

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

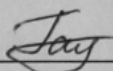
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И СОХРАННОСТЬ ТКАНИ В
УСЛОВИЯХ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК
ПУПОВИННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА НА МОДЕЛИ ТРАВМЫ
СПИННОГО МОЗГА КРЫС**

Работа завершена:

«5» 06 2018г.



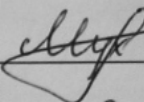
(Л.Р. Галиева)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

к.м.н., научный сотрудник

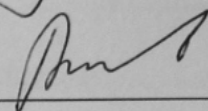
«6» 06 2018г.



(Я.О. Мухамедшина)

д.б.н., профессор, доцент

«6» 06 2018г.

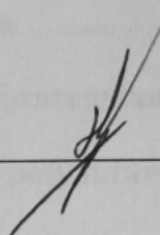


(А.А. Ризванов)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

«7» 06 2018г.



(В.М.Чернов)

Казань-2018

СОДЕРЖАНИЕ:

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Типы стволовых клеток в моноклеарной фракции пуповинной крови человека	7
1.2 Генетическая модификация клеток	10
1.3 Нейротрофические и ангиогенные факторы для стимулирования нейрорегенерации.....	12
1.4 Строение, функции и миграция шванновских клеток в область повреждения спинного мозга.....	16
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	24
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	24
2.1 Линии экспериментальных животных и клеточные линии	24
2.2 Генетическая модификация клеток	24
2.2 Экспериментальные группы	25
2.3 Методика проведения операции на спинном мозге.....	26
2.4 Методы количественной оценки экспрессии мРНК генов с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>	27
2.5 Гистологические методы	28
2.6 Иммуногистохимические методы	29
2.7 Метод иммуноблот анализа	29
2.8 Оценка восстановления двигательной функции	31
2.9 Статистическая обработка результатов	31

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	32
3.1 Оценка экспрессии мРНК генов <i>vegf</i> и <i>gdnf</i> в трансдуцированных мононуклеарных клетках крови пуповины человека и в области повреждения спинного мозга крыс с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени.....	32
3.2 Посттравматические реакции в спинном мозге крысы после трансплантации мононуклеарных клеток крови пуповины человека	34
3.3 Распределение и выживаемость мононуклеарных клеток крови пуповины человека, трансплантированных в область контузионной травмы спинного мозга крысы.....	36
3.4 Характер распределения астроглиального рубца и экспрессия белков GFAP, CGRP и GAP43 в области повреждения	37
3.5 Экспрессия белков Krox 20, Peripherin, p75 и P0 клетками интактного спинного мозга и периферического нерва.....	40
3.6 Распределение шванновских клеток в области повреждения спинного мозга экспериментальных групп	43
3.7 Анализ экспрессии белков P0 и p75 в области повреждения	45
3.8 Оценка экспрессии мРНК генов <i>tpz</i> , <i>ptr2</i> , <i>ptr22</i> в области повреждения спинного мозга.....	46
3.9 Восстановление двигательной функции	48
ВЫВОДЫ	51
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	53

ВВЕДЕНИЕ

До середины прошлого столетия считалось, что регенерация нейронов невозможна. Таким образом, нейродегенеративные (болезнь Паркинсона, рассеянный склероз) и травматические заболевания (повреждения спинного мозга) рассматривались в качестве неизлечимых. Неврологические заболевания связаны с потерей нейронов и глиальных клеток в центральной либо периферической нервной системе. Эффективное лечение таких неврологических заболеваний до сих пор невозможно. Однако на сегодняшний день стволовые клетки (СК) предоставляют возможность для восстановления поврежденных тканей нервной системы. Как результат, трансплантация клеток стала перспективным методом лечения неврологических расстройств. Тем не менее, из-за нежелательных эффектов и ограниченных источников, исследователи начали искать альтернативные источники СК. На сегодняшний день описаны различные источники СК, но использование многих из них осложняется этическими проблемами.

Пуповинная кровь человека широко используется как богатый, этически приемлемый, источник стволовых клеток с высоким регенеративным потенциалом. Пуповинная кровь легко доступна, получается без риска для донора, и редко бывает заражена инфекционными агентами, такими как цитомегаловирус или вирус Эпштейна-Барр [Rocha *et al.*, 2004]. Пуповинная кровь содержит большое количество CD34⁺ и CD105⁺-клеток (маркеры СК), что свидетельствует о высоком регенеративном потенциале [Verneris *et al.*, 2009]. Так же пуповинная кровь является источником клеток, характеризующихся меньшим онкогенным потенциалом и большей длиной теломер [McGuckin *et al.*, 2008]. Стоит отметить, что клетки пуповинной крови имеют более низкую вероятность иммунного отторжения, поскольку более толерантны к различиям человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) [Danby *et al.*, 2014].

При травме спинного мозга введение клеток крови пуповины человека в кровоток снижает воспаление, оказывает нейротрофическое влияние [Chen *et al.*, 2008], снижает экспрессию проапоптозных генов и, как следствие, поддерживает выживание нейронов [Dasari *et al.*, 2009]. На ряде экспериментальных моделей установлено, что клетки крови пуповины продуцируют ряд НТФ, включая NGF (фактор роста нервов) и VEGF [Vendrame *et al.*, 2004], которые могут способствовать усилению миграции ШК.

В связи с этим **цель** данного исследования – оценить влияние однократной трансплантации в область повреждения генетически модифицированных моноклеарных клеток крови пуповины человека на функциональные показатели и сохранность ткани на модели дозированной контузионной травмы спинного мозга крысы.

Для достижения цели поставлены следующие **задачи**:

- 1) Провести анализ экспрессии генов *vegf* и *gdnf* в трансдуцированных моноклеарных клетках крови пуповины (*in vitro*) и в области повреждения (*in vivo*), а так же изучить сроки выживания и распределение трансплантированных моноклеарных клеток крови пуповины человека.
- 2) Оценить посттравматические реакции в спинном мозге крысы после трансплантации моноклеарных клеток крови пуповины человека
- 3) Определить возможность экспрессии белков-маркеров шванновских клеток в интактном спинном мозге и седалищного нерва, а так же оценить распределение шванновских клеток в области повреждения спинного мозга.
- 4) Провести анализ экспрессии генов *mpz*, *ptp2*, *ptp22* в области повреждения спинного мозга.
- 5) Исследовать динамику восстановления двигательной функции в поведенческом тесте BBB (тест Basso, Beattie и Bresnahan).



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: Галиева Луиза Рамилевна
Факультет, кафедра, номер группы: ИФМиБ, кафедра генетики, гр. 01-640-1
Тип работы: Магистерская диссертация
Название работы: Галиева Л.Р. дипломная работа.docx

Название файла: диплом на антиплагиат.docx

Процент заимствования: 28,48%

Процент цитирования: 0,43%

Процент оригинальности: 71,09%

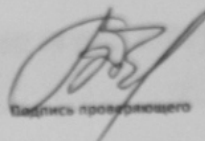
Дата проверки: 17:09:58 04 июня 2018г.

Модули поиска

Кольцо вузов; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Модуль поиска перефразирований Интернет; 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; Модуль поиска переводных заимствований; Цитирование; Коллекция РГБ; Сводная коллекция ЭБС

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.