

РОЛЬ микроРНК В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ПЕЧЕНИ: ОТ БИОГЕНЕЗА ДО ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ (ОБЗОР)

DOI: 10.17691/stm2023.15.5.06

УДК 616.36:57.088.1:577.216.3

Поступила 25.07.2023 г.



Д.С. Козлов, лаборант научной лаборатории молекулярных биотехнологий
НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий¹;
студент Института биологии и биомедицины²;

С.А. Родимова, младший научный сотрудник научной лаборатории регенеративной медицины¹;
младший научный сотрудник научной лаборатории молекулярных биотехнологий
НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий¹;

Д.С. Кузнецова, к.б.н., зав. научной лабораторией молекулярных биотехнологий
НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий¹;

зав. НИЛ молекулярно-генетических исследований Института клинической медицины²

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1,
Н. Новгород, 603005;

²Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
пр. Гагарина, 23, Н. Новгород, 603022

Молекулярная диагностика на основе панелей малых некодирующих молекул РНК (микроРНК) является новым направлением в современной биомедицине и считается перспективным методом выявления широчайшего спектра патологий на ранней стадии, оценки клинического фенотипа, а также мониторинга течения заболевания, оценки эффективности терапии и риска рецидива заболевания. В настоящее время в ходе изучения нормальных и патологических процессов установлена роль микроРНК как важнейшего эпигенетического регулятора при прогрессировании онкологических заболеваний. Однако работ, посвященных изучению роли микроРНК в функционировании отдельных органов и тканей, а также разработке возможных терапевтических подходов на основе микроРНК, в настоящее время представлено недостаточно. Огромное количество метаболических процессов, происходящих в печени, контролируются микроРНК, что создает огромный потенциал применения их в качестве диагностического маркера, а также мишени для терапевтического вмешательства при метаболических, онкологических и даже вирусных заболеваниях именно этого органа.

Рассмотрены аспекты биологических функций микроРНК в различных типах клеток печени. Представлены как канонические, так и неканонические пути биогенеза, эпигенетической регуляции, опосредованной микроРНК, показана роль микроРНК в межклеточной коммуникации и течении вирусных заболеваний. Описаны потенциал микроРНК как диагностического маркера различных патологий печени, а также одобренные для клинического применения и находящиеся в разработке терапевтические подходы и препараты на основе микроРНК.

Ключевые слова: микроРНК; гомеостаз печени; биогенез микроРНК; неканонические микроРНК; микроРНК-терапия; микроРНК-диагностика; системы доставки микроРНК.

Как цитировать: Kozlov D.S., Rodimova S.A., Kuznetsova D.S. The role of microRNAs in liver functioning: from biogenesis to therapeutic approaches (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2023; 15(5): 54, <https://doi.org/10.17691/stm2023.15.5.06>

English

The Role of MicroRNAs in Liver Functioning: from Biogenesis to Therapeutic Approaches (Review)

D.S. Kozlov, Laboratory Assistant, Scientific Laboratory of Molecular Biotechnologies,
Research Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies¹;
Student, Institute of Biology and Biomedicine²;

S.A. Rodimova, Junior Researcher, Laboratory of Regenerative Medicine¹;
Junior Researcher, Scientific Laboratory of Molecular Biotechnologies,
Research Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies¹;

Для контактов: Козлов Дмитрий Сергеевич, e-mail: mail-kozlov2015@yandex.ru

D.S. Kuznetsova, PhD, Head of the Scientific Laboratory of Molecular Biotechnologies, Research Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies¹; Head of the Research Laboratory for Molecular Genetic Researches, Institute of Clinical Medicine²

¹Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

²National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603022, Russia

Molecular diagnostics based on small non-coding RNA molecules (in particular microRNA) is a new direction in modern biomedicine and is considered a promising method for identification of a wide range of pathologies at an early stage, clinical phenotype assessment, as well as monitoring the course of the disease, evaluation of therapy efficacy and the risk of the disease recurrence. Currently, the role of microRNAs as the most important epigenetic regulator in cancer development has been proven within the studies of normal and pathogenic processes. However, currently, there are insignificant studies devoted to studying the role of microRNAs in functioning of other organs and tissues, as well as to development of possible therapeutic approaches based on microRNAs. A huge number of metabolic processes in the liver are controlled by microRNAs, which creates enormous potential for the use of microRNAs as a diagnostic marker and makes it a target for therapeutic intervention in metabolic, oncological, and even viral diseases of this organ.

This review examines various aspects of biological functions of microRNAs in different types of liver cells. Both canonical and non-canonical pathways of biogenesis, epigenetic regulation mediated by microRNAs, as well as the microRNAs role in intercellular communication and the course of viral diseases are shown. The potential of microRNAs as a diagnostic marker for various liver pathologies is described, as well as therapeutic approaches and medicines based on microRNAs, which are approved for clinical use and currently being developed.

Key words: microRNAs; liver homeostasis; microRNAs biogenesis; non-canonical microRNAs; microRNA-based therapy; microRNA-based diagnostics; microRNA delivery systems.

Введение

Печень — один из важнейших органов, отвечающих за контроль гомеостаза в организме млекопитающих. Она участвует в различных физиологических процессах, включающих выработку желчи, синтез белков плазмы, усвоение питательных веществ, детоксикацию, запасание витаминов. В печени протекают основные реакции углеводного, белкового и липидного метаболизма, она также считается важнейшим иммунологическим органом, способным активировать иммунную систему в ответ на циркулирующие антигены. Помимо большого количества типов клеток, входящих в состав печени, наблюдается высокая функциональная специализация гепатоцитов. Функциональной единицей является долька печени. На основании современных представлений о строении дольки гепатоциты располагаются в трех зонах, определенных в соответствии с расположением вдоль порто-центральной оси, которое диктует их функциональный профиль. Недавние исследования на основе высокопроизводительного секвенирования РНК единичных клеток в сочетании с пространственной транскриптомикой и протеомикой подтвердили их высокую зональную гетерогенность. Более того, установлено, что зональная специализация гепатоцитов является очень гибкой и динамичной, изменяющейся в соответствии с множеством физиологических сигналов, что требует активного регулирования экспрессии метаболических генов.

МикроРНК представляют собой короткие РНК-олигонуклеотиды длиной 20–22 основания, участвующие

в регуляции экспрессии, по разным оценкам, от 30 до 60% генов человека. В основе огромного регуляторного потенциала микроРНК лежит несколько их особенностей: одна молекула микроРНК может иметь от сотни до тысячи потенциальных генов-мишеней [1, 2]; биогенез микроРНК является одним из самых быстрых среди клеточных транскриптов: не менее 40% микроРНК созревают в течение 5 мин [3]. Таким образом, микроРНК создают сложную высоко динамичную контекст-зависимую сеть взаимодействий с таргетными транскриптами. Около 2654 зрелых последовательностей микроРНК в геноме человека были идентифицированы и зарегистрированы в онлайн-базе данных miRbase 22.1 (www.mirbase.org).

Молекулярная диагностика на основе анализа панелей транскриптов, белков и метаболитов считается перспективным методом выявления широчайшего спектра патологий на ранней стадии, оценки клинического фенотипа, а также мониторинга течения заболевания, оценки эффективности терапии и риска рецидива заболевания. Благодаря высокой динамичности пула микроРНК в организме, а также их стабильности в образцах биологических жидкостей и тканей интерес к микроРНК как основе для диагностических тест-систем не угасает в течение полутора десятилетий. В настоящее время активно изучается вклад различных микроРНК в обеспечение гомеостаза печени, развитие патологий, стимуляцию регенерации, ведется разработка терапевтических стратегий для лечения широкого спектра заболеваний печени. Однако при выяснении функции микроРНК или создании терапии на основе микроРНК авторы зачастую рассматривают

их работу в качестве негативных регуляторов трансляции, не принимая во внимание широкий спектр неканонических эффектов микроРНК. На данный момент существует лишь несколько крупных обзоров, посвященных неканоническому функционированию микроРНК [4–7]. Одной из нерешенных на данный момент проблем терапии на основе микроРНК являются нецелевые эффекты, возникающие из-за неспецифической доставки микроРНК либо регуляции нецелевых генов. Таким образом, для создания терапевтических стратегий, основанных на применении микроРНК, необходимо дальнейшее изучение сети взаимодействия микроРНК–мишень в различных клеточных популяциях печени, а также изучение неканонических функций микроРНК в гомеостазе печени.

В данном обзоре рассматриваются биогенез микроРНК, особенности кодирования, транскрипции и созревания, классические и неклассические механизмы работы, а также клинические подходы к лечению и диагностике заболеваний печени.

Биогенез микроРНК

В обзорах [8–11] подробно описано современное представление о путях биогенеза микроРНК. Коротко рассмотрим основные положения.

Особенности кодирования микроРНК

Гены, кодирующие микроРНК, можно разделить на несколько категорий в зависимости от их расположения в геноме и, соответственно, свойств, связанных с кодированием в определенном локусе. Большинство известных в настоящее время микроРНК человека, описанных в базе данных miRBase, закодированы в межгенных областях (68%). Большая часть внутригенных микроРНК являются интронными (12% всех генов). Остальные гены микроРНК расположены в повторах, длинных некодирующих РНК (lncRNAs), не-транслируемых регионах (UTR) или кодирующих областях генов-хозяев [12]. Источником неканонических микроРНК также могут быть другие некодирующие РНК (тРНК, малые ядрышковые РНК и др.), митохондриальные микроРНК, вирусные микроРНК [13, 14]. Роль этих РНК в регуляции клеточных процессов остается мало изученной. Поскольку активность транскрипции микроРНК во многом зависит от геномного контекста, рассмотрим несколько примеров. Роль микроРНК, кодируемых вирусным геномом, будет рассмотрена в отдельной главе.

Гены микроРНК часто располагаются в так называемых кластерах. Кроме того, микроРНК могут быть закодированы внутри генов других клеточных транскриптов, могут котранскрибироваться, что подтверждается хорошей корреляцией их паттернов экспрессии для нескольких генов [15]. При этом интронные микроРНК могут транскрибироваться независимо от их гена-хозяина, а полицистронные транскрипты микроРНК могут подвергаться альтернативному сплайсингу для

получения специфической экспрессии микроРНК [16, 17]. МикроРНК-17–92, один из наиболее хорошо охарактеризованных кластеров микроРНК, хорошо известен своей важной ролью в дифференцировке клеток и онтогенезе млекопитающих. Вопреки представлениям о регуляции экспрессии кластеров микроРНК, члены этого кластера могут экспрессироваться как скоординированно, так и раздельно [18, 19]. В печени дисрегуляция этого кластера и его отдельных членов может способствовать развитию гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), а также прогрессированию различных патологий печени. Нарушение экспрессии микроРНК-17 может приводить к развитию стеатоза [20].

Примером совместно регулируемых мРНК и микроРНК, закодированной в интроне, является микроРНК-33. У человека микроРНК-33а и микроРНК-33b кодируются в интронах генов, которые в свою очередь кодируют белки, связывающие регуляторные элементы стерола (SREBP-2 и SREBP-1), в то время как у мышей экспрессируется только одна изоформа микроРНК-33, расположенная в интроне SREBP-2. Транскрипционные факторы SREBP, как и микроРНК-33, служат ключевым регулятором метаболизма и транспорта липидов [21, 22]. Члены семейства микроРНК-33 являются первыми идентифицированными микроРНК, регулируемыми гомеостазом липопротеинов [21, 23].

Примечательны микроРНК, закодированные внутри lncRNA. Одним из таких примеров является микроРНК-155, кодирующая регуляторный пептид miPEP155 [24]. В отличие от клеток растений, где подобные пептиды регулируют экспрессию микроРНК, которой они были закодированы, miPEP155 не влияет на уровень микроРНК-155, однако модулирует презентацию антигена активированными антиген-презентирующими клетками через взаимодействие с белком-шапероном HSC70, что нарушает его функцию переносчика антигена в дендритных клетках [25].

Транскрипция и созревание микроРНК

Созревание микроРНК традиционно разделяется на три этапа: длинный предшественник (при-микроРНК), который, проходя этапы сплайсинга и процессинга, направляется в цитоплазму в виде шпильки (пре-микроРНК), дающей начало зрелой микроРНК. Основные этапы биогенеза и функции микроРНК отражены на рис. 1.

Канонические микроРНК у животных транскрибируются РНК-полимеразой II в виде длинных первичных транскриптов микроРНК (при-микроРНК). Структуры шпилек внутри при-микроРНК расщепляются эндонуклеазными комплексами DROSHA и DGCR8 с образованием шпилечных пре-микроРНК. Транспорт пре-микроРНК из ядра в цитоплазму опосредуется экспортом 5 (XPO5) и RAN-GTP, хотя предполагается наличие и других механизмов экспорта [26]. Пре-микроРНК поступает в цитоплазму и расщепляется около терминальной

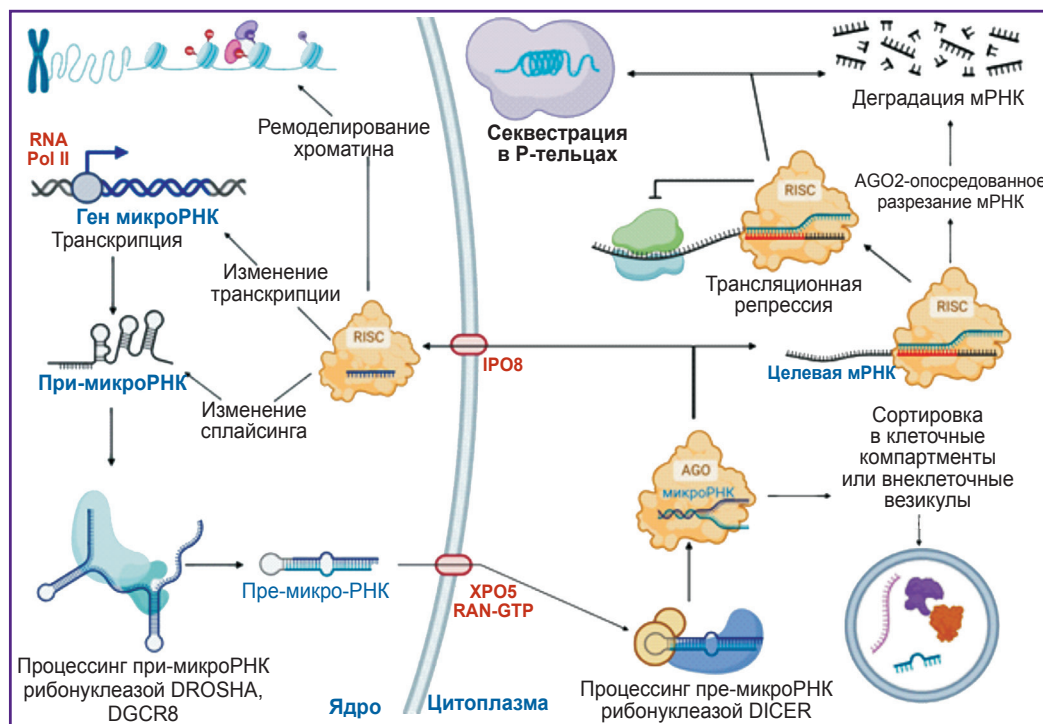


Рис. 1. Канонический биогенез и варианты функционирования микроРНК

петли с помощью РНКазы III DICER согласно правилам расщепления, учитывающим расстояние от конца шпильки, закрепленного в домене PAZ, а также различные варианты несоответствий в стебле шпильки [27, 28]. Кроме того, недавние крупномасштабные анализы вариантов пре-микроРНК выявили консервативный мотив GYM (G-спаренный гуанин, Y-спаренный пиримидин, M-неспаренный цитозин или аденин) рядом с сайтом расщепления DICER человека. Мотив GYM распознается дцРНК-связывающим доменом (dsRBD) DICER и может игнорировать другие правила расщепления [29].

Дуплекс микроРНК загружается в белки Argonaute (AGO) (AGO1–AGO4 у млекопитающих). Наиболее экспрессированными в ткани печени, как и в других тканях, являются белки AGO1, AGO2 [30, 31]. После загрузки только одна цепь, называемая направляющей цепью, чей 5'-нуклеотид взаимодействует с доменом MID белков AGO, сохраняется для последующего формирования конечного комплекса, называемого РНК-индуцированным комплексом сайленсинга (RISC) [32].

Происхождение цепи микроРНК из разных плеч шпильки определяет название зрелой формы микроРНК. Цепь 5p возникает от 5'-конца шпильки пре-микроРНК, тогда как цепь 3p происходит от 3'-конца. Обе нити, полученные из зрелого дуплекса микроРНК, могут быть загружены в семейство белков Argonaute АТФ-зависимым образом. Для любой микроРНК доля нагруженных AGO нитей 5p или 3p сильно различается в зависимости от типа клетки

или клеточного окружения, варьируя от почти равных пропорций до преимущественно той или другой [33].

Кроме разной длины, обусловленной различными сценариями процессинга пре-микроРНК с помощью DICER, репертуар изоформ микроРНК обогащают внесение концевых модификаций и редактирование оснований A-to-I (аденин на инозин) [34]. Подобные события нередко воспринимаются как артефакты высокопроизводительного секвенирования [35], однако многие изо-микроРНК обнаруживаются в клетках в пропорции, равной или даже превышающей уровень канонической микроРНК, что ставит вопрос об их биологической значимости и роли в развитии патологий. Показано [36], что в клетке изо-микроРНК являются функциональными, а изоформы с модификациями 5' имеют измененный репертуар мишеней за счет сдвига области распознавания мишени в отличие от 3'-изоформ, которые также могут приводить к изменению перечня регулируемых транскриптов [37] и влиять на аффинность к мишени. Так, в работе S. Park с соавт. [38] установлено, что 5'-изоформа микроРНК-21-5p является клинически значимой при развитии и прогрессировании ГЦК за счет подавления экспрессии рецептора гормона роста (GHR). Более подробно биогенез изоформ микроРНК освещен в обзоре [39].

Выяснение механизмов процессинга микроРНК и генерации изоформ микроРНК является ключевым приоритетом для понимания их биологической функции, а также создания систем анализа и терапевтических стратегий [40, 41].

Механизм работы микроРНК

Трансляционная репрессия, опосредованная микроРНК

Подавление синтеза белка на матрице мРНК — трансляционная репрессия, опосредованная микроРНК, может проходить по нескольким независимым путям, конечным итогом которых является разрушение структуры, сближающей 3'- и 5'-концы мРНК. Оба пути могут действовать как независимо, так и совместно.

Направляющая нить и белок AGO образуют минимальный эффекторный комплекс RISC (miRISC). МикроРНК направляет miRISC на специфическое распознавание мРНК и посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов. Распознавание происходит с помощью затравочной области микроРНК (seed region). Основания 2–7 или 2–8 микроРНК взаимодействуют посредством уотсон-криковского спаривания оснований с комплементарными последовательностями на мРНК-мишени, называемыми элементами ответа микроРНК (MRE). Появление несоответствий в seed-области, ее низкая аффинность могут потребовать дополнительных участков комплементарности для эффективного сайленсинга [42]. Большинство сайтов связывания микроРНК расположены в 3'-нетранслируемой области (UTR) мРНК-мишени. Однако сайты связывания микроРНК также были обнаружены в последовательностях 5'UTR, в кодирующих и промоторных областях. Помимо классических сайтов в положениях 2–8 оснований микроРНК существуют альтернативные механизмы распознавания мишени. Для микроРНК-122 количество транскриптов-мишеней, опознаваемых по неклассическому сайту связывания с образованием G-выпуклости, составило 1923. Это 18,7% транскриптов, регулируемых десятью наиболее экспрессированными в печени микроРНК [43].

Степень комплементарности микроРНК к мишени определяет механизм молчания генов. МикроРНК-направленное расщепление мРНК, индуцированное высокой степенью комплементарности последовательностей, катализируется AGO2. Только относительно небольшая часть (<6%) всех микроРНК в клетках млекопитающих восприимчива к этому механизму [44]. Однако несовпадение нуклеотидов в центральной области и положениях 17–21 при спаривании оснований предотвращает активность эндонуклеазы AGO2, но инициирует рекрутирование белков, способствующих распаду мРНК посредством деаденилирования, декэпирования и экзонуклеолитического расщепления [45–47]. Подробный механизм вариантов трансляционной репрессии изложен в обзоре [48]. Рассмотрим основные моменты.

Эффекторный комплекс miRISC может ингибировать инициацию трансляции в несколько последовательных этапов. В большинстве случаев на первом этапе происходит обратимое высвобождение эукариотических факторов инициации 4A (eIF4a1 и eIF4a11) из мРНК-белкового комплекса, что препятст-

вует сборке комплекса инициации трансляции eIF4F [49] и предотвращению опознавания сайта инициации трансляции. Такой механизм репрессии трансляции, опосредованной микроРНК, представляет собой секвестрацию мРНК из аппаратов трансляции в цитоплазматические процессинговые тельца (Р-тела), которые являются функциональным сайтом опосредованного микроРНК молчания генов. Р-тела лишены какого-либо механизма трансляции и, следовательно, не участвуют в процессе трансляции, однако обеспечивают секвестрацию и быстрое включение в активно транскрибируемый пул мРНК важных регуляторных белков и трансляционных факторов [50, 51].

В дальнейшем происходит необратимая деградация с удалением 3'-поли(А)-хвоста (деаденилирование) и 5'-кэп-структуры (декэпирование) мРНК, что делает ее доступной для воздействия экзо- и эндонуклеаз. Белки TNRC6 (GW182) — партнеры AGO — играют важную роль в репрессии мишени, взаимодействуя с поли(А)-связывающим белком и привлекая деаденилирующие комплексы PAN2–PAN3 и CCR4–NOT к мРНК-мишеням [52, 53]. Декэпирование подвергает 5'-конец мРНК деградации консервативной 5'→3'-цитоплазматической экзонуклеазой XRN1, которая рекрутируется на мРНК-мишень посредством прямого взаимодействия с белком 1 декэппинга (DCP1), что обеспечивает быстрое удаление декэпированных мРНК [54]. Укорочение или удаление поли(А)-хвоста мРНК может быть сигналом для декэпирования, поскольку способствует привлечению белков Lsm1–Lsm7 и PatL1, активирующих сборку комплекса декэпирования [55].

В настоящее время все активнее изучается вопрос взаимодействия нескольких микроРНК с одной мишенью, что может опосредовать конкуренцию микроРНК [56, 57]. Продемонстрировано [58, 59], что сайты связывания микроРНК, разнесенные максимум на 26 нуклеотидов, могут действовать кооперативно. Транскриптом человека обогащен сайтами связывания микроРНК, расположенными на расстоянии, допускающем кооперативность. Неожиданно, но некоторые микроРНК дестабилизируются специфическим взаимодействием с мРНК [60–62]. Эти транскрипты содержат последовательности, которые имеют почти полное совпадение с микроРНК и в свою очередь содержат центральные несовпадения. Этот тип взаимодействия вызывает выгрузку микроРНК из AGO и дестабилизацию 3'-конца микроРНК. Эта посттранскрипционная регуляция микроРНК также называется деградацией микроРНК, направленной на мишень (TDMD). В отличие от расщепления, индуцированного каталитической активностью AGO2, для TDMD необходима полная 3'-комплементарность, делающая микроРНК доступной для ферментов [63].

Для эффективного предсказания мишеней микроРНК, конструирования искусственных и малых интерферирующих (siRNA) микроРНК, нацеленных на единичные транскрипты вследствие расширенной

зоны комплементарности, необходимо понимание термодинамической стабильности дуплекса микроРНК–мишень, а также строения доменов белков, входящих в комплекс RISC [64]. Спектр мишеней микроРНК, а также механизм трансляционной репрессии будут определяться составом комплекса RISC и взаимодействием между пулом мишеней и микроРНК в клетке [65]. Обзоры [66, 67] содержат описание последних алгоритмов для предсказания мишеней микроРНК и наиболее популярные ресурсы, основанные как на анализе *in silico*, так и на экспериментальных данных, но при этом каждый эксперимент должен включать этапы контроля нецелевых эффектов и эффективности подавления целевого транскрипта.

Неклассические механизмы работы микроРНК

Исследования, проведенные в последние 10 лет, демонстрируют значительную роль неканонических механизмов работы микроРНК в регуляции клеточных процессов [4, 7, 68]. Однако эта область в значительной мере остается неисследованной.

Помимо того, что микроРНК, находящиеся в цитоплазме, осуществляют трансляционную репрессию, показана их способность активировать трансляцию при связывании неполиаденированных мРНК [69, 70]. Обнаружено также, что компоненты miRISC локализованы в нескольких субклеточных компартментах, включающих шероховатый эндоплазматический ретикулум [71], процессинговые Р-тела [72], стрессовые гранулы (SG) [73], транс-систему Гольджи, ранние/поздние эндосомы, мультивезикулярные тельца (MVB) (74), лизосомы [75], митохондрии [76, 77]. В 2004 г. G. Meister и соавт. [78] обнаружили первую микроРНК (микроРНК-21) в ядре. Около 20% зрелой микроРНК-21, выделенной из клеток HeLa, были распределены в ядре. H.W. Hwang с соавт. [79] сообщили, что микроРНК-29b человека преимущественно локализована в ядре митотических клеток. Таким образом, как сами микроРНК, так и отдельные компоненты комплекса RISC могут свободно циркулировать между цитоплазмой и ядром, проникая в ядро, связываясь с белками семейства кареоферин, в частности экспортином-1 XPO1, импортином-8 IPO8, кареоферин β KPNB1 и XPO5, при наличии домена ядерной локализации (NLS) и сигнала ядерного экспорта (NES). Компоненты RISC, такие как TNRC6A и DICER, содержат NLS и перемещаются из цитоплазмы в ядро путем связывания с IPO8 и KPNB1 соответственно [80–82]. AGO2 не содержит классической NLS, однако IPO8 локализуется совместно с AGO2 в клетках человека и мыши, при этом в ядро перемещается только нагруженный микроРНК AGO2. Попадая в ядро, AGO2 участвует в репарации двуниевых разрывов [83], регулировании работы комплексов ремоделирования хроматина [84, 85]. При попадании в ядро AGO1 связывается с RNAPII и промоторами активно транскрибируемых генов и регулирует экспрессию генов,

которые участвуют в онкогенных путях, таких как протекание клеточного цикла, рост и выживание [86, 87]. AGO1 и AGO2 могут регулировать альтернативный сплайсинг, индуцируя H3K9me3 на вариантных участках генов, что приводит к замедлению RNAPII и рекрутированию сплайсосом [88]. При анализе циркуляции микроРНК между ядром и цитоплазмой было выявлено, что ядерная и цитоплазматическая фракции микроРНК не одинаково обогащены. Продолжительность нахождения микроРНК в ядре коррелирует с количеством предсказанных комплементарных мишеней в нем. При этом эффекторные комплексы микроРНК в ядре обладают существенно меньшей молекулярной массой по сравнению с цитоплазматическими [89].

Далее рассмотрим некоторые примеры функционирования микроРНК в ядре, такие как регуляция гистоновых кодов, взаимодействие с промоторами и энхансерами, взаимодействие с транскриптами. МикроРНК являются мощными эпигенетическими регуляторами, поскольку управляют большим количеством транскриптов, ответственных за перестройки хроматина [90]. МикроРНК также могут регулировать активность энхансеров путем трансляционной репрессии энхансер-связывающих белков, как это показано для C/EBP α , β (транскрипционных факторов, являющихся ключевыми регуляторами метаболизма глюкозы и липидов в печени), микроРНК-21 и микроРНК-155 [91, 92]. Примечательно, что микроРНК также непосредственно связываются с энхансерами генов (NamiRNA) и регулируют их, чтобы активировать транскрипцию [93]. Исследованиями на клеточных линиях [94] идентифицировано >300 локусов микроРНК в геномных областях с активными энхансерными маркерами, такими как гиперчувствительные сайты DNase I, модификация ацетилирования гистона H3 Lys 27 (H3K27ac) и рекрутирование комплекса коактиваторов r300/CBP. Недавнее исследование [95] показало роль микроРНК-492 в качестве триггера энхансеров при прогрессировании рака поджелудочной железы.

В контексте клеточных популяций печени неканонические функции микроРНК остаются малоизученными. Они могут косвенно участвовать в ремоделировании хроматина за счет трансляционной репрессии ключевых участников этого процесса. Одним из примеров является микроРНК-885-5p, которая признана маркером прогрессирования ГЦК. В исследовании S. Zou с соавт. [96] выявлено увеличение уровня гистона H3K4me3, являющегося маркером транскрипционной доступности хроматина. Авторы связывают эффект с деконденсацией промотора гена *TIGAR* и увеличением его транскрипции.

Еще одним механизмом регуляции транскрипции с помощью микроРНК является образование в ядре комплекса микроРНК-589-5p с AGO2 и GW182. Комплекс напрямую связывается с промотором циклооксигеназы-2 (*COX-2*), тем самым активируя ее транскрипцию [97] и способствуя развитию фиброза печени

и прогрессированию ГЦК [98–100]. МикроРНК-552 регулирует экспрессию цитохрома P450 (CYP2E1) на уровне транскрипции и трансляции. МикроРНК-552 взаимодействует с крестообразной структурой в промоторном регионе цитохрома, что препятствует связыванию транскрипционных факторов SMARCE1 и РНК полимеразы II [101].

Связываясь с промотором TATA-Box, микроРНК let-7i может активировать транскрипцию гена *IL2*, облегчая сборку инициаторного комплекса и присоединяя транскрипционные факторы TFIIID, TFIIA, TFIIIB, TFIIIE и TFIIIF [102]. Более того, установлено, что схожим образом происходит регуляция экспрессии FOXP3, ключевого фактора транскрипции для образования и развития T-регуляторных лимфоцитов Treg. Обнаружено, что передача сигнала IL-2/STAT5 повышает экспрессию FOXP3 не только классическим путем, но и за счет усиления экспрессии гена-предшественника микроРНК-4281, которая, связываясь с TATA-Box гена *FOXP3*, дополнительно активирует его транскрипцию [103]. В работе A.S. Kurt с коллегами [104] показана роль *IL2*-опосредованного привлечения Treg для уменьшения воспалительных повреждений в модели токсического повреждения печени CCl₄.

Ядерные микроРНК также могут образовывать функциональную петлю положительной обратной связи при транскрипции своего гена-хозяина. Например, микроРНК-483-5p, закодированная в гене *IGF2*, может транскрипционно повышать его экспрессию, что приводит к усилению прогрессии ГЦК *in vivo* [105].

Помимо генов, кодирующих белок, ядерные микроРНК также регулируют биогенез некодирующих РНК на уровне транскрипции. В частности, MALAT-1 представляет собой высококонсервативную lncRNA, которая играет регулируемую роль в регенераторных процессах и в заболеваниях печени, включающих фиброз, стеатоз, рак печени [106]. Сообщалось, что микроРНК-9 может связываться с AGO2 в ядре и регулировать транскрипцию MALAT-1 [107]. Более того, ядерные микроРНК также могут взаимодействовать с другими при-микроРНК и регулировать биогенез соответствующих микроРНК. Например, микроРНК-709 имеет 19 нуклеотидов, полностью комплементарных последовательности при-микроРНК-15a/16-1. МикроРНК-709 подавляет процессинг пре-микроРНК-15a/16-1 из при-микроРНК-15a/16-1 и, наконец, снижает уровень зрелой микроРНК-15a/16-1, что приводит к апоптозу клеток [108].

В исследовании [109] обнаружено, что микроРНК-122 в ядре связывается с 19-нуклеотидным UG-содержащим распознающим элементом в базальной области при-микроРНК-21 и предотвращает преобразование микропроцессором Drosha DGCR8 при-микроРНК-21 в пре-микроРНК-21. Этот механизм имеет важное значение для роста и пролиферации клеток, поскольку микроРНК-21 регулирует белок запрограммированной клеточной гибели 4 (PDCD4), который является опухолевым супрессором. Таким

образом, этот неклассический путь действия микроРНК-122 объясняет ее проапоптотический эффект.

Роль микроРНК в поддержании гомеостаза и развитии патологии печени

В настоящее время существует несколько крупных исследований, направленных на выявление микроРНК, специфично экспрессирующихся в печени. Эти исследования рассматривают разнообразие секретируемых и внутриклеточных микроРНК на уровне как органа, так и отдельных клеток.

МикроРНК, регулирующие метаболизм печени

Многочисленные обзоры подчеркивают роль микроРНК в регулировании энергетического метаболизма и детоксикационной функции печени, а также их вклад в развитие различных патологий [110–116]. Недавний обзор B.d.S. Goncalves с соавт. [117] рассматривает влияние дифференциальной экспрессии микроРНК на метаболизм липидов, углеводов и развитие резистентности к инсулину, жировой болезни печени, а также роль микроРНК, происходящих из печени, в развитии сердечно-сосудистых патологий.

Большое количество исследований посвящены поиску специфического для тканей и клеточных типов паттерна микроРНК и выявлению его роли в гомеостазе и развитии патологии. Классическим примером тканеспецифической микроРНК является микроРНК-122, которая составляет более 70% микроРНК (miRNome) печени [118], однако повышенные уровни этой микроРНК также ассоциированы с развитием метаболического синдрома, в частности диабета, и общим риском смертности пациентов с сердечной недостаточностью [119, 120]. Несмотря на то, что микроРНК-122 экспрессируется преимущественно клетками печени, показано, что гиперэкспрессия микроРНК-122 в кардиомиоцитах способствует апоптозу кардиомиоцитов и развитию множественных патологий сердца [121]. Для микроРНК-122 аннотировано более 120 мишеней [122], связанных с широким спектром клеточных процессов. МикроРНК-122 играет ключевую роль в поддержании гомеостаза печени, поскольку модулирует экспрессию белков Cyclin G1, ADAM10, IGF1R, SRF и Wnt1 [123], а также регулирует дифференцировку гепатоцитов посредством нацеливания на компоненты сигнального пути Hippo [124].

Помимо микроРНК-122 профилирование транскриптома выявило в общей сложности 277 микроРНК, экспрессируемых в печени, 166 из которых экспрессировались во всех проанализированных образцах, включая микроРНК-16, микроРНК-27b, микроРНК-30d, микроРНК-126 и несколько представителей семейства let-7 [125]. В различных работах также описана роль дифференциально экспрессирующихся микроРНК в развитии патологий. Так, гепатоцит-специфические функции были описаны для микроРНК-155 в контексте

алкогольного заболевания печени и модели частичной гепатэктомии [126, 127], а также для микроРНК-192 при остром повреждении печени и опосредованном вирусом гепатита С фиброгенезе печени [128].

Были выявлены микроРНК, которые участвуют в регуляции работы звездчатых клеток, продуцирующих внеклеточный матрикс печени. Активация пролиферации и синтетической активности звездчатых клеток опосредована микроРНК-130 через репрессию сиртуина 4 (SIRT4) [129], микроРНК-21 — за счет активации PTEN/Akt-сигнального пути [130]. Индуцированная TGF- β активация микроРНК-199 и микроРНК-200 косвенно способствует фиброзу печени за счет увеличения экспрессии профибротических генов (например, коллагенов, матриксных металлопротеаз MMP) [131]. Для некоторых микроРНК показан антифибротический эффект за счет подавления активации звездчатых клеток и блокирования экспрессии отдельных компонентов внеклеточного матрикса. Так, микроРНК-29 и микроРНК-19b подавляют экспрессию рецептора трансформирующего фактора роста бета II (TGF β RII), тем самым снижая активацию звездчатых клеток [114, 132]. Подобно микроРНК-29, основному регулятору фиброза [133], члены кластера микроРНК-17–92 (включая микроРНК-19b [134]) значительно вовлечены в контроль активности звездчатых клеток и регенерацию печени [135].

В отличие от широко изученных микроРНК гепатоцитов и звездчатых клеток данные о специфических функциях микроРНК в клетках Купфера и холангиоцитах немногочисленны. Высказано предположение о том, что микроРНК-155 активируется в инфильтрирующих макрофагах и резидентных макрофагах (клетках Купфера), подвергшихся воздействию алкоголя, что способствует развитию воспаления и фиброза через регуляцию путей TLR4/NF- κ B, Keap1/Nrf2, и это в конечном итоге приводит к развитию стеатоза, гепатита и цирроза [126, 127, 136]. МикроРНК-223, помимо поддержания липидного гомеостаза, управляет активацией и поляризацией иммунных клеток, что подробно рассмотрено в обзоре [137]. МикроРНК-223 способствует разрешению острого нейтрофильного ответа путем нацеливания на экспрессию I κ B- α при ацетаминофен-индуцированном остром токсическом повреждении печени [138].

В целом микроРНК активно регулируют энергетический обмен в клетках печени. Они поддерживают гомеостаз митохондрий, нарушение их регуляции приводит к митохондриальной дисфункции [139]. Сложная регуляторная сеть, образованная микроРНК, поддерживает гомеостаз печени, обеспечивает ответ на стрессовые воздействия и координирует различные молекулярные каскады. Рассмотрим несколько примеров, иллюстрирующих роль микроРНК на различных уровнях регуляции в клетках печени. Сиртуины (SIRT1–SIRT7) играют ключевую роль в энергетическом/липидном обмене, окислительном стрессе, воспалительной реакции, митохондриальном гомеостазе,

аутофагии и некроптозе посредством регулирования множественных путей сигнальной трансдукции [140–143]. Несмотря на большое количество микроРНК, идентифицированных как регуляторы сиртуинов в различных тканях, данных относительно их влияния на сиртуины печени мало. SIRT6, как и SIRT1, преимущественно локализован в ядре, где участвует в регуляции гликолиза и синтеза триглицеридов, а также β -окисления жирных кислот [143]. Показано [144, 145], что группа микроРНК-33a/b отрицательно регулирует экспрессию SIRT6 в клетках печени. Интересно, что микроРНК-122 также имеет сайт связывания в 3'-некодирующей области SIRT6 и опосредует его негативную регуляцию в адвентициальных фибробластах и печени, где они совместно регулируют окисление жирных кислот [146, 147].

SIRT3, основная деацетилаза в митохондриях, участвует во всех аспектах митохондриального метаболизма, а также в биогенезе и динамике митохондрий, обеспечивая защиту от АФК, регуляцию цикла трикарбоновых кислот. Помимо облегчения митохондриального стресса SIRT3 может запускать митофагию, активируя FOXO3a [143]. Установлено, что микроРНК-34a-5p [148, 149] и микроРНК-421 (значительно увеличенная при НАЖБП [150]) могут прямо или косвенно регулировать SIRT3, тем самым подавляя экспрессию его генов и уровень белка в печени. Кроме того, микроРНК-210 нацеливается и подавляет белок сборки железосерного кластера (ISCU), который изменяет соотношение NAD⁺/NADH, косвенно влияющее на SIRT3 [151].

SIRT1 участвует в многочисленных метаболических путях, таких как глюконеогенез, гликолиз, окисление и синтез жирных кислот, окислительное фосфорилирование или азотный обмен, а также в нескольких фундаментальных и гомеостатических процессах, таких как митохондриальный биогенез, воспаление, апоптоз или онкогенез [142]. SIRT1 регулируется микроРНК-19b [152], микроРНК-22 [153], микроРНК 449a [154].

Одной из функций сиртуинов является деацетилирование, необходимое для активации белка PGC1 α — основного контроллера митохондриального биогенеза, который играет жизненно важную роль в регуляции клеточного энергетического метаболизма [155]. PGC1 α был идентифицирован как ген-мишень для микроРНК-871-5p [156], микроРНК-29c [157] в гепатоцитах. Показано, что для НАЖБП характерно снижение уровня мРНК и белка PGC1 α , а также нарушение его связывания с промоторами ядерных респираторных факторов NRF1 и NRF2 [158], определяющих экспрессию множества ядерных генов, которые кодируют белки, нацеленные на митохондрии, такие как ДНК-полимераза γ (POLG), ДНК-хеликаза (Twinkle). Эти белки необходимы для репликации мтДНК и митохондриального фактора транскрипции А (TFAM) [159]. Так, гиперэкспрессия микроРНК-378a-3p подавляла NRF1, способствуя накоплению липидов и

нарушению окисления жирных кислот, что приводило к обострению гепатостеатоза [160, 161].

W. Guo с соавт. [162] продемонстрировали роль микроРНК-199-5р в регуляции гликолиза в клетках ГЦК. Подавление экспрессии микроРНК-199-5р с помощью индуцированного гипоксией фактора-1 α способствовало прогрессированию опухоли за счет эффекта Варбурга. Прямой мишенью микроРНК-199-5р, микроРНК-885-5р [163] и микроРНК-125b [164] в гепатоцитах является гексокиназа 2 (HK2), катализирующая первый необратимый этап гликолиза. Смещению энергетического метаболизма в сторону гликолиза также способствует повышение киназы пируватдегидрогеназы 4 (PDK4) [165, 166], что в свою очередь повышает агрессивность опухоли, однако снижает эффективность регенерации печени в модели частичной гепатэктомии [167, 168]. Регуляция PDK4 в печени опосредована микроРНК-9-5р [169] и микроРНК-129-5р [170], а микроРНК-155 регулирует PDK4 через путь C/EBP β [171].

Изменение окислительно-восстановительного (редокс) состояния составляет важную основу многих заболеваний печени. Редокс-состояние меняется в процессе развития воспалительных, метаболических и пролиферативных заболеваний печени. В митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов производятся активные формы кислорода (АФК) при участии ферментов цитохромов семейства P450. В соответствующих условиях клетки запускают специфические молекулярные каскады, которые контролируют уровень окислительного стресса и поддерживают баланс между окислительными и антиоксидантными компонентами [172]. Редокс-чувствительный транскрипционный фактор Nrf2 является клеточным окислительно-восстановительным сенсором, который при повышении уровня АФК способствует транскрипции генов, защищающих клетки и ткани от окислительного стресса. Гены, регулируемые NRF2 через элементы антиоксидантного ответа (ARE), включают факторы, связанные с АФК и участвующие в обмене глутатиона, восстановлении тиоловых групп окисленного белка и НАДФН-продуцирующих ферментов, необходимых для ферментов, метаболизирующих лекарственные препараты, и антиоксидантных систем [173]. В контексте патологии печени NRF2-опосредованные цитопротекторные реакции противодействуют развитию различных заболеваний этого органа, включающих алкогольные и неалкогольные заболевания печени, вирусный гепатит, фиброз и ГЦК. Активность NRF2 регулируется в печени несколькими микроРНК, в частности микроРНК-27а, микроРНК-142-5р, микроРНК-153 и микроРНК128 [174]. Регулирование стабильности NRF2 осуществляется через микроРНК-200а и микроРНК-125b-5р, нацеленные на KEAP1, который способствует деградации NRF2 и усилению окислительного дистресса при фиброзе и нарушениях липидного обмена [175, 176]. Кроме того, микроРНК активно вовлечены в регуляцию других компонентов ответа на окислительный стресс в печени [177, 178].

Как и окислительный стресс, стресс эндоплазматического ретикулума (ЭПР-стресс) служит важной частью патогенеза заболеваний печени [179–181]. Более того, оба состояния неразрывно связаны [182–184]. Так, NRF2, являющийся ключевым участником ответа на окислительный стресс, может способствовать защите от ЭПР-стресса путем активации SIRT3 [185]. Нарушения липидного обмена приводят к окислительному и ЭПР-стрессу. ЭПР-стресс запускает активацию трех трансмембранных сенсоров ЭПР: IRE1 α/β , PERK и ATF6, функции которых заключаются в облегчении адаптации клеток к стрессу [186].

Активированный IRE1 α приводит к распаду микроРНК, таких как микроРНК-17, микроРНК-34а, микроРНК-96а и микроРНК-125b, которые связаны с защитой клеток в условиях стресса, путем посттранскрипционной деградации регулятора апоптотической гибели клеток каспазы-2, белка, взаимодействующего с тиоредоксином TXNIP и др. [187–189]. Наиболее изученной из указанных микроРНК является микроРНК-34а, расщепление которой приводит к облегчению стеатоза посредством активации β -окисления, транспорта жирных кислот и апоптоза (подробно рассмотрено в работе [190]). Активация PERK индуцирует экспрессию микроРНК-211, которая в свою очередь нацеливается на промотор chop/gadd153 и ослабляет его экспрессию. Это действие предоставляет клетке возможность восстановить гомеостаз до начала запуска апоптоза [191]. МикроРНК-211 также подавляет трансляцию циркадного регулятора Bmal1, что способствует ингибированию синтеза протеинов, которое необходимо для восстановления клеточного гомеостаза [192]. В настоящее время считается, что сигнальные ветви IRE1 и PERK противопоставлены и обеспечивают решение судьбы клетки в соответствии с тяжестью ЭПР-стресса [193, 194]. Существующий антагонизм обеспечен не только белок-белковым взаимодействием. Предполагается, что микроРНК-30с-2, активируемая PERK в сочетании с воспалительным транскрипционным фактором NF- κ B, нацеливается на главный эффектор ветви IRE1-транскрипционный фактор XBP1, регулирует его оборот и поддерживает баланс между про- и неадаптивными процессами в ЭПР-стрессе [195]. Облегчению ЭПР-стресса в гепатоцитах может способствовать микроРНК-26а [196] за счет нацеливания на эукариотический фактор инициации eIF2 α , который также ингибируется при активации PERK. Примечательно, что в моделях неалкогольной жировой болезни печени и в печени пациентов с НАЖБП экспрессия микроРНК-26а является подавленной. Недавнее исследование показало, что ATF6 служит прямой мишенью микроРНК-149 и может облегчить ЭПР-стресс при НАЖБП за счет уменьшения воспалительной реакции и предотвращения активации каспазы 12 [197].

Таким образом, микроРНК обеспечивают регуляцию широкого спектра метаболических процессов в различных клеточных популяциях печени. Изменение

их экспрессии служит адаптивной функцией и также является частью механизма прогрессии патологий.

Межклеточная коммуникация

Современными исследователями внеклеточные везикулы рассматриваются как одни из ключевых медиаторов межклеточной коммуникации, поскольку они осуществляют как локальную ауто- и паракринную регуляцию, так и эндокринную регуляцию. Активно исследуются различные аспекты биогенеза и функционирования внеклеточных везикул в норме и при различных патологиях. В обзорах [198–200] подробно рассмотрены текущие представления о биологии внеклеточных везикул.

В настоящее время не вызывает сомнений, что молекулы, находящиеся во внеклеточных везикулах, отражают патологические процессы, происходящие в клетках [201–204]. С момента открытия в 2007 г. возможности переноса мРНК и микроРНК в везикулах [205] регуляторную роль нуклеиновых кислот начали исследовать наиболее активно. В последние годы появились некоторые базы данных и созданные сообществом каталоги молекул, идентифицированных во внеклеточных везикулах, например Vesiclepedia (H. Kalra с соавт. [206]), Exocarta (S. Mathivanan и R.J. Simpson [207]), exRNA (O.D. Murillo с соавт. [208]) и ExoRBase (H. Lai с соавт. [209]).

В исследовании [210] выявлено, что 210 из 664 (34%) проанализированных микроРНК дифференциально экспрессируются во внеклеточных везикулах, полученных от различных типов клеток, что соответствует представлениям о специфических профилях микроРНК и механизмах их распределения (сортировки), характерных для различных клеток. Авторы также продемонстрировали, что в зависимости от типа клеток определенные микроРНК могут либо преимущественно экспортироваться, либо, наоборот, сохраняться в клетке. В исследовании L. Santangelo с соавт. [211] выявлена система сортировки микроРНК в гепатоцитах. Белок SYNCRIP опосредует транспорт в везикулы микроРНК, имеющие мотив hEXO (GGCU), который был общим примерно для 60% микроРНК, преимущественно находящихся в экзосомах. Авторы полагают, что этот механизм может работать как независимо, так и синергетически с другими механизмами, например с ранее открытым hnRNPA2B1-GGAG [212].

Для некоторых микроРНК внутриклеточные изменения соответствовали наблюдаемым изменениям концентрации микроРНК в сыворотке. Активация микроРНК-571 в гепатоцитах и звездчатых клетках сопровождалась повышенным уровнем этой микроРНК в сыворотке крови, что коррелировало со стадией фиброза печени у пациентов, в то время как более низкие уровни микроРНК-652 в сыворотке коррелировали со снижением экспрессии этой микроРНК в моноцитах и отражали степень воспаления печени [213].

Сообщается также об асимметрии сортировки микроРНК-122 в печени при НАЖБП. МикроРНК-122

является ключевым регулятором гомеостаза липидов в печени [214], и ее повышение было выявлено при развитии НАЖБП [215, 216]. Авторы [217] обнаружили, что при НАЖБП происходит увеличение уровня внеклеточной микроРНК-122, однако уровень этой же микроРНК в гепатоцитах резко снижается. Это может быть частью регуляторного механизма, описанного T. O'Grady с соавт. [218]. Согласно полученным ими результатам, белок HNRNPA2B1 может опосредовать регуляцию клеточного транскриптома, участвуя в упаковке микроРНК, мРНК и lncRNA в везикулы, что позволяет клетке избавиться от нежелательных транскриптов.

Помимо внеклеточных везикул перенос микроРНК осуществляют альбумины [219], липопротеины высокой плотности (ЛПВП) размером от 5 до 12 нм, липопротеины низкой плотности (ЛПНП) размером от 18 до 25 нм, хиломикроны размером до 1200 нм, которые распространены в кровообращении и, вероятно, представляют собой преобладающий тип частиц в препаратах плазмы [220–223]. ЛПВП и ЛПНП, как и хиломикроны, могут также транспортировать микроРНК и, следовательно, представляют собой важный переносчик микроРНК в кровотоке [224, 225]. С учетом факта, что печень является одним из основных источников липопротеинов в крови, можно сделать вывод: диагностический потенциал микроРНК, переносимых липопротеинами, огромен. Однако сложность проведения экспериментов по выделению и изучению отдельной от внеклеточных везикул фракции липопротеинов делает эти исследования крайне труднодоступными.

J. Wagner с коллегами [226] анализировали микроРНК, переносимые липопротеинами крови. По результатам исследования установлено, что ЛПВП более обогащены микроРНК, чем ЛПНП. При этом авторы предполагают, что 8% (более 10 000 копий/мкг) циркулирующей микроРНК-223 связаны с ЛПВП.

Первые доказательства биологической функциональности микроРНК, переносимой ЛПВП, были представлены в 2011 г. K.C. Vickers с соавт. [227]. Авторы показали, что нативные ЛПВП, нагруженные миметиками микроРНК-375 или микроРНК-223-3р, эффективно доставляют эти микроРНК в культивируемые гепатоциты человека с сопутствующим снижением уровней мРНК двух предполагаемых генов-мишеней микроРНК-223-3р. Они установили, что перенос микроРНК, связанной с липопротеинами, в клетки-реципиенты в основном зависит от рецептора-мусорщика класса В типа 1 (SR-BI).

МикроРНК и вирусные заболевания

При вирусной инфекции микроРНК выступают как регуляторы вирусной репликации, антиген-презентации и иммунного ответа. Они могут также вызывать широкий спектр цитотоксических эффектов. Вирусы не только являются причиной aberrантной экспрессии микроРНК хозяина, но и кодируют собственные

микроРНК [228]. Первое сообщение о кодировании микроРНК вирусами относится к 2004 г., когда были найдены первые микроРНК вируса Эпштейна–Барр [229]. В настоящее время известно 44 зрелых микроРНК, кодируемых в геноме вируса Эпштейна–Барр [230, 231]. Недавние исследования показали наличие вирусной микроРНК CoV2-miR-07a у коронавируса. Исследователи предполагают, что эта микроРНК регулирует передачу сигнала интерферонов [232–234].

По оценкам ВОЗ, в 2015 г. 257 млн человек (3,5% населения) живут с хронической инфекцией гепатита В (HBV), при этом 2,7 млн из них коинфицированы ВИЧ (<https://www.who.int/publications/i/item/9789241565455>).

Инфицирование вирусом HBV является не только причиной гепатита, но и увеличивает риск развития ГЦК в 100 раз [234]. Однако имеющиеся на сегодняшний день данные не позволяют в полной мере описать процессы, лежащие в основе злокачественной трансформации.

Первая микроРНК вируса HBV была идентифицирована относительно недавно, в 2017 г. HBV-miR-3 расположена в нуклеотидах с 373-го по 393-й геном HBV [235]. HBV-miR-3 нацеливается на уникальный участок транскрипта HBV размером 3,5 тыс. пар нуклеотидов. Позднее авторы [236] выявили, что данная микроРНК может усиливать интерферон-опосредованный противовирусный ответ, а также способствовать поляризации макрофагов M1 и усилению секреции IL-6 через прямое ингибирование SOCS5. HBV-miR-3 связывается с 3'-областью мРНК опухолевого супрессора PTEN, подавляя его трансляцию, что способствует уходу опухолевых клеток от апоптоза и усилению их пролиферации [237]. Еще одна микроРНК, кодируемая вирусом гепатита В, была открыта в 2022 г. V. Loukachov с соавт. [238]. HBV-miR-6 находится между нуклеотидами 255 и 325 генома HBV. Авторы предполагают ее участие в репликации и выделении вирусных частиц, поскольку уровень мРНК ни одной из 25 предполагаемых мишеней, идентифицированных miRDB, не изменялся при гиперэкспрессии HBV-miR-6, при этом уровень ее экспрессии коррелировал с уровнем ДНК HBV в печени и поверхностного антигена HBsAg в плазме. В отличие от ранее идентифицированной в образцах гепатомы HBV-miR-3, HBV-miR-6 была выявлена на более ранних этапах развития заболевания, что может говорить о переключении экспрессии микроРНК на разных этапах заболевания.

Клеточные микроРНК также могут влиять на репликацию вирусных геномов и регулировать противовирусный ответ. Одним из примеров таких микроРНК является микроРНК-122, которая способствует репликации вируса гепатита С, защищая его от деградации и изменяя конформацию вирусной РНК, делая сайт инициации трансляции (IRES) доступным для ферментов [239–242].

МикроРНК в клинике: диагностические и терапевтические возможности

Диагностика на основе микроРНК

Благодаря большому количеству накопленных знаний о биологической функции микроРНК и изменениях микроРНОма при развитии широкого спектра патологий в настоящее время микроРНК активно исследуют в качестве диагностического, прогностического и терапевтического инструмента в клинической практике. На данный момент в базе данных клинических испытаний ClinicalTrials.gov (<https://clinicaltrials.gov>) по запросу “microRNA” насчитывается 509 результатов, однако только 35 из них содержат ключевые термины, связанные с печенью, при этом подавляющее большинство исследований посвящены диагностике на основе микроРНК. В обзоре Т. Kim и С.М. Croce [243] рассматриваются перспективные клинические испытания диагностических панелей и препаратов на основе микроРНК для лечения онкологических заболеваний. Авторы подчеркивают, что плеiotропность действия микроРНК служит как препятствием на пути создания микроРНК-терапии за счет неожиданных нецелевых эффектов, так и главным преимуществом, поскольку канцерогенез характеризуется сложными эпигенетическими изменениями, лежащими в его основе. Заболевания печени не являются исключением. В недавнем обзоре X. Zhao с соавт. [244] подробно рассмотрены биологическая функция, участие в патогенезе и диагностический потенциал микроРНК внеклеточных везикул, секретируемых разными типами клеток печени.

МикроРНК могут выступать в качестве новых биомаркеров различных патологий, поскольку они очень стабильны и легко обнаруживаются в периферической крови. Исследования по профилированию экспрессии генов выявили изменения в экспрессии микроРНК при ряде заболеваний человека. Сложность регуляции микроРНК не позволяет использовать только одну микроРНК в качестве маркера определенного заболевания. Огромные усилия направлены на поиск панелей микроРНК, которые могли бы помочь диагностировать заболевание с высокой точностью, отследить его прогрессию и соответствующим образом скорректировать схему лечения. Активно разрабатываются многочисленные панели микроРНК для диагностики ГЦК [245, 246], фиброза [244, 247], стеатоза [190, 248], реакции острого отторжения трансплантата печени [249] и других патологий.

Эксперименты по выявлению микроРНК-биомаркеров обычно состоят из фазы открытия и фазы проверки. На этапе открытия параллельно проводится анализ сотни микроРНК, чтобы идентифицировать кандидатные биомаркеры. Из-за большой стоимости высокопроизводительных экспериментов количество людей, включенных в такие исследования, часто слишком мало, что может легко привести к получению ложноположительных и ложноотрицательных ре-

зультатов. На этапе проверки небольшое количество идентифицированных кандидатов-биомаркеров измеряется в большой выборке опытных и контрольных образцов, как правило, с помощью количественной ПЦР (кПЦР). Хотя кПЦР является чувствительным методом измерения микроРНК в крови, дизайн эксперимента и анализ данных кПЦР остаются слабым местом многих исследований. Пропуск некоторых важных шагов при планировании и анализе эксперимента по количественной ПЦР или их неправильное выполнение могут привести к серьезным систематическим ошибкам. Подробные рекомендации по планированию и проведению экспериментов по выявлению РНК и микроРНК биомаркеров приведены в работах [250–252].

Терапевтические подходы к лечению заболеваний печени, основанные на применении микроРНК

Манипулирование уровнем экспрессии микроРНК может одновременно влиять на широкий спектр клинически важных мишеней, что открывает многообещающие терапевтические возможности. Направления работы по созданию терапии на основе микроРНК можно разделить на две большие группы: заместительная терапия микроРНК (усиление или восстановление экспрессии эндогенных микроРНК, которые действуют как супрессоры патологии) и супрессия микроРНК (снижение экспрессии или функциональ-

ное блокирование микроРНК, которые действуют как драйверы патологии). Способы доставки нуклеиновых кислот и основные терапевтические стратегии с использованием микроРНК представлены на рис. 2.

Для изменения уровня экспрессии микроРНК обычно используются нуклеиновые кислоты, в том числе ингибиторы микроРНК на основе олигонуклеотидов (anti-miR), микроРНК-губки и др., а также агонисты микроРНК: синтетические микроРНК (miRNA mimics), рекомбинантные векторы экспрессии, несущие последовательности, кодирующие микроРНК и т.д. Отдельно стоит выделить терапевтические подходы, основанные на применении биоактивных веществ и лигандов, влияющих на транскрипцию, процессинг и функционирование микроРНК [253]. В обзорной статье A.S. Doghish с соавт. [254] приводятся примеры микроРНК, рассматриваемых в качестве терапевтических мишеней для воздействия ингибиторами или для заместительной терапии при различных заболеваниях печени. В метаанализе Y. Zhu с соавт. [255] представлены 96 исследований, в которых изучали терапевтическое воздействие 56 различных микроРНК на НАЖБП/НАСГ. Авторы отмечают роль микроРНК-34а, микроРНК-21, а также семейства микроРНК-130 и микроРНК-146 в прогрессировании патологий печени.

Снижение активности микроРНК в основном достигается за счет применения губок микроРНК, антисмысловых олигонуклеотидов (ASO), маскирующих

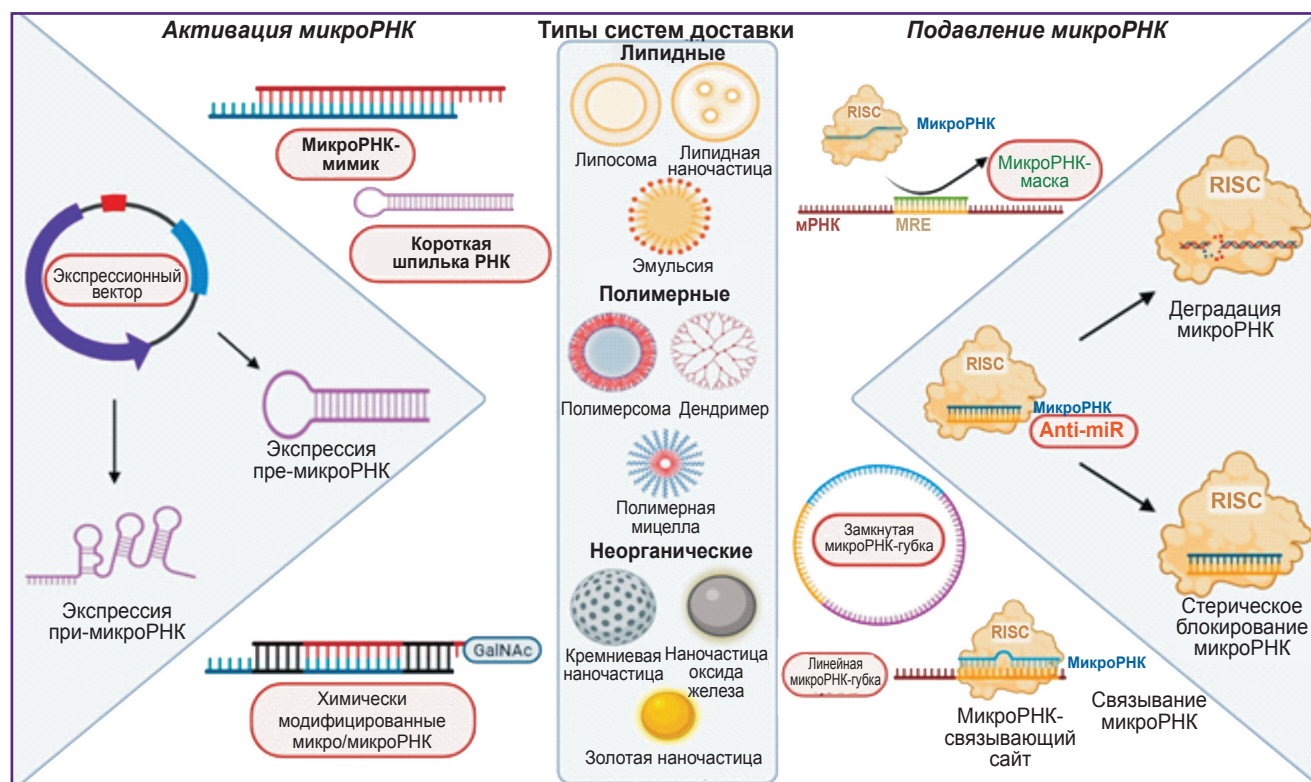


Рис. 2. Способы доставки нуклеиновых кислот и основные терапевтические стратегии с использованием микроРНК

микроРНК, или с помощью антисмысловых олигонуклеотидов, нацеленных на микроРНК (АМО) [256]. Технология «микроРНК-губка» заключается в запуске экспрессии молекул мРНК с несколькими сайтами связывания с целевой микроРНК, которые будут действовать как приманка или губка для улавливания таргетных микроРНК. Таким образом, эндогенная мРНК-мишень будет сохранена и сможет нормально функционировать [257]. Подобно эндогенным микроРНК-губкам, вводимые конструкции могут быть лианеризованными и циркулярно-замкнутыми (как эндогенные кольцевые РНК), что повышает их стабильность и уменьшает нецелевые эффекты [258, 259]. Существенным ограничением данной технологии является высокая стоимость. Зачастую также требуется применение вирусных векторов для их доставки в клетку и подбор промоторов, обеспечивающих высокую экспрессию в конкретном типе клеток. Кроме того, для подобных конструкций характерны высокая иммуногенность и цитотоксичность. Однако микроРНК-губки могут нести множество сайтов связывания микроРНК, что позволяет одновременно регулировать большое количество мишеней.

Технология антисмысловых олигонуклеотидов, маскирующих мишени микроРНК (микроРНК-маска (miR-mask), также известная как BlockmiR, протекторы мишени или блокаторы сайтов-мишеней), основана на обратном подходе: вместо блокирования целевой микроРНК эти молекулы защищают мРНК, функцию которой желательно сохранить. Более того, технология miR-mask нацелена на микроРНК геноспецифичным образом, т.е. олигонуклеотиды предназначены для защиты конкретных сайтов мРНК и, следовательно, экспрессии интересующего белка. Это позволяет не затрагивать прочие транскрипты, регулируемые микроРНК, что способствует снижению нецелевых эффектов терапии [260]. Одним из возможных препятствий применению miR-mask может стать наличие множественных сайтов связывания seed-области микроРНК в кодирующих и 5'-областях мРНК.

Этот подход можно дополнительно комбинировать с губками микроРНК (технология Sponge miR-mask), чтобы блокировать доступ нескольких членов микроРНК к их сайтам связывания на мРНК, что приводит к активации экспрессии белков. Sponge-miR-mask предназначена для связывания за счет частичной комплементарности с 3'UTR всех целевых мРНК зародышевого сайта семейства микроРНК длиной 8 нуклеотидов. Однако технология Sponge miR-mask имеет плохую генную специфичность, поскольку эти молекулы могут блокировать экспрессию всех генов, связанных с одним и тем же сайтом связывания мишени всего семейства микроРНК [261].

Самый популярный подход к коррекции aberrантной экспрессии микроРНК основан на синтезе антисмысловых олигонуклеотидов с последовательностью, комплементарной микроРНК. Чтобы улучшить биостабильность и аффинность связывания с целе-

вой микроРНК, anti-miR требуют химических модификаций. Модификации включают внесение фосфоротиоатных связей в межнуклеотидные связи, модификацию сахара 2'-О-метил РНК (2'OMe) у antagomiR или введение оснований замкнутых нуклеиновых кислот (LNA) у LNA-anti-miR. Anti-miR с химическими модификациями с более низким сродством, такими как 2'OMe, вызывают деградацию микроРНК, в то время как anti-miR с химическими модификациями, повышающими сродство к мишени, такие как LNA, не индуцируют деградацию микроРНК, но ингибируют целевую микроРНК посредством механизма стерической блокировки [262]. В то время как antagomiR конъюгированы с холестерином, что облегчает их клеточное поглощение, LNA-anti-miR имеют фосфоротиоатный остов, обеспечивающий большую стабильность, высокую аффинность связывания и хорошие фармакокинетические свойства [263]. Миравирсен (анти-микроРНК-122) представляет собой антисмысловый LNA-олигонуклеотид к микроРНК, который одним из первых был использован в клинических испытаниях как таргетный препарат для лечения гепатита С [264].

Заместительная микроРНК-терапия направлена на восстановление уровня микроРНК, снижение которого способствует прогрессированию патологии. В качестве экзогенных микроРНК могут быть использованы синтетические двуцепочечные микроРНК (miRmimic), несущие различные химические модификации, некоторые из которых будут рассмотрены в следующем разделе. МикроРНК могут быть доставлены в клетку в виде транскрибируемого в ядре вектора, который затем проходит классический путь биогенеза микроРНК от стадии при-микроРНК [265] или пре-микроРНК [266]. Кроме того, малые интерферирующие РНК (миРНК, siRNA), действуя подобно микроРНК с высокой комплементарностью к мишени, обладают более узким репертуаром мишеней по сравнению с канонически спаренными микроРНК за счет комплементарных участков за пределами seed-региона, что также дает возможность AGO2 расщеплять мРНК за счет эндонуклеазной активности, обеспечивая эффективность нокдауна более 80% [267]. Несмотря на простоту дизайна и широкий спектр мишеней миметиков микроРНК, миРНК обладают меньшим количеством нецелевых эффектов, что дает им преимущество в клинических испытаниях.

Следует отметить, что имитаторы двуцепочечной микроРНК потенциально могут индуцировать неспецифический интерфероновый ответ TLR-зависимыми и TLR-независимыми путями [268]. Другой потенциальной проблемой заместительной терапии микроРНК является проблема введения супрафизиологических концентраций микроРНК при попытке восстановить уровень микроРНК, что ведет к поглощению нецелевыми тканями, а также включению в RISC пассажирских цепей, накоплению продуктов модификаций микроРНК. Таким образом, целевая доставка миметиков микроРНК в соответствующий тип клеток или тка-

ней будет важна для предотвращения нежелательных побочных эффектов этого терапевтического подхода.

Системы доставки

Для доставки биоактивных молекул в качестве терапевтических агентов применяется как пассивная, так и адресная доставка. Пассивная доставка определяется внутренними свойствами и анатомией ткани или типа клеток. Специфические лиганды или распознающие молекулы для пассивной доставки лекарственного средства не являются необходимыми [269]. Одной из функций мононуклеарной фагоцитарной системы (МФС) является захват и удаление инородных тел, находящихся в системе кровообращения, для защиты организма от вредного воздействия. Следовательно, микроРНК при условии достаточной стабильности имеют тенденцию накапливаться посредством пассивной доставки в печени, селезенке, лимфатических узлах и почках, которые являются фильтрующими органами, принадлежащими МФС [270].

В отличие от большинства других тканей печень не имеет непроницаемой базальной мембраны. Следовательно, в отсутствие препятствий, таких как агрегация или связывание с белками [271], большинство носителей микроРНК демонстрируют быстрое пассивное накопление в печени после системного введения. Пассивное нацеливание на клетки печени в основном определяется диаметром фенестр, образуемых синусоидальными клетками печени, которые обеспечивают селективность в отношении клеток Купфера и синусоидальных клеток (>100 нм), с одной стороны, или гепатоцитов и звездчатых клеток (<100 нм) — с другой стороны. В опухолевых тканях накопление наночастиц может быть значительно облегчено за счет характерной для опухоли негерметичной сосудистой сети и увеличенного расстояния между эндотелиальными клетками сосудов [272].

Несмотря на эффективность пассивного поглощения наночастиц печенью, большое количество нецелевых эффектов, обусловленных накоплением в почках, легких, селезенке и других органах, создают потребность в более специфичной направленной доставке. Существует несколько подходов к активной таргетной доставке микроРНК, включающих конъюгацию, вирус-ассоциированную доставку и модифицированные наночастицы. Несмотря на экспериментальное доказательство того, что подходы к доставке микроРНК, ассоциированные с вирусами, эффективны при лечении онкологических заболеваний, соображения безопасности, связанные с использованием вирусов, на данный момент ограничивают их клиническое применение, и другие невирусные системы доставки кажутся более многообещающими [273].

Метод конъюгации, в которой липиды или лиганды, нацеленные на клеточные рецепторы, непосредственно связываются с микроРНК, является одним из популярных подходов для доставки микроРНК. Печень активно поглощает широкий спектр высоко-

и низкомолекулярных соединений, что позволяет с высокой эффективностью использовать микроРНК, соединенные с различными лигандами. В качестве специфичного сайта нацеливания в печени может выступать азиалогликопротеиновый рецептор 1 (ASPGR1), представляющий собой трансмембранный белок и экспрессирующийся преимущественно на мембране гепатоцитов [274]. Специфическое связывание N-ацетилгалактозамина (GalNAc) с ASPGR1 приводит к быстрому эндоцитозу. По состоянию на август 2023 г. четыре микроРНК, конъюгированные с GalNAc (гивосиран, лумасиран, инклизирин и вутрисиран), от биофармацевтической компании Alnylam Pharmaceuticals были одобрены для клинического использования. Гивосиран предназначен для подавления печеночной синтазы δ -аминолевулиновой кислоты 1 (ALAS1) для лечения острой печеночной порфирии, вызванной нарушением экспрессии ALAS1, которое может привести к накоплению токсичных метаболитов. Лумасиран используется для лечения первичной гипероксалурии 1-го типа путем ингибирования экспрессии оксидазы гидроксикислот 1 (HGO1), что приводит к снижению уровня оксалатов в печени. Инклизирин снижает уровень экспрессии печеночной протеинконвертазы субтилизина/кексина типа 9 (PCSK9), что приводит к снижению уровня холестерина ЛПНП. Это лекарство используется для лечения гиперхолестеринемии, характеризующейся повышенным уровнем холестерина ЛПНП, связанным с сердечно-сосудистым риском. Вутрисиран воздействует на микроРНК транскриптин (TTR) и снижает уровень в крови белка TTR, который в первую очередь вырабатывается печенью. Препарат используется для лечения амилоид-транскриптин-опосредованного (ATTR) амилоидоза. J.L.S. Willoughby с соавт. [275] показано: при 50% снижении экспрессии ASPGR сохраняется эффективность поглощения конъюгатов GalNAc-микроРНК, что предполагает независимые механизмы интернализации и дает возможность использования для лечения патологий, сопровождающихся снижением ASPGR в печени, включающих застойную сердечную недостаточность, алкогольный цирроз печени, цирроз печени Лаеннека, билиарный цирроз печени, а также новообразования печени и ГЦК. GalNAc может быть также дополнительно связан с другими функциональными группами. Так, компания Arrowhead Pharmaceuticals использовала сочетание GalNAc и карбоксидиметилмалеинового ангидрида для создания «протонной помпы» и выхода микроРНК из эндосом, что защищает их от деградации и способствует выходу в цитоплазму [276]. Кроме того, для доставки в печень микроРНК в качестве конъюгатов применяют холестерин, липиды, витамин E (α -токоферол) и другие вещества, опосредующие преимущественное поглощение определенным типом клеток печени (перечислены в обзорах [272, 277]).

К невирусным носителям для доставки микроРНК относятся липосомы, мицеллы, дендримеры, а также

наиболее часто используемые липидные и полимерные наночастицы. Наночастицы обычно включают катионный компонент, который образует комплексы с анионными микроРНК, таким образом защищая их от деградации и обеспечивая взаимодействие с клеточными мембранами для облегчения клеточного поглощения. Наночастицы на основе липидов являются наиболее распространенным классом нанопрепаратов, одобренных регулирующими органами FDA или EMA. Эти носители имеют множество преимуществ, таких как высокая биосовместимость, простота получения, высокая эффективность инкапсуляции и универсальность, что важно для их применения в клинике. Липосомы были впервые внедрены в клиническую практику в 1990-х годах как контейнеры, нагруженные доксорубицином (Доксил), и имели большой успех в лечении рака [277]. Затем были разработаны наиболее стабильные твердые липидные наночастицы и наноструктурированные липидные носители [278]. Катионные липиды с гидрофильными головками и гидрофобными хвостами формируют комплекс с анионной нуклеиновой кислотой, образуя липоплекс. Катионные липоплексы могут включать вспомогательные липиды, облегчающие нацеливание на определенный тип клеток. Например, модифицированные галактозой ароматические липиды использовались для нацеливания на гепатоциты [279]. Кроме того, липоплексы неиммуногенны и доступны в виде разнообразных коммерческих продуктов, например Lipofectamine RNAi-MAX, SiPORT (Invitrogen, США), SilentFect™ (Bio-Rad, США) и DharmaFECT (Dharmacon, США). Взаимодействие между катионными липидами липоплекса и анионными липидами эндосом провоцирует активный обмен липидами и образование бреши, через которую нуклеиновые кислоты попадают в цитоплазму [280]. Немодифицированные катионные липоплексы использовали для доставки микроРНК *in vivo*, но их эффективность была низка [281]. Чтобы обойти эту проблему, было использовано несколько модификаций. Конъюгирование функциональной группы полиэтиленгликоля (ПЭГ) с катионными липидами помогает избежать фагоцитоза и агрегации с эритроцитами, тем самым улучшая общую эффективность доставки в печень [282, 283]. Кроме того, липоплексы, как и другие наночастицы, могут быть использованы для совместной доставки лекарственных средств. Так, F. Xu с соавт. [284], используя липоплексы DOTAP, осуществили совместную доставку доксорубицина и микроРНК-101 в клетки ГЦК. Основным недостатком катионных липоплексов является их неспецифическое взаимодействие с другими белками, что приводит к побочным эффектам и нестабильности. Эта проблема была решена благодаря использованию нейтральных липоплексов для доставки микроРНК.

На базе липидных наночастиц разрабатываются микроРНК-препараты для борьбы с фиброзом.

ND-L02-s0201 имеет в своем составе микроРНК, нацеленную на белок теплового шока 47 (HSP47), необходимый для правильного фолдинга проколлагена в эндоплазматическом ретикулуме. Липидные наночастицы несут конъюгированный с ретиноидом таргетный агент (ди-ретинамид-ПЭГ-ди-ретинамид), который способствует поглощению наночастиц клетками-мишенями (звездчатыми клетками печени при фиброзе печени или миофибробластами легких при легочном фиброзе) [285].

В методах полимерной доставки часто применяют полиэтиленимины (PEI), в которых положительно заряженные аминогруппы образуют комплекс с анионной нуклеиновой кислотой, тем самым защищая РНК от разрушения и обеспечивая клеточное поглощение. В качестве систем-носителей микроРНК используются как линейные, так и разветвленные PEI с низкой и высокой молекулярной массой [286]. Однако низкая эффективность трансфекции и цитотоксичность делают PEI непригодными для клинического применения. Для того чтобы преодолеть данные ограничения, авторы работы [287] использовали фторирование PEI, что снижало его цитотоксичность и приводило к более эффективному накоплению наночастиц в печени с меньшим нецелевым накоплением в легких. Другие полимеры, такие как полиэтиленгликоль (PEG) или поли-L-лизин (PLL), при ковалентном слиянии с PEI помогают улучшить его биосовместимость, делая менее токсичным для клеток [288].

Сополимер полимолочной кислоты (PLA) и полигликолевой кислоты, а именно полилактид-ко-гликолид (PGLA), представляет собой другой одобренный FDA биоразлагаемый полиэфир, используемый для доставки анти-микроРНК [289]. В исследовании [290] было показано, что наночастицы PGLA размером около 270 нм поглощаются преимущественно клетками Купфера. Гидрофобность PGLA снижает эффективность доставки его микроРНК. Дендримеры представляют собой высокоупорядоченный ветвистый полимер, образующий комплекс с нуклеиновыми кислотами на основе ионных взаимодействий. Положительно заряженные синтетические полиадеиноаминовые (PAMAM) дендримеры биоразлагаемы, обладают более высокой эффективностью трансфекции и меньшей цитотоксичностью по сравнению с другими полимерами. В исследовании F. Wang с соавт. [291] внутривенная инъекция дендримеров PAMAM и PEG — нанографеноксида, связанного с анти-микроРНК-21, — была успешно доставлена в целевые опухолевые ткани. Дендримеры PAMAM использовали для доставки коротких активирующих РНК (saRNA) с целью увеличения выработки эндогенного альбумина при одновременном снижении опухолевой нагрузки в печени [292]. Другой подход заключается в использовании полимерных мицелл, состоящих из гидрофильного и гидрофобного полимера. Так, доксорубин и опухолевый супрессор микроРНК-34a были совместно

доставлены в раковые клетки с использованием этой стратегии [293].

Системы доставки на основе неорганических соединений

Неорганические соединения, которые используют для разработки носителей микроРНК, в первую очередь включают золото, магнитные наночастицы на основе Fe_3O_4 и наночастицы на основе кремнезема. Эти наночастицы с функциональными тиоловыми или аминокислотными группами могут обеспечить более сильное взаимодействие с микроРНК, тем самым облегчая его доставку [294]. В статье Х. Ли с соавт. [287] рассматривается влияние модификации поверхности золотых наночастиц хитозаном, PEG и PEI на захват различными клетками и выход наночастиц в пространство Дриссе печени. Наночастицы кремнезема термостабильны, биосовместимы, имеют большую площадь поверхности и объем пор, что делает их подходящими носителями микроРНК и анти-микроРНК [295]. Преимуществом магнитных наночастиц является возможность их нацеливания с помощью магнитного поля. Различные модификации магнитных наночастиц позволяют предотвратить агрегацию наночастиц в магнитном поле, а также снизить их цитотоксичность. Наноконструкция, состоящая из наночастиц Fe_3O_4 и полимеров, а именно полиглутаминовой кислоты и PEI, показал многообещающие результаты при доставке *in vivo*. У пациентов с ксенотрансплантатами системное введение этого наноконструкта в сочетании с рутинной химиотерапией доцетакселом подавляло рост опухоли, тем самым улучшая его терапевтический потенциал [296]. Магнитные наночастицы без модификаций покрытия, а также покрытые декстраном, рутинном и метокси-ПЭГ-фосфатом демонстрировали преимущественное накопление в печени и селезенке [297].

Исследования, направленные на внедрение микроРНК в клиническую практику, подчиняются общим требованиям к проводимым экспериментам, однако существующая специфика вносит дополнительные этапы контроля, которые необходимы для соблюдения прозрачности эксперимента. Общие положения по проведению экспериментов и возможные методы выявления целевых транскриптов для малых некодирующих РНК приведены в обзоре D.W. Thomson с соавт. [298]. Схема эксперимента с использованием антисмысловых нуклеотидов и двуцепочечных РНК подробно описана в рекомендациях K.T. Gagnon и D.R. Corey [299]. Приведенные рекомендации не являются исчерпывающими и дополняются различными этапами контроля в зависимости от специфики эксперимента. Тем не менее ключевые этапы создания микроРНК-терапии включают подтверждение перечня регулируемых транскриптов в условиях, максимально близких к необходимым, выявление физиологической реакции клетки на гиперэкспрессию/нокаут интересующей молекулы, подтверждение эффекта не только с помощью измерения уровня транс-

крипции, но и проведения иммунопреципитационных анализов для выявления изменения уровня интересующих белков. В случае использования носителей различной природы необходимо проанализировать клеточное поглощение, кинетику высвобождения молекул из носителя [300], а также цитотоксичность нагруженного носителя, поскольку не только сам носитель, но и двуцепочечная РНК, как упоминалось ранее, может запустить интерфероновый ответ.

Заключение

В настоящее время накоплено большое количество знаний об изменениях экспрессии микроРНК при различных патологиях, что позволяет создавать диагностические панели на основе микроРНК, однако на пути к терапевтическому применению микроРНК стоит большое количество нерешенных вопросов. Развивающиеся методы высокопроизводительных анализов помогают анализировать взаимодействия между различными микроРНК и их мишенями внутри одной клетки, оценивать изменения протеома, а также создавать модели этих взаимодействий для последующего практического применения. Важнейшая роль микроРНК в регуляции клеточных процессов не вызывает сомнения, более того, большая доля эффектов микроРНК остается неизученной, поскольку они выходят за рамки канонической модели трансляционной репрессии, опосредованной микроРНК. Последние достижения в разработке терапии на основе малых интерферирующих РНК для лечения заболеваний печени открывают широкие перспективы применения микроРНК для лечения более комплексных патологий печени за счет более широкого спектра регулируемых мишеней.

Вклад авторов: Д.С. Козлов — написание текста научной статьи; С.А. Родимова, Д.С. Кузнецова — редактирование обзора; Д.С. Кузнецова — курирование научной статьи.

Финансирование исследования. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №23-25-00100).

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликтов интересов.

Литература/References

1. Selbach M., Schwanhäusser B., Thierfelder N., Fang Z., Khanin R., Rajewsky N. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature* 2008; 455(7209): 58–63, <https://doi.org/10.1038/nature07228>.
2. Kozomara A., Birgaoanu M., Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Res* 2019; 47(D1): D155–D162, <https://doi.org/10.1093/nar/gky1141>.
3. Reichholf B., Herzog V.A., Fasching N., Manzenreither R.A., Sowemimo I., Ameres S.L. Time-resolved small RNA sequencing unravels the molecular principles of microRNA homeostasis. *Mol Cell* 2019; 75(4): 756–768.e7, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.06.018>.

4. Stavast C.J., Erkeland S.J. The non-canonical aspects of microRNAs: many roads to gene regulation. *Cells* 2019; 8(11): 1465, <https://doi.org/10.3390/cells8111465>.
5. Hill M., Tran N. miRNA interplay: mechanisms and consequences in cancer. *Dis Model Mech* 2021; 14(4): dmm047662, <https://doi.org/10.1242/dmm.047662>.
6. Plawgo K., Raczynska K.D. Context-dependent regulation of gene expression by non-canonical small RNAs. *Noncoding RNA* 2022; 8(3): 29, <https://doi.org/10.3390/ncrna8030029>.
7. Santovito D., Weber C. Non-canonical features of microRNAs: paradigms emerging from cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol* 2022; 19(9): 620–638, <https://doi.org/10.1038/s41569-022-00680-2>.
8. Ha M., Kim V.N. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(8): 509–524, <https://doi.org/10.1038/nrm3838>.
9. Treiber T., Treiber N., Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019; 20(1): 5–20, <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0059-1>.
10. Zapletal D., Taborska E., Pasulka J., Malik R., Kubicek K., Zanova M., Much C., Sebesta M., Buccheri V., Horvat F., Jenickova I., Prochazkova M., Prochazka J., Pinkas M., Novacek J., Joseph D.F., Sedlacek R., Bernecky C., O'Carroll D., Stefl R., Svoboda P. Structural and functional basis of mammalian microRNA biogenesis by Dicer. *Mol Cell* 2022; 82(21): 4064–4079.e13, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.10.010>.
11. Shang R., Lee S., Senavirathne G., Lai E.C. microRNAs in action: biogenesis, function and regulation. *Nat Rev Genet* 2023, <https://doi.org/10.1038/s41576-023-00611-y>.
12. Londin E., Loher P., Telonis A.G., Quann K., Clark P., Jing Y., Hatzimichael E., Kirino Y., Honda S., Lally M., Ramratnam B., Comstock C.E., Knudsen K.E., Gomella L., Spaeth G.L., Hark L., Katz L.J., Witkiewicz A., Rostami A., Jimenez S.A., Hollingsworth M.A., Yeh J.J., Shaw C.A., McKenzie S.E., Bray P., Nelson P.T., Zupo S., Van Roosbroeck K., Keating M.J., Calin G.A., Yeo C., Jimbo M., Cozzitorto J., Brody J.R., Delgrosso K., Mattick J.S., Fortina P., Rigoutsos I. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(10): E1106–E1115, <https://doi.org/10.1073/pnas.1420955112>.
13. Kuscu C., Kumar P., Kiran M., Su Z., Malik A., Dutta A. tRNA fragments (tRFs) guide Ago to regulate gene expression post-transcriptionally in a Dicer-independent manner. *RNA* 2018; 24(8): 1093–1105, <https://doi.org/10.1261/ma.066126.118>.
14. Gowda P., Reddy P.H., Kumar S. Deregulated mitochondrial microRNAs in Alzheimer's disease: focus on synapse and mitochondria. *Ageing Res Rev* 2022; 73: 101529, <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101529>.
15. Dambal S., Shah M., Mihelich B., Nonn L. The microRNA-183 cluster: the family that plays together stays together. *Nucleic Acids Res* 2015; 43(15): 7173–7188, <https://doi.org/10.1093/nar/gkv703>.
16. Ramalingam P., Palanichamy J.K., Singh A., Das P., Bhagat M., Kassab M.A., Sinha S., Chattopadhyay P. Biogenesis of intronic miRNAs located in clusters by independent transcription and alternative splicing. *RNA* 2014; 20(1): 76–87, <https://doi.org/10.1261/rna.041814.113>.
17. Vilimova M., Pfeffer S. Post-transcriptional regulation of polycistronic microRNAs. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2023; 14(2): e1749, <https://doi.org/10.1002/wrna.1749>.
18. Donayo A.O., Johnson R.M., Tseng H.W., Izreig S., Garipey A., Mayya V.K., Wu E., Alam R., Lussier C., Jones R.G., Duchaine T.F. Oncogenic biogenesis of pri-miR-17~92 reveals hierarchy and competition among polycistronic microRNAs. *Mol Cell* 2019; 75(2): 340–356.e10, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.05.033>.
19. Ratnadiwakara M., Engel R., Jarde T., McMurrick P.J., Abud H.E., Änkö M.L. SRSF3 confers selective processing of miR-17-92 cluster to promote tumorigenic properties in colorectal cancer. *Cell Biology* 2019, <https://doi.org/10.1101/667295>.
20. Gong R., Lv X., Liu F. MiRNA-17 encoded by the miR-17-92 cluster increases the potential for steatosis in hepatoma cells by targeting CYP7A1. *Cell Mol Biol Lett* 2018; 23: 16, <https://doi.org/10.1186/s11658-018-0083-3>.
21. Najafi-Shoushtari S.H., Kristo F., Li Y., Shioda T., Cohen D.E., Gerszten R.E., Näär A.M. MicroRNA-33 and the SREBP host genes cooperate to control cholesterol homeostasis. *Science* 2010; 328(5985): 1566–1569, <https://doi.org/10.1126/science.1189123>.
22. Zhang X., Zhao H., Sheng Q., Liu X., You W., Lin H., Liu G. Regulation of microRNA-33, SREBP and ABCA1 genes in a mouse model of high cholesterol. *Arch Anim Breed* 2021; 64(1): 103–108, <https://doi.org/10.5194/aab-64-103-2021>.
23. Rayner K.J., Suárez Y., Dávalos A., Parathath S., Fitzgerald M.L., Tamehiro N., Fisher E.A., Moore K.J., Fernández-Hernando C. MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis. *Science* 2010; 328(5985): 1570–1573, <https://doi.org/10.1126/science.1189862>.
24. Prel A., Dozier C., Combier J.P., Plaza S., Besson A. Evidence that regulation of pri-miRNA/miRNA expression is not a general rule of miPEPs function in humans. *Int J Mol Sci* 2021; 22(7): 3432, <https://doi.org/10.3390/ijms22073432>.
25. Niu L., Lou F., Sun Y., Sun L., Cai X., Liu Z., Zhou H., Wang H., Wang Z., Bai J., Yin Q., Zhang J., Chen L., Peng D., Xu Z., Gao Y., Tang S., Fan L., Wang H. A micropeptide encoded by lncRNA MIR155HG suppresses autoimmune inflammation via modulating antigen presentation. *Sci Adv* 2020; 6(21): eaaz2059, <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz2059>.
26. Kim Y.K., Kim B., Kim V.N. Re-evaluation of the roles of DROSHA, Exportin 5, and DICER in microRNA biogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113(13): E1881–E1889, <https://doi.org/10.1073/pnas.1602532113>.
27. Park J.E., Heo I., Tian Y., Simanshu D.K., Chang H., Jee D., Patel D.J., Kim V.N. Dicer recognizes the 5' end of RNA for efficient and accurate processing. *Nature* 2011; 475(7355): 201–205, <https://doi.org/10.1038/nature10198>.
28. Gu S., Jin L., Zhang Y., Huang Y., Zhang F., Valdmanis P.N., Kay M.A. The loop position of shRNAs and pre-miRNAs is critical for the accuracy of dicer processing in vivo. *Cell* 2012; 151(4): 900–911, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.09.042>.
29. Lee Y.Y., Kim H., Kim V.N. Sequence determinant of small RNA production by DICER. *Nature* 2023; 615(7951): 323–330, <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05722-4>.
30. Grimm D., Wang L., Lee J.S., Schürmann N., Gu S., Börner K., Storm T.A., Kay M.A. Argonaute proteins are key determinants of RNAi efficacy, toxicity, and persistence in the adult mouse liver. *J Clin Invest* 2010; 120(9): 3106–3119, <https://doi.org/10.1172/jci43565>.

31. Valdmanis P.N., Gu S., Schüermann N., Sethupathy P., Grimm D., Kay M.A. Expression determinants of mammalian argonaute proteins in mediating gene silencing. *Nucleic Acids Res* 2012; 40(8): 3704–3713, <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1274>.
32. Wu J., Yang J., Cho W.C., Zheng Y. Argonaute proteins: structural features, functions and emerging roles. *J Adv Res* 2020; 24: 317–324, <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.04.017>.
33. Meijer H.A., Smith E.M., Bushell M. Regulation of miRNA strand selection: follow the leader? *Biochem Soc Trans* 2014; 42(4): 1135–1140, <https://doi.org/10.1042/bst20140142>.
34. Liao Y., Jung S.H., Kim T. A-to-I RNA editing as a tuner of noncoding RNAs in cancer. *Cancer Lett* 2020; 494: 88–93, <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.08.004>.
35. Cloonan N., Wani S., Xu Q., Gu J., Lea K., Heater S., Barbacioru C., Steptoe A.L., Martin H.C., Nourbakhsh E., Krishnan K., Gardiner B., Wang X., Nones K., Steen J.A., Matigian N.A., Wood D.L., Kassahn K.S., Waddell N., Shepherd J., Lee C., Ichikawa J., McKernan K., Bramlett K., Kuersten S., Grimmond S.M. MicroRNAs and their isomiRs function cooperatively to target common biological pathways. *Genome Biol* 2011; 12(12): R126, <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-12-r126>.
36. Tan G.C., Chan E., Molnar A., Sarkar R., Alexieva D., Isa I.M., Robinson S., Zhang S., Ellis P., Langford C.F., Guillot P.V., Chandrashekrana A., Fisk N.M., Castellano L., Meister G., Winston R.M., Cui W., Baulcombe D., Dibb N.J. 5' isomiR variation is of functional and evolutionary importance. *Nucleic Acids Res* 2014; 42(14): 9424–9435, <https://doi.org/10.1093/nar/gku656>.
37. Dika E., Broseghini E., Porcellini E., Lambertini M., Riefolo M., Durante G., Loher P., Roncarati R., Bassi C., Misciali C., Negrini M., Rigoutsos I., Londin E., Patrizi A., Ferracin M. Unraveling the role of microRNA/isomiR network in multiple primary melanoma pathogenesis. *Cell Death Dis* 2021; 12(5): 473, <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03764-y>.
38. Park S., Yang H.D., Seo J.W., Nam J.W., Nam S.W. hnRNPc induces isoform shifts in miR-21-5p leading to cancer development. *Exp Mol Med* 2022; 54(6): 812–824, <https://doi.org/10.1038/s12276-022-00792-2>.
39. Tomasello L., Distefano R., Nigita G., Croce C.M. The microRNA family gets wider: the isomiRs classification and role. *Front Cell Dev Biol* 2021; 9: 668648, <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.668648>.
40. Schamberger A., Orbán T.I. 3' isomiR species and DNA contamination influence reliable quantification of microRNAs by stem-loop quantitative PCR. *PLoS One* 2014; 9(8): e106315, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106315>.
41. Zhiyanov A., Nersisyan S., Tonevitsky A. Hairpin sequence and structure is associated with features of isomiR biogenesis. *RNA Biol* 2021; 18(sup1): 430–438, <https://doi.org/10.1080/15476286.2021.1952759>.
42. McGeary S.E., Bisaria N., Pham T.M., Wang P.Y., Bartel D.P. MicroRNA 3'-compensatory pairing occurs through two binding modes, with affinity shaped by nucleotide identity and position. *Elife* 2022; 11: e69803, <https://doi.org/10.7554/elife.69803>.
43. Luna J.M., Barajas J.M., Teng K.Y., Sun H.L., Moore M.J., Rice C.M., Darnell R.B., Ghoshal K. Argonaute CLIP defines a deregulated miR-122-bound transcriptome that correlates with patient survival in human liver cancer. *Mol Cell* 2017; 67(3): 400–410.e7, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.06.025>.
44. Ghini F., Rubolino C., Climent M., Simeone I., Marzi M.J., Nicassio F. Endogenous transcripts control miRNA levels and activity in mammalian cells by target-directed miRNA degradation. *Nat Commun* 2018; 9(1): 3119, <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05182-9>.
45. Rani V., Sengar R.S. Biogenesis and mechanisms of microRNA-mediated gene regulation. *Biotechnol Bioeng* 2022; 119(3): 685–692, <https://doi.org/10.1002/bit.28029>.
46. Kilikevicius A., Meister G., Corey D.R. Reexamining assumptions about miRNA-guided gene silencing. *Nucleic Acids Res* 2022; 50(2): 617–634, <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1256>.
47. Wahid F., Shehzad A., Khan T., Kim Y.Y. MicroRNAs: synthesis, mechanism, function, and recent clinical trials. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803(11): 1231–1243, <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2010.06.013>.
48. Naeli P., Winter T., Hackett A.P., Alboushi L., Jafarnejad S.M. The intricate balance between microRNA-induced mRNA decay and translational repression. *FEBS J* 2023; 290(10): 2508–2524, <https://doi.org/10.1111/febs.16422>.
49. Fukao A., Mishima Y., Takizawa N., Oka S., Imataka H., Pelletier J., Sonenberg N., Thoma C., Fujiwara T. MicroRNAs trigger dissociation of eIF4A1 and eIF4A11 from target mRNAs in humans. *Mol Cell* 2014; 56(1): 79–89, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.09.005>.
50. Luo Y., Na Z., Slavoff S.A. P-bodies: composition, properties, and functions. *Biochemistry* 2018; 57(17): 2424–2431, <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.7b01162>.
51. Ivanov P., Kedersha N., Anderson P. Stress granules and processing bodies in translational control. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2019; 11(5): a032813, <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a032813>.
52. Chipman L.B., Pasquinelli A.E. miRNA targeting: growing beyond the seed. *Trends Genet* 2019; 35(3): 215–222, <https://doi.org/10.1016/j.tig.2018.12.005>.
53. Baronti L., Guzzetti I., Ebrahimi P., Friebe Sandoz S., Steiner E., Schlagnitweit J., Fromm B., Silva L., Fontana C., Chen A.A., Petzold K. Base-pair conformational switch modulates miR-34a targeting of Sirt1 mRNA. *Nature* 2020; 583(7814): 139–144, <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2336-3>.
54. Peter D., Ruscica V., Bawankar P., Weber R., Helms S., Valkov E., Igreja C., Izaurralde E. Molecular basis for GIGYF–Me31B complex assembly in 4EHP-mediated translational repression. *Genes Dev* 2019; 33(19–20): 1355–1360, <https://doi.org/10.1101/gad.329219.119>.
55. Chowdhury A., Mukhopadhyay J., Tharun S. The decapping activator Lsm1p-7p-Pat1p complex has the intrinsic ability to distinguish between oligoadenylated and polyadenylated RNAs. *RNA* 2007; 13(7): 998–1016, <https://doi.org/10.1261/rna.502507>.
56. Marques T.M., Gama-Carvalho M. Network approaches to study endogenous RNA competition and its impact on tissue-specific microRNA functions. *Biomolecules* 2022; 12(2): 332, <https://doi.org/10.3390/biom12020332>.
57. Yu J., Ryan D.G., Getsios S., Oliveira-Fernandes M., Fatima A., Lavker R.M. MicroRNA-184 antagonizes microRNA-205 to maintain SHIP2 levels in epithelia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(49): 19300–19305, <https://doi.org/10.1073/pnas.0803992105>.
58. Rinck A., Preusse M., Laggenbauer B., Lickert H., Engelhardt S., Theis F.J. The human transcriptome is enriched for miRNA-binding sites located in cooperativity-permitting

- distance. *RNA Biol* 2013; 10(7): 1125–1135, <https://doi.org/10.4161/rna.24955>.
59. Briskin D., Wang P.Y., Bartel D.P. The biochemical basis for the cooperative action of microRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; 117(30): 17764–17774, <https://doi.org/10.1073/pnas.1920404117>.
60. Sheu-Gruttadauria J., Pawlica P., Klum S.M., Wang S., Yario T.A., Schirle Oakdale N.T., Steitz J.A., MacRae I.J. Structural basis for target-directed microRNA degradation. *Mol Cell* 2019; 75(6): 1243–1255.e7, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.06.019>.
61. Shi C.Y., Kingston E.R., Kleaveland B., Lin D.H., Stubna M.W., Bartel D.P. The ZSWIM8 ubiquitin ligase mediates target-directed microRNA degradation. *Science* 2020; 370(6523): eabc9359, <https://doi.org/10.1126/science.abc9359>.
62. Han J., Mendell J.T. MicroRNA turnover: a tale of tailing, trimming, and targets. *Trends Biochem Sci* 2023; 48(1): 26–39, <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2022.06.005>.
63. Park J.H., Shin S.Y., Shin C. Non-canonical targets destabilize microRNAs in human Argonautes. *Nucleic Acids Res* 2017; 45(4): 1569–1583, <https://doi.org/10.1093/nar/gkx029>.
64. Becker W.R., Ober-Reynolds B., Jouravleva K., Jolly S.M., Zamore P.D., Greenleaf W.J. High-throughput analysis reveals rules for target RNA binding and cleavage by AGO2. *Mol Cell* 2019; 75(4): 741–755.e11, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.06.012>.
65. Komatsu S., Kitai H., Suzuki H.I. Network regulation of microRNA biogenesis and target interaction. *Cells* 2023; 12(2): 306, <https://doi.org/10.3390/cells12020306>.
66. Khatun S., Alam A., Shoombuatong W., Mollah N.H., Kurata H., Hasan M. Recent development of bioinformatics tools for microRNA target prediction. *CMC* 2022; 29(5): 865–880, <https://doi.org/10.2174/0929867328666210804090224>.
67. Kariuki D., Asam K., Aouizerat B.E., Lewis K.A., Florez J.C., Flowers E. Review of databases for experimentally validated human microRNA–mRNA interactions. *Database (Oxford)* 2023; 2023: baad014, <https://doi.org/10.1093/database/baad014>.
68. Dragomir M.P., Knutsen E., Calin G.A. Classical and noncanonical functions of miRNAs in cancers. *Trends Genet* 2022; 38(4): 379–394, <https://doi.org/10.1016/j.tig.2021.10.002>.
69. Ni W.J., Leng X.M. miRNA-dependent activation of mRNA translation. *Microna* 2016; 5(2): 83–86, <https://doi.org/10.2174/2211536605666160825151201>.
70. Wakiyama M., Ogami K., Iwaoka R., Aoki K., Hoshino S. Micro RNP-mediated translational activation of nonadenylated mRNAs in a mammalian cell-free system. *Genes Cells* 2018; 23(5): 332–344, <https://doi.org/10.1111/gtc.12580>.
71. Barman B., Bhattacharyya S.N. mRNA targeting to endoplasmic reticulum precedes ago protein interaction and microRNA (miRNA)-mediated translation repression in mammalian cells. *J Biol Chem* 2015; 290(41): 24650–24656, <https://doi.org/10.1074/jbc.c115.661868>.
72. Nishi K., Takahashi T., Suzawa M., Miyakawa T., Nagasawa T., Ming Y., Tanokura M., Ui-Tei K. Control of the localization and function of a miRNA silencing component TNRC6A by Argonaute protein. *Nucleic Acids Res*, 2015; 43(20): 9856–9873, <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1026>.
73. Detzer A., Engel C., Wünsche W., Sczakiel G. Cell stress is related to re-localization of Argonaute 2 and to decreased RNA interference in human cells. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(7): 2727–2741, <https://doi.org/10.1093/nar/gkq1216>.
74. Bose M., Barman B., Goswami A., Bhattacharyya S.N. Spatiotemporal uncoupling of microRNA-mediated translational repression and target RNA degradation controls microRNP recycling in mammalian cells. *Mol Cell Biol* 2017; 37(4): e00464–16, <https://doi.org/10.1128/mcb.00464-16>.
75. Gibbins D.J., Ciaudo C., Erhardt M., Voinnet O. Multivesicular bodies associate with components of miRNA effector complexes and modulate miRNA activity. *Nat Cell Biol* 2009; 11(9): 1143–1149, <https://doi.org/10.1038/ncb1929>.
76. Bian Z., Li L.M., Tang R., Hou D.X., Chen X., Zhang C.Y., Zen K. Identification of mouse liver mitochondria-associated miRNAs and their potential biological functions. *Cell Res* 2010; 20(9): 1076–1078, <https://doi.org/10.1038/cr.2010.119>.
77. Das S., Ferlito M., Kent O.A., Fox-Talbot K., Wang R., Liu D., Raghavachari N., Yang Y., Wheelan S.J., Murphy E., Steenberg C. Nuclear miRNA regulates the mitochondrial genome in the heart. *Circ Res* 2012; 110(12): 1596–1603, <https://doi.org/10.1161/circresaha.112.267732>.
78. Meister G., Landthaler M., Patkaniowska A., Dorsett Y., Teng G., Tuschl T. Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs. *Mol Cell* 2004; 15(2): 185–197, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2004.07.007>.
79. Hwang H.W., Wentzel E.A., Mendell J.T. A hexanucleotide element directs microRNA nuclear import. *Science* 2007; 315(5808): 97–100, <https://doi.org/10.1126/science.1136235>.
80. Doyle M., Badertscher L., Jaskiewicz L., Güttinger S., Jurado S., Hugen Schmidt T., Kutay U., Filipowicz W. The double-stranded RNA binding domain of human Dicer functions as a nuclear localization signal. *RNA* 2013; 19(9): 1238–1252, <https://doi.org/10.1261/rna.039255.113>.
81. Nishi K., Nishi A., Nagasawa T., Ui-Tei K. Human TNRC6A is an Argonaute-navigator protein for microRNA-mediated gene silencing in the nucleus. *RNA* 2013; 19(1): 17–35, <https://doi.org/10.1261/rna.034769.112>.
82. Ando Y., Tomaru Y., Morinaga A., Burroughs A.M., Kawaji H., Kubosaki A., Kimura R., Tagata M., Ino Y., Hirano H., Chiba J., Suzuki H., Carninci P., Hayashizaki Y. Nuclear pore complex protein mediated nuclear localization of dicer protein in human cells. *PLoS One* 2011; 6(8): e23385, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023385>.
83. Hu X., Li Y., Zhang T., Li L., Chen S., Wu X., Li H., Qi B., Chen Z. Phosphorylation of Ago2 is required for its role in DNA double-strand break repair. *J Genet Genomics* 2021; 48(4): 333–340, <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2021.03.011>.
84. Carissimi C., Laudadio I., Cipolletta E., Gioiosa S., Mihailovich M., Bonaldi T., Macino G., Fulci V. Argonaute2 cooperates with SWI/SNF complex to determine nucleosome occupancy at human Transcription Start Sites. *Nucleic Acids Res* 2015; 43(3): 1498–1512, <https://doi.org/10.1093/nar/gku1387>.
85. Bieluszewski T., Prakash S., Roulé T., Wagner D. The role and activity of SWI/SNF chromatin remodelers. *Annu Rev Plant Biol* 2023; 74: 139–163, <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102820-093218>.
86. Huang V., Zheng J., Qi Z., Wang J., Place R.F., Yu J., Li H., Li L.C. Ago1 interacts with RNA polymerase II and binds to the promoters of actively transcribed genes in human cancer cells. *PLoS Genet* 2013; 9(9): e1003821, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003821>.

87. Matsui M., Li L., Janowski B.A., Corey D.R. Reduced expression of Argonaute 1, Argonaute 2 and TRBP changes levels and intracellular distribution of RNAi factors. *Sci Rep* 2015; 5(1): 12855, <https://doi.org/10.1038/srep12855>.
88. Ameyar-Zazoua M., Rachez C., Souidi M., Robin P., Fritsch L., Young R., Morozova N., Fenouil R., Descostes N., Andrau J.C., Mathieu J., Hamiche A., Ait-Si-Ali S., Muchardt C., Batsché E., Harel-Bellan A. Argonaute proteins couple chromatin silencing to alternative splicing. *Nat Struct Mol Biol* 2012; 19(10): 998–1004, <https://doi.org/10.1038/nsmb.2373>.
89. Pitchiaya S., Heinicke L.A., Park J.I., Cameron E.L., Walter N.G. Resolving subcellular miRNA trafficking and turnover at single-molecule resolution. *Cell Rep* 2017; 19(3): 630–642, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.03.075>.
90. Yao Q., Chen Y., Zhou X. The roles of microRNAs in epigenetic regulation. *Curr Opin Chem Biol* 2019; 51: 11–17, <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.01.024>.
91. Zhang T., Yang Z., Kusumanchi P., Han S., Liangpunsakul S. Critical role of microRNA-21 in the pathogenesis of liver diseases. *Front Med (Lausanne)* 2020; 7: 7, <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00007>.
92. Wang B., Majumder S., Nuovo G., Kutay H., Volinia S., Patel T., Schmittgen T.D., Croce C., Ghoshal K., Jacob S.T. Role of microRNA-155 at early stages of hepatocarcinogenesis induced by choline-deficient and amino acid-defined diet in C57BL/6 mice. *Hepatology* 2009; 50(4): 1152–1161, <https://doi.org/10.1002/hep.23100>.
93. Liang Y., Lu Q., Li W., Zhang D., Zhang F., Zou Q., Chen L., Tong Y., Liu M., Wang S., Li W., Ren X., Xu P., Yang Z., Dong S., Zhang B., Huang Y., Li D., Wang H., Yu W. Reactivation of tumour suppressor in breast cancer by enhancer switching through NamiRNA network. *Nucleic Acids Res* 2021; 49(15): 8556–8572, <https://doi.org/10.1093/nar/gkab626>.
94. Xiao M., Li J., Li W., Wang Y., Wu F., Xi Y., Zhang L., Ding C., Luo H., Li Y., Peng L., Zhao L., Peng S., Xiao Y., Dong S., Cao J., Yu W. MicroRNAs activate gene transcription epigenetically as an enhancer trigger. *RNA Biol* 2017; 14(10): 1326–1334, <https://doi.org/10.1080/15476286.2015.1112487>.
95. Liu S., He X., Di Y., Li Q., Li F., Ma Y., Chen L., Gao Y., Xu J., Yang S., Xu L., Corpe C., Ling Y., Zhang X., Xu J., Yu W., Wang J. NamiRNA-enhancer network of miR-492 activates the NR2C1-TGF- β /Smad3 pathway to promote epithelial-mesenchymal transition of pancreatic cancer. *Carcinogenesis* 2023; 44(2): 153–165, <https://doi.org/10.1093/carcin/bgac102>.
96. Zou S., Rao Y., Chen W. miR-885-5p plays an accomplice role in liver cancer by instigating TIGAR expression via targeting its promoter. *Biotechnol Appl Biochem* 2019; 66(5): 763–771, <https://doi.org/10.1002/bab.1767>.
97. Matsui M., Chu Y., Zhang H., Gagnon K.T., Shaikh S., Kuchimanchi S., Manoharan M., Corey D.R., Janowski B.A. Promoter RNA links transcriptional regulation of inflammatory pathway genes. *Nucleic Acids Res* 2013; 41(22): 10086–10109, <https://doi.org/10.1093/nar/gkt777>.
98. Yang H., Xuefeng Y., Shandong W., Jianhua X. COX-2 in liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2020; 506: 196–203, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.03.024>.
99. Martín-Sanz P., Casado M., Boscá L. Cyclooxygenase 2 in liver dysfunction and carcinogenesis: facts and perspectives. *World J Gastroenterol* 2017; 23(20): 3572–3580, <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i20.3572>.
100. Liu H., Lei C., He Q., Pan Z., Xiao D., Tao Y. Nuclear functions of mammalian MicroRNAs in gene regulation, immunity and cancer. *Mol Cancer* 2018; 17(1): 64, <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0765-5>.
101. Miao L., Yao H., Li C., Pu M., Yao X., Yang H., Qi X., Ren J., Wang Y. A dual inhibition: microRNA-552 suppresses both transcription and translation of cytochrome P450 2E1. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1859(4): 650–662, <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2016.02.016>.
102. Zhang Y., Fan M., Zhang X., Huang F., Wu K., Zhang J., Liu J., Huang Z., Luo H., Tao L., Zhang H. Cellular microRNAs up-regulate transcription via interaction with promoter TATA-box motifs. *RNA* 2014; 20(12): 1878–1889, <https://doi.org/10.1261/rna.045633.114>.
103. Zhang Y., Liu W., Chen Y., Liu J., Wu K., Su L., Zhang W., Jiang Y., Zhang X., Zhang Y., Liu C., Tao L., Liu B., Zhang H. A cellular microRNA facilitates regulatory T lymphocyte development by targeting the FOXP3 promoter TATA-box motif. *J Immunol* 2018; 200(3): 1053–1063, <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700196>.
104. Kurt A.S., Strobl K., Ruiz P., Osborn G., Chester T., Dawson L., Warwas K.M., Grey E.H., Mastoridis S., Kodela E., Safinia N., Sanchez-Fueyo A., Martinez-Llordella M. IL-2 availability regulates the tissue specific phenotype of murine intra-hepatic Tregs. *Front Immunol* 2022; 13: 1040031, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1040031>.
105. Tang S., Chen Y., Feng S., Yi T., Liu X., Li Q., Liu Z., Zhu C., Hu J., Yu X., Wang M., Cao G., Tang H., Bie C., Ma F., Tang H., Du G., Huang J. MiR-483-5p promotes IGF-II transcription and is associated with poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2017; 8(59): 99871–99888, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21737>.
106. Lu J., Guo J., Liu J., Mao X., Xu K. Long non-coding RNA MALAT1: a key player in liver diseases. *Front Med (Lausanne)* 2022; 8: 734643, <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.734643>.
107. Leucci E., Patella F., Waage J., Holmstrøm K., Lindow M., Porse B., Kauppinen S., Lund A.H. microRNA-9 targets the long non-coding RNA MALAT1 for degradation in the nucleus. *Sci Rep* 2013; 3: 2535, <https://doi.org/10.1038/srep02535>.
108. Tang R., Li L., Zhu D., Hou D., Cao T., Gu H., Zhang J., Chen J., Zhang C.Y., Zen K. Mouse miRNA-709 directly regulates miRNA-15a/16-1 biogenesis at the posttranscriptional level in the nucleus: evidence for a microRNA hierarchy system. *Cell Res* 2012; 22(3): 504–515, <https://doi.org/10.1038/cr.2011.137>.
109. Wang D., Sun X., Wei Y., Liang H., Yuan M., Jin F., Chen X., Liu Y., Zhang C.Y., Li L., Zen K. Nuclear miR-122 directly regulates the biogenesis of cell survival oncomiR miR-21 at the posttranscriptional level. *Nucleic Acids Res* 2018; 46(4): 2012–2029, <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1254>.
110. Chen Y., Xiao J., Zhang X., Bian X. MicroRNAs as key mediators of hepatic detoxification. *Toxicology* 2016; 368–369: 80–90, <https://doi.org/10.1016/j.tox.2016.08.005>.
111. Dalgaard L.T., Sørensen A.E., Hardikar A.A., Joglekar M.V. The microRNA-29 family: role in metabolism and metabolic disease. *Am J Physiol Cell Physiol* 2022; 323(2): C367–C377, <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00051.2022>.
112. Agbu P., Carthew R.W. MicroRNA-mediated regulation of glucose and lipid metabolism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2021; 22(6): 425–438, <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00354-w>.
113. Fang Z., Dou G., Wang L. MicroRNAs in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Biol Sci* 2021; 17(7): 1851–1863, <https://doi.org/10.7150/ijbs.59588>.

114. Wang X., He Y., Mackowiak B., Gao B. MicroRNAs as regulators, biomarkers and therapeutic targets in liver diseases. *Gut* 2021; 70(4): 784–795, <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-322526>.
115. Citrin K.M., Fernández-Hernando C., Suárez Y. MicroRNA regulation of cholesterol metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 2021; 1495(1): 55–77, <https://doi.org/10.1111/nyas.14566>.
116. Al-Gazally M.E., Khan R., Imran M., Ramírez-Coronel A.A., Alshahrani S.H., Altalbawy F.M.A., Turki Jalil A., Romero-Parra R.M., Zabibah R.S., Shahid Iqbal M., Karampoor S., Mirzaei R. The role and mechanism of action of microRNA-122 in cancer: focusing on the liver. *Int Immunopharmacol* 2023; 123: 110713, <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110713>.
117. Goncalves B.d.S., Meadows A., Pereira D.G., Puri R., Pillai S.S. Insight into the inter-organ crosstalk and prognostic role of liver-derived micrnas in metabolic disease progression. *Biomedicines* 2023; 11(6): 1597, <https://doi.org/10.3390/biomedicines11061597>.
118. Willeit P., Skroblin P., Kiechl S., Fernández-Hernando C., Mayr M. Liver microRNAs: potential mediators and biomarkers for metabolic and cardiovascular disease? *Eur Heart J* 2016; 37(43): 3260–3266, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw146>.
119. Stojkovic S., Koller L., Sulzgruber P., Hülsmann M., Huber K., Mayr M., Hengstenberg C., Wojta J., Niessner A. Liver-specific microRNA-122 as prognostic biomarker in patients with chronic systolic heart failure. *Int J Cardiol* 2020; 303: 80–85, <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2019.11.090>.
120. Marques F.Z., Vizi D., Khammy O., Mariani J.A., Kaye D.M. The transcadiac gradient of cardio-microRNAs in the failing heart: transcadiac microRNAs in heart failure. *Eur J Heart Fail* 2016; 18(8): 1000–1008, <https://doi.org/10.1002/ejhf.517>.
121. Shi Y., Zhang Z., Yin Q., Fu C., Barszczyk A., Zhang X., Wang J., Yang D. Cardiac-specific overexpression of miR-122 induces mitochondria-dependent cardiomyocyte apoptosis and promotes heart failure by inhibiting Hand2. *J Cell Mol Med* 2021; 25(11): 5326–5334, <https://doi.org/10.1111/jcmm.16544>.
122. van der Meer A.J., Farid W.R., Sonneveld M.J., de Ruiter P.E., Boonstra A., van Vuuren A.J., Verheij J., Hansen B.E., de Knecht R.J., van der Laan L.J., Janssen H.L. Sensitive detection of hepatocellular injury in chronic hepatitis C patients with circulating hepatocyte-derived microRNA-122. *J Viral Hepat* 2013; 20(3): 158–166, <https://doi.org/10.1111/jvh.12001>.
123. Roderburg C., Trautwein C. Cell-specific functions of miRNA in the liver. *J Hepatol* 2017; 66(3): 655–656, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.09.015>.
124. Zhang Y., Tan Y.Y., Chen P.P., Xu H., Xie S.J., Xu S.J., Li B., Li J.H., Liu S., Yang J.H., Zhou H., Qu L.H. Genome-wide identification of microRNA targets reveals positive regulation of the Hippo pathway by miR-122 during liver development. *Cell Death Dis* 2021; 12(12): 1161, <https://doi.org/10.1038/s41419-021-04436-7>.
125. Gamazon E.R., Innocenti F., Wei R., Wang L., Zhang M., Mirkov S., Ramírez J., Huang R.S., Cox N.J., Ratain M.J., Liu W. A genome-wide integrative study of microRNAs in human liver. *BMC Genomics* 2013; 14(1): 395, <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-395>.
126. Torres J.L., Novo-Veleiro I., Manzanedo L., Alvares Suárez L., Macías R., Laso F.J., Marcos M. Role of microRNAs in alcohol-induced liver disorders and non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2018; 24(36): 4104–4118, <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i36.4104>.
127. Lin X., Chen L., Li H., Liu Y., Guan Y., Li X., Jia Z., Lin X., Jia J., Sun Y., Xiao D. miR-155 accelerates proliferation of mouse hepatocytes during liver regeneration by directly targeting SOCS1. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2018; 315(4): G443–G453, <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00072.2018>.
128. Kim J.H., Lee C.H., Lee S.W. Exosomal transmission of MicroRNA from HCV replicating cells stimulates transdifferentiation in hepatic stellate cells. *Mol Ther Nucleic Acids* 2019; 14: 483–497, <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.01.006>.
129. Wang H., Wang Z., Wang Y., Li X., Yang W., Wei S., Shi C., Qiu J., Ni M., Rao J., Cheng F. miRNA-130b-5p promotes hepatic stellate cell activation and the development of liver fibrosis by suppressing SIRT4 expression. *J Cell Mol Med* 2021; 25(15): 7381–7394, <https://doi.org/10.1111/jcmm.16766>.
130. Wei J., Feng L., Li Z., Xu G., Fan X. MicroRNA-21 activates hepatic stellate cells via PTEN/Akt signaling. *Biomed Pharmacother* 2013; 67(5): 387–392, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2013.03.014>.
131. Murakami Y., Toyoda H., Tanaka M., Kuroda M., Harada Y., Matsuda F., Tajima A., Kosaka N., Ochiya T., Shimotohno K. The progression of liver fibrosis is related with overexpression of the miR-199 and 200 families. *PLoS One* 2011; 6(1): e16081, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016081>.
132. Wu J., Huang J., Kuang S., Chen J., Li X., Chen B., Wang J., Cheng D., Shuai X. Synergistic microRNA therapy in liver fibrotic rat using MRI-visible nanocarrier targeting hepatic stellate cells. *Adv Sci (Weinh)* 2019; 6(5): 1801809, <https://doi.org/10.1002/advs.201801809>.
133. O'Reilly S. MicroRNAs in fibrosis: opportunities and challenges. *Arthritis Res Ther* 2016; 18: 11, <https://doi.org/10.1186/s13075-016-0929-x>.
134. Lakner A.M., Steuerwald N.M., Walling T.L., Ghosh S., Li T., McKillop I.H., Russo M.W., Bonkovsky H.L., Schrum L.W. Inhibitory effects of microRNA 19b in hepatic stellate cell-mediated fibrogenesis. *Hepatology* 2012; 56(1): 300–310, <https://doi.org/10.1002/hep.25613>.
135. Zhou Y., Zhang L., Ji H., Lu X., Xia J., Li L., Chen F., Bu H., Shi Y. MiR-17~92 ablation impairs liver regeneration in an estrogen-dependent manner. *J Cell Mol Med* 2016; 20(5): 939–948, <https://doi.org/10.1111/jcmm.12782>.
136. Bala S., Csak T., Kodycs K., Catalano D., Ambade A., Furi I., Lowe P., Cho Y., Iracheta-Vellve A., Szabo G. Alcohol-induced miR-155 and HDAC11 inhibit negative regulators of the TLR4 pathway and lead to increased LPS responsiveness of Kupffer cells in alcoholic liver disease. *J Leukoc Biol* 2017; 102(2): 487–498, <https://doi.org/10.1189/jlb.3a0716-310r>.
137. Ye D., Zhang T., Lou G., Liu Y. Role of miR-223 in the pathophysiology of liver diseases. *Exp Mol Med* 2018; 50(9): 1–12, <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0153-7>.
138. He Y., Feng D., Li M., Gao Y., Ramirez T., Cao H., Kim S.J., Yang Y., Cai Y., Ju C., Wang H., Li J., Gao B. Hepatic mitochondrial DNA/Toll-like receptor 9/MicroRNA-223 forms a negative feedback loop to limit neutrophil overactivation and acetaminophen hepatotoxicity in mice. *Hepatology* 2017; 66(1): 220–234, <https://doi.org/10.1002/hep.29153>.

- 139.** Catanesi M., d'Angelo M., Tupone M.G., Benedetti E., Giordano A., Castelli V., Cimini A. MicroRNAs dysregulation and mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *Int J Mol Sci* 2020; 21(17): 5986, <https://doi.org/10.3390/ijms21175986>.
- 140.** Zhao X., Xue X., Wang C., Wang J., Peng C., Li Y. Emerging roles of Sirtuins in alleviating alcoholic liver disease: a comprehensive review. *Int Immunopharmacol* 2022; 108: 108712, <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.108712>.
- 141.** Zang M., Gao B. SIRT6: therapeutic target for nonalcoholic fatty liver disease. *Trends Endocrinol Metab* 2022; 33(12): 801–803, <https://doi.org/10.1016/j.tem.2022.10.004>.
- 142.** de Gregorio E., Colell A., Morales A., Marí M. Relevance of SIRT1-NF- κ B axis as therapeutic target to ameliorate inflammation in liver disease. *Int J Mol Sci* 2020; 21(11): 3858, <https://doi.org/10.3390/ijms21113858>.
- 143.** Zhang J., Xiang H., Liu J., Chen Y., He R.R., Liu B. Mitochondrial Sirtuin 3: new emerging biological function and therapeutic target. *Theranostics* 2020; 10(18): 8315–8342, <https://doi.org/10.7150/thno.45922>.
- 144.** Rottiers V., Najafi-Shoushtari S.H., Kristo F., Gurumurthy S., Zhong L., Li Y., Cohen D.E., Gerszten R.E., Bardeesy N., Mostoslavsky R., Näär A.M. MicroRNAs in metabolism and metabolic diseases. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2011; 76: 225–233, <https://doi.org/10.1101/sqb.2011.76.011049>.
- 145.** Wang L., Sun M., Cao Y., Ma L., Shen Y., Velikanova A.A., Li X., Sun C., Zhao Y. miR-34a regulates lipid metabolism by targeting SIRT1 in non-alcoholic fatty liver disease with iron overload. *Arch Biochem Biophys* 2020; 695: 108642, <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108642>.
- 146.** Song J.J., Yang M., Liu Y., Song J.W., Wang J., Chi H.J., Liu X.Y., Zuo K., Yang X.C., Zhong J.C. MicroRNA-122 aggravates angiotensin II-mediated apoptosis and autophagy imbalance in rat aortic adventitial fibroblasts via the modulation of SIRT6-elabela-ACE2 signaling. *Eur J Pharmacol* 2020; 883: 173374, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173374>.
- 147.** Elhanati S., Ben-Hamo R., Kanfi Y., Varvak A., Glazz R., Lerrer B., Efroni S., Cohen H.Y. Reciprocal regulation between SIRT6 and miR-122 controls liver metabolism and predicts hepatocarcinoma prognosis. *Cell Rep* 2016; 14(2): 234–242, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.12.023>.
- 148.** Chen F., Feng L., Zheng Y.L., Lu J., Fan S.H., Shan Q., Zheng G.H., Wang Y.J., Wu D.M., Li M.Q., Wang Q.Q., Zhang Z.F. 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) induces mitochondrial dysfunction and related liver injury via eliciting miR-34a-5p-mediated mitophagy impairment. *Environ Pollut* 2020; 258: 113693, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113693>.
- 149.** Song L., Chen T.Y., Zhao X.J., Xu Q., Jiao R.Q., Li J.M., Kong L.D. Pterostilbene prevents hepatocyte epithelial-mesenchymal transition in fructose-induced liver fibrosis through suppressing miR-34a/Sirt1/p53 and TGF- β 1/Smads signalling. *Br J Pharmacol* 2019; 176(11): 1619–1634, <https://doi.org/10.1111/bph.14573>.
- 150.** Cheng Y., Mai J., Hou T., Ping J. MicroRNA-421 induces hepatic mitochondrial dysfunction in non-alcoholic fatty liver disease mice by inhibiting sirtuin 3. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 474(1): 57–63, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.04.065>.
- 151.** Chan S.Y., Zhang Y.Y., Hemann C., Mahoney C.E., Zweier J.L., Loscalzo J. MicroRNA-210 controls mitochondrial metabolism during hypoxia by repressing the iron-sulfur cluster assembly proteins ISCU1/2. *Cell Metab* 2009; 10(4): 273–284, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.08.015>.
- 152.** Liu X., Zhao H., Luo C., Du D., Huang J., Ming Q., Jin F., Wang D., Huang W. Acetaminophen responsive miR-19b modulates SIRT1/Nrf2 signaling pathway in drug-induced hepatotoxicity. *Toxicol Sci* 2019; 170(2): 476–488, <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfz095>.
- 153.** Yadav A.K., Sata T.N., Verma D., Sah A.K., Mishra A.K., Mrinalini S., Hossain M., Pant K., Venugopal S.K. Free fatty acid-induced miR-22 inhibits gluconeogenesis via SIRT-1-mediated PGC-1 α expression in nonalcoholic fatty liver disease. *iLIVER* 2023; 2(1): 1–9, <https://doi.org/10.1016/j.iliver.2023.01.002>.
- 154.** Ma S., Zhao Y., Sun J., Mu P., Deng Y. miR449a/SIRT1/PGC-1 α is necessary for mitochondrial biogenesis induced by T-2 toxin. *Front Pharmacol* 2018; 8: 954, <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00954>.
- 155.** Jamwal S., Blackburn J.K., Elsworth J.D. PPAR γ /PGC1 α signaling as a potential therapeutic target for mitochondrial biogenesis in neurodegenerative disorders. *Pharmacol Ther* 2021; 219: 107705, <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107705>.
- 156.** Zheng Y., Chen X., Lu T., Lin Z., Liu C., Yuan D., Yuan C. miR-871-5p/PGC1 α regulates aging-induced lipid deposition in hepatocytes through fatty acid β -oxidation. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2023; 2023: glad185, <https://doi.org/10.1093/gerona/glad185>.
- 157.** Liang J., Liu C., Qiao A., Cui Y., Zhang H., Cui A., Zhang S., Yang Y., Xiao X., Chen Y., Fang F., Chang Y. MicroRNA-29a-c decrease fasting blood glucose levels by negatively regulating hepatic gluconeogenesis. *J Hepatol* 2013; 58(3): 535–542, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.10.024>.
- 158.** Aharoni-Simon M., Hann-Obercyger M., Pen S., Madar Z., Tirosh O. Fatty liver is associated with impaired activity of PPAR γ -coactivator 1 α (PGC1 α) and mitochondrial biogenesis in mice. *Lab Invest* 2011; 91(7): 1018–1028, <https://doi.org/10.1038/labinvest.2011.55>.
- 159.** Murphy M.P., Hartley R.C. Mitochondria as a therapeutic target for common pathologies. *Nat Rev Drug Discov* 2018; 17(12): 865–886, <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.174>.
- 160.** Jeon T.I., Park J.W., Ahn J., Jung C.H., Ha T.Y. Fisetin protects against hepatosteatosis in mice by inhibiting miR-378. *Mol Nutr Food Res* 2013; 57(11): 1931–1937, <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300071>.
- 161.** Zhang T., Zhao X., Steer C.J., Yan G., Song G. A negative feedback loop between microRNA-378 and Nrf1 promotes the development of hepatosteatosis in mice treated with a high fat diet. *Metabolism* 2018; 85: 183–191, <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.03.023>.
- 162.** Guo W., Qiu Z., Wang Z., Wang Q., Tan N., Chen T., Chen Z., Huang S., Gu J., Li J., Yao M., Zhao Y., He X. MiR-199a-5p is negatively associated with malignancies and regulates glycolysis and lactate production by targeting hexokinase 2 in liver cancer. *Hepatology* 2015; 62(4): 1132–1144, <https://doi.org/10.1002/hep.27929>.
- 163.** Xu F., Yan J.J., Gan Y., Chang Y., Wang H.L., He X.X., Zhao Q. miR-885-5p negatively regulates Warburg effect by silencing hexokinase 2 in liver cancer. *Mol Ther Nucleic Acids* 2019; 18: 308–319, <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.09.002>.
- 164.** Jiang J.X., Gao S., Pan Y.Z., Yu C., Sun C.Y. Overexpression of microRNA-125b sensitizes human

- hepatocellular carcinoma cells to 5-fluorouracil through inhibition of glycolysis by targeting hexokinase II. *Mol Med Rep* 2014; 10(2): 995–1002, <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2271>.
- 165.** Gray L.R., Tompkins S.C., Taylor E.B. Regulation of pyruvate metabolism and human disease. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71(14): 2577–2604, <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1539-2>.
- 166.** Kaplon J., Zheng L., Meissl K., Chaneton B., Selivanov V.A., Mackay G., van der Burg S.H., Verdegaal E.M., Cascante M., Shlomi T., Gottlieb E., Peeper D.S. A key role for mitochondrial gatekeeper pyruvate dehydrogenase in oncogene-induced senescence. *Nature* 2013; 498(7452): 109–112, <https://doi.org/10.1038/nature12154>.
- 167.** Zhao Y., Tran M., Wang L., Shin D., Wu J. PDK4-deficiency reprograms intrahepatic glucose and lipid metabolism to facilitate liver regeneration in mice. *Hepatology Commun* 2020; 4(4): 504–517, <https://doi.org/10.1002/hep4.1484>.
- 168.** Rodimova S.A., Kuznetsova D.S., Bobrov N.V., Gulin A.A., Reunov D.G., Karabut M.M., Shcheslavskiy V.I., Vdovina N.V., Zagaynov V.E., Zagaynova E.V. Interrogation of the liver during regeneration by fluorescence lifetime imaging and mass spectrometry. *IEEE J Select Topics Quantum Electron* 2021; 27(4): 1–11, <https://doi.org/10.1109/jstqe.2021.3053336>.
- 169.** Si T., Ning X., Zhao H., Zhang M., Huang P., Hu Z., Yang L., Lin L. microRNA-9-5p regulates the mitochondrial function of hepatocellular carcinoma cells through suppressing PDK4. *Cancer Gene Ther* 2021; 28(6): 706–718, <https://doi.org/10.1038/s41417-020-00253-w>.
- 170.** Han H., Li W., Shen H., Zhang J., Zhu Y., Li Y. microRNA-129-5p, a c-Myc negative target, affects hepatocellular carcinoma progression by blocking the Warburg effect. *J Mol Cell Biol* 2016; 8(5): 400–410, <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw010>.
- 171.** Lin X., Qin Y., Jia J., Lin T., Lin X., Chen L., Zeng H., Han Y., Wu L., Huang S., Wang M., Huang S., Xie R., Liang L., Liu Y., Liu R., Zhang T., Li J., Wang S., Sun P., Huang W., Yao K., Xu K., Du T., Xiao D. MiR-155 enhances insulin sensitivity by coordinated regulation of multiple genes in mice. *PLoS Genet* 2016; 12(10): e1006308, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006308>.
- 172.** Cichoż-Lach H. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World J Gastroenterol* 2014; 20(25): 8082, <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i25.8082>.
- 173.** Hayes J.D., Dinkova-Kostova A.T. The Nrf2 regulatory network provides an interface between redox and intermediary metabolism. *Trends Biochem Sci* 2014; 39(4): 199–218, <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2014.02.002>.
- 174.** Teimouri M., Hosseini H., Shabani M., Koushki M., Noorbakhsh F., Meshkani R. Inhibiting miR-27a and miR-142-5p attenuate nonalcoholic fatty liver disease by regulating Nrf2 signaling pathway. *IUBMB Life* 2020; 72(3): 361–372, <https://doi.org/10.1002/iub.2221>.
- 175.** Yang J.J., Tao H., Hu W., Liu L.P., Shi K.H., Deng Z.Y., Li J. MicroRNA-200a controls Nrf2 activation by target Keap1 in hepatic stellate cell proliferation and fibrosis. *Cell Signal* 2014; 26(11): 2381–2389, <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2014.07.016>.
- 176.** Tao Y.C., Wang Y.H., Wang M.L., Jiang W., Wu D.B., Chen E.Q., Tang H. Upregulation of microRNA-125b-5p alleviates acute liver failure by regulating the Keap1/Nrf2/HO-1 pathway. *Front Immunol* 2022; 13: 988668, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.988668>.
- 177.** Klieser E., Mayr C., Kiesslich T., Wissniewski T., Fazio P.D., Neureiter D., Ocker M. The crosstalk of miRNA and oxidative stress in the liver: from physiology to pathology and clinical implications. *Int J Mol Sci* 2019; 20(21): 5266, <https://doi.org/10.3390/ijms20215266>.
- 178.** Lu S.C., Mato J.M., Espinosa-Diez C., Lamas S. MicroRNA-mediated regulation of glutathione and methionine metabolism and its relevance for liver disease. *Free Radic Biol Med* 2016; 100: 66–72, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.021>.
- 179.** Zhang J., Guo J., Yang N., Huang Y., Hu T., Rao C. Endoplasmic reticulum stress-mediated cell death in liver injury. *Cell Death Dis* 2022; 13(12): 1051, <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05444-x>.
- 180.** Pu S., Pan Y., Zhang Q., You T., Yue T., Zhang Y., Wang M. Endoplasmic reticulum stress and mitochondrial stress in drug-induced liver injury. *Molecules* 2023; 28(7): 3160, <https://doi.org/10.3390/molecules28073160>.
- 181.** Tak J., Kim S.G. Effects of toxicants on endoplasmic reticulum stress and hepatic cell fate determination. *Toxicol Res* 2023, <https://doi.org/10.1007/s43188-023-00201-4>.
- 182.** Díaz-Bulnes P., Saiz M.L., López-Larrea C., Rodríguez R.M. Crosstalk between hypoxia and ER stress response: a key regulator of macrophage polarization. *Front Immunol* 2020; 10: 2951, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02951>.
- 183.** Victor P., Sarada D., Ramkumar K.M. Crosstalk between endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: focus on protein disulfide isomerase and endoplasmic reticulum oxidase 1. *Eur J Pharmacol* 2021; 892: 173749, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173749>.
- 184.** Ashraf N.U., Sheikh T.A. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Free Radic Res* 2015; 49(12): 1405–1418, <https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1078461>.
- 185.** Kim A., Koo J.H., Lee J.M., Joo M.S., Kim T.H., Kim H., Jun D.W., Kim S.G. NRF2-mediated SIRT3 induction protects hepatocytes from ER stress-induced liver injury. *FASEB J* 2022; 36(3): e22170, <https://doi.org/10.1096/fj.202101470r>.
- 186.** Bhattarai K.R., Chaudhary M., Kim H.R., Chae H.J. Endoplasmic reticulum (ER) stress response failure in diseases. *Trends Cell Biol* 2020; 30(9): 672–675, <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.05.004>.
- 187.** Wang J.M., Qiu Y., Yang Z., Kim H., Qian Q., Sun Q., Zhang C., Yin L., Fang D., Back S.H., Kaufman R.J., Yang L., Zhang K. IRE1 α prevents hepatic steatosis by processing and promoting the degradation of select microRNAs. *Sci Signal* 2018; 11(530): eaao4617, <https://doi.org/10.1126/scisignal.aao4617>.
- 188.** Upton J.P., Wang L., Han D., Wang E.S., Huskey N.E., Lim L., Truitt M., McManus M.T., Ruggero D., Goga A., Papa F.R., Oakes S.A. IRE1 α cleaves select microRNAs during ER stress to derepress translation of proapoptotic Caspase-2. *Science* 2012; 338(6108): 818–822, <https://doi.org/10.1126/science.1226191>.
- 189.** Yang P., Shen W., Reece E.A., Yang P. 679: the newly determined role of miR17 and its target, Txnip, in the diabetes-induced congenital malformations. *Am J Obstet Gynecol* 2020; 222(1): S430–S431, <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.11.693>.
- 190.** Hochreuter M.Y., Dall M., Trebak J.T., Barrès R.

MicroRNAs in non-alcoholic fatty liver disease: progress and perspectives. *Mol Metab* 2022; 65: 101581, <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2022.101581>.

191. Chitnis N.S., Pytel D., Bobrovnikova-Marjon E., Pant D., Zheng H., Maas N.L., Frederick B., Kushner J.A., Chodosh L.A., Koumenis C., Fuchs S.Y., Diehl J.A. miR-211 is a prosurvival microRNA that regulates chop expression in a PERK-dependent manner. *Mol Cell* 2012; 48(3): 353–364, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.08.025>.

192. Bu Y., Yoshida A., Chitnis N., Altman B.J., Tameire F., Oran A., Gennaro V., Armeson K.E., McMahon S.B., Wertheim G.B., Dang C.V., Ruggiero D., Koumenis C., Fuchs S.Y., Diehl J.A. A PERK–miR-211 axis suppresses circadian regulators and protein synthesis to promote cancer cell survival. *Nat Cell Biol* 2018; 20(1): 104–115, <https://doi.org/10.1038/s41556-017-0006-y>.

193. Siwecka N., Rozpędek-Kamińska W., Wawrzynkiewicz A., Pytel D., Diehl J.A., Majsterek I. The structure, activation and signaling of IRE1 and its role in determining cell fate. *Biomedicines* 2021; 9(2): 156, <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020156>.

194. Jiang J., Qu Y., Liu X., Tang C., Wei P. Antagonistic crosstalk fine-tunes sensitivities of IRE1 and PERK signaling during unfolded protein response. *BioRxiv* 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.08.09.243527>.

195. Byrd A.E., Aragon I.V., Brewer J.W. MicroRNA-30c-2* limits expression of proadaptive factor XBP1 in the unfolded protein response. *J Cell Biol* 2012; 196(6): 689–698, <https://doi.org/10.1083/jcb.201201077>.

196. Xu H., Tian Y., Tang D., Zou S., Liu G., Song J., Zhang G., Du X., Huang W., He B., Lin W., Jin L., Huang W., Yang J., Fu X. An endoplasmic reticulum stress–microRNA-26a feedback circuit in NAFLD. *Hepatology* 2021; 73(4): 1327–1345, <https://doi.org/10.1002/hep.31428>.

197. Chen Z., Liu Y., Yang L., Liu P., Zhang Y., Wang X. MiR-149 attenuates endoplasmic reticulum stress-induced inflammation and apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease by negatively targeting ATF6 pathway. *Immunol Lett* 2020; 222: 40–48, <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2020.03.003>.

198. De Sousa K.P., Rossi I., Abdullahi M., Ramirez M.I., Stratton D., Inal J.M. Isolation and characterization of extracellular vesicles and future directions in diagnosis and therapy. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* 2023; 15(1): e1835, <https://doi.org/10.1002/wnan.1835>.

199. Dixon A.C., Dawson T.R., Di Vizio D., Weaver A.M. Context-specific regulation of extracellular vesicle biogenesis and cargo selection. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2023; 24(7): 454–476, <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00576-0>.

200. Jeppesen D.K., Zhang Q., Franklin J.L., Coffey R.J. Extracellular vesicles and nanoparticles: emerging complexities. *Trends Cell Biol* 2023; 33(8): 667–681, <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2023.01.002>.

201. Makarova J., Turchinovich A., Shkurnikov M., Tonevitsky A. Extracellular miRNAs and cell–cell communication: problems and prospects. *Trends Biochem Sci* 2021; 46(8): 640–651, <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2021.01.007>.

202. Hwang S., Yang Y.M. Exosomal microRNAs as diagnostic and therapeutic biomarkers in non-malignant liver diseases. *Arch Pharm Res* 2021; 44(6): 574–587, <https://doi.org/10.1007/s12272-021-01338-2>.

203. Babuta M., Szabo G. Extracellular vesicles in inflammation: focus on the microRNA cargo of EVs

in modulation of liver diseases. *J Leukoc Biol* 2021; 111(1): 75–92, <https://doi.org/10.1002/jlb.3mir0321-156r>.

204. Mansoori B., Baradaran B., Nazari A., Gaballu F.A., Cho W.C.S., Mansoori B. MicroRNAs in the cancer cell-to-cell communication: an insight into biological vehicles. *Biomed Pharmacother* 2022; 153: 113449, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113449>.

205. 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, <https://doi.org/10.1038/ncb1596>.

206. Kalra H., Simpson R.J., Ji H., Aikawa E., Altevogt P., Askenase P., Bond V.C., Borràs F.E., Breakefield X., Budnik V., Buzas E., Camussi G., Clayton A., Cocucci E., Falcon-Perez J.M., Gabrielsson S., Gho Y.S., Gupta D., Harsha H.C., Hendrix A., Hill A.F., Inal J.M., Jenster G., Krämer-Albers E.M., Lim S.K., Llorente A., Lötvall J., Marcilla A., Mincheva-Nilsson L., Nazarenko I., Nieuwland R., Nolte-’t Hoen E.N., Pandey A., Patel T., Piper M.G., Pluchino S., Prasad T.S., Rajendran L., Raposo G., Record M., Reid G.E., Sánchez-Madrid F., Schiffelers R.M., Siljander P., Stensballe A., Stoorvogel W., Taylor D., They C., Valadi H., van Balkom B.W., Vázquez J., Vidal M., Wauben M.H., Yáñez-Mó M., Zoeller M., Mathivanan S. Vesiclepedia: a compendium for extracellular vesicles with continuous community annotation. *PLoS Biol* 2012; 10(12): e1001450, <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001450>.

207. Mathivanan S., Simpson R.J. ExoCarta: a compendium of exosomal proteins and RNA. *Proteomics* 2009; 9(21): 4997–5000, <https://doi.org/10.1002/pmic.200900351>.

208. Murillo O.D., Thistlethwaite W., Rozowsky J., Subramanian S.L., Lucero R., Shah N., Jackson A.R., Srinivasan S., Chung A., Laurent C.D., Kitchen R.R., Galeev T., Warrell J., Diao J.A., Welsh J.A., Hanspers K., Riutta A., Burgstaller-Muehlbacher S., Shah R.V., Yeri A., Jenkins L.M., Ahsen M.E., Cordon-Cardo C., Dogra N., Gifford S.M., Smith J.T., Stolovitzky G., Tewari A.K., Wunsch B.H., Yadav K.K., Danielson K.M., Filant J., Moeller C., Nejad P., Paul A., Simonson B., Wong D.K., Zhang X., Balaj L., Gandhi R., Sood A.K., Alexander R.P., Wang L., Wu C., Wong D.T.W., Galas D.J., Van Keuren-Jensen K., Patel T., Jones J.C., Das S., Cheung K.H., Pico A.R., Su A.I., Raffai R.L., Laurent L.C., Roth M.E., Gerstein M.B., Milosavljevic A. exRNA atlas analysis reveals distinct extracellular RNA cargo types and their carriers present across human biofluids. *Cell* 2019; 177(2): 463–477.e15, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.018>.

209. Lai H., Li Y., Zhang H., Hu J., Liao J., Su Y., Li Q., Chen B., Li C., Wang Z., Li Y., Wang J., Meng Z., Huang Z., Huang S. exoRBase 2.0: an atlas of mRNA, lncRNA and circRNA in extracellular vesicles from human biofluids. *Nucleic Acids Res* 2022; 50(D1): D118–D128, <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1085>.

210. Garcia-Martin R., Wang G., Brandão B.B., Zanotto T.M., Shah S., Kumar Patel S., Schilling B., Kahn C.R. MicroRNA sequence codes for small extracellular vesicle release and cellular retention. *Nature* 2022; 601(7893): 446–451, <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04234-3>.

211. Santangelo L., Giurato G., Cicchini C., Montaldo C., Mancone C., Tarallo R., Battistelli C., Alonzi T., Weisz A., Tripodi M. The RNA-binding protein SYNCRIP is a component of the hepatocyte exosomal machinery controlling microRNA

- sorting. *Cell Rep* 2016; 17(3): 799–808, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.09.031>.
- 212.** Villarroya-Beltri C., Gutiérrez-Vázquez C., Sánchez-Cabo F., Pérez-Hernández D., Vázquez J., Martín-Cofreces N., Martínez-Herrera D.J., Pascual-Montano A., Mittelbrunn M., Sánchez-Madrid F. Sumoylated hnRNP2B1 controls the sorting of miRNAs into exosomes through binding to specific motifs. *Nat Commun* 2013; 4(1): 2980, <https://doi.org/10.1038/ncomms3980>.
- 213.** Roderburg C., Mollnow T., Bongaerts B., Elfimova N., Vargas Cardenas D., Berger K., Zimmermann H., Koch A., Vucur M., Luedde M., Hellerbrand C., Odenthal M., Trautwein C., Tacke F., Luedde T. Micro-RNA profiling in human serum reveals compartment-specific roles of miR-571 and miR-652 in liver cirrhosis. *PLoS One* 2012; 7(3): e32999, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032999>.
- 214.** Jopling C. Liver-specific microRNA-122: biogenesis and function. *RNA Biol* 2012; 9(2): 137–142, <https://doi.org/10.4161/rna.18827>.
- 215.** Sendi H., Mead I., Wan M., Mehrab-Mohseni M., Koch K., Atala A., Bonkovsky H.L., Bishop C.E. miR-122 inhibition in a human liver organoid model leads to liver inflammation, necrosis, steatofibrosis and dysregulated insulin signaling. *PLoS One* 2018; 13(7): e0200847, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200847>.
- 216.** Hu Y., Peng X., Du G., Zhang Z., Zhai Y., Xiong X., Luo X. MicroRNA-122-5p inhibition improves inflammation and oxidative stress damage in dietary-induced non-alcoholic fatty liver disease through targeting FOXO3. *Front Physiol* 2022; 13: 803445, <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.803445>.
- 217.** Yamada H., Ohashi K., Suzuki K., Munetsuna E., Ando Y., Yamazaki M., Ishikawa H., Ichino N., Teradaira R., Hashimoto S. Longitudinal study of circulating miR-122 in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Chim Acta* 2015; 446: 267–271, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.05.002>.
- 218.** O'Grady T., Njock M.S., Lion M., Bruyr J., Mariavalle E., Galvan B., Boeckx A., Struman I., Dequiedt F. Sorting and packaging of RNA into extracellular vesicles shape intracellular transcript levels. *BMC Biol* 2022; 20(1): 72, <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01277-4>.
- 219.** Botti V., Marrone S., Cannistraro S., Bizzarri A.R. Interaction between miR4749 and human serum albumin as revealed by fluorescence, FRET, atomic force spectroscopy and computational modelling. *Int J Mol Sci* 2022; 23(3): 1291, <https://doi.org/10.3390/ijms23031291>.
- 220.** Jeppesen D.K., Fenix A.M., Franklin J.L., Higginbotham J.N., Zhang Q., Zimmerman L.J., Liebler D.C., Ping J., Liu Q., Evans R., Fissell W.H., Patton J.G., Rome L.H., Burnette D.T., Coffey R.J. Reassessment of exosome composition. *Cell* 2019; 177(2): 428–445.e18, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.029>.
- 221.** Karimi N., Cvjetkovic A., Jang S.C., Crescitelli R., Hosseinpour Feizi M.A., Nieuwland R., Lötvald J., Lässer C. Detailed analysis of the plasma extracellular vesicle proteome after separation from lipoproteins. *Cell Mol Life Sci* 2018; 75(15): 2873–2886, <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2773-4>.
- 222.** Sódar B.W., Kittel Á., Pálóczi K., Vukman K.V., Osteikoetxea X., Szabó-Taylor K., Németh A., Sperlágth B., Baranyai T., Gíricz Z., Wiener Z., Turiák L., Drahos L., Pállinger É., Vékey K., Ferdinandy P., Falus A., Buzás E.I. Low-density lipoprotein mimics blood plasma-derived exosomes and microvesicles during isolation and detection. *Sci Rep* 2016; 6(1): 24316, <https://doi.org/10.1038/srep24316>.
- 223.** Das S.; Extracellular RNA Communication Consortium; Ansel K.M., Bitzer M., Breakefield X.O., Charest A., Galas D.J., Gerstein M.B., Gupta M., Milosavljevic A., McManus M.T., Patel T., Raffai R.L., Rozowsky J., Roth M.E., Saugstad J.A., Van Keuren-Jensen K., Weaver A.M., Laurent L.C. The extracellular RNA communication consortium: establishing foundational knowledge and technologies for extracellular RNA research. *Cell* 2019; 177(2): 231–242, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.03.023>.
- 224.** Lee H., Kim S.I., Shin D., Yoon Y., Choi T.H., Cheon G.J., Kim M. Hepatic siRNA delivery using recombinant human apolipoprotein A-I in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 378(2): 192–196, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.11.029>.
- 225.** Niculescu L.S., Simionescu N., Sanda G.M., Carnuta M.G., Stancu C.S., Popescu A.C., Popescu M.R., Vlad A., Dimulescu D.R., Simionescu M., Sima A.V. MiR-486 and miR-92a identified in circulating HDL discriminate between stable and vulnerable coronary *PLoS One* 2015; 10(10): e0140958, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140958>.
- 226.** Wagner J., Riwanto M., Besler C., Knau A., Fichtlscherer S., Röxe T., Zeiher A.M., Landmesser U., Dimmeler S. Characterization of levels and cellular transfer of circulating lipoprotein-bound microRNAs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33(6): 1392–1400, <https://doi.org/10.1161/atvbaha.112.300741>.
- 227.** 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, <https://doi.org/10.1038/ncb2210>.
- 228.** Li X., Zou X. An overview of RNA virus-encoded microRNAs. *ExRNA* 2019; 1: 37, <https://doi.org/10.1186/s41544-019-0037-6>.
- 229.** Pfeffer S., Zavolan M., Grässer F.A., Chien M., Russo J.J., Ju J., John B., Enright A.J., Marks D., Sander C., Tuschl T. Identification of virus-encoded microRNAs. *Science* 2004; 304(5671): 734–736, <https://doi.org/10.1126/science.1096781>.
- 230.** Thakur A., Kumar M. Integration of human and viral miRNAs in Epstein–Barr virus-associated tumors and implications for drug repurposing. *OMICS* 2023; 27(3): 93–108, <https://doi.org/10.1089/omi.2023.0005>.
- 231.** Wei-Ting W., Yun Y., Yang Z., Yi-Ning L., Yu-Lin W., Yi-Yi L., Yan-Jie T. EBV-microRNAs as potential biomarkers in EBV-related fever: a narrative review. *Curr Mol Med* 2022; 23, <https://doi.org/10.2174/156652402366622118122005>.
- 232.** Pawlica P., Yario T.A., White S., Wang J., Moss W.N., Hui P., Vinetz J.M., Steitz J.A. SARS-CoV-2 expresses a microRNA-like small RNA able to selectively repress host genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2021; 118(52): e2116668118, <https://doi.org/10.1073/pnas.2116668118>.
- 233.** Singh M., Chazal M., Quarato P., Bourdon L., Malabat C., Vallet T., Vignuzzi M., van der Werf S., Behillil S., Donati F., Sauvonnnet N., Nigro G., Bourguin M., Jouvenet N., Cecere G. A virus-derived microRNA targets immune response genes during SARS-CoV-2 infection. *EMBO Rep* 2022; 23(2): e54341, <https://doi.org/10.15252/embr.202154341>.
- 234.** Trépo C., Chan H.L.Y., Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2014; 384(9959): 2053–2063, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60220-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60220-8).

- 235.** Yang X., Li H., Sun H., Fan H., Hu Y., Liu M., Li X., Tang H. Hepatitis B virus-encoded microRNA controls viral replication. *J Virol* 2017; 91(10): e01919–16, <https://doi.org/10.1128/jvi.01919-16>.
- 236.** Zhao X., Sun L., Mu T., Yi J., Ma C., Xie H., Liu M., Tang H. An HBV-encoded miRNA activates innate immunity to restrict HBV replication. *J Mol Cell Biol* 2020; 12(4): 263–276, <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjz104>.
- 237.** Tang J., Xiao X., Jiang Y., Tian Y., Peng Z., Yang M., Xu Z., Gong G. miR-3 encoded by hepatitis B virus downregulates PTEN protein expression and promotes cell proliferation. *J Hepatocell Carcinoma* 2020; 7: 257–269, <https://doi.org/10.2147/jhc.s271091>.
- 238.** Loukachov V., van Dort K.A., Jansen L., Reesink H.W., Kootstra N.A. Identification of a Novel HBV encoded miRNA using next generation sequencing. *Viruses* 2022; 14(6): 1223, <https://doi.org/10.3390/v14061223>.
- 239.** Nabih H.K. The significance of HCV viral load in the incidence of HCC: a correlation between miR-122 and CCL2. *J Gastrointest Canc* 2020; 51(2): 412–417, <https://doi.org/10.1007/s12029-019-00281-2>.
- 240.** Kunden R.D., Khan J.Q., Ghezlbash S., Wilson J.A. The role of the liver-specific microRNA, miRNA-122 in the HCV replication cycle. *Int J Mol Sci* 2020; 21(16): 5677, <https://doi.org/10.3390/ijms21165677>.
- 241.** Chahal J., Gebert L.F.R., Camargo C., MacRae I.J., Sagan S.M. miR-122-based therapies select for three distinct resistance mechanisms based on alterations in RNA structure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2021; 118(33): e2103671118, <https://doi.org/10.1073/pnas.2103671118>.
- 242.** Panigrahi M., Palmer M.A., Wilson J.A. MicroRNA-122 regulation of HCV infections: insights from studies of miR-122-independent replication. *Pathogens* 2022; 11(9): 1005, <https://doi.org/10.3390/pathogens11091005>.
- 243.** Kim T., Croce C.M. MicroRNA: trends in clinical trials of cancer diagnosis and therapy strategies. *Exp Mol Med* 2023; 55(7): 1314–1321, <https://doi.org/10.1038/s12276-023-01050-9>.
- 244.** Zhao X., Xue X., Cui Z., Kwame Amezor F., Wan Y., Fu K., Wang C., Peng C., Li Y. microRNAs-based diagnostic and therapeutic applications in liver fibrosis. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2023; 14(4): e1773, <https://doi.org/10.1002/wrna.1773>.
- 245.** Ratnasari N., Lestari P., Renovaldi D., Raditya Ningsih J., Qoriansas N., Wardana T., Hakim S., Signa Aini Gumilas N., Indrarti F., Triwikatmani C., Bayupurnama P., Setyo Heriyanto D., Astuti I., Mubarika Harjana S. Potential plasma biomarkers: miRNA-29c, miRNA-21, and miRNA-155 in clinical progression of hepatocellular carcinoma patients. *PLoS One* 2022; 17(2): e0263298, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263298>.
- 246.** Khare S., Khare T., Ramanathan R., Ibdah J.A. Hepatocellular carcinoma: the role of microRNAs. *Biomolecules* 2022; 12(5): 645, <https://doi.org/10.3390/biom12050645>.
- 247.** Tadokoro T., Morishita A., Masaki T. Diagnosis and therapeutic management of liver fibrosis by microRNA. *Int J Mol Sci* 2021; 22(15): 8139, <https://doi.org/10.3390/ijms22158139>.
- 248.** Kim T.H., Lee Y., Lee Y.S., Gim J.A., Ko E., Yim S.Y., Jung Y.K., Kang S., Kim M.Y., Kim H., Kim B.H., Kim J.H., Seo Y.S., Yim H.J., Yeon J.E., Um S.H., Byun K.S. Circulating miRNA is a useful diagnostic biomarker for nonalcoholic steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease. *Sci Rep* 2021; 11(1): 14639, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94115-6>.
- 249.** Wang W., Li W., Cao L., Wang B., Liu C., Qin Y., Guo B., Huang C. Serum extracellular vesicle MicroRNAs as candidate biomarkers for acute rejection in patients subjected to liver transplant. *Front Genet* 2022; 13: 1015049, <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1015049>.
- 250.** de Ronde M.W.J., Ruijter J.M., Moerland P.D., Creemers E.E., Pinto-Sietsma S.J. Study design and qPCR data analysis guidelines for reliable circulating miRNA biomarker experiments: a review. *Clin Chem* 2018; 64(9): 1308–1318, <https://doi.org/10.1373/clinchem.2017.285288>.
- 251.** de Planell-Saguer M., Rodicio M.C. Analytical aspects of microRNA in diagnostics: a review. *Anal Chim Acta* 2011; 699(2): 134–152, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.05.025>.
- 252.** Vanhaverbeke M., Attard R., Bartekova M., Ben-Aicha S., Brandenburger T., de Gonzalo-Calvo D., Emanuelli C., Farrugia R., Grillari J., Hackl M., Kalocayova B., Martelli F., Scholz M., Wettinger S.B., Devaux Y. Peripheral blood RNA biomarkers for cardiovascular disease from bench to bedside: a position paper from the EU-CardioRNA COST action CA17129. *Cardiovasc Res* 2022; 118(16): 3183–3197, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab327>.
- 253.** Fan R., Xiao C., Wan X., Cha W., Miao Y., Zhou Y., Qin C., Cui T., Su F., Shan X. Small molecules with big roles in microRNA chemical biology and microRNA-targeted therapeutics. *RNA Biol* 2019; 16(6): 707–718, <https://doi.org/10.1080/15476286.2019.1593094>.
- 254.** Doghish A.S., Elballal M.S., Elazazy O., Elesawy A.E., Elrebehy M.A., Shahin R.K., Midan H.M., Sallam A.M. The role of miRNAs in liver diseases: potential therapeutic and clinical applications. *Pathol Res Pract* 2023; 243: 154375, <https://doi.org/10.1016/j.prp.2023.154375>.
- 255.** Zhu Y., Tan J.K., Wong S.K., Goon J.A. Therapeutic effects of microRNAs on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review and meta-analysis. *Int J Mol Sci* 2023; 24(11): 9168, <https://doi.org/10.3390/ijms24119168>.
- 256.** Beavers K.R., Nelson C.E., Duvall C.L. MiRNA inhibition in tissue engineering and regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev* 2015; 88: 123–137, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.12.006>.
- 257.** Tay F.C., Lim J.K., Zhu H., Hin L.C., Wang S. Using artificial microRNA sponges to achieve microRNA loss-of-function in cancer cells. *Adv Drug Deliv Rev* 2015; 81: 117–127, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.05.010>.
- 258.** Li D., Zhang J., Li J. Role of miRNA sponges in hepatocellular carcinoma. *Clin Chim Acta* 2020; 500: 10–19, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.09.013>.
- 259.** Gubu A., Su W., Zhao X., Zhang X., Fan X., Wang J., Wang Q., Tang X. Circular antisense oligonucleotides for specific RNase-H-mediated microRNA inhibition with reduced off-target effects and nonspecific immunostimulation. *J Med Chem* 2021; 64(21): 16046–16055, <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01421>.
- 260.** Wang Z. The principles of miRNA-masking antisense oligonucleotides technology. *Methods Mol Biol* 2011; 676: 43–49, https://doi.org/10.1007/978-1-60761-863-8_3.
- 261.** Wang Z. Sponge miR-mask technology. In: *MicroRNA interference technologies*. Springer Berlin Heidelberg; 2009; p. 167–173, https://doi.org/10.1007/978-3-642-00489-6_11.
- 262.** Yoshioka K., Kunieda T., Asami Y., Guo H., Miyata H., Yoshida-Tanaka K., Sujino Y., Piao W., Kuwahara H., Nishina K., Hara R.I., Nagata T., Wada T., Obika S., Yokota T. Highly efficient silencing of microRNA by heteroduplex

- oligonucleotides. *Nucleic Acids Res* 2019; 47(14): 7321–7332, <https://doi.org/10.1093/nar/gkz492>.
- 263.** Bernardo B.C., Charchar F.J., Lin R.C., McMullen J.R. A microRNA guide for clinicians and basic scientists: background and experimental techniques. *Heart Lung Circ* 2012; 21(3): 131–142, <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2011.11.002>.
- 264.** Ottosen S., Parsley T.B., Yang L., Zeh K., van Doorn L.J., van der Veer E., Raney A.K., Hodges M.R., Patick A.K. In vitro antiviral activity and preclinical and clinical resistance profile of miravirsin, a novel anti-hepatitis C virus therapeutic targeting the human factor miR-122. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59(1): 599–608, <https://doi.org/10.1128/aac.04220-14>.
- 265.** van den Berg F.T., Rossi J.J., Arbuthnot P., Weinberg M.S. Design of effective primary microRNA mimics with different basal stem conformations. *Mol Ther Nucleic Acids* 2016; 5(1): e278, <https://doi.org/10.1038/mtna.2015.53>.
- 266.** Dickins R.A., Hemann M.T., Zilfou J.T., Simpson D.R., Ibarra I., Hannon G.J., Lowe S.W. Probing tumor phenotypes using stable and regulated synthetic microRNA precursors. *Nat Genet* 2005; 37(11): 1289–1295, <https://doi.org/10.1038/ng1651>.
- 267.** Wittrup A., Lieberman J. Knocking down disease: a progress report on siRNA therapeutics. *Nat Rev Genet* 2015; 16(9): 543–552, <https://doi.org/10.1038/nrg3978>.
- 268.** Kaushal A. Innate immune regulations and various siRNA modalities. *Drug Deliv Transl Res* 2023; 2023: 1–15, <https://doi.org/10.1007/s13346-023-01361-4>.
- 269.** Ruman U., Fakurazi S., Masarudin M.J., Hussein M.Z. Nanocarrier-based therapeutics and theranostics drug delivery systems for next generation of liver cancer nanodrug modalities. *Int J Nanomedicine* 2020; 15: 1437–1456, <https://doi.org/10.2147/ijn.s236927>.
- 270.** Tang Y., Wang X., Li J., Nie Y., Liao G., Yu Y., Li C. Overcoming the reticuloendothelial system barrier to drug delivery with a “don’t-eat-us” strategy. *ACS Nano* 2019; 13(11): 13015–13026, <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b05679>.
- 271.** Paunovska K., Loughrey D., Dahlman J.E. Drug delivery systems for RNA therapeutics. *Nat Rev Genet* 2022; 23(5): 265–280, <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00439-4>.
- 272.** Böttger R., Pauli G., Chao P.H., Al Fayed N., Hohenwarter L., Li S.D. Lipid-based nanoparticle technologies for liver targeting. *Adv Drug Deliv Rev* 2020; 154–155: 79–101, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.06.017>.
- 273.** Yang N. An overview of viral and nonviral delivery systems for microRNA. *Int J Pharma Investig* 2015; 5(4): 179, <https://doi.org/10.4103/2230-973x.167646>.
- 274.** Hudgin R.L., Pricer W.E. Jr., Ashwell G., Stockert R.J., Morell A.G. The isolation and properties of a rabbit liver binding protein specific for asialoglycoproteins. *J Biol Chem* 1974; 249(17): 5536–5543, [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(20\)79761-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(20)79761-9).
- 275.** Willoughby J.L.S., Chan A., Sehgal A., Butler J.S., Nair J.K., Racie T., Shulga-Morskaya S., Nguyen T., Qian K., Yucius K., Charisse K., van Berkel T.J.C., Manoharan M., Rajeev K.G., Maier M.A., Jadhav V., Zimmermann T.S. Evaluation of GalNAc-siRNA conjugate activity in pre-clinical animal models with reduced asialoglycoprotein receptor expression. *Mol Ther* 2018; 26(1): 105–114, <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.08.019>.
- 276.** Huang Y. Preclinical and clinical advances of GalNAc-decorated nucleic acid therapeutics. *Mol Ther Nucleic Acids* 2017; 6: 116–132, <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2016.12.003>.
- 277.** Tran S., DeGiovanni P.J., Piel B., Rai P. Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. *Clin Transl Med* 2017; 6(1): e44, <https://doi.org/10.1186/s40169-017-0175-0>.
- 278.** El Moukhtari S.H., Garbayo E., Amundarain A., Pascual-Gil S., Carrasco-León A., Prosper F., Agirre X., Blanco-Prieto M.J. Lipid nanoparticles for siRNA delivery in cancer treatment. *J Control Release* 2023; 361: 130–146, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.07.054>.
- 279.** Sakashita M., Mochizuki S., Sakurai K. Hepatocyte-targeting gene delivery using a lipoplex composed of galactose-modified aromatic lipid synthesized with click chemistry. *Bioorg Med Chem* 2014; 22(19): 5212–5219, <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.08.012>.
- 280.** Avital Y.Y., Grønbech-Jensen N., Farago O. The thermodynamics of endosomal escape and DNA release from lipoplexes. *Phys Chem Chem Phys* 2016; 18(4): 2591–2596, <https://doi.org/10.1039/c5cp05778g>.
- 281.** Dasgupta I., Chatterjee A. Recent advances in miRNA delivery systems. *Methods Protoc* 2021; 4(1): 10, <https://doi.org/10.3390/mps4010010>.
- 282.** Silva B.F.B., Majzoub R.N., Chan C.L., Li Y., Olsson U., Safinya C.R. PEGylated cationic liposome–DNA complexation in brine is pathway-dependent. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1838(1 Pt B): 398–412, <https://doi.org/10.1016/j.bbmem.2013.09.008>.
- 283.** Hattori Y., Tamaki K., Sakasai S., Ozaki K., Onishi H. Effects of PEG anchors in PEGylated siRNA lipoplexes on in vitro gene-silencing effects and siRNA biodistribution in mice. *Mol Med Rep* 2020; 22(5): 4183–4196, <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11525>.
- 284.** Xu F., Liao J.Z., Xiang G.Y., Zhao P.X., Ye F., Zhao Q., He X.X. MiR-101 and doxorubicin codelivered by liposomes suppressing malignant properties of hepatocellular carcinoma. *Cancer Med* 2017; 6(3): 651–661, <https://doi.org/10.1002/cam4.1016>.
- 285.** Liu Y., Liu J., Quimbo A., Xia F., Yao J., Clamme J.P., Zabludoff S., Zhang J., Ying W. Anti-HSP47 siRNA lipid nanoparticle ND-L02-s0201 reverses interstitial pulmonary fibrosis in preclinical rat models. *ERJ Open Res* 2021; 7(2): 00733–02020, <https://doi.org/10.1183/23120541.00733-2020>.
- 286.** Jäger M., Schubert S., Ochrimenko S., Fischer D., Schubert U.S. Branched and linear poly(ethylene imine)-based conjugates: synthetic modification, characterization, and application. *Chem Soc Rev* 2012; 41(13): 4755, <https://doi.org/10.1039/c2cs35146c>.
- 287.** Li X., Wang B., Zhou S., Chen W., Chen H., Liang S., Zheng L., Yu H., Chu R., Wang M., Chai Z., Feng W. Surface chemistry governs the sub-organ transfer, clearance and toxicity of functional gold nanoparticles in the liver and kidney. *J Nanobiotechnology* 2020; 18(1): 45, <https://doi.org/10.1186/s12951-020-00599-1>.
- 288.** Gao S., Tian H., Guo Y., Li Y., Guo Z., Zhu X., Chen X. miRNA oligonucleotide and sponge for miRNA-21 inhibition mediated by PEI-PLL in breast cancer therapy. *Acta Biomater* 2015; 25: 184–193, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.07.020>.
- 289.** Cheng C.J., Saltzman W.M. Polymer nanoparticle-mediated delivery of microRNA inhibition and alternative splicing. *Mol Pharm* 2012; 9(5): 1481–1488, <https://doi.org/10.1021/mp300081s>.

- 290.** Park J.K., Utsumi T., Seo Y.E., Deng Y., Satoh A., Saltzman W.M., Iwakiri Y. Cellular distribution of injected PLGA-nanoparticles in the liver. *Nanomedicine* 2016; 12(5): 1365–1374, <https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.01.013>.
- 291.** Wang F., Zhang B., Zhou L., Shi Y., Li Z., Xia Y., Tian J. Imaging dendrimer-grafted graphene oxide mediated anti-miR-21 delivery with an activatable luciferase reporter. *ACS Appl Mater Interfaces* 2016; 8(14): 9014–9021, <https://doi.org/10.1021/acsami.6b02662>.
- 292.** Reebye V., Sætrom P., Mintz P.J., Huang K.W., Swiderski P., Peng L., Liu C., Liu X., Lindkaer-Jensen S., Zacharoulis D., Kostomitsopoulos N., Kasahara N., Nicholls J.P., Jiao L.R., Pai M., Spalding D.R., Mizandari M., Chikovani T., Emara M.M., Haoudi A., Tomalia D.A., Rossi J.J., Habib N.A. Novel RNA oligonucleotide improves liver function and inhibits liver carcinogenesis in vivo. *Hepatology* 2014; 59(1): 216–227, <https://doi.org/10.1002/hep.26669>.
- 293.** Salzano G., Costa D.F., Sarisozen C., Luther E., Mattheolabakis G., Dhargalkar P.P., Torchilin V.P. Mixed nanosized polymeric micelles as promoter of doxorubicin and miRNA-34a co-delivery triggered by dual stimuli in tumor tissue. *Small* 2016; 12(35): 4837–4848, <https://doi.org/10.1002/smll.201600925>.
- 294.** Bitar A., Ahmad N.M., Fessi H., Elaissari A. Silica-based nanoparticles for biomedical applications. *Drug Discov Today* 2012; 17(19–20): 1147–1154, <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2012.06.014>.
- 295.** Mamaeva V., Sahlgren C., Lindén M. Mesoporous silica nanoparticles in medicine — recent advances. *Adv Drug Deliv Rev* 2013; 65(5): 689–702, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.07.018>.
- 296.** Sun S., Wang Y., Zhou R., Deng Z., Han Y., Han X., Tao W., Yang Z., Shi C., Hong D., Li J., Shi D., Zhang Z. Targeting and regulating of an oncogene via nanovector delivery of microRNA using patient-derived xenografts. *Theranostics* 2017; 7(3): 677–693, <https://doi.org/10.7150/thno.16357>.
- 297.** Sharma A., Cornejo C., Mihalic J., Geyh A., Bordelon D.E., Korangath P., Westphal F., Gruettner C., Ivkov R. Physical characterization and in vivo organ distribution of coated iron oxide nanoparticles. *Sci Rep* 2018; 8(1): 4916, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23317-2>.
- 298.** Thomson D.W., Bracken C.P., Goodall G.J. Experimental strategies for microRNA target identification. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(16): 6845–6853, <https://doi.org/10.1093/nar/gkr330>.
- 299.** Gagnon K.T., Corey D.R. Guidelines for experiments using antisense oligonucleotides and double-stranded RNAs. *Nucleic Acid Ther* 2019; 29(3): 116–122, <https://doi.org/10.1089/nat.2018.0772>.
- 300.** Hedlund H., Du Rietz H., Johansson J.M., Eriksson H.C., Zedan W., Huang L., Wallin J., Wittrup A. Single-cell quantification and dose-response of cytosolic siRNA delivery. *Nat Commun* 2023; 14(1): 1075, <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36752-1>.