

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

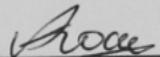
Бакалаврская работа

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И СТРУКТУРНЫЕ ПАРАМЕТРЫ

ТРАВМИРОВАННОГО СПИННОГО МОЗГА СВИНЬИ

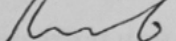
Работа завершена:

« » 1.06 2017 г.  (А. А. Костенников)

Работа допущена к защите:

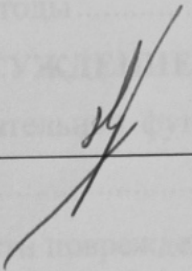
Научный руководитель:

д.б.н., профессор

« » 1.06 2017 г.  (А. А. Ризванов)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

« » 1.06 2017 г.  (В.М. Чернов)

Казань – 2017

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
СОДЕРЖАНИЕ	2
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1.1 Современные подходы к регенерации спинного мозга	6
1.2 Клеточная терапия при травме спинного мозга	9
1.3 Концепция применения биodeградируемых матриксов в приложении к клеточной терапии	15
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	19
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	19
2.1 Проведение забора жировой ткани свиней для последующего выделения МСК 19	
2.2 Выделение и культивирование МСК из жировой ткани свиней	20
2.3 Генетическая модификация МСК из жировой ткани свиней	21
2.4 Аутотрансплантация генетически модифицированных LV-EGFP МСК свиньям с травматическим повреждением спинного мозга	22
2.5 Тестирование двигательной функции при помощи поведенческой шкалы «PTIBS»	23
2.6 Гистологические методы	23
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	25
3.1 Тестирование двигательной функции при помощи поведенческой шкалы «PTIBS»	25
3.2 Морфометрия области повреждения спинного мозга.....	27
ВЫВОДЫ	31
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	32

ВВЕДЕНИЕ

Результатом травмы спинного мозга является потеря нервной тканью двигательной и чувствительной функций, неизбежно ведущих к глубокой инвалидизации. Средний возраст пациентов с данной патологией составляет 31 год, что связано с высоким уровнем травматизма, который неизбежно сопутствует техническому прогрессу. Распространенность травматических повреждений спинного мозга неуклонно растет, и к 2020 году по прогнозам составит более 30 млн. людей во всем мире. На данный момент не существует лечения, способного восстановить функции травмированного спинного мозга в полной мере [Rishi *et al.*, 2009].

Надежды исследователей по преодолению последствий травмы спинного мозга (ТСМ) связаны с трансплантацией стволовых и / или прогениторных клеток. Основное преимущество стволовых клеток – это их способность к самообновлению и дифференцировки в другие типы клеток в организме. Многообещающие результаты были получены на экспериментальных моделях ТСМ [Rishi *et al.*, 2009; Nandoe *et al.*, 2010]. Показано, что стволовые клетки (СК) могут непосредственно дифференцироваться в нейроны или в глиальные клетки *in vitro*, которые, в свою очередь, могут быть использованы для замещения потерянных нервных клеток после ТСМ [Rishi *et al.*, 2009].

На сегодняшний день наиболее перспективными представляются мезенхимальные стволовые клетки (МСК), которые обладают следующими позитивными свойствами, позволяющими этим клеткам способствовать регенерации аксонов: (1) возможностью секреции различных нейротрофических факторов и цитокинов, (2) возможностью дифференцировки в различных направлениях, (3) иммуномодулирующим, противоапоптозным и

противовоспалительным эффектами [X. Cui X, *et al.*, 2013; Alice Laronia, *et al.*, 2015].

Наиболее распространенным источником МСК является костный мозг. Однако технические и медицинские трудности, а также резкое уменьшение с возрастом количества и дифференцировочного потенциала мезенхимальных стволовых клеток костного мозга (МСККМ) ограничивает их широкое и успешное использование в клинике. МСК, полученные из жировой ткани, являются хорошей альтернативой МСККМ, они не уступают последним по свойствам и их получение не связано с указанными выше проблемами. Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани интенсивно исследуют при ТСМ [Dasari VR, *et al.*, 2014; Yongsun Kim, *et al.*, 2015; Hak-Hyun Ryu, *et al.*, 2012]. При этом механизмы их влияния на посттравматическую регенерацию спинного мозга до конца не раскрыты, как и особенности их поведения и миграции в очагах нейродегенерации.

Цель исследования – оценить влияние на функциональные и структурные параметры травмированного спинного мозга свиньи однократной аппликации на область повреждения мезенхимальных стволовых клеток, заключенных в фибриновый матрикс Tissucol.

Для достижения цели поставлены следующие задачи:

- 1) Исследовать динамику восстановления двигательной функции в поведенческом тесте «PTIBS».
- 2) Оценить суммарную площадь патологических полостей и площадь сохранной ткани на поперечных срезах спинного мозга в области эпицентра повреждения и на удалении в ростральном и каудальном направлении.