дудина: написание текста рукописи;  
 М.Н. Хагажева, А.М. Казаков, А.В. Егорова, И.А. Гладиллина, З.М. Галаева: обзор публикаций по теме статьи;  
 Н.В. Лепкова, К.С. Титов: разработка дизайна исследования;  
 Н.Н. Тупицын: анализ рукописи.

#### Authors' contributions

S.V. Chulkova, D.A. Ryabchikov, I.A. Dudina: article writing;  
 M.N. Khagazheeva, A.M. Kazakov, A.V. Egorova, I.A. Gladilina, Z.M. Galaeva: reviewing of publications of the article's theme;  
 N.V. Lepkova, K.S. Titov: developing the research design;  
 N.N. Tupitsyn: manuscript analysis.

#### ORCID авторов/ORCID of authors

С.В. Чулкова/S.V. Chulkova: <https://orcid.org/0000-0003-4412-5019>  
 Д.А. Рябчиков/D.A. Ryabchikov: <https://orcid.org/0000-0003-2670-236>  
 К.С. Титов/K.S. Titov: <https://orcid.org/0000-0003-4460-9136>  
 Н.Н. Тупицын/N.N. Tupitsyn: <https://orcid.org/0000-0003-3966-128X>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Статья поступила: 20.05.2019. Принята в печать: 18.09.2019.

Article submitted: 20.05.2019. Accepted for publication: 18.09.2019.