

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

УДК [57+61]:616-006.6:611.24:577.2:599.323.4:615.849:539.1.047

СВЯЗЬ МЕЖДУ ДИНАМИКОЙ РОСТА ПЕРЕВИВНОЙ КАРЦИНОМЫ ЛЬЮИСА У МЫШЕЙ И ИЗМЕНЕНИЕМ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ И НЕКОДИРУЮЩИХ РНК ПОСЛЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ

© 2022 г. **В. Ф. Михайлов**¹, Д. В. Салеева^{1,*}, Л. В. Шуленина¹, Н. Ф. Раева¹,
Л. М. Рождественский¹, Г. Д. Засухина^{1,2}

¹Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

*E-mail: dasha_saleeva@inbox.ru

Поступила в редакцию 22.06.2021 г.

После доработки 27.10.2021 г.

Принята к публикации 09.11.2021 г.

Изучено влияние малых доз радиации на динамику роста перевивной карциномы Льюиса у самок-мышей линии C57Bl/6. Четырехкратное тотальное фракционированное воздействие рентгеновского облучения проводили в дозе 75 мГр при мощности дозы 0.154 Гр/мин и напряжении 200 кВ, начиная с 10-х суток после трансплантации с 4-суточным интервалом. В группе облученных мышей отмечали снижение скорости роста опухоли, преимущественно с 20-х суток, сопровождавшееся изменением активности исследованных генетических структур. Анализ экспрессии генов и некодирующих РНК (микроРНК и длинных некодирующих РНК) в клетках опухоли, а также в нормальных тканях (костный мозг, печень, селезенка) на 14-е и 22-е сутки показал, что количество активированных онкогенов в опухолевой ткани превалировало над количеством активированных онкосупрессоров. Отличный от опухоли эффект наблюдался для клеток нормальных органов. Для всех исследованных тканей было рассчитано соотношение активностей онкосупрессоров к онкогенам. Эти доли составили 0.5 для опухоли, 10.7 для костного мозга и 2.4 для селезенки и тимуса. Таким образом, можно констатировать, что в опухоли наблюдалась особенно выраженная активация онкогенов по сравнению с активностью онкосупрессоров, в то же время в нормальных органах отмечался противоположный эффект.

Ключевые слова: малые дозы радиации, карцинома Льюиса, гены, некодирующие РНК, онкогены, онкосупрессоры, *P53*, *NFκB*

DOI: 10.31857/S0869803122010088

Многолетнее господствующее представление о беспороговом действии радиации в последнее время претерпело существенные изменения. Была показана разнонаправленность действия высоких и малых доз радиации. Так, высокие дозы радиации (ВДР) подавляли иммунный ответ организма, тогда как малые дозы радиации (МДР) стимулировали его. Кроме того, действие ВДР ингибировало защитные механизмы клетки, а воздействие МДР усиливало иммунный ответ. Эффект воздействия радиации на биологические объекты может быть объяснен балансом между уровнем ДНК-повреждений и механизмами клеточной защиты, которые эффективны при воздействии МДР и мало эффективны – при ВДР. Многие поврежденные клетки, в том числе пренеопластические, могут быть элиминированы в результате усиления активности иммунной си-

стемы и апоптоза. Однако при действии МДР превалируют репарационные процессы, включаются активация клеточно-мембранных рецепторов и секреция цитокинов [1]. На животных при воздействии МДР показано повышение уровня эндогенных антиоксидантов, включая индукцию каталазы, глутатионредуктазы, СОД и других агентов в различных тканях, включая печень, селезенку, костный мозг [2].

На основании исследованных механизмов действия малых доз можно сделать вывод об их позитивном воздействии на процессы жизнедеятельности за счет формирования адаптивного ответа и эффекта гормезиса.

Последние годы МДР стали применять для лечения ряда патологий человека: аутоиммунных и воспалительных процессов, артритов и других заболеваний [3–5]. Действие МДР на пренеопла-

стические процессы мышечной ткани выявило, во-первых, снижение выхода опухолей за счет повышения чувствительности злокачественных клеток к облучению, во-вторых, уменьшение объема новообразований при фракционированном облучении в малой дозе. Однако вовлеченность генов и их регуляторов в положительные эффекты МДР недостаточно изучена. Имеются только отдельные сообщения об изменении активности или структурных генов, или некодирующих РНК. Показана роль микроРНК как биомаркеров эффективности ответа на воздействие радиации. Изучение этих структур считается перспективной стратегией для защиты здоровых клеток и тканей от воздействия ионизирующего излучения [6].

Так, микроРНК, которые могут регулировать ответ на радиотерапию, можно разделить на две группы, которые способствуют радиорезистентности или радиочувствительности клеток. В работе [7] сообщают о 36 идентифицированных микроРНК, ассоциированных с ответом на радиотерапию. Определяя чувствительность микроРНК, можно использовать этот подход для выяснения причин неэффективности радиотерапии у онкологических пациентов с целью последующей коррекции [7].

Ингибирование апоптоза, неконтролируемый клеточный рост, активация ареста клеточного цикла и ДНК-репарации являются ключевыми механизмами, определяющими радиорезистентность опухоли [8].

В настоящее время известен ряд микроРНК, функции которых заключаются в подавлении регуляции клеточного цикла в опухолях и ингибировании их инвазии, а также обеспечивающие повышение радиочувствительности опухолевых клеток. С другой стороны, существуют микроРНК, регулирующие ряд своих мишеней, вовлеченные в процессы клеточного цикла и обеспечивающие радиочувствительность злокачественных клеток за счет подавления процессов выживаемости [9].

Целью наших исследований было изучение комплекса генетических структур (гены, микроРНК и днРНК) в динамике на скорость роста опухоли у мышечной линии C57Bl/6, инокулированной карциномой Льюиса при воздействии МДР. При этом исследовали активность этих показателей в разных органах мышечной, различающихся по чувствительности к воздействию радиации. Анализ данных позволил выявить роль соотношения активности онкогенов и онкосупрессоров на процессы опухолеобразования при фракционированном облучении в малой дозе, а также оценить возможные показатели, способствующие тенденции уменьшения размеров опухоли для возможного использования при радиотерапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служили 40 мышечных-самки линии C57Bl/6 массой 20–22 г. Распределение мышечных осуществляли по следующим группам: “биоконтроль” – интактные мыши (без опухоли и облучения); “опухоль” – мыши с трансплантированной опухолью; “опухоль + облучение” – мыши с трансплантированной опухолью, подвергшиеся облучению в МДР.

Трансплантация опухолевой ткани

Культура клеток легочной карциномы Льюиса была получена в Центре онкологии им. Н.Н. Блохина. Для получения опухолевой суспензии извлекали опухоль у мышечной-донора. Навеску опухоли (4 г) с раствором Хенкса (24 мл) измельчали палочкой в ступке и отфильтровывали через сито. Полученную 14%-ную суспензию диспергированной опухолевой ткани в объеме 0.2 мл вводили подкожно в правую заднюю лапу мышечной (10⁵ клеток в 0.2 мл р-ра Хенкса/животное). Измерение опухоли у каждого животного производили ежедневно за исключением выходных, начиная с 13-х суток после введения клеток, когда объем опухоли был достаточно выражен.

Облучение животных

Тотальное 4-кратное рентгеновское облучение в дозе 75 мГр проводили на аппарате РУСТ М1 (Россия) на 10-е, 13-е, 17-е и 21-е сутки после трансплантации опухолевых клеток с расположением каждой мышечной в отдельной ячейке планшета. Пониженную мощность дозы (0.154 Гр/мин) получали путем снижения тока на трубку до 0.7 мА при напряжении 200 кВ. Дозиметрию в ячейках планшета проводили с помощью термoluminesцентных дозиметров.

Мышечные подвергали эвтаназии путем декаптации на 14-е и 22-е сутки после трансплантации. Костный мозг выделяли из большой бедренной кости в 0.8 мл среды RPMI-1640 (Sigma Aldrich), с глутамином без фенола красного, pH = 7.2–7.4. Полученная суспензия костного мозга содержала (0.5–2) × 10⁶ клеток в 0.1 мл и хранилась при –70°C до использования. Также извлекали селезенку, тимус, печень, опухоли бедренной кости, замораживали и хранили при –70°C.

Часть животных в каждой из двух групп с опухолями выделяли для наблюдения за выживаемостью вплоть до полного падежа, реализующегося примерно в течение месяца после трансплантации опухолевых клеток. Схема опыта изображена на рис. 1.



Рис. 1. Схема опыта на мышах с перевитой карциномой Льюиса и облучением в малой дозе.

Fig. 1. Scheme of the experiment on mice with transplanted Lewis carcinoma and irradiation at a low-dose radiation.

Получение гомогената и выделение тотальной РНК

Образцы биоптатов органов и опухоли мышей одинаковой массы (0.1 г) обрабатывали на механическом гомогенизаторе Daihan HS (Ю. Корея) в 1 мл раствора охлажденного тризола или фосфатного буфера. Выделение тотальной РНК проводили тризольным методом с использованием набора “Trizol RNA Prep 100” в соответствии с протоколом фирмы-производителя. Метод основан на применении лизирующего реагента Trizol (гуанидинтиоционат с фенолом, pH = 4.0) с добавлением хлороформа и последующим осаждением РНК спиртом из водной фазы.

Обратная транскрипция и ПЦР в реальном времени

Синтез комплементарной ДНК проводили с помощью набора лиофилизированных реагентов для проведения реакции обратной транскрипции “GenePak RT Core” (ООО “Лаборатория Изоген”, Россия), содержащего 100 ед. обратной транскриптазы М-MLV (“Promega”, США), 20 ед. ингибитора РНК-аз RNasin, случайные гекса- и нанонуклеотидные праймеры, дезоксинуклеотидтрифосфаты и оптимизированную буферную систему. Реакцию обратной транскрипции для miR-21 осуществляли по технологии “stem loop”, где использовали праймер: L-5'-GTCGTATC-CAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGG-ATACGACTCAACAT-3' (50 нмоль/л) и набор “GenePak RT Core” (ООО “Лаборатория Изоген”, Россия), без добавления случайных гекса- и нанонуклеотидных праймеров.

ПЦР в реальном времени проводили на амплификаторе “DTprime 5M3” (НПО ДНК-Технология, Россия) с использованием красителя SYBR Green I (Thermo Scientific, США) или TaqMan-зонда. Условия ПЦР-РВ для генов и

микроРНК были подобраны эмпирическим путем с помощью температурного градиента по матрице. Каждую ПЦР проводили не менее двух раз. Результаты, полученные с помощью ПЦР, анализировали методом $\Delta\Delta C_t$ [10]. В качестве эндогенного контроля экспрессии генов и некодирующих РНК был выбран ген *GAPDH*. Нуклеотидная последовательность праймеров и зондов для исследуемых генов, а также условия для ПЦР-РВ представлены в табл. 1.

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ STATISTICA 7.0, которая включала в себя определение медианы и 25 и 75% квартилей [11]. Для оценки значимости различий применяли непараметрический критерий Манна–Уитни. Значения медианы в контрольной группе были приняты за единицу, а значения медианы в исследуемых группах показывали, во сколько раз уровень экспрессии показателя выше или ниже по отношению к контрольной группе. Различия признавали статистически значимыми при $p < 0.05$ и $p < 0.1$, где p – показатель статистической значимости данных.

Корреляционные зависимости рассчитывали по непараметрическому ранговому критерию Манна–Уитни, поскольку большая часть данных не подчинялась нормальному распределению, и по ранговому критерию Спирмена. Также для оценки корреляции был применен регрессионный анализ.

Таблица 1. Нуклеотидная последовательность праймеров и зондов для мРНК исследуемых генов и некодирующих РНК и температурно-временной режим ПЦР в реальном времени
Table 1. The nucleotide sequence of primers and probes for mRNA of the studied parameters and conditions for real-time PCR for genes, microRNA and long non-coding RNA

Параметр	Олигонуклеотидная последовательность праймеров и зондов и их концентрации	Условия ПЦР в реальном времени
<i>P53</i>	F: 5'-TCTGGGACAGCCAAGTCTGT-3' R: 5'-GGAGTCTTCCAGTGTCAATGA-3' 300 нмоль/л	Предварительная денатурация (ПД): 95°C/10 мин, далее 35 циклов: 94°C/30 с, 51.9 °C/50 с и 72°C/80 с
<i>PTEN</i>	F: 5'-AATTCCCAGTCAGAGGCGCTATGT-3' R: 5'-GATTGCAAGTTCCGCCACTGAACA-3' 100 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/20 с, 64°C/20 с
<i>p38α</i>	F: 5'-AAGGGAACGAGAAAAGTCTGTT-3' R: 5'-TATTTTAACCAGTGGTATTATCTGACA TCCT-3' FAM-TTGATTTGTGAACCTGGCTGTAATCT GGTAT- GCC-TAMRA 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/20 с, 59°C/45 с и 72°C/20 с
<i>TAL1</i>	F: 5'-CTGTGTCAATCCAGGTGGTG-3' R: 5'-GATGGGGCCTTTGGATATTT-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 94°C/30 с, 62°C/30 с
<i>CTCF</i>	F: 5'-CGCGAAGAATGACCACAAAT-3' R: 5'-GACTCCTCCACAATGGCTTC-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 51.4°C/45 с и 72°C/60 с
<i>Cyclin E2</i>	F: 5'-AGGAATCAGCCCTTGCAATATC-3' R: 5'-CCCAGCTTAAATCTGGCAGAG-3' 200 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 94°C/30 с, 58°C/20 с и 72°C/20 с
<i>G-SCF</i>	F: 5'-CTCAACTTCTGCCAGAGG-3' R: 5'-AGCTGGCTTAGGCACTGTGT-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 56°C/30 с и 72°C/30 с
<i>TNFα</i>	F: 5'-CCAGGCAGTCAGATCATCTTC-3' R: 5'-TTGATGGCAGAGAGGAGGTT-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 55°C/30 с и 72°C/30 с
<i>IAP1</i>	F: 5'-TTCTGTAAGTGGCCACCTAGTGTTTC-3' R: 5'-CATCATTTGCGATCCACGTAATAG-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/2 мин, далее 40 циклов: 95°C/15 с, 60°C/30 с и 70°C/30 с
<i>IAP2</i>	F: 5'-ATGTCAGAGCACCAGAGGC ATT-3' R: 5'-AGAGACAGTGTATCTCGAAGCAGAT-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/2 мин, далее 40 циклов: 95°C/15 с, 60°C/30 с и 70°C/30 с
<i>IκBα</i>	F: 5'-CGCTTGGTGGACGATCG-3' R: 5'-TTGCTCGTACTCCTCGTCCCTTC-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 59°C/30 с и 72°C/30 с
<i>iNOS</i>	F: 5'-СТАТCAGGAAGAAATGCAGGAGAT-3' R: 5'-GAGCACGCTGAGTACCTCATT-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 61°C/30 с и 72°C/30 с
<i>NFκB (p50)</i>	F: 5'-GAAATTCCTGATCCAGACAAAAAC-3' R: 5'-ATCACTTCAATGGCCTCTGTGTAG-3' 600 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 60°C/30 с и 72°C/30 с

Таблица 1. Окончание

Параметр	Олигонуклеотидная последовательность праймеров и зондов и их концентрации	Условия ПЦР в реальном времени
<i>NFkB (p65)</i>	F: 5'-СТТССТСАГССАТГГТАССТСТ-3' R: 5'-СААГТСТТКАТСАГСАТСАААСТГ-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/2 мин, далее 45 циклов: 95°C/30 с, 60°C/60 с
PINT	F: 5'-ТСТТСТГГАТГАГГАГГАА-3' R: 5'-ССТГТСТСАГАТССССАТС-3' 200 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 56°C/45 с и 72°C/20 с
MALAT1	F: 5'- АГСГАТТГГТГАТГААГ-3' R: 5'-ТГССГАССТСААГГААТГТ ТАС-3' 300 нмоль/л	ПД: 94°C/10 мин, далее 45 циклов: 94°C/10 с, 60°C/45 с
DINO	F: 5'-ГСААТГГТГТГССТГАСТАТ-3' R: 5'-АСТТСТГГСТТСССАГАГ-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 94°C/15 с, 60°C/45 с
Incр21	F: 5'-ССТГТССАСТСГСТТТС-3' R: 5'-ГГААСТГГАГАСГГААТГТС-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 50°C/35 с
NEAT1	F: 5'-ГСТТСТГГГАССТТСТГАСТТСТ-3' R: 5'-СТГССТТГГСТТГГААТГТАА-3' 100 нмоль/л	ПД: 94°C/10 мин, далее 40 циклов: 94°C/10 с, 60°C/45 с
miR-21	F: 5'-ТГССГССТАГСТТАТСАГАСТГ-3' R: АГТГСАГГГТССГАГГ-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 40 циклов: 94°C/20 с, 57°C/45 с и 72°C/45 с
<i>GAPDH</i>	F: 5'-САТСААСАТСТТССАГГАГСГ-3' R: 5'-АСГГАСАСАТТГГГГГТАГГ-3' 100 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/20 с, 60°C/25 с

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние действия МДР на динамику роста опухолей у мышей, инокулированных карциномой Льюиса

На рис. 2 в динамике представлены усредненные результаты изменения объема инокулированной опухоли в группах необлученных и облученных 4-кратно в малой дозе мышей. Как видно из рис. 2, рост опухоли до 20-х суток в обеих группах происходит абсолютно одинаково, а затем начинается постепенное замедление роста в группе облученных мышей, переходящее после 28 сут на плато у обеих групп, но с выраженной тенденцией к снижению объема опухоли в группе мышей, облученных в малых дозах.

Чтобы охарактеризовать количественно различия в динамике роста опухоли в сравниваемых группах необлученных и облученных в малых дозах мышей, был проведен регрессионный анализ сравниваемых кривых. На рис. 3 представлены регрессионные кривые роста опухолей, их анали-

тические выражения и корреляционные оценки в интервале 13–28 сут после перевивки опухоли.

Из рис. 3 видно, что линейная регрессия значимо аппроксимирует представленные на графике усредненные оценки размеров опухоли для обеих групп мышей. Также видно, что наклон кривой 2 снижен по сравнению с кривой 1, что правомерно отнести на счет 4-кратного воздействия в МДР. Количественно тормозящее действие облучения в МДР можно оценить по отношению коэффициентов регрессий, отражающих скорость роста в относительных единицах (% увеличения за сутки объема опухоли от исходного измерения, принятого за 100). Таким образом, скорость роста в облученной группе составляет от аналогичного показателя в необлученной группе: $(314.9/410.7) \times 100 = 76.7\%$.

Учитывая, что облучение происходило в интервале 10–21 сут после трансплантации опухоли и фактическое торможение роста имело место после окончания курса облучения, регрессионный анализ динамики роста был дополнительно применен к периоду 20–28 сут (рис. 4).

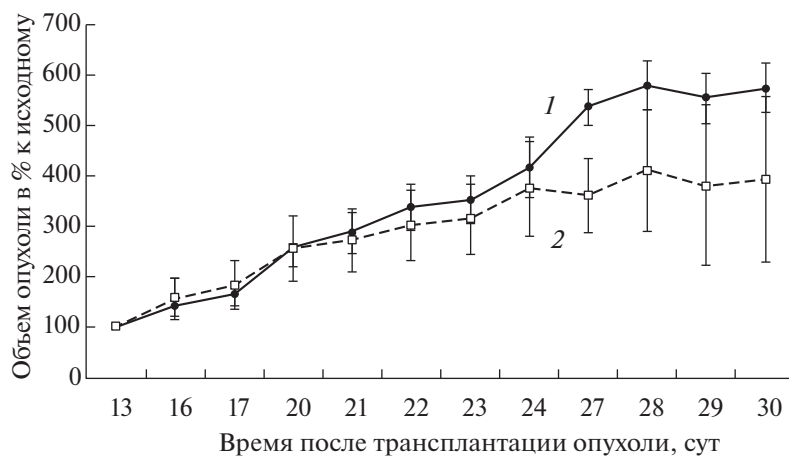


Рис. 2. Динамика роста карциномы Льюиса (% к исходному объему на 13-е сутки, когда измерение становится возможным) в группах необлученных (1) и облученных в МДР (2) мышей.

Fig. 2. The dynamics of the growth of Lewis carcinoma (% of the initial volume on 13th day after transplantation, when measurement becomes possible) in the groups of unirradiated (1) and irradiated with low doses (2) mice.



Рис. 3. Регрессионный анализ динамики роста опухоли в группах необлученных (1) и облученных (2) мышей.

Fig. 3. Regression analysis of the dynamics of tumor growth in the groups of unirradiated (1) and irradiated (2) mice.

На рис. 4 видно, что усредненные результаты измерений объема опухоли в обеих группах значимо аппроксимируются линейными зависимостями. Количественное соотношение роста опухоли в облученной группе мышей по отношению к необлученной группе составляет $(251.4/483.2) \times 100 = 52\%$.

В отношении показателя выживаемости мышей различий между группой “Опухоль” и груп-

пой “Опухоль + облучение” отмечено не было. Средняя продолжительность жизни в первом случае составила 30.6 сут после трансплантации опухолевых клеток, а во втором – 31.3 сут.

Полученный материал из-за небольшого количества животных не дает возможности констатировать увеличение продолжительности жизни. Однако в литературе имеется значительное число публикаций, на разных представителях животно-

Динамика роста опухоли в группах “Опухоль” (1)
и “Опухоль + облучение” (2)

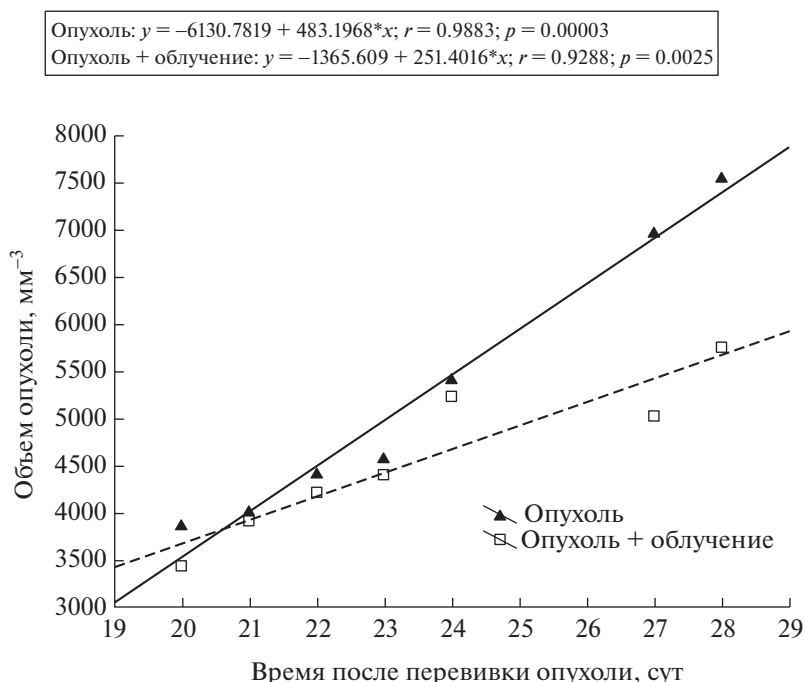


Рис. 4. Регрессионный анализ кривых роста опухоли в группах необлученных и облученных мышей (обозначения как на рис. 3) в интервале 21–28 сут после трансплантации опухолевых клеток.

Fig. 4. Regression analysis of tumor growth curves in groups of unirradiated and irradiated mice (notation as in Fig. 3) in the interval of 21–28 days after tumor cell transplantation.

го мира начиная от насекомых и заканчивая человеком, об увеличении этого показателя после применения МДР или при проживании людей в регионах с повышенным фоном радиации [12].

Динамика изменения активности генов и некодирующих РНК у мышей с трансплантированной карциномой Льюиса

Нами были исследованы две основные системы, имеющие первую линию защиты при повреждении клеток ионизирующим излучением — P53-система сохранения стабильности генома и NFκB-система воспалительного ответа. Были проанализированы изменения экспрессии генов, днРНК и микроРНК, вовлеченных в каскад реакций, запускаемых ионизирующим излучением.

После воздействия фракционированного облучения на мышей отмечалась значимая положительная корреляция между генами *P53* и *NFκB* и их мишенями. Замечено, что после двух облучений изменения активности генов еще не так выражены.

Воздействие ионизирующего излучения на клетку в зависимости от дозы можно рассматривать по-разному. Высокие дозы ионизирующего

излучения обладают противоопухолевым эффектом, ингибируя пролиферацию злокачественных клеток, индуцируя двухцепочечные разрывы ДНК. С другой стороны, действие МДР имеет защитный эффект и способно активировать иммунную систему организма, формируя адаптивный ответ [3, 13, 14].

На основании литературных данных исследуемые нами показатели можно разделить на две группы: гены и их регуляторы (некодирующие РНК), несущие функцию онкогенов (активирующих рост опухолей), к которым относятся гены *NFκB(p50)*, *NFκB(p65)*, *TNFα*, *G-CSF*, *Cyclin E2*, *IAP1*, *IAP2*, *IkBa*, *iNOS*, *TAL1*, *CTCF*, днРНК *MALAT1*, *NEAT1* и *miR-21*, а также онкосупрессоров (подавляющих рост опухоли), среди которых гены *P53*, *PTEN*, *p38α*, днРНК *PINT*, *DINO* и *lncp21*.

В данном исследовании была проанализирована активность онкогенов и онкосупрессоров в различных органах мышей в динамике на 14-й и 22-й день после трансплантации мышам опухолевых клеток.

Акцент был сделан на изменении экспрессии генов *P53* и *NFκB* после второго и четвертого облучений (табл. 2).

Таблица 2. Изменение экспрессии генов P53 и NFkB в органах мышей после двух и четырех облучений МДР
Table 2. Changes in the expression of P53 and NFkB genes in mice' organs after 2 and 4 exposures of low-doses radiation

Орган	Группа	Второе облучение		Четвертое облучение	
		<i>P53</i>	<i>NFkB</i>	<i>P53</i>	<i>NFkB</i>
Опухоль	Опухоль	—	—	—	—
	Опухоль + облучение	↓	↑	↑	↑
Костный мозг	Опухоль	↓	↓	↑*	↑*
	Опухоль + облучение	↓	↓	↑*	↑
Селезенка	Опухоль	↑	↑*	↑*	↓
	Опухоль + облучение	↑	↓	↑*	↓
Тимус	Опухоль	↑	↑	↓*	↑
	Опухоль + облучение	—	↓*	↑	↑

Примечание. (—) — нет изменений (медиана равна 1);

↑ — отмечается активация экспрессии;

↓ — отмечается подавление экспрессии;

* — статистически значимое изменение ($p < 0.05$).

В табл. 3 приведен анализ изменения активности онкогенов и онкосупрессоров в группе “Опухоль + облучение” по отношению к группе “Опухоль”, выраженных в долях медианы (принятой за единицу) в опухолевой ткани, костном мозге и тимусе мышей после четырех облучений (на 22-е сутки).

После этого нами были проанализированы процентные соотношения активированных онкогенов и онкосупрессоров в нормальных и опухолевых тканях.

На рис. 5 показано, что в опухолевых клетках количество активированных онкосупрессоров составляло 33.3% (активируется два из шести исследуемых онкосупрессоров), в то время как процент активированных онкогенов составляет 64.3% (девять из 14 показателей). В костном мозге отмечается активность 75% супрессоров (повышенная экспрессия генов *P53*, *PTEN* и днРНК *PINT* и *DINO*). Кроме того, в этой же группе активировался только онкоген (*TAL1*), что составляет 7% от числа исследуемых онкогенов. В тимусе была обнаружена инициация активности всех онкосупрессоров (100%) и лишь шести онкогенов (42%). Для селезенки характерна активация 50% онкосупрессоров и 21% онкогенов (рис. 5).

Особое внимание было уделено анализу экспрессии показателей в трансплантированных опухолях. Наиболее значимыми оказались изменения экспрессии онкогенов *CTCF* и днРНК *MALAT1*. Показано подавление активности гена *CTCF* и днРНК *MALAT1* в 4166 и 1.15 раза соответственно (рис. 6, а).

Однако в тимусе экспрессия днРНК *MALAT1* четко отличалась от экспрессии в костном мозге: повышалась в 3.04 раза в группе “Опухоль + облучение”, что говорит о чувствительности этого по-

казателя к действию МДР. В селезенке также отмечалось увеличение роста экспрессии днРНК *MALAT1* (в 1.19 раза) (рис. 7).

Было показано, что изменения экспрессии гена *CTCF* в нормальных органах коррелировали с изменениями в опухолях. В частности, подавление активности этого гена отмечается в селезенке и тимусе — в 1.45 и 25 раз соответственно ($p < 0.05$), в отличие от костного мозга, где его активность выросла в 1.11 раза по сравнению с “Биоконтролем” (рис. 7).

На рис. 8 продемонстрированы изменения экспрессии гена *P53* и днРНК *PINT* в различных органах. Аналогичные изменения с клетками опухоли отмечались и в костном мозге у гена *P53*, активность которого увеличивалась одинаково в группах “Опухоль + облучение” и “Опухоль” в 1.23 раза по сравнению с “Биоконтролем”. Однако для днРНК *PINT*, также являющейся онкосупрессором, не отмечалось соответствующих опухолей изменений.

В частности, экспрессия днРНК *PINT* изменялась противоположным образом — и уменьшалась в 1.56 раза в клетках костного мозга. Аналогичное ингибирование активности этой днРНК наблюдалось и в других органах иммунной защиты — селезенке и тимусе: в 1.27 и 1.92 раза соответственно. В ряде работ также показана роль днРНК *PINT* как супрессора опухолей [15, 16].

На рис. 7 и 8 отмечены выраженные изменения экспрессии ряда показателей в клетках селезенки и тимуса. В частности, статистически значимо отличалась активность онкосупрессоров гена *PTEN* и днРНК *DINO*, а также онкогенов *TAL1*, *Cyclin E2* и микроРНК *miR-21* в группах “Опухоль+облучение” и “Опухоль” по сравнению с “Биоконтролем”, хотя соответствующих

Таблица 3. Оценка относительного изменения активности онкогенов и онкосупрессоров в группе “Опухоль + облучение” по отношению к группе “Опухоль” в опухолевой ткани, костном мозге, тимусе и селезенке мышей после четырех облучений

Table 3. Evaluation of the relative changes in the activity of oncogenes and suppressors in the “Tumor + radiation” group in relation to the “Tumor” group in the tumor tissue, bone marrow, thymus and spleen of mice after 4 irradiations

Показатели	Орган			
	опухолевые клетки	костный мозг	тимус	селезенка
Онкогены				
<i>NFkB(p50)</i>	1.58	0.87	0.52	0.79
<i>NFkB(p65)</i>	1.19	0.81	1.0	0.90
<i>TNFa</i>	1.15	0.93	0.78	1.0
<i>G-CSF</i>	1.24	0.89	0.72	1.19
<i>Cyclin E2</i>	0.71	0.84	4.0*	1.3
<i>IAP1</i>	1.13	1.0	0.76	1.0
<i>IAP2</i>	1.32	0.98	1.43	0.79
<i>IkBa</i>	1.42	0.96	0.76	0.87
<i>iNOS</i>	1.94*	0.73	0.33	0.95
<i>TAL1</i>	1.0	1.18	1.37	1.15
<i>CTCF</i>	0.00024*	0.93	59.0*	0.87
MALAT1	0.87	0.87	2.92	1.07
NEAT1	1.09	0.93	0.84	0.87
miR-21	0.93	0.9	2.98*	0.69
Онкосупрессоры				
<i>P53</i>	1.68	1.23	1.61	0.9
<i>PTEN</i>	0.92	1.04	2.77	0.96
<i>p38α</i>	0.76	0.93	2.25	1.03
PINT	1.34	1.31	3.11*	1.0
DINO	0.93	1.19	2.97*	1.15
lncp21	0.84	0.96	3.03	1.19

* Статистически значимые изменения ($p < 0.05$) по критерию Манна–Уитни.

изменений не наблюдалось в опухолевых тканях. Это может быть связано с ответом клеток на облучение и активацию сигнальных путей при воздействии МДР, а также стимуляцией репарационных процессов.

На рис. 6, б показано, что в опухолевых тканях отмечалась только тенденция к снижению активности гена *PTEN* ($p < 0.1$), в то же время в селезенке (рис. 8) фиксируется статистически значимое подавление экспрессии гена *PTEN* в 1.37 раза в группе “Опухоль+облучение” ($p < 0.05$).

Интересно, что аналогичная динамика характерна для днРНК DINO: тогда как в опухоли (рис. 6, б) практически не отмечалось понижения экспрессии этой днРНК (изменение в 1.078 раза), в селезенке и тимусе наблюдалось значительное ингибирование ее активности – 1.37 и 2.13 раза ($p < 0.05$) (рис. 8). По данным [17], активность днРНК DINO в клетках при различных типах рака также подавляется.

Также показано ингибирование активности гена *CCNDE2* в селезенке и тимусе, которая ниже в 1.79 и 2.38 раза соответственно, в группе “Опухоль” по отношению к группе “Биоконтроль”, а также снижение активности этого гена в 4 раза в тимусе в группе “Опухоль” по сравнению с группой “Опухоль + облучение” (рис. 7).

Нами продемонстрировано, что онкоген *TAL1*, экспрессия которого, как можно было предполагать, должна возрастать, показал себя абсолютно противоположным образом (рис. 7). И в селезенке, и в тимусе в группах “Опухоль” его активность снижалась в 1.37 и 2.04 раза соответственно ($p < 0.05$).

Отмечено увеличение активности гена *NFkB(p50)* в клетках костного мозга и тимуса в 1.19 ($p < 0.05$) и 2.14 раза ($p > 0.05$), что подтверждает гипотезу о взаимодействии генов *TAL1* и *NFkB*. Кроме того, показана значительная роль микроРНК miR-21, активность которой значительно подавлена в се-

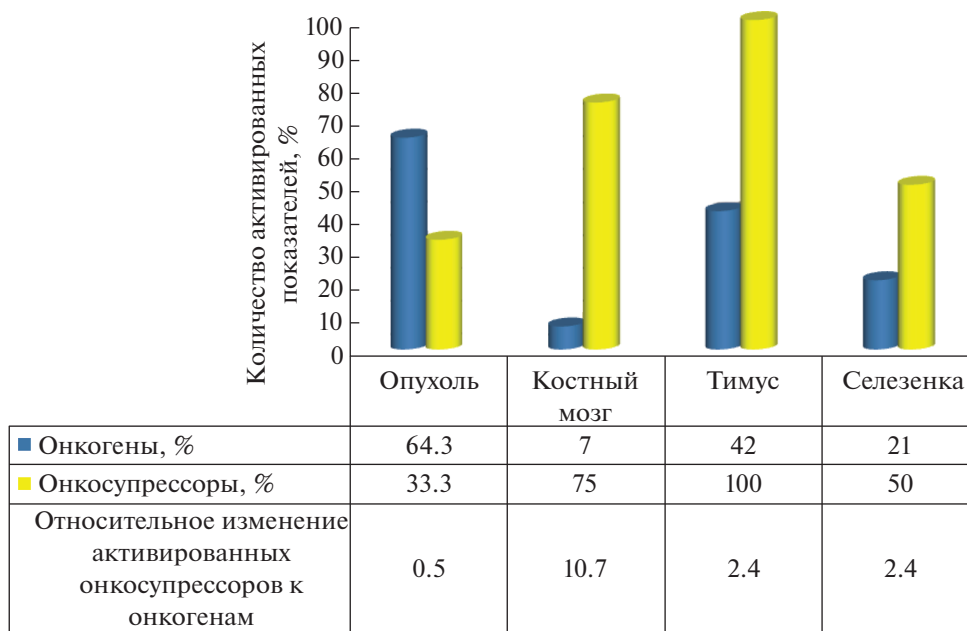


Рис. 5. Процент активированных онкогенов и онкосупрессоров в различных органах мышей в ответ на действие МДР.
Fig. 5. The percentage of activated oncogenes and suppressors in various organs of mice in response to low-doses radiation.

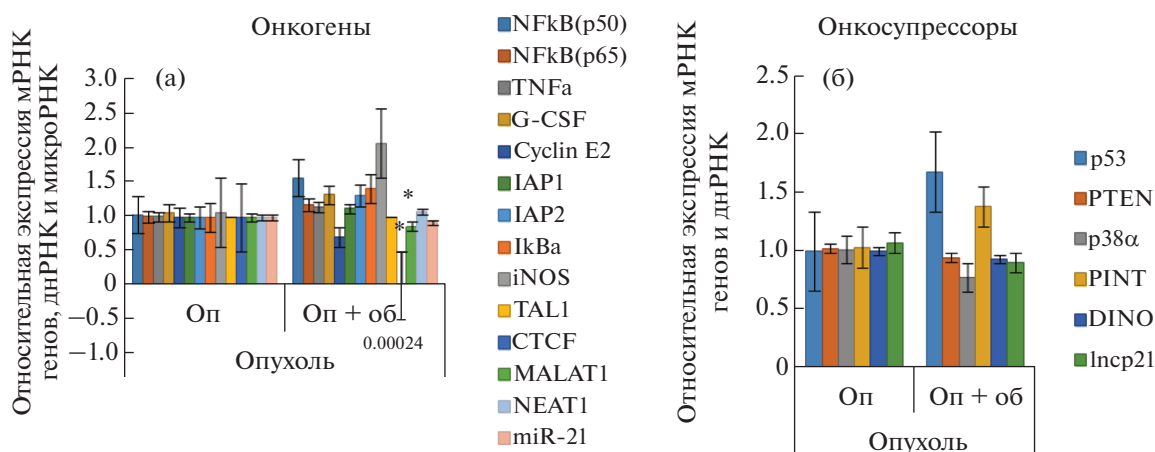


Рис. 6. Относительная активность онкогенов и онкосупрессоров в опухолевых тканях инокулированных мышей после четырех фракционированных облучений.
 * Статистически значимые изменения ($p < 0.05$) по критерию Манна–Уитни. Медиана группы “опухолей” принята за единицу.
Fig. 6. Comparative activity of oncogenes and suppressors in mice’ tumor tissues after 4 fractionated irradiations.
 * Statistically significant statistical changes ($p < 0.05$) according to the Mann–Whitney U -test, the median of the group of “tumors” is taken as one.

лезенке и тимусе в 1.37 (группа “Опухоль + облучение”) и 2.13 раза (группа “Опухоль”) соответственно (рис. 7).

ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения активности генов и некодирующих РНК в разных органах мышей при действии облучения связано с различиями в их чувстви-

тельности к этому воздействию [18]. Действие МДР контролирует и активирует иммунную систему, индуцированную, в том числе, оксидативным стрессом в периферических органах, каждый из которых имеет свой специфический ответ и может служить в ряде случаев биологическим маркером. В ответе иммунной системы на воздействие МДР особую роль играют клетки костного мозга, в которых отмечались повышение ге-

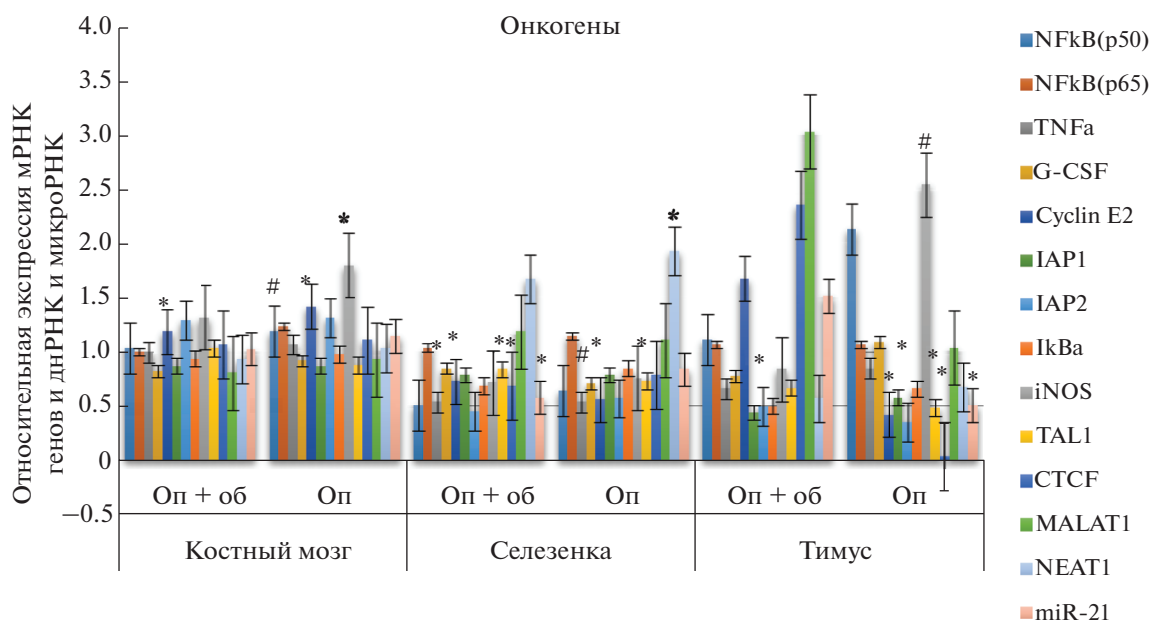


Рис. 7. Относительная активность онкогенов в костном мозге, селезенке и тимусе в группах “Опухоль + облучение” и “опухоль” инокулированных мышей после четырех фракционированных облучений.

* Статистически значимые изменения ($p < 0.05$) по критерию Манна–Уитни;

статистически значимые изменения ($p < 0.1$) по критерию Манна–Уитни.

Относительная экспрессия в группах “Опухоль + облучение” и “опухоль” соотносится к медиане группы “биоконтроль”, принятой за единицу.

Fig. 7. Comparative activity of oncogenes in bone marrow, spleen, and thymus in the “Tumor + irradiation” and “tumor” groups of mice after 4 fractionated irradiations.

* Statistically significant statistical changes ($p < 0.05$) according to the Mann–Whitney U -test;

statistically significant changes ($p < 0.1$) according to the Mann–Whitney U -test.

The relative expression in the “Tumor + radiation” and “tumor” groups corresponds to the median of the “Control” group, taken as one.

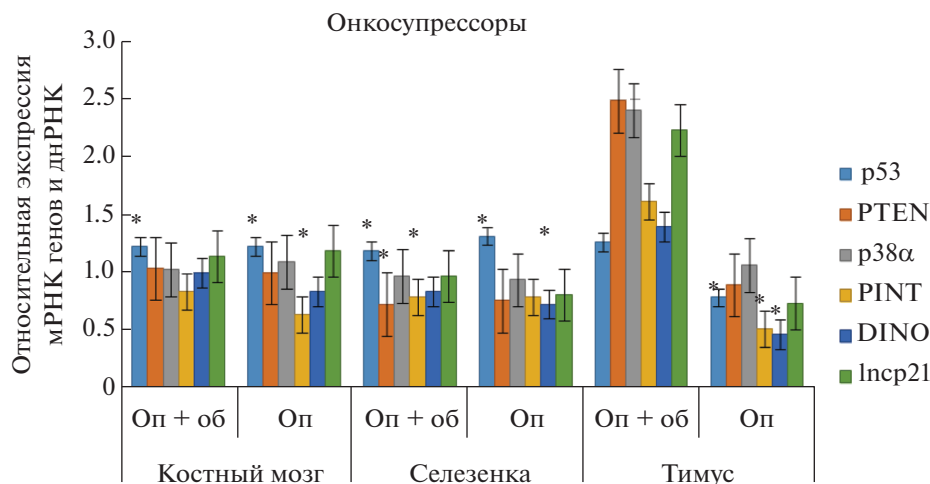


Рис. 8. Относительная активность онкосупрессоров в костном мозге, селезенке и тимусе в группах “Опухоль+облучение” и “опухоль” инокулированных мышей после четырех фракционированных облучений.

* Статистически значимые изменения ($p < 0.05$) по критерию Манна–Уитни.

Относительная экспрессия в группах “Опухоль + облучение” и “опухоль” соотносится к медиане группы “биоконтроль”, принятой за единицу.

Fig. 8. Comparative activity of suppressors in the bone marrow, spleen, and thymus in the “Tumor + irradiation” and “tumor” groups of mice after 4 fractionated irradiations.

* Statistically significant statistical changes ($p < 0.05$) according to the Mann–Whitney U -test.

The relative expression in the “Tumor + radiation” and “tumor” groups corresponds to the median of the “Control” group, taken as one.

матопоэза, увеличение секреции различных цитокинов [19]. Действие МДР активировало Т-клетки, повышая продукцию $IFN\gamma$ [20]. Тем временем в В-клетках индуцировалась экспрессия микроРНК (*let-7a*, *miR-15b*, *miR-16*, *miR-21*, *miR-23b*), связанных с липидным ферментом глицерол-3-фосфат ацилтрансферазой [21]. Наиболее высокой чувствительностью к действию ионизирующего излучения в малой дозе отличались клетки селезенки по сравнению, например, с костным мозгом, печенью, легкими и тестикулами [18, 19].

В табл. 3 показано, что экспрессия генов менялась неодинаково. После фракционированного облучения в дозе 150 мГр (два облучения) в опухолях, костном мозге и крови происходило подавление активности гена *P53*. В то же время в селезенке и тимусе система *P53* стабильности генома активировалась. Это указывает на то, что в клетках разных органов мышей ответ на 2-кратное облучение в МДР был неодинаковым. После фракционированного облучения в дозе 300 мГр (четыре облучения), экспрессия гена *P53* активировалась, что сопровождалось уменьшением роста опухоли.

Что касается другой исследованной системы, можно отметить, что в ответ на облучение в дозе 150 мГр наблюдается активация гена *NFkB* в опухоли (табл. 3).

Установлено, что под воздействием МДР в нормальных лимфоцитах активировалась система *P53* поддержания стабильности генома и ингибировалась система *NFkB*. С другой стороны, в опухолевых клетках линии *Jurkat* не отмечалось активации *P53*-системы, в то время как *NFkB*-система инициировалась [14].

Из табл. 3 видна тенденция к подавлению *P53* и активации *NFkB* систем после второго облучения в опухолевой ткани. В нормальной ткани (селезенке) отмечалась противоположная корреляция (увеличение экспрессии *P53* и подавление *NFkB*). На 22-е сутки после трансплантации опухолевых клеток в опухолевой ткани отмечались эффект активации защитной системы (*P53*) и подавление системы с противоположным ей эффектом (*NFkB*). Эти результаты положительно коррелируют с полученными нами ранее данными.

Таким образом, полученные данные о разнонаправленности экспрессии онкогенов и онкосупрессоров подтверждают наши предыдущие исследования, проведенные на нормальных лимфоцитах и Т-лимфобластных клеточных линиях, в которых показаны формирование адаптивного ответа в нормальных клетках и его отсутствие в злокачественных [3, 14]. Из диаграммы на рис. 5 видно, что адаптивный ответ не формировался в опухолевых клетках, это коррелировало с соотношением активированных супрессоров к онкогенам (0.51). Процентное соотношение активирован-

ных супрессоров к онкогенам в костном мозге и тимусе, составляющие 10.7 и 2.4 соответственно.

Известен ряд онкосупрессоров, среди которых наиболее изученными и важными являются гены *P53* и *PTEN*. Они выступают основными факторами в функционировании многих клеточных сигнальных путей и объединяются для содействия устранения аномальных клеток, образующихся в ответ на стрессовые воздействия, в частности на ионизирующее излучение, являясь основным механизмом клеточного гомеостаза.

Ответом на клеточные стрессы и индуцированные повреждения ДНК является повышение уровня экспрессии гена *P53*, что приводит к процессам остановки клеточного цикла, репликации и репарации ДНК или апоптозу. Таким образом, можно полагать, что *P53* имеет решающее значение в ингибировании деления злокачественных раковых клеток [22].

Известно, что различные микроРНК могут регулировать *NFkB* патологический путь. Так, например, *miR-21* и *miR-26b* усиливают экспрессию гена *NFkB* за счет подавления активности *PTEN* по механизму положительной обратной связи [23].

В работе по изучению воздействия *miR-21* на потенциальные мишени был обнаружен сайт связывания на гене *PTEN*, что свидетельствует о том, что последний является мишенью микроРНК *miR-21* [24]. Клеточная пролиферация может активироваться за счет активации мишеней *miR-21*, что может способствовать клеточной пролиферации, инвазии, развитию метастазов и ингибированию процессов апоптоза [25].

Таким образом, воздействие МДР оказывало выраженное влияние на рост опухоли, активность генов и некодирующих РНК в различных органах и тканях мышей, инокулированных опухолевыми клетками. Динамика опухолеобразования при действии МДР у мышей была различной, при этом уменьшение размеров опухолей при МДР коррелировало с изменением соотношения онкогенов и онкосупрессоров. Оказалось, что в опухоли большинство исследованных онкогенов активировались чаще, чем представители онкосупрессоров, а именно девять из 14 для первой группы и (*NFkB(p50)*, *NFkB(p65)*, *TNF α* , *G-CSF*, *IAP1*, *IAP2*, *IkBa*, *iNOS*, *NEAT1*) и два из шести — для второй (*P53*, *PINT*), так что соотношение активируемых продуктов онкогенов и онкосупрессоров составило 0.51. Аналогичный подход к ответу на воздействие радиации здоровых тканей облученного в малой дозе организма дал, напротив, преимущественную активизацию онкосупрессоров по отношению к онкогенам (10.7; 2.4 и 2.4 соответственно для костного мозга, тимуса и селезенки).

Механизм действия МДР связывают с рядом событий, которые индуцируются этим воздей-

ствием: активацией иммуногенеза, повышением экспрессии цитокиновых рецепторов, факторов роста в моноцитах крови, продукцией антиоксидантов, изменением активности макрофагов и т.д. [18, 26–28]. Следовательно, на основании литературных и собственных данных можно предположить перспективность использования биомаркеров при действии МДР в процессе опухолеобразования, имея в виду активность онкогенов и онкосупрессоров. Применение воздействия фракционированного облучения на все тело в малой дозе выявило выраженную тенденцию к уменьшению размеров опухоли. Эти данные могут быть использованы как подход к терапии опухолей, когда уменьшенный объем опухоли может быть показателем для использования меньших доз при радиотерапии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена на базе ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна при финансовой поддержке программы развития ядерной медицины “АО Наука и инновация” ГК Росатом и по теме Института общей генетики им Н.И. Вавилова РАН (госзадание № 0112-2019-0002).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kim J.M., Kim H.G., Son Ch.G.* Tissue-Specific Profiling of Oxidative Stress-Associated Transcriptome in a Healthy Mouse Model // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. № 10. P. 3174–3182. <https://doi.org/10.3390/ijms19103174>
2. *Nemec-Bakk A.S., Niccoli S., Davidson C., et al.* Lasting Effects of Low to Non-Lethal Radiation Exposure during Late Gestation on Offspring’s Cardiac Metabolism and Oxidative Stress // *Antioxidants (Basel)*. 2021. V. 10. № 5. P. 816.
3. *Михайлов В.Ф., Засухина Г.Д.* Новый подход к стимуляции защитных систем организма малыми дозами радиации // *Успехи совр. биологии*. 2020. Т. 140. № 3. С. 244–252. [*Mikhailov V.F., Zasukhina G.D.* Novyi podkhod k stimulyatsii zashchitnykh sistem organizma malymi dozami radiatsii // *Uspekhi sovremennoi biologii*. 2020. V. 140. № 3. P. 244–252. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31857/S0042132420030060>
4. *Kojima S., Tsukimoto M., Shimura N. et al.* Treatment of Cancer and Inflammation With Low-Dose Ionizing Radiation: Three Case Reports // *Dose Response*. 2017. V. 15. № 1. P. 1559325817697531. <https://doi.org/10.1177/1559325817697531>
5. *Large M., Hehlhans S., Reichert S. et al.* Study of the anti-inflammatory effects of low-dose radiation: The contribution of biphasic regulation of the antioxidative system in endothelial cells // *Strahlenther Onkol*. 2015. V. 191. № 9. P. 742–749. <https://doi.org/10.1007/s00066-015-0848-9>
6. *Chen Y., Cui J., Gong Y. et al.* MicroRNA: a novel implication for damage and protection against ionizing radiation // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2021. V. 28. № 13. P. 15584–15596. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12509-5>
7. *Chong Z.X., Yeap S.K., Ho W.Y.* Role of miRNAs in regulating responses to radiotherapy in human breast cancer // *Int. J. Radiat. Biol.* 2021. V. 97. № 3. P. 289–301. <https://doi.org/10.1080/09553002.2021.1864048>
8. *Tang L., Matsushita H., Jingu K.* Controversial issues in radiotherapy after breast-conserving surgery for early breast cancer in older patients: a systematic review // *J. Radiat. Res.* 2018. V. 59. № 6. P. 789–793. <https://doi.org/10.1093/jrr/rry071>
9. *Yang B., Kuai F., Chen Z. et al.* miR-634 decreases the radioresistance of human breast cancer cells by targeting STAT3 // *Cancer Biother. Radiopharm.* 2020. V. 35. № 3. P. 241–248. <https://doi.org/10.1089/cbr.2019.3220>
10. *Livak K., Schmittgen T.* Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} Method // *Methods*. 2001. V. 25. № 4. P. 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
11. STATISTICA 7.0, 2017.
12. *Calabrese E.J.* Low doses of radiation can enhance insect lifespans // *Biogerontol.* 2013. V. 14. № 4. P. 365–381. <https://doi.org/10.1007/s10522-013-9436-5>
13. *Hong J., Han K., Jung J., Kim J.* Association of Exposure to Diagnostic Low-Dose Ionizing Radiation With Risk of Cancer Among Youths in South Korea // *JAMA Netw. Open*. 2019. V. 2. № 9. P. e1910584. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.10584>
14. *Михайлов В.Ф., Шуленина Л.В., Раева Н.Ф. и др.* Влияние малых доз ионизирующей радиации на экспрессию генов и некодирующих РНК в нормальных и злокачественных клетках человека // *Цитология*. 2019. Т. 61. № 6. С. 427–438. [*Mikhailov V.F., Shulenina L.V., Raeva N.F. et al.* The effect of low doses of ionizing radiation on the expression of genes and non-coding RNA in normal and malignant human cells // *Cell and Tissue Biology*. 2019. V. 13. № 6. P. 423–433.] <https://doi.org/10.1134/S0041377119060051>
15. *Marin-Bejar O., Marchese F.P., Athie A. et al.* Pint lincRNA connects the p53 pathway with epigenetic silencing by the Polycomb repressive complex 2 // *Genome Biol.* 2013. V. 14. № 9. P. R104. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-9-r104>
16. *Feng H., Zhang J., Shi Y.* Long noncoding RNA LINC-PINT is inhibited in gastric cancer and predicts poor survival // *Cell Biochem.* 2019. V. 120. № 6. P. 9594–9600. <https://doi.org/10.1002/jcb.28236>
17. *Schmitt A.M., Garcia J.T., Hung T. et al.* An inducible long noncoding RNA amplifies DNA damage signaling // *Nat. Genet.* 2016. V. 48. № 11. P. 1370–1376. <https://doi.org/10.1038/ng.3673>

18. *Shin E., Lee S., Kang H. et al.* Organ-Specific Effects of Low Dose Radiation Exposure: A Comprehensive Review // *Front. Genet.* 2020. V. 11. P. 566244. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.566244>
19. *Song K.-H., Kim M.-H., Kang S.-M. et al.* Analysis of immune cell populations and cytokine profiles in murine splenocytes exposed to whole-body low-dose irradiation // *Int. J. Radiat. Biol.* 2015. V. 91. №10. P. 795–803. <https://doi.org/10.3109/09553002.2015.1068461>
20. *Chen Y., Wang Ch., He M. et al.* Effect of low dose heavy ion irradiation on subset percentage and cytokines expression of peripheral blood lymphocytes in patients with pancreatic cancer // *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2014. V. 36. № 6. P. 435–439. [Article in Chinese] <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2014.06.007>
21. *Tabe Y., Hatanaka Y., Nakashiro M. et al.* Integrative genomic and proteomic analyses identifies glycerol-3-phosphate acyltransferase as a target of low-dose ionizing radiation in EBV infected-B cells // *Int. J. Radiat. Biol.* 2016. V. 92. № 1. P. 24–34. <https://doi.org/10.3109/09553002.2015.1106021>
22. *Sun Y., Binh N., Lori A., et al.* Functional Analysis of the p53 Pathway in Response to Ionizing Radiation in Uveal Melanoma // *Investig. Ophthalmol. & Visual Sci.* 2005. V. 46. № 5. P. 1561–1564. <https://doi.org/10.1167/iovs.04-1362>
23. *Zhang L., Huang C.* MicroRNA-26b Modulates the NF- κ B Pathway in Alveolar Macrophages by Regulating PTEN // *J. Immunol.* 2015. V. 195. № 11. P. 5404–5414. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402933>
24. *Liu H.-Y., Zhang Y.-Y., Zhu B.-L. et al.* miR-21 regulates the proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells through PTEN/PI3K/AKT // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019. V. 23. № 10. P. 4149–4155. https://doi.org/10.26355/eurev_201905_17917
25. *Bautista D., Arriaga C., Pedroza-Torres A. et al.* The Promising Role of miR-21 as a Cancer Biomarker and Its Importance in RNA-Based Therapeutics // *Mol. Ther. Nucleic Acids.* 2020. V. 20. P. 409–420. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.03.003>
26. *Prakash H., Klug F., Nadella V. et al.* Low doses of gamma irradiation potentially modifies immunosuppressive tumor microenvironment by retuning tumor-associated macrophages: lesson from insulinoma // *Carcinogenesis.* 2016. V. 37. № 3. P. 301–313. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgw007>
27. *Pavlopoulou A., Bagos P.G., Koutsandrea V., Georgakilas A. G.* Molecular determinants of radiosensitivity in normal and tumor tissue: A bioinformatic approach // *Cancer Lett.* 2017. V. 403. P. 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.05.023>
28. *Guo T., Zou L., Ni J. et al.* Radiotherapy for unresectable locally advanced non-small cell lung cancer: a narrative review of the current landscape and future prospects in the era of immunotherapy // *Transl. Lung. Cancer Res.* 2020. V. 9. № 5. P. 2097–2112. <https://doi.org/10.21037/tlcr-20-511>

The Connection Between the Growth Dynamics of Transplanted Lewis Carcinoma in Mice and Changes in the Activity of Genes and Non-Coding RNAs after Low-Dose Irradiation

**V. F. Mikhailov^a, D. V. Saleeva^{a, #}, L. V. Shulenina^a, N. F. Raeva^a,
L. M. Rozhdestvensky^a, and G. D. Zasukhina^{a, b}**

^aState Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

^bThe Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

[#]E-mail: dasha_saleeva@inbox.ru

The effect of low-dose radiation was studied on the growth dynamics of transfused Lewis carcinoma cells in female C57Bl/6 mice. Four-fold total fractionated irradiation was performed at a dose of 75 mGy (at a dose rate 0.154 Gy/min and a voltage of 200 kV), starting from 10 days after transplantation with a four-day interval. On 14 and 22 days, a group of mice was euthanized to study the expression levels of genes and non-coding RNAs (microRNAs and long non-coding RNAs) in tumor cells, as well as in normal tissues (bone marrow, liver, spleen). Total RNA was obtained and complementary DNA was synthesized according to the manufacturer's protocol. After that, a real-time PCR reaction was performed using a SYBR Green I dye (Thermo Scientific, USA) or a TaqMan probe and specific primers. Genes and non-coding RNAs were divided into groups oncogenes and oncosuppressors according to scientific researches. In the group of irradiated mice, a decrease in the tumor growth rate was observed, mainly from the 20th day, accompanied by a change in the activity of the studied genes. The ratio of oncosuppressors' activity to oncogenes was calculated for the obtained tissues. These fractions were 0.5 for the tumor, 10.7 for the bone marrow, and 2.4 for the spleen and thymus. Thus, it can be stated that in the tumor there was a particularly pronounced activation of oncogenes compared to the activity of oncosuppressors, while the opposite effect was observed in normal tissues.

Keywords: low-dose radiation, Lewis lung carcinoma, genes, non-coding RNA, oncogenes, oncosuppressors, P53, NF κ B