

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МИКРОРНК В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ РЕСПИРАТОРНЫМ ДИСТРЕСС-СИНДРОМОМ

Микутин А.В.<sup>1</sup>, Аллилуев И.А.<sup>2</sup>, Коробка В.Л.<sup>1</sup>, Ушакова Н.Д.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Государственное бюджетное учреждение Ростовской области «Ростовская областная клиническая больница» (РОКБ), Ростов-на-Дону;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: alliluev@sfned.ru

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) представляет собой полиэтиологический синдром, характеризующийся формированием острой дыхательной недостаточности у пациентов в критическом состоянии. Своевременная диагностика имеет решающее значение для борьбы с высокой смертностью, связанной с ОРДС. Понимание модулирующей роли микроРНК в контроле ключевых путей передачи сигналов может помочь уточнить молекулярные механизмы, участвующие в регуляции чрезмерных воспалительных реакций в патогенезе ОРДС различной этиологии. В связи с этим целью работы стало исследование уровня циркулирующих микроРНК пациентов с ОРДС, ассоциированным с COVID-19 и онкологическим заболеванием. Методом RT-qPCR была проведена оценка экспрессии hsa-miR-16-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-34-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-155p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-182, hsa-miR-195-5p и hsa-miR-326 в плазме крови пациентов с ОРДС, ассоциированным с коронавирусной инфекцией (n=30), онкологическим заболеванием (рак легкого n=11, колоректальный рак n=19), и контрольной группы (n=25). Статистически значимые различия (p<0,05) между группой больных ОРДС, ассоциированным с COVID-19, и контрольной группы продемонстрировали hsa-miR-22-3p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=3,87$ ), hsa-miR-34-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=2,92$ ), hsa-miR-145-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=54,59$ ), hsa-miR-155p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=5,92$ ), hsa-miR-21-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,41$ ), hsa-miR-182 ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,40$ ) и hsa-miR-195-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=4,83$ ). У пациентов с ОРДС, ассоциированным с раком, изменение экспрессии относительно контрольной группы показали hsa-miR-16-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,19$ ), hsa-miR-22-3p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,35$ ), hsa-miR-145-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,53$ ), hsa-miR-155p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,21$ ), hsa-miR-21-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=5,01$ ), hsa-miR-182 ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,1$ ), hsa-miR-195-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,42$ ) и hsa-miR-326 ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,31$ ). Для hsa-miR-182 выявлены значимые однонаправленные изменения во всех клинических группах, что может рассматриваться как характерная черта ОРДС, не зависящая от этиологии. Выявленные изменения содержания микроРНК в плазме крови можно рассматривать как потенциальные диагностические биомаркеры ОРДС. Возможность применения такого подхода может быть уточнена в дальнейших масштабных исследованиях.

Ключевые слова: микроРНК, ОРДС, коронавирусная инфекция (COVID-19), циркулирующие микроРНК.

## STUDY OF THE EXPRESSION OF CIRCULATION MICRORNAS IN THE BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME

Mikutin A.V.<sup>1</sup>, Alliluev I.A.<sup>2</sup>, Korobka V.L.<sup>1</sup>, Ushakova N.D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>State Budgetary Institution of the Rostov Region "Rostov Regional Clinical Hospital" (ROCH), Rostov-on-Don;

<sup>2</sup>National Medical Research Oncology Center, Rostov-on-Don, e-mail: alliluev@sfned.ru

Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is a polyetiological syndrome characterized by the formation of acute respiratory failure in critically ill patients. Timely diagnosis is extremely important to manage the high mortality associated with ARDS. Understanding the modulation of the role of miRNAs in controlling the activation of signal transduction pathways may help clarify the molecular mechanisms involved in the regulation of excessive inflammatory responses in the pathogenesis of ARDS by determining the etiology. In this regard, the aim of the work was to study the level of circulating miRNAs in patients with ARDS associated with COVID-19 and cancer. The RT-qPCR method was used to evaluate the expression of hsa-miR-16-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-34-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-155p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-182, hsa-miR-195-5p and hsa-miR-326 in the blood plasma of patients with ARDS associated with coronavirus infection (n=30), cancer (lung cancer n=11, colorectal cancer n=19) and control group (n=25). Statistically significant differences (p<0,05) between a group of patients with ARDS associated with COVID-19 and a control group were demonstrated by hsa-miR-22-3p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=3,87$ ), hsa-miR-34-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=2,92$ ), hsa-miR-145-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=54,59$ ), hsa-miR-155p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=5,92$ ), hsa-miR-21-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,41$ ), hsa-miR-182 ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,40$ ) and hsa-miR-195-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=4,83$ ). In patients with cancer-associated ARDS, hsa-miR-16-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,19$ ), hsa-miR-22-3p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,35$ ), hsa-miR-145-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,53$ ), hsa-miR-155p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,21$ ), hsa-miR-21-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=5,01$ ), hsa-miR-182 ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,1$ ), hsa-miR-195-5p ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,42$ ) and hsa-miR-326 ( $2^{-\Delta\Delta Ct}=0,31$ ), miR-182 showed significant unidirectional changes in all clinical groups, which can be considered as a characteristic feature of ARDS independent of etiology. The changes in miRNA expression can be considered as

**potential diagnostic biomarkers of ARDS. The possibility of applying this approach can be clarified in further large-scale studies.**

Keywords: miRNA, ARDS, Coronavirus infection (COVID-19), circulating miRNAs.

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) представляет собой остро возникающее диффузное воспалительное поражение паренхимы легких, развивающееся как неспецифическая реакция на повреждающие факторы и приводящее к формированию острой дыхательной недостаточности. ОРДС остается одной из основных причин смертности в отделении интенсивной терапии, ее показатели составляют в среднем 30–40%. ОРДС является клинически гетерогенным синдромом, что частично объясняет трудности в диагностике и лечении пациентов с ОРДС. Его полиэтиологичность определяет особенности морфологических изменений легких и клиническое течение заболевания. Одним из возможных подходов по преодолению препятствий для разработки методов диагностики и лечения ОРДС является выявление однородных групп в общей популяции пациентов с различными этиопатологическими факторами ОРДС [1].

ОРДС развивается у 1/3 госпитализированных пациентов с COVID-19. Практически у 3/4 пациентов с COVID-19, поступивших в отделение интенсивной терапии, имеется ОРДС. ОРДС возникает как из-за прямого воздействия вируса, так и вследствие патологически активированного иммунного ответа. Точный механизм развития ОРДС при COVID-19 до конца не изучен, однако считается, что одним из основных факторов является индукция цитокинового шторма. Активированные клетки иммунной системы выделяют несколько продуктов, таких как миелопероксидаза нейтрофилов, основные и катионные белки эозинофилов, а также образуют избыточное количество провоспалительных цитокинов, включая ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ , что может привести к прогрессии ОРДС и обширному повреждению тканей, а в итоге - к смерти пациента [2].

Другой уязвимой группой являются онкологические больные. ОРДС возникает у половины пациентов отделения интенсивной терапии, получающих лечение по поводу злокачественных новообразований, и является причиной высокого процента смертности в послеоперационном периоде. Пациенты с онкологическими заболеваниями восприимчивы к целому ряду перекрывающихся факторов риска ОРДС, включая первичные поражения легких (пневмония, аспирация, хирургическая и нехирургическая травма грудной клетки и/или легких) и вторичные источники повреждения (лекарственная токсичность, гипертрансфузия, сепсис или септический шок, возникший в результате внелегочных инфекций или неинфекционной этиологии). Длительная терапия таких пациентов становится причиной задержки проведения лечения по поводу основного заболевания. Остаточная органная дисфункция после ОРДС может отсрочить или сделать невозможным последующее лечение рака. Стратегия лечения ОРДС у онкологических больных в значительной степени

экстраполирована на основе исследований, посвященных ОРДС среди пациентов в целом. В этой связи необходимы исследования, посвященные проблемам онкологических больных с развившимся ОРДС [3].

К сожалению, диагностика ОРДС не может быть проведена с помощью одного лабораторного метода исследования. В настоящее время диагностика ОРДС основывается на клинических параметрах, таких как кислородная насыщенность крови, уровень дыхательной недостаточности, рентгеновские и компьютерные томографические изображения легких, а также на данных газоанализа артериальной крови. Кроме того, для диагностики ОРДС могут быть использованы некоторые дополнительные методы, такие как эхокардиография, биопсия легких и другие процедуры. Отсутствие специфического биомаркера ОРДС является одним из основных препятствий в предупреждении развития и успешном лечении этого синдрома [4].

В настоящее время все больше данных свидетельствует о том, что изменение экспрессии специфических микроРНК коррелирует с развитием патологического процесса, и микроРНК рассматриваются как потенциальные биомаркеры для диагностики заболеваний. За последние годы проведено большое количество исследований, которые показывают значение микроРНК в развитии элементов иммунной системы. МикроРНК являются ключевыми регуляторами иммунного ответа и влияют на процессы созревания, пролиферации, дифференцировки и активации клеток иммунной системы, на продукцию антител и высвобождение медиаторов воспаления [5; 6].

Циркулирующие микроРНК обнаруживаются в большинстве биологических жидкостей и считаются общепризнанными неинвазивными биомаркерами многих патологий человека. В отличие от внутриклеточных видов РНК, внеклеточные микроРНК стабильны и устойчивы к деградации при комнатной температуре до четырех дней. Они сохраняют свою функциональную активность даже в неблагоприятных условиях, таких как кипячение, многократные циклы замораживания-оттаивания и высокий или низкий показатель pH. Использование микроРНК в качестве циркулирующих биомаркеров привлекательно, поскольку для получения образца не требуется инвазивный отбор проб, такой как биопсия. Однако необходимо учитывать, что обнаружение микроРНК в биологических жидкостях может быть затруднено из-за их низкой концентрации [5; 6].

Таким образом, для глубокого понимания патофизиологии заболевания, разработки методов диагностики и возможности терапевтических вмешательств необходимо проведение комплексной оценки молекулярно-генетических вариаций пациентов с различными этиопатологическими факторами развития ОРДС. В связи с этим целью данной работы стало исследование дифференциальной экспрессии циркулирующих микроРНК в плазме пациентов с ОРДС, ассоциированным с коронавирусной инфекцией и онкологическим заболеванием.

## Материалы и методы исследования

В исследование были включены образцы плазмы крови 30 больных с ОРДС (54,3±8,7 года), получивших хирургическое лечение по поводу немелкоклеточного рака легкого (n=11) и колоректального рака (n=19), 30 больных с ОРДС, ассоциированным с COVID-19 (53,1±9,7) и 25 условно здоровых доноров (50,3±6,7), которых использовали в качестве контрольной группы.

Цельную кровь собирали в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой в качестве антикоагулянта. Не позже 2 ч после сбора кровь центрифугировали 10 мин. при 1500 g, плазму перемещали в пробирки без РНКаз и центрифугировали 10 мин. при 16 000 g и 4 °С. Далее плазму переносили в криопробирки и хранили при температуре –80 °С. Образцы плазмы с гемолизом были исключены из исследования.

Методом RT-qPCR определяли изменение относительной экспрессии микроРНК hsa-miR-16-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-34-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-155p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-182, hsa-miR-195-5p, hsa-miR-326. В качестве референсной последовательности использовали микроРНК cel-miR-39. Выделение тотальной РНК проводили с использованием автоматической станции QIAcube Connect (Qiagen, Германия) с применением набора RNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия).

Концентрацию растворов ДНК или РНК измеряли на флуориметре Qubit 2.0® (Invitrogen, США) с использованием набора Quant-iT™ dsDNA High-Sensitivity (HS) Assay Kit (Invitrogen, США) или Quant-iT™ RNA High Sensitivity (HS) Assay Kit.

МикроРНК, присутствующие в тотальной РНК, сначала полиаденилировали в общем объеме 10 мкл, содержащем 1 мкл 10-кратного поли(А)полимеразного буфера, 1 мкл 10 мМ АТФ, 2,5 единицы поли(А)полимеразы (New England Biolabs, США) в течение 30 мин. при температуре 37 °С. Полиаденилированные микроРНК подвергали реакции обратной транскрипции с использованием универсального обратного праймера, который содержит олиго(dТ)последовательность и адаптерную последовательность на 5'-конце. К реакционной смеси (10 мкл) добавляли 4 мкл 5 × RT буфера, 1 мкл 25 мМ dNTP, 1 мкл 10 мкМ универсального праймера и 200 единиц обратной транскриптазы M-MuLV («Евроген», Российская Федерация) и доводили конечный объем до 20 мкл деионизованной водой без нуклеаз. Обратную транскрипцию проводили при 42 °С в течение 45 минут с последующей инкубацией при 85 °С в течение 5 минут для инактивации фермента обратной транскриптазы. Полученную таким кДНК разбавляли в 10 раз деионизованной водой без РНКаз. 5 мкл разведенной кДНК использовали в реакциях RT-PCR.

ПЦР-микс содержал 10x реакционный буфер, 200 нМ dNTP, 1x EvaGreen, 1 ед. HSTaqPol («Евроген», Российская Федерация), 250нМ прямого (F) и обратного (R) праймера.

RT-PCR проводили с помощью термоциклера CFX96 (Bio-Rad, США) при следующих условиях: начальная денатурация при 95 °С в течение 3 минут с последующими 40 циклами денатурации (95 °С в течение 10 секунд), отжига (60 °С в течение 30 секунд) и элонгации (72 °С в течение 30 секунд). Специфичность праймеров оценивалась с помощью плавления продуктов ПЦР при диапазоне температур 60-95 °С. Для оценки изменения относительной экспрессии микроРНК использовали метод  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

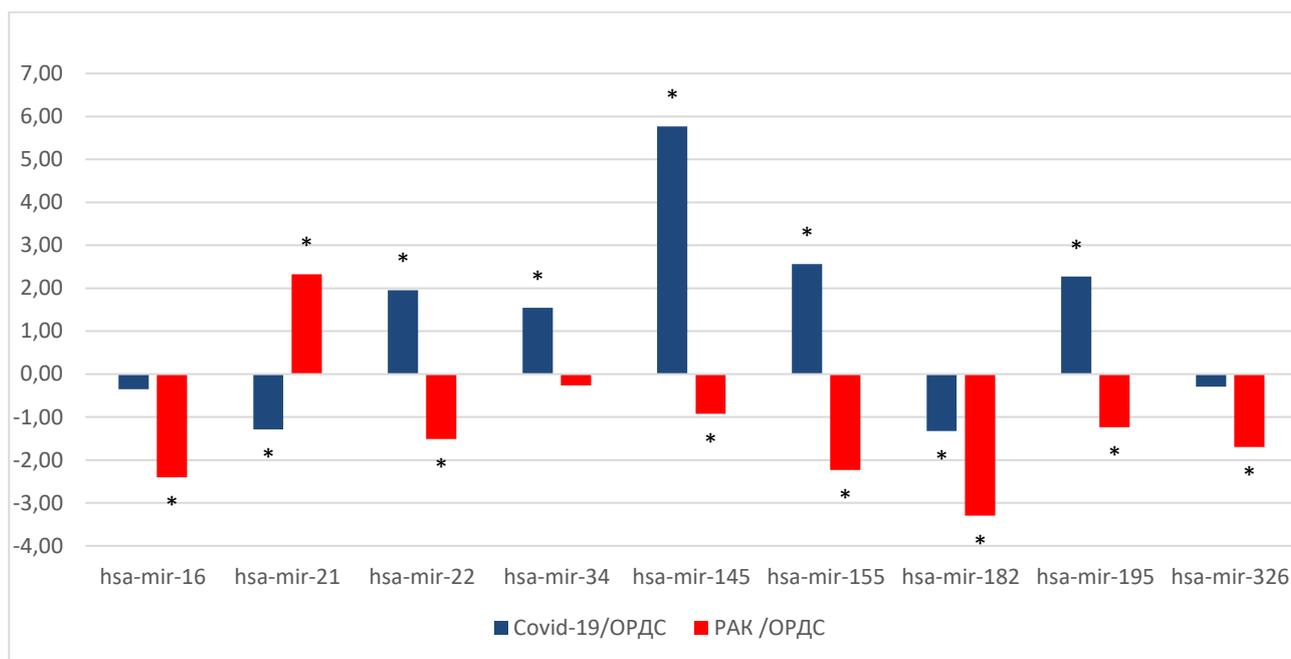
Статистический анализ выполняли с помощью теста ANOVA и критерия Тьюки. Межгрупповые различия рассматривали как статистически значимые при  $p < 0,05$ . Для статистических тестов использовали GraphPad Prism version 8.0 (GraphPad Software, США)

### Результаты исследования и их обсуждение

В настоящем исследовании был определен профиль экспрессии циркулирующих микроРНК hsa-miR-16-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-34-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-155p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-182, hsa-miR-195-5p, hsa-miR-326. Выбор данных микроРНК был обоснован их участием в регуляции воспалительных процессов, основанных на собственных и литературных данных. Уровни относительной экспрессии микроРНК в плазме крови здоровых добровольцев были использованы в качестве референтных значений относительной экспрессии микроРНК. Статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) между группой больных ОРДС, ассоциированным с COVID-19, и контрольной группой продемонстрировали hsa-miR-22-3p, hsa-miR-34-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-155p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-182 и hsa-miR-195-5p. У пациентов с ОРДС, ассоциированным с раком, изменение экспрессии относительно контрольной группы показали hsa-miR-16-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-155p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-182, hsa-miR-195-5p и hsa-miR-326 (рисунок, таблица).

Изменение относительной экспрессии микроРНК hsa-miR-16-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-34-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-155p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-182, hsa-miR-195-5p, hsa-miR-326

микроРНК	$2^{-\Delta\Delta Ct}$ (COVID-19)	p	$2^{-\Delta\Delta Ct}$ (рак)	p
hsa-miR-16-5p	0.78	0.8475	0.19	0.0005
hsa-miR-21-5p	0.41	0.0024	5.01	0.0014
hsa-miR-22-3p	3.87	0.0379	0.35	0.0096
hsa-miR-34-5p	2.92	0.0066	0.83	0.3778
hsa-miR-145-5p	54.59	<0.0001	0.53	0.0552
hsa-miR-155p	5.92	0.0245	0.21	0.0009
hsa-miR-182	0.40	0.0130	0.10	<0.0001
hsa-miR-195-5p	4.83	0.0142	0.42	0.0210
hsa-miR-326	0.82	0.7358	0.31	<0.0001



*Изменение относительной экспрессии ( $\log_2 2^{-\Delta\Delta C_t}$ ) микроРНК hsa-miR-16-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-34-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-155p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-182, hsa-miR-195-5p и hsa-miR-326 в плазме крови пациентов с ОРДС, ассоциированным с коронавирусной инфекцией или онкологическим заболеванием (\*-  $p < 0,05$ )*

Экспрессия hsa-miR-16-5p значительно снижалась в группе пациентов с ОРДС, ассоциированным с онкологическим заболеванием ( $p=0.0005$ ), в то время как в группе пациентов с COVID-19 статистически значимых отличий выявлено не было ( $p=0.8475$ ). hsa-miR-16-5p принимает участие в регуляции воспаления и программированной клеточной гибели. Многие исследования показали противовоспалительный эффект hsa-miR-16-5p при атеросклерозе, остром повреждении легких и сепсисе. Эксперименты на лабораторных животных продемонстрировали, что hsa-miR-16-5p снижает тяжесть острого повреждения легких, регулируя сигнальный путь TLR4/NF-κB, и тем самым ослабляет воспалительную реакцию [7].

Экспрессия hsa-miR-21-5p значительно отличалась во всех клинических группах относительно контрольных значений. В группе пациентов с COVID-19 экспрессия данной микроРНК снижалась ( $p=0.0024$ ), тогда как у онкологических больных показатель экспрессии возрастал в пять раз ( $p=0.0014$ ). МикроРНК hsa-miR-21-5p является одной из наиболее изученных микроРНК, связанных с онкологическими заболеваниями. hsa-miR-21-5p является известным онкогеном при многих видах рака человека, включая рак яичников, немелкоклеточный рак легкого и колоректальный рак [5]. Однако биологическая роль hsa-miR-21-5p при остром повреждении легких остается в значительной степени неизвестной.

Недавние исследования подтвердили, что сверхэкспрессия hsa-miR-21-5p может значительно снизить апоптоз в альвеолярных эпителиальных клетках [8].

Обнаружено статистически значимое увеличение экспрессии hsa-miR-23-5p в группе пациентов с COVID-19 в 3 раза ( $p=0.0379$ ), в то время как у онкологических пациентов этот показатель снижался ( $p=0.0096$ ). hsa-miR-23-5p выступает в качестве супрессора опухолей при некоторых видах рака, включая рак молочной железы, яичников, печени, предстательной железы и шейки матки. Однако hsa-miR-23-5p также может функционировать как онкоген, способствуя прогрессированию рака печени, рака предстательной железы и хронического лимфоцитарного лейкоза [5]. микроРНК hsa-miR-23-5p является одним из регуляторов WNT/b-катенин сигнального пути, который играет ключевую роль в индукции ОРДС [9]. Можно предположить, что изменение экспрессии hsa-miR-23-5p может быть связано с ее ролью в регуляции развития ОРДС.

Экспрессия hsa-miR-34-5p возрастала в группе пациентов с COVID-19 в три раза ( $p=0.0066$ ), тогда как у онкологических больных изменение относительной экспрессии не имело статистически значимых отличий ( $p=0.3778$ ). Известно, что ингибирование hsa-miR-34-5p ослабляет воспаление легких и апоптоз в экспериментальной модели ОРДС на лабораторных животных, индуцированной ЛПС, путем инактивации програнулина. Програнулин играет критическую роль в ряде физиологических и патологических процессов, включая заживление ран, воспаление и апоптоз. У лабораторных мышей с дефицитом програнулина наблюдается тяжелое повреждение легких и чрезмерные воспалительные реакции при развитии сепсиса [10].

Экспрессия hsa-miR-145-5p повышалась в группе пациентов с COVID-19 в 54 раза ( $p<0.0001$ ), тогда как у онкологических больных показатель экспрессии не имел статистически значимых отличий ( $p=0.0552$ ). Сверхэкспрессия hsa-miR-145-5p инактивирует сигнальный путь TGF- $\beta$ 1/Smad и ослабляет воспалительное повреждение. С другой стороны, нарушение регуляции сигнального пути TGF- $\beta$ /Smad является патологическим активатором фиброза. Следует отметить, что hsa-miR-145-5p является маркером тяжелой формы течения COVID-19, что может указывать на его важную роль в развитии более тяжелых форм заболевания [11].

МикроРНК hsa-miR-155-5p является одной из наиболее изученных в контексте иммунных и воспалительных процессов. Экспрессия hsa-miR-155-5p возрастала в плазме крови пациентов с COVID-19 в шесть раз ( $p=0.0066$ ), тогда как у онкологических больных показатель экспрессии снижался ( $p=0.0009$ ). hsa-miR-155-5p играет важную роль в иммунной регуляции и характеризуется высоким уровнем экспрессии в лимфоидных клетках и умеренным в ткани легких. Сверхэкспрессия hsa-miR-155-5p может подавлять передачу сигналов NF- $\kappa$ B. Ее экспрессия повышена при многих заболеваниях, включая рак,

аутоиммунные заболевания, инфекции и болезни сердечно-сосудистой системы. hsa-miR-155-5p регулирует экспрессию генов, контролирующих дифференциацию и активацию Т- и В-лимфоцитов, макрофагов и дендритных клеток [12].

Экспрессия hsa-miR-182 значительно снижалась во всех клинических группах ( $p=0.0130$  и  $p<0.0001$ ) относительно контрольных значений. Показано, что hsa-miR-182 влияет на секрецию провоспалительных цитокинов. hsa-miR-182 подавляет активацию NF- $\kappa$ B, влияя на экспрессию TLR4. Было подтверждено, что hsa-miR-182 напрямую регулирует экспрессию TLR4 на посттранскрипционном уровне путем связывания с 3'-нетранслируемой областью мРНК TLR4 [13]. Следует отметить, что только hsa-miR-182 показала значимые однонаправленные изменения во всех клинических группах, что может рассматриваться как характерная черта ОРДС, не зависящая от этиологии.

Экспрессия hsa-miR-195-5p возрастала в группе пациентов с COVID-19 в 4,83 раза ( $p=0.0142$ ), тогда как у онкологических больных показатель экспрессии снижался ( $p=0.0210$ ). hsa-miR-195-5p считается опухолевым супрессором и предполагается, что она действует как противовоспалительный регулятор макрофагов, ингибируя TLR2 и уменьшая уровни IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$  [14].

Экспрессия hsa-miR-326 значительно снижалась в группе пациентов с раком ( $p <0.0001$ ), тогда как в группе пациентов с COVID-19 отличий выявлено не было ( $p=0.7358$ ). hsa-miR-326 первоначально была идентифицирована как микроРНК, связанная с развитием аутоиммунных реакций. Однако последующие исследования показали, что данная микроРНК также действует как онкосупрессор при многих типах онкологических заболеваний [15].

### **Заключение**

Выявленное изменение экспрессии микроРНК hsa-miR-182 в плазме крови пациентов с ОРДС может рассматриваться как характерная черта, не зависящая от его этиопатологических факторов развития, и как потенциальный диагностический биомаркер ОРДС, ассоциированного с коронавирусной инфекцией и онкологическим заболеванием. Возможность применения данного подхода может быть уточнена в дальнейших масштабных исследованиях.

### **Список литературы**

1. Parcha V., Kalra R., Bhatt S. P., Berra L., Arora G., Arora P. Trends and geographic variation in acute respiratory failure and ARDS mortality in the United States // Chest. 2021. Vol. 159. №. 4. P. 1460-1472. DOI:10.1016/j.chest.2020.10.042.

2. Gibson P. G., Qin L., Pua S. H. COVID-19 acute respiratory distress syndrome (ARDS): clinical features and differences from typical pre-COVID-19 ARDS // *Medical Journal of Australia*. 2020. Vol. 213. №. 2. P. 54-56. DOI: 10.5694/mja2.50674.
3. Young A.Y., Shannon V.R. Acute respiratory distress syndrome in cancer patients // *Oncologic Critical Care*. 2020. P. 557-582. DOI: 10.1007/978-3-319-74588-6\_48.
4. Blondonnet R., Constantin J.M., Sapin V., Jabaudon M. A pathophysiologic approach to biomarkers in acute respiratory distress syndrome // *Disease markers*. 2016. Vol. 2016. DOI: 10.1155/2016/3501373.
5. Valihrach L., Androvic P., Kubista M. Circulating miRNA analysis for cancer diagnostics and therapy // *Molecular Aspects of Medicine*. 2020. Vol. 72. P. 100825. DOI: 10.1016/j.mam.2019.10.002.
6. Kit O.I., Pushkin A.A., Alliluyev I.A., Timoshkina N.N., Gvaldin D.Y., Rostorguev E.E., Kuznetsova N.S. Differential expression of microRNAs targeting genes associated with the development of high-grade gliomas // *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2022. Vol. 23. №. 1. P. 1-9. DOI: 10.1186/s43042-022-00245-5.
7. Yang Y., Yang F., Yu X., Wang B., Yang Y., Zhou X., Zhou X. miR-16 inhibits NLRP3 inflammasome activation by directly targeting TLR4 in acute lung injury // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019. Vol. 112. P. 108664. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108664.
8. Qin S., Hui Y., Liu G., Mei H., Chen M. miR-21-5p targets PTEN and reduces H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis in rat AECII cells // *Int. J. Clin. Exp. Med*. 2019. Vol. 12. №. 5. P. 5630-5637.
9. Liu S., Liu C., Wang Z., Huang J., Zeng Q. microRNA-23a-5p acts as a potential biomarker for sepsis-induced acute respiratory distress syndrome in early stage // *Cellular and molecular biology*. 2016. Vol. 62. №. 2. P. 31-37.
10. Xie W., Lu Q., Wang K., Lu J., Gu X., Zhu D., Guo Z. miR-34b-5p inhibition attenuates lung inflammation and apoptosis in an LPS-induced acute lung injury mouse model by targeting progranulin // *Journal of cellular physiology*. 2018. Vol. 233. №. 9. P. 6615-6631. DOI: 10.1002/jcp.26274.
11. Parray A., Mir F.A., Doudin A., Iskandarani A., Danjuma I.M.M., Kuni R.A.T., Cyprian F. SnoRNAs and miRNAs networks underlying COVID-19 disease severity // *Vaccines*. 2021. Vol. 9. №. 10. P. 1056. DOI: 10.3390/vaccines9101056.
12. Abbasi-Kolli M., Nahand J.S., Kiani S.J., Khanaliha K., Khatami A.R., Taghizadieh M., Bokharaei-Salim F. The expression patterns of MALAT-1, NEAT-1, THRIL, and miR-155-5p in the acute to the post-acute phase of COVID-19 disease // *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2022. Vol. 26. DOI: 10.1016/j.bjid.2022.102354.

13. Lv S., Qu X., Qu Y., Wang Y. LncRNA NEAT1 Knockdown Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury by Modulation of miR-182-5p/WISP1 Axis // *Biochemical Genetics*. 2021. Vol. 59. №. 6. P. 1631-1647. DOI: 10.1007/s10528-021-10081-8.
14. Bras J.P., Silva A.M., Calin G.A., Barbosa M.A., Santos S.G., Almeida M.I. miR-195 inhibits macrophages pro-inflammatory profile and impacts the crosstalk with smooth muscle cells // *PloS one*. 2017. Vol. 12. №. 11. P. e0188530. DOI: 10.1371/journal.pone.0188530.
15. Wang Z., Yan J., Yang F., Wang D., Lu Y., Liu L. MicroRNA-326 prevents sepsis-induced acute lung injury via targeting TLR4 // *Free Radical Research*. 2020. Vol. 54. №. 6. P. 408-418. DOI: 10.1080/10715762.2020.1781847.