

Министерство образования и науки РФ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение

высшего образования

«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

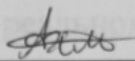
Направление: 06.04.01 (ОКСО 020400.68) – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

**ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КЛЕТОК МИКРОГЛИИ НА  
СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ  
ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА**

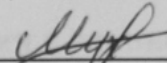
Работа завершена:

" 5 " 06 2018 г.  (Э.Р. Ахметзянова)

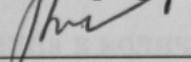
Работа допущена к защите:

Научный руководитель

к.м.н., старший научный сотрудник

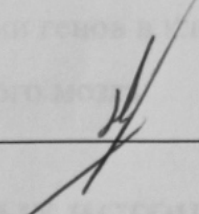
" 5 " 06 2018 г.  (Я.О. Мухамедшина)

д.б.н., главный научный сотрудник, профессор

" 5 " 06 2018 г.  (А.А. Ризванов)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

" 4 " 06 2018 г.  (В.М. Чернов)

Казань-2018

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	3
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	4
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	6
1.1 Патогенез травматического повреждения спинного мозга	6
1.2 Концепция применения клеток микроглии при травме спинного мозга	8
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b>	19
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b>	19
2.1 Выделение и культивирование клеток микроглии	19
2.2 Генетическая модификация клеток	21
2.3 Методика проведения операции на спинном мозге и экспериментальные группы	21
2.4 Оценка восстановления двигательной функции	22
2.5 Гистологические методы	22
2.6 Иммуногистохимические методы	23
2.7 Полимеразная цепная реакция в реальном времени	24
2.8 Статистическая обработка результатов	25
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b>	26
3.1 Оценка миграционного потенциала клеток микроглии	26
3.2 Оценка двигательной функции	27
3.3 Посттравматические реакции в спинном мозге крысы после трансплантации клеток микроглии	29
3.4 Посттравматические изменения в количестве Iba1 <sup>+</sup> -клеток	32
3.5 Анализ изменения экспрессии генов в клетках микроглии in vitro и in vivo в области травмы спинного мозга	34
<b>ВЫВОДЫ</b>	38
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	39

## ВВЕДЕНИЕ

Травматическое повреждение спинного мозга запускает целый каскад неблагоприятных реакций, включающих апоптоз, окислительный стресс, изменения в метаболизме, дезинтеграцию цитоскелета и прочее [Мухамедшина, 2013].

Одним из подходов для предотвращения последствий вторичного повреждения и поддержания регенерации нервных волокон при травме спинного мозга является клеточная терапия. Она направлена на замещение погибших нейронов и глиальных клеток, восстановление тканевого матрикса с направляющими путями для роста аксонов, поддержание и ремиелинизацию аксонов, трофическое обеспечение регенерации повреждённых и жизнеспособных нейронов, стимулирование пролиферации собственных стволовых клеток спинного мозга [Мухамедшина, 2013]. Одним из перспективных видов клеток для трансплантации в центральную нервную систему (ЦНС) с целью посттравматической регенерации являются клетки микроглии. Для этих клеток показана активация при инфекции, ишемии и нейродегенеративных заболеваниях, способность мигрировать в область повреждения и экспрессировать цитокины, иммуномодуляторы и нейротрофины [Cartier *et al.*, 2014].

Сочетание трансплантации клеток с их генетической модификацией является перспективным направлением современной клеточной терапии. Различные вектора (плазмидные или вирусные), кодирующие гены нейротрофических факторов и других молекул-стимуляторов нейрорегенерации, используют для трансдукции клеток-носителей с целью повышения ими экспрессии белковых продуктов терапевтических генов. Кроме того, генетическая модификация клеток способна менять их поведение, таким образом, появляется возможность моделировать пути дифференцировки трансплантированных клеток. Недавно было показано, что клетки микроглии, трансдуцированные аденовирусом, несущим ген глиального нейротрофического фактора *gdnf*, способны сохранять

резидентную (терапевтически выгодную) морфологию и благодаря этому индуцировать нейрорегенерацию [Zlotnik, Spittau., 2014].

**Цель исследования** – оценить влияние однократной трансплантации в область повреждения клеток микроглии, трансдуцированных аденовирусом Ad5-GDNF, на структурные и функциональные изменения в травмированном спинном мозге.

Для достижения цели поставлены следующие **задачи**:

1. Оценить сроки выживания, миграционный потенциал и сроки экспрессии продукта рекомбинантного гена клетками микроглии в области повреждения спинного мозга.
2. Оценить принадлежность выделенных клеток из головного мозга новорожденных крысят к популяции микроглии.
3. Установить влияние на восстановление двигательной функции в поведенческом тесте ВВВ.
4. Оценить суммарную площадь патологических полостей и площадь сохранной ткани на поперечных срезах спинного мозга.
5. Определить количество клеток, экспрессирующих белок Iba1, в белом и сером веществе в области повреждения.
6. Охарактеризовать экспрессию мРНК генов *irf5* и *Iba1* в области повреждения.



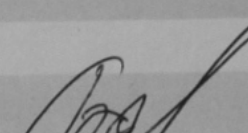
**АНТИПЛАГИАТ**  
ТВОРИТЕ СОБСТВЕННЫМ УМОМ

Казанский (Приволжский)  
федеральный университет

## СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа  
на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе  
Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы	Ахметзянова Эльвира Руслановна
Факультет, кафедра, номер группы	Институт фундаментальной медицины и биологии, кафедра генетики, группа 01-640-1
Тип работы	Магистерская диссертация
Название работы	Ахметзянова Эльвира Руслановна магистерская диссертация.docx
Название файла	Эльвира диплом антиплагиат.docx
Процент заимствования	18,49%
Процент цитирования	0,33%
Процент оригинальности	81,18%
Дата проверки	16:57:45 31 мая 2018г.
Модули поиска	Кольцо вузов; Модуль поиска перефразирований Интернет; Сводная коллекция ЭБС; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Коллекция Медицина; Модуль поиска "КПФУ"; Модуль поиска Интернет; Коллекция ГЭОТАР; Коллекция ГАРАНТ; Коллекция Библиотека МГМУ им. Сеченова; Коллекция eLIBRARY.RU; Цитирование; Коллекция РГБ
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.