

Таким образом, активность клеточной регенерации была наиболее выраженной при ОТГ в модели с тетрахлорметаном, снижалась к 40 дню и далее. Внутриклеточная регенерация имела тенденцию к снижению к 20–40 дню, а к 60 суткам снова повышалась. Диаметр ядер гепатоцитов на протяжении всего опыта был статистически значимо больше, чем у контрольной крысы.

При оценке фиброзных изменений по индексу хронизации было отмечено, что уже к 20 суткам эксперимента в печени крыс развивались фиброзные изменения 1 степени хронизации, а к 40–60 суткам имела место III–IV степень хронизации фиброзных изменений. У контрольных крыс и в модели ОТГ фиброзные изменения не обнаружены.

Выводы

1. Токсическое повреждение печени развиваются при введении лабораторным животным тетрахлорметана. Изменения в печени происходят быстрее при внутрибрюшинном введении препарата: острый токсический гепатит — через 2 суток, цирроз печени — через 2 месяца. Гепатотропное действие тетрахлорметана потенцируется пероральным назначением 10 % раствора этилового спирта вместо питьевой воды.

2. Цирроз печени является постнекротическим и преимущественно мультилобулярным. Некроз, приведший к циррозу, чаще начинается центрлобулярно и распространяется от центра дольки к ее периферии, встречаются также мостовидные некрозы.

3. Несмотря на гепатотропность тетрахлорметан оказывает токсическое влияние и на другие органы: выявлены дистрофические изменения в почках, миокарде, легких, головном мозге.

4. Данная экспериментальная модель цирроза печени не является оптимальной, поскольку чувствительность крыс к тетрахлорметану неодинакова, изменения в печени развиваются различной степени выраженности и имеют обратимый характер после отмены препарата, что нарушает однородность опыта при

изучении процессов регенерации поврежденной печени и разработке способов ее коррекции.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Садовникова, И. И. Циррозы печени. Вопросы этиологии, патогенеза, клиники, диагностики, лечения / И. И. Садовникова // РМЖ. — 2003. — Т. 5. — № 2. — С. 32–38.
2. Белякин, С. А. Смертность от цирроза печени как индикатор уровня потребления алкоголя в популяции / С. А. Белякин, А. Н. Бобров // Вестник Российской военно-медицинской академии. — 2009. — Т. 3. — С. 189–194.
3. Долгих, М. С. Перспективы терапии печеночной недостаточности с помощью стволовых клеток / М. С. Долгих // Биомедицинская химия. — 2008. — Т. 54, Вып. 4. — С. 376–391.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. член-корр. РАМН проф. Р. У. Хабриева. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 2005. — 832 с.
5. Constandinou, C. Modeling liver fibrosis in rodents / C. Constandinou, N. Henderson, J. P. Iredale // Methods Mol Med. — 2005. — Vol. 117. — С. 237–250.
6. Abalde, J. G. Animal model of portal hypertension / J. G. Abalde, M. Pasarin, J. C. Garcia-Pagan // World J. Gastroenterol. — 2006. — Vol. 12, № 41. — P. 6577–6584.
7. Hayashi, H. Animal models for the study of liver fibrosis: new insights from knockout mouse models / H. Hayashi, T. Sakai // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. — 2011. — Vol. 300(5). — С. 729–738.
8. Лопухин, Ю. М. Экспериментальная хирургия / Ю. М. Лопухин. — М.: Медицина, 1971. — 344 с.
9. A stable model of cirrhotic portal hypertension in the rat: thioacetamide revisited / W. Laleman [et al.] // Eur. J. Clin. Invest. — 2006. — Vol. 36, № 4. — P. 242–249.
10. Evaluation of different models of experimentally induced liver cirrhosis for MRI research with correlation to histopathologic findings / B. Krefl [et al.] // Invest. Radiol. — 1999. — Vol. 34, № 5. — P. 360–366.
11. Jiang, Y. Changes in the gene expression associated with carbon tetrachloride-induced liver fibrosis persist after cessation of dosing in mice / Y. Jiang [et al.] // Toxicol. Sci. — 2004. — Vol. 79, № 2. — P. 404–410.
12. Jimenez, W. Carbon tetrachloride induced cirrhosis in rats: a useful tool for investigating the pathogenesis of ascites in chronic liver disease / W. Jimenez, J. Claria, V. Arroyo // J Gastroenterol Hepatol. — 1992. — № 7. — С. 9097.
13. Mullen, K. D. Problems with animal models of chronic liver disease: suggestions for improvement in standardization / K. D. Mullen, A. J. McCullough // Hepatology. — 1989. — № 9. — P. 500–503.
14. Tu, C. T. Antifibrotic activity of rofecoxib in vivo is associated with reduced portal hypertension in rats with carbon tetrachloride-induced liver injury / C. T. Tu, J. S. Guo, M. Wang // J. Gastroenterol. Hepatol. — 2007. — Vol. 22, № 6. — P. 877–884.
15. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. — М.: Медицина, 1990. — 383 с.

Поступила 02.02.2012

УДК 616-079:575

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНОДИАГНОСТИКИ В МЕДИЦИНЕ

Н. Е. Фомченко, Е. В. Воропаев, Е. В. Серикова

Гомельский государственный медицинский университет

Фундаментальные исследования в генетике обеспечивают прогресс медицины. Генетический подход позволяет приблизиться к пониманию биологической сущности заболеваний, а получаемые при таком подходе данные создают базу для дальнейшего развития теоретической, клинической и профилактической медицины. Молекулярно-генетические методы в диагностике болезней сегодня — это большая и разнообразная группа методов, предназначенных для выявления полиморфизмов в структуре гена.

Значимость молекулярной диагностики для медицины очевидна: это раннее выявление болезни и лечение препаратами, которые считаются безопасными и эффективными на основании молекулярной диагностики; интеграция молекулярной диагностики и терапии; мониторинг лечения и определение прогноза.

Ключевые слова: генодиагностика, молекулярная биология, ПЦР, биочипы.

PROSPECTS OF THE APPLICATION OF GENE DIAGNOSTICS IN MEDICINE

N. E. Fomchenko, E. V. Voropayev, E. V. Serikova

Gomel State Medical University

Basic researches in genetics provide progress of medicine. The genetic approach allows get closer to understanding of biological essence of diseases, and data obtained at such approach create base for the further development of theoretical, clinical and preventive medicine. Molecular-genetic methods in diagnostics of illnesses today is a big and various group of methods of the variations intended for revealing in structure of a gene. The importance of molecular diagnostics is obvious to medicine is both early revealing of illness and choice of adequate treatment; treatment by a preparation which is considered safe and effective on the basis of molecular diagnostics; integration of molecular diagnostics and therapy; monitoring of treatment and definition of the forecast.

Key words: gene diagnostics, molecular biology, PCR, biochips.

Введение

Прогресс медицины обеспечивается фундаментальными разработками, среди которых на одном из первых мест находятся генетические исследования. Молекулярная диагностика — активно развивающаяся область медицины, в основе которой лежит понимание механизмов развития заболеваний на молекулярном уровне. В геноме человека насчитывается большое количество различных генов, и изменения в их структуре или регуляции синтеза белка могут приводить к появлению и развитию болезни. Генетические факторы являются не модифицируемыми факторами риска заболеваний, а генотип человека не меняется в течение жизни, и использование методов молекулярной диагностики позволяет выявлять наследственные заболевания на любой стадии развития организма, в том числе и до рождения (пренатальная диагностика). Впервые диагноз «Гемофилия» был поставлен еще до рождения ребенка в 1989 г. в Санкт-Петербурге, в Институте акушерства и гинекологии имени Д. О. Отта. Затем пренатальная диагностика позволила выявить такие тяжелейшие генные патологии, как муковисцидоз, миодистрофия Дюшена, фенилкетонурия, синдром ломкой X-хромосомы. Сейчас известны гены наиболее частых (около 320) и сравнительно редких (около 170) наследственных болезней. Для многих болезней с поздним началом (хорея Гентингтона, миотоническая дистрофия) доклиническая диагностика предрасположенности является по существу предсказывающей. При многих генных болезнях расшифрованы нарушения в звеньях обмена веществ, по которым развивается наследственно обусловленный патологический процесс, начиная от аномального генного продукта и заканчивая клинической картиной на уровне метаболических и внутриклеточных процессов. Исследования часто проводят лишь для подтверждения уже установленного диагноза. В этих случаях задача исследования — установить корреляцию между генотипом и фенотипом, то есть на осно-

вании мутации предсказать тяжесть заболевания. Методы молекулярной диагностики позволяют выявить не только гены наследственных болезней, но и гены предрасположенности к тому или иному заболеванию. Среди болезней, вызванных наличием в геноме генов предрасположенности, различают заболевания с поздним началом, которые генетически могут быть обнаружены уже при рождении ребенка, однако видимые симптомы развиваются в более позднем возрасте: рак молочной железы, хорея Гентингтона, болезнь Альцгеймера, семейный полипозный рак толстого кишечника, ряд нейродегенеративных заболеваний и мультифакториальные болезни, которые также определяются при рождении, но проявляются только при неблагоприятных внешних факторах: сахарный диабет, артериальная гипертензия; атеросклероз, онкологические заболевания. Одной из задач генодиагностики является изучение на молекулярном уровне причин возникновения инфекций и механизмов их развития. Основу генодиагностики инфекционных болезней составляют молекулярные методы исследований, направленные на обнаружение генетического материала возбудителей инфекций: бактерий, вирусов, паразитарных агентов, простейших, риккетсий. Преимущество генодиагностики заключается в том, что она дает возможность выявить склонность к тому или иному заболеванию задолго до его клинических проявлений, вовремя принять профилактические меры, предотвратив его развитие или облегчив его течение, и с учетом индивидуальных особенностей применять терапию.

Цель

Обзор современного состояния генодиагностики и сфер ее применения, недоступных при использовании классических методов.

Материалы и методы

Представлен обзор научных источников по вопросам использования молекулярной биологии в медицине.

Результаты и обсуждение

С началом XXI в. биологические науки и медицина вступили в новую эру, отличитель-

ной чертой которой является использование генетических технологий, необходимых для понимания структурно-функциональной организации гено типа человека в норме и при патологии. Суть этих технологий состоит в проведении манипуляций с наследственными структурами на молекулярном, геномном, хромосомном и геномном уровнях. Молекулярно-генетические методы позволяют диагностировать самые сложные перестройки, выявлять мутации на уровне замены или делеции одного нуклеотида в делящихся и неделящихся клетках; выявлять причину и формировать представление о патогенезе заболеваний, а также более полно изучать клинические проявления разных форм патологии.

В настоящее время лабораторная диагностика наследственных болезней осуществляется на следующих уровнях организации и функционирования генома: выявление этиологического звена на основе характеристики хромосомного набора или на уровне ДНК (генные мутации); идентификация первичного продукта гена биохимическими или иммунохимическими методами; регистрация специфических метаболитов измененного обмена (фенотипический уровень) [1].

Генодиагностика — это относительно новый раздел диагностики, который позволяет обнаруживать гены или последовательности нуклеиновой кислоты, специфичные для определенного заболевания или вида возбудителя инфекционного заболевания, и ее место в современной медицине обусловлено несколькими моментами: точностью диагностики на уровне первичного звена; широким диапазоном возможностей (подтверждающая, доклиническая, пренатальная диагностика заболеваний); возможностью широкого применения в скрининговых программах; малым количеством биологического материала [2].

Главный итог генетических исследований для медицины — создание генетических технологий, которые обеспечили принципиально новые подходы к диагностике и лечению болезней. Методы генодиагностики широко востребованы в теоретических (расшифровка явлений генетической гетерогенности наследственных болезней; выяснение причин клинического полиморфизма наследственных болезней; раскрытие природы болезней с наследственной предрасположенностью), клинических (подтверждающая диагностика наследственных болезней; пренатальная и предимплантационная диагностика; диагностика гетерозиготного носительства; пресимптоматическая (предсказательная) генодиагностика; диагностика фармакогенетических реакций) и профилактических (диагностика инфекционных болезней и носительства инфекционных агентов; диагностика экогенетических вариантов предрасположенности; мониторинг влия-

ния окружающей среды на наследственность человека) областях медицины [2].

В 1953 г. Дж. Уотсон и Ф. Крик опубликовали работу, посвященную структуре ДНК, в которой указывалось, что основной принцип, лежащий в основе живой материи — принцип комплементарности [3, 4]. Однонитевая цепь ДНК взаимодействует только с цепью ДНК, обладающей комплементарной последовательностью, и образует комплекс из двух нитей [5, 6]. Этот принцип широко и успешно используется для решения различных научных проблем, в том числе для идентификации патогенных микроорганизмов.

Однако метод генодиагностики, основанный на реакции гибридизации ДНК с ДНК, не отличается высокой чувствительностью и малоинформативен при диагностике инфекционных состояний.

Следующим шагом молекулярной биологии было создание способа исследования, получившего название «полимеразной цепной реакции» (ПЦР) [7]. Принцип ПЦР был описан в 1983 г. К. Мюллисом — американским биохимиком фирмы «Cetus» [3, 5, 7], за что ему в 1993 году была присуждена Нобелевская премия в области химии. В основе метода лежит многократное копирование (амплификация) с помощью фермента ДНК-полимеразы определенного фрагмента ДНК по принципу комплементарности, который является маркерным для заболевания или данного вида инфекционного возбудителя и позволяет обнаружить несколько специфических молекул ДНК в присутствии миллионов других молекул [8]. Особенно бурное развитие ПЦР получила благодаря международной программе «Геном человека». Были созданы современные лазерные технологии секвенирования (расшифровки нуклеотидных последовательностей ДНК). Это в свою очередь способствовало значительному росту информационных баз данных, содержащих последовательности ДНК. В настоящее время предложены различные модификации ПЦР, показана возможность создания тест-систем для обнаружения микроорганизмов, выявления точечных мутаций [9, 10].

Существуют качественный и количественный варианты ПЦР. Качественную ПЦР можно использовать в следующих случаях: диагностика инфекционных заболеваний, вызванных безусловными патогенами; выявление инфекционных агентов перед проведением количественной ПЦР; диагностика онкологических заболеваний; диагностика генетических заболеваний; идентификация личности; скрининг генетически модифицированных источников пищи.

Создание новых технологий позволило перейти на качественно новый уровень — количественную ПЦР. В настоящее время наиболее

перспективным представляется метод ПЦР в реальном времени (англ. Real-Time PCR). Сущность метода заключается в исследовании накопления продуктов амплификации с помощью специального прибора без последующего электрофореза. Так как кинетика накопления продуктов амплификации связана с исходным количеством матрицы, это дает возможность точно оценить ее количество. Отличительными чертами данного метода является возможность количественного определения ДНК/РНК инфекционных агентов в исследуемом материале, отсутствие стадии электрофореза, менее строгие требования к организации ПЦР-лаборатории, автоматическая регистрация и интерпретация полученных результатов. Отсутствие стадии электрофореза позволяет минимизировать риск контаминации продуктами ПЦР и таким образом уменьшить число ложноположительных результатов. При детекции различных вариантов мутаций при анализе структуры ДНК расшифровка ее последовательности остается методом золотого стандарта в области ДНК-анализа [11–13].

Перспективными направлениями практического использования диагностики, основанной на использовании принципов ПЦР, являются: ДНК-диагностика доброкачественных и злокачественных новообразований; изучение генетической основы заболеваний, возможность диагностирования и начала лечения болезни до появления ее симптомов; идентификация личности: судебная медицина, криминалистика; трансплантация органов и тканей; определение отцовства; диагностика патогенов в пище [8]. ПЦР также используется для постановки и (или) подтверждения диагноза, контроля терапии в акушерско-гинекологической практике, неонатологии, педиатрии, урологии, венерологии, нефрологии, гепатологии, пульмонологии, офтальмологии, неврологии, фтизиатрии, для диагностики инфекционных заболеваний.

ПЦР возникла гораздо позже методов, основанных на микробиологических и иммунологических принципах, и имеет принципиальное преимущество перед культуральными методами. Диагностические возможности ПЦР не ограничиваются способностью микроорганизма расти на искусственных средах или в культуре клеток, поэтому основное преимущество ПЦР перед культуральными методами состоит не только в чувствительности ПЦР (так как чувствительность этих методов является сопоставимой), а в способности идентифицировать, определять свойства и работать с большим количеством различных микроорганизмов, которые не удастся по тем или иным причинам определять культуральными методами. Метод ПЦР обладает высокой чувствительностью, дающей возможность обнаруживать еди-

ничные бактериальные клетки или вирусные частицы. Преимущество диагностики, основанной на использовании ПЦР, перед золотым стандартом, которым считается культивирование микроорганизмов, состоит в следующем: более высокая частота обнаружения микроба, время обнаружения возбудителя составляет 4–5 часов; определение возбудителей в образцах, взятых неинвазивным путем, например, в порциях мочи (хламидий) [7, 8].

В настоящее время идет активное внедрение генодиагностики в медицину для установления причин инфекционных заболеваний, а также механизмов, путей и факторов их передачи. Спектр инфекционных заболеваний, которые можно успешно диагностировать с помощью ПЦР, довольно широк: подавляющее большинство известных бактериальных, вирусных, протозойных, грибковых и паразитарных инфекций. При ВИЧ-инфекции использование ПЦР позволяет выявлять инфекцию на ранних ее этапах, до сероконверсии, что очень важно при проверке переливаемой крови. Наиболее актуальным является изучение вирусных гепатитов (А, В, С, D), инфекций моче-половых органов (герпес, цитомегаловирусная инфекция, вирус папилломы человека, хламидиоз, уреоплазмоз, трихомониаз, микоплазмоз, гонорея, сифилис), кишечных инфекций (сальмонеллез, дизентерия, энтеро- и ротавирусные), заболевания нервной системы (герпетический, энтеровирусный, Западно-Нильский и клещевой энцефалиты, серозные менингиты) [14]. Ранняя исчерпывающая полная диагностика создает предпосылки для проведения противоэпидемических и профилактических мероприятий.

Обсуждая возможности ПЦР, необходимо рассмотреть использование этого метода для преодоления трудностей, возникающих при диагностике возбудителей инфекционных заболеваний с характерным дрейфом поверхностных антигенов. Многие патогенные бактерии, такие как гонококки, менингококки, боррелии, микоплазмы противостоят иммунной системе организма хозяина, поскольку постоянно изменяют антигенную структуру поверхностных детерминант, способных индуцировать протективный иммунный ответ. Молекулярный механизм, обеспечивающий постоянную изменчивость поверхностных структур, хорошо изучен и получил название каскадного механизма. Антигенный дрейф позволяет микроорганизму постоянно уходить от атаки иммунной системы, пролонгируя инфекционный процесс, переводя его в хроническую стадию. Однако при постоянной смене антигенных детерминант начинают вырабатываться низкоавидные антитела на константные части антигенов. Бактериальной клетке необходимо при-

нять решение: сдаться в этой борьбе или найти еще какой-либо механизм, позволяющий уйти от атаки иммунной системы. Такой механизм действительно существует. Используя технологию ПЦР, удалось продемонстрировать, что у персистирующих форм микоплазм выключается экспрессия генов, кодирующих синтез антигенных детерминант, что отрицательно сказывается на их потенции к размножению, но в то же время дает возможность сохраниться, пролонгируя инфекционный процесс [15].

Использование гибридационных технологий открывает новые перспективы генодиагностики вирусных гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС). Для детекции генетических изменений, встречающихся в популяции вирусов В и С (все негативные мутанты ВГВ и генотипы ВГС), возможно использование принципа обратной гибридизации с типоспецифичным зондом. Благодаря методу ПЦР стало возможным выявлять не только ДНК/РНК вирусных гепатитов, но и определять фрагменты генома вируса, в которых произошла мутация. Так, например, оказалось, что НВе-негативный хронический гепатит В (при котором не выявляется НВеАg) — это мутант вируса гепатита В, его мутация произошла в области кодирующей НВеАg (ргесоге мутантный вариант), и инфекция этим вариантом вируса имеет свою клиническую картину. НВе-негативный хронический гепатит В обладает большим циррозогенным потенциалом и менее эффективно лечится. Открытие мутаций в зоне кодирующей НВsАg показало, что современная вакцина не сможет предупредить инфекцию этим вариантом вируса (HBV escape вариант) [16]. У небольшого процента больных хроническим гепатитом В вообще не выявляется НВsАg, что, возможно, тоже связано с мутационным процессом, и методом диагностики в данном случае является выявление ДНК ВГВ в сыворотке крови. Молекулярно-биологические методы изучения мутационного процесса позволили показать, что возможно как первичное заражение мутантным вариантом ВГВ, так и инфицирование «диким» вариантом с последующей мутацией его в процессе длительной персистенции вируса в организме человека.

ПЦР, исходным материалом для которой является РНК с последующим переводом ее в стабильную комплементарную ДНК (кДНК) путем обратной транскрипции (англ. reverse transcription polymerase chain reaction — RT-PCR), принято обозначать как ОТ-ПЦР. ОТ-ПЦР в настоящее время является единственным высокочувствительным методом диагностики острого гепатита С и обнаружения серонегативных пациентов с хроническим гепатитом С. ОТ-ПЦР дает возможность провести генотипирование РНК содержащих вирусов, таких как ВГС и ВИЧ, ко-

личественную оценку уровня вiremии, что позволяет выбрать наиболее благоприятный момент для начала противовирусной терапии и прогнозировать ее исход. С помощью ОТ-ПЦР можно обнаружить и исследовать репликацию ВГС, установить этиологическую и патогенетическую роль ВГС в различных внепеченочных синдромах. Упрощение, стандартизация и автоматизация этого метода позволят использовать его при исследовании донорской крови и трансплантируемых органов.

В настоящее время существуют следующие направления исследований в инфекционной патологии, в решении которых ПЦР играет ведущую роль:

1. Диагностика хронических инфекционных состояний, обусловленных персистенцией бактерий или вирусов.

2. Идентификация и молекулярно-генетические исследования практически всех внутриклеточных и мембранных паразитов, таких как вирусы, риккетсии, хламидии, микоплазмы.

3. Выявление и изучение возбудителей, которые, находясь в «некультивируемом» состоянии, способны там сохраняться, переживая неблагоприятные внешние условия (вирусы гепатитов В и С, герпесвирусы).

4. Определение антибиотикорезистентности у медленно растущих и трудно культивируемых бактерий (*H. pylori*).

5. Одновременное выявление нескольких (в настоящее время до пяти) ДНК-мишеней при использовании мультиплексной ПЦР, что позволяет, например, проводить определение большого числа генотипов вируса папилломы человека (ВПЧ).

6. Выявление живых форм возбудителей [8].

Решение последней задачи достигается при использовании NASBA-ПЦР (Nucleic Acids Sequence-Based Amplification), где ПЦР-мишенью служат молекулы РНК рибосом микроорганизмов, что позволяет проводить выявление только живых микроорганизмов [17].

Таким образом, технология ПЦР — мощный инструмент, обеспечивающий возможность изучения и диагностики хронических инфекционных процессов, экологии возбудителей инфекционных заболеваний. ПЦР — это наиболее чувствительный метод диагностики хронических и латентных инфекций, а также оценки эффективности проведенного лечения. Количественное определение ДНК инфекционных агентов в ходе лечения позволяет получать информацию о правильности или безрезультатности проводимой терапии, помогает предсказывать периоды обострения заболевания и принимать адекватные меры для скорейшего излечения больного без нанесения ущерба его здоровью, связанного с неэффективной терапией.

С развитием нанотехнологий средствами медицинской диагностики станут автоматизированные системы гибридного анализа, использующие биологические микрочипы (biochips). Создание технологии микрочипов, позволяющей проводить экспресс-анализ разнообразного биологического материала, признано одним из 10 крупнейших научных достижений последних лет [18]. Изобретены биочипы в конце 90-х годов прошлого века в России и в США. В России биочипы были разработаны А. Мирзобековым в Институте молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН.

ДНК-микрочип (англ. DNA-microarray) — сложная технология, используемая в молекулярной биологии и медицине, он представляет собой небольшую поверхность, на которую с большой плотностью в определенном порядке нанесены фрагменты одноцепочечной синтетической ДНК с известной последовательностью. Эти фрагменты выступают в роли зондов, с которыми гибридизуются (образуют двуцепочечные молекулы) комплементарные им цепи ДНК из исследуемого образца. Чем больше в образце молекул ДНК с определенной последовательностью, тем большее их количество свяжется с комплементарным зондом. После гибридизации поверхность микрочипа сканируется, и в результате каждой последовательности ДНК ставится в соответствие тот или иной уровень сигнала, пропорциональный числу молекул ДНК с данной последовательностью, присутствующих в смеси. В зависимости от количества и плотности нанесения зондов на поверхность различают микрочипы высокой и низкой плотности. Микрочипы высокой плотности используют в научных исследованиях, низкой — для диагностики заболеваний или определения узкого спектра компонентов в анализируемых образцах среды или товаров [19].

Биологические микрочипы являются одним из наиболее быстро развивающихся экспериментальных направлений современной биологии. Существует 2 основных типа биочипов: первый — это микроматрицы различных соединений, главным образом, биополимеров, иммобилизованных на поверхности стекла, в микрокаплях геля, в микрокапиллярах; другим типом биочипов являются миниатюризованные «микроработатории». Эффективность биочипов обусловлена возможностью параллельного проведения огромного количества специфических реакций и взаимодействий молекул биополимеров, таких как ДНК, белки, полисахариды, друг с другом и низкомолекулярными лигандами, что позволяет собрать и обработать на отдельных элементах биочипа огромное количество биологической информации [20].

В настоящее время биологические микрочипы применяют для экспресс-диагностики социально значимых инфекционных, онкологических, сердечно-сосудистых и наследственных заболеваний (анализ изменения экспрессии генов, выявление однонуклеотидных полиморфизмов, генотипирование или повторное секвенирование мутантных геномов), выявление заранее определенных компонентов среды и в научных исследованиях [19].

Заканчивая представленный небольшой обзор по перспективам развития молекулярно-генетических технологий, нельзя не обратить внимание на новые разработки в области автоматизированного анализа структуры ДНК. Совсем недавно появились геномные секвенаторы, производительность которых измеряется сотнями миллиардов пар оснований, что позволяет расшифровывать индивидуальный геном человека всего за несколько дней [21–23].

Заключение

Итак, благодаря молекулярно-генетическим исследованиям, расшифрован не только полный геном современного человека, но и геномы различных микроорганизмов, выявлены, картированы и изучены патологически измененные последовательности ДНК, проведен анализ полиморфизма генов, обуславливающих развитие заболеваний, что важно для понимания происхождения болезней, их механизмов, для профилактики, а также нахождения способов диагностики и лечения.

Знание механизмов развития патологических процессов позволит разработать и оптимизировать способы регулирования нарушенной функции клетки и всего организма в целом, что означает постановку точного диагноза и прогноза характера течения различных заболеваний. Это в свою очередь даст возможность производить подбор лекарственного препарата с учетом чувствительности организма, специфических средств его доставки в пораженную клетку с последующим исцелением на молекулярно-генетическом уровне с учетом генетических различий в реакциях на применение лекарственных средств и наметить наиболее эффективные пути адекватного лечения.

Дальнейшее исследование генома человека позволит получить более полную информацию о функции генов и их взаимодействии между собой и с окружающей средой, что имеет огромное значение для различных отраслей медицинской и биологической науки.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бочков, Н. П. Вклад генетики в медицину / Н. П. Бочков // Неврология и психиатрия. — 2002. — Т. 102, № 2. — С. 3–15.
2. Бочков, Н. П. Место генодиагностики и генотерапии в современной медицине / Н. П. Бочков // Молекулярная медицина. — 2005. — № 3. — С. 12–16.

3. Саики, Р. Полимеразная цепная реакция. Анализ генома. Методы / Р. Саики, У. Гиленстен, Г. Эрлих. — М.: Мир, 1990. — С. 176–190.
4. Херрингтон, С. Молекулярная клиническая диагностика. Методы / С. Херрингтон, Дж. Макгли. — М.: Мед. книга, 1999. — 433 с.
5. Ллуелин, М. Б. Определение нуклеотидной последовательности ДНК. Молекулярная клиническая диагностика. Методы / М. Б. Ллуелин. — М.: Мир, 1999. — С. 428–447.
6. Уимсон, Д. Молекулярная биология клетки / Д. Уимсон, Т. Хант. — М.: Медицина, 1994. — 322 с.
7. Макреди, Б. Дж. Обнаружение и идентификация патогенных микроорганизмов молекулярными методами. Молекулярная клиническая диагностика. Методы / Б. Дж. Макреди, Д. А. Чимера. — М.: Мир, 1999. — С. 496–506.
8. Гинцбург, А. Л. ПЦР — современный метод клинической лабораторной диагностики / А. Л. Гинцбург // Микробиология, иммунология и вирусология. — 1999. — № 5. — С. 22–26.
9. Пальцев, М. А. Введение в молекулярную медицину / М. А. Пальцев, под ред. М. А. Пальцева. — М.: Медицина, 2004. — 496 с.
10. Олецкий, Э. И. Современные методы молекулярной биологии и их прикладное значение / Э. И. Олецкий, А. Д. Таганович. — М.: Мед. книга, 1999. — 56 с.
11. Ririe, K. M. Product differentiation by analysis of DNA melting curves during the polymerase chain reaction / K. M. Ririe, R. P. Rasmussen, C. T. Wittwer // *Anal Biochem.* — 1997. — Vol. 245. — P. 154–160.
12. Reed, G. H. High-resolution DNA melting analysis for simple and efficient molecular diagnostics / G. H. Reed, J. O. Kent, C. T. Wittwer // *Pharmacogenomics.* — 2007. — Jun. 8 (6). — P. 597–608.
13. Amplicon DNA melting analysis for mutation scanning and genotyping: cross-platform comparison of instruments and dyes / M. G. Hermann [et al.] // *Clinical Chemistry.* — 2006. — Vol. 52. — P. 494–503.
14. Амвросьева, Т. В. Генодиагностика инфекционных болезней / Т. В. Амвросьева // *Медицинские новости.* — 2004. — № 2. — С. 21–23.
15. Полимеразная цепная реакция — современный метод клинической лабораторной диагностики / С. А. Костюк [и др.] // *Медицинские новости.* — 2004. — № 2. — С. 24–30.
16. Margeridon, S. A quasi-monoclonal anti-HBs response can lead to immune escape of 'wild-type' hepatitis B virus / S. Margeridon, A. Lachaux, C. Trepo // *Gen Virol.* — 2005. — Vol. 86 (Pt 6). — P. 1687–1693.
17. NASBA isothermal enzymatic in vitro nucleic acid amplification optimized for the diagnosis of HIV-1 infection / T. Kievits [et al.] // *Journal of virological methods.* — 1991. — Vol. 35 (3). — P. 273–286.
18. Барыбин, А. С. Будущее нанотехнологий в медицине / А. С. Барыбин // *Молекулярная медицина.* — 2010. — № 1. — С. 3–8.
19. Стрельников, В. В. ДНК-микрочипы в диагностике онкологических заболеваний / В. В. Стрельников, В. В. Землякова, И. П. Белецкий // *Молекулярная медицина.* — 2008. — № 5. — С. 4–11.
20. Мирзабеков, А. Д. Биочипы в биологии и медицине XXI века / А. Д. Мирзабеков // *Вестник РАН.* — 2009. — Т. 73, № 5. — С. 412.
21. Зубов, В. В. Приборы для чтения ДНК / В. В. Зубов // *Химия и жизнь.* — 2010. — № 7. — С. 4–7.
22. Suzuki, S. Comparison of Sequence Reads Obtained from Three Next-Generation Sequencing Platforms Publication / S. Suzuki // *PLoS ONE.* — 2011.
23. <http://www.oml.gov/sci/techresources/HumanGenome/publicat/publications.shtml>.

Поступила 30.01.2012

УДК 616.523-08:616.851

ПРИМЕНЕНИЕ ПСИХОТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ТЯЖЕЛОЙ ФОРМЫ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ (обзор литературы)

Н. П. Шилова

Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель

В статье описываются подходы в диагностике и лечении хронических дерматозов, в том числе рецидивирующей герпетической инфекции, основанные на изучении психологических особенностей пациентов. Акцентируется внимание на применении психотерапевтических методов в сочетании с традиционными методами лечения.

Ключевые слова: психодерматология, рецидивирующая герпетическая инфекция, психотерапия, психологическое консультирование, психопрофилактика.

APPLICATION OF PSYCHOTHERAPY IN COMPLEX TREATMENT FOR SEVERE HERPETIC INFECTION (literature review)

N. P. Shilova

Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel

The article describes approaches to the diagnosis and treatment for chronic dermatosis, including recurrent herpetic infection, based on studying of the psychological characteristics of patients. The attention is focused on the application of psychotherapeutic methods in the combination with traditional management methods.

Key words: psychodermatology, recurrent herpetic infection, psychotherapy, psychological counseling, psychoprophylaxis.

За последние годы во всем мире отмечается тенденция к распространению рецидивирующего герпеса. В настоящее время 100 тыс.

населения мира инфицировано вирусами простого герпеса, до 12 % — страдают рецидивирующими формами герпесвирусных заболева-