

Министерство образования и науки РФ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования

«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

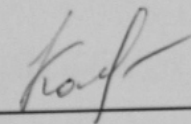
Специальность: 06.03.01 (ОКСО 020400.62) – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Бакалаврская работа

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ
ТКАНИ НА ПОСТТРАВМАТИЧЕСКУЮ РЕГЕНЕРАЦИЮ
СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫСЫ

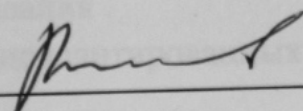
Работа завершена:

«1» июня 2017 г.  (Кадырова Г. А.)

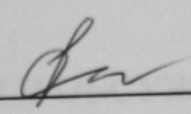
Работа допущена к защите:

Научные руководители

д.б.н., доцент

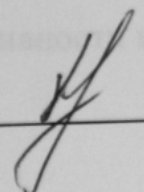
«2» июня 2017 г.  (Ризванов А.А.)

н.с., к.б.н.

«2» июня 2017 г.  (Масгутова Г.А.)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

«2» июня 2017 г.  (Чернов В.М.)

Казань – 2017

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Патогенез травматического повреждения седалищного нерва	7
1.1.1 Строение периферической нервной системы крысы	7
1.1.2 Строение седалищного нерва крысы	8
1.1.3 Строение спинального ганглия L5	10
1.1.4 Патофизиологические процессы при повреждении седалищного нерва крысы	11
1.2 Клеточная терапия, как перспективный способ стимулирования регенерации	13
1.2.1 Клеточные технологии в регенерации периферических нервов	13
1.2.2 Мезенхимные стволовые клетки. Источники получения и терапевтический потенциал	14
1.3 Стволовые клетки жировой ткани – перспективы их применения в регенеративной медицине	15
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	18
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	18
2.1 Выделение мезенхимных стволовых клеток из жировой ткани крысы	18
2.2 Экспериментальная модель. Перерезка седалищного нерва крысы	19
2.3 Оценка седалищно-функционального индекса	20
2.4. Гистологические методы исследования	22
2.4.1 Оценка выживания трансплантированных МСК и их способность к миграции	22
2.4.2 Оценка влияния МСК на ткани микроокружения	22
2.4.3 Проводка нерва в смолу	23
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ	25
3.1 Характеристика культивированных мезенхимных стволовых клеток	25
3.2 Восстановление двигательной активности конечности после травмы	26
3.3 Количество миелиновых волокон	28
ВЫВОДЫ	33
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	34

ВВЕДЕНИЕ

Травма периферического нерва является частой причиной потери трудоспособности и может привести к инвалидности. Выбор способа восстановления целостности периферического нерва обусловлен рядом особенностей повреждения в каждом конкретном случае: механизм травмы, время, прошедшее от момента получения травмы до выполнения хирургического вмешательства и т. д. Несмотря на развитие техники восстановления целостности нерва, даже при самых благоприятных условиях, как правило, происходит лишь частичное восстановление функции иннервируемой конечности. Это побуждает к поиску новых методов лечения, которые позволили бы улучшить результаты стандартного реконструктивного лечения. В настоящее время наиболее перспективным методом лечения травм периферической нервной системы является клеточная терапия.

Клеточная терапия – локальная или системная трансплантация пациенту культуры стволовых клеток (СК) организма, обладающие способностью индуцировать репаративные процессы в поврежденных участках тела, а также в ряде ситуаций встраиваться в поврежденные или стареющие органы и ткани, восстанавливая их структуры и функции. В настоящее время в мире проводятся обширные исследования по разработке технологий использования мезенхимных стволовых клеток (МСК) для терапии различных заболеваний.

В качестве источника МСК могут выступать многие ткани организма, такие как подкожная и висцеральная жировая ткань [Parker, 2006], костный мозг [Moghadam, Zarbakhsh 2016], кровь пуповинного канатика [Bieback, Kluter, 2007], пульпа зуба [Ledesma-Martínez, Mendoza-Núñez, 2016],

периодонтальная связка [Zhu, 2015], ткань скелетных мышц [Ryall, 2016], хрящи [Jennifer, Lee, 2013], сухожилия [Pelled, Snedeker 2012] и др.

Работы последних лет, посвященные стимулированию тканевой регенерации, доказали эффективность и безопасность применения клеточной терапии, при относительной простоте получения, как недифференцированных, так и дифференцированных *in vitro* клеток [Lane, 2014]. К настоящему времени опубликовано большое количество работ, как по биологии СК, так и по их экспериментальному применению в качестве терапии при травматических процессах и нейродегенеративных заболеваниях.

Повреждения периферической нервной системы в основном связаны с травмой, опухолью, и различными поражениями, что приводят к неврологическим нарушениям и функциональной инвалидности. Заболеваемость периферических нервов оценивается примерно 18 на 100 000 человек ежегодно в развитых странах [Jiang, 2017]. Разрыв нерва, сопровождающийся необходимостью обязательного операционного вмешательства, представляет наибольшую потенциальную опасность для потери двигательной и чувствительной функции [Boussakri, 2015]. Несмотря на высокий уровень развития микрохирургической техники, без стимуляции регенерации представляется невозможным восстановить утраченные функции [Yang, *et al.*, 2013]. С целью стимуляции регенерации используются различные медикаментозные препараты и СК. Среди различных источников СК с потенциальным приложением для нейрорегенеративной медицины, жировая ткань была признана наиболее перспективной. Так как они легкодоступны и просты в получении по сравнению с методиками забора СК из других источников, они быстро размножаются, показывают низкую иммуногенность и легко дифференцируются [Faroni, *et al.*, 2013].

Травматические повреждения периферических нервов во всех случаях сопровождаются структурными и функциональными нарушениями состояния. Экспериментально индуцированная хроническая травма

седалищного нерва является причиной значительного уровня гибели нейронов спинального ганглия и неполного функционального восстановления вследствие гибели большого количества миелинизированных аксонов, обеспечивающих, в норме, взаимосвязь между чувствительными и двигательными нейронами и рабочим органом [Arkhipova, 2010; Gordon, 2011]. Восстановление количества миелиновых волокон или приближение их количества после травмы к показателям интактных животных, есть залог более эффективного функционального восстановления.

Целью работы стало оценить влияние мезенхимных стволовых клеток жировой ткани на посттравматическую регенерацию седалищного нерва крысы.

В соответствии с поставленной целью в работе решались следующие **задачи**:

1) Культивировать мезенхимные стволовые клетки из жировой ткани крысы, оценить морфологию клеток, пролиферативную активность и антигенные свойства клеток.

2) Оценить выживание и миграционный потенциал культивируемых мезенхимных стволовых клеток *in vivo*, а также их влияние на микроокружение в ткани седалищного нерва через 14 суток после трансплантации.

3) Оценить количество миелиновых волокон в дистальном фрагменте седалищного нерва крысы через 60 суток после перерезки и стимуляции регенерации с помощью мезенхимных стволовых клеток жировой ткани.