

## РОЛЬ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ МИКРОРНК miR-19b В ПРОГНОЗЕ ИСХОДА COVID-19

Шкурников М.Ю.<sup>1, 2, 3</sup>,  
Колесников С.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики» (101000, г. Москва, ул. Мясницкая, 20, Россия)

<sup>2</sup> ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук (117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, Россия)

<sup>3</sup> ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Шкурников Максим Юрьевич,  
e-mail: mshkurnikov@hse.ru

## РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** МикроРНК – короткие (20–22 нуклеотида) некодирующие РНК, обладающие способностью посттранскрипционно регулировать экспрессию генов, рассматриваются в качестве регулятора системы врождённого иммунитета. Ранее был опубликован ряд работ, посвящённых предсказанию взаимодействия одноцепочечного (+)РНК-вируса SARS-CoV-2 с микроРНК человека, а также особенностям профиля циркулирующих микроРНК у пациентов с COVID-19 различной степени тяжести. Однако практически отсутствуют работы, анализирующие возможный вклад фактически циркулирующих в плазме крови микроРНК в тяжесть течения COVID-19.

**Цель.** Изучить особенности профиля микроРНК плазмы крови пациентов с различной тяжестью течения новой коронавирусной инфекции COVID-19 и оценить возможность взаимодействия микроРНК с геномом SARS-CoV-2.

**Материалы и методы.** Изучены результаты NGS-секвенирования микроРНК плазмы 3 выздоровевших и 8 умерших пациентов с крайне тяжёлой формой COVID-19. С помощью биоинформационных методов определены дифференциально представленные микроРНК, предсказаны места их связывания с геномом SARS-CoV-2.

**Результаты.** В данной работе продемонстрировано, что у пациентов, выздоровевших после крайне тяжёлой формы COVID-19, в плазме крови статистически значимо повышен уровень hsa-miR-19b-3p. Данная микроРНК составляет около 1,5 % от всех циркулирующих микроРНК, способна связываться с регионами SARS-CoV-2, кодирующими белки, подавляющие внутриклеточные механизмы иммунитета (NSP3, NSP9). Кроме того, данная микроРНК способна стимулировать функциональную активность и пролиферацию цитотоксических Т-лимфоцитов – одного из ключевых компонентов приобретённого клеточного иммунитета против SARS-CoV-2.

**Заключение.** Результаты исследования могут быть использованы при разработке противовирусных препаратов на основе РНК-интерференции, а также при разработке прогностических тест-систем для оптимизации тактики лечения пациентов с COVID-19.

**Ключевые слова:** miRNA, COVID-19, SARS-CoV-2, miR-19b, тяжесть течения заболевания

Статья получена: 03.04.2023

Статья принята: 18.04.2023

Статья опубликована: 05.05.2023

**Для цитирования:** Шкурников М.Ю., Колесников С.И. Роль циркулирующей микроРНК miR-19b в прогнозе исхода COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(2): 26-32. doi: 10.29413/ABS.2023-8.2.3

## THE ROLE OF CIRCULATING miR-19b MIRNA IN PREDICTING THE OUTCOME OF COVID-19

Shkurnikov M.Yu.<sup>1,2,3</sup>,  
Kolesnikov S.I.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> National Research University Higher School of Economics (Myasnitskaya str. 20, Moscow 101000, Russian Federation)

<sup>2</sup> Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences (Miklukho-Maklaya str. 16/10, Moscow 117997, Russian Federation)

<sup>3</sup> Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author:  
Maxim Yu. Shkurnikov,  
e-mail: mshkurnikov@hse.ru

### ABSTRACT

**Background.** MicroRNAs are short (20–22 nucleotides) non-coding RNAs that can posttranscriptionally regulate gene expression and are considered a regulator of the innate immunity system. Previously, many papers were published on the prediction of the interaction of the single-stranded (+)RNA virus SARS-CoV-2 with human microRNAs, as well as on the profile of circulating microRNAs in patients with COVID-19 of varying severity. However, no works are analyzing the possible contribution of miRNAs circulating in blood plasma to the severity of COVID-19.

**The aim.** To study the features of the blood plasma microRNA profile of patients with different severity of the new coronavirus infection COVID-19 and to evaluate the possibility of microRNA interaction with the SARS-CoV-2 genome.

**Materials and methods.** The results of NGS sequencing of plasma miRNAs of 3 recovered and 8 deceased patients with a highly severe form of COVID-19 were studied. Differentially presented microRNAs were determined using bioinformatics methods, and their binding sites with the SARS-CoV-2 genome were predicted.

**Results.** This study demonstrates that in patients who have recovered from a highly severe form of COVID-19, the level of hsa-miR-19b-3p in the blood plasma is significantly increased. This microRNA makes up about 1.5 % of all circulating microRNAs and can bind to SARS-CoV-2 regions encoding proteins that suppress intracellular immunity mechanisms (NSP3, NSP9). In addition, this miRNA can stimulate the functional activity and proliferation of cytotoxic T-lymphocytes, one of the critical components of acquired cellular immunity against SARS-CoV-2.

**Conclusion.** The results of the study can be used in the development of antiviral drugs based on RNA interference, as well as in the development of predictive test systems to optimize the tactics of treating patients with COVID-19.

**Key words:** miRNA, COVID-19, SARS-CoV-2, miR-19b, disease severity

Received: 03.04.2023  
Accepted: 18.04.2023  
Published: 05.05.2023

**For citation:** Shkurnikov M.Yu., Kolesnikov S.I. The role of circulating miR-19b miRNA in predicting the outcome of COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(2): 26-32. doi: 10.29413/ABS.2023-8.2.3

## ОБОСНОВАНИЕ

В 2019 г. были выявлены случаи нового заболевания, получившего название COVID-19, которое вызывалось коронавирусом SARS-CoV-2. Данный вирус характеризовался быстрым, сложно контролируемым распространением, что связано с определёнными особенностями вируса. Первой линией защиты организма от вирусов, включая SARS-CoV-2, является врождённый иммунитет, который ограничивает вход вирусов в клетки, трансляцию, репликацию и сборку вирионов, а также позволяет обнаруживать и уничтожать заражённые клетки, координирует и усиливает приобретённый иммунитет [1]. Выделяют два компонента врождённого противовирусного иммунитета: клеточный и гуморальный, включающие макрофаги, моноциты, дендритные клетки, нейтрофилы, NK-клетки, цитокины и интерфероны, и внутриклеточный иммунитет. К внутриклеточному иммунитету относят различные семейства цитоплазматических рецепторов и ферментов, способных распознавать и уничтожать вирусы внутри клетки [2].

В ряде исследований в качестве компонента системы врождённого иммунитета рассматриваются молекулы микроРНК [3–5]. МикроРНК – это короткие (около 22 нуклеотидов) некодирующие РНК, обладающие способностью постраскрипционно регулировать экспрессию генов. В последовательности микроРНК выделяют так называемый seed-регион, расположенный со 2-го по 7-й нуклеотид с 5'-конца зрелой молекулы, и отвечающий за специфичность её связывания с РНК-мишенями. Показано, что микроРНК клеток хозяина могут выступать в качестве компонента внутриклеточного иммунитета, регулируя трансляцию и репликацию (+)РНК-вирусов и изменяя патогенез вирусных инфекций [6, 7]. Выделяют два основных эффекта взаимодействия вирусного РНК-генома и микроРНК: ингибирование трансляции вируса и замедление его репликации и стабилизация вирусной РНК и увеличение скорости репликации вируса. Причём замедление репликации вируса связывают, прежде всего, с взаимодействием микроРНК с 3'-нетранслируемой областью вируса [8], а стабилизацию вирусной РНК – с взаимодействием с 5'-нетранслируемой областью вируса [9]. Кроме того, микроРНК способны модулировать активность клеток как врождённого [10], так и приобретённого иммунитета [11].

Опубликован целый ряд работ, посвящённых предсказанию взаимодействия одноцепочечного (+)РНК-вируса SARS-CoV-2 с микроРНК человека [12–14], а также особенностям профиля циркулирующих микроРНК у пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 [15]. Однако практически отсутствуют работы, анализирующие возможный вклад фактически циркулирующих в плазме крови микроРНК в биогенез SARS-CoV-2 и патогенез COVID-19.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить особенности профиля микроРНК плазмы крови пациентов с различной тяжестью течения новой

коронавирусной инфекции COVID-19 и оценить возможность взаимодействия микроРНК с геномом SARS-CoV-2.

## МЕТОДЫ

### Профиль микроРНК плазмы пациентов с COVID-19

Для анализа были использованы первичные данные секвенирования микроРНК (GSE195898), выделенных из плазмы крови 3 выздоровевших (двое мужчин и одна женщина) и 8 умерших пациентов (пять мужчин и три женщины, группа сравнения) с крайне тяжёлой формой COVID-19, сопоставимых по полу и возрасту, проходивших лечение в отделении интенсивной терапии IRCCS Policlinico San Donato (Милан, Италия) [16]. Для каждого пациента был оценён профиль микроРНК плазмы крови на момент поступления в больницу (T0) и перед выпиской или смертью (T1).

Исследование было выполнено в полном соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Протокол эксперимента был одобрен локальным этическим комитетом в San Raffaele Hospital (Милан, Италия, протокол от 20 апреля 2020 г. № 75/INT/2020).

Для подготовки библиотек был использован набор реагентов HTG EdgeSeq miRNA Whole Transcriptome targeted sequencing kit (HTG WTA, HTG Molecular, США). Секвенирование осуществлялось на секвенаторе Illumina NextSeq 500 (Illumina Inc., США) с помощью набора реагентов NextSeq High Output v2 75 cycles kit (Illumina Inc., США) [16].

### Анализ данных секвенирования

3'-адаптерную последовательность удаляли с помощью Cutadapt v2.10. Контроль качества чтения выполнялся с помощью FastQC v0.11.9. После удаления 3'-адаптерной последовательности результаты секвенирования обрабатывались с помощью IsoMiRmap [17].

### Определение мотивов связывания микроРНК с геномом SARS-CoV-2

Для каждой микроРНК были определены регионы РНК SARS-CoV-2, обратнo-комплeментарные региону со 2-го по 7-й нуклеотиды 5'-конца зрелой микроРНК. Следуя общепринятой классификации [18], такие регионы связывания обозначаются «bmer». Взаимодействие соответствующей микроРНК с ними приводит к подавлению трансляции и дeградации РНК-мишени. Для определения принадлежности bmer к регионам, кодирующим белки вируса SARS-CoV-2, позиции связывания были попарно выровнены относительно референсной последовательности штамма «Wuhan-Hu-1» с использованием пакетов stringr и spgls.

### Статистический анализ

Различия в представленности микроРНК анализировали с помощью DESeq2 [19]. Сравнение данных о числе мотивов связывания микроРНК с геномом вируса SARS-CoV-2 осуществляли с помощью критерия Вилкоксона. Обработку данных и статистический анализ осуществляли в программной среде R.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Результаты секвенирования показали, что в момент поступления в лечебное учреждение (Т0) в плазме крови пациентов в количестве более 150 грт присутствовало 932 вида микроРНК и их 5'-изоформ. При этом в момент времени Т1 количество видов молекул составляло 990. Причём 54 вида молекул встречались только в Т0, а 112 – только в Т1. К наиболее высоко представленным в Т0 и Т1 можно отнести следующие микроРНК: hsa-miR-22-3p|0, hsa-miR-339-3p|0, hsa-miR-451a|0.

Анализ различий в профиле микроРНК у выздоровевших и невыздоровевших пациентов показал, что значимо изменилась экспрессия 46 микроРНК. В Т0 у выздоровевших впоследствии пациентов была выше экспрессия hsa-miR-19b-3p|0 (в 4,5 раза,  $p = 0,017$ ), hsa-miR-25-3p|+1 (в 4,8 раза,  $p = 0,047$ ). В Т1 статистически значимо различалась представленность 291 микроРНК. Наибольшие различия представленности в плазме между

группой выздоровевших пациентов и группой сравнения были отмечены для следующих микроРНК: hsa-miR-451a|0 (в 13 раз,  $p = 7,65E-07$ ), hsa-miR-22-3p|0 (в 4,3 раза,  $p = 7,67E-05$ ), hsa-miR-19b-3p|0 (в 14 раз,  $p = 1,23E-06$ ).

В ряде исследований была продемонстрирована взаимосвязь представленности hsa-miR-451a с уровнем гемолиза в образцах крови [20, 21]. Была проверена гипотеза о статистической значимости различий в представленности микроРНК, ассоциированных с гемолизом, между группами сравнения в Т0 и Т1 (табл. 1). На момент поступления в стационар уровень микроРНК, ассоциированных с гемолизом и эритропозом, не различался между группами сравнения. При этом в Т1 у группы выздоровевших пациентов были статистически значимо повышены все микроРНК, ассоциированные с гемолизом и эритропозом.

Сравнение множеств микроРНК, различающихся между выздоровевшими пациентами и группой сравнения, показал, что только две микроРНК сонаправленно изменялись в Т0 и Т1 (табл. 2).

**ТАБЛИЦА 1  
РАЗЛИЧИЯ В ПРЕДСТАВЛЕННОСТИ МИКРОРНК,  
АССОЦИИРОВАННЫХ С ГЕМОЛИЗОМ,  
МЕЖДУ ГРУППАМИ СРАВНЕНИЯ В Т0 И Т1**

микроРНК	Представленность микроРНК в плазме в Т0, log2RPM			Представленность микроРНК в плазме в Т1, log2RPM		
	Выздоровевшие	Скончавшиеся	<i>p</i>	Выздоровевшие	Скончавшиеся	<i>p</i>
hsa-miR-451a 0	14,4 ± 2,2	13,2 ± 1,7	0,0959	17,4 ± 1,8	13,9 ± 1,6	1,0E-06
hsa-miR-16-5p 0	11,6 ± 1,5	11,6 ± 1,3	0,9370	13,9 ± 1,3	12,1 ± 0,8	2,0E-04
hsa-miR-486-5p 0	11,2 ± 2,8	10,3 ± 1,5	0,1206	13,7 ± 1,8	10,5 ± 1,3	1,0E-05
hsa-miR-93-5p 0	10,7 ± 1,9	10,1 ± 1,2	0,1771	12,8 ± 1,3	10,1 ± 0,9	4,0E-07
hsa-miR-17-5p 0	9,3 ± 1,4	9 ± 1	0,4637	11 ± 1,1	9,4 ± 0,7	4,0E-04
hsa-miR-20a-5p 0	8,9 ± 1	8,9 ± 1	0,7719	11,1 ± 1,1	9,4 ± 0,8	2,0E-04
hsa-miR-107 0	8,8 ± 1,2	8,8 ± 0,7	0,7764	10,2 ± 1,1	9,1 ± 0,4	1,4E-03
hsa-miR-106a-5p 0	8,5 ± 1,2	7,9 ± 0,7	0,1640	10,2 ± 1,3	8,2 ± 0,7	2,0E-05
hsa-miR-20b-5p 0	7,8 ± 0,4	7,6 ± 0,3	0,6410	9,1 ± 0,7	7,7 ± 0,5	2,0E-04

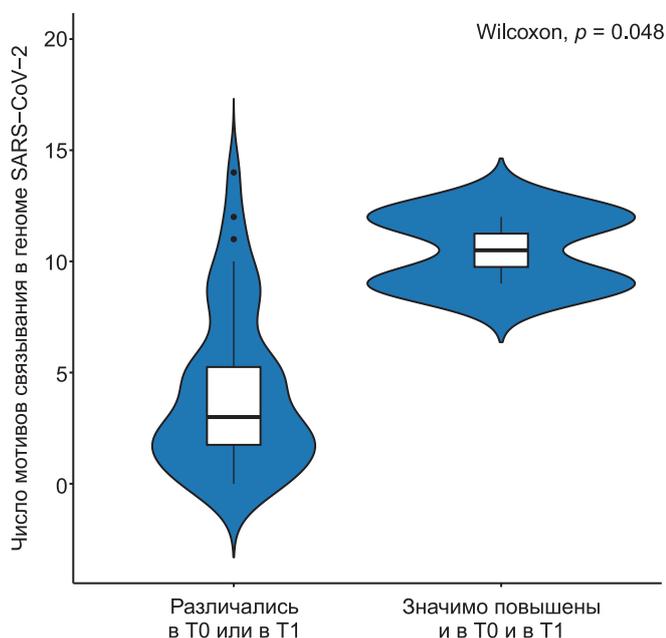
**TABLE 1  
DIFFERENCES IN THE REPRESENTATION OF  
MICRORNAS ASSOCIATED WITH HEMOLYSIS  
BETWEEN THE COMPARISON GROUPS IN T0 AND T1**

**ТАБЛИЦА 2  
ПРЕДСТАВЛЕННОСТЬ СОНАПРАВЛЕННО  
ИЗМЕНИВШИХСЯ МИКРОРНК В ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ  
В Т0 И Т1**

микроРНК	Представленность микроРНК в плазме в Т0, log2RPM			Представленность микроРНК в плазме в Т1, log2RPM			
	Выздоровевшие	Скончавшиеся	<i>p</i>	Выздоровевшие	Скончавшиеся	<i>p</i>	<i>p</i> с поправкой на множественность сравнений
hsa-miR-19b-3p 0	11,7 ± 2,9	10,6 ± 1,5	0,017	14,3 ± 1,8	10,6 ± 1,4	1,23E-06	0,003
hsa-miR-25-3p +1	3,4 ± 1,2	1,9 ± 0,8	0,047	4,7 ± 1,2	2 ± 0,7	2,25E-05	0,046

**TABLE 2  
REPRESENTATION OF CONCOMITANTLY CHANGED  
MIRNAs IN COMPARISON GROUPS IN T0 AND T1**

Были оценены возможные места связывания с геномом SARS-CoV-2 множества микроРНК, различающегося между группой выздоровевших пациентов и группой сравнения в T0 и T1 (рис. 1). Ряд микроРНК не имел мест связывания с геномом вируса: hsa-miR-1225-3p|+3, hsa-miR-4498|+1, hsa-miR-6787-5p|+2, hsa-miR-1538|+1, hsa-miR-1307-5p|+1, hsa-miR-7111-5p|+2. Число мест связывания микроРНК hsa-miR-19b-3p|0 и hsa-miR-25-3p|+1 составляло 12 и 9 соответственно. При этом медиана числа мест связывания остальных микроРНК находилась на уровне 3. Можно сделать вывод о том, что у выздоровевших пациентов был статистически значимо повышен уровень микроРНК, имеющих значительное число мест связывания с геномом SARS-CoV-2 ( $p = 0,048$ ).



**РИС. 1.**  
Число возможных мест связывания микроРНК с геномом SARS-CoV-2

**FIG. 1.**  
The number of possible binding sites of miRNAs in the SARS-CoV-2 genome

Также было проанализировано расположение возможных мест связывания микроРНК с геномом вируса (рис. 2). Наибольшее число мест связывания было расположено в регионе ORF1ab, кодирующем неструктурные белки. У микроРНК hsa-miR-19b-3p|0 наибольшее число мест связывания пришлось на короткий регион (338 нуклеотидов), кодирующий белок NSP9. При этом обе анализируемые микроРНК имели по два возможных места связывания с протяжённым регионом (5834 нуклеотида), кодирующим белок NSP3. Ни одна из микроРНК не имела мест связывания в 5' и 3' нетранслируемых областях генома SARS-CoV-2.

1	2	3	0	1	2	1	1	1	hsa-miR-19b-3p 0
1	2	0	2	2	2	0	0	0	hsa-miR-25-3p +1
NSP2	NSP3	NSP9	NSP12	NSP16	Spike	NS3	NS7a	N	

**РИС. 2.**  
Расположение возможных мест связывания микроРНК с геномом вируса SARS-CoV-2

**FIG. 2.**  
Location of possible miRNA binding sites in the SARS-CoV-2 genome

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Резюме основного результата исследования

Представленность микроРНК hsa-miR-19b-3p|0 и hsa-miR-25-3p|+1 статистически значимо различается в плазме крови госпитализированных пациентов с крайне тяжёлой формой COVID-19, как в момент поступления в стационар, так и в момент выписки или смерти. Обе микроРНК обладают большим по сравнению с другими микроРНК, изменяющими свою представленность в плазме крови, числом мест возможного связывания с геномом вируса SARS-CoV-2 (12 и 9 соответственно). Основное количество мест связывания приходится на части генома вируса, кодирующие NSP3 и NSP9.

### Обсуждение основного результата исследования

МикроРНК – это короткие некодирующие одноцепочечные молекулы РНК длиной около 22 нуклеотидов, играющие роль посттранскрипционных регуляторов экспрессии генов [22]. Молекулы микроРНК вовлечены во многие процессы, включая развитие, пролиферацию и апоптоз. Кроме того, микроРНК связаны со многими патологическими процессами [23]. Определение экспрессионных профилей микроРНК может выступать в роли метода для классификации, диагностирования и прогнозирования течения заболевания [24]. МикроРНК обнаруживаются в различных биологических жидкостях и обладают заметной стабильностью, что подчёркивает их возможную роль в качестве перспективных малоинвазивных диагностических и прогностических маркеров [25]. Кроме того, в ряде исследований молекулы микроРНК рассматриваются в качестве компонента системы врождённого иммунитета [3–5].

В данной работе был изучен профиль циркулирующих в плазме крови больных крайне тяжёлой формой COVID-19 микроРНК. Представленность hsa-miR-19b-3p|0 и hsa-miR-25-3p|+1 статистически значимо различалась в плазме крови пациентов с различным исходом COVID-19, как в момент поступления в стационар, так и в момент выписки или смерти. МикроРНК могут выступать в качестве компонента внутриклеточного иммунитета, регулируя трансляцию и репликацию (+) РНК-вирусов и изменяя патогенез вирусных инфекций [6, 7]. Учитывая, что площадь ткани лёгких составляет

от 75 до 100 м<sup>2</sup> и то, что она обильно кровоснабжается [26], можно предположить, что циркулирующие микроРНК могут проникать с инфицированными альвеоцитами и взаимодействовать с вирусом SARS-CoV-2 [27]. МикроРНК hsa-miR-19b-3p|0, статистически значимо повышенная в группе выздоровевших пациентов, относится к числу наиболее высоко представленных в плазме крови. На неё приходится более 1,5 % всех циркулирующих молекул микроРНК. В рамках данной работы показано, что эта микроРНК обладает значительным числом мест связывания с геномом SARS-CoV-2, причём в наиболее его стабильной части – ORF1ab.

Наибольшее число мест связывания hsa-miR-19b-3p|0 приходится на регион длиной 338 нуклеотидов, кодирующий белок NSP9. Белок NSP9 способен связываться с 7SL РНК, входящей в частицы узнавания сигнала, тем самым нарушая транспорт белков в эндоплазматический ретикулум и на мембрану клетки [28]. Одним из семейств белков, созревающих в эндоплазматическом ретикулуме, является семейство молекул главного комплекса гистосовместимости класса 1. Нарушение их созревания может способствовать нарушению противовирусной активности цитотоксических Т-лимфоцитов. Кроме того, hsa-miR-19b-3p|0 способна связываться с регионом, кодирующим белок NSP3. Белок NSP3 совместно с NSP4 отвечает за формирование в заражённой клетке двухмембранных везикул, защищающих вирус от механизмов внутриклеточного врождённого иммунитета [29]. Таким образом, высоко представленная в плазме крови выздоровевших пациентов с COVID-19 микроРНК hsa-miR-19b-3p|0 способна связываться с регионами вируса, кодирующими белки, ответственные за подавление механизмов внутриклеточного иммунитета.

Кроме того, hsa-miR-19b-3p|0 способна потенцировать активность цитотоксических Т-лимфоцитов. Было обнаружено, что уровни hsa-miR-19b-3p|0 значительно повышены в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с длительной ремиссией ВИЧ. Оверэкспрессия hsa-miR-19b-3p|0 способствует пролиферации CD8<sup>+</sup>-Т-клеток, а также экспрессии интерферона- $\gamma$  и гранзима В, ингибируя апоптоз CD8<sup>+</sup>-Т-клеток, индуцированный стимуляцией анти-CD3/CD28. Было обнаружено, что мишенью miR-19b является ген *PTEN* [30].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ранее был опубликован ряд работ, посвящённых предсказанию взаимодействия одноцепочечного (+) РНК-вируса SARS-CoV-2 с микроРНК человека, а также особенностям профиля циркулирующих микроРНК у пациентов с COVID-19 различной степени тяжести. Однако практически отсутствуют работы, анализирующие возможный вклад фактически циркулирующих в плазме крови микроРНК во внутриклеточный иммунитет к COVID-19. В данной работе продемонстрировано, что у пациентов, выздоровевших после крайне тяжёлой формы COVID-19, в плазме крови статистически значимо повышен уровень hsa-miR-19b-3p. Данная ми-

кроРНК представлена в плазме крови в значимых количествах, способна связываться с регионами SARS-CoV-2, кодирующими белки, подавляющие внутриклеточные механизмы иммунитета. Кроме того, данная микроРНК способна стимулировать функциональную активность и пролиферацию цитотоксических Т-лимфоцитов – одного из ключевых компонентов адаптивного клеточного иммунитета против SARS-CoV-2. Результаты исследования могут быть использованы при разработке противовирусных препаратов на основе РНК-интерференции, а также при разработке прогностических тест-систем для оптимизации тактики лечения пациентов с COVID-19.

## Финансирование

Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1049).

## Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Diamond MS, Kanneganti TD. Innate immunity: The first line of defense against SARS-CoV-2. *Nat Immunol.* 2022; 23(2): 165-176. doi: 10.1038/s41590-021-01091-0
2. Tam JCH, Jacques DA. Intracellular immunity: Finding the enemy within – how cells recognize and respond to intracellular pathogens. *J Leukoc Biol.* 2014; 96(2): 233-244. doi: 10.1189/jlb.4RI0214-090R
3. Leon-Icaza SA, Zeng M, Rosas-Taraco AG. microRNAs in viral acute respiratory infections: Immune regulation, biomarkers, therapy, and vaccines. *ExRNA.* 2019; 1(1): 1. doi: 10.1186/s41544-018-0004-7
4. Usuelli V, Loretelli C, Seelam AJ, Pastore I, D'Addio F, Ben Nasr M, et al. Novel soluble mediators of innate immune system activation in solid allograft rejection. *Transplantation.* 2022; 106(3): 500-509. doi: 10.1097/TP.0000000000003834
5. Zou L, He J, Gu L, Shahrer RA, Li Y, Cao T, et al. Brain innate immune response via miRNA-TLR7 sensing in polymicrobial sepsis. *Brain Behav Immun.* 2022; 100: 10-24. doi: 10.1016/j.bbi.2021.11.007
6. Huang J, Wang F, Argyris E, Chen K, Liang Z, Tian H, et al. Cellular microRNAs contribute to HIV-1 latency in resting primary CD4<sup>+</sup> T lymphocytes. *Nat Med.* 2007; 13(10): 1241-1247. doi: 10.1038/nm1639
7. Ingle H, Kumar S, Raut AA, Mishra A, Kulkarni DD, Kameyama T, et al. The microRNA miR-485 targets host and influenza virus transcripts to regulate antiviral immunity and restrict viral replication. *Sci Signal.* 2015; 8(406): ra126. doi: 10.1126/scisignal.aab3183
8. Trobaugh DW, Gardner CL, Sun C, Haddow AD, Wang E, Chapnik E, et al. RNA viruses can hijack vertebrate microRNAs to suppress innate immunity. *Nature.* 2014; 506(7487): 245-248. doi: 10.1038/nature12869
9. Shimakami T, Yamane D, Jangra RK, Kempf BJ, Spaniel C, Barton DJ, et al. Stabilization of hepatitis C virus RNA by an Ago2-miR-122 complex. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109(3): 941-946. doi: 10.1073/pnas.1112263109

10. Gantier MP, Sadler AJ, Williams BRG. Fine-tuning of the innate immune response by microRNAs. *Immunol Cell Biol.* 2007; 85(6): 458-462. doi: 10.1038/sj.icb.7100091
11. Iizasa H, Kim H, Kartika AV, Kanehiro Y, Yoshiyama H. Role of viral and host microRNAs in immune regulation of Epstein – Barr virus-associated diseases. *Front Immunol.* 2020; 11: 367. doi: 10.3389/fimmu.2020.00367
12. Khan MdAAK, Sany MdRU, Islam MdS, Islam ABMMdK. Epigenetic regulator miRNA pattern differences among SARS-CoV, SARS-CoV-2, and SARS-CoV-2 world-wide isolates delineated the mystery behind the epic pathogenicity and distinct clinical characteristics of pandemic COVID-19. *Front Genet.* 2020; 11: 765. doi: 10.3389/fgene.2020.00765
13. Lukiw WJ. microRNA heterogeneity, innate-immune defense and the efficacy of SARS-CoV-2 infection – A commentary. *ncRNA.* 2021; 7(2): 37. doi: 10.3390/ncrna7020037
14. Nersisyan S, Engibaryan N, Gorbonos A, Kirdey K, Makhonin A, Tonevitsky A. Potential role of cellular miRNAs in coronavirus-host interplay. *PeerJ.* 2020; 8: e9994. doi: 10.7717/peerj.9994
15. Tang H, Gao Y, Li Z, Miao Y, Huang Z, Liu X, et al. The non-coding and coding transcriptional landscape of the peripheral immune response in patients with COVID-19. *Clin Transl Med.* 2020; 10(6): e200. doi: 10.1002/ctm2.200
16. Madè A, Greco S, Vausort M, Miliotis M, Schordan E, Baksi S, et al. Association of miR-144 levels in the peripheral blood with COVID-19 severity and mortality. *Sci Rep.* 2022; 12(1): 20048. doi: 10.1038/s41598-022-23922-2
17. Loher P, Karathanasis N, Londin E, F. Bray P, Pliatsika V, Telonis AG, et al. IsoMiRmap: fast, deterministic and exhaustive mining of isomiRs from short RNA-seq datasets. *Bioinformatics.* 2021; 37(13): 1828-1838. doi: 10.1093/bioinformatics/btab016
18. Grimson A, Farh KKH, Johnston WK, Garrett-Engele P, Lim LP, Bartel DP. MicroRNA targeting specificity in mammals: Determinants beyond seed pairing. *Mol Cell.* 2007; 27(1): 91-105. doi: 10.1016/j.molcel.2007.06.017
19. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 2014; 15(12): 550. doi: 10.1186/s13059-014-0550-8
20. Shkurnikov MYu, Knyazev EN, Fomicheva KA, Mikhailenko DS, Nyushko KM, Saribekyan EK, et al. Analysis of plasma microRNA associated with hemolysis. *Bull Exp Biol Med.* 2016; 160(6): 748-750. doi: 10.1007/s10517-016-3300-y
21. Rasmussen KD, Simmini S, Abreu-Goodger C, Bartonicek N, Di Giacomo M, Bilbao-Cortes D, et al. The miR-144/451 locus is required for erythroid homeostasis. *J Exp Med.* 2010; 207(7): 1351-1358. doi: 10.1084/jem.20100458
22. Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004; 116(2): 281-297. doi: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5
23. Russo F, Di Bella S, Bonnici V, Laganà A, Rainaldi G, Pellegrini M, et al. A knowledge base for the discovery of function, diagnostic potential and drug effects on cellular and extracellular miRNAs. *BMC genomics.* 2014; 15 Suppl 3: S4. doi: 10.1186/1471-2164-15-S3-S4
24. Kunej T, Godnic I, Ferdin J, Horvat S, Dovc P, Calin GA. Epigenetic regulation of microRNAs in cancer: An integrated review of literature. *Mutat Res.* 2011; 717(1-2): 77-84. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.03.008
25. Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, Huang KH, Lee MJ, et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem.* 2010; 56(11): 1733-1741. doi: 10.1373/clinchem.2010.147405
26. Fröhlich E, Mercuri A, Wu S, Salar-Behzadi S. Measurements of deposition, lung surface area and lung fluid for simulation of inhaled compounds. *Front Pharmacol.* 2016; 7: 181. doi: 10.3389/fphar.2016.00181
27. Makarova J, Turchinovich A, Shkurnikov M, Tonevitsky A. Extracellular miRNAs and cell-cell communication: Problems and prospects. *Trends Biochem Sci.* 2021; 46(8): 640-651. doi: 10.1016/j.tibs.2021.01.007
28. Banerjee AK, Blanco MR, Bruce EA, Honson DD, Chen LM, Chow A, et al. SARS-CoV-2 disrupts splicing, translation, and protein trafficking to suppress host defenses. *Cell.* 2020; 183(5): 1325e21-1339.e21. doi: 10.1016/j.cell.2020.10.004
29. Klatt N, Shields DC, Agoni C. Modelling the transitioning of SARS-CoV-2 nsp3 and nsp4 luminal regions towards a more stable state on complex formation. *Int J Mol Sci.* 2022; 24(1): 720. doi: 10.3390/ijms24010720
30. Yin LB, Song CB, Zheng JF, Fu YJ, Qian S, Jiang YJ, et al. Elevated expression of miR-19b enhances CD8<sup>+</sup> T cell function by targeting *PTEN* in HIV infected long term non-progressors with sustained viral suppression. *Front Immunol.* 2019; 9: 3140. doi: 10.3389/fimmu.2018.03140

#### Сведения об авторах

**Максим Юрьевич Шкурников** – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией исследований молекулярных механизмов долголетия факультета биологии и биотехнологии, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики»; инженер лаборатории микрофлюидных технологий для биомедицины, ФГБНУ «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук; научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: mshkurnikov@hse.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6668-5028>

**Колесников Сергей Иванович** – доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: sikolesnikov1@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

#### Information about the authors

**Maxim Yu. Shkurnikov** – Cand. Sc. (Med.), Head of the Laboratory for Research on Molecular Mechanisms of Longevity; Head of the Laboratory for Research on Molecular Mechanisms of Longevity, Faculty of Biology and Biotechnology, National Research University Higher School of Economics; Engineer, Laboratory of Microfluidic Technologies for Biomedicine, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences; Research Officer, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: mshkurnikov@hse.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6668-5028>

**Sergey I. Kolesnikov** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of RAS, Leading Research Officer, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: sikolesnikov1@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>