CC BY 4.0

https://doi.org/10.29001/2073-8552-2019-34-4-72–82
УДК 616.24-002-078.088:577.218

Некодирующие РНК в диагностике пневмонии

С.В. Михайлова[1], Д.Е. Иванощук[1], Е.В. Шахтшнейдер[2], Г.А. Степанов[3], А.С. Розанов[1], С.Е. Пельтек[1], М.И. Воевода[2]

[1] Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук,
630090, Российская Федерация, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

[2] Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр “Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук”»,
630089, Российская Федерация, Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1

[3] Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук,
630090, Российская Федерация, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8

Аннотация

Пневмония – тяжелое воспалительное заболевание, характеризующееся высокой смертностью во всем мире. Ранний диагноз внегоспитальной пневмонии и выявление вызвавшего ее инфекционного агента могут существенно снизить тяжесть ее течения и вероятность госпитализации пациента. Используемые на данный момент диагностические и прогностические методы не являются достаточно надежными, поэтому ряд специфических некодирующих РНК, циркулирующих в крови в составе внеклеточных везикул, рассматривают в последние годы как потенциальный биомаркер для дифференциации вирусных и бактериальных пневмоний, а также для предсказания осложнений и тяжести течения заболевания. В обзоре рассмотрены микроРНК, длинные некодирующие РНК и ксено-микроРНК, которые были предложены в качестве прогностических и диагностических маркеров, а также потенциальных таргетных препаратов при пневмонии.

Ключевые слова:	пневмония, микроРНК, ксено-микроРНК, длинные некодирующие РНК, внеклеточные везикулы, биомаркер.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	работа выполнена при частичной поддержке Комплексной программы фундаментальных исследований СО РАН АААА-А17-117112870181-6 и гранта РФФИ 17-04-02120.
Для цитирования:	Михайлова С.В., Иванощук Д.Е., Шахтшнейдер Е.В., Степанов Г.А., Розанов А.С., Пельтек С.Е., Воевода М.И. Некодирующие РНК в диагностике пневмонии. *Сибирский медицинский журнал*. 2019;34(4):72–82. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2019-34-4-72–82.

Non-coding RNAs in pneumonia diagnosis

Svetlana V. Mikhailova[1], Dinara E. Ivanoshchuk[1], Elena V. Shakhtshneyder[2], Grigoriy A. Stepanov[3], Alexey S. Rozanov[1], Sergey E. Peltek[1], Mikhail I. Voevoda[2]

[1] Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
10, Lavrentiev ave., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

[2] Institution of Internal and Preventive Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
175/1, B. Bogatkova str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

[3] Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
8, Lavrentiev ave., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

Михайлова Светлана Владимировна, e-mail: mikhail@bionet.nsc.ru.

Abstract

Pneumonia is a severe inflammatory disease responsible for high mortality worldwide, with about four million deaths each year. Early diagnosis of community-acquired pneumonia and the identification of the infectious agent can significantly reduce a pneumonia severity, a likelihood of patient's hospitalization, and pandemic rise. However, the diagnostic methods currently used are not reliable enough. Therefore, certain specific non-coding RNAs circulating in the blood inside the extracellular vesicles have been considered a potential biomarker for differentiating viral and bacterial pneumonia, as well as for predictions of disease severity and complications. We reviewed microRNAs, long non-coding RNAs, and xeno-microRNAs, which were proposed as prognostic and diagnostic markers and potential target drugs for pneumonia.

Keywords:	pneumonia, microRNA, xeno-microRNA, long non-coding RNA, extracellular vesicles, biomarker.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	The study was partially supported by SB RAS fundamental research program AAA-A-A17-117112870181-6 and by RFBR research project 17-04-02120.
For citation:	Mikhailova S.V., Ivanoshchuk D.E., Shakhtshneyder E.V., Stepanov G.A., Rozanov A.S., Peltek S.E., Voevoda M.I. Non-coding RNAs in pneumonia diagnosis. *The Siberian Medical Journal*. 2019;34(4):72–82. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2019-34-4-72–82.

Введение

Пневмония — воспалительное заболевание нижних отделов респираторного тракта, вызываемое в основном вирусной (вирусы гриппа А и В, аденовирус, респираторно-синцитиальные вирусы и вирусы парагриппа) или бактериальной (*Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Staphylococcus aureus, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae, Legionella pneumophila* и др.) инфекцией, реже грибками и паразитами. Помимо этого, пневмония может быть следствием неинфекционных процессов или иметь комбинированную причину. При соприкосновении инфекционного агента с клетками легочного эпителия последний начинает синтезировать радикалы кислорода и провоспалительные цитокины, привлекающие иммунные клетки к месту заражения. Макрофаги и дендритные клетки первыми включаются в борьбу с инфекцией, фагоцитируя бактерии и поврежденные клетки, и презентируют антигены MHC II. Кроме этого, макрофаги, являясь основным источником цитокинов и хемокинов, обеспечивают отрицательную обратную связь для предотвращения избыточной воспалительной реакции в легких [1]. Процесс дифференциации макрофагов на провоспалительные и противовоспалительные (обозначаемые M1 и M2 соответственно) называется поляризацией. Эти два класса клеток различаются наборами секретируемых сигнальных молекул: M1 производят значительное количество провоспалительных цитокинов TNFα, IL-6, IL-1β, IL-12, IL-23; M2 – противовоспалительные цитокины IL-4, IL-13, TGF-β. В зависимости от набора хемокинов и цитокинов к месту инфицирования привлекаются разные наборы клеток, отвечающих за гуморальный и клеточный иммунитет. Макрофаги M1 играют центральную роль в защите от инфекции, а M2 – в завершении воспалительной реакции и восстановлении поврежденных тканей легкого [2].

По статистике пневмония находится в десятке заболеваний с самой высокой смертностью как в развивающихся, так и в развитых странах, поэтому необходимость разработки тестов на раннее выявление пневмонии, определение вызвавшего ее инфекционного агента, предсказание и предотвращение осложнений стимулирует поиск новых молекулярных маркеров. Используемые для выявления вирусов тесты, основанные на определении антигена, имеют низкую чувствительность, иммуно-флюоресцентный анализ требует специальных условий для выполнения, анализ полимеразной цепной реакции (ПЦР-анализ) не учитывает постоянно возникающие новые разновидности вирусов. Выращивание культур бактерий для их идентификации требует нескольких дней, кроме того, на некоторые виды бактерий, вызывающих пневмонию, отсутствуют молекулярные тесты [3]. В результате этого у значительной доли пациентов инфекционный агент остается не выявленным, что приводит к неоптимальной схеме лечения. Для оценки риска осложнений и летального исхода пневмонии были предложены несколько молекулярных маркеров (прокальцитонин, С-реактивный белок, интерлейкин-6 и др.), которые оказались точнее использовавшихся ранее рискометров CURB-65 и PSI на основе симптомов и биохимических данных пациентов. Наибольшую прогностическую ценность для диагностики бактериальных инфекций, в особенности *S. pneumoniae,* имеет прокальцитонин, его уровень повышается в ответ на воспаление в случае заражения и коррелирует с тяжестью пневмонии. Более низкий его уровень коррелирует с низкой смертностью, независимо от CURB-65. Но этот тест информативен не для всех патогенных бактерий и неэффективен на ранних стадиях заражения [4, 5]. По некоторым оценкам, четверть пациентов с бактериальной инфекцией в США имеют низкий уровень прокальцитонина, поэтому необоснованно прекращают прием антибиотиков [6]. Принято считать, что основной причиной внегоспитальной пневмонии является инфекция *S. pneumoniae*, но в последние годы было показано, что у значительного числа пациентов пневмония имеет другой патогенез. Установлено, что у детей до пяти лет наиболее распространенной причиной внебольничной пневмонии является вирусная инфекция [7].

В 2012 г. были пересмотрены стандарты Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по лечению детей с внебольничной пневмонией (http://apps.who.int/iris/handle/10665/44774), исходя из того, что она с большой вероятностью обусловлена вирусной инфекцией. При анализе выборки из 64 пациентов с тяжелой внегоспитальной пневмонией в Китае вирусная инфекция была выявлена у 40,6% пациентов (респираторно-синцитиальные вирусы, вирусы гриппа, метапневмовирус, риновирус, вирусы парагриппа, коронавирус), бактериальная инфекция – у 34,4% пациентов (18,8% из которых *S. pneumoniae,* 7,8% – *Klebsiella pneumoniae*). У 25% пациентов инфекционный агент обнаружен не был [8]. Среди 1735 взрослых пациентов с внегоспитальной пневмонией в США патоген удалось определить у 37%, включая 10% с типичными бактериями, 4% с атипичными бактериями (*M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *Legionella) и* 24% с вирусной инфекцией [6].

Одним из перспективных направлений диагностики вирусных и бактериальных пневмоний, а также различных осложнений пневмонии сейчас считается анализ некодирующих РНК в крови пациента. В настоящее время описаны как микроРНК и длинные некодирующие РНК пациента, специфичные для различных инфекций и стадий заболевания, так и малые РНК бактерий и вирусов, которые потенциально могут быть использованы для диагностики и, возможно, терапии пневмонии. МикроРНК (miRNA, miR) – одноцепочечные РНК длиной 19–23 нуклеотида, кодируемые частично внутри генов, в интронах или экзонах, частично в межгенном пространстве [9]. Некоторые из описанных микроРНК считываются в ядре с помощью РНК-полимеразы II в виде независимого первичного транскрипта, другие – внутри интронных последовательностей генов. Короткие предшественники микроРНК вырезаются из первичного транскрипта рибонуклеазой, транспортируются в цитоплазму, где подвергаются дальнейшему процессингу. Взаимодействуя с 3’ – нетранслируемым регионом мРНК генов-мишеней, микроРНК способны вызывать ее деградацию или репрессию, то есть нарушение трансляции. Один тип микроРНК может участвовать в регуляции экспрессии сотен генов [9]. Биоинформационный анализ показал, что микроРНК потенциально могут контролировать экспрессию более чем 60% генов млекопитающих [10]. Длинные некодирующие РНК (long non-coding RNA, lncRNA) – одноцепочечные РНК длиной от 200 до десятков тысяч нуклеотидов, которые обычно проходят этапы созревания, аналогичные матричным РНК, но не содержат протяженных рамок считывания и не кодируют функциональных белков. В геноме человека, согласно базе данных NONCODE (www.noncode.org), предсказано около 100 тыс. генов длинных некодирующих РНК [11], в базе данных LncBook (https://bigd.big.ac.cn/lncbook/index) описано 268848 длинных некодирующих РНК, для 1502 из которых доказана ассоциация с заболеваниями, а для 97504 такая ассоциация предполагается [12]. Показано, что эти РНК, как и микроРНК, могут циркулировать внутри мембранных везикул и транспортироваться от клетки к клетке [13]. Известно, что некоторые из этих РНК (H19, GAS5 и др.) могут служить «ловушками» для микроРНК, снижая их концентрацию в клетке, или конкурировать с ними за связывание с мРНК. Длинные некодирующие РНК (MALAT1, HOTAIR, XIST) могут взаимодействовать внутри клеточного ядра с транскрипционными факторами, а также влиять на метилирование специфических генетических локусов и сплайсинг мРНК, как, например, NEAT1 [14, 15].

Считают, что клетки организма могут обмениваться молекулами РНК, секретируя и захватывая их в составе внеклеточных везикул. Предложена следующая классификация циркулирующих внеклеточных везикул согласно их размеру, плотности и происхождению: апоптотические тельца диаметром 1000–5000 нм, микровезикулы диаметром 100–1000 нм и экзосомы диаметром 30–150 нм [16]. Локализация внутри фосфолипидного бислоя внеклеточных везикул делает переносимые внутри них РНК устойчивыми к деградации нуклеазами, повторяющимся циклам замораживания и размораживания, нагреву [17, 18]. Экзосомы – самые мелкие из внеклеточных везикул, они образуются в поздних эндосомах/мультивезикулярных тельцах клеток. Считается, что большая часть внеклеточной микроРНК находится именно в них [16, 19, 20]. Однако показана также роль самых крупных везикул (апоптотических телец) в передаче микроРНК. Эти везикулы формируются при программируемой гибели клетки из ее плазматической мембраны [21, 22]. В нескольких работах на модельных животных было показано, что в жидкости из бронхоальвеолярного лаважа наборы микроРНК отличаются в разных типах везикул, а максимальная ее концентрация приходится на микровезикулы, отщепляемые от мембран альвеолярного эпителия [23]. Кроме этого, часть микроРНК может находиться в плазме крови вне везикул в комплексе с белком Argonaute 2, который описан как участник комплекса опосредованного микроРНК сайленсинга мРНК. Так, miR-122, экспрессируемая в гепатоцитах, была обнаружена во фракции свободных рибонуклеопротеидных комплексов плазмы крови. Предполагают, что в зависимости от типа клеток микроРНК могут выходить в плазму как внутри экзосом, так и с помощью белков-транспортеров в виде комплексов с белками и липопротеинами высокой плотности [24, 25]. Распределением микроРНК по разным фракциям плазмы крови может объясняться выявляемая в ходе экспериментов разница концентраций в цельной крови, сыворотке и плазме для некоторых видов микроРНК [26]. Устойчивость к эндонуклеазам и относительная нетребовательность к температурному режиму хранения образцов наряду с высокой консервативностью [14, 27] позволяют рассматривать некодирующие РНК в качестве потенциальных молекулярных маркеров для анализа различных патологических состояний организма [14]. Экзосомы с переносимыми внутри них РНК рассматриваются также в качестве потенциальных лекарственных препаратов. Показано, что внеклеточные везикулы эндотелиальных клеток сосудов, содержащие микроРНК miR-10a, при передаче их мо-

ноцитам могут снижать воспалительную реакцию через модулирование сигнального пути NF-κB [28]. На *in vivo* модели пневмонии, вызванной *Escherichia coli*, у мышей было показано, что введение микровезикул, производимых мезенхимальными стволовыми клетками человека, снижало воспалительную реакцию и повышало выживаемость [29].

МикроРНК

Бактериальные пневмонии

В результате изучения профилей микроРНК, выделенных из сыворотки и плевральной жидкости пациентов с различными заболеваниями легких, была показана дифференциальная экспрессия различающихся наборов микроРНК, характерных для разных патологических состояний. Однако при пневмонии наборы дифференциально экспрессирующихся микроРНК в значительной степени перекрывались с наборами таковых при туберкулезе, раке легкого, транссудате плевральной полости, например, уровень miR-155 достоверно отличал от контроля и пневмонию, и рак легкого [30, 31]. В большинстве проведённых исследований критериями дифференциальной экспрессии микроРНК была статистически значимая 2-кратная разница в их количестве относительно контроля. В ходе сравнения образцов сыворотки крови пациентов с тяжелой и нетяжелой формами внегоспитальной пневмонии неизвестной этиологии были выявлены 11 микроРНК, экспрессия которых менялась в одинаковом направлении у пациентов с тяжелой и нетяжелой формами пневмонии относительно здорового контроля. Для этих РНК были предсказаны вероятные гены-мишени. В результате было предположено, что ключевыми для развития пневмонии могут быть микроРНК let-7f-1, посттранскрипционно контролирующая экспрессию генов *RHOA*, *CTNNB1*, *POLR2K* и *APP*, а также miR-200b, мишенью которой является мРНК гена *KALRN* и miR-455, которая, возможно, является ингибитором развития пневмонии [32]. При сравнении профилей микроРНК крови пациентов с пневмонией, вызванной *S. pneumoniae*, с контрольной группой и группой добровольцев, искусственно зараженных вирусом гриппа H3N2, были выявлены РНК, отличающие эти группы друг от друга. Достоверных различий между зараженными вирусом и контролем (той же самой выборкой до заражения) найти не удалось. Уровень двух микроРНК miR-199-5p и miR-30a-5p был повышен в выборке с бактериальной пневмонией относительно контроля и пациентов с гриппом. Для miR-30a-5p ранее было показано участие в регуляции сигнального пути JAK/STAT, а для miR-199-5p — сигнального пути Notch. Концентрации еще 6 РНК miR-2355-5p, miR-769-5p, miR-150-5p, miR-5189-5p, miR-423-5p и let-7e-5p отличали бактериальную пневмонию от контроля. Пять РНК: miR-199и-5p, miR-30a-5p, miR-942-5p, miR-342-5p и miR-503-5p отличали бактериальную и вирусную инфекции [33]. В ходе обследования детей с пневмонией, вызванной инфекцией *Mycoplasma pneumoniae,* было показано, что в их крови был снижен уровень miR-29c, при этом повышены уровни IL-17 и растворимого белка B7-H3, который специфично усиливает продукцию интерферона γ и мРНК которого, как показано, является мишенью для miR-29c. Уровень B7-H3, кроме того, коррелировал с количеством дней, проведенных пациентом в лихорадке. Уровень miR-29c негативно коррелировал с уровнями IgG и IgM, специфичных к *M. pneumoniae*. В фазе выздоровления уровень miR-29c статистически значимо повышался, а уровни IL-17 и B7-H3, наоборот, падали [34].

Большое количество работ по выявлению маркерных микроРНК и выяснению их мишеней было проведено на клеточных линиях. Макрофаги линии THP-1 обрабатывали везикулами внешней мембраны (сферические мембранные образования 10–300 нм в диаметре) грамотрицательной бактерии *Legionella pneumophila*, которая способна вызывать тяжелую пневмонию. В результате наблюдали активацию макрофагов по типу M1 с высвобождением провоспалительных цитокинов, что в течение первых 24 ч инфекции замедляло репликацию бактерии, однако в дальнейшем обработанные везикулами макрофаги становились менее устойчивыми к инфекции *L. pneumophila.* Выживаемость инфицированных макрофагов повышалась, несмотря на внутриклеточный рост бактерии, кроме этого, происходила активация транскрипции противовоспалительной miRNA-146a и снижение уровня белка ее гена-мишени – связанной с IL-1 киназы IRAK-1. Предполагается, что бактерии *L. pneumophila* с помощью своих мембранных везикул облегчают собственную репликацию внутри макрофагов путем зависимой от miRNA-146a супрессии IRAK-1 [35].

После заражения *S. pneumoniae* макрофагов человека были выявлены достоверные изменения в экспрессии нескольких генетических кластеров и 10 микроРНК (в том числе miR-9, miR-124a, miR-155 и miR-146a, для которых авторами была предположена иммуномодулирующая функция). Последняя микроРНК была предсказана в качестве важного медиатора активации клеток в ответ на инфекцию. Было показано, что ее активация вызывала репрессию IRAK-1, TRAF-6, IL-1β. Предполагается, что miR-146a в случае пневмококковой инфекции обеспечивает отрицательную обратную связь, предотвращая избыточное воспаление [36]. Еще в одной работе была показана протективная роль сверхэкспрессии miR-146 на двух линиях клеток легочного эпителия после обработки липополисахаридами (ЛПС) – компонентами внешней мембраны грамотрицательных бактерий, являющимися сильным индуктором воспалительной реакции. В результате сверхэкспрессии этой микроРНК снижалось число подверженных апоптозу клеток и экспрессия провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6 и TNFα, происходила блокировка сигнальных путей NF-κB и Notch [37]. На макрофагальной клеточной линии после индукции ЛПС были выявлены повышенные по сравнению с контролем уровни белка TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6) и кодирующей его мРНК, которая является мишенью miR-124-3p. Сверхэкспрессия этой микроРНК снижала индуцированную ЛПС выработку воспалительных цитокинов TNFα и IL-1β макрофагами посредством ингибирования

сигнальных путей p38 MAPK и NF-κB. Предполагают, что miR-124-3p может ослаблять проявления пневмонии [38]. В выборке детей с острой фазой пневмонии (неопределенной этиологии) было выявлено статистически значимое снижение экспрессии miR-1247. В качестве гена-мишени этой микроРНК был предсказан ген хемокина *CCL16*. Известно, что кодируемый им CC-хемокин привлекает эозинофилы и лимфоциты к месту воспаления. С целью проверки механизма влияния miR-1247 на иммунный ответ изучали линию клеток легочного эпителия, индуцированную ЛПС. Сверхэкспрессия miR-1247 в них снижала число подверженных апоптозу клеток. Предполагают, что у пациентов с пневмонией miR-1247 ингибирует сигнальные пути JNK и NF-κB посредством связывания с мРНК CCL16 [39]. Было показано, что у детей с острой пневмонией (неопределенной этиологии) также снижена в сыворотке концентрация miR-3941. На линии клеток легочного эпителия, обработанной ЛПС, после введения вектора, обеспечивавшего сверхэкспрессию этой микроРНК, наблюдали снижение апоптоза. В качестве мишени miR-3941 предсказан ген инсулиноподобного фактора роста *IGF2*. Предполагается, что при пневмонии ингибирование miR-3941 способно активировать сигнальный путь PI3K/AKT [40]. На клеточной линии фибробластов после стимуляции их ЛПС исследовали влияние сверхэкспрессии и супрессии miR-194 на апоптоз и уровень ключевых компонентов сигнального пути NF-κB. Было показано, что сверхэкспрессия этой микроРНК значительно ослабляла действие ЛПС на апоптоз и экспрессию *IκBα, p-65* и *Bcl-3*, а ее супрессия давала обратный эффект, усиливая апоптоз, увеличивая экспрессию *p-65* и *Bcl-3* и снижая экспрессию *IκBα*. Была выдвинута гипотеза, что miR-194 может оказывать протективный эффект в случае пневмонии у детей, ослабляя обусловленный ЛПС апоптоз и ингибируя сигнальный путь NF-κB [41]. На выборке детей с бактериальной пневмонией было показано повышение уровня miR-20a в сыворотке по сравнению с контролем. На клеточной линии аденокарциномы легкого после стимуляции ее ЛПС проводили исследование влияния сверхэкспрессии микроРНК miR-20a на воспалительную реакцию. В ходе экспериментов было выявлено повышение уровня экспрессии IL-6, TNFα и С-реактивного белка в клетках после их обработки синтетическим аналогом miR-20a, а также дополнительное повышение уровня экспрессии *IκBα* и *NF-κB* по сравнению с контролем, обработанным только ЛПС. Наблюдаемое при пневмонии усиление экспрессии miR-20a, предположительно, способствует воспалению посредством активации сигнального пути NF-κB [42]. Было показано, что после инфицирования клеточной культуры моноцитов *L. pneumophila* в клетках возрастала экспрессия генов *SLIT2* и *SLIT3*, в интронах которых кодируется miR-218. В свою очередь, эта микроРНК ингибировала экспрессию гена *RICTOR*, усиливая продукцию провоспалительных цитокинов IL-6 и TNFα [43].

В экспериментах на мышиной модели было показано, что miR-127 при введении в трахею усиливает воспаление легочной ткани, а введение ее антагониста, наоборот, супрессирует продукцию провоспалительных цитокинов. Показано, что miR-127 регулирует поляризацию макрофагов, ослабляя экспрессию генов, активных в M1 и включая активные в M2 в ходе воспаления. Таким образом, предполагается, что miR-127 является молекулярным переключателем поляризации макрофагов [44].

Однако клеточные модели пневмонии на основе индукции ЛПС не всегда в полной мере отражают роль микроРНК *in vivo*. Картина усложняется тем, что пневмонии могут развиваться вследствие вирусной или комбинированной инфекции. Было показано, что разные клеточные линии и даже разные типы легочного эпителия в ответ на инфекционные агенты экспрессируют разные наборы микроРНК [45, 46]. Кроме типа клеток важно их микроокружение, так, на клеточной модели пневмонии после обработки ЛПС макрофагов изучали секрецию апоптотических телец и обнаружили в них изменение набора и количества микроРНК; при этом индуцировались miR-221 и miR-222. Полученные от макрофагов апоптотические тельца усиливали пролиферацию опухолевых и нормальных клеток легочного эпителия путем модуляции в них сигнального пути CDKN1B [22]. На модельных животных было показано, что эпителиальные клетки альвеол, в свою очередь, образуют микровезикулы, содержащие miR-17 и miR-221, с помощью которых активируют легочные макрофаги и способствуют воспалению [47].

Вирусные пневмонии

В ответ на инфицирование линий клеток альвеолярного и бронхиального эпителия человека двумя разными штаммами вируса гриппа А наблюдали специфическое повышение уровня ряда эндогенных микроРНК: miR-7, miR-132, miR-146-a, miR-187, miR-200-c и miR-1275. При этом концентрация miR-7, miR-132, miR-146-a была повышена постоянно в обеих клеточных линиях в ответ на оба штамма вируса; концентрация miR-187 и miR-1275 повышалась временно в процессе заражения; концентрация miR-200-c увеличивалась после инфекции только в альвеолярных клетках. Увеличения количества этих микроРНК не наблюдали в ответ на инфицирование клеток вирусами парагриппа типа 5, вирусом энцефаломиокардита, вирусом Сендай и вирусом везикулярного стоматита. Анализ профилей экспрессии в зараженных клетках выявил 26 мРНК-мишеней, регулируемых этими микроРНК. Два из этих генов-мишеней являются генами системы врожденного иммунного ответа: miR-132 и miR-1275 вызывали ингибирование трансляции мРНК *MAPK3*, а miR-146-a и miR-1275 — *IRAKI.* Интересно, что в аналогичных опытах с лабораторными животными достоверных изменений в экспрессии этих микроРНК обнаружено не было [45]. В выборке детей с аденовирусной пневмонией были проанализированы микроРНК крови в сравнении со здоровым контролем, уровень 77 из них статистически значимо отличался, 20 из них имели высокий уровень экспрессии, а у трех из них (miR-127-3p, miR-493-5p, miR-409-3p) были определены наибольшие

концентрации в крови. Для выяснения роли выявленных микроРНК в регуляции иммунного ответа в фибробластах линии IMR-90 ингибировали эти микроРНК, а затем проводили заражение клеток аденовирусом. В результате репликация вируса внутри клеток оказалась сниженной. Среди генов, экспрессия которых была достоверно снижена у пациентов с аденовирусной пневмонией, были выявлены потенциальные мишени miR-127-3p, miR-493-5p и miR-409-3p. Для miR-127-3p в списке мишеней были *PSMB5* и *ITGA6*, для miR-493-5p – *MYCBP2*, *TCF7L2*, *UBE2V2* и *HIPK1*, для miR-409-3p – *UBE2D2* и *KSNSL1*. Большинство предсказанных генов-мишеней этих микроРНК включено в МАРК-зависимый сигнальный путь, активирующий синтез провоспалительных цитокинов [48]. Еще одна работа на выборке детей с аденовирусной пневмонией выявила в экзосомной фракции сыворотки крови пациентов 18 микроРНК с повышенным и 10 с пониженным уровнем экспрессии. Было проведено попарное сравнение профилей экспрессии девяти наиболее дифференциально экспрессирующихся микроРНК у пациентов и в контроле, в результате было показано, что в парах miR-450a-5p и miR-103a-3p, а также miR-103b-5p и miR-98-5p микроРНК имели противоположные тренды экспрессии. Было предложено использовать соотношение концентраций этих РНК в качестве маркера аденовирусной инфекции [49]. При сравнении профилей микроРНК в клетках линии аденокарциномы легкого в ответ на заражение вирусами гриппа H1N1 или H5N1 («птичий грипп») были выявлены 20 РНК, высоко экспрессирующихся в случае заражения штаммом H5N1. Для двух из них, miR-200c-3p и miR-141-3p, в качестве мишени был предсказан ген ангиотензинпревращающего фермента 2 *ACE2.* Этот фермент отвечает за превращение гормона ангиотензина I в ангиотензин II, который обладает сосудосуживающей активностью и препятствует возникновению отека. Индуцированная инфекцией H5N1 экспрессия обеих выявленных микроРНК коррелировала с жизнеспособностью зараженных клеток и уровнем репликации вируса. В плазме пациентов с тяжелой пневмонией, большинство из которых имели симптомы острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), также было зафиксировано повышение уровня экспрессии miR-200c-3p. Подобная картина с повышением экспрессии miR-200c-3p наблюдалась при обработке культуры клеток ЛПС, синтетической двуцепочечной РНК (аналогом вирусной геномной РНК) и липотейхоевой кислотой (компонентом клеточной стенки грамположительных бактерий). Совокупность полученных результатов указывает на то, что супрессия ACE2 является универсальным механизмом при инфекции разными патогенами [46].

Ранняя диагностика осложнений пневмонии

Пневмония, вызванная *S. aureus,* является одной из основных причин развития сепсиса у пациентов. Между группой пациентов с пневмонией и сепсисом, выделенной на основе критериев SEPSIS 3.0, и группами контроля и пневмонии без сепсиса выявлена статистически значимая разница в уровне экспрессии miR-7110-5p и miR-223-3p в крови. Этот результат отличался от полученного ранее для пациентов с сепсисом, вызванным другими причинами, поэтому miR-223-3p предложена в качестве предиктора сепсиса при пневмонии [50]. На модельных животных было показано, что в случае пневмонии, вызванной *S. aureus,* экспрессия miR-182-5p увеличена в клетках кишечника. Ингибирование этой микроРНК в культивируемых клетках с помощью антисмысловой последовательности вызывало снижение концентрации IL-6 и TNF-α, ослабление воспаления и апоптоза, усиливало пролиферацию клеток и приводило к инактивации сигнального пути JAK/STAT. Ген сурфактантного белка D, отвечающего за врожденный иммунитет и играющего важную роль в защите от многих инфекций, был предсказан в качестве мишени для miR-182-5p. Из полученных данных был сделан вывод о том, что miR-182-5p может способствовать повреждению кишечника при вызванном стафилококковой пневмонией сепсисе [51].

ОРДС — одно из возможных осложнений тяжелой внегоспитальной пневмонии, характеризующееся высокой смертностью. У 53 пациентов отделения интенсивной терапии с тяжелой формой внегоспитальной пневмонии были выделены из сыворотки экзосомы, в которых был оценен уровень 27 микроРНК. Пациенты были разделены на группы сравнения в соответствии с наличием либо отсутствием у них ОРДС. У последних был выявлен статистически значимо повышенный уровень miR-146a, miR-27a, miR-126 и miR-155 и сниженный уровень miR-223 и miR-181b. Уровень miR-16 имел обратную корреляцию с индексом оксигенации, уровень miR-146a коррелировал с показателем шкалы смертности APACHE II, а miR-126 могла служить для предсказания смертности в течение 28 дней [52].

Длинные некодирующие РНК

В ходе анализа макрофагов периферической крови на выборке детей с пневмонией неизвестной этиологии было показано, что по сравнению с контролем в них была снижена экспрессия длинной некодирующей РНК GAS5 (growth arrest specific 5). При этом наблюдали поляризацию макрофагов в сторону фенотипа M2. Биоинформационный анализ выявил сайты связывания miR-455-5p в GAS5 и в 3'-нетранслируемой области мРНК *SOCS3* (suppressor of cytokine signaling 3). Трансфекция макрофагов, полученных из моноцитов периферической крови, вектором, обеспечивавшим сверхэкспрессию GAS5, приводила к их поляризации в фенотип M1, усилению в них экспрессии *SOCS3* и подавлению сигнального пути JAK2/STAT3. На основании полученных данных авторы выдвинули гипотезу, что GAS5 является «ловушкой» для miR-455-5p, облегчая в итоге супрессию сигнального пути JAK2/STAT3, участвующего в том числе в индукции поляризации макрофагов [53].

Ряд работ был посвящен анализу длинных некодирующих РНК на выборках пациентов с острой стадией пневмонии неизвестной этиологии. В культуре клеток линии фибробластов уровень экспрессии длинной некодирующей РНК SNHG16 (small nucleolar RNA host gene

16) был повышен после обработки клеток ЛПС, а нокдаун SNHG16 снижал повреждение фибробластов линии WI-38, ингибировал апоптотические изменения и синтез провоспалительных цитокинов. Было продемонстрировано, что эта РНК регулирует воспалительную реакцию в клеточной линии фибробластов, конкурентно связывая miR-146-5p, мишенью которой является мРНК воспалительного хемокина *CCL5*, участвующего в сигнальных путях JNK/NF-κB. [54]. Показано, что у таких пациентов значительно повышена экспрессия еще одной длинной некодирующей РНК XIST (X inactivate-specific transcript). После индукции воспалительного ответа на клеточной линии фибробластов WI-38 также был выявлен повышенный уровень РНК XIST. Нокаутирование соответствующего гена значительно снижало апоптотические изменения и уровень воспалительных цитокинов. Было установлено, что XIST связывает miR-370-3p, мишенью которой является мРНК толл-подобного рецептора 4 *TLR4,* участвующего в сигнальных путях JAK/STAT/NF-κB. У больных пневмонией отмечено повышение концентрации TLR4 в сыворотке крови [55]. Кроме того, в сыворотке крови у пациентов в острой фазе пневмонии было отмечено повышение концентрации длинной некодирующей РНК HAGLROS по сравнению со здоровым контролем. На клеточной линии фибробластов WI-38 после индукции ЛПС было описано повышение уровня экспрессия HAGLROS и снижение концентрации miR-100. Было показано, что одной из мишеней miR-100 является *NFκB3,* а нокдаун HAGLROS ингибирует активацию сигнального пути PI3K/AKT/NF-κB и ингибирует апоптотические изменения и аутофагию в клеточной линии фибробластов [56]. На другой клеточной линии фибробластов MRC-5 после индукции ЛПС было выявлено усиление апоптоза и продукции TNF-α и IL-6. Введение вектора, обеспечивающего сверхэкспрессию длинной некодирующей РНК TUG1 (taurine-upregulated 1), ослабляло апоптоз и приводило к репрессии miR-127. В то же время сверхэкспрессия miR-127 подавляла антиапоптотическое действие TUG1. Показано, что протективное действие TUG1 в ходе воспалительной реакции обусловлено регуляцией сигнальных путей NF-κB/p38MAPK [57].

Ксено-микроРНК

Небольшие молекулы РНК, синтезируемые многими вирусами, бактериями и паразитами, могут быть выявлены в ходе инфекции у пациентов. Такие РНК называют ксено-микроРНК (xeno-miRNA) [14]. На модельных животных, зараженных *S. pneumoniae*, было зарегистрировано 42 некодирующих малых бактериальных РНК длиной более 100 нуклеотидов, уровень которых был увеличен более чем в 2 раза в образцах плевральной жидкости по сравнению с культуральной средой [58]. При сравнении разных штаммов *S. pneumoniae* было выявлено, что 15% малых РНК одного штамма не синтезируются в клетках другого штамма [59]. Разные штаммы *S. aureus* также отличались наборами малых РНК, профили экспрессии некоторых из них различались в сыворотке человека относительно культуральной среды. Наибольшие отличия были показаны для малой РНК str25 длиной 180 нуклеотидов, присутствовавшей во всех изученных штаммах этой бактерии [60].

Заключение

Циркулирующие в крови некодирующие микроРНК перспективны для создания на их основе неинвазивных тестов на инфекции, вызывающие пневмонию, и осложнения, возникающие в ходе этого заболевания. Большое количество микроРНК, дифференциально экспрессирующихся при пневмонии, предложено исследователями в качестве диагностических и прогностических биомаркеров, при этом оптимальным, судя по всему, является создание диагностических панелей для анализа экспрессии одновременно нескольких микроРНК, вовлеченных в разные этапы активации врожденного иммунитета, в частности воспаления. В таблице 1 приведены дифференциально экспрессировавшиеся у пациентов и *in vitro* в инфицированных клетках некодирующие РНК, которые могут рассматриваться как потенциальные биомаркеры пневмонии.

Таблица 1. Изменение уровней экспрессии некоторых некодирующих РНК у пациентов с пневмониями и в клеточных линиях после инфицирования

Table 1. Changes in the expression levels of some non-coding RNAs in patients with pneumonia and in cell cultures after infection

Инфекция / контроль Infection / control	Дифференциально экспрессирующиеся РНК Differentially expressed RNA	Изменение экспрессии при инфекции Change in expression in case of infection	Ссылки References
Пневмония неизвестной этиологии / здоровые Pneumonia of unknown etiology / healthy	Пациенты Patients		
	miR-34a, miR-95, miR-193b, miR-200b, miR-455, miR-483	↑	[32]
	miR-664b, miR-3161, miR-3617, miR-4485, let-7f-1	↓	
	miR-1247	↓	[39]
	miR-3941	↓	[40]
	miR-200c-3p	↑	[46]
	GAS5	↑	[53]
	SNHG16	↑	[54]
	XIST	↑	[55]
	HAGLROS	↑	[56]

Окончание табл. 1
End of table 1

Инфекция / контроль Infection / control	Дифференциально экспрессирующиеся РНК Differentially expressed RNA	Изменение экспрессии при инфекции Change in expression in case of infection	Ссылки References
S. pneumoniae / грипп H3N2 и здоровые *S. pneumoniae* / H3N2 influenza virus and healthy	miR-30a-5p, miR-199-5p	↑	[33]
S. pneumoniae / грипп H3N2 *S. pneumoniae*/H3N2 influenza virus	miR-30a-5p, miR-199b-5p	↑	
	miR-342-5p, miR-503-5p, miR-942-5p	↓	
S. pneumoniae / здоровые *S. pneumoniae* / healthy	miR-30a-5p, miR-199-5p, miR-769-5p, miR-2355-5p	↑	
	miR-150-5p, miR-423-5p, miR-5189-5p, let-7e-5p	↓	
M. pneumoniae / здоровые *M. pneumoniae* / healthy	miR-29c	↓	[34]
Бактериальная пневмония / здоровые Bacterial pneumonia / healthy	miR-20a	↑	[42]
Аденовирус / здоровые Adenovirus / healthy	miR-99b-5p, miR-127-3p, miR-370-3p, miR-379-5p, miR-381-3p, miR-409-3p, miR-493-5p	↑	[48]
	miR-29a-3p, miR-101-3p, miR-150-5p, miR-342-3p	↓	
	miR-98-5p, miR-103a-3p, miR-152-3p, miR-185-5p, let-7f-5p	↑	[49]
	miR-103b, miR-145-5p, miR-206, miR-450a-5p	↓	
Линии клеток Cell culture			
L. pneumophila /контроль *L. pneumophila* / control	miRNA-146a	↑	[35]
	miR-218	↑	[43]
S. pneumoniae / контроль *S. pneumoniae* / control	miR-9, miR-124a, miR-146a, miR-155, miR-299-3p, miR-302a, miR-326, miR-342-5p, miR-410, miR-518d	↑	[36]
Вирусы гриппа A H1N1 и H5N1 / вирусы парагриппа типа 5, энцефаломиокардита, Сендай, везикулярного стоматита, контроль A H1N1 and H5N1 influenza viruses / EMCV, PIV5,VSV, Sendai viruses and control	miR-7, miR-132, miR-146-a, miR-187, miR-200-c, miR-1275	↑	[45]
Вирус гриппа H5N1 / вирус гриппа H1N1, контроль H5N1 influenza virus / H1N1 influenza virus and control	miR-10b-3p, miR-141-3p, miR-141-5p, miR-187-5p, miR-190b, miR-197-5p, miR-199b-5p, miR-200c-3p, miR-200c-5p, miR 451a, miR-449a, miR-499c-5p, miR-603, miR-615-5p, miR-1304-5p, miR-3180, miR 3180-3p, miR-3591-5p, miR-4682, miR-4756-5p	↑	[46]

Для ряда микроРНК и длинных некодирующих РНК показано противовоспалительное действие в случае пневмонии, поэтому предполагается возможность создания лекарственных препаратов на основе специфических РНК, заключенных в мембранные везикулы, которые смогут адресно доставлять активные молекулы в клетки нижних отделов легких и с их помощью перепрограммировать иммунные клетки пациента. В таблице 2 представлены некодирующие РНК, сверхэкспрессия которых на клеточных линиях приводила к ослаблению апоптоза, индуцированного ЛПС.

Однако механизмы активации экспрессии различных микроРНК плохо изучены, экспрессия многих из них изменяется не только в случае пневмонии, но и при онкологических заболеваниях легких. На ресурсе ClinicalTrials.gov пока нет упоминаний о каких-либо текущих клинических испытаниях микроРНК в качестве биомаркеров пневмонии, хотя по запросу «circulating miRNA» находятся 104 исследования различных патологий.

Таблица 2. Некодирующие РНК, сверхэкспрессия которых ослабляла апоптоз, индуцированный липополисахаридами, *in vitro*

Table 2. Non-coding RNAs whose overexpression alleviates LPS-induced apoptosis *in vitro*

Клеточная линия Cell culture	РНК RNA	Ссылки References
Легочный эпителий A549 и H1975 Lung epithelium A549 and H1975	miR-146	[37]
Макрофаги Ana-1 Macrophages Ana-1	miR-124-3p	[38]
Легочный эпителий A549 Lung epithelium A549	miR-1247	[39]
Легочный эпителий A549 Lung epithelium A549	miR-3941	[40]
Фибробласты WI38 Fibroblasts WI38	miR -194	[41]
Легочный эпителий A549 Lung epithelium A549	miR-20a	[42]
Фибробласты MRC-5 Fibroblasts MRC-5	TUG1	[57]

На данном этапе происходит интенсивное накопление информации о некодирующих РНК, которые могут быть использованы для дифференциации патогенов и особенностей иммунного ответа пациента.

Литература / References

1. Moldoveanu B., Otmishi P., Jani P., Walker J., Sarmiento X., Guardiola J. et al. Inflammatory mechanisms in the lung. *J. Inflamm. Res.* 2009;2:1–11.
2. Arango Duque G., Descoteaux A. Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Front. Immunol.* 2014;5:491. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00491.
3. Zaas A.K., Garner B.H., Tsalik E.L., Burke T., Woods C.W., Ginsburg G.S. The current epidemiology and clinical decisions surrounding acute respiratory infections. *Trends Mol. Med*. 2014;20(10):579–588. DOI: 10.1016/j.molmed.2014.08.001.
4. Anevlavis S., Bouros D. Community acquired bacterial pneumonia. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2010;11(3):361–374. DOI: 10.1517/14656560903508770.
5. Karakioulaki M., Stolz D. Biomarkers in Pneumonia-Beyond Procalcitonin. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(8):E2004. DOI: 10.3390/ijms20082004.
6. Self W.H., Balk R.A., Grijalva C.G., Williams D.J., Zhu Y., Anderson E.J. et al. Procalcitonin as a marker of etiology in adults hospitalized with community-acquired pneumonia. *Clin. Infect. Dis.* 2017;65(2):183–190. DOI: 10.1093/cid/cix317.
7. Nascimento-Carvalho C.M. Community-acquired pneumonia among children: the latest evidence for an updated management. *J. Pediatr. (Rio J.)*. 2019;S0021-7557(19)30493-0. DOI: 10.1016/j.jped.2019.08.003.
8. Choi S.H., Hong S.B., Ko G.B., Lee Y., Park H.J., Park S.Y. et al. Viral infection in patients with severe pneumonia requiring intensive care unit admission. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2012;186(4):325–332. DOI: 10.1164/rccm.201112-2240OC.
9. Roberts T.C. The microRNA machinery. *Adv. Exp. Med. Biol*. 2015;887:15–30. DOI: 10.1007/978-3-319-22380-3_2.
10. Friedman R.C., Farh K.K.H., Burge C.B., Bartel D.P. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*. 2009;19:92–105.
11. Zhao Y., Li H., Fang S., Kang Y., Wu W., Hao Y. et al. Noncode 2016:An informative and valuable data source of long non-coding RNAs. *Nucleic Acids Res*. 2016;44:D203–D208. DOI: 10.1093/nar/gkv1252.
12. Ma L., Cao J., Liu L., Du Q., Li Z., Zou D. et al. LncBook: a curated knowledgebase of human long non-coding RNAs. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(5):2699. DOI: 10.1093/nar/gkz073.
13. Kogure T., Yan I.K., Lin W.L., Patel T. Extracellular vesicle-mediated transfer of a novel long noncoding RNA TUC339: a mechanism of intercellular signaling in human hepatocellular cancer. *Genes. Cancer*. 2013;4(7-8):261–272. DOI: 10.1177/1947601913499020.
14. Anfossi S., Babayan A., Pantel K., Calin G.A. Clinical utility of circulating non-coding RNAs - an update. *Nat. Rev. Clin. Oncol*. 2018;15(9):541–563. DOI: 10.1038/s41571-018-0035-x.
15. Fernandes J.C.R., Acuña S.M., Aoki J.I., Floeter-Winter L.M., Muxel S.M. Long non-coding RNAs in the regulation of gene expression: physiology and disease. *Noncoding RNA.* 2019;5(1):E17. DOI: 10.3390/ncrna5010017.
16. Guiot J., Struman I., Louis E., Louis R., Malaise M., Njock M.S. Exosomal miRNAs in lung diseases: from biologic function to therapeutic targets. *J. Clin. Med*. 2019;8(9):E1345. DOI: 10.3390/jcm8091345.
17. Gilad S., Meiri E., Yogev Y., Benjamin S., Lebanony D., Yerushalmi N. et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One*. 2008;3(9):e3148. DOI: 10.1371/journal.pone.0003148.
18. Li Y., Zheng Q., Bao C., Li S., Guo W., Zhao J. et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis. *Cell Res*. 2015;25(8):981–984. DOI: 10.1038/cr.2015.82.
19. Raposo G., Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J. Cell Biol*. 2013;200(4):373–383. DOI: 10.1083/jcb.201211138.
20. Valadi H., Ekström K., Bossios A., Sjöstrand M., Lee J.J., Lötvall J.O. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat. Cell Biol*. 2007;9(6):654–659.
21. Yáñez-Mó M., Siljander P.R., Andreu Z., Zavec A.B., Borràs F.E., Buzas E.I. et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J. Extracell Vesicles*. 2015;4:27066. DOI: 10.3402/jev.v4.27066.
22. Zhu Z., Zhang D., Lee H., Menon A.A., Wu J., Hu K. et al. Macrophage-derived apoptotic bodies promote the proliferation of the recipient cells via shuttling microRNA-221/222. *J. Leukoc. Biol*. 2017;101(6):1349–1359. DOI: 10.1189/jlb.3A1116-483R.
23. Lee H., Groot M., Pinilla-Vera M., Fredenburgh L.E., Jin Y. Identification of miRNA-rich vesicles in bronchoalveolar lavage fluid: Insights into the function and heterogeneity of extracellular vesicles. *J. Control. Release*. 2019;294:43–52. DOI: 10.1016/j.jconrel.2018.12.008
24. Arroyo J.D., Chevillet J.R., Kroh E.M., Ruf I.K., Pritchard C.C., Gibson D.F. et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011;108(12):5003–5008. DOI: 10.1073/pnas.1019055108.
25. Vickers K.C., Palmisano B.T., Shoucri B.M., Shamburek R.D., Remaley A.T. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nat. Cell Biol.* 2011;13(4):423–433. DOI: 10.1038/ncb2210.
26. Nonaka C.K.V., Macêdo C.T., Cavalcante B.R.R., Alcântara A.C., Silva D.N., Bezerra M.D.R. et al. Circulating miRNAs as potential biomarkers associated with cardiac remodeling and fibrosis in chagas disease cardiomyopathy. *Int. J. Mol. Sci*. 2019;20(16):E4064. DOI: 10.3390/ijms20164064.
27. Bartel D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004;116(2):281–297. DOI: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5.
28. Njock M.-S., Cheng H.S., Dang L.T., Nazari-Jahantigh M., Lau A.C., Boudreau E. et al. Endothelial cells suppress monocyte activation through secretion of extracellular vesicles containing antiinflammatory microRNAs. *Blood.* 2015;125:3202–3212. DOI: 10.1182/blood-2014-11-611046.
29. Monsel A., Zhu Y., Gennai S., Hao Q., Hu S., Rouby J.-J. et al. Therapeutic effects of human mesenchymal stem cell–derived microvesicles in severe pneumonia in mice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2015;192:324–336. DOI: 10.1164/rccm.201410-1765OC.
30. Abd-El-Fattah A.A., Sadik N.A., Shaker O.G., Aboulftouh M.L. Differential microRNAs expression in serum of patients with lung cancer, pulmonary tuberculosis, and pneumonia. *Cell Biochem. Biophys*. 2013;67(3):875–884. DOI: 10.1007/s12013-013-9575-y.
31. Lin J., Wang Y., Zou Y.Q., Chen X., Huang B., Liu J. et al. Differential miRNA expression in pleural effusions derived from extracellular vesicles of patients with lung cancer, pulmonary tuberculosis, or pneumonia. *Tumour Biol.* 2016;37(12):15835–15845. DOI: 10.1007/s13277-016-5410-6.
32. Huang S., Feng C., Zhai Y.Z., Zhou X., Li B., Wang L.L. et al. Identification of miRNA biomarkers of pneumonia using RNA-sequencing and bioinformatics analysis. *Ex.p Ther. Med*. 2017; 13(4):1235–1244. DOI: 10.3892/etm.2017.4151.
33. Poore G.D., Ko E.R., Valente A., Henao R., Sumner K., Hong C. et al. A miRNA host response signature accurately discriminates acute respiratory infection etiologies. *Front. Microbiol.* 2018;9:2957. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02957.
34. Li Q.L., Wu Y.Y., Sun H.M., Gu W.J., Zhang X.X., Wang M.J. et al. The role of miR-29c/B7-H3/Th17 axis in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia. *Ital. J. Pediatr.* 2019;45(1):61. DOI: 10.1186/s13052-019-0655-5.
35. Jung A.L., Stoiber C., Herkt C.E., Schulz C., Bertrams W., Schmeck B. Legionella pneumophila-derived outer membrane vesicles promote bacterial replication in macrophages. *PLoS Pathog*. 2016;12(4):e1005592. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005592.
36. Griss K., Bertrams W., Sittka-Stark A., Seidel K., Stielow C., Hippenstiel S. et al. MicroRNAs constitute a negative feedback loop in Streptococcus pneumoniae-induced macrophage activation. *J. Infect. Dis*. 2016;214(2):288–299. DOI: 10.1093/infdis/jiw109.
37. Wang Q., Li D., Han Y., Ding X., Xu T., Tang B. MicroRNA-146 protects A549 and H1975 cells from LPS-induced apoptosis and inflammation injury. *J. Biosci*. 2017;42(4):637–645. DOI: 10.1007/s12038-017-9715-4.

38. Gao W., Yang H. MicroRNA-124-3p attenuates severe community-acquired pneumonia progression in macrophages by targeting tumor necrosis factor receptor-associated factor 6. *Int. J. Mol. Med*. 2019;43(2):1003–1010. DOI: 10.3892/ijmm.2018.4011.
39. Guo J., Cheng Y. MicroRNA-1247 inhibits lipopolysaccharides-induced acute pneumonia in A549 cells via targeting CC chemokine ligand 16. *Biomed. Pharmacother.* 2018;104:60–68. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.05.012.
40. Fei S., Cao L., Pan L. MicroRNA-3941 targets IGF2 to control LPS-induced acute pneumonia in A549 cells. *Mol. Med. Rep*. 2018;17(3):4019–4026. DOI: 10.3892/mmr.2017.8369.
41. Xie F., Yang L., Han L., Yue B. MicroRNA-194 regulates lipopolysaccharide-induced cell viability by inactivation of nuclear factor-κ B pathway. *Cell Physiol. Biochem*. 2017;43(6):2470–2478. DOI: 10.1159/000484453.
42. Liu Z., Yu H., Guo Q. MicroRNA-20a promotes inflammation via the nuclear factor-κB signaling pathway in pediatric pneumonia. *Mol. Med. Rep*. 2018;17(1):612–617. DOI: 10.3892/mmr.2017.7899.
43. Koriyama T., Yamakuchi M., Takenouchi K., Oyama Y., Takenaka H., Nagakura T. et al. Legionella pneumophila infection-mediated regulation of RICTOR via miR-218 in U937 macrophage cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019;508(2):608–613. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.11.093.
44. Ying H., Kang Y., Zhang H., Zhao D., Xia J., Lu Z. et al. MiR-127 modulates macrophage polarization and promotes lung inflammation and injury by activating the JNK pathway. *J. Immunol*. 2015;194(3):1239–1251. DOI: 10.4049/jimmunol.1402088.
45. Buggele W.A., Johnson K.E., Horvath C.M. Influenza A virus infection of human respiratory cells induces primary microRNA expression. *J. Biol. Chem*. 2012;287(37):31027–31040. DOI: 10.1074/jbc.M112.387670.
46. Liu Q., Du J., Yu X., Xu J., Huang F., Li X. et al. miRNA-200c-3p is crucial in acute respiratory distress syndrome. *Cell Discov*. 2017;3:17021. DOI: 10.1038/celldisc.2017.21.
47. Lee H., Zhang D., Zhu Z., Dela Cruz C.S., Jin Y. Epithelial cell-derived microvesicles activate macrophages and promote inflammation via microvesicle-containing microRNAs. *Sci. Rep.* 2016;6:35250. DOI: 10.1038/srep35250.
48. Huang F., Zhang J., Yang D., Zhang Y., Huang J., Yuan Y. et al. MicroRNA expression profile of whole blood is altered in Adenovirus-infected pneumonia children. *Mediators Inflamm*. 2018;2018:2320640. DOI: 10.1155/2018/2320640.
49. Huang F., Bai J., Zhang J., Yang D., Fan H., Huang L. et al. Identification of potential diagnostic biomarkers for pneumonia caused by adenovirus infection in children by screening serum exosomal microRNAs. *Mol. Med. Rep*. 2019;19(5):4306–4314. DOI: 10.3892/mmr.2019.10107.
50. Zhang W., Jia J., Liu Z., Si D., Ma L., Zhang G. Circulating microRNAs as biomarkers for Sepsis secondary to pneumonia diagnosed via Sepsis 3.0. *BMC Pulm. Med*. 2019;19(1):93. DOI: 10.1186/s12890-019-0836-4.
51. Du X., Wei J., Tian D., Wu M., Yan C., Hu P. et al. MiR-182-5p contributes to intestinal injury in a murine model of Staphylococcus aureus pneumonia-induced sepsis via targeting surfactant protein D. *J. Cell Physiol*. 2020;235(1):563–572. DOI: 10.1002/jcp.28995.
52. Wu X., Wu C., Gu W., Ji H., Zhu L. Serum exosomal microRNAs predict cute respiratory distress syndrome events in patients with severe community-acquired pneumonia. *Biomed. Res. Int.* 2019;2019:3612020. DOI: 10.1155/2019/3612020.
53. Chi X., Ding B., Zhang L., Zhang J., Wang J., Zhang W. lncRNA GAS5 promotes M1 macrophage polarization via miR-455-5p/SOCS3 pathway in childhood pneumonia. *J. Cell Physiol*. 2019;234(8):13242–13251. DOI: 10.1002/jcp.27996.
54. Zhou Z., Zhu Y., Gao G., Zhang Y. Long noncoding RNA SNHG16 targets miR-146a-5p/CCL5 to regulate LPS-induced WI-38 cell apoptosis and inflammation in acute pneumonia. *Life Sci*. 2019;228:189–197. DOI: 10.1016/j.lfs.2019.05.008.
55. Zhang Y., Zhu Y., Gao G., Zhou Z. Knockdown XIST alleviates LPS-induced WI-38 cell apoptosis and inflammation injury via targeting miR-370-3p/TLR4 in acute pneumonia. *Cell Biochem. Funct*. 2019;37(5):348–358. DOI: 10.1002/cbf.3392.
56. Liu M., Han T., Shi S., Chen E. Long noncoding RNA HAGLROS regulates cell apoptosis and autophagy in lipopolysaccharides-induced WI-38 cells via modulating miR-100/NF-κB axis. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2018;500(3):589–596. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.04.109.
57. Meng J., Chen Y., Zhang C. Protective impacts of long noncoding RNA taurine-upregulated 1 against lipopolysaccharide-evoked injury in MRC-5 cells through inhibition of microRNA-127. *J. Cell Biochem*. 2019;120(9):14928–14935. DOI: 10.1002/jcb.28755.
58. Ritchie N.D., Evans T.J. Dual RNA-seq in Streptococcus pneumoniae infection reveals compartmentalized neutrophil responses in lung and pleural space. *mSystems.* 2019;4(4):e00216-19. DOI: 10.1128/mSystems.00216-19.
59. Sinha D., Zimmer K., Cameron T.A., Rusch D.B., Winkler M.E., De Lay N.R. Redefining the small regulatory RNA transcriptome in Streptococcus pneumoniae Serotype 2 Strain D39. *J. Bacteriol*. 2019;201(14):e00764-18. DOI: 10.1128/JB.00764-18.
60. Carroll R.K., Weiss A., Broach W.H., Wiemels R.E., Mogen A.B., Rice K.C. et al. Genome-wide annotation, identification, and global transcriptomic analysis of regulatory or small RNA gene expression in Staphylococcus aureus. *MBio*. 2016;7(1):e01990-15. DOI: 10.1128/mBio.01990-15.

Информация о вкладе авторов

Воевода М.И., Пельтек С.Е. предложили концепцию обзора.

Михайлова С.В., Иванощук Д.Е., Шахтшнейдер Е.В. собирали и анализировали информацию.

Михайлова С.В. написала первую версию рукописи.

Степанов Г.А., Розанов А.С. внесли вклад в доработку исходного варианта.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и согласились нести ответственность за все аспекты работы, ручаясь за их точность и безупречность.

Information on author contributions

Voevoda M.I., Peltek S.E. proposed review concept.

Mikhailova S.V., Ivanoshchuk D.E., and Shakhtshneider E.V. collected and analyzed information.

Mikhailova S.V. wrote the first version of the manuscript.

Stepanov G.A. and Rozanov A.S. contributed to the refinement of the original version.

All authors gave their final consent to submit the manuscript and agreed to be responsible for all aspects of the work, vouching for their accuracy and impeccability.

Сведения об авторах

Михайлова Светлана Владимировна, канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики человека, Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0002-0897-5473.

E-mail: mikhail@bionet.nsc.ru.

Иванощук Динара Евгеньевна, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики человека, Институт цитологии

Information about the authors

Svetlana V. Mikhailova, Cand. Sci. (Biol.), Research Scientist, Laboratory of Human Molecular Genetics, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-0897-5473

E-mail: mikhail@bionet.nsc.ru.

Dinara E. Ivanoshchuk, Junior Research Scientist, Laboratory of Human Molecular Genetics, Institute of Cytology and Genetics, Siberian

и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0002-0403-545X.
E-mail: dinara2084@mail.ru.

Шахтшнейдер Елена Владимировна, канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0001-6108-1025.
E-mail: 2117409@mail.ru.

Степанов Григорий Александрович, канд. биол. наук, заведующий лабораторией геномного редактирования, Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0003-3393-3192.
E-mail: stepanov_g@ngs.ru.

Розанов Алексей Сергеевич, канд. биол. наук, научный сотрудник, заведующий сектором генетики промышленных микроорганизмов, Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0003-1715-6530.
E-mail: sibiryak.n@gmail.com.

Пельтек Сергей Евгеньевич, канд. биол. наук, заведующий лабораторией молекулярных биотехнологий, Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0002-3524-0456.
E-mail: peltek@bionet.nsc.ru.

Воевода Михаил Иванович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, руководитель научного направления фундаментальных и клинических исследований, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. ORCID 0000-0001-9425-413X.
E-mail: voevoda@bionet.nsc.ru.

Михайлова Светлана Владимировна, e-mail: mikhail@bionet.nsc.ru.

Branch of the Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-0403-545X.
E-mail: dinara2084@mail.ru

Elena V. Shakhtshneyder, Cand. Sci. (Med.), Leading Research Scientist, Laboratory of Molecular Genetic Studies of Therapeutic Diseases, Institution of Internal and Preventive Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0001-6108-1025.
E-mail: 2117409@mail.ru.

Grigoriy A. Stepanov, Cand. Sci. (Biol.), Head of Genome Editing Laboratory, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0003-3393-3192.
E-mail: stepanov_g@ngs.ru.

Alexey S. Rozanov, Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Scientist, Head of the Interinstitutional Junior Sector for Industrial Microbiology, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0003-1715-6530.
E-mail: sibiryak.n@gmail.com.

Sergey E. Peltek, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Biotechnologies, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-3524-0456.
E-mail: peltek@bionet.nsc.ru.

Mikhail I. Voevoda, Dr. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Scientific Direction of Fundamental and Clinical Research, Institution of Internal and Preventive Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0001-9425-413X.
E-mail: voevoda@bionet.nsc.ru.

Svetlana V. Mikhailova, e-mail: mikhail@bionet.nsc.ru.

Поступила 07.10.2019
Received October 07, 2019