

# ГИПЕРЭКСПРЕССИЯ miR-222-3p В КУЛЬТУРЕ ИНФИЦИРОВАННЫХ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS МАКРОФАГОВ НЕ ОКАЗЫВАЕТ ВЛИЯНИЯ НА ИХ БАКТЕРИОСТАТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ



Г.С. Шепелькова, В.В. Евстифеев, В.В. Еремеев

ФГБНУ Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Россия

**Резюме.** Туберкулез, вызываемый *Mycobacterium tuberculosis*, является тяжелым бременем для общественного здравоохранения. Врожденный и адаптивный иммунитет в организме человека выступают в качестве надежной защиты от патогенов. Однако в процессе коэволюции с человеком этот микроб приобрел множество механизмов, позволяющих обходить иммунный ответ и обеспечивающих его внутриклеточное существование и длительное выживание в организме хозяина. Более того, появившиеся данные свидетельствуют о том, что эта скрытная бактерия может изменять экспрессию регуляторных некодирующих РНК (в том числе микроРНК), что впоследствии приводит к дисрегуляции биологических процессов, что может быть причиной патогенеза туберкулеза. Так, например, было показано, что miR-222-3p регулирует функциональное перепрограммирование макрофагов и участвует в регуляции врожденного иммунитета хозяина. Ранее нами была продемонстрирована важная роль miR-222-3p в качестве биологического маркера активности туберкулезного процесса. Многие исследовательские группы работают над установлением функциональных связей между экспрессией микроРНК в различных условиях и их реальным биологическим действием, методами молекулярной биологии и биоинформатики, чтобы подтвердить их биологические мишени и понять их роль в патогенезе туберкулеза. В настоящем исследовании путем использования культуры *in vitro* человеческих макрофагов моноцитарного происхождения, активированных антигенами микобактерий туберкулеза, нам удалось продемонстрировать влияние гиперэкспрессии miR-222-3p на некоторые функции этих клеток. В частности, мы установили, что гиперэкспрессия miR-222-3p приводит к достоверному снижению экспрессии IL-6, IFN $\gamma$  и увеличению экспрессии IL-1 $\beta$  и sxc110 в культуре неинфицированных макрофагов. Культуры инфицированных Мф с гиперэкспрессией miR-222-3p, также, как и инфицированные Мф без трансфекции, характеризовались повышенным уровнем экспрессии NF-IL6. Еще одним важным фактом стало наблюдение о том, что гиперэкспрессия miR-222-3p приводит к небольшому, но тем не менее достоверному увеличению продукции активных форм азота инфицированными Мф, однако не влияет на их бактериостатическую активность в отношении *M. tuberculosis*. Выяснение функций различных микроРНК в регуляции разнообразных патогенных сигнальных путей при ТБ может привести к обнаружению новых терапевтических мишеней.

## Адрес для переписки:

Шепелькова Галина Сергеевна  
107564, Россия, Москва, Яузская аллея, 2, ФГБНУ Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза.  
Тел.: 8 (499) 785-90-72.  
E-mail: shepelkovag@yahoo.com

## Contacts:

Galina S. Shepelkova  
107564, Russian Federation, Moscow, Yauza alley, 2,  
Central Tuberculosis Research Institute.  
Phone: +7 (499) 785-90-72.  
E-mail: shepelkovag@yahoo.com

## Для цитирования:

Шепелькова Г.С., Евстифеев В.В., Еремеев В.В. Гиперэкспрессия miR-222-3p в культуре инфицированных *Mycobacterium tuberculosis* макрофагов не оказывает влияния на их бактериостатическую активность // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 3. С. 532–538.  
doi: 10.15789/2220-7619-OMI-16717

## Citation:

Shepelkova G.S., Evstifeev V.V., Yermeev V.V. Overexpressing miR-222-3p in cultured mycobacterium tuberculosis-infected macrophages does not affect their bacteriostatic activity // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 3, pp. 532–538.  
doi: 10.15789/2220-7619-OMI-16717

Детальное изучение микроРНК, регулирующих иммуноассоциированные пути, полезно для разработки молекул миРНК-миметиков — ингибиторов или активаторов. Иммунные эффекты, индуцированные препаратами микроРНК, в настоящее время являются основной проблемой микроРНК-терапии.

**Ключевые слова:** туберкулез, макрофаги, микроРНК, бактериостатическая активность, гиперэкспрессия, воспаление.

## OVEREXPRESSING miR-222-3p IN CULTURED *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*-INFECTED MACROPHAGES DOES NOT AFFECT THEIR BACTERIOSTATIC ACTIVITY

Shepelkova G.S., Evstifeev V.V., Yermeev V.V.

Central Tuberculosis Research Institute (CTRI), Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Tuberculosis, a disease caused by the bacterium *Mycobacterium tuberculosis*, is a major public health concern. Innate and adaptive immunity provide robust defense against pathogens. However, *M. tuberculosis*, which co-evolved with humans, has acquired many mechanisms to evade the immune response and ensure its intracellular existence and long-term survival within the host. Moreover, emerging evidence suggests that this secretive bacterium can alter expression of regulatory noncoding RNAs (including microRNAs), leading to dysregulation of biological processes underlying tuberculosis pathogenesis. For example, miR-222-3p has been shown to regulate the functional reprogramming of macrophages and is involved in the regulation of host innate immunity. Previously, we demonstrated the important role of miR-222-3p as a biological marker of tuberculosis activity. To confirm their biological targets and understand their role in the pathogenesis of tuberculosis, many research groups are working to establish functional relationships between miRNA expression under different conditions and their actual biological action using molecular biology and bioinformatics methods. In the present study, we demonstrated the effect of miR-222-3p overexpression on several functions of human macrophages of monocytic origin activated with *M. tuberculosis* antigens in in vitro culture. Specifically, we found that miR-222-3p overexpression significantly decreased IL-6 and IFN $\gamma$  expression and increased IL-1 $\beta$  and cxcl10 expression in cultures of uninfected macrophages. Infected macrophages overexpressing miR-222-3p were characterized by increased NF- $\kappa$ B and IL-6 expression, as were infected macrophages without transfection. Another important finding was that miR-222-3p overexpression caused a small but significant increase in reactive nitrogen species production by infected macrophages, but did not affect their bacteriostatic activity against *M. tuberculosis*. Elucidating the functions of different microRNAs in regulating different pathogenic pathways in TB may lead to discovering new therapeutic targets. The detailed study of microRNAs that regulate immune-associated pathways will be useful for the design of miRNA mimetic molecules, either as inhibitors or as activators. Immune effects induced by miRNA drugs are currently a major challenge for miRNA therapeutics.

**Key words:** tuberculosis, macrophages, miRNA, bacteriostatic activity, overexpression, inflammation.

## Введение

Актуальность выявления новых легкодоступных биомаркеров для диагностики туберкулеза (ТБ), а также маркеров, способных указать на обострение воспаления, изменение активности инфекционного процесса при ТБ не вызывает сомнения. Ведущая роль в иммунном ответе, развивающемся при ТБ инфекции, принадлежит профессиональным фагоцитам, а именно, макрофагам. Макрофаги являются первой линией защиты на пути микобактерий. Данные клетки вовлечены в развитие как врожденного, так и адаптивного иммунного ответов. Макрофаги способны нейтрализовать и устранять бактерии путем индукции апоптоза, воспалительных реакций и фагоцитарной активности [12]. За тысячелетия сосуществования с человеком микобактерии, как организм с внутриклеточным типом паразитирования, выработали широкий спектр защитных механизмов, препятствующих их элиминации. Так, микобактерии способны 1) препятствовать фа-

гоцитозу, а также образованию фаголизосом в макрофагах; 2) нейтрализовать кислую среду [3]; 3) блокировать формирование мембраны апоптотических везикул [4]; 4) ингибировать восстановление плазматической мембраны, что может приводить к распространению инфекции через некроз макрофагов [2]; 5) подавлять активацию иммунных клеток, препятствовать презентации антигена; 6) модулировать экспрессию генов связанных с патогенезом заболевания и влиять на экспрессию микроРНК (miRs) через ключевые точки их регуляции.

miRs — это короткие, биологически консервативные некодирующие РНК, участвующие в регуляции ряда клеточных (пролиферация, дифференцировка и апоптоз) и физиологических процессов, таких как воспалительный ответ, эмбриогенез и онкогенез [8]. Регуляторная роль молекул miRs показана как при аутоиммунных, так и при инфекционных заболеваниях. Они служат своего рода факторами, запускающими либо тормозящими развитие реакций врожденного и адаптивного ответов и, таким образом,

могут играть решающую роль в развитии бактериальных инфекционных заболеваний [6]. miRs потенциально могут быть использованы в качестве диагностических и прогностических биомаркеров заболевания и ответа на терапию. Ряд исследований посвящен поиску miRs маркеров в легкодоступных биообразцах, таких как цельная кровь. В нашем предыдущем исследовании мы описываем паттерн экспрессии из 6 зрелых сывороточных miRs (miR-155-5p, miR-191-5p, miR-223-5p, miR-222-3p, miR-26a-5p и miR-320-5p) у пациентов с различными вариантами ТБ легких. По уровню и направлению экспрессии данных miR можно охарактеризовать различные варианты течения ТБ (с разной интенсивностью воспалительных иммунологических процессов) [10, 11]. Чувствительность и специфичность вышеупомянутых miRs в качестве использования их как биомаркеров активности ТБ 88–100%.

Ранее было показано, что miR-222-3p регулирует функциональное перепрограммирование макрофагов и участвует в регуляции врожденного иммунитета хозяина. Кроме того, продемонстрировано снижение экспрессии этой miR под действием внутриклеточной паразитарной инфекции *Echinococcus multilocularis*, участие данной miR в регуляции иммунной функции макрофагов [13]. Однако механизм действия miR-222 при ТБ остается неизвестен. В нашей работе мы исследуем влияние гиперэкспрессии miR-222 на функцию макрофагов при экспериментальной ТБ инфекции.

## Материалы и методы

**Выделение моноцитов крови и культивирование макрофагов.** В работе использовали цельную кровь здоровых доноров. Донорами до момента забора крови была подписана форма добровольного информированного согласия. Исследование было одобрено ЛЭК ФГБНУ «ЦНИИТ» (протокол № 13 от 28.12.2021). Мононуклеары выделяли из крови здоровых доноров с использованием градиента фикола с плотностью 1,077 г/л (ПанЭко, Россия). После чего клетки отмывали и инкубировали 3 часа в чашках Петри при 37°C и 5% CO<sub>2</sub> в среде DMEM (ПанЭко, Россия). Из прилипших к пластику моноцитов «воспитывали» макрофаги по методу, описанному S. Saeed и коллегами [9] в присутствии 10% активной человеческой сыворотки. В экспериментах использовали сыворотку, полученную от тех же доноров, что и кровь для выделения моноцитов, либо донорскую сыворотку от доноров с идентичной группой крови АВ0 и резус-фактором. Обогащение культуры моноцитов макрофагами оценивали по экспрессии макрофагального поверхностного маркера CD163.

**Антигены.** В работе использовали вирулентный штамм *M. tuberculosis* H37RV Pasteur из коллекции ФГБНУ «ЦНИИТ». Нарработку микобактерий для экспериментов *in vitro* производили по ранее описанной методике [7]. В ряде экспериментов *in vitro* в качестве антигена использовали ультразвуковой дезинтегратор культуры микобактерий (микобактериальный соникат) 10 мкг/мл. Соникат микобактерий был любезно предоставлен В.Г. Авдиенко.

**Трансфекция.** Для стимуляции гиперэкспрессии miR-222 использовали синтетический аналог данной miR:

hsa-miR-222: (rC)(U)(rC)-(rA)(rG)(U)-(rA)(rG)(rC)-(rC)(rA)(rG)-(U)(rG)(U)-(rA)(rG)(rA)-(U)(rC)(rC)-(U).

Трансфекцию малой интерферирующей РНК осуществляли с использованием набора HiPerFect Transfection Reagent (Qiagen, Германия) согласно рекомендации фирмы изготовителя. Через 72 часа трансфицирования макрофаги отмывали и культивировали с контрольной средой в течение 24 часов. Полученные таким образом культуры клеток использовали в экспериментах *in vitro*. В качестве отрицательного контроля макрофаги трансфицировали смесью без РНК и смесью, содержащей Negative Control siRNA (Qiagen, Германия) (NC).

**Выделение РНК и синтез кДНК.** Для выделения суммарной РНК из культуры макрофагов использовали TRIzol® Reagent (ThermoFisher Scientific (Ambion), США). Полученные образцы РНК использовали в качестве матрицы для синтеза кДНК. кДНК получали при помощи набора реактивов MMLV RT kit (Евроген, Россия). кДНК miRs получали при помощи TaqMan® Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit (ThermoFisher Scientific, США) в соответствии с методикой, описанной ранее [10].

**ПЦР в реальном времени.** qRT-PCR с кДНК проводили с использованием системы CFX96 Real-Time System (Bio-Rad, США), специфических праймеров, зондов TaqMan и реагентов ThermoFisher Scientific (Applied Biosystems, США) для определения уровней мРНК генов, связанных с воспалением. GAPDH использовался в качестве гена домашнего хозяйства.

Для определения уровней экспрессии miR использовали TaqMan™ Advanced miRNA Assay (ThermoFisher Scientific, США). Ген miR-186 был выбран в качестве гена с постоянным уровнем экспрессии в соответствии с рекомендациями TaqMan® Advanced miRNA Assays User Guide (ThermoFisher Scientific, США).

**Определение бактериостатической функции макрофагов.** Бактериостатическую функцию макрофагов оценивали методом регистрации включения [<sup>3</sup>H]-урацила микобактериями при совместном культивировании с макрофагами

по ранее описанной методике [1]. Подавление роста микобактерий в культурах Мф представляли в процентах от включения [ $^3\text{H}$ ]-урацила микобактериями в культурах без Мф. Продукцию активных форм азота макрофагами при их совместном культивировании с микобактериями определяли по концентрации нитрит-аниона с использованием реактива Грисса [1].

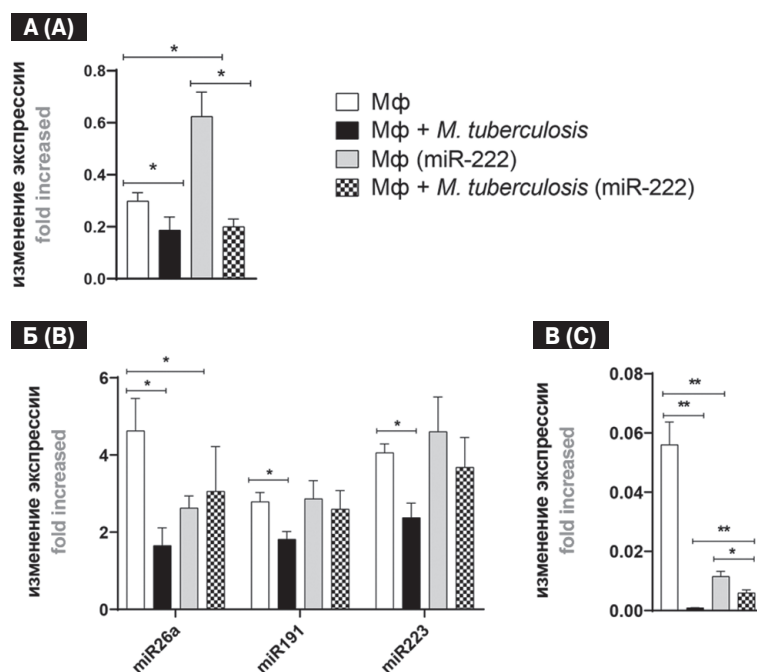
**Статистическая обработка результатов.** Для статистической обработки полученных данных использовали t-тест с поправкой на множества Бонферони при сравнении более двух групп. Отличия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Для получения макрофагальной культуры с гиперэкспрессией miR-222, Мф, «воспитанные» из моноцитов крови, подвергали трансфекции синтетическим аналогом hsa-miR-222. Через 72 часа клетки отмывали от среды трансфекции и культивировали 24 часа в присутствии либо в отсутствии сониката микобак-

терий. Из рис. 1А видно, что наличие микобактериальных антигенов в культуре неинфицированных Мф вело к достоверному снижению экспрессии miR-222. Обработка «наивных» макрофагов синтетическим аналогом miR-222 приводила к достоверному усилению экспрессии данной miR. В то время как наличие микобактериальных антигенов в культуре отменяло эффект гиперэкспрессии miR-222. Отрицательным контролем в экспериментах *in vitro* являлись культуры макрофагов человека, обработанные трансфицирующим агентом без РНК и смесью трансфицирующего агента с NC. Достоверных отличий между культурами «наивных» Мф (без трансфекции) и культурами отрицательного контроля в экспериментах *in vitro* получено не было.

Усиление экспрессии miR-222 приводило к подавлению экспрессии miR-26a в неинфицированных Мф, но не влияло на экспрессию последней при наличии в культуре антигенов микобактерий (рис. 1Б). Воздействие сониката микобактерий на культуру Мф приводило к достоверному понижению экспрессии miR-191,



**Рисунок 1. Влияние усиления экспрессии has-miR-222 на экспрессию miRs макрофагами при экспериментальной ТБ инфекции**

Figure 1. Effect of increased has-miR-222 expression on macrophage miR expression during experimental TB infection

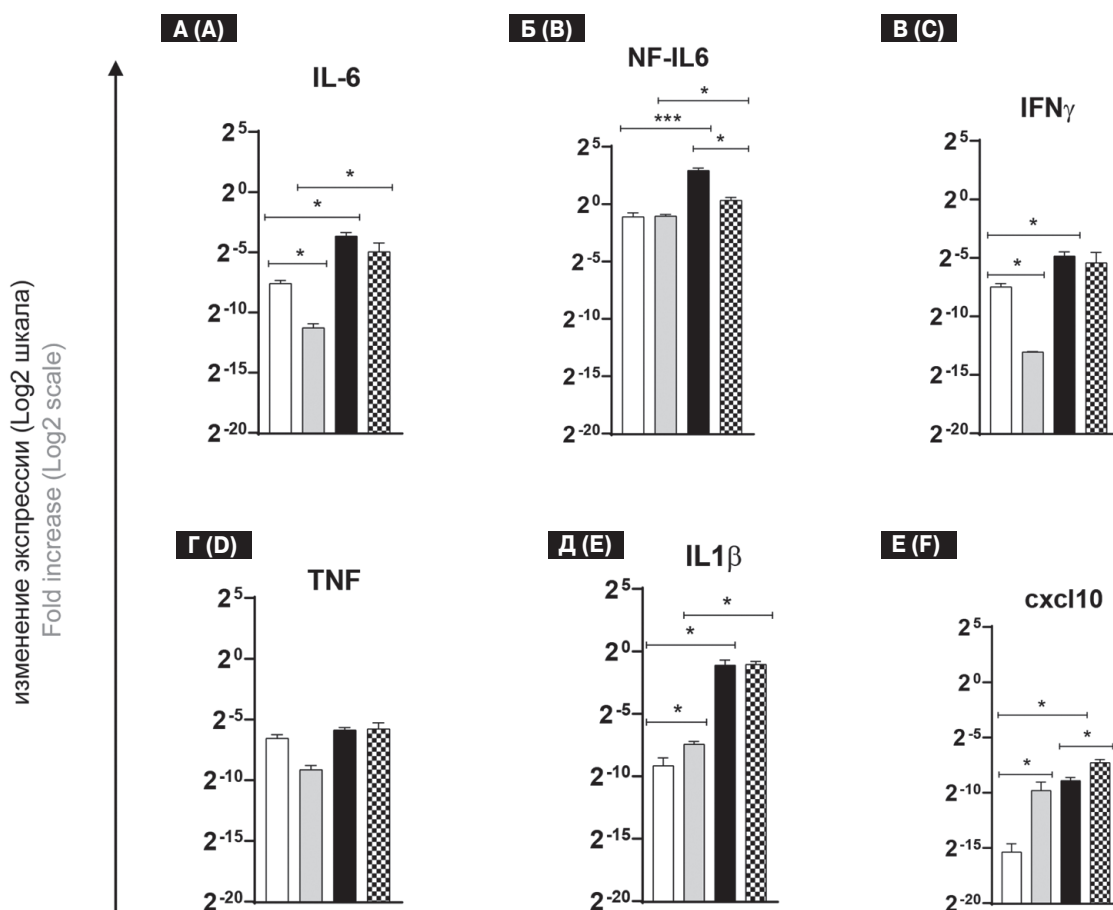
**Примечание.** Стимуляцию гиперэкспрессии miR-222 в культуре Мф человека проводили с помощью синтетического аналога данной miR (см. Материалы и методы) (время трансфекции 72 часа). Трансфицированные и «наивные» Мф культивировали в присутствии/в отсутствии микобактериальных антигенов. Через 24 часа в культурах Мф определяли уровень экспрессии miR-222 (А); miR-26a, miR-191, miR-223 (Б) и miR-320 (В). Представлены средние значения  $\pm$ SEM ( $n = 3$  повтора на группу); \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$

Note. The hyperexpression of miR-222 in human MF culture was stimulated using a synthetic analog of this miR (see Materials and Methods) (transfection time 72 h). Transfected and naive MFs were cultured in the presence or absence of mycobacterial antigens. After 24 hours, the expression levels of miR-222 (A); miR-26a, miR-191, miR-223 (B) and miR-320 (C) were determined in MF cultures. Means  $\pm$ SEM are shown ( $n = 3$  replicates per group); \* —  $p < 0.05$ ; \*\* —  $p < 0.01$ .

miR-223 и miR-320 (рис. 1Б, В). Гиперэкспрессия miR-222 отменяла данное действие микобактериальных антигенов для miR-191 и miR-223; и не влияла на экспрессию данных miR в культуре «наивных» Мф (рис. 1Б). В случае miR-320 увеличенное количество miR-222 в культуре приводило к сильному достоверному снижению экспрессии данной miR неинфицированными Мф и увеличивало экспрессию miR-320 в присутствии в культуре антигенов микобактерий (рис. 1В).

В этих же культурах оценивали экспрессию факторов воспаления (цитокинов и хемокинов). Было продемонстрировано, что гиперэкспрессия miR-222 приводит к достоверному снижению экспрессии IL-6, IFN $\gamma$  и увеличению экспрессии IL-1 $\beta$  и sxc110 в культу-

ре неинфицированных Мф (рис. 2А, В, Д, Е). Причем при усиленной экспрессии miR-222, как и в культурах клеток без трансфекции, экспрессия IL-6 и IL-1 $\beta$  достоверно выше в культуре, содержащей соникат (рис. 2А, Д); в то время как уровень экспрессии IFN $\gamma$  не менялся и был одинаков в инфицированных культурах Мф после трансфекции и без трансфекции (рис. 2В). Экспрессия sxc110 достоверно увеличивалась у трансфицированных Мф в присутствии сониката (рис. 2Е). Культуры инфицированных Мф с гиперэкспрессией miR-222, также, как и инфицированные Мф без трансфекции, характеризовались повышенным уровнем экспрессии NF-IL6. Причем, экспрессия данного гена у Мф после трансфекции была достоверно ниже (рис. 2Б). Гиперэкспрессия miR-222 не влияла



**Рисунок 2. Усиление экспрессии miR-222 влияет на изменение профиля воспалительных реакций в Мф человека при экспериментальном ТБ**

Figure 2. Increased miR-222 expression influences altered inflammatory response profile in human Mf in experimental TB

**Примечание.** Трансфицированные и «наивные» Мф культивировали в присутствии/в отсутствие микобактериальных антигенов. Через 24 часа в культурах Мф определяли уровень экспрессии генов цитокинов/хемокинов. □ — «наивные» Мф; ■ — Мф и *M. tuberculosis*; ▒ — трансфицированные miR-222 Мф; ▨ — трансфицированные miR-222 Мф и *M. tuberculosis*. Представлены средние значения  $\pm$ SEM (n — 3 повтора на группу); \* — p < 0,05; \*\*\* — p < 0,001

Note. Transfected and naive MFs were cultured in the presence or absence of mycobacterial antigens. After 24 hours, the expression levels of cytokines/chemokines were determined in MF cultures. □ — naive MF; ■ — MF and *M. tuberculosis*; ▒ — miR-222 transfected MF; ▨ — miR-222 transfected MF and *M. tuberculosis*. Means  $\pm$ SEM are shown (n — 3 replicates per group); \* — p < 0.05; \*\*\* — p < 0,001.

на экспрессию TNF в Мф как в присутствии, так и в отсутствии антигенов микобактерий (рис. 2Г).

Мишенью miR-222 является липидная фосфотаза PTEN [14], которая обладает ингибирующим действием в отношении PI3K/АКТ/NF-κB путей и, следовательно, способна регулировать активность транскрипционного фактора NF-κB. NF-κB в свою очередь имеет решающее значение для индукции и выработки ряда воспалительных факторов и цитокинов (таких как IL-1β, IL-6, TNF). Таким образом, гиперпродукция miR-222 будет приводить к ингибированию NF-κB и как следствие снижению экспрессии провоспалительных цитокинов, что согласуется с полученными нами результатами.

Одна из основных функций Мф при ТБ инфекции — элиминация микобактерий, поэтому на следующем этапе исследования было оценено влияние гиперэкспрессии miR-222 на бактериостатическую активность макрофагов. Для чего трансфицированные и «наивные» Мф культивировали совместно с вирулентным штаммом *M. tuberculosis* при соотношении микобактерия:Мф в культуре 5:1. Через 72 часа в данных культурах оценивали ограничение роста микобактерий по включению последними <sup>3</sup>H-урацила, а также генерацию активных форм азота (NO<sup>\*</sup>) по продукции нитрит-аниона (рис. 3).

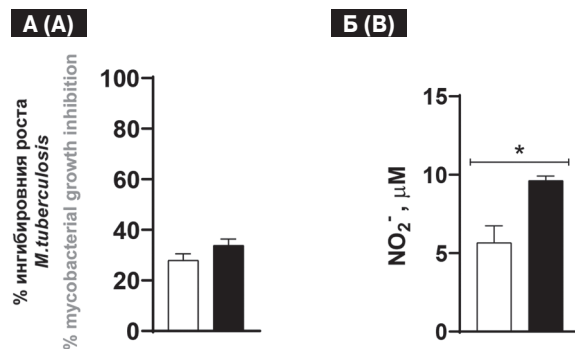
Было показано, что гиперэкспрессия miR-222 приводит к небольшому достоверному увеличению продукции активных форм азота инфицированными Мф, но не влияет на их бактериостатическую активность (рис. 3). Для miR-222 показано сильное понижение экспрессии при поляризации Мф в сторону M1 [5], что характерно на начальных этапах ТБ инфекции. Гиперэкспрессия данной miR, напротив, препятствует дифференцировке Мф и как следствие может влиять на активацию бактериостатической функции фагоцитов.

## Заключение

В результате проведенных исследований нам удалось показать, что гиперэкспрессия miR-222 в культуре инфицированных Mtb макрофагов человека не ведет к существенному изменению продукции IFNγ, а также их бактериостатической активности. При этом, miR-222 оказывает стимулирующее воздействие на продукцию

## Список литературы/References

1. Шепелькова Г.С., Майоров К.Б., Евстифеев В.В., Апт А.С. Взаимодействие Т-лимфоцитов CD4+CD27hi и CD4+CD27lo с макрофагами при туберкулезной инфекции у мышей // Туберкулез и болезни легких. 2015. № 12. С. 57–60. [Shepelkova G.S., Mayorov K.B., Evstifeev V.V., Apt A.S. Interaction of T-lymphocytes of CD4+CD27hi and CD4+CD27lo with macrophages in tuberculous infection in mice. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2015, no. 12, pp. 57–60. (In Russ.)]



**Рисунок 3. Влияние гиперэкспрессии miR-222 на бактериостатическую функцию Мф человека при экспериментальном ТБ**

Figure 3. Effect of miR-222 overexpression on MF bacteriostatic function in experimental TB

**Примечание.** Трансфицированные и «наивные» Мф культивировали совместно с вирулентным штаммом *M. tuberculosis* H37RV (Мф:микобактерии = 1:5). Через 72 часа в культурах определяли ограничение роста Мф микобактерий по включению последними <sup>3</sup>H-урацила и концентрацию (NO<sub>2</sub>)<sup>-</sup> (Б). □ — Мф без трансфекции; ■ — Мф, трансфицированные с использованием аналога miR-222. Представлены средние значения ±SEM (n — 3 повтора на группу); \* — p < 0,05

Note. Transfected and “naive” MF were co-cultured with virulent *M. tuberculosis* H37RV (MF:mycobacteria = 1:5). Growth restriction of MF mycobacteria by <sup>3</sup>H-uracil incorporation (A) and (NO<sub>2</sub>)<sup>-</sup> concentration (B) was determined after 72 h in culture. □ — MF without transfection; ■ — MF transfected using miR-222 analog. Means ±SEM are shown (n — 3 replicates per group); \* — p < 0.05

оксида азота, IL-1β и sxc110 и понижает экспрессию IL-6 и IFNγ. Наши результаты согласуются с данными, полученными Chen Zonghai и соавт. [14], которые показали, что добавление ESAT6 в культуру клеток макрофагальной линии клеток ведет к снижению экспрессии miR-222-3p, и как следствие, подавляет выработку провоспалительных цитокинов, таких как IL-6, IL-1β и TNF, способствуя экспрессии фосфатазы и тензина (PTEN), что в конечном итоге благоприятствует репликации *Mycobacterium smegmatis*. Наше исследование закладывает основу для интеграции miRs в клиническую практику для обогащения персонализированных и креативных диагностических стратегий, и дальнейшего принятия решений о лечении ТБ, особенно при лечении пациентов с лекарственной устойчивостью.

2. Divangahi M., Chen M., Gan H., Desjardins D., Hickman T.T., Lee D.M., Fortune S., Behar S.M., Remold H.G. Mycobacterium tuberculosis evades macrophage defenses by inhibiting plasma membrane repair. *Nat. Immunol.*, 2009, vol. 10, no. 8, pp. 899–906. doi: 10.1038/ni.1758
3. Flannagan R.S., Cosío G., Grinstein S. Antimicrobial mechanisms of phagocytes and bacterial evasion strategies. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2009, vol. 7, no. 5, pp. 355–366. doi: 10.1038/nrmicro2128
4. Gan H., Lee J., Ren F., Chen M., Kornfeld H., Remold H.G. Mycobacterium tuberculosis blocks crosslinking of annexin-1 and apoptotic envelope formation on infected macrophages to maintain virulence. *Nat. Immunol.*, 2008, vol. 9, no. 10, pp. 1189–1197. doi: 10.1038/ni.1654
5. Graff J.W., Dickson A.M., Clay G., McCaffrey A.P., Wilson M.E. Identifying functional microRNAs in macrophages with polarized phenotypes. *J. Biol. Chem.*, 2012, vol. 287, no. 26, pp. 21816–21825. doi: 10.1074/jbc.M111.327031
6. Hou J., Wang P., Lin L., Liu X., Ma F., An H. MicroRNA-146a feedback inhibits RIG-I-dependent Type I IFN production in macrophages by targeting TRAF6, IRAK1, and IRAK2. *J. Immunol.*, 2009, vol. 183, no. 3, pp. 2150–2158. doi: 10.4049/jimmunol.0900707
7. Lyadova I.V., Eruslanov E.B., Khaidukov S.V., Yeremeev V.V., Majorov K.B., Pichugin A.V., Nikonenko B.V., Kondratieva T.K., Apt A.S. Comparative analysis of T lymphocytes recovered from the lungs of mice genetically susceptible, resistant, and hyper-resistant to Mycobacterium tuberculosis-triggered disease. *J. Immunol.*, 2000, vol. 165, no. 10, pp. 5921–31. doi: 10.4049/jimmunol.165.10.5921
8. Naqvi A.R., Sarwat M. MicroRNAs and immunity. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, 2022, vol. 124, pp. 1–2. doi: 10.1016/j.semcdb.2021.10.007
9. Saeed S., Quintin J., Kerstens H.H., Rao N.A., Aghajanirofeh A., Matarese F., Cheng S.C., Ratter J., Berentsen K., van der Ent M.A., Sharifi N., Janssen-Megens E.M., Ter Huurne M., Mandoli A., van Schaik T., Ng A., Burden F., Downes K., Frontini M., Kumar V., Giamarellos-Bourboulis E.J., Ouwehand W.H., van der Meer J.W., Joosten L.A., Wijmenga C., Martens J.H., Xavier R.J., Logie C., Netea M.G., Stunnenberg H.G. Epigenetic programming of monocyte-to-macrophage differentiation and trained innate immunity. *Science*, 2014, vol. 345, no. 6204: 1251086. doi: 10.1126/science.1251086
10. Shepelkova G.S., Evstifeev V.V., Berezovskiy Yu.S., Tarasov R.V., Bagirov M.A., Yeremeev V.V. Lung Inflammation Signature in Post-COVID-19 TB Patients. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, vol. 24, no. 22: 16315. doi: 10.3390/ijms242216315
11. Shepelkova G.S., Evstifeev V.V., Tarasov R.V., Ergeshova A.E., Bagirov M.A., Yeremeev V.V. MicroRNAs as Biomarkers of Active Pulmonary TB Course. *Microorganisms*, 2023, vol. 11, no. 3: 626. doi: 10.3390/microorganisms11030626
12. Simmons J.D., Stein C.M., Seshadri C., Campo M., Alter G., Fortune S., Schurr E., Wallis R.S., Churchyard G., Mayanja-Kizza H., Boom W.H., Hawn T.R. Immunological mechanisms of human resistance to persistent Mycobacterium tuberculosis infection. *Nat. Rev. Immunol.*, 2018, vol. 18, no. 9, pp. 575–589. doi: 10.1038/s41577-018-0025-3
13. Zheng Y. Suppression of mouse miRNA-222-3p in response to echinococcus multilocularis infection. *Int. Immunopharmacol.*, 2018, vol. 64, pp. 252–255. doi: 10.1016/j.intimp.2018.09.004
14. Zonghai C., Tao L., Pengjiao M., Liang G., Rongchuan Z., Xinyan W., Wenyi N., Wei L., Yi W., Lang B. Mycobacterium tuberculosis ESAT6 modulates host innate immunity by downregulating miR-222-3p target PTEN. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.*, 2022, vol. 1868, no. 1: 166292. doi: 10.1016/j.bbdis.2021.166292

**Авторы:**

**Шепелькова Г.С.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии отдела иммунологии ФГБНУ Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Россия;

**Евстифеев В.В.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии отдела иммунологии ФГБНУ Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Россия;

**Еремеев В.В.**, д.м.н., главный научный сотрудник, зав. отделом иммунологии ФГБНУ Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Россия.

**Authors:**

**Shepelkova G.S.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory for Biotechnology, Department of Immunology, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation;

**Evstifeev V.V.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory for Biotechnology, Department of Immunology, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation;

**Yeremeev V.V.**, DSc (Medicine), Head Researcher, Head of the Department of Immunology, Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 29.03.2024  
Принята к печати 30.03.2024

Received 29.03.2024  
Accepted 30.03.2024