

ВЛИЯНИЕ СТЕРЕОТАКСИЧЕСКОЙ РАДИОХИРУРГИИ НА ЭКСПРЕССИЮ МИКРОРНК В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ГОЛОВНОГО МОЗГА НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Вошедский В.И.¹, Дженкова Е.А.¹, Сакун П.Г.¹, Росторгуев Э.Е.¹, Розенко Л.Я.¹, Збраилова Е.С.¹, Власов С.Г.¹, Командиров М.А.¹, Родионова О.Г.¹, Карнаухова Е.А.¹, Рогова Т.С.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: vvoshed@mail.ru

Рак легкого является самым частым источником метастатического поражения головного мозга (40% случаев). Лучевая терапия представляет собой наиболее эффективный нехирургический метод радикального лечения злокачественных опухолей. МикроРНК играет одну из ведущих ролей в развитии опухоли. Многие исследования продемонстрировали способность одной микроРНК контролировать несколько генов-мишеней одновременно, что привело к увеличению интереса к определению функциональной связи между экспрессией микроРНК и радиочувствительностью. В исследование включены 90 пациентов с метастатическим поражением головного мозга немелкоклеточным раком легкого, которым была проведена лучевая терапия в отделении радиотерапии. Пациентам всех групп производился забор венозной крови непосредственно перед сеансом лучевого лечения и через 1 месяц после завершения лечения. Из венозной крови путем центрифугирования выделялась плазма, в которой производилась оценка уровня экспрессии микроРНК: hsa-miR-15a-5p, hsa-miR-16a-5p, hsa-miR-17-3p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-663. В группе после проведенного облучения всего головного мозга (ОВГМ) более низкие уровни до лечения микроРНК hsa-miR-15 ($\Delta Ct \leq 12,38$) ($p=0,015$) и hsa-miR-16 ($\Delta Ct \leq 6,64$) ($p=0,016$) могут быть связаны с положительным ответом для этой группы больных. Для группы пациентов после стереотаксической радиохирургии в самостоятельном варианте высокий уровень микроРНК hsa-miR-21 ($\Delta Ct \geq 8,06$) и низкий уровень hsa-miR-663 ($\Delta Ct \leq 16,06$) перед лечением в совокупности могут выступать прогностическими факторами частичного ответа на терапию. При исследовании экспрессии у пациентов группы после стереотаксической радиохирургии с предварительным введением бевацизумаба в случаях с положительным ответом перед лечением отмечался достоверно более высокий уровень микроРНК hsa-miR-15 $\Delta Ct \geq 11,77$ ($p=0,0128$) и hsa-miR-21 $\Delta Ct \geq 7,75$ ($p=0,013$) и более низкий уровень микроРНК hsa-miR-663 $\Delta Ct \leq 13,82$ ($p=0,01$). Данные микроРНК могут выступать потенциальными кандидатами для прогнозирования ответа на стереотаксическую радиохирургию с предварительным введением бевацизумаба. Таким образом, в нашем исследовании выявлены характерные изменения экспрессии микроРНК hsa-miR-15a-5p, hsa-miR-16a-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-663, которые могут быть использованы в качестве биомаркеров прогноза ответа на различные варианты лучевой терапии метастатического поражения головного мозга немелкоклеточным раком легкого.

Ключевые слова: радиохирургия, метастатическое поражение головного мозга, радиотерапия, комплексное лечение, рак легкого.

INFLUENCE OF STEREOTAXIC RADIOSURGERY ON MICRORNA EXPRESSION IN THE BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH METASTATIC BRAIN LESION BY NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Voshedskiy V.I.¹, Dzhenkova E.A.¹, Sakun P.G.¹, Rostorguev E.E.¹, Rozenko L.Ya.¹, Zbrailova E.S.¹, Vlasov S.G.¹, Komandirov M.A.¹, Rodionova O.G.¹, Karnaukhova E.A.¹, Rogova T.S.¹

¹National Medical Research Oncology Center, Rostov-on-Don, e-mail: vvoshed@mail.ru

Lung cancer is the most common source of brain metastases (40% of cases). Radiation therapy is the most effective non-surgical method of radical treatment of malignant tumors. MiRNA plays a leading role in tumor progression. The ability of one miRNA to control several target genes simultaneously has led to an increase in interest in determining the functional relationship between miRNA expression and radiosensitivity. The study included 90 patients with non-small cell lung cancer brain metastases who underwent radiation therapy in the radiotherapy department. Venous blood sampling was obtained from patients of all groups before the radiation treatment

session and 1 month after the completed treatment. Plasma was isolated from venous blood by centrifugation, in which the level of expression of miRNA was evaluated: hsa-miR-15a-5p, hsa-miR-16a-5p, hsa-miR-17-3p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-663. In the group of patients after whole-brain radiotherapy lower miRNA levels of hsa-miR-15 ($\Delta Ct \leq 12.38$) ($p=0.015$) and hsa-miR-16 ($\Delta Ct \leq 6.64$) ($p=0.016$) may be associated with a positive response to treatment. For a group of patients after stereotactic radiosurgery, in an independent variant, a higher level of hsa-miR-21 miRNA ($\Delta Ct \geq 8.06$) and a lower level of hsa-miR-663 ($\Delta Ct \leq 16.06$) before treatment can be predictive factors for a partial response to therapy. In the study of expression in patients of the group after stereotactic radiosurgery with preliminary administration of bevacizumab, in cases with a positive response, a significantly higher level of hsa-miR-15 $\Delta Ct \geq 11.77$ ($p=0.0128$), a higher level of hsa-miR-21 $\Delta Ct \geq 7.75$ ($p=0.013$) and a lower level of hsa miRNA were observed-miR-663 $\Delta Ct \leq 13.82$ ($p=0.01$). These miRNAs can be potential candidates for classifying patients in the third treatment group. Thus, our study revealed characteristic changes in the expression of miRNAs hsa-miR-15a-5p, hsa-miR-16a-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-663, which can be used as biomarkers for predicting the response to various radiation therapy options.

Keywords: radiosurgery, metastatic brain lesion, radiotherapy, multiple treatment, lung cancer.

Рак легкого в Российской Федерации занимает третье место по заболеваемости злокачественными новообразованиями среди всего населения (9,4%) и первое место среди мужчин (16,3%) [1], а также является самой частой причиной метастатического поражения головного мозга (40% случаев) [2, 3].

Лучевая терапия представляет собой наиболее эффективный нехирургический метод радикального лечения злокачественных опухолей. Приблизительно 50% всех больных раком на различных этапах лечения получают лучевую терапию – отдельно или в сочетании с хирургическим вмешательством и/или химиотерапией. Несмотря на то что в последние годы радиационная терапия была значительно технически усовершенствована, что позволило более точно доставлять дозу, у огромного числа пациентов все еще наблюдаются рецидивы заболевания [4].

Лучевая терапия является одним из основных методов терапии больных с метастатическим поражением головного мозга (МППМ) [5]. Стереотаксическая радиохирургия (SRS) – это высокоточное локальное облучение, проводимое за одну фракцию с использованием комбинации жесткой иммобилизации и визуального контроля, что обеспечивает высокую точность облучения опухоли с низким риском повреждения окружающей ткани мозга.

Ионизирующее излучение (ИИ) повреждает клетки, высвобождая промежуточные ионы и свободные радикалы, которые вызывают одноцепочечные или двухцепочечные разрывы ДНК [6]. Индуцированные ионизирующим излучением повреждения ДНК запускают реакцию каскада белков, влияющих на репарацию ДНК и сигнализирующих об остановке клеточного цикла. Это позволяет клетке определить, способна ли она восстановить повреждение ДНК или, когда произошло слишком большое повреждение, погибнуть в результате апоптоза или отсроченной митотической гибели клетки [7].

Известно, что основной характеристикой опухоли, влияющей на исход после лучевой терапии, является врожденная радиорезистентность опухолевых клеток, на которую влияют

внутренние генетические и эпигенетические факторы. В этом контексте нарушение регуляции ДНК и других клеточных сигнальных путей при раке играет основную роль в обеспечении устойчивости к ионизирующему излучению [8, 9]. Поэтому в последние годы активно ведется разработка ингибиторов ключевых компонентов этих путей с целью разработки стратегий лечения для преодоления резистентности к лучевой терапии.

МикроРНК представляют собой эндогенные малые некодирующие молекулы РНК, которые регулируют экспрессию различных генов [10–14]. Представление о том, что микроРНК играет одну из ведущих в развитии опухоли, вместе с представлением о способности одной микроРНК контролировать несколько генов-мишеней одновременно, привело к увеличению интереса к определению функциональной связи между экспрессией микроРНК и радиочувствительностью [15–17]. В этом аспекте в некоторых исследованиях было продемонстрировано, что микроРНК принимают участие в ответе на ионизирующее излучение, потому что многие из них непосредственно регулируют экспрессию генов, участвующих в клеточных путях, имеющих отношение к ответу на облучение [18]. Однако понимание причинной роли отдельных микроРНК в детерминации радиорезистентности опухоли все еще находится на начальной стадии.

В экспериментальных исследованиях было продемонстрировано влияние ионизирующего излучения на экспрессию микроРНК hsa-miR-16-5p, hsa-miR-21-5p и hsa-miR-663 при воздействии ионизирующего излучения высокой мощности [19]. С учетом имеющихся экспериментальных данных было решено оценить влияние терапии на паттерны экспрессии микроРНК у пациентов с метастатическим поражением головного мозга немелкоклеточным раком легкого.

Цель исследования: оценить влияние терапии на паттерны экспрессии микроРНК у пациентов с метастатическим поражением головного мозга немелкоклеточным раком легкого с определением возможных закономерностей.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 90 пациентов с метастатическим поражением головного мозга немелкоклеточным раком легкого, которым была проведена лучевая терапия в отделении радиотерапии ФГБУ «НМИЦ онкологии» МЗ РФ в 2018–2021 гг. Пациенты были разделены на 3 группы по методике проводимой терапии: 1-я группа – облучение всего головного мозга (ОВГМ); 2-я группа – стереотаксическая радиохирургия; 3-я группа – стереотаксическая радиохирургия с однократной внутривенной инфузией бевацизумаба в дозе 5 мг/м² за сутки до проведения сеанса стереотаксической лучевой терапии. Оценка эффективности лечения оценивалась по критериям RANO BM (Response Assessment in Neuro-

Oncology Brain Metastases). В таблице 1 обобщены клинические характеристики непосредственно перед началом лечения для трех исследуемых групп.

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов

Группы пациентов		1-я группа (ОБГМ)	2-я группа (SRS)	3-я группа (SRS + бевацизумаб)
Параметры				
Количество пациентов		30	30	30
Кумулятивный объем образований, см ³	Среднее	8,03	3,14	4,06
	Диапазон	1,6–17,5	0,2–10,628	0,14–16,4
Количество очагов в головном мозге	1 очаг	0	16	10
	2–4 очага	4	10	9
	5 и более	26	4	11
Возраст пациентов	Среднее	60,1	58,6	60,9
	Диапазон	45–73	33–78	36–73
	Старше 65 лет	8	9	13
Пол	Мужчины	12	18	19
	Женщины	18	12	11

Пациентам всех групп производился забор венозной крови непосредственно перед сеансом лучевого лечения и через 1 месяц после завершения лечения. Из венозной крови путем центрифугирования выделялась плазма, в которой производилась оценка уровня экспрессии микро-РНК: *hsa-miR-15a-5p*, *hsa-miR-16a-5p*, *hsa-miR-17-3p*, *hsa-miR-21-5p*, *hsa-miR-145-5p*, *hsa-miR-663*.

Суммарную РНК из 0,2 мл плазмы экстрагировали с использованием реагента TRIzol® LS и набора для выделения miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen, Германия) с использованием автоматической станции выделения QIAcube Connect. Использовали *syn-cel-miR-39* в качестве дополнительного контроля для некоторых технических вариаций экстракции РНК из плазмы. Рассчитывали медианное значение CT *syn-cel-miR-39*, полученное для всех образцов. Все образцы РНК хранили при -80°C . Для получения кДНК микроРНК подвергали полиаденилированию и обратной транскрипции с использованием *E. coli polyA*-полимеразы (NEB, США) и MMLV-ревертазы (Евроген, Россия), а также универсального праймера для обратной транскрипции, как описано в статье I. Valcells et al. [20]. ПЦР проводили с использованием набора HS Taq ДНК-полимераза (Евроген, Россия) в присутствии интеркалирующего красителя EvaGreen и специфичных праймеров для амплификации исследуемых микроРНК. Для непарных сравнений двух групп использовали критерий

Вилкоксона. Различия экспрессии рассчитывали с помощью ANOVA. Значение $p < 0,05$ указывает на статистическую значимость.

Результаты исследования и их обсуждение

Среди исследуемых микроРНК – *hsa-miR-15a-5p*, *hsa-miR-16a-5p*, *hsa-miR-17-3p*, *hsa-miR-21-5p*, *hsa-miR-145-5p*, *hsa-miR-663* – относительная экспрессия во всех трех группах после проведенной лучевой терапии достоверно изменялась у четырех микроРНК: *hsa-miR-15a-5p*, *hsa-miR-16a-5p*, *hsa-miR-21-5p*, *hsa-miR-663* (рис. 1–3). Достоверное изменение относительной экспрессии наблюдалось только в 1-й группе пациентов *hsa-miR-15a-5p* после проведенного облучения всего головного мозга ($p=0,0079$). МикроРНК *miR-16a-5p* демонстрирует изменения относительной экспрессии во всех трех исследуемых группах, однако только в 1-й группе пациентов, после проведенного облучения всего головного мозга, изменения оказались статистически достоверными ($p=0,0076$) и характеризовались увеличением экспрессии в среднем в 1,16 раза. Уровень *Hsa-miR-21-5p* снижается только у пациентов 2-й группы после проведенной стереотаксической радиохирургии в самостоятельном варианте ($p=0,0096$). Во всех 3 группах пациентов после терапии наблюдалось достоверное снижение содержания микроРНК *hsa-miR-663* ($p=0,0079$; $0,0095$; $0,0076$ соответственно). Наглядно описанные изменения представлены на рисунках 1, 2 и 3 соответственно.

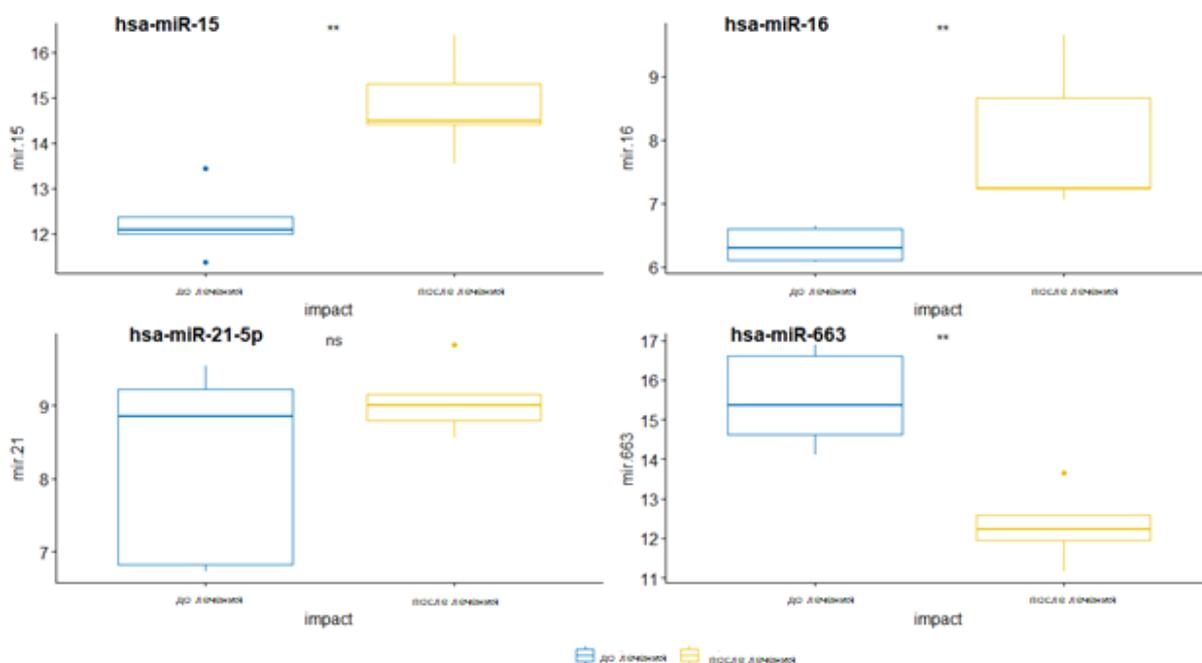


Рис. 1. Изменения уровней экспрессии микроРНК в плазме после лучевой терапии пациентов 1-й группы после ОБГМ. Уровни микроРНК в плазме крови определялись с помощью RT-PCR с использованием *syn-cel-miR-39* в качестве контроля. Ось Y предоставляет уровень экспрессии (ΔCt). Критерий Вилкоксона: * значение $p < 0,05$; ** значение $p < 0,01$

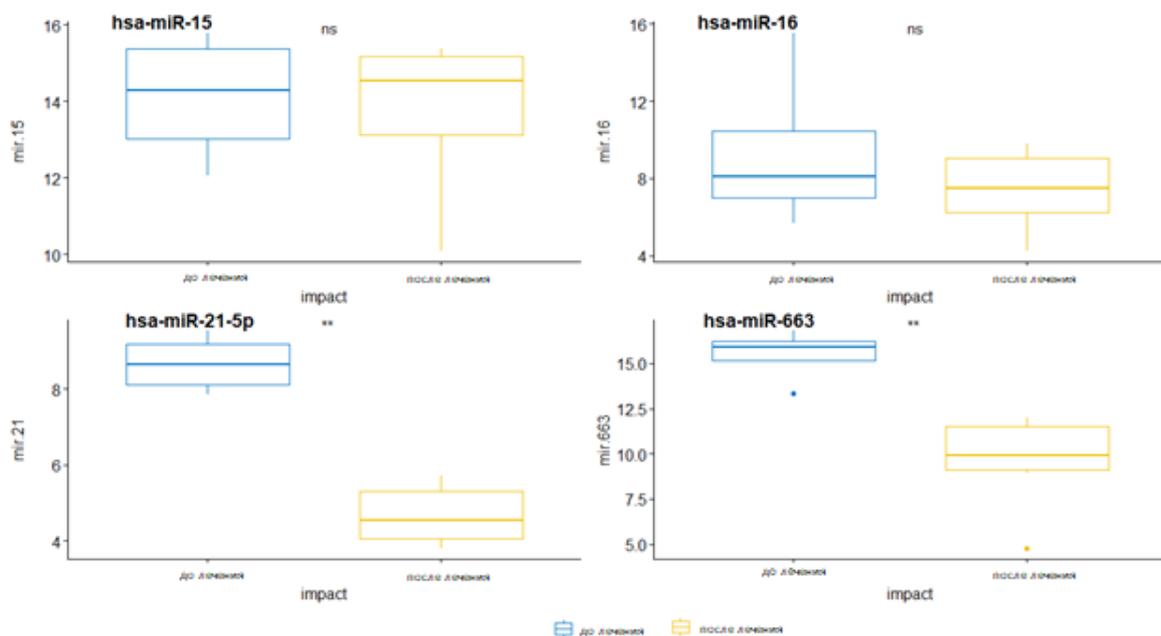


Рис. 2. Изменения уровней экспрессии микроРНК в плазме после лучевой терапии пациентов 2-й группы после SRS в самостоятельном варианте. Уровни микроРНК в плазме крови определялись с помощью RT-PCR с использованием *syn-cel-miR-39* в качестве контроля.

Ось Y предоставляет уровень экспрессии (ΔCt).

Критерий Вилкоксона: * значение $p < 0,05$; ** значение $p < 0,01$

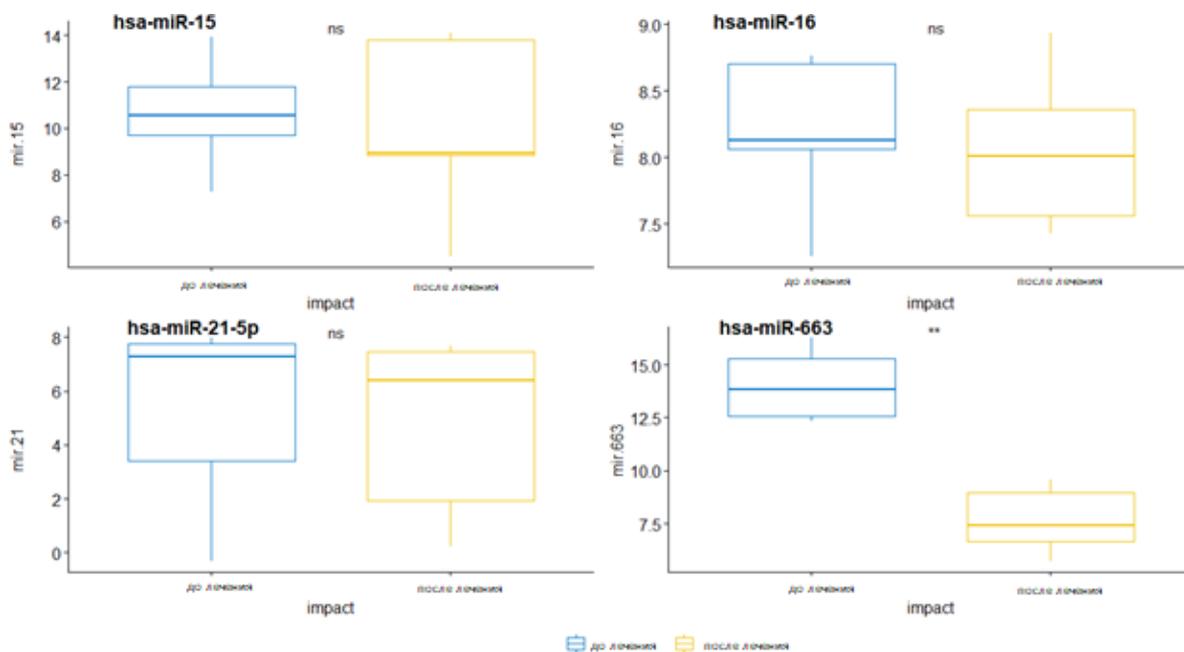


Рис. 3. Изменения уровней экспрессии микроРНК в плазме после лучевой терапии пациентов 3-й группы после SRS в комбинации с бевацизумабом. Уровни микроРНК в плазме крови определялись с помощью RT-PCR с использованием *syn-cel-miR-39* в качестве контроля.

Ось Y предоставляет уровень экспрессии (ΔCt).

*Критерий Вилкоксона: * значение $p < 0,05$; ** значение $p < 0,01$*

Было проанализировано, связаны ли уровни экспрессии микроРНК в плазме крови с ответом на лучевую терапию. Для выявления микроРНК-кандидатов для прогностического классификатора были проведено сравнение уровней экспрессии исследуемых микроРНК в плазме крови пациентов до лечения внутри групп пациентов с положительным ответом (частичный ответ и стабилизация) на лечение и прогрессированием интракраниального процесса согласно критериям RANO, так как данные варианты ответа встречаются в исследовании в подавляющем большинстве.

В группе после проведенного ОБГМ при сравнении уровней экспрессии микроРНК у пациентов с положительным ответом (частичный ответ и стабилизация) на лечение и прогрессированием интракраниального процесса после проведенной лучевой терапии были выявлены отличия в уровнях экспрессии в плазме крови до лечения для микроРНК *hsa-miR-15* ($p=0,015$) и *hsa-miR-16* ($p=0,013$), также были отмечены статистически значимые изменения уровней микроРНК *hsa-miR-21* и *hsa-miR-663* ($p=0,0103$; $0,0097$) после лечения. На основании этих данных можно предположить, что более низкие уровни микроРНК *hsa-miR-15* ($\Delta Ct \leq 12,38$) ($p=0,015$) и *hsa-miR-16* ($\Delta Ct \leq 6,64$) ($p=0,016$) могут быть связаны с положительным ответом на лечение в 1-й группе пациентов.

Для группы пациентов после стереотаксической радиохирургии в самостоятельном варианте производилось сравнение уровней экспрессии микроРНК у пациентов с положительным ответом (частичный ответ и стабилизация) на лечение и прогрессированием интракраниального процесса после проведенной стереотаксической радиохирургии. Была выявлена достоверная разница в уровне экспрессии для микроРНК *hsa-miR-21* при исследовании до лечения ($p=0,021$) и для микроРНК *hsa-miR-663* при исследовании как до лечения ($p=0,027$), так и после лечения ($p=0,048$). На основании этих данных можно предположить, что более высокий уровень микроРНК *hsa-miR-21* ($\Delta Ct \geq 8,06$) и низкий уровень *hsa-miR-663* ($\Delta Ct \leq 16,06$) перед лечением могут выступать прогностическими факторами частичного ответа на терапию.

При исследовании экспрессии у пациентов группы после стереотаксической радиохирургии с предварительным введением бевацизумаба производилось сравнение уровней экспрессии микроРНК у пациентов с положительным ответом (частичный ответ и стабилизация) на лечение и прогрессированием интракраниального процесса после проведенной комплексной терапии. Выявлено, что в случаях с положительным ответом до начала терапии отмечались достоверно более высокий уровень микроРНК *hsa-miR-15* $\Delta Ct \geq 11,77$ ($p=0,0128$), более высокий уровень *hsa-miR-21* $\Delta Ct \geq 7,75$ ($p=0,013$) и более низкий

уровень микроРНК *hsa-miR-663* $\Delta Ct \leq 13,82$ ($p=0,01$). Данные микроРНК могут выступать потенциальными кандидатами для классификации пациентов 3-й группы лечения.

Заключение

Таким образом, в нашем исследовании выявлены характерные изменения экспрессии микроРНК *hsa-miR-15a-5p*, *hsa-miR-16a-5p*, *hsa-miR-21-5p*, *hsa-miR-663*, которые могут быть использованы в качестве биомаркеров прогноза ответа на различные варианты лучевой терапии метастатического поражения головного мозга немелкоклеточным раком легкого.

Список литературы

1. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. 252 с.
2. Planchard D., Popat S., Kerr K., Novello S., Smit E.F., Faivre-Finn C., Mok T.S., Reck M., Van Schil P.E., Hellmann M.D., Peters S. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2019. Vol. 30 (5). P. 863-870. DOI: 10.1093/annonc/mdy474.
3. Кит О.И., Вошедский В.И., Сакун П.Г., Гусарева М.А., Власов С.Г., Мусейко К.Н., Командиров М.А., Култышева Ю.А. Опыт применения радиохирургического комплекса Novalis Tx в практике ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России // Южно-Российский онкологический журнал.г. 2020. № 1 (4). С. 32-37. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-4-4.
4. Franchino F., Rudà R., Soffietti R. Mechanisms and Therapy for Cancer Metastasis to the Brain. *Front Oncol.* 2018. Vol. 8. P. 161. DOI: 10.3389/fonc.2018.00161.
5. Thariat J., Hannoun-Levi J.M., Sun Myint A., Vuong T., Gérard J.P. Past, present, and future of radiotherapy for the benefit of patients. *Nat Rev Clin Oncol.* 2013. Vol. 10 (1). P. 52-60. DOI: 10.1038/nrclinonc.2012.203.
6. Kavanagh J.N., Redmond K.M., Schettino G., Prise K.M. DNA double strand break repair: a radiation perspective. *Antioxid Redox Signal.* 2013. Vol. 18 (18). P. 2458-72. DOI: 10.1089/ars.2012.5151.
7. Dent P., Yacoub A., Contessa J., Caron R., Amorino G., Valerie K., Hagan M.P., Grant S., Schmidt-Ullrich R. Stress and radiation-induced activation of multiple intracellular signaling pathways. *Radiat Res.* 2003. Vol. 159 (3). P. 283-300. DOI: 10.1667/0033-7587(2003)159[0283:sariao]2.0.co;2.
8. Curtin N.J. DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target. *Nat Rev Cancer.* 2012. Vol. 12 (12). P. 801-817. DOI: 10.1038/nrc3399.

9. Bartel D.P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*. 2009. Vol. 136 (2). P. 215-233. DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.002.
10. Winter J., Jung S., Keller S., Gregory R.I., Diederichs S. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nat Cell Biol*. 2009. Vol. 11 (3). P. 228-234. DOI: 10.1038/ncb0309-228.
11. Guo H., Ingolia N.T., Weissman J.S., Bartel D.P. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. *Nature*. 2010. Vol. 466 (7308). P. 835-840. DOI: 10.1038/nature09267.
12. Iorio M.V., Croce C.M. MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review. *EMBO Mol Med*. 2012. Vol. 4 (3). P. 143-159. DOI: 10.1002/emmm.201100209.
13. Gandellini P., Profumo V., Folini M., Zaffaroni N. MicroRNAs as new therapeutic targets and tools in cancer. *Expert Opin Ther Targets*. 2011. Vol. 15 (3). P. 265-279. DOI: 10.1517/14728222.2011.550878.
14. Chaudhry M.A. Radiation-induced microRNA: discovery, functional analysis, and cancer radiotherapy. *J. Cell Biochem*. 2014. Vol. 115 (3). P. 436-449. DOI: 10.1002/jcb.24694.
15. Cellini F., Morganti A.G., Genovesi D., Silvestris N., Valentini V. Role of microRNA in response to ionizing radiations: evidences and potential impact on clinical practice for radiotherapy. *Molecules*. 2014. Vol. 19 (4). P. 5379-5401. DOI: 10.3390/molecules19045379.
16. Metheetraitut C., Slack F.J. MicroRNAs in the ionizing radiation response and in radiotherapy. *Curr Opin Genet Dev*. 2013. Vol. 23 (1). P. 12-19. DOI: 10.1016/j.gde.2013.01.002.
17. Czocho J.R., Glazer P.M. microRNAs in cancer cell response to ionizing radiation. *Antioxid Redox Signal*. 2014. Vol. 21 (2). P. 293-312. DOI: 10.1089/ars.2013.5718.
18. Zhao L., Lu X., Cao Y. MicroRNA and signal transduction pathways in tumor radiation response. *Cell Signal*. 2013. Vol. 25 (7). P. 1625-1634. DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.04.004.
19. Вошедский В.И., Дженкова Е.А., Тимошкина Н.Н., Аллилуев И.А., Пушкин А.А., Гусарева М.А., Сакун П.Г., Власов С.Г., Шапошников А.В., Енгибарян М.А., Николаева Н.В., Лысенко И.Б. Изменение экспрессии микроРНК при воздействии радиохирургических доз ионизирующего излучения в культуре клеток немелкоклеточного рака легкого h1299 // *Современные проблемы науки и образования*. 2021. № 4. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30993> (дата обращения: 25.03.2022).
20. Balcells I., Cirera S., Busk P.K. Specific and sensitive quantitative RT-PCR of miRNAs with DNA primers. *BMC Biotechnol*. 2011. Vol. 11. P. 70. DOI: 10.1186/1472-6750-11-70.