Чорненька Наталія Миколаївна, аспірант ННЦ &laquo;Ін&shy;ститут біології та медицини&raquo; Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України: &laquo;Про&shy;цеси загоєння лужного опіку стравоходу у щурів за умов введення меланіну&raquo; (03.00.04 - біохімія). Спецрада Д 26.001.24 у Київському національному університеті імені Тараса Шевченка

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова

праця правах рукопису

ЧОРНЕНЬКА НАТАЛІЯ МИКОЛАЇВНА

УДК: 616.329-001.37-053

ДИСЕРТАЦІЯ

ПРОЦЕСИ ЗАГОЄННЯ ЛУЖНОГО ОПІКУ СТРАВОХОДУ У ЩУРІВ

ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ МЕЛАНІНУ

03.00.04-біохімія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,

результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Чорненька Н.М.

Науковий керівник Савчук Олексій Миколайович д.б.н., професор.

Київ – 2018

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ................................................................17

ВСТУП...................................................................................................................19

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.........................................................................................25

1.1. Загальні відомості про хімічні опіки стравоходу..................................25

1.2. Закономірності молекулярно-біохімічних процесів загоєння опікових

ран………………………………………………………………..……................27

1.3. Потенційні методи лікування при хімічних опіках стравоходу..........34

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ…..40

2.1. Реактиви та матеріали…………….......................................................40

2.2. Обладнання………………………...........................................................40

2.3. Дотримання положень про гуманне відношення до тварин................41

2.4. Умови проведення експерименту………...............................................42

2.5. Отримання сироватки крові щурів.........................................................43

2.6. Отримання плазми крові щурів..............................................................43

2.7 Отримання слизової оболонки стравоходу щурів…………………......43

2.8. Визначення концентрації білка за методом Бредфорд.........................44

2.9. Визначення біохімічних параметрів сироватки крові...........................44

2.10. Гістологічний аналіз зрізів стравоходу щурів.....................................44

2.11. Визначення вмісту дієнових кон’югатів……......................................46

2.12. Визначення вмісту ТБК-активних продуктів......................................47

2.13. Визначення супероксиддисмутазної активності.................................47

2.14. Визначення каталазної активності …………………………..……….48

2.15. Визначення активності синтази оксиду азоту (NOS)..........................49

15

2.16. Електрофорез у поліакриламідному гелі за присутності ДСН..........50

2.17. Ензим-електрофорез………..……………………….............................51

2.18. Хроматографія для виділення трипсино-подібних серинових

протеїназ...............................................................................................................51

2.19. Визначення загальної протеолітичної активності, активності

матриксних металопротеїназ та серинових протеїназ…….............................51

2.20. Визначення активності α1-антитрипсину та α2- макроглобуліну....53

2.21. Визначення вмісту молекул середньої молекулярної маси та

олігопептидів…………….………….……………………………………..........54

2.22. Визначення вмісту цитокінів, матриксних металопротеїназ,

імуноглобулінів класу G (IgG), тканинного інгібітора матриксних

металопротеїназ та фактору росту фібробластів у сироватці крові та слизовій

оболонці стравоходу…………………………………………............................55

2.23. Кількісна ЗT-ПЛР...................................................................................56

2.23.1. Виділення сумарної РНК з крові та тканин стравоходу

щурів……………………………………………………………………………..56

2.23.2. Оцінка рівня експресії генів....................................................57

2.24. Статистична обробка отриманих результатів.....................................58

РОЗДІЛ 3.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ................................59

3.1. Xарактеристика біохімічних показників та показників

антиоксидантної системи за умов лужного опіку стравоходу та за введення

меланіну……………………………...…..............................................................59

3.2. Імунологічні показники за умов лужного опіку стравоходу та за

введення меланіну……….………………..………………………………….....79

3.3. Рівень експресії мРНК генів Ptgs2 та Tgfb1 у крові та тканинах

стравоходу за умов лужного опіку стравоходу та за введення

меланіну…………………………………………………………………….……88

16

3.4. Білковий склад сироватки крові за умов лужного опіку стравоходу

та за введення меланіну ………………….………………………….................90

3.5 Показники системи протеолізу за умов лужного опіку стравоходу та за

введення меланіну..............................................................................................95

РОЗДІЛ 4.

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....................................120

ВИСНОВКИ........................................................................................................129

ЛІТЕРАТУРА......................................................................................................131

ДОДАТОК……………………………………………………………………...153

ВИСНОВКИ

Результатиотриманіудисертаційнійроботіпоглиблюютьіснуючі

уявленняпробіохімічніособливостіпроцесівзагоєннялужногоопіку

стравоходутапоказуютьперспективністьвикористаннямеланінуякречовини

щосприяєзагоєннюопікустравоходу

ВстановленощозаумовЛОСвідбуваютьсязміниключових

біохімічнихпоказниківусироватцікровітаспостерігаєтьсяпорушенняпроантиоксидантноїрівновагиубікінтенсифікаціївільнорадикальнихпроцесів

Таквідзначалосяпідвищеннявмістудієновихкон’югатіввраза

активністівразатазнижуваласьСОДактивністьвраза

ВиявленощозаумовЛОСусироватцікровітаслизовійоболонці

стравоходупідвищувавсявмістпрозапальнихІЛуразаІЛураза

тазнижувавсявмістпротизапальнихІЛуразаІЛураза

цитокінівСпостерігалосяпідвищеннявмістуімуноглобулінівкласуу

разанадобу

Показанопідвищеннярівняекспресіїзалученихдорозвитку

запаленнягенівтаукровівразатаразавідповіднота

тканинахстравоходувразатаразавідповіднозаумовЛОС

ВизначенощозаумовЛОСусироватцікровітаслизовій

оболонцістравоходузначнозросталиактивністьпротеолітичнихферментівв

разанадобуконцентраціятрипсиноподібнихсериновихпротеїназв

разанадобувмістматрикснихметалопротеїназтаактивністьінгібіторів

протеолітичнихферментівαантитрипсинвразанадобуα

макроглобулінвразанадобуЗнайденозначнезростаннякількості

деградованихформплазміногенуплазмінувплазмікровітапевнізміни

якісногоскладубілківвсироватцікрові

Зазастосуваннямеланінувідзначаласянормалізаціябіохімічних

показниківташвидшітермінивідновленняушкодженихтканинстравоходу

зниженняконцентраціїпродуктівПОЛТБКактивнихречовинвразата



підвищенняСОДактивностівразазниженнявміступрозапальних

цитокінівІЛвразаІЛвразатапідвищеннявмісту

протизапальнихцитокінівІЛвразаІЛвразапорівняноз

показникамизаумовЛОС

Спостерігалосязниженняактивностіпротеолітичнихпроцесівв

сироватцікровітаслизовійоболонцістравоходузавведеннямеланінуатакож

знижувалисярівеньекспресіїгенівтаукровівтараза

відповіднотатканинахстравоходувтаразавідповіднопорівняноз

показникамизаумовЛОС