

УРОВЕНЬ ОПУХОЛЕВЫХ И ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МИКРОРНК У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Пушкин А.А.^{1,2}, Гвалдин Д.Ю.¹, Петрусенко Н.А.¹, Росторгуев Е.Э.¹, Кавицкий С.Э.¹, Тимошкина Н.Н.¹

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

²ООО «БиоМедЛаб», Ростов-на-Дону

Глиальные опухоли являются наиболее распространенными, злокачественными, первичными опухолями головного мозга, малоперспективными для лечения. Поиск новых диагностических мишеней, специфичных и чувствительных для глиом, является актуальной задачей медицины и науки. Открытие эндогенных некодирующих микроРНК стало прорывом в диагностике и прогнозировании многих заболеваний. С помощью биоинформационного анализа данных TCGA-базы ранее были идентифицированы микроРНК (hsa-miR-3180-3p, hsa-miR-342-3p, has-let-7c-5p, has-miR-21a-5p, has-miR-190b-5p, has-miR-16-5p) как специфичные для глиальных опухолей, в настоящей работе были определены их уровни в опухоли и плазме пациентов с глиомами для оценки их диагностического потенциала. Методом ОТ-ПЦР-РВ определяли уровень пяти микроРНК в опухолевой ткани и плазме 60 пациентов с глиальными опухолями (диффузная астроцитоза GII; анапластическая астроцитоза, GIII; глиобластома, GIV); а также в плазме 20 человек условно здоровой группы (средний возраст 48±12,5 года, мужчин 39, женщин 41). В целом было обнаружено, что все 5 микроРНК проявили дифференциальную экспрессию в опухоли и плазме по сравнению соответственно с условно нормальной тканью и здоровыми донорами ($p < 0,001$). Экспрессия hsa-let-7c-5p, hsa-miR-3180-3p, hsa-miR-190b-5p и hsa-miR-21-5p в опухолях увеличивалась по сравнению с условной нормой, тогда как экспрессия hsa-miR-342-3p достоверно снижалась в образцах опухоли. Аналогичные тенденции наблюдали в плазме пациентов vs доноров. Достоверные корреляции уровня экспрессии в опухоли и плазме были зафиксированы для hsa-miR-190b-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-3180-3p и hsa-miR-342-3p ($p < 0,05$). Динамика изменения уровня hsa-let-7c-5p характеризовалась более сложной траекторией: противоположно направленное изменение экспрессии наблюдали в группах анапластической астроцитомы и глиобластомы. Таким образом, пять эндогенных молекул, по-разному экспрессирующихся в глиомах, предполагается использовать в качестве потенциальных диагностических маркеров для разработки малоинвазивной тест-системы для ранней диагностики глиом.

Ключевые слова: глиальные опухоли, микроРНК, hsa-miR-342-3p, hsa-miR-190b-5p, hsa-let-7c-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-3180-3p, биомаркеры, жидкостная биопсия.

Исследование выполнено при дополнительной финансовой поддержке Фонда содействия инновациям в рамках выполнения программы «УМНИК» по договору № 17217ГУ/2022 от 13.04.2022.

MIRNA LEVELS OF TUMOURS AND PLASMA IN GLIOMA PATIENTS

Pushkin A.A.^{1,2}, Gvaldin D.Yu.¹, Petrusenko N.A.¹, Rostorguev E.E.¹, Kavitsiy S.E.¹, Timoshkina N.N.¹

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

²BioMedLab Company, Rostov-on-Don

Glial tumors are the most common, malignant, primary brain tumors with little promise for treatment. The search for new diagnostic targets specific and sensitive for gliomas is an urgent task for medicine and science. The discovery of endogenous non-coding miRNAs has become a breakthrough in the diagnosis and prognosis of many diseases. In particular, microRNAs have been shown to have a significant effect on the development and progression of brain tumors. Using bioinformatic analysis of TCGA database data, glioma-specific microRNAs were previously identified (hsa-miR-3180-3p, hsa-miR-342-3p, has-let-7c-5p, has-miR-21a-5p, has-miR-190b-5p, has-miR-16-5p), in this work their levels were determined in the tumor and plasma of patients with gliomas to assess their diagnostic potential. Real-time PCR was used to determine the level of five miRNAs in tumor tissue and plasma of 60 patients with glial tumors (diffuse astrocytoma GII; anaplastic astrocytoma, GIII; glioblastoma, GIV); as well as in the plasma of 20 people of a conditionally healthy group (mean age 48 ± 12.5 years, men 39, women 41). Overall, all 5 miRNAs were found to be differentially expressed in tumor and plasma compared to

conditionally normal tissue and healthy donors, respectively ($p < 0.001$). The expression of hsa-let-7c-5p, hsa-miR-3180-3p, hsa-miR-190b-5p and hsa-miR-21-5p in tumors increased compared to the conditional norm, while the expression of hsa-miR-342-3p significantly decreased in tumor samples. Similar trends were observed in the plasma of patients vs. donors. Significant correlations between tumor and plasma expression levels were recorded for hsa-miR-190b-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-3180-3p, and hsa-miR-342-3p ($p < 0.05$). The dynamics of changes in the level of hsa-let-7c-5p was characterized by a more complex trajectory: an oppositely directed change in expression was observed in the groups of anaplastic astrocytoma and glioblastoma. Thus, five endogenous molecules expressed differently in gliomas are supposed to be used as potential diagnostic markers for the development of a minimally invasive test system for the early diagnosis of gliomas.

Keywords: glioma, miRNA, hsa-miR-342-3p, hsa-miR-190b-5p, hsa-let-7c-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-3180-3p, biomarkers, liquid biopsy.

The study was carried out with additional financial support from the Innovation Promotion Fund as part of the UMNİK program under contract No. 17217GU/2022 dated 04/13/2022.

Глиальные опухоли являются наиболее распространенными первичными опухолями головного мозга, при этом в более чем 50% случаев диагностируют мультиформную глиобластому (ГБМ), которая имеет самую высокую степень злокачественности (WHO Grade IV) и наименьшую 5-летнюю выживаемость (6,8% по сравнению с пилоцитарной астроцитомой – 94,7%) [1]. Для ГБМ характерны инфильтративный рост, васкуляризация, что приводит к быстрому прогрессированию процесса. Основной инструмент в арсенале лечения глиом – оперативное вмешательство, которое для глиом высокой степени злокачественности (WHO III и IV) дополняется лучевой терапией и стандартной химиотерапией на базе темозоломида [2]. Существующие методы лечения не увеличили общую выживаемость пациентов с ГБМ, что ставит задачу поиска новых высокочувствительных и специфичных маркеров диагностики заболевания.

Открытие эндогенных некодирующих микроРНК, регулирующих экспрессию мРНК-мишеней, стало прорывом в диагностике и прогнозировании многих заболеваний. Показано, что в глиальных опухолях на различных стадиях онкогенеза уровень отдельных микроРНК претерпевает абберрантные изменения [3]. Функциональный анализ ряда микроРНК, специфичных для глиом, выявил, что они могут проявлять себя и как онкогены, и как супрессоры опухолей: установлены их связь с развитием устойчивости к химиотерапии и лучевой терапии, стимулированию неоангиогенеза и пролиферации клеток, а также участие в регулировании клеточного цикла и апоптоза [4, 5]. Доступность для определения опухолевых микроРНК в биологических жидкостях делает их привлекательными диагностическими и прогностическими маркерами [5, 6]. Профиль микроРНК также специфичен для разных стадий заболевания [7], что может использоваться в прогнозе [8, 9], диагностике и при выборе соответствующей терапии [9].

Цель исследования: валидация пяти микроРНК (hsa-miR-3180-3p, hsa-miR-342-3p, hsa-let-7c-5p, hsa-miR-21a-5p, hsa-miR-190b-5p, hsa-miR-16-5p), выявленных ранее в биоинформационном анализе данных TCGA в качестве опухоль-специфичных маркеров,

путем определения их уровня в опухоли и плазме пациентов с глиомами головного мозга различной степени злокачественности для диагностики и прогноза заболевания.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России с 2019 по 2021 гг. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Средний возраст в выборке составил $48 \pm 12,5$ года, количество мужчин 39 человек, количество женщин 41 человек. Выборка включала основную группу пациентов с глиальными опухолями головного мозга различной степени злокачественности – 20 пациентов с диффузной астроцитомой (ДА, GII, возраст $47,7 \pm 8,6$ года); 20 пациентов с анапластической астроцитомой (АА, GIII, возраст $52,1 \pm 8,9$ года); 20 пациентов с глиобластомой (ГБ, GIV, возраст $57,8 \pm 4,4$ года); а также группу сравнения – 20 человек условно здоровых (К, возраст $46,9 \pm 6,7$ года). Патоморфологический диагноз установлен на базе иммуногистохимических и молекулярно-генетических исследований. В исследование были отобраны пациенты без генетических изменений в *IDH1/2* и без делеции 1p/19q.

Материалом служили ткани глиом и условно здоровой (контрольной) ткани, депонированных в биобанке центра. Венозную кровь собирали натощак до операции с использованием пробирок 6 мл вакуумного типа с ЭДТА («Becton Dickinson International», США). Образцы крови центрифугировали при 1900g, $+4^\circ\text{C}$ в течение 10 минут. Верхнюю фазу отбирали для повторного центрифугирования при 16000g, $+4^\circ\text{C}$ в течение 10 минут. Опухолевый материал получали интраоперационно, помещали в пробирки с фиксатором IntactRNA (Евроген, Россия) и хранили до анализа при -70°C .

В предварительном биоинформационном анализе открытых баз данных [3] авторами был выделен пул из пяти микроРНК, ассоциированных с глиальными опухолями. Для определения их относительной экспрессии были разработаны специфичные праймеры (табл. 1).

Таблица 1

Последовательности исследуемых микроРНК и используемых ДНК-праймеров

микроРНК	Последовательность	Последовательность праймеров
hsa-miR-3180-3p	UGGGGCGGAGCUUCCGGAGGCC	CGCAGGGGGCGGAGCT AGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTGGCCT
hsa-miR-342-3p	UCUCACACAGAAAUCGCACCCGU	CGCAGTCTCACACAGAAATC CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTACGGGT
hsa-let-7c-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUU	CGCAGTGAGGTAGTAGGTTGTA

		CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTAACCA
hsa-miR-21a-5p	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA	CGCAGTAGCACCATCTGAAA CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTAACCGA
hsa-miR-190b-5p	UGAUAUGUUUGAUAUUGGGUUG	CGCAGTGATATGTTTGATATTGG CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTCAAC
hsa-miR-16-5p	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	CGCAGTAGCAGCACGTAAATAT AGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTCGCCT
Универсальный праймер для обратной транскрипции		CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTVN

Процедуры выделения фракции микроРНК, проведения обратной транскрипции, ПЦР в реальном времени, расчет показателя относительной экспрессии были подробно описаны ранее [3, 7]. Статистическая обработка данных включала определение критерия Краскела–Уоллиса, U-тест Манна–Уитни с поправкой на множественные сравнения Бонферрони–Хохберга в программной среде R 4.0.4. При $p < 0,05$ различия признавались статистически значимыми.

Результаты исследования и их обсуждение

На основании разработанной системы для определения уровней относительной экспрессии была проведена оценка экспрессии пяти микроРНК параллельно в образцах опухоли и условно нормальной ткани 60 пациентов с глиальными опухолями разной степени злокачественности. Результаты относительной экспрессии приведены на рисунке 1. Результаты уровней экспрессии того же пула микроРНК в 60 образцах плазмы пациентов проиллюстрированы на рисунке 2.

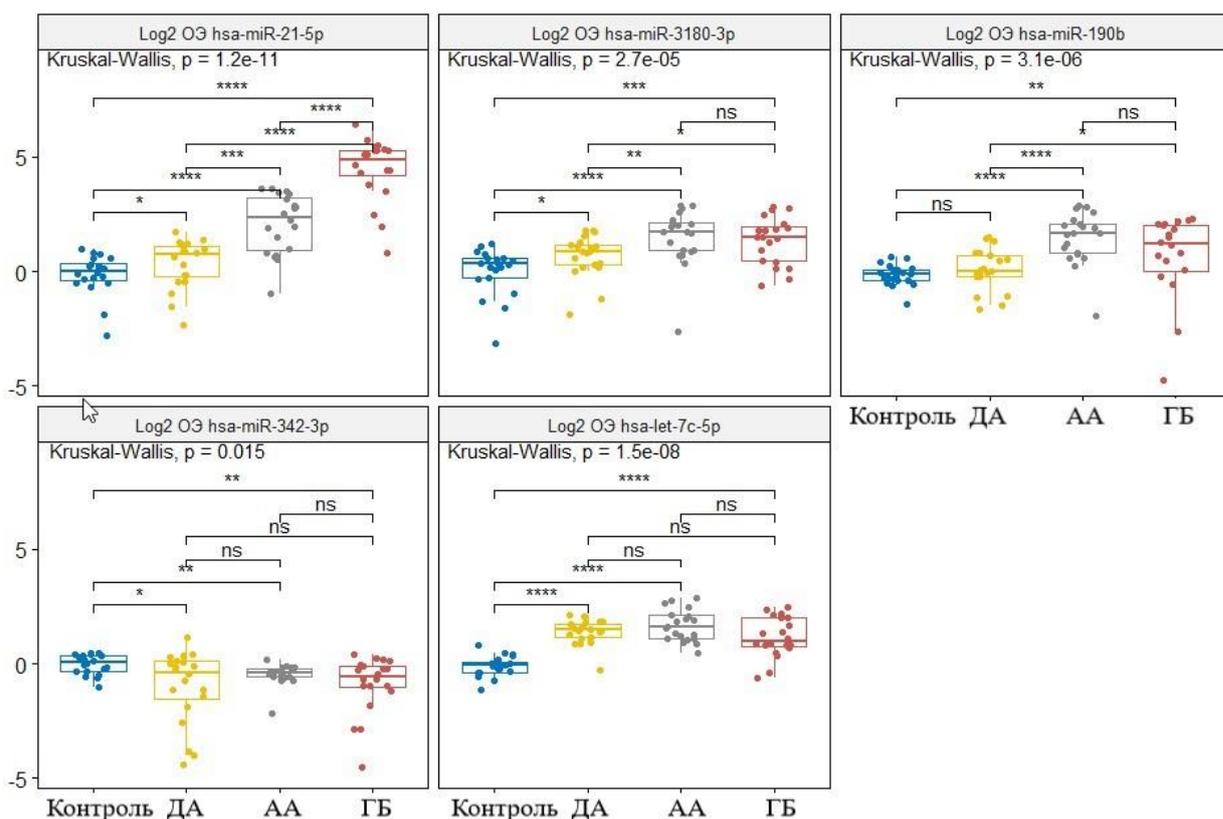


Рис. 1. Относительная экспрессия (ОЭ) микроРНК в тканях глиом различной степени злокачественности (ДА, АА и ГБ) и условно здоровой ткани (Контроль) головного мозга.

* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$, **** – $p < 0,0001$

Использованный пул микроРНК позволил дифференцировать опухолевую ткань от условно нормальной ткани по всем пяти маркерам. Экспрессия hsa-let-7c-5p, hsa-miR-3180-3p, hsa-miR-190b-5p и hsa-miR-21-5p в опухолях увеличивалась, тогда как экспрессия hsa-miR-342-3p достоверно снижалась в образцах опухоли. Глиомы разной степени злокачественности также различались по уровню ряда микроРНК. При этом уровень относительной экспрессии hsa-miR-21-5p нарастал с увеличением степени злокачественности глиальной опухоли. В глиобластоме зафиксирован более высокий уровень относительной экспрессии (ОЭ) hsa-miR-3180-3p, hsa-miR-190b-5p и hsa-miR-21-5p по сравнению с диффузной астроцитомой; а также ОЭ hsa-miR-21-5p, hsa-miR-190b-5p по сравнению с анапластической астроцитомой. Диффузная астроцитома и анапластическая астроцитома различались по экспрессии hsa-miR-21-5p, hsa-miR-3180-3p, hsa-miR-190b-5p.

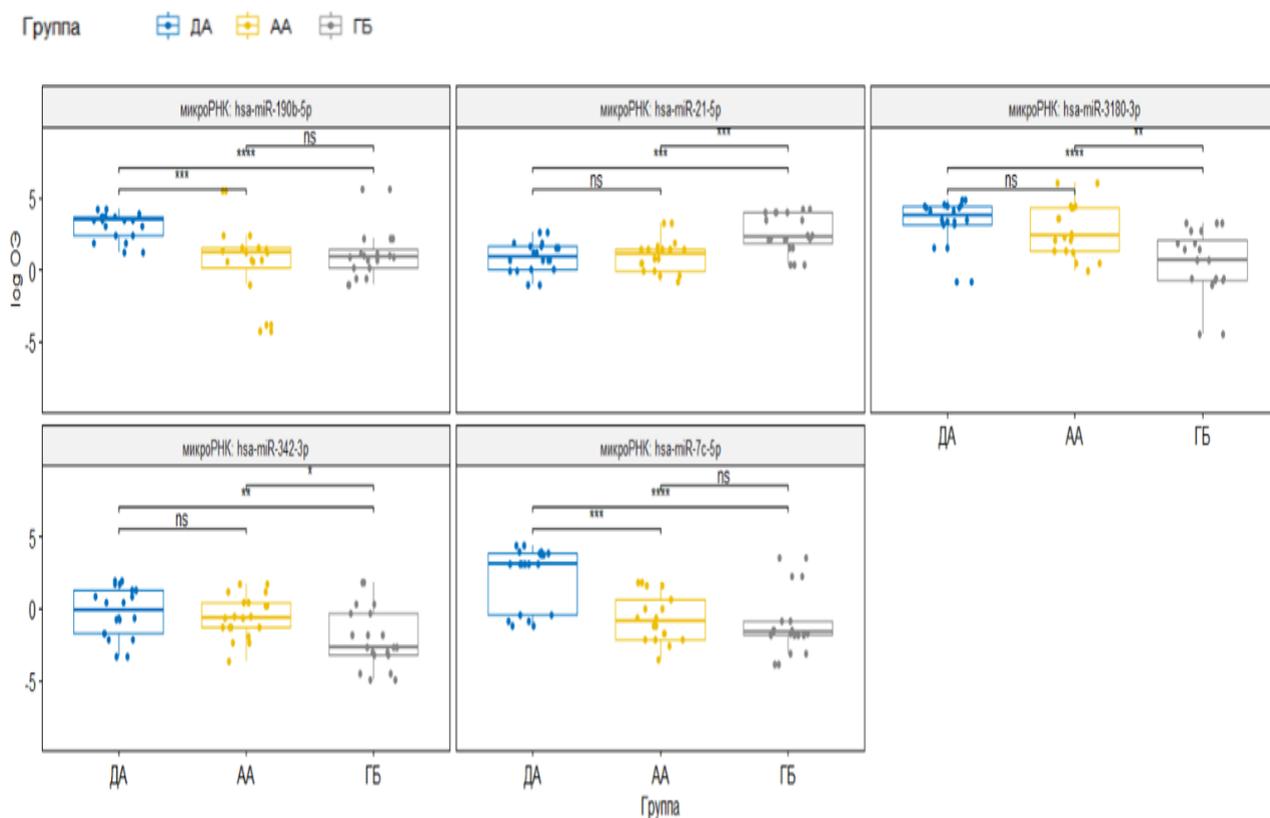


Рис. 2. Экспрессия микроРНК в плазме крови в группе глиом разной степени злокачественности. Ось y – относительная экспрессия, ось x – группы. Синим цветом отмечена группа с диффузной астроцитомой (ДА), желтым – пациенты с анапластической астроцитомой (АА), серым – с глиобластомой (ГБ). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$, **** – $p < 0,0001$

В плазме крови уровень пяти микроРНК также достоверно различался между контрольной группой и пациентами с глиальными опухолями. Достоверные отличия в уровнях относительной экспрессии между группами пациентов наблюдали для hsa-miR-342-3p и hsa-miR-21-5p. Дополнительно от других опухолевых групп можно было дифференцировать глиобластому по экспрессии hsa-miR-3180 и диффузную астроцитому по экспрессии hsa-let-7c-5p.

В исследовании авторов микроРНК в образцах тканей и плазмы демонстрировали однонаправленный характер изменений, за исключением hsa-let-7c-5p (табл. 2).

Таблица 2

Характеристика изменений относительной экспрессии в образцах плазмы и тканей пациентов с глиомами

МикроРНК	Группы	ОЭ в плазме	ОЭ в тканях	Корреляция	
				r	p
hsa-miR-21-5p	ГБ	4,9	29,6	0,64	0,0023
	АА	2,22	5,35	0,81	1,4E-04
	ДА	1,91	1,74	0,55	0,011
hsa-miR-342-3p	ГБ	0,16	0,68	0,79	4,3E-04
	АА	0,65	0,76	0,58	0,0076
	ДА	0,9	0,77	0,41	0,071
hsa-miR-3180-3p	ГБ	1,59	2,8	0,58	0,0079
	АА	5,11	3,3	0,6	0,0053
	ДА	13,68	1,82	0,45	0,047
hsa-let-7c-5p	ГБ	0,32	2,79	0,04	0,86
	АА	0,54	3,0	-0,21	0,37
	ДА	8,63	2,7	0,58	0,0074
hsa-miR-190b-5p	ГБ	1,84	2,35	0,43	0,059
	АА	2,24	3,2	0,22	0,35
	ДА	11,02	1,02	0,41	0,072

ОЭ – относительная экспрессия, r – корреляция Спирмена

Несмотря на выявленное достоверное увеличение экспрессии hsa-miR-190b-5p как в опухоли, так и в плазме, не была обнаружена достоверная корреляция при попарном сравнении образцов пациентов. Во всех группах глиом уровень hsa-miR-21-5p и hsa-miR-3180-3p достоверно увеличивался как в образцах плазмы, так и в опухолевой ткани. Уровень hsa-miR-342-3p снижался согласованно в опухоли и плазме, не достигнув достоверных значений только в группе ДА (p=0,071). Интересна динамика изменения ОЭ hsa-let-7c-5p, для которой отмечена повышенная экспрессия в опухоли независимо от стадии (рис. 1), однако в плазме ее уровень падал от диффузной астроцитомы к глиобластоме (рис. 2), что отразилось и на корреляции: выявлены однонаправленность экспрессии в плазме и опухоли при диффузной астроцитоме и противоположная тенденция в группах АА и ГБ.

Описание профиля экспрессии микроРНК, специфичного для глиом, свидетельствует об их участии в онкогенезе, что расширяет возможности диагностики и прогнозирования этих

видов рака. В исследование авторов вошли микроРНК, продемонстрировавшие свойства супрессора опухолей (hsa-miR-342-3p) и онкогенов (hsa-miR-190b-5p, hsa-let-7c-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-3180-3p).

Отметим, что в литературе наиболее часто описывается hsa-miR-21-5p как «онкогенная» микроРНК, которая демонстрировала гиперэкспрессию в тканях глиом различной степени злокачественности [3].

В исследовании авторов как в образцах плазмы, так и в опухолевых образцах глиом отмечен повышенный уровень экспрессии hsa-miR-21-5p, нарастающий со степенью злокачественности опухоли. Hsa-miR-190b-5p и hsa-miR-3180-3p также демонстрируют повышение уровней относительной экспрессии как в образцах плазмы, так и в образцах тканей. И если в отношении hsa-miR-190b-5p установлена ее онкогенная функции [10], то для hsa-miR-3180-3p было описано целевое блокирование PI3K-AKT сигнального пути в клетках гепатоцеллюлярной карциномы (HepG2), что должно обеспечивать антипролиферативный характер активности данной микроРНК [11].

Неоднозначна трактовка роли hsa-let-7c-5p при онкологических заболеваниях, в ряде работ эта микроРНК ассоциировалась с онкосупрессорными функциями в опухолях эндометрия, гепатоклеточной карциноме и др. [12]. Напротив, в глиальных опухолях отмечалось увеличение экспрессии hsa-let-7c [13]. Интересен характер изменения относительной экспрессии hsa-let-7c в работе авторов: разнонаправленный характер экспрессии в образцах плазмы и тканей пациентов с анапластической астроцитомой и глиобластомой, но согласованный при диффузной астроцитоме.

Единственная онкосупрессорная микроРНК в исследованном пуле – hsa-miR-342-3p – продемонстрировала снижение относительной экспрессии в образцах плазмы крови, коррелировавшее с активностью микроРНК в опухолевых образцах GIV и GI. Онкосупрессорная роль hsa-miR-342-3p была доказана после открытия механизма регулирования этой микроРНК процессов роста и апоптоза через многочисленные прямые мишени [14].

В итоге выбранная панель биомаркеров продемонстрировала хорошую корреляцию экспрессии в опухоли и плазме, что может быть полезно для диагностики опухолей головного мозга с использованием жидкостной биопсии. Это минимально инвазивная процедура, посредством которой анализируют циркулирующие нуклеиновые кислоты, которые рассматриваются как материал в том числе из опухолевой ткани, следовательно, они могут представлять собой ее подлинный и репрезентативный образец. Установление профиля экспрессии микроРНК, характерного для клеток глиальных опухолей, дает альтернативную возможность точной идентификации типа и степени злокачественных изменений в глиальных

клетках [6, 9]. Учитывая данные о возвращении к нормальному уровню циркулирующих микроРНК после операции и химиотерапии [15], возможно их использование в качестве биомаркеров ответа на терапию.

Выводы. Таким образом, в исследовании показано, что значимое изменение относительной экспрессии hsa-miR-21-5p, hsa-miR-342-3p, hsa-miR-3180-3p, hsa-let-7c-5p и hsa-miR-190b-5p в плазме крови когерентно с направлением изменения в ткани глиальных опухолей разной степени злокачественности, что может стать основой малоинвазивной тест-системы, дополняющей основные диагностические методы.

Список литературы

1. Pellerino A., Caccese M., Padovan M., Cerretti C., Lombardiet G. Epidemiology, risk factors, and prognostic factors of gliomas // *Clin Transl Imaging*. 2022. Vol. 10. P. 467–475. DOI: 10.1007/s40336-022-00489-6.
2. Fisher J., Adamson D. Current FDA-Approved Therapies for High-Grade Malignant Gliomas // *Biomedicines*. 2021. Vol. 9. P. 324. DOI: 10.3390/biomedicines9030324.
3. Gvaldin D.Y., Pushkin A.A., Timoshkina N.N., Rostorguev E.E., Nalgiev A.M., Kit O.I. Integratime analysis of mRNA and miRNA seprencing data for gliomas of various grades // *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2020. Vol. 21. Article number. 73. DOI: 10.1186/s43042-020-00119-8.
4. Sati ISEE, Parhar I. MicroRNAs Regulate Cell Cycle and Cell Death Pathways in Glioblastoma // *Int. J. Mol Sci*. 2021. Vol. 22 (24). 13550. DOI: 10.3390/ijms222413550.
5. Mahinfar P., Mansoori B., Rostanzadeh D., Baradaran B., Cho W.C., Mansoori B. The Role of microRNAs in Multidrug Resistance of Glioblastoma // *Cancers*. 2022. Vol. 14. P. 3217.
6. Пушкин А.А., Гвалдин Д.Ю., Тимошкина Н.Н., Росторгуев Э.Е., Владимирова Л.Ю., Дженкова Е.А. Анализ данных высокопроизводительного секвенирования базы Gene Expression Omnibus для идентификации микроРНК в плазме крови пациентов с глиобластомой // *Research'n Practical Medicine Journal*. 2022. Т. 9 (1). С. 54-64. DOI: 10.17709/2410-1893-2022-9-1-5.
7. Kit O.I., Pushkin A.A., Alliluyev I.A., Timoshkina N.N., Gvaldin D.Y., Rostorguev E.E., Kuznetsova N.S. Differential expression of microRNAs targeting genes associated with the development of high-grade gliomas // *Egypt J. Med. Hum Genet*. 2022. Vol. 23 (31). DOI: 10.1186/s43042-022-00245-5.

8. Srinivasan S., Patric I.R., Somasundarman K. A ten-microRNA expression signature predicts survival in glioblastoma // PLoS ONE. 2011. Vol. 6. P. e17438. DOI: 10.1371/journal.pone.0017438.
9. Makowska M., Smolarz B., Romanowicz H. microRNAs (miRNAs) in Glioblastoma Multiforme (GBM)—Recent Literature Review // Int. J. Mol. Sci. 2023. Vol. 24. 3521. DOI: 10.3390/ijms24043521.
10. Yu Y., Cao X.C. miR-190-5p in human diseases // Cancer Cell Int. 2019. Vol. 19. P. 257. DOI: 10.1186/s12935-019-0984-x.
11. Tashiro E., Nagasawa Y., Itoh S., Imoto M. Involvement of miR-3180-3p and miR-4632-5p in palmitic acid-induced insulin resistance // Molecular and Cellular Endocrinology. 2021. Vol. 534. P. 111371. DOI: 10.1016/j.mce.2021.111371.
12. Jayaraman M., Radhakrishnan R., Mathews C.A., Yan M., Husain S., Moxley K.M., Song Y.S., Dhanasekaran D.N. Identification of novel diagnostic and prognostic miRNA signatures in endometrial cancer // Genes Cancer. 2017. Vol. 5-6. P. 566-576. DOI: 10.18632/genesandcancer.144.
13. An T., Fan T., Zhang X.Q., Liu Y.F., Huang J., Liang C., Cong Liang, Lv B.H., Wang Y.Q., Zhao X.G., Liu J.X., Fu Y.H., Jiang G.J. Comparison of alterations in miRNA expression in matched tissue and blood samples during spinal cord glioma progression // Scientific Reports. 2019. Vol. 9. Is. 1. P. 1-13. DOI: 10.1038/s41598-019-42364-x.
14. Shi L., Xiao R., Wang M., Zhang M., Weng N., Zhao X., Zheng X.F.S., Wang H., Mai S. MicroRNA-342-3p suppresses proliferation and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells by directly targeting Cdc42 // Oncology reports. 2018. Vol. 40. Is. 5. P. 2750-2757. DOI: 10.3892/or.2018.6642.
15. Rynkeviciene R., Simiene J., Strainiene E., Stankevicius V., Usinskiene J., Miseikyte Kaubriene E., Meskinyte I., Cicenias J., Suziedelis K. Non-Coding RNAs in Glioma // Cancers. 2018. Vol. 11. Is. 17. DOI: 10.3390/cancers11010017.