

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МИКРОРНК miR-194 И miR-203 ДЛЯ ПРЕДСКАЗАНИЯ РАЗВИТИЯ ОСТРОЙ "РЕАКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА" У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННОГО КОСТНОГО МОЗГА

Столяр М.А.¹, Бигильдеев А.Е.², Кузьмина Л.А.², Паровичникова Е.Н.², Савченко В.Г.²

¹Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, 660036, г. Красноярск;

²ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, 125167, г. Москва

Резюме. В настоящее время острая реакция трансплантат против хозяина (ОРТПХ) является одним из главных осложнений трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) при лечении больных гематологическими заболеваниями. К сожалению, в настоящее время не существует эффективных биомаркеров, позволяющих своевременно предсказать развитие тяжелой ОРТПХ и скорректировать поддерживающую терапию. Даже при наличии идентичного по HLA-антигенам родственного донора ОРТПХ развивается у 20% больных. Предпринимаются попытки использовать изменение содержания циркулирующих микроРНК в периферической крови пациентов в качестве прогностического фактора развития ОРТПХ. Цель работы – установление прогностической значимости циркулирующих микроРНК miR-194 и miR-203 для предсказания развития ОРТПХ у больных после алло-ТГСК. В исследование вошли 10 здоровых доноров и 14 больных различными видами гематологических заболеваний, прошедшие алло-ТГСК. Образцы сыворотки крови были отобраны перед проведением алло-ТГСК и через 30-60 дней после алло-ТГСК. МикроРНК выделяли из сыворотки крови с помощью miRvana RNA Isolation Kit (Life Technologies). Обратную транскрипцию проводили с использованием праймеров, комплементарных miR-194 и miR-203. Последующую детекцию проводили с помощью ПЦР в режиме реального времени. В результате работы установлено, что содержание miR-203 у больных после алло-ТГСК, у которых не развилась ОРТПХ, увеличено по сравнению с больными на фоне ОРТПХ и со здоровыми лицами. Однако ни до, ни после алло-ТГСК не было обнаружено отличий в содержании miR-194 и miR-203 между больными, у которых не развилась ОРТПХ, и больными, у которых впоследствии развилась ОРТПХ. Следовательно, содержание miR-194 и miR-203 в сыворотке крови не является фактором прогноза развития ОРТПХ после алло-ТГСК.

Ключевые слова: микроРНК; miR-194; miR-203; острая реакция "трансплантат против хозяина"; ОРТПХ; биомаркер ОРТПХ; циркулирующая микро РНК; прогностический фактор ОРТПХ.

Для цитирования: *Гематология и трансфузиология*. 2015; 60 (2): 10-15.

PROGNOSTIC VALUE OF CIRCULATING microRNAs miR-194 AND miR-203 FOR PREDICTION OF GRAFT-VERSUS-HOST REACTION IN PATIENTS AFTER ALLOGENEIC BONE MARROW TRANSPLANTATION

Stolyar M.A.¹, Bigildeev A.E.², Kuzmina L.A.², Parovichnikova E.N.², Savchenko V.G.²

¹Krasnoyarsk Affiliated Department, Hematological Research Center, 660036, Krasnoyarsk, Russia; ²Hematological Research Center, 125167, Moscow, Russia

Summary. Acute graft-versus-host reaction (aGVHR) is one of the major complications of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) in hematological patients. Unfortunately, there are no effective biomarkers for timely prediction of severe aGVHR and correction of the maintenance therapy. Even with HLA-identical related donor, aGVHR develops in 20% of patients. The probability of using changes in the level of circulating microRNAs in the peripheral blood of patients as markers for aGVHR prediction is now studied. We study the prognostic value of circulating microRNAs miR-194 and miR-203 for the prediction of aGVHR in patients after allo-HSCT. The study was carried out in 10 donors and 14 hematological patients who received allo-HSCT. Serum samples were collected before and 30-60 days after allo-HSCT. MicroRNAs were isolated from the sera using miRvana RNA Isolation Kit (Life Technologies). Reverse transcription was performed with primers complementary to miR-194 and miR-203. Subsequent detection was performed by RT-qPCR. Serum concentrations of miR-203 were higher after allo-HSCT in patients without aGVHR than in those with aGVHR and donors. However, serum concentrations of miR-194 and miR-203 before and after allo-HSCT were virtually the same in patients who did not develop aGVHR and in those with aGVHR. Hence, serum concentrations of miR-194 and miR-203 cannot serve as markers for predicting the development of aGVHR after allo-HSCT.

Key words: microRNA; miR-194; miR-203; acute graft-versus-host reaction; aGVHR; aGVHR biomarker; circulating microRNA; aGVHR prognostic factor.

Citation: *Gematologiya i transfuziologiya*. 2015; 60 (2): 10-15. (in Russ)

Для корреспонденции:

Бигильдеев Алексей Евгеньевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории Физиологии кроветворения ФГБУ Гематологического научного центра Минздрава России

Адрес: 125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4.

Телефон: +79104322870

Email: bigildeev.ae@gmail.com

Corresponding author:

Bigildeev Alexey, PhD, (bigildeev.ae@gmail.com).

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является эффективным способом лечения многих заболеваний системы крови [1]. Однако развивающаяся впоследствии острая реакция "трансплантат против хозяина" (ОРТПХ) по-прежнему остается одним из серьезных осложнений. Наряду с неприживлением трансплантата и рецидивом основного заболевания ОРТПХ является ведущей причиной гибели больных после аллогенной ТГСК (алло-ТГСК) [2]. Ввиду этого успешная профилактика и лечение ОРТПХ по своей значимости выходят на одно из первых мест. На сегодняшний день не существует эффективных биомаркеров для прогнозирования, мониторинга развития и терапии ОРТПХ. Даже при наличии донора костного мозга, идентичного по основным HLA-антигенам, у 30% больных после трансплантации развивается ОРТПХ, у 20 – 40% – хроническая РТПХ [3]. Развитие РТПХ у больных в случае полного совпадения донора и реципиента по HLA-антигенам может быть связано как с тем, что HLA-типирование проводят только по нескольким главным генам, так и с наличием других факторов предрасположенности к возникновению РТПХ, не связанных напрямую с HLA-антигенами. В исследованиях [4, 5] последних лет показана связь микроРНК с развитием многих заболеваний. Известно, что микроРНК циркулируют в периферической крови в виде стабильных внеклеточных молекул и представляют собой последовательности РНК длиной 1925 нуклеотидов, основная функция которых – регуляция экспрессии генов в клетках. Доказана роль микроРНК в развитии иммунных реакций, в частности, в исследованиях L. Xie и соавт. [6] показано увеличение концентрации miR-155 в сыворотке крови больных после диагностики ОРТПХ. В исследовании C. Carniti и соавт. [7] было показано увеличение miR-194, miR-203, miR-367 через неделю после алло-ТГСК в сыворотке больных, у которых впоследствии развилась ОРТПХ. В настоящее время предпринимаются попытки разработать прогностические панели циркулирующих микроРНК для предсказания развития ОРТПХ. Некоторыми исследователями [8, 9] предложены различные микроРНК-кандидаты на роль биомаркеров ОРТПХ. Однако на сегодняшний день не существует единого мнения о наиболее информативных микроРНК для прогнозирования ОРТПХ.

Цель работы – изучение возможного значения микроРНК miR-194 и miR-203 в сыворотке крови больных после алло-ТГСК в качестве прогностического фактора развития ОРТПХ.

Таблица 1

Характеристики обследованных больных

Характеристика группы	Контрольная группа (n = 10)	Больные		
		без ОРТПХ (n = 5)	до диагностики ОРТПХ (n = 3)	после диагностики ОРТПХ (n = 10)
Медиана возраста, годы	33	29	37	39
Пол:				
м.	8	5	3	4
ж.	2	0	0	2
Диагноз:				
ОЛЛ		3	1	2
ОМЛ		2	1	
ОММЛ		0	1	1
ОПЛ				1
ХМЛ				1
МДС				1
Степень тяжести ОРТПХ:				
II			2	4
III			1	2

Примечание. ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз, ОМЛ – острый миелобластный лейкоз, ОММЛ – острый миеломоноцитарный лейкоз, ОПЛ – острый промиелоцитарный лейкоз, ХМЛ – хронический миелолейкоз, МДС – миелодиспластический синдром.

Материалы и методы

В исследование включены 14 больных, перенесших ТГСК в ФГБУ Гематологический научный центр (ГНЦ) Минздрава России (Москва) в период с 2011 по 2013 гг. и подписавших информированное согласие на участие в исследовании. Первый образец периферической крови всех обследованных пациентов был получен до проведения алло-ТГСК. Второй образец крови получали через 30–60 дней после алло-ТГСК: у 3 больных кровь забирали до постановки диагноза ОРТПХ (группа «до ОРТПХ»), у 6 больных – после развития ОРТПХ (группа «после диагностики ОРТПХ»), а также у 5 пациентов, у которых не была диагностирована ОРТПХ (группа «без ОРТПХ»). Группу контроля составили 10 здоровых лиц (доноров). Характеристики обследованных групп представлены в табл. 1.

Образцы периферической крови инкубировали 30 мин при комнатной температуре до образования сгустка. Затем образцы центрифугировали в течение 10 мин при 2000 g для получения сыворотки, затем 5 мин при 12 000 g для удаления клеточного дебриса.

Тотальную РНК выделяли из 390 мкл сыворотки с помощью набора реагентов mirVana miRNA Isolation Kit ("Life Technologies") согласно инструкциям производителя. Для нормализации результатов использовали синтетическую микроРНК *Caenorhabditis elegans* (cel-miR-39). Во

Таблица 2

Последовательность нуклеотидов анализируемых микроРНК

Последовательность нуклеотидов	Аббревиатура
UCACCGGGUGUAAAUCAGCUUG	Cel-miR-39
CUGCGCAAGGAUGACACGCAAAUUCGUGAAGCGUCCAUUUUUU	RNU6B
UGUAACAGCAACUCCAUGUGGA	Hsa-miR-194
GUGAAAUGUUUAGGACCACUAG	Hsa-miR-203

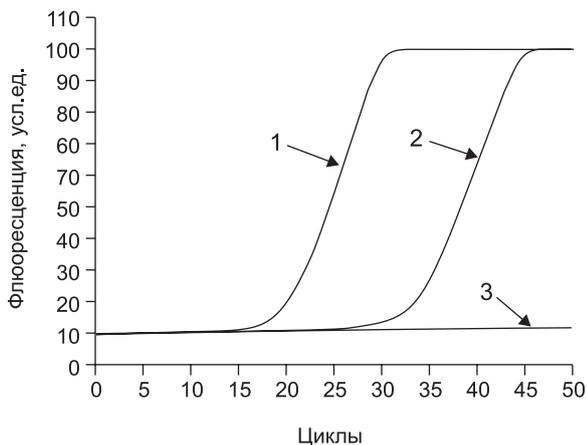


Рис. 1. Накопление флуоресцентного сигнала в ходе ПЦР с праймерами, специфичными к cel-miR-39. Для ПЦР использовали кДНК, полученную из РНК сыворотки донора: 1 – с добавлением ингибитора РНКаз; 2 – без добавления ингибитора РНКаз; 3 – отрицательный контроль ПЦР.

все образцы сыворотки перед выделением РНК и после внесения ингибитора РНКаз RNAsin (“Promega”) добавляли 10 мкл cel-miR-39 (“Life Technologies”) до конечной концентрации 0,05 фмоль/мкл. РНК элюировали с помощью 50 мкл предварительно нагретой воды, обработанной диэтилпирикарбонатом (“Sigma”).

Обратную транскрипцию исследуемых микроРНК проводили с помощью набора TaqMan® MicroRNA Reverse Transcription Kit (“Applied Biosystems”) и раствора, содержащего соответствующий специфический к каждой микро РНК праймер TaqMan® MicroRNA Assay (“Life Technologies”). Последовательности исследуемых микроРНК и микроРНК, использованных для нормализации результатов, представлены в табл. 2. Кроме нормализации результатов с помощью внешней cel-miR-39, была предпринята попытка нормализовать полученные данные по малой ядерной РНК RNU6B.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в режиме реального времени проводили на приборе RotorGene 6000 (“Corbett”) с помощью наборов TaqMan® MicroRNA Assays (“Life Technologies”), содержащих специфические зонды и праймеры к каждой исследуемой микроРНК. ПЦР проводили в следующих условиях: первичная денатурация кДНК при температуре 95°C в течение 10 мин, 50 циклов амплификации при температуре 95°C в течение 15 с, при 60°C в течение 60 с. Относительное содержание miR-194 и miR-203 в образцах вычисляли по методу $\Delta\Delta C_t$ [10]. В качестве образца сравнения использовали РНК, выделенную из смеси сывороток 8 здоровых лиц.

Для проведения статистической обработки использовали пакет прикладных программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel 2010. Значимость различий вариационных рядов в независимых выборках оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, для зависимых выборок использовали критерий Вилкоксона. Описательная статистика представлена в виде графиков, на которых указаны значения медианы (*Me*). Различия оценивали как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты

Контрольная группа (доноры) и группы больных не отличались друг от друга по возрасту и были схожи по половому составу (преобладали образцы сыворотки мужчин). В сыворотке одного из доноров, а также в сыворотке одного из больных, взятой после диагностики ОРТПХ, были обнаружены следы гемолиза.

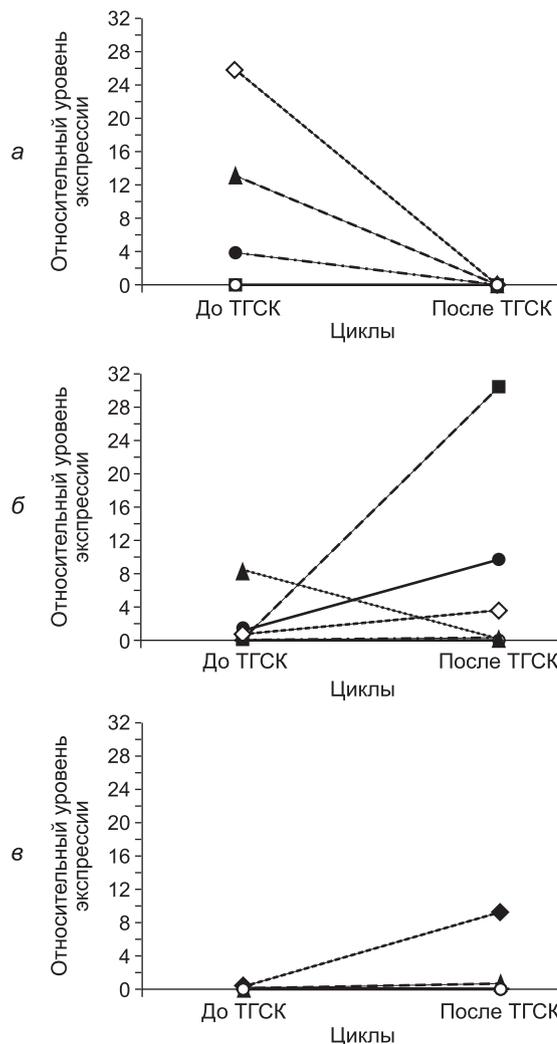


Рис. 2. Относительный уровень экспрессии микроРНК miR-203 в образцах сыворотки больных: а – больные, у которых был установлен диагноз ОРТПХ, и образец сыворотки крови после алло-ТГСК был взят на фоне ОРТПХ (группа «после диагностики ОРТПХ»); б – больные, у которых не диагностирована ОРТПХ после алло-ТГСК (группа «без ОРТПХ»); в – больные, у которых был установлен диагноз ОРТПХ, однако образец сыворотки крови был взят после алло-ТГСК, но перед диагностикой ОРТПХ (группа «до ОРТПХ»).

В дальнейшем эти образцы были исключены из анализа ввиду возможного искажения результатов по относительному количеству циркулирующих микроРНК за счет микро РНК, содержащихся в эритроцитах.

Для нормализации количества выделенной РНК использовали синтетическую микроРНК cel-miR-39. Из литературы [11] известно, что синтетические микроРНК неустойчивы в сыворотке из-за присутствия в ней РНКаз. Для подтверждения этого сыворотка одного из доноров была разделена на два образца, в один из которых добавили ингибитор РНКаз. Параллельно из этих образцов была выделена РНК, построена кДНК и проведена ПЦР с праймерами на cel-miR-39. Добавление ингибитора РНКаз к сыворотке привело к стабилизации cel-miR-39 и как следствие – к уменьшению порогового цикла при детекции этой микроРНК в ходе ПЦР (рис. 1). В дальнейшем во все образцы сыворотки перед выделением РНК добавляли ингибитор РНКаз перед внесением cel-miR-39.

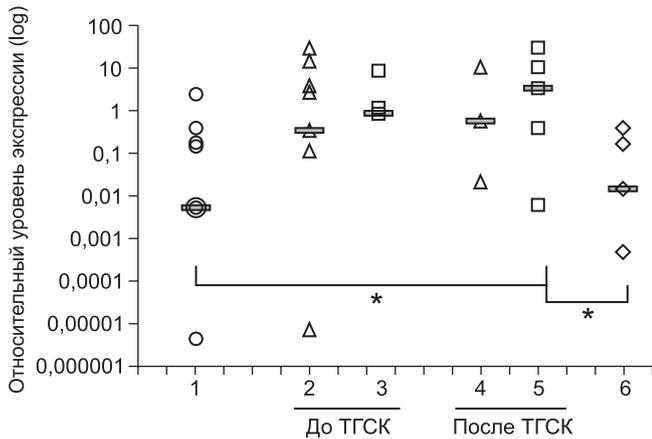


Рис. 3. Относительный уровень экспрессии микроРНК miR-203 в образцах сыворотки: 1 – здоровые доноры; 2 – больные из группы «до оРТПХ», образец сыворотки, взятый перед алло-ТГСК; 3 – больные из группы «без оРТПХ», образец сыворотки, взятый перед алло-ТГСК; 4 – больные из группы «до оРТПХ», образец сыворотки, взятый после алло-ТГСК; 5 – больные из группы «без оРТПХ», образец сыворотки, взятый после алло-ТГСК; 6 – больные из группы «после диагностики оРТПХ», образец сыворотки взят на фоне оРТПХ. Данные представлены в виде медианы и значений каждой исследуемой точки; * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

На примере сыворотки одного из доноров была показана линейная зависимость между количеством добавленной перед выделением *cel-miR-39* и значением порогового цикла C_t при проведении ПЦР с праймерами, специфическими к данной микроРНК. При добавлении *cel-miR-39* до конечной концентрации 10 фмоль/мкл пороговый цикл был равен 23,1. При добавлении *cel-miR-39* до конечной концентрации 1 фмоль/мкл пороговый цикл был равен 28,4. В пробе, не содержащей *cel-miR-39*, пороговый цикл не детектировался.

В дальнейшем *cel-miR-39* добавляли во все исследуемые сыворотки крови перед началом выделения РНК сразу после внесения в сыворотку ингибитора РНКаз. Присутствие *cel-miR-39* было отмечено в каждом исследуемом образце.

При анализе содержания микроРНК miR-203 в сыворотке индивидуальных больных до и после алло-ТГСК было показано, что ее концентрация снижается в сыворотке пациентов после диагностики оРТПХ по сравнению с сывороткой тех же пациентов, взятой перед алло-ТГСК, однако статистически значимой закономерности не обнаружено. Вероятно, это связано с небольшим объемом выборки (рис. 2, а). В группе пациентов, у которых не была диагностирована оРТПХ (рис. 2, б), а также в группе пациентов, сыворотка крови которых была получена после алло-ТГСК, но до диагностики оРТПХ (рис. 2, в), изменения содержания miR-203 в сыворотке крови имели разнонаправленный характер до и после алло-ТГСК. Статистически значимых тенденций к снижению или увеличению miR-203 не обнаружено.

При сравнительном анализе содержания miR-203 в основных группах обнаружено, что ее концентрация была статистически значимо выше в сыворотке крови больных после алло-ТГСК, у которых не развивалась оРТПХ, чем у больных на фоне оРТПХ и у группы контроля (рис. 3).

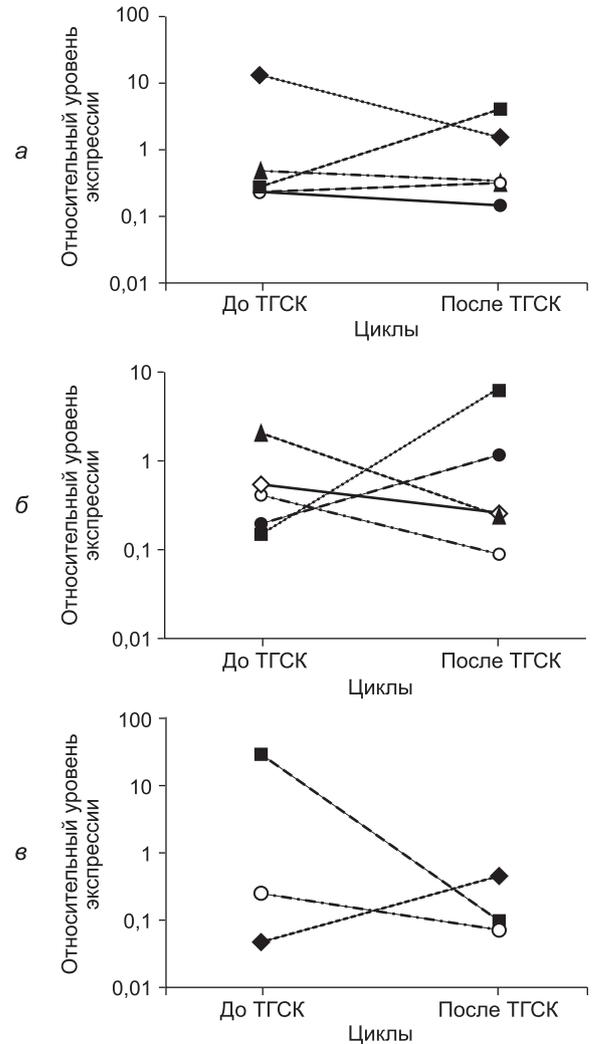


Рис. 4. Относительный уровень экспрессии микроРНК miR-194 в образцах сыворотки больных: а – больные, у которых был установлен диагноз оРТПХ и образец сыворотки крови был взят на фоне оРТПХ (группа «после диагностики оРТПХ»); б – больные, у которых не была диагностирована оРТПХ после алло-ТГСК (группа «без оРТПХ»); в – больные, у которых был установлен диагноз оРТПХ, однако образец сыворотки крови был взят после алло-ТГСК, но перед диагностикой оРТПХ (группа «до оРТПХ»)

Содержание miR-203 в сыворотке крови больных «без оРТПХ» статистически не различалось от аналогичных показателей в группе больных «до оРТПХ» ни перед, ни после алло-ТГСК, однако наблюдалась тенденция к повышенному содержанию miR-203 в сыворотке больных «без оРТПХ».

При анализе содержания микроРНК miR-194 в сыворотке индивидуальных больных до и после алло-ТГСК во всех трех группах была выявлена разнонаправленная динамика (рис. 4). При сравнительном анализе содержания miR-194 в основных группах не обнаружено статистически значимых различий (рис. 5). Отмечена тенденция к повышенному содержанию miR-194 в сыворотке больных «без оРТПХ».

Обсуждение

Исследование содержания микроРНК в клетках или в биологических жидкостях требует точной и адекватной нормализации полученных результатов.

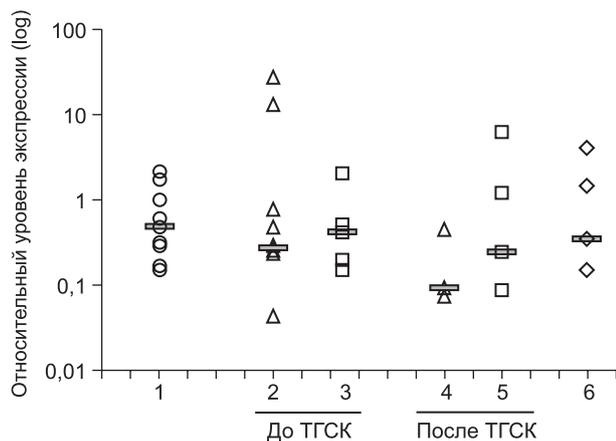


Рис. 5. Относительный уровень экспрессии микроРНК miR-194 в образцах сыворотки: 1 – здоровые доноры; 2 – больные из группы «до оРТПХ», образец сыворотки, взятой перед алло-ТГСК; 3 – больные из группы «без оРТПХ», образец сыворотки, взятой перед алло-ТГСК; 4 – больные из группы «до оРТПХ», образец сыворотки, взятой после алло-ТГСК; 5 – больные из группы «без оРТПХ», образец сыворотки, взятой после алло-ТГСК; 6 – больные из группы «после диагностики оРТПХ», образец сыворотки, взятой на фоне оРТПХ. Данные представлены в виде медианы и значений каждой исследуемой точки; * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Задача нормализации была успешно решена в данной работе. Изначально была предпринята попытка нормализовать результаты по малой ядерной РНК RNU6B, которая часто используется в качестве референсной микроРНК ввиду стабильной экспрессии [12]. Однако данная РНК была обнаружена лишь в 37% образцов (данные не приведены), поэтому не может использоваться для нормализации количества выделенной из сыворотки крови микроРНК. Тогда в качестве референсной микроРНК ко всем образцам сывороток перед выделением РНК была добавлена внешняя микроРНК организма *C.elegans*, которая не имеет гомологов у человека. Была продемонстрирована линейная зависимость между количеством добавленной *cel-miR-39* и пороговым циклом ее детекции. Анализ результатов показал присутствие *cel-miR-39* в каждом исследуемом образце. Таким образом, синтетическая микроРНК *cel-miR-39* оказалась приемлемой для нормализации количества выделенной из сыворотки микроРНК.

Результаты работы не позволяют рассматривать содержание miR-203 и miR-194 в сыворотке крови в качестве прогностического фактора развития оРТПХ. Однако на основании полученных данных можно предположить, что микроРНК miR-203 является фактором, подавляющим развитие оРТПХ. Механизм функционирования miR-203 исследован в ряде работ. Доказано, что данная микроРНК является регулятором экспрессии белка p63, участвующего в дифференцировке кератиноцитов, а также белка SOCS3, являющегося негативным регулятором сигнального каскада факторов транскрипции STAT. Показано, что подавление экспрессии SOCS3 в лимфоцитах донора приводит к резкому увеличению частоты и тяжести оРТПХ после алло-ТГСК [13]. Блокируя SOCS3, miR-203 активирует STAT3-систему сигнализации в клетке, результатом реализации которой является увеличение секреции интерлейкинов

ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-27 и интерферона- γ , что приводит к стимуляции дифференцировки Т-лимфоцитов в Т-хелперы типа I, которые способны активировать цитотоксические Т-лимфоциты – ведущие игроки в патогенезе оРТПХ. Однако данный механизм влияния miR-203 может иметь место только в том случае, если содержание miR-203 увеличивается внутри клеток, способных к продукции указанных цитокинов. В работе С. Carniti и соавт. [7] показано, что повышенное содержание miR-203 в сыворотке крови больных было ассоциировано с развитием оРТПХ кожи. Однако в нашей работе не выявлено подобного эффекта. Роль miR-203 в патогенезе оРТПХ и прогностическая значимость этой микроРНК нуждается в дальнейшем исследовании.

Известно, что miR-194 экспрессируется в клетках эпителия кишечных крипт и ее экспрессия индуцируется ядерным фактором гепатоцитов 1a (HGF-1a), увеличиваясь по мере дифференцировки этих клеток [14, 15]. Кроме того, miR-194 экспрессируется на высоком уровне в гепатоцитах [16]. Доказана роль miR-194 в качестве опухолевого супрессора негативного регулятора образования метастазов при остеосаркоме [17], раке печени [16]. Мишенями miR-194 являются гены *CDH2* (N-кадгерин) и *IGF1R* (рецептор инсулиноподобного ростового фактора 1) [17]. В работе С. Carniti и соавт. [7] показано, что повышенное содержание miR-194 в сыворотке крови больных ассоциировано с развитием кишечной формы оРТПХ. Вероятно, это связано с попаданием miR-194 в кровь из разрушающихся в результате иммунной реакции клеток эпителия кишечника. В нашей работе такого эффекта не обнаружено.

Таким образом, исследовано содержание микроРНК miR-194 и miR-203 в сыворотке крови здоровых доноров и больных гематологическими заболеваниями до и после алло-ТГСК, а также изучена прогностическая значимость этих микроРНК для диагностики оРТПХ. Содержание miR-194 и miR-203 не отличается ни до, ни после алло-ТГСК (но перед диагностикой оРТПХ) в сыворотке крови больных, которым был поставлен диагноз оРТПХ, от пациентов, у которых не развилась оРТПХ. Вероятно, полученный результат связан с небольшим размером экспериментальных групп. На данном этапе можно утверждать, что ни одна из исследованных микроРНК не обладает прогностической значимостью для диагностики оРТПХ. Однако содержание miR-203 увеличено в сыворотке крови больных, у которых не развилась оРТПХ, по сравнению с больными, сыворотка которых была взята уже на фоне оРТПХ. Это позволяет предполагать роль miR-203 в предотвращении оРТПХ, поэтому изучение роли miR-203 в патогенезе оРТПХ необходимо продолжить.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-34-50235 «мол_нр».

Авторы выражают благодарность Н.А. Петинати и сотрудникам отдела высокодозной химиотерапии, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ ГНЦ Минздрава России за предоставлен-

ные образцы сыворотки крови и информацию о больных и донорах. Авторы также выражают благодарность Н.И. Дризе за обсуждение результатов работы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Biggs J.C., Szer J., Crilly P., Atkinson K., Downs K., Dodds A., et al. Treatment of chronic myeloid leukemia with allogeneic bone marrow transplantation after preparation with BuCy2. *Blood*. 1992; 80 (5): 1352–7.
- Ringdén O., Hermans J., Labopin M., Apperley J., Gorin N.C., Gratwohl A. The highest leukaemia-free survival after allogeneic bone marrow transplantation is seen in patients with grade I acute graft-versus-host disease. Acute and Chronic Leukaemia Working Parties of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Leuk. Lymph.* 1996; 24 (1-2): 71–9.
- Appelbaum F.R. The current status of hematopoietic cell transplantation. *Ann. Rev. Med.* 2003; 54: 491–512.
- Shruti K., Shrey K., Vibha R. Micro RNAs: tiny sequences with enormous potential. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 407 (3): 445–9.
- Etheridge A., Lee I., Hood L., Galas D., Wang K. Extracellular microRNA: a new source of biomarkers. *Mutat. Res.* 2011; 717 (1-2): 85–90.
- Xie L.N., Zhou F., Liu X.M., Fang Y., Yu Z., Song N.X., et al. Serum microRNA155 is increased in patients with acute graft-versus-host disease. *Clin. Transplant.* 2014; 28 (3): 314–23.
- Carniti C., Gimondi S., Bermema A., Morelli M., Vendramin A., Biganzoli E., et al. Analysis of miRNA expression profile after haematopoietic stem cell transplantation: a promising tool for predicting acute GVHD. *Haematol. 16th Congr. Eur. Hematol. Assoc. Abstr. B.* 2011; 96 (s2): 211–2. http://www.haematologica.org/content/96/supplement_2/1.full-text.pdf+html.
- Atarod S., Dickinson A.M. MicroRNAs: The missing link in the biology of graft-versus-host disease? *Front. Immunol.* 2013; 4: 420.
- Xiao B., Wang Y., Li W., Baker M., Guo J., Corbet K., et al. Plasma microRNA signature as a noninvasive biomarker for acute graft-versus-host disease. *Blood*. 2013; 122 (19): 3365–75.
- Schmittgen T.D., Livak K.J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nat. Protoc.* 2008; 3 (6): 1101–8.
- Mitchell P.S., Parkin R.K., Kroh E.M., Fritz B.R., Wyman S.K., Pogosova-Agadjanyan E.L., et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008; 105 (30): 10513–8.
- Wu Q., Lu Z., Li H., Lu J., Guo L., Ge Q. Next-generation sequencing of microRNAs for breast cancer detection. *J. Biomed. Biotechnol.* 2011; 2011: 597145. doi: 10.1155/2011/597145
- Hill G.R., Kuns R.D., Raffelt N.C., Don A.L.J., Olver S.D., Markey K.A., et al. SOCS3 regulates graft-versus-host disease. *Blood*. 2010; 116 (2): 287–96.
- Hino K., Fukao T., Watanabe M. Regulatory interaction of HNF1-alpha to microRNA-194 gene during intestinal epithelial cell differentiation. *Nucleic. Acids Symp. Ser. (Oxf).* 2007; (51): 415–6.
- Hino K., Tsuchiya K., Fukao T., Kiga K., Okamoto R., Kanai T., Watanabe M. Inducible expression of microRNA-194 is regulated by HNF-1alpha during intestinal epithelial cell differentiation. *RNA*. 2008; 14 (7): 1433–42. doi: 10.1261/rna.810208.
- Meng Z., Fu X., Chen X., Zeng S., Tian Y., Jove R., et al. miR-194 is a marker of hepatic epithelial cells and suppresses metastasis of liver cancer cells in mice. *Hepatology*. 2010; 52 (6): 2148–57.
- Han K., Zhao T., Chen X., Bian N., Yang T., Ma Q., et al. microRNA-194 suppresses osteosarcoma cell proliferation and metastasis in vitro and in vivo by targeting CDH2 and IGF1R. *Int. J. Oncol.* 2014; 45 (4): 1437–49.

Поступила 22.12.14
Received 22.12.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015
УДК 615.277.3.03:616-006.448].036.8

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПОДКОЖНОГО И ВНУТРИВЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ БОРТЕЗОМИБА У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ПО ДАННЫМ ГОРОДСКОГО ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ЦЕНТРА Г. НОВОСИБИРСКА

Поспелова Т.И.¹, Скворцова Н.В.¹, Нечунаева И.Н.², Таирова С.А.²

¹ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, 630091, г. Новосибирск; ²ГБУЗ НСО Городская клиническая больница №2, 630051, г. Новосибирск

Резюме. Оценивали эффективность и переносимость подкожного (п/к) и внутривенного (в/в) применения бортезомиба в составе стандартных протоколов терапии у 57 больных с впервые диагностированной и рефрактерной/рецидивирующей множественной миеломой (ММ) в возрасте от 46 до 77 лет (медиана возраста 69 лет). В качестве 1-й линии терапии бортезомиб был назначен 27 больным, из них у 15 больных бортезомиб вводили п/к, а у 12 – в/в. Терапию 2-й линии получили 30 больных с рецидивом и рефрактерным течением ММ, из них у 16 бортезомиб вводили п/к, 14 – в/в. При назначении в 1-й линии терапии п/к введение бортезомиба у больных ММ дало частоту общего ответа (ОО) у 80%, в/в введение – у 83%. Полный ответ (ПО) зарегистрирован у 26,7% больных, почти полный ответ (ППО) – у 25%. Бортезомиб был также эффективен при повторном назначении в качестве 2-й линии терапии, ОО был достигнут у 68,7% больных при п/к, у 71,2% при в/в введении препарата, ПО – у 12,5%, ППО – 14,2%. Общая частота нежелательных явлений при п/к введении бортезомиба оказалась ниже, чем при в/в. Таким образом, при равной эффективности п/к введение бортезомиба у больных ММ характеризуется лучшей переносимостью, чем при в/в введении, что способствует оптимизации терапии и улучшению качества жизни больных.

Ключевые слова: множественная миелома; подкожное и внутривенное введение; бортезомиб.

Для цитирования: *Гематология и трансфузиология.* 2015; 60 (2): 15-20.

COMPARATIVE EFFICIENCY OF SUBCUTANEOUS AND INTRAVENOUS BORTEZOMIB IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA: SUMMING UP THE RECORDS OF MUNICIPAL HEMATOLOGICAL CENTER, NOVOSIBIRSK

Pospelova T.I.¹, Skvortsova N.V.¹, Nechunaeva I.N.², Tairova S.A.²

¹Novosibirsk State Medical University, 630091, Novosibirsk; ²Municipal Clinical Hospital N. 2, 630051, Novosibirsk

Summary. The efficiency and tolerance of subcutaneous (s/c) and intravenous (i/v) bortezomib within the framework of standard therapeutic protocols were evaluated in 57 patients aged 46–77 years (median 69 years) with newly detected and refractory/relapsing multiple myeloma (MM). Bortezomib was prescribed