

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ СМЕНЫ ПАРАДИГМЫ МЕДИЦИНСКОЙ ИНДУСТРИИ.

Вервекин И.В., Карпова Г.К., Федорова И.С., Эмануэль В.С.

ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Объектом деятельности службы практического здравоохранения принято считать общественное и индивидуальное здоровье, а целью - укрепление и охрану здоровья. Эти положения закреплены и определены термином «здравоохранение». Общеизвестен и термин «здоровье» - как состояние полного физического, психического и социального благополучия, а не только как отсутствие болезней или физических дефектов. При этом известно, что сегодня здравоохранение, как совокупная медицинская деятельность, влияет на состояние индивидуального и общественного здоровья примерно на 15-20 %. На оставшиеся 80%, составляющих здоровье, практическая медицинская деятельность влияния не оказывает и, следовательно, не соответствует здравоохранительным задачам, т.е. нарушается целостность терминов «здоровье» и «здравоохранение».

Есть основания рассчитывать на то, что лабораторная медицина сумеет внести изменения в систему здравоохранения в истинном ее смысле - охрана здоровья. Это обосновано тем, что в структуре причин заболеваемости и смертности около 70% приходится на болезни неинфекционного характера, обусловленными генетически детерминированными «биологическими дефектами», выявляемыми лабораторными методами на стадии предболезни. А научные достижения в освоении геномных технологий позволяют вплотную подойти к формированию «Паспорта здоровья», и основной национальной идеей России становится диспансеризация здоровья населения. Для интерпретации лабораторных данных все шире применяются т.н. экспертные системы: от данных к знаниям – технологии Data Mining.

Круг перечисленных вопросов является предметом для «эсперанто» между клиникой и лабораторией для формирования инструмента познания, сближая «объектив»-in vitro технологии и «окуляр»-in vivo диагностику для создания мощного «телескопа», направленного в неисчерпаемую тайну мироздания - Человека.

ВЛИЯНИЕ БИНАЗЫ НА ДИНАМИКУ НАКОПЛЕНИЯ РНК NP БЕЛКА В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Галимов М.А., Шах Махмуд Р.

ФГОАУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, Россия.

Введение. Используемые в настоящее время лекарства и вакцины для профилактики и лечения гриппа требуют ежегодного обновления. В настоящее время известно о противовирусном действии многих рибонуклеаз (РНказ). Среди РНказ, бактериальная РНказа *Bacillus pumilus* (биназа), показывающая противовирусное действие в отношении вируса гриппа А может стать альтернативной терапией против вируса гриппа А.

Целью нашей работы явилось установление действия биназы на накоплении РНК рибонуклеопротеина, кодирующего NP белок в клетках млекопитающих. Для достижения поставленной цели были выдвинуты следующие задачи:

- 1) Установить динамику накопления новых РНК NP белка в культуре клеток млекопитающего MDCK II в течение одного цикла.
- 2) Выяснить действие биназы в культуре клеток MDCK-II на уровень РНК NP белка в течение первого цикла.

Материалы и методы. В работе была использована тотальная РНК, выделенная из клеточной культуры MDCK-II (клетки почки собаки кокер-спаниеля), зараженной двумя штаммами и обработанными биназой. Клетки культивировались в среде DMEM (среда Игла, модифицированная Дюль-бекко). Монослои клеток MDCK-II инкубировали в течение 24 ч, при 37 °С и 5% CO₂ и далее контрольные и опытные клетки обработали без или с биназой в концентрации 100 мкг/мл, соответственно. Для того, чтобы оценить уровень экспрессии vРНК контрольные и обработанные клетки были инкубированы в течение 8 часов. Через каждые 2 часа были отобраны клеточные образцы для выделения тотальной РНК. Выделение тотальной РНК проводили с использованием коммерческого реагента в соответствии с рекомендуемым протоколом. Равные объемы суммарной РНК были использованы для получения кДНК из vРНК NP белка с использованием коммерческого набора. Количественные определения оценили при помощи амплификатора в реальном времени. Полученные данные в виде Ct подвергались относительному анализу.

Результаты и обсуждение. Ранее нами было установлено, что биназа уменьшает титр вируса гриппа после одноциклового и многоциклового репликации штаммов в клетках A549 и MDCK-II [Shah Mahmud *et al.*, 2017; 2018]. В данном исследовании нами показано, что биназа подавляет накопление трех типов РНК двух штаммов в последней стадии первого цикла. Каждый час количество РНК увеличивается для обоих штаммов.

На 8 часу инкубации уровень вРНК в клетках обработанных биназой падает на 31,5 – 39,0% по сравнению с клетками, которые были не обработаны.

Результаты, полученные в настоящей работе, показывают идентичный эффект биназы против обоих штаммов H3N2 и H1N1 на геномном уровне. Уровень РНК начинает падать с 6 часа после заражения, что говорит о действии биназы на оба штамма в независимости от штаммовой вариации.

Заключение. Исследования Шах Махмуда с соавт. из предыдущих работ и результаты полученные в данной работе показывают, что биназа может стать перспективной альтернативой нынешней противовирусной терапии, в независимости от штаммовой вариации, для которой используются противовирусные препараты, блокаторы нейраминидазы и блокаторы ионного канала M2, которые в свою очередь, эффективны только против определенных штаммов.

Вся опытная работа проводилась в соответствии с требованиями и рекомендациями соответствующих учреждений и государственных организаций.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ МЕТОДИКА НА ОСНОВЕ ОТ-ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ SARS-COV-2 ИНФЕКЦИИ.

Гончарова Е.А., Кассиров И.С., Долгова А.С., Дедков В.Г.

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Введение. В декабре 2019 года в городе Ухань, провинция Хубэй, Китай, появилось новое инфекционное респираторное заболевание [1]. Предположительно источником заражения послужил контакт с животными, далее вирус передавался от человека к человеку, что послужило толчком к распространению в Китае, а также в других странах (Сингапур, Япония, Южная Корея, Гонконг, Таиланд, Тайвань, Малайзия, Германия, Вьетнам, Австралия, Франция, США и другие). На данный момент вирус SARS-CoV-2 представляет собой высоковирулентный штамм с летальностью порядка 3% [2]. В связи с отсутствием патогномичных признаков, отличающих вирус от других возбудителей ОРВИ, а также с угрозой глобального распространения, создание высокочувствительных и специфичных средств диагностики является актуальной задачей.

Цель и задачи. Создание диагностической методики на основе ОТ-ПЦР в реальном времени для определения молекулярных маркеров генома вируса SARS-CoV-2.

Материалы и методы. В качестве детектируемой последовательности был выбран консервативный участок гена РНК-зависимой РНК полимеразы SARS-CoV-2. Дизайн праймеров и зонда проводился с учетом общих требований, предъявляемых при проектировании тест-систем в формате ОТ-ПЦР в реальном времени. Температуры плавления, термодинамические характеристики праймеров и зонда рассчитывались при помощи программ Oligonucleotide Properties Calculator и MFold. При синтезе зонда использовался флюорофор родамин 6G, а качестве гасителя – BHQ-1. В качестве положительного контроля была сконструирована плазида, содержащая синтетический фрагмент ДНК, идентичный детектируемому участку последовательности SARS-CoV-2. Целевой участок был собран *de novo* методом ПЦР в один шаг [3]. Также с помощью сервиса BLAST NCBI был проведен сравнительный анализ специфичности праймеров *in silico*.

Для оценки аналитической чувствительности методики использовали десятикратные разведения положительного контрольного образца с известной концентрацией. Специфичность оценивали на панели, содержащей 21 гетерологичный штамм вирусозбудителей ОРВИ, принадлежащих к 11 различным семействам.

Основные результаты. При анализе специфичности праймеров *in silico* не было выявлено кросс-комплиментарности с основными штаммами респираторных вирусов, а также с ДНК человека. По результатам ОТ-ПЦР в реальном времени выявлена высокая чувствительность (10^3 ГЭ в мл образца) разработанной методики. При оценке специфичности диагностической методики ложноположительных результатов не зафиксировано.

Заключение. По результатам данной работы можно утверждать, что разработанная методика выявления генетических маркеров вируса SARS-CoV-2 обладает хорошими аналитическими характеристиками и может быть использована в качестве прототипа для создания диагностической системы, с последующим внедрением в практику.

МИКРОРНК-27а В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КАК ВОЗМОЖНЫЙ МАРКЕР ОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМА БЕЗ ПОДЪЕМА СЕГМЕНТА ST

Драганова А.С., Полякова Е.А., Колодина Д.А., Беляева О.Д., Беркович О.А.,
Зарайский М.И.

ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия