

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 06.06.01 – биологические науки

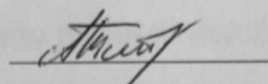
Специальность 03.02.07 – генетика

НАУЧНО-КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

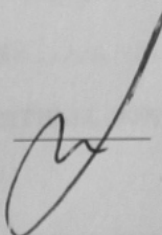
**ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СКЕЛЕТНОЙ  
МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ  
ИШЕМИИ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО АНГИОГЕНЕЗА**

Аспирант:

«18» 05 2018 г.

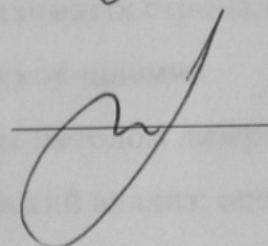
 (Титова А.А.)

Научный руководитель  
Д.м.н., профессор

 (Киясов А.П.)

Заведующий кафедрой  
Д.м.н., профессор

«18» 05 2018 г.

 (Киясов А.П.)

Казань–2018

# СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
<b>1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>7</b>
1.1. Проблемы терапии хронической ишемии нижних конечностей	7
1.2. Васкуло-, артерио- и ангиогенез	10
1.3. Терапевтический ангиогенез в лечении хронической ишемии	13
1.3.1. Применение рекомбинантных факторов роста	15
1.3.1.1. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)	15
1.3.1.2. Фактор роста фибробластов (FGF2)	16
1.3.1.3. Стромальный клеточный фактор (SDF1-a)	17
1.3.2. Клеточная терапия	18
1.3.2.1. Мезенхимальные стромальные клетки	18
1.3.3. Генно-клеточная терапия	20
1.4. Экспериментальные модели хронической ишемии нижних конечностей на лабораторных животных. Преимущества и недостатки	20
1.4.1. Модель лигирования сосудов	21
1.4.2. Модель постепенно развивающейся окклюзии	23
<b>2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....</b>	<b>25</b>
2.1. Объекты исследования.....	25
2.2. Получение рекомбинантных лентивирусов, экспрессирующих ангиогенные факторы	27
2.3. Получение мезенхимных стромальных клеток жировой ткани крыс	28
2.4. Модель хронической ишемии	29
2.5. Оценка кровотока методом лазерной флоуметрии	30
2.6. Патогистологический анализ: оценка воспалительной реакции, атрофии, фиброза, морфометрический анализ мышечных волокон	31
2.7. Количественная оценка экспрессии мРНК генов с помощью РВ-ПЦР	32

2.7.1. Выделение тотальной РНК из культуры клеток набором Yellow Solve (Силекс)	32
2.7.2. Синтез кДНК (ОТ-ПЦР) на РНК-матрице	33
2.7.3. Количественная оценка экспрессии мРНК генов с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ)	33
2.8. Мультиплексный анализ цитокинов/хемокинов в гомогенатах мышц оперированной и интактной конечности крысы	35
<b>3. Результаты. Сравнительный анализ двух моделей хронической ишемии задних конечностей крыс: одноэтапной и двухэтапной</b>	<b>37</b>
4. Результаты. Введения нативных мезенхимных клеток из жировой ткани, а также генетически модифицированных рекомбинантными лентивирусами, кодирующих сосудистый и эндотелиальный фактор роста VEGF и стромальный фактор роста SDF1a	42
4.1 Оценка кровотока, воспалительной реакции, атрофии и фиброза	42
4.2 Транскрипционную активность генов in vivo (ПЦР)	45
4.2.1 группа-ЖТ	45
4.2.2 группа VEGF	46
4.2.3 VEGF-SDF1a	48
4.3 Мультиплексный анализ цитокинов/хемокинов в гомогенатах мышц	50
5. Обсуждение	52
6. Выводы	57
Список использованной литературы	58

## ВВЕДЕНИЕ

Заболевание артерий нижних конечностей — это группа нозологий, сопровождающихся постепенной закупоркой артерий сосудов и вызывающих синдром хронической ишемии нижних конечностей (ХИНК). Проблема лечения ХИНК является одной из центральных в ангиологии и сосудистой хирургии вследствие широкой распространённости данной патологии, неуклонно прогрессирующего течения, высокой степени инвалидизации и значительного веса в структуре летальности. Ежегодно эта болезнь поражает более 202 миллионов человек во всем мире. Распространенность ХИНК оценивается в 10-25% у людей старше 55 лет и к 80 годам увеличивается до 40 %. [Norman et al., 2004; Bergiers et al., 2011].

Заболевания сосудов нижних конечностей — тяжело поддающиеся терапии заболевания, часто приводящие к инвалидизации и снижению качества жизни. Несмотря на различные этиологические факторы и нозологические формы (облитерирующий атеросклероз, облитерирующий тромбоангиит, диабетическая ангиопатия и др.), характеризуется прогрессирующим течением, что выражается в виде уменьшения просвета сосудов, а в дальнейшем, когда компенсаторные механизмы не способны поддерживать адекватное кровоснабжение, приводит к развитию ишемии и возникновению хронической артериальной недостаточности, которая приводит к хронической ишемии нижних конечностей (ХИНК) [Farber et al., 2016].

На последних стадиях хронической артериальной недостаточности развивается критическая ишемия конечностей (КИНК). Приблизительно 1-3% пациентов с заболеваниями сосудов нижних конечностей имеют стадию критической ишемии [Malyar et al., 2014].

Прогноз пациентов с КИНК довольно неутешителен: смертность в первый год развития заболевания составляет 25%. Количество ампутации в первый год развития заболевания составляет 30% [Qadura et al., 2017].

Эндоваскулярная и хирургическая реваскуляризация в настоящее время являются терапевтическими стандартами для КИНК. Однако, несмотря на заметные успехи в этих методах лечения, значительная часть пациентов, имеющих критическую стадию заболевания, (с серьезными препятствиями оттока или сопутствующими заболеваниями, с дистальными формами поражения или с поражениями мельчайших сосудов) не могут быть кандидатами в получении хирургического лечения. Лечение таких пациентов с «отсутствием выбора» ограничивается только симптоматической терапией. Следовательно, необходимы разработки современных методов лечения. В последние годы разрабатываются новые биотехнологические подходы лечения, одним из которых является терапевтический ангиогенез с использованием клеточной терапии и генных конструкций.

Целью работы – изучить эффективность клеточной и генно-клеточной терапии хронической ишемии нижних конечностей на экспериментальной модели хронической ишемии задних конечностей крыс.

Задачи:

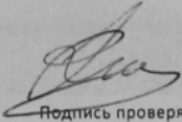
1. Разработать экспериментальную модель хронической ишемии задних конечностей крыс для последующей оценки терапевтического ангиогенеза *in vivo*.
2. Исследовать механизмы регенерации, а также морфологические изменения в ткани животных в контексте клеточной и генно-клеточной терапии на модели хронической ишемии.
3. Оценить транскрипционную активность генов VEGF и SDF1a *in vivo*.
4. Определение уровня секреции про- и противовоспалительных цитокинов в гомогенатах мышечной ткани крыс.



# СПРАВКА

## о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе  
Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы	Титова А.А.
Подразделение	
Тип работы	Выпускная квалификационная работа
Название работы	ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО АНГИОГЕНЕЗА
Название файла	Титова на антиплагиат.docx
Процент заимствования	23,71%
Процент цитирования	0,68%
Процент оригинальности	75,61%
Дата проверки	13:47:50 01 октября 2018г.
Модули поиска	Кольцо вузов; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Модуль поиска перефразирований Интернет; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Сводная коллекция "Медицина"; Модуль поиска "КПФУ"; Модуль поиска Интернет; Коллекция ГАРАНТ; Коллекция eLIBRARY.RU; Модуль поиска переводных заимствований; Цитирование; Коллекция РГБ; Сводная коллекция ЭБС
Работу проверил	Каюмов Айрат Рашитович 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.