

ВОЗМОЖНОСТИ И ПРОБЛЕМЫ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Парахонский А.П., Тыртышная Г.В.
*Кубанский медицинский университет,
Госпиталь ветеранов,
Краснодар*

Медико-биологические аналитические технологии (МБАТ) представляют собой систему физических, химических и биологических процедур, проводимых в целях выявления определённого компонента биоматериала, его детекцию, идентификацию, качественную и количественную характеристику. Аналитом в них является генетический материал: ДНК и РНК, гены и их компоненты, а мишенями поиска – мутации генов, полиморфизм нуклеотидов. Сферы применения МБАТ: медицинская генетика, акушерство, кардиология, онкология, микробиология, инфекционные болезни, клиническая фармакология, иммунология и др. Клиническая информативность МБАТ подчинена требованиям диагностической доказательности результатов лабораторных исследований. При мультифакторных видах патологии учитывается всё многообразие этапов реализации генетической программы: транскрипция информации, синтез белков, их модификация. МБАТ заключаются в амплификации и гибридизации нуклеиновых кислот (ГНК), секвенировании нуклеотидных последовательностей. Общим для этих процессов является воспроизведение механизма дублирования наследственной информации в геноме. Технологии амплификации, т.е. производства множества копий ДНК из участка искомой ДНК или РНК, в клинико-диагностических лабораториях наиболее широко используется в формате ПЦР. В её основе лежит комплементарное достраивание ДНК-матрицы (репликации ДНК), осуществляемое *in vitro* с помощью фрагмента ДНК-полимеразы. Число копий специфического фрагмента ДНК увеличивается экспоненциально. Благодаря этому последовательности, присутствующие в изучаемом материале в минимальном количестве и не поддающиеся обнаружению никакими другими методами, легко выявляются с помощью ПЦР. ГНК представляет собой процесс образования стабильных двухнитевых молекул НК из комплементарных однонитевых молекул. В результате образуются гибриды ДНК-ДНК, ДНК-РНК или РНК-РНК. В различных модификациях метода ГНК используется подсоединение специфичных зондов, конъюгированных с субстратом или ферментом. В результате происходит усиление образующегося сигнала, регистрируемого тем или иным способом в ходе определения. Схема ПЦР-диагностики: взятие биоматериала для исследования; пробоподготовка (выделение нуклеиновых кислот); постановка и проведение собственно ПЦР; детекция ампликонов (электрофорез в геле, планшетная гибридизация, масс-спектрометрия, хемолюминесцентный анализ и др.); интерпретация результатов.

К числу принципиальных усовершенствований, помимо технологии ПЦР, относится анализ кривых плавления ДНК с применением, как зондов, так и флюорофоров. Мелтинг-анализ с высоким разреше-

нием при выявлении однонуклеотидных полиморфизмов имеет чувствительность порядка 97-99%. По сравнению с другими технологиями сканирования мутаций этот способ анализа проводится в одной пробирке, не требует разделения продуктов после завершения ПЦР и совершается за 1-2 мин. Технология позволяет также в рамках одного процесса сканировать любое изменение последовательности и генотипировать изменения последовательностей путём изучения кривых плавления зонда при низкой температуре и продукта при высокой температуре. Это может сократить потребность в секвенировании сложных генов. МБАТ позволяют получить выигрыш времени для приближения эффективного лечения. Фантастические возможности предоставляет технология одновременного применения множественных зондов в биочипах, которая состоит в размещении на небольшом пространстве планшета сотен олигонуклеотидных микрозондов, каждый из которых специфичен для определённой последовательности в геноме исследуемого объекта. Биочипы могут использоваться для продуктов амплификации и гибридизации. Технико-экономическая доступность МБАТ тем важнее с позиций клинической лабораторной диагностики, чем выше клиническая ценность получаемой с её помощью информации и чем сложнее входящие в неё процедуры. В повседневной лабораторной практике, помимо применения положительных и отрицательных контролей на этапах выполнения исследований, должны проводиться процедуры внутрилабораторного контроля качества для оценки правильности и прецизионности результатов количественных методов. Контроль правильности, по существу, смыкается с доказательством специфичности исследования. Таким образом, проблемы обеспечения качества МБАТ решаемы на основе применения общих принципов обеспечения качества исследований в клинической лабораторной диагностике с учётом особенностей как самого анализа, так и свойств применяемых методов исследования. С применением МБАТ связана перспектива радикальной смены акцентов в лабораторной диагностике.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИОННОЙ ЁМКОСТИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ХАРАКТЕРА ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ДЕРМАТОЗАХ

Парахонский А.П., Цыганок С.С.
*Кубанский медицинский университет,
Центр квантовой медицины «Здоровье»,
Краснодар*

Основным маркером оценки эндогенной интоксикации (ЭИ) в норме и при патологии в настоящее время считают уровень в плазме крови веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ). Катаболическая составляющая ВНСММ представлена низко-молекулярными соединениями, продуктами катаболизма белков. Анаболическая часть – более сложными, пептидными соединениями, продуктами протеолиза белков. Вклад ВНСММ в развитие ЭИ определяется ролью их компонентов в регуляции го-