

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

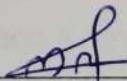
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.04.01 –биология

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
**ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ
ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ХАНТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ
У ГРЫЗУНОВ И ЧЕЛОВЕКА**

Работа завершена:

06 06 2019 г.



Шкайр Л.

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

к.б.н., ассистент

06 06 2019 г.

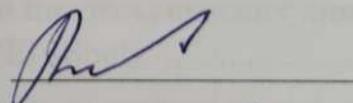


Гаранина Е.Е.

Научный руководитель

д.б.н., профессор

06 06 2019 г.

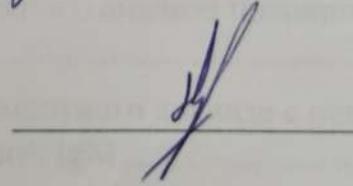


Ризванов А.А.

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

06 06 2019 г.



Чернов В.М.

Казань-2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	7
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Распространение ГЛПС в мире	10
1.2 Основные переносчики ГЛПС	11
1.3 Белки хантавируса	12
1.4 Взаимодействие хантавирусов с компонентом врожденного иммунного ответа	16
1.5 Иммунный ответ у грызунов	18
1.5.1 Клеточный иммунный ответ у грызунов	18
1.5.2 Антитела	19
1.6 Роль врожденного иммунного ответа у человека	20
1.6.1 Толл-подобные рецепторы (TLR)	20
1.6.2 Роль цитокинов и хемокинов в патогенезе хантавирусной инфекции	21
1.7 Клеточный иммунный ответ	23
1.7.1 В-клеточный иммунный ответ	23
1.7.2 Т- клеточный ответ	24
2 ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	27
2.1 Эксперименты с животными	27
2.2 Исследование активации цитотоксических лимфоцитов методом иммуноферментных пятен (ELISpot)	28
2.3 Проведение мультиплексного анализа цитокинов и хемокинов по технологии xMAP Luminex	29
2.4 Проведение иммуноферментного анализа с использованием наборов ВектоХанта IgG и ВектоХанта IgM	31
2.5 Определение титра нейтрализующих антител	32
2.5.1 Получение рекомбинантного лентивируса LV-PuuM	32

2.5.2 Определение титра нейтрализующих антител.....	34
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	35
3.1 Анализ активации цитотоксических лимфоцитов у лабораторных мышей, иммунизированной плазмидой ДНК pBud-PuuS-PuuM-DsRed.....	35
3.2 Анализ активации цитотоксических CD8 Т-клеток памяти у больных ГЛПС в конвалесцентной фазе	36
3.3 Исследование активации цитокинов и хемокинов в гомогенатах почек и легких грызунов-переносчиков вируса Пуумала.....	38
3.4 Исследование активации цитокинов и хемокинов в сыворотке крови больных ГЛПС в конвалесцентной фазе	41
3.5 Анализ концентраций антител IgG / IgM к белкам хантавирусов у грызунов-переносчиков вируса	42
3.6 Определение титра нейтрализующих антител.....	44
4 ВЫВОДЫ	48
5 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	50

ВВЕДЕНИЕ

Вирусные геморрагические лихорадки (ВГЛ) - это группа заболеваний, вызываемых четырьмя семействами вирусов, а именно аренавирусами, филовирусами, бунявирусами и flavивирусами [Hidalgo *et al.*, 2017]. Эти вирусы широко распространены по всему миру. Однако, поскольку каждый вирус связан с одним или несколькими конкретными видами-хозяевами, вирус и болезнь, которую он вызывает, обычно регистрируются только там, где живут переносчики. Патогенез ВГЛ, хотя и плохо изучен, варьируется в зависимости от участвующих вирусов, но ясно, что результирующее микрососудистое повреждение, вызванное вирусом, приводит к повышению проницаемости сосудов, дисфункции органов и даже летальному исходу. Терапия ВГЛ преимущественно ограничивается применением противовирусных препаратов [Hidalgo *et al.*, 2017]. За исключением лихорадки Денге и лихорадки Рифт-Валли, против которых были разработаны вакцины, не существует вакцин, способных защитить от этих заболеваний [Falzarano, Feldmann, 2013].

К семейству *Bunyaviridae* относятся представители рода хантавирус, вызывающие геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС), который является зоонозом, переносимым грызунами [Cosgriff, 1991; Muranyi *et al.*, 2005]. Распространение ГЛПС зависит от хронической инфекции позвоночных или рециркуляции вирусов в природе через членистоногих к позвоночным, на которые в свою очередь влияют экологические и климатические факторы. Вирусы чаще всего передаются человеку путем вдыхания аэрозолей, выделяемых грызунами, каплями слюны, мочой инфицированных грызунов или путем вдыхания загрязненных частиц пыли [Rista *et al.*, 2017]. Люди обычно являются конечными хозяевами цепи передачи.

Клиническое течение тяжелой формы ГЛПС можно разделить на пять фаз: лихорадочную, гипотензивную (шоковую), олигурическую, мочегонную и выздоравливающую [Jiang H. *et al.*, 2016]. Острая травма почек является тяжелым осложнением синдрома. Важную роль в развитии почечной недостаточности играет инсульт эндотелия сосудов, трубчатое и интерстициальное повреждение цитокинами и другими гуморальными факторами [Temonen *et al.*, 1996]. Тщательно контролируемый поддерживающий уход имеет решающее значение для выздоровления [Rista *et al.*, 2017], и состояние пациентов обычно начинает улучшаться ко второй неделе. Симптомы постепенно разрешаются, и функциональные тесты почек начинают нормализоваться. Он требует недель к месяцам для почки для того чтобы приобрести вполне нормальную функциональную деятельность.

Долгая история проблемы ГЛПС как проблемы военного времени позволяет понять потенциальную потребность в вакцинах против хантавируса в условиях, приводящих к увеличению воздействия грызунов. Именно поэтому многие недавние исследования были сосредоточены на иммунном ответе, вызванном хантавирусом как у грызунов, так и у человека, в попытке лучше понять молекулярные механизмы заболевания и контролировать его путем разработки соответствующих вакцин.

Цель настоящей работы заключается в изучении молекулярных механизмов иммунного ответа при хантавирусной инфекции у грызунов и человека.

В связи с поставленной целью решались следующие задачи

- 1) Исследование активации цитотоксических лимфоцитов у реконвалесцентов и иммунизированных лабораторных мышей методом иммуноферментных пятен (ELISpot).

- 2) Изучение цитокинового профиля в гомогенатах тканей грызунов, а также сыворотки, полученной от иммунизированных животных и от больных с диагнозом ГЛПС.
- 3) Определение антител IgG у естественных переносчиков вируса Пуумала, а также при моделировании хантавирусной инфекции *in vivo*.
- 4) Определение титра нейтрализующих антител у переболевших пациентов, а также иммунизированных мышей.



СПРАВКА о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы

шкайр Лайали

Подразделение

Тип работы

Магистерская диссертация

Название работы

Изучение молекулярных механизмов иммунного ответа при хантавирусной инфекции у грызунов и человека .docx

Название файла

Шкайр Лайали .docx

Процент заимствования

16,45%

Процент цитирования

0,50%

Процент оригинальности

83,04%

Дата проверки

09:57:58 03 июня 2019г.

Модули поиска

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; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов

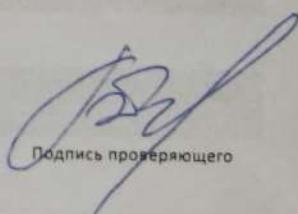
Работу проверил

Бабынин Эдуард Викторович

ФИО проверяющего

Дата подписи

03.06.19


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.