

**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 клинко-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 одонитевых 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, хемолуминесцентный 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 анализата, 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-

меостаза. Так, протеолитические фрагменты являются соединениями, близкими по строению к регуляторным пептидам, и могут неадекватно влиять на метаболизм и функцию клеток, а также способствовать формированию фармакорезистентности за счёт блокирования рецепторов клеток. Показано, что в структуре тяжёлых и хронических дерматозов увеличивается процентное отношение торпидных, трудно поддающихся лечению форм заболеваний. При этом затягивается процесс выздоровления при использовании ранее хорошо помогавших лекарственных средств или развивается резистентность к применяемым препаратам.

Цель исследования - оценка влияния ВНСММ на функциональную активность мембран эритроцитов при дерматозах. Исследовали сорбционную ёмкость эритроцитов (СЭЭ) крови у больных дерматозами и здоровых лиц. Наличие ЭИ у больных дерматозами устанавливали путём определения уровня ВНСММ в плазме и эритроцитах крови. Оценивали суммарное количество ВНСММ, регистрируемое в интервале длин волн 242-298 нм. Выделенные ВНСММ использовали для определения функциональной активности клеточных мембран под влиянием субстрата ЭИ. Показано, что максимальное связывание ВНСММ, оцениваемое по сорбции красителя, отмечалось в течение 15 мин. Проведено 2 серии исследований: в 1-й серии ВНСММ, выделенные от больных дерматозами, добавляли к эритроцитам здоровых лиц; во 2-й – ВНСММ больных добавляли к их же эритроцитам, т.е. усиливали уже имеющуюся нагрузку на клеточные мембраны. Обследовано 29 больных псориазом, 43 – микробной экземой, 19 – пузырчаткой. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц.

Установлено, что в крови всех больных выявлен достоверно повышенный относительно контроля уровень ВНСММ в плазме и в эритроцитах, что свидетельствует о развитии ЭИ при дерматозах. При этом обнаружены разнонаправленные изменения СЭЭ, наиболее выраженные при псориазе и пузырчатке и, очевидно, обусловленные различным функциональным состоянием клеточных мембран при дерматозах разного генеза. Если при экземе СЭЭ не отличалась от таковой в контроле, то при псориазе она была достоверно более высокой, а при пузырчатке – достоверно более низкой. Показано, что под воздействием эндогенных токсинов существенно увеличивается способность эритроцитов к сорбированию. Это является необходимым для перераспределения уровня эндотоксинов между плазмой и форменными элементами и составляет одну из стадий формирования ЭИ. Снижение СЭЭ может приводить к накоплению в плазме токсинов или к нарушению проницаемости мембран для других метаболитов. Показано, что остро протекающая экзема сопровождается выраженной воспалительной реакцией. В кровоток поступает значительное количество разнообразных эндо- и экзотоксинов. При этом снижение СЭЭ обусловлено неспособностью эритроцитов быстро справляться с большим количеством ВНСММ. Пузырчатка – аутоиммунное заболевание, трудно поддающееся лечению, и снижение СЭЭ при ней вызвано нарушением функциональной активности клеточных мембран. Установлено, что при

добавлении ВНСММ, выделенных их крови больных дерматозами, к эритроцитам здоровых СЭЭ повышалась. При добавлении ВНСММ, выделенных от больных, к тем же эритроцитам – снижалась.

Таким образом, у больных дерматозами имеет место нарушение функционирования клеточных мембран за счёт накопления ВНСММ на их поверхности, что может приводить к развитию фармакорезистентности из-за отсутствия доступности рецепторов к связыванию лекарственных средств и резистентности к лечению. Метод определения СЭЭ может быть использован для оценки степени ЭИ при дерматозах. Степень накопления ВНСММ взаимосвязана с СЭЭ. С целью удаления из кровотока ВНСММ необходимо проводить энтеросорбционную терапию.

#### **КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ РЕАКТИВАЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭПШТЕЙНА-БАРР ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ**

Сарычев А.М.<sup>1</sup>, Разин А. П.<sup>2</sup>, Сарычева А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное учреждение  
«Южный окружной медицинский центр»

Федерального агентства по здравоохранению  
и социальному развитию, Ростов-на-Дону,

<sup>2</sup>Муниципальное учреждение здравоохранения  
«Центральная районная больница»

Сальского района Ростовской области, Сальск

Проблема герпесвирусных, и в частности Эпштейна-Барр вирусной инфекции, является одной из актуальнейших в инфектологии. Это обусловлено убиквитарным распространением вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ), многообразием вызываемых им заболеваний, часто принимающих хроническое течение, а также различными путями передачи возбудителя инфекции. В то же время, вопрос о клинических проявлениях и иммунных сдвигах, возникающих при хронической Эпштейна-Барр вирусной инфекции (ХЭБВИ) у детей, до настоящего времени является дискуссионным [1, 2, 4].

Цель исследования: охарактеризовать клинические проявления и иммунные сдвиги, возникающие при реактивации ХЭБВИ у детей, и на основании полученных данных разработать критерии диагностики заболевания.

Пациенты и методы: Обследовано 30 больных ХЭБВИ в возрасте от 3 до 12 лет. Дети 3 – 6 лет составили 54%, 7 – 12 лет – 46%. Группу сравнения составили 40 относительно здоровых детей соответствующего возраста, посещающих организованные детские коллективы. Диагноз поставлен на основании классификации, предложенной В.Ф. Учайкиным (1999). Верификация диагноза основывалась на определении антител ко всем антигенным детерминантам вируса: IgG к раннему (ЕА (p54; p138) и ядерным (NA(p72) антигенам ВЭБ, антитела класса IgM - к капсидному (VCA(p18; p23) антигену вируса и детекции ДНК вируса Эпштейна-Барр методом ПЦР. Для решения поставленных задач использован комплекс клинических, лабораторных (биохимических, бактериологических, серологических, иммунологических) и статистических методов.