

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.03.01 (ОКСО 020400.62) – биология

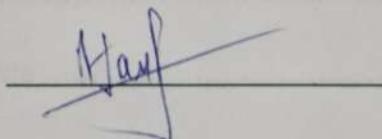
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Дипломная работа

**ВЛИЯНИЕ АДЕНОВИРУСНЫХ КОНСТРУКЦИЙ, НЕСУЩИХ ГЕНЫ
ПРОАНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ РОСТА, НА АНГИОГЕНЕЗ В
ИШЕМИЗИРОВАННОЙ МЫШЦЕ**

Работа завершена:

"5" 06 2019 г.



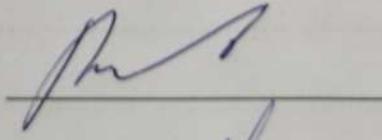
(Д.Р. Галиева)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

Д.б.н., проф.

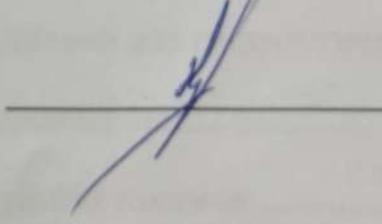
"06" 06 2019 г.



(А.А. Ризванов)

Д.б.н., проф.

"06" 06 2019 г.



(В.М. Чернов)

Казань–2019

Оглавление

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
Введение.....	6
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.2 Понятие генной терапии. Векторы для генной терапии, их сравнительная характеристика	9
1.2 Особенности аденоовирусных векторов.....	12
1.3 Хроническая ишемия нижних конечностей.....	15
1.4 Терапевтический ангиогенез. Выбор терапевтических генов.....	18
1.5 Сосудистый эндотелиальный фактор роста	18
1.6 Ангиогенин	20
1.7 Глиальный нейротрофический фактор	22
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	24
2.1 Амплификация аденоовириуса	24
2.3 Очистка аденоовириуса	25
2.4 Титрование аденоовириуса	25
2.5 Работа с животными	26
2.6 Выделение мРНК	26
2.7 Синтез кДНК.....	27
2.8 ПЦР-РВ.....	28
2.9 Иммунооблоттинг	29
2.10 Подготовка образцов тканей для гистологического исследования ...	30
2.11 Гистохимическое исследование	30
2.12 Флуоресцентная иммуноhistохимия	31

2.13 Морфометрический анализ и статистическая обработка результатов	31
3 РЕЗУЛЬТАТЫ	32
3.1 Получение рекомбинантных аденоовирусов	32
3.2 Оценка экспрессии мРНК генов vegf165a, gdnf, ангиогенина в ишемизированной мышце после прямой генной терапии различными комбинациями Ad5-VEGF165A, Ad5-GDNF, Ad5-ангиогенин.....	33
3.3 Оценка синтеза проангидиогенных факторов в ишемизированной мышце после прямой генной терапии различными комбинациями Ad5 VEGF165A, Ad5 GDNF, Ad5 ангиогенин	35
3.4 Оценка репаративного миогенеза в ишемизированный мышце после прямой генной терапии различными комбинациями Ad5 VEGF165A, Ad5 GDNF, Ad5	35
3.5 Оценка ангиогенеза в ишемизированной мышце после прямой генной терапии различными комбинациями Ad5-VEGF165A, Ad5-GDNF, Ad5- ангиогенин	37
Выводы	41
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	42

Введение

Облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей, приводящие к развитию хронической ишемии нижних конечностей (ХИНК) в настоящее время являются распространенной патологией в популяции людей старше 50 лет. Реконструктивные операции на ишемизированных сосудах не всегда возможны из-за высокого риска возникновения осложнений, связанных с сопутствующими заболеваниями (особенно в пожилом возрасте), или технически невозможны вследствие «многоэтажного» поражения сосудов, то разработка способов стимуляции ангиогенеза является крайне важной задачей регенеративной медицины и сосудистой хирургии, в частности.

Перспективным направлением является стимуляция ангиогенеза посредством введения плазмидных и вирусных векторов, кодирующих гены ангиогенных факторов. Основу лечебной тактики составляет стимуляция ангиогенеза в ишемизированных тканях ангиогенным фактором - сосудистым эндотелиальным фактором роста (VEGF). VEGF принимает участие как в васкулогенезе, так и ангиогенезе. Его биологические эффекты заключаются в стимуляции миграции эндотелиальных клеток, их инвазию в базальную мембрану, пролиферацию, выживание и формирование фенестр, а также индукцию вазодилатации. Вторым перспективным ангиогенным фактором является ангиогенин, который участвует в большинстве стадий процесса ангиогенеза, таких как связывание с эндотелиальными клетками, стимуляция образования вторичных посредников, способствует образованию тубулярных структур. В последнее время значительная роль в процессах стимуляции ангиогенеза отводится нейротрофическим факторам, так как важное значение в ангиогенезе имеет фактор иннервации. Ранее было показано, что введение рекомбинантного *gdnf* способствует формированию капиллярной сети и регенерации нервных волокон, на основании чего можно предположить, что добавление *gdnf* к комбинации ангиогенных факторов будет усиливать ангиогенез, играя значительную роль в формировании

капиллярной сети и восстановлении кровотока. После введения факторов роста в организм пациента наблюдается их быстрая инактивация протеазами. Применение аденоовирусных конструкций, несущих гены терапевтических факторов, позволяет добиться их продолжительного синтеза клетками самого пациента.

В настоящей работе на модели хронической ишемии задней конечности крысы мы оценили регенераторный потенциал прямой генной терапии с применением рекомбинантных аденоовирусных векторов, кодирующих гены *vegf*, *gdnf* и *ang* для стимуляции ангиогенеза.

Создать аденоовирсные факторы и изучить их инактивацию после прямой генной терапии у мышицы задней конечности крысы. АД-СОНГ, АБ-АЛАН

Создать аденоовирсные факторы и изучить их инактивацию после прямой генной терапии у мышицы задней конечности крысы. АД-СОНГ, АБ-АЛАН

Цель: оценить влияние аденоовирусных конструкций, несущих гены проангиогенных факторов роста, на ангиогенез в ишемизированной мышце

Задачи:

1. Получить рекомбинантные аденоовирусные конструкции Ad5-VEGF165A, Ad5-GDNF, Ad5-ангиогенин
2. Оценить экспрессию мРНК генов VEGF165A, GDNF, ангиогенина в ишемизированной мышце после прямой генной терапии различными комбинациями Ad5-VEGF165A, Ad5-GDNF, Ad5-ангиогенин
3. Оценить синтез проангиогенных факторов в ишемизированной мышце после прямой генной терапии различными комбинациями Ad5-VEGF165A, Ad5-GDNF, Ad5-ангиогенин
4. Оценить ангиогенез и репаративный миогенез в ишемизированный мышце после прямой генной терапии различными комбинациями Ad5-VEGF165A, Ad5-GDNF, Ad5-ангиогенин



СПРАВКА о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.Структура

Автор работы	Галиева Динара Рустамовна
Подразделение	
Тип работы	Не указано
Название работы	заготовка для диплома большая 0706.docx
Название файла	заготовка для диплома большая 0706.docx
Процент заимствования	18,33%
Процент цитирования	0,75%
Процент оригинальности	80,92%
Дата проверки	12:05:10 10 июля 2019г.
Модули поиска	Модуль поиска ИПС "Адилет"; Модуль выделения библиографических записей; Сводная коллекция ЭБС; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Модуль поиска Интернет; Модуль поиска "КПФУ"; Коллекция Медицина; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирований Интернет; Коллекция Патенты; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов
Работу проверил	Бабынин Эдуард Викторович
ФИО проверяющего	
Дата подписи	 Подпись проверяющего

Чтобы убедиться
в подлинности справки,
используйте QR-код, который
содержит ссылку на отчет.



Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.