ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ ДНК ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР В ЭКЗОНАХ ГЕНОВ HMLH1 И HMSH2

Кузнецов О. Е.

Гродненский государственный медицинский университет

Актуальность. Возбудители инфекционных болезней играют важную роль в этиологии многих заболеваний, в том числе и злокачественных опухолей. Канцерогенез характеризуется фенотипически различными стадиями. Этот ступенчатый процесс сопровождается активацией транскрипции ряда онкогенов, а также уменьшением или полной потерей транскрипционной активности. Это изменение может быть определено с помощью обратной транскрипции с последующей стандартной полимеразной цепной реакцией (ПЦР) или полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ).

Известно, что вирус Аппштейна-Барра (VEB) является онкогенным. В зависимости от набора экспрессируемых вирусных генов в пораженных клетках выделяют три типа латентности (I, II, III), характерные для различных видов лимфом: I тип – экспрессия EBNA-1 при VEB-положительной лимфоме Беркитта; II тип – экспрессия EBNA-1, LMP-1 и LMP-2 и является признаком VEB-положительной ходжкинской лимфомы, III тип – экспрессия всего набора белков VEB, наблюдается при лимфопролиферативных поражениях, возникающих у пациентов с тяжёлым иммунодефицитом. Индуцированные VEB злокачественные новообразования связаны с экспрессией латентных генов. Новообразования развиваются при комплексном взаимодействии VEB, иммуногенетических факторов, внешней среды и иммунодефицита [1].

Цель – разработать способ определения ДНК вируса Эпштейна-Барр в экзонах гена *hMLH1* и *hMSH2* методом ПЦР в образце биологического материала.

Методы исследования. Ипользован биоптатный материал нормальной или пораженной опухолью ткани (n=19), полученный при оперативных вмешательствах. Выделение геномной ДНК из образцов ткани, а также плазмы крови пациентов выполняли стандартными методами с использованием коммерчески доступных тест-систем. Проводили стандартный ПЦР анализ, в котором детектировали амплифицируемый фрагмент экзона гена. Молекулярно-генетическое исследование образцов ДНК на наличие мутаций в генах *hMLH1/hMSH2* проводили методом ПЦР-анализа: амплификацию ДНК выполняли по протоколу в автоматическом режиме на амплификаторе с применением последовательностей нуклеотидных оснований – праймеров, специфические транскрипты которых расположены в экзонах исследуемого гена. В последующем, в детективированных фагментах ДНК генов *hMLH1/hMSH2*, что при помощи ПЦР проводили амплификацию, по разработанному протоколу, с применением разработанных последовательностей

Репозиторий ГрГМУ

нуклеотидных оснований VEB (праймер-1 – AGTCAGACCTGAAGGAAGTCG; праймер-2 – TGTAAAACGACGGCCAGTAGTCAGACCTGAAGGAAGTCG; обратный праймер-1 – TGACTCAAATTCGCATGTCTGTGTA; обратный праймер-2 – CAGGAAACAGCTATGACCTGACTCAAATTCGCATGTCTGTGTA). Если праймеры VEB гибридизировались с ДНК экзонов гена *hMLH1/hMSH2* и образовывали с амплифицируемой ДНК устойчивое соединение, детектируемое в процессе ПЦР-реакции, констатировали факт присутствия в мутации экзона гена вирусной ДНК VEB. При отсутствии детектируемого фрагмента образца ДНК вируса, констатировали отсутствие VEB в образцах ДНК генов.

Результаты и их обсуждение. Для доказательства возможности осуществления способа определения ДНК вируса в экзонах генов *hMLH1* и *hMSH2* проведены молекулярно-генетические исследования биологического материала in vitro. В ходе проведения реакции выделения ДНК получено достаточное количество генетического материала для проведения исследования с молекулярным весом, достаточным для проведения реакций детекции мутаций в генах и вирусного генома по предложенному способу: детектированы мутации генов hMLH1/hMSH2 и выявлен встроенный в нее генетический материал вируса VEB, что позволяет расценивать геном вируса как онкогенный (причинно-следственная связь развития мутации).

Результаты исследования генетических изменений (мутаций) генов *hMLH1/hMSH2* (женщина, рак верхнеампулярного отдела прямой кишки) выполненные предложенным способом, позволили установить наличие генетических изменений в искомой последовательности гена *hMLH1* (экзон 11) и гена *hMSH2* (экзон 8). Результаты обнаруженных изменений подтверждены методом прямого секвенирования. В детектируемых фрагментах ДНК гена проведено определение ДНК вируса Эпштейн-Барр разработанным способом с использованием подобранны праймеров. По результатам исследования установлено, что в ДНК мутаций гена *hMLH1* (экзон 11) и гена *hMSH2* (экзон 8) детектируется генетический материал вируса Аппштейна-Барр.

Полученные результаты удовлетворяют требованим диагностического метода: выделена ДНК, детектированы изменения генов *hMLH1/hMSH2*, выполнен поиск мутаций, проведено контролное исследвание метдом прямого секвенирования, определено ДНК вирусного поисхождения.

Выводы. Разработанный способ определения ДНК VEB в экзонах генов *hMLH1* и *hMSH2* человека и набор для его осуществления на основе разработанных последовательностей нуклеотидных оснований (праймеров) дает возможность получить достаточное количество ДНК и детектировать генетический материал вируса в экзонах генов при наличии мутаций, что позволяет на основании причинно-следственной связи развития мутации спрогнозировать возможный риск развития злокачественного новообразования. Способ применим для образцов тканей опухолевой и неопухолевой природы, а также образцов плазмы крови при подозрении на наличие опухоли.

Репозиторий ГрГМУ

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Epstein-Barr virus-associated tumors: an update for the attention of the working pathologist / H. Delecluse, R. Feederle, B. O'Sullivan, P. Taniere // J Clin Pathol. – 2007. – Vol. 60, № 12. – P. 1358-1364.
2. Saha, A. Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphomas: pathogenesis and clini cal outcomes / A. Saha, E.S. Robertson // Clin Cancer Res. – 2011. – Vol. 17, №10. – P. 3056-3063.

РОЛЬ КУРАТОРА В ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА: ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ

Курстак И. А., Михеева А. Л., Ровба Е. А.

Гродненский государственный медицинский университет

Актуальность. Куратор в медицинском университете традиционно рассматривается как связующее звено между администрацией, преподавательским составом и студенческим коллективом [2]. Однако в современных реалиях, в контексте парадигмы студентоцентрированного образования, его функции претерпевают существенную трансформацию. От фигуры, преимущественно контролирующей успеваемость и дисциплину, необходим переход к роли наставника, тьютора и психологического помощника [3].

Несмотря на признанную важность кураторской деятельности, в научной литературе сохраняется дефицит эмпирических исследований, объективно оценивающих её эффективность с позиции студентов. Существующие работы зачастую носят нормативно-описательный характер или ограничиваются анализом формальных показателей. Комплексное же изучение восприятия студентами различных аспектов работы куратора, их реальных потребностей и ожиданий является необходимым условием для модернизации данной системы и повышения её вклада в качество образования.

Цель. На основе анализа субъективных оценок студентов ГрГМУ выявить ключевые детерминанты эффективной работы куратора, определить её реальное влияние на академическую успеваемость и адаптацию, а также сформулировать практические рекомендации по оптимизации кураторской деятельности в медицинском университете.

Методы исследования. Методология исследования основана на анкетном опросе 744 студентов 3 и 5 курсов лечебного, педиатрического, медико-диагностического и медико-психологического факультетов ГрГМУ. Для анализа

Репозиторий ГрГМУ