

8. Juliusson, G. Most 70- to 79-year-old patients with acute myeloid leukemia do benefit from intensive treatment / G. Juliusson // *Blood*. — 2011. — Vol. 117. — P. 3473–3474.
9. Rowe, J. M. How I treat acute myeloid leukemia / J. M. Rowe, M.S. Tallman // *Blood*. — 2010. — Vol. 116. — P. 3147–3156.
10. Failure of three novel regimens to improve outcome for patients with relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a report from the Eastern Cooperative Oncology Group / M. R. Litzow [et al.] // *Br J. Haematol.* — 2010. — Vol. 148. — P. 217–225.
11. Hematopoietic stem-cell transplantation for acute leukemia in relapse or primary induction failure / M. Duval [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2010. — Vol. 28. — P. 3730–3738.
12. Long-term survival in refractory acute myeloid leukemia after sequential treatment with chemotherapy and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation / C. Schmid [et al.] // *Blood*. — 2006. — Vol. 108. — P. 1092–1099.
13. A phase II trial of sequential treatment with cytoreductive therapy and reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation for relapsed/refractory acute myeloid leukaemia, high-risk MDS and other high risk myeloid malignancies: an interim report / D. A. Tsitsikas [et al.] // *Blood*. — 2010. — Vol. 116. — P. 3480a.
14. Alternative donors hematopoietic stem cells transplantation for adults with acute myeloid leukemia: umbilical cord blood or haploidentical donors? / A. Ruggeri [et al.] // *Best Pract Res Clin Haematol.* — 2010. — Vol. 23. — P. 207–216.
15. Auto-SCT for AML in second remission: CALGB study 9620 / C. A. Linker [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* — 2009. — Vol. 44. — P. 353–359.
16. European development of clofarabine as treatment for older patients with acute myeloid leukemia considered unsuitable for intensive chemotherapy / A. K. Burnett [et al.] // *J Clin Oncol.* — 2010. — Vol. 28. — P. 2389–2395.
17. Clofarabine with high dose cytarabine and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) priming for relapsed and refractory acute myeloid leukemia / P. S. Becker [et al.] // *Br J Haematol.* — 2011. — Vol. 155. — P. 182–189.
18. Faderl, S. Potential role of novel nucleoside analogs in the treatment of acute myeloid leukemia / S. Faderl, V. Gandhi, H. M. Kantarjian // *Curr Opin Hematol.* — 2008. — Vol. 15. — P. 101–107.
19. Results from a randomized trial of salvage chemotherapy followed by lestaurtinib for patients with FLT3 mutant AML in first relapse / M. Levis [et al.] // *Blood*. — 2011. — Vol. 117. — P. 3294–3301.
20. Treatment of FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia relapsing after allogeneic stem cell transplantation with sorafenib / M. Sharma [et al.] // *Biol Blood Marrow Transplant.* — 2011. — Vol. 17. — P. 1874–1877.
21. A phase II open-label, AC220 monotherapy efficacy (ACE) study in patients with acute myeloid leukemia (AML) with FLT3-ITD activating mutations: interim results / J. Cortes [et al.] // *Haematologica*. — 2011. — Vol. 96. — P. 1019a.
22. Validation of ITD mutations in FLT3 as a therapeutic target in human acute myeloid leukemia / C. C. Smith [et al.] // *Nature*. — 2012. — Vol. 485. — P. 260–263.
23. Identification of predictive markers of cytarabine response in AML by integrative analysis of gene-expression profiles with multiple phenotypes / J. K. Lamba [et al.] // *Pharmacogenomics*. — 2011. — Vol. 12. — P. 327–339.
24. A phase Ib study combining the mTOR inhibitor everolimus (RAD001) with low-dose cytarabine in untreated elderly AML / A. H. Wei [et al.] // *Blood*. — 2010. — Vol. 116. — P. 3299a.
25. Azacitidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count acute myeloid leukemia / P. Fenaux [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2010. — Vol. 28. — P. 562–569.
26. 5-Azacytidine for the treatment of patients with acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome who relapse after allo-SCT: a retrospective analysis / A. Czibere [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* — 2010. — Vol. 45. — P. 872–876.
27. Azacitidine for treatment of imminent relapse in MDS or AML patients after allogeneic HSCT: results of the RELAZA trial / U. Platzbecker [et al.] // *Leukemia*. — 2012. — Vol. 26(3). — P. 381–389.
28. Phase I/II trial of AEG35156 X-linked inhibitor of apoptosis protein antisense oligonucleotide combined with idarubicin and cytarabine in patients with relapsed or primary refractory acute myeloid leukemia / A. D. Schimmer [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2009. — Vol. 27. — P. 4741–4746.
29. Katragadda, L. XIAP antisense therapy with AEG 35156 in acute myeloid leukemia / L. Katragadda, B. Z. Carter, G. Borthakur // *Expert Opin Investig Drugs*. — 2013. — Vol. 22(5). — P. 663–670.
30. Induction of complete and molecular remissions in acute myeloid leukemia by Wilms' tumor 1 antigen-targeted dendritic cell vaccination / V. F. Van Tendeloo [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. — 2010. — Vol. 107. — P. 13824–13829.
31. Lin, Ch. The role of peptide and DNA vaccines in myeloid leukemia immunotherapy / Ch. Lin, Y. Li // *Cancer Cell International*. — 2013. — Vol. 13. — 7 p.
32. Infusion of HLA-mismatched peripheral blood stem cells improves the outcome of chemotherapy for acute myeloid leukemia in elderly patients / M. Guo [et al.] // *Blood*. — 2011. — Vol. 117. — P. 936–941.

Посмуила 23.10.2014

УДК 616.98:578.828НIV]-053.2-07

МАРКЕРЫ НЕКОТОРЫХ ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ

Е. В. Анищенко, Е. Л. Красавцев, В. В. Кармазин, Е. П. Казначеева

Гомельский государственный медицинский университет
Гомельская областная клиническая инфекционная больница

В работе приведены данные о частоте встречаемости маркеров некоторых оппортунистических инфекций у детей, инфицированных ВИЧ вертикальным путем, находящихся на учете в областном консультативно-диспансерном кабинете ВИЧ/СПИД Гомельской областной инфекционной клинической больницы и, в группе детей, рожденных не ВИЧ-инфицированными матерями.

У ВИЧ-инфицированных детей достоверно чаще при сравнении с группой ВИЧ-негативных детей встречалась ДНК вируса Эпштейн-Барра (43 %, у здоровых детей — 26 %, $p = 0,008$). В группе ВИЧ-негативных детей достоверно чаще выявлялись Ig G к цитомегаловирусу (50 %, у ВИЧ-инфицированных детей — 12 %, $p = 0,02$).

ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типа в группах обследуемых детей не выявлялась. Также у детей не были выявлены Ig M к антигенам токсоплазмоза, цитомегаловируса, вируса простого герпеса 1 и 2 типов.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, дети, оппортунистические инфекции.

MARKERS OF CERTAIN OPPORTUNISTIC INFECTIONS IN HIV-POSITIVE CHILDREN

E. V. Anischenko, E. L. Krasavtsev, V. V. Karmazin, E. P. Kaznacheyeva

Gomel State Medical University
Gomel Regional Clinical Infectious Hospital

The paper presents data on the prevalence of markers of certain opportunistic infections in both HIV-positive children infected via vertical transmission and registered at the HIV/AIDS outpatient consultative ward of the Gomel Regional Infectious Clinical Hospital and in HIV-negative children.

The HIV-positive children (43 %) in comparison to the HIV-negative children (26 %, $p = 0.008$) detected EBV DNA significantly more often. However, the group of the HIV-negative children revealed CMV Ig G more often (50 % vs. 12 % in HIV-positive, $p = 0,02$).

HSV1/2 DNA in the study groups of the children was not detected. The children did not detect Ig M to toxoplasmosis antibodies). CMV, HSV 1/2.

Key words: HIV-infection, children, opportunistic infections.

Введение

Наиболее частыми и тяжелыми клиническими проявлениями ВИЧ-инфекции являются оппортунистические инфекции. Их клиническая манифестация связана с прогрессирующей иммуносупрессией, о чем свидетельствует снижение в крови числа основных клеток-мишеней вируса — Т хелперов (CD4+-лимфоцитов). Следует отметить, что у взрослых больных прослеживается четкая зависимость между уровнем CD4+-лимфоцитов и спектром оппортунистических инфекций [1]. У детей, инфицированных ВИЧ вертикальным путем, не всегда имеет место соответствие между уровнем иммуносупрессии и спектром оппортунистических инфекций [2].

Оппортунистическими у ВИЧ-инфицированных детей являются чаще инфекции, вызванные вирусами простого герпеса, цитомегаловирусом, вирусом Эпштейн-Барра, грибами рода *Candida*. Токсоплазмоз является редким поражением ЦНС у ВИЧ-инфицированных детей [3].

Поверхностный кандидоз — самая частая грибковая инфекция у ВИЧ-инфицированных детей. Возбудитель, как правило, *Candida albicans*, иногда другие грибки рода *Candida*. Чаще всего встречается кандидозный стоматит, даже у детей с высоким числом лимфоцитов CD4 [4].

Поскольку основную роль в борьбе с герпесвирусами играет клеточный иммунитет, у ВИЧ-инфицированных с глубоким иммунодефицитом возможны тяжелые, угрожающие жизни инфекции. Между ВИЧ и герпесвирусами существуют сложные и неоднозначные взаимодействия [5]. У больных с иммунодефицитами, в том числе у ВИЧ-инфицированных детей первичные инфекции, вызываемые герпесвирусами, протекают тяжелее, чем у остального населения. Реактивация герпесвирусов у ВИЧ-инфицированных детей происходит чаще, чем у здоровых и вызывает более тяжелые последствия [2].

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ) — самая частая из вирусных оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных. Частота заражения цитомегаловирусом во внутриутробном периоде и во время родов у ВИЧ-инфицированных новорожденных превышает аналогичные показатели для неинфицированных ВИЧ новорожденных — как подвергшихся риску заражения ВИЧ, так и рожденных здоровыми матерями [2]. У детей с латентной инфекцией, вызванной *Toxoplasma gondii*, титры IgG бывают разными, а IgM обнаруживаются редко. Соглас-

но данным некоторых исследований, у ВИЧ-инфицированных детей под действием цитомегаловируса прогрессирование ВИЧ-инфекции ускоряется [6]. У 30–60 % детей первая встреча с ЦМВ происходит на первом году жизни [7].

Подобно другим представителям семейства *Herpesviridae*, вирус Эпштейна — Барр широко распространен среди населения всего мира. Он стимулирует пролиферацию В-лимфоцитов, у лиц с иммунодефицитом вызывает лимфопролиферативный синдром. На фоне ВИЧ-инфекции этот вирус тоже служит причиной лимфопролиферативных заболеваний, из которых у детей чаще всего встречаются лимфоидная интерстициальная пневмония и лимфомы [2].

Токсоплазмоз является редким поражением ЦНС у ВИЧ-инфицированных детей. Токсоплазменный энцефалит развивается примерно у 1 % ВИЧ-инфицированных детей. Однако токсоплазменный энцефалит нужно исключать у всех ВИЧ-инфицированных детей с вновь появившимися неврологическими нарушениями. Хотя сероконверсия и 4-кратное повышение титра антител IgG возможны, нередко диагностика активной инфекции затруднена из-за иммуносупрессии. IgM обычно исчезают через несколько месяцев после заражения, однако иногда остаются повышенными в течение года и более, что также затрудняет дифференциальную диагностику острой и перенесенной инфекции [8].

Цель

Выявить частоту встречаемости маркеров некоторых оппортунистических инфекций у детей, инфицированных ВИЧ вертикальным путем, находящихся на учете в областном консультативно-диспансерном кабинете ВИЧ/СПИД Гомельской областной инфекционной клинической больницы, и сравнить их с частотой встречаемости в группе ВИЧ-негативных детей.

Материалы и методы исследования

Были изучены данные 117 медицинских карт ВИЧ-инфицированных детей, состоящих на учете в областном консультативно-диспансерном кабинете ВИЧ/СПИД Гомельской областной инфекционной клинической больницы.

Дети были обследованы согласно протоколам «Оптимизация подходов к наблюдению и лечению детей с ВИЧ/СПИДом (инструкция по применению)» [9] и регламентирующим документам Министерства здравоохранения.

Для оценки стадий ВИЧ-инфекции использовалась клиническая классификация ВИЧ-

инфекции у детей до 15 лет (ВОЗ, 2006 г.) [10]. В настоящее время 10 (10 %) детей находятся в 1-й клинической стадии, 34 (34 %) ребенка — во 2-й, в 3-й стадии — 48 (48 %) детей и 8 (8 %) детей — в 4-й стадии заболевания. Дети, достигшие возраста 15 лет (17 человек) наблюдаются согласно протоколам взрослых.

После установления диагноза ВИЧ-инфекции всем детям, согласно протоколам обследования, определялись ДНК возбудителей группы оппортунистических инфекций (цитомегаловирус, вирус простого герпеса, вирус Эпштейн — Барра, токсоплазмоз). Наборами реагентов «АмплиСенс CMV-FL, EBV-FL, TOX-FL, HSV 1, 2 - FL» выявляли ДНК цитомегаловируса (CMV), ДНК вируса Эпштейна-Барр (EBV), ДНК токсоплазмы (*Toxoplasma gondii*), ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типов (HSV 1, 2) методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Также пациенты обследовались на наличие специфических Ig G и M к цитомегаловирусу (CMV), токсоплазме (*T. gondii*), вирусу простого герпеса 1 и 2 типов (HSV 1, 2) (набор реагентов ХОПиБОХ). В мазке из слизистой полости рта методом микологического посева на питательные среды (Сабуро, агар Никерсона) микроскопически определялись грибы рода *Candida* (в диагностически значимых титрах).

Вирусную нагрузку определяли методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени (Real time PCR) при помощи амплификатора «Rotor Gene 3000»

фирмы «Corbett-research». Экстракция из клинических образцов плазмы и второй этап амплификации проводились наборами реагентов фирмы ЗАО «Реал Бест».

Для описания значений вирусной нагрузки использовали Me и интерквартильный размах (25–75 %).

Абсолютное и процентное содержание уровня CD4+ и CD8+-лимфоцитов в крови определялось на оборудовании фирмы «Partec» (проточный цитофлуориметр) mini POC с использованием моноклональных антител фирмы «Partec».

Для сравнения выбрана группа детей, рожденных ВИЧ-негативными матерями. Возраст этих детей не имел статистических отличий от группы ВИЧ-инфицированных детей.

Результаты исследований проанализированы с применением пакета прикладных программ «Statistica», 6,0 (StatSoft, USA), с использованием данных непараметрической статистики. Качественные показатели представлялись в виде абсолютного числа наблюдений и доли (%) от общего числа пациентов в соответствующей группе. Дальнейший анализ проводился с использованием непараметрических методов статистической обработки: для сравнения частот в квадратах 2×2 использовался точный критерий Фишера, χ^2 . Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты выявления маркеров некоторых оппортунистических инфекций в сравниваемых группах детей представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Частота выявления маркеров оппортунистических инфекций в группах ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-негативных детей

Маркеры оппортунистических инфекций	ВИЧ-инфицированные дети; абс. (25 %, 95 % ДИ)	ВИЧ-негативные дети; абс. (25 %, 95 % ДИ)	Уровень P
ДНК <i>T. gondii</i>	1 (1,3 %; 0–7,4), n = 80	0 (0 %; 0–37), n = 8	0,9
Ig G к <i>T. gondii</i>	5 (10 %; 4–23), n = 48	6 (67 %; 35–88), n = 9	0,06
ДНК CMV	7 (6 %; 3–13), n = 111	1 (1 %; 0–7), n = 80	0,08
Ig G к CMV	4 (12 %; 4–28), n = 33	4 (50 %; 22–78), n = 8	0,02
Ig G к HVS1/2	8 (24 %; 12–40), n = 34	4 (50 %; 22–78), n = 8	0,1
ДНК EBV	48 (43 %; 34–53), n = 111	29 (26 %; 19–35), n = 110	0,008
Грибы рода <i>Candida</i>	38 (38 %; 29–47), n=101	42 (35 %; 27–44), n = 120	0,6 OR

У 80 ВИЧ-инфицированных детей определялась ДНК *T. gondii* методом ПЦР. Она была выявлена только у 1 (1 %) ребенка на первом году жизни. Ему была установлена 4-я клиническая стадия ВИЧ-инфекции с тяжелым уровнем иммунодефицита (CD4+ — 10,3 %, уровень вирусной нагрузки составил 800000 копий/мл). У ребенка диагностирован врожденный токсоплазмоз с поражением головного мозга и глаз. В группе ВИЧ-негативных детей ДНК *T. gondii* не выявлялась. Ig M к *T. gondii* также ни у од-

ного ребенка из обеих обследованных групп не регистрировались.

Ig G к *T. gondii* определялись у 5 (10 %) из 48 обследованных ВИЧ-инфицированных детей при установлении ВИЧ-статуса. У 1 (20 %) ребенка они выявлялись на первом году жизни и у 4 (80 %) — в возрасте старше одного года. В большинстве случаев у детей наблюдался уровень тяжелого иммунодефицита (60 %), и они находились во 2-й клинической стадии заболевания (60 %). Значения вирусной нагрузки

в этой группе обследованных детей составили 20569 коп/мкл (16591–800000). В группе ВИЧ-негативных детей Ig G к *T. gondii* выявлялись несколько чаще — в 33 % случаев ($p = 0,06$).

У 111 ВИЧ-инфицированных детей определялась ДНК CMV методом ПЦР. Она выявлялась у 7 (6 %) детей. Клинически выраженные формы цитомегаловирусной инфекции отмечались у 3 (43 %) детей в виде генерализованной (2 (29 %) ребенка), и врожденной формы с поражением головного мозга (1 (14 %) ребенок). У 3 (43 %) детей ДНК CMV выявлялась на первом году жизни. Все дети этой группы находились в состоянии тяжелого иммунодефицита. Значения вирусной нагрузки в этой группе обследованных детей составили 622880 коп/мкл (22000–968865). У ВИЧ-негативных детей ДНК CMV выявлялась только у 1 (1 %) ребенка из 80 обследованных детей без клинических проявлений заболевания.

Ig M к CMV ни у одного ребенка в обеих сравниваемых группах не выявлялись. При установлении ВИЧ-статуса Ig G к CMV определялись у 4 (12 %) из 33 ВИЧ-инфицированных детей в возрасте более одного года. В большинстве случаев дети находились в 3-й клинической стадии заболевания (70 %). Значения вирусной нагрузки составили 372488 коп/мкл (14867–758812). В группе ВИЧ-негативных Ig G к CMV выявлялись достоверно чаще (50 %, $P = 0,02$) и только у 1 (25 %) ребенка в возрасте до одного года.

ДНК HSV1/2 методом ПЦР определялась у 131 ребенка из обеих сравниваемых групп, и во всех случаях она не выявлялась. Также ни у одного ребенка не регистрировались Ig M к HSV1/2.

Клинически выраженных проявлений герпетической инфекции на момент установления ВИЧ-статуса у ВИЧ-инфицированных детей выявлено не было.

Ig G к HSV1/2 при установлении ВИЧ-статуса определялись у 8 (24 %) ВИЧ-инфицированных детей из 34 обследованных. У всех детей они выявлялись в возрасте старше одного года. В 38 % случаев (по 3 человека) дети находились в состоянии незначительного и умеренного иммунодефицита во 2-й клинической стадии заболевания. Значения вирусной нагрузки в этой группе обследованных детей составили 590605 коп/мкл (115390–800000). В группе ВИЧ-негативных детей Ig G к HSV1/2 встречались чаще (50 %, $p = 0,1$).

ДНК EBV методом ПЦР определялась у 111 ВИЧ-инфицированных детей, и у 48 (43 %) детей она выявлялась. Только у 4 (8 %) детей она выявлялась на первом году жизни. Клинически выраженных признаков заболевания, вызванного EBV, на момент установления диагноза ВИЧ-инфекции у детей выявлено не было. Большая часть детей этой группы (20 (42 %) че-

ловек) находилась в 3-й клинической стадии заболевания. Уровень тяжелого иммунодефицита был у 14 (29 %) детей. Значения вирусной нагрузки в этой группе обследованных детей составили 224187 коп/мкл (19295–800000). У ВИЧ-негативных детей выявляемость ДНК EBV была достоверно меньшей (26 %, $p = 0,008$).

В мазке из слизистой полости рта методом микологического посева определялись грибы рода *Candida* (в диагностически значимых титрах) у 38 (38 %) ВИЧ-инфицированных детей из группы в 101 ребенка, которым данное исследование проводилось. На первом году жизни из этой группы было 8 (21 %) человек. В большинстве случаев (35 детей, 92 %) у детей с выделением из слизистой полости рта грибов рода *Candida* были выявлены клинические проявления орофарингеального кандидоза. Большая часть детей этой группы (28 (74 %) человек) находилась в 3-й клинической стадии заболевания. Уровень тяжелого иммунодефицита был у 21 (55 %) ребенка. Значения вирусной нагрузки в этой группе обследованных детей составили 717624 коп/мкл (64175–800000). В группе ВИЧ-негативных детей выявление в мазке из слизистой полости рта грибов рода *Candida* было приблизительно одинаковым (35 %, $p = 0,6$).

Выводы

Считается, что у ВИЧ-инфицированных детей ориентиром для диагностики оппортунистических инфекций помимо клинических проявлений является определение их маркеров. По результатам исследования установлено, что в группе ВИЧ-негативных детей тоже выявляются маркеры некоторых оппортунистических инфекций.

В группе ВИЧ-инфицированных детей достоверно чаще выявляли ДНК EBV (43 %, $p = 0,008$) при сравнении с группой ВИЧ-негативных детей (26 %). У ВИЧ-негативных детей статистически чаще выявлялись Ig G к CMV (50 %, у ВИЧ-инфицированных — 12 %, $p = 0,02$).

ДНК HSV1/2 в группах обследуемых детей не выявлялась. Также у детей не были выявлены Ig M к *T. gondii*, CMV, HSV1/2.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бартлетт, Дж. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции. 2009–2010 / Дж. Бартлетт, Дж. Галлант, П. Фам. — М.: Р. Валент, 2010. — 490 с.
2. Textbook of pediatric HIV care / S. Zeichner [et al.] — Cambridge, 2005. — 784 p.
3. Рахманова, А. Г. ВИЧ-инфекция у детей / А. Г. Рахманова, Е. Е. Воронин, Ю. А. Фомин. — СПб.: Питер, 2003. — 448 с.
4. Gona, P. Incidence of opportunistic and other infections in HIV-infected children in the HAART era / P. Gona, R. B. Van Dyke, P. L. Williams // Journal of the American Medical Association. — 2006. — P. 292–300.
5. Heng, M. C. Co-infection and synergy of human immunodeficiency virus-1 and herpes simplex virus-1 / M. C. Heng, S. Y. Heng, S. G. Allen // Lancet. — 1994. — Vol. 343. — P. 255–258.
6. Rapid progression of HIV disease in children with cytomegalovirus DNAemia / G. Nigro [et al.] // AIDS. — 1996. — Vol. 10. — P. 1127–1133.

7. Германенко, И. Г. Цитомегаловирусная инфекция: этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение / И. Г. Германенко, А. П. Кудин. — Минск: Зималлето, 2009. — С. 4–7, 11–12.

8. Montoya, J. G. Toxoplasma gondii / J. G. Montoya, J. S. Remington // Principles and Practice of Infectious Diseases / Ed. G. L. Mandell, J. E. Bennett, R. Dolin. — Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000. — P. 2858–2888.

9. Оптимизация подходов к наблюдению и лечению детей с ВИЧ/СПИДом (инструкция по применению): утв. Мин-вом здравоохранения Республики Беларусь 10.09.2008. — Минск, 2008. — 100 с.

10. Report of the technical consultation on clinical staging of HIV/AIDS and HIV/AIDS case definition for surveillance. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe, 2005. — <http://www.euro.who.int/document/E87956.pdf>, accessed 19 December 2006).

Поступила 25.06.2014

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА И БИОЛОГИЯ

УДК 616.1.9-055.5

МЕТОДИКИ ТРЕКИНГА ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ОРГАНИЗМЕ РЕЦИПИЕНТА

А. Г. Скуратов, А. Н. Лызиков, Д. Р. Петренев

Гомельский государственный медицинский университет
Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель

Цель: охарактеризовать и применить в эксперименте современные методики трекинга мезенхимальных стволовых клеток в организме реципиента после трансплантации.

Материалы и методы. Мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани (выделение, культивирование, окраска флуоресцентными красителями PKH67 и Dil); лабораторные крысы линии Вистар; экспериментальная модель СС14-индуцированного хронического гепатита; введение меченных мезенхимальных стволовых клеток в организм лабораторных животных; флуоресцентная микроскопия криосрезов органов; ПЦР-анализ копийности гена Sry.

Результаты. Апробированные методики трекинга мезенхимальных стволовых клеток показали информативность мечения клеток флуоресцентными красителями и последующего изучения миграции их в организме реципиента при анализе флуоресцентной микроскопии криосрезов органов. Были выявлены очаги яркой желто-зеленой (PKH 67) или красной (Dil) флуоресценции размером с клетку, колокализованные с клеточными ядрами. Для оценки приживания клеток в отдаленном периоде применена методика выявления гена Sry в организме реципиента женского пола после введения стволовых клеток, выделенных от мужской особи. Показано выживание мезенхимальных стволовых клеток через 45 дней после трансплантации.

Заключение. Исследование трекинга трансплантированных мезенхимальных стволовых клеток в организме реципиента в ранние сроки (1–2 недели) информативно с помощью методики прижизненного мечения их липофильными флуоресцентными красителями. В отдаленный посттрансплантационный период о приживлении клеток можно судить по выявлению гена Sry при разнополой родственной трансплантации.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, флуоресцентные красители PKH67 и Dil, флуоресцентная микроскопия, Sry ген, ПЦР-анализ.

TRACKING TECHNIQUES OF TRANSPLANTED MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE RECIPIENT'S ORGANISM

A. G. Skuratov, A. N. Lyzikov, D. R. Petrenyov

Gomel State Medical University
Institute of Radiobiology NAS of Belarus, Gomel

Objective: to characterize and apply modern methods of tracking of mesenchymal stem cells in a recipient after transplantation in experiment.

Material and methods. Mesenchymal stem cells from adipose tissue (isolation, cultivation, labeling with fluorescent PKH67 and Dil dyes); laboratory Wistar rats; experimental model of CC14-induced chronic hepatitis; introduction of labeled mesenchymal stem cells in the organism of laboratory animals; fluorescence microscopy of organ cryosections; PCR analysis of the copy number of the Sry gene.

Results. The approved tracking techniques of mesenchymal stem cells have showed the informativity of the cell labeling with fluorescent dyes and further study of their migration in the recipient's organism during the analysis of fluorescence microscopy of the organ cryosections. It detected cell-size centers of bright yellow-green (PKH 67) or red (Dil) fluorescence colocalized with cell nuclei. To assess engraftment of the cells in the long term we applied the technique to identify Sry gene in female recipients after the transplantation of stem cells isolated from males. It showed the survival of mesenchymal stem cells after 45 days after the transplantation.