

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.03.01. (ОКСО 020400.62) – биология
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Бакалаврская работа

**ИССЛЕДОВАНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ, МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ
ОСОБЕННОСТЕЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ МЫШЕЙ С МОДЕЛЬЮ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОИММУННОГО
ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА, В УСЛОВИЯХ ТЕРАПИИ
МЕЗЕНХИМНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ**

Работа завершена:

«5» июня 2019 г.

Пономарев

(А.С. Пономарев)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

д.б.н., профессор кафедры генетики

«6» июня 2019 г.

Ризванов

(А.А. Ризванов)

Заведующий кафедрой:

д.б.н., профессор кафедры генетики

«7» 06 2019 г.

Чернов

(В.М. Чернов)

Казань–2019

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Ультраструктурные, молекулярно-генетические иммунологические особенности развития рассеянного склероза	и 7
1.1.1 Цитокиновый профиль в патогенезе рассеянного склероза	12
1.2 Использование различных моделей аутоиммунного экспериментального энцефаломиелита в исследованиях рассеянного склероза	14
1.3 Современные Методы терапии рассеянного склероза	16
1.3.1 Мезенхимные стволовые клетки в терапии рассеянного склероза	19
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	22
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	22
2.1 Объект исследования	22
2.2 Модель рассеянного склероза (экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит)	23
2.3 Выделение мезенхимных стромальных клеток из жировой и костномозговой тканей мыши	24
2.3.1 Определение иммунофенотипа мезенхимных стромальных клеток жировой и костномозговой тканей мыши	25
2.4 Просвечивающая электронная микроскопия	26
2.5 Иммуногистихимическое исследование тканей головного и спинного мозга мышей	27

2.6 Количественная оценка экспрессии мРНК с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени	27
2.7 Оценка цитокинового профиля сыворотки крови мышей	28
2.8 Статистическая обработка результатов	29
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	30
3.1 Определение фенотипа мезенхимных стromальных клеток	30
3.2 Ультраструктурные особенности тканей спинного и головного мозга мышей до и после терапии мезенхимными стромальными клетками	31
3.3 Иммуногистохимический анализ тканей спинного и головного мозга мышей до и после терапии мезенхимными стромальными клетками	37
3.4 Количественная оценка экспрессии генов каспазы 1 (CASP1), криопирина (NALP3) и интерлейкина 18 (IL-18)	45
3.5 Оценка цитокинового профиля сыворотки крови мышей с моделью рассеянного склероза до и после терапии мезенхимными стромальными клетками	52
ВЫВОДЫ	55
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	57

ВВЕДЕНИЕ

Рассеянный склероз (РС) является хроническим воспалительным заболеванием центральной нервной системы (ЦНС), приводящим к демиелинизации нервных волокон и нейродегенерации. Результаты иммунологических, генетических и гистопатологических исследований пациентов с рассеянным склерозом подтверждают концепцию, согласно которой аутоиммунитет, а также нейровоспаление играют основную роль в патогенезе РС [Correale, 2007; Evans et al., 2013]. Причины данного заболевания до сих пор не ясны и исследуются во всем мире. Можно предположить, что РС является мультифакторным заболеванием, обусловленным выраженным воспалительным, миelin и аксондегенеративным компонентами и вовлечением клеток иммунной системы в развитие патологического процесса [Nylander; Hafler, 2012; Зафранская, Нижегородова, 2017].

РС влияет на когнитивное функционирование головного мозга, которое коррелирует с физической недееспособностью. Данные клинические симптомы приводят к глубоким функциональным ограничениям, влияющим на повседневную работоспособность, профессиональную деятельность и социализацию, а также могут изменять поведение или настроение, что приводит к поведенческим нарушениям, таким как агрессия или импульсивность, депрессия или апатия [Lezak et al., 2012; Papanathanasiou et al., 2015].

На сегодняшний день для терапии РС в основном используются иммуномодулирующие препараты, направленные на минимизацию проявляемых симптомов [Feinstein A. 2015]. Поэтому необходим поиск новой более эффективной стратегии терапии данного заболевания.

Одним из подходов в лечении подобных заболеваний может стать модель рассеянного склероза на мышах – экспериментального энцефаломиелита с помощью трансплантации мезенхимных стromальных клеток (МСК). По данным литературы использование МСК обуславливается

тем, что они обладают выраженной иммуносупрессорной активностью, а также могут оказывать терапевтическое воздействие на патогенез и прогрессирование нейродегенеративных расстройств [Ruzicka *et al.*, 2016]. Дальнейшее изучение нейровоспалительных процессов и цитокинового профиля способствует не только исследованию заболеваний, но и оценки эффективности терапии. Таким образом, исследование механизмов воздействия МСК на течение заболевания является весьма актуальной задачей.

Целью работы является установить патологические особенности рассеянного склероза на примере модели аутоиммунного экспериментального энцефаломиелита у мышей при терапии мезенхимными стромальными клетками.

В работе решались следующие **задачи**:

- 1) Исследование цитокинового профиля сыворотки крови мышей как при терапии мезенхимными стромальными клетками, так и в ее отсутствии.
- 2) Исследование ультраструктурных особенностей различных тканей мышей после терапии мезенхимными стромальными клетками.
- 3) Исследование особенностей различных тканей мышей после терапии мезенхимными стромальными клетками с помощью иммунофлуоресцентного анализа.
- 4) Исследование транскрипционной активации маркеров воспаления (каспазы-1, криопирина и интерлейкина 18) в головном и спинном мозге подопытных мышей с моделью ЭАЭ с терапией мезенхимными стромальными клетками из различных источников.



СПРАВКА о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы	Пономарев Алексей Сергеевич
Подразделение	ИФМиБ, кафедра генетики, гр. 01-501
Тип работы	Дипломная работа
Название работы	Исследование ультраструктурных, молекулярно-генетических и иммунологических особенностей нервной системы мышей с моделью экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита, в условиях терапии мезенхимными стволовыми клетками.
Название файла	ПОСЛЕДНИЙ АНТИПЛАГИАТ.docx
Процент заимствования	17,46%
Процент цитирования	0,52%
Процент оригинальности	82,02%
Дата проверки	15:48:39 01 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

7.06.2019

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.