**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет ветеринарної медицини

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Декан факультету

ветеринарної медицини

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ М.І. Цвіліховський

«\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2021 р.

РІВЕНЬ ВИЩОЇ ОСВІТИ ОСВІТНЬО-НАУКОВА ПРОГРАМА

ТРЕТІЙ ОСВІТНЬО-НАУКОВИЙ РІВЕНЬ НЕЗАРАЗНА ПАТОЛОГІЯ ТВАРИН

**РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ**

**«КЛІТИННІ ТЕХНОЛОГІЇ І ТРАНСПЛАНТОЛОГІЯ У ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ»**

ПОГОДЖЕНО

Гарант ОНП \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_(Н.Г. Грушанська)

Розробник: кафедра хірургії і патофізіології

ім. акад. І.О. Погваженка

Київ 2021

**Опис навчальної дисципліни**

**«Клітинні технології і трансплантологія у ветеринарній медицині»**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Галузь знань, спеціальність, освітній ступінь** | | |  |
| Галузь знань | | 21 – Ветеринарна медицина |  |
| Освітньо-науковий рівень | | третій |  |
| Освітній ступінь | | доктор філософії |  |
| Спеціальність | | 211 - «Ветеринарна медицина» |  |
| **Характеристика навчальної дисципліни** | | |  |
| Вид | | вибіркова |  |
| Загальна кількість годин | | 120 |  |
| Кількість кредитів ECTS | | 4 |  |
| Форма контролю | | Екзамен |  |
| **Показник навчальної дисципліни для денної форми навчання** | | |  |
|  | денна форма навчання | |  |
| Рік підготовки (курс) | І | |  |
| Семестр | 2 | |  |
| Лекційні заняття | 20 | |  |
| Практичні, семінарські заняття | - | |  |
| Лабораторні заняття | 20 | |  |
| Самостійна робота | 80 | |  |
| Індивідуальні завдання | - | |  |
| Кількість тижневих аудиторних годин для денної форми навчання | 4 год | |  |

1. **Мета та завдання навчальної дисципліни**

**Мета викладання дисципліни** - Освоєння аспірантами (здобувачами) наукового ступеня доктора філософії (phD) знань та умінь з вивчення основних властивостей стовбурових клітин тваринного походження в процесі їх отримання, виділення, культивування та застосування у ветеринарній медицині і біології; вивчення особливостей перебігу типових патологічних процесів та морфофункціональних змін за патології окремих органів і систем, що потребують стимуляції процесів відновлення їх структури і функції; встановлення показників для можливості трансплантації МСК чи продуктів клітинних технологій; підготовка тварин-реципієнтів до трансплантації; підготовка ветеринарного засобу клітинної терапії (ВЗКТ) для трансплантації; дослідження особливостей імунних реакцій в організмі тварини-реципієнта під впливом стовбурових клітин після трансплантації їх з терапевтичною метою.

**Завдання:** Прищепити здобувачам знання щодо біологічних властивостей клітин в культурі, класичної методології роботи з ними, а також специфічних маніпуляцій в роботі зі стовбуровими клітинами; закріпити у здобувачів поглиблені знання особливостей зміни структури і функції органів за різних видів патології для встановлення чіткого діагнозу та визначення доцільності лікування тварини з використанням ВЗКТ; закріпити у здобувачів компетенцію визначення якості та безпечності призначених для трансплантації ВЗКТ (стовбурових клітин, препаратів крові).

У результаті вивчення вибіркової навчальної дисципліни «Клітинні технології і трансплантологія у ветеринарній медицині» здобувач наукового ступеня доктора філософії повинен **з*нати:***

* біологічні особливості стовбурових клітин (СК), методи їх отримання, ідентифікації, культивування, зберігання та застосування СК для відновлення структури ушкоджених патологічно змінених тканин тваринного організму; особливості направленої диференціації СК, механізми сумісності клітин з організмом тварини-реципієнта;
* основні правила трансплантації тканин і клітин; вимоги до тварини-донора, трансплантата і тварини-реципієнта.

***вміти:***

**-** здійснювати рутинні маніпуляції з культурами клітин, а також володіти навиками проведення специфічних прийомів з культурами клітин (оцінка культури СК, спрямована диференціація клітин, отримання чистої лінії СК).

- використовувати на практиці (в дослідженнях) отримані знання для оцінки характеру морфофункціональних змін в організмі з метою здійснення науково обґрунтованої діагностики і прогнозування хвороби та відновлення структури і функції патологічно змінених тканин (органів, систем) організму з використанням ВЗКТ;

- використовувати знання для компетентного виявлення доцільності трансплантації ВЗКТ хворим тваринам, для оцінки результатів лікування тварин;

- проводити трансплантацію ВЗКТ та організовувати клінічний нагляд за тваринами-реципієнтами.

1. **Структура вибіркової дисципліни**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Назви тем | Кількість годин | | | | | |
| денна форма | | | | | |
| усьо-го | у тому числі | | | | |
| л | п | лаб. | інд. | сам. роб. |
| Тема 1. Практика використання стовбурових клітин і продуктів клітинних технологій у ветеринарній медицині та нормативно-правове забезпечення | 14 | 2 | - | 2 | - | 8 |
| Тема 2. Класифікація стовбурових клітин та їх біологічні властивості | 14 | 2 | **-** | 2 | - | 8 |
| Тема 3. Навколоплідні органи – альтернативне джерело мезенхімальних стовбурових клітин у тварин | 14 | 2 | - | 2 | - | 8 |
| Тема 4. Клонування первинних мультипотентних стовбурових клітин кісткового мозку тварин при різних умовах зберігання | 14 | 2 | - | 2 | - | 8 |
| Тема 5. Контроль якості і безпечності стовбурових клітин, призначених для трансплантації | 14 | 2 | - | 2 | - | 8 |
| Тема 6. Зберігання стовбурових клітин в культурі та оцінка їх активності перед застосуванням (трансплантацією) | 14 | 2 | - | 2 | - | 8 |
| Тема 7. Використання СК з лікувальною метою. Основні вимоги та можливі ризики застосування стовбурових клітин з лікувальною метою | 14 | 2 | - | 2 | - | 8 |
| Тема 8. Регенерація тканин та методи її стимуляції | 14 | 2 | - | 2 | - | 8 |
| Тема 9. Основні положення трансплантації. Реакції сумісності та відторгнення. Трансплантаційний імунітет | 14 | 2 | - | 2 | - | 8 |
| 10. Трансплантація: вимоги до донора та реципієнта | 14 | 2 | - | 2 | - | 8 |
| **Усього годин** | **120** | **20** | **-** | **20** | **-** | **80** |

1. **Теми лабораторних занять**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № п\п | **Тема заняття** | **Годин** |
| 1. | Організація та обладнання лабораторії з отримання стовбурових клітин. Правила роботи та безпеки | 2 |
| 2. | Методи мікроскопічних досліджень в цитологічній лабораторії | 2 |
| 3. | Методи отримання тотіпотентних, плюрипотентних та мультипотентних стовбурових клітин ссавців | 2 |
| 4. | Цитогенетичне дослідження культур клітин | 2 |
| 5. | Кріоконсервування культур клітин | 2 |
| 6. | Отримання та культивування монопотентних культур клітин | 2 |
| 7. | Робота з культурами клітин: підготовка живильних середовищ для культивування СК та їх спрямованої диференціації | 2 |
| 8. | Методи оцінки якості і безпечності СК та продуктів КТ перед їх застосуванням | 2 |
| 9. | Освоєння методів клітинної трансплантології: підготовка та проведення маніпуляцій по пересадці СК | 2 |
| 10. | Методи клінічного та лабораторного контролю ефективності використання СК з лікувальною метою | 2 |

1. **Контрольні питання**
   1. Що таке культура тканин?
   2. В чому відмінність між культурою клітин та культурою тканин?
   3. Що таке переживаючі та ростучі культури?
   4. В чому відмінність одношарових та суспензійних культур?
   5. Назвіть основні операції, які проводяться в лабораторії культур клітин.
   6. Назвіть основне обладнання для лабораторій культур клітин та його призначення.
   7. Які витратні матеріали необхідні в лабораторії?
   8. Назвіть необхідний посуд для роботи у лабораторіях культур клітин.
   9. Назвіть методи миття посуду та дайте їх характеристику.
   10. Які методи стерилізації ви знаєте?
   11. Яким чином здійснюється підготовка до роботи боксового приміщення?
   12. Назвіть основні методи досліджень культур клітин.
   13. Що таке фазовоконтрастна мікроскопія?
   14. У чому суть темнопільної мікроскопії?
   15. Що таке флуоресцентна мікроскопія?
   16. Навіщо використовують імуноцитохімічні методи та в чому їх суть?
   17. Дайте характеристику гістохімічним методам досліджень.
   18. У чому суть радіоавтографічного методу досліджень культур клітин?
   19. У яких випадках використовують диференціальне центрифугування та центрифугування у градієнті щільності?
   20. У чому суть методу проточної цитометрії?
   21. Що таке контамінація?
   22. Які види контамінації ви знаєте?
   23. Назвіть основні правила попередження контамінації.
   24. Які методи контролю чистоти повітря у лабораторіях ви знаєте?
   25. Назвіть основні ознаки контамінації культуральних середовищ.
   26. Яким чином можна попередити розмноження та ріст контамінантів.
   27. Назвіть препарати, які використовуються у роботі з культурами клітин, та яка їх дія?
   28. Чому не рекомендується постійне використання антибіотиків при роботі з культурами клітин?
   29. Назвіть фактори, які впливають на процес культивування клітин?
   30. Що таке збалансовані сольові розчини?
   31. У чому відмінність між ростовими та підтримуючими середовищами ?
   32. У яких концентраціях до складу поживних середовищ вносять сироватку та яка її роль?
   33. З якою метою використовують розчини трипсину/ЕДТА та у яких концентраціях?
   34. Назвіть барвники, що використовуються для визначення життєздатності клітин.
   35. З якою метою визначають життєздатність клітин?
   36. Назвіть можливі причини низької життєздатності клітин.
   37. Які речовини забезпечують міжклітинний контакт?
   38. Що таке хелатуючі речовини.
   39. Назвіть ферменти, які найчастіше використовуються для роботи з клітинами.
   40. У яких концентраціях використовується розчин трипсину?
   41. Які термін придатності готового розчину трипсину та умови зберігання?
   42. У яких концентраціях використовуються розчини пронази та колагенази?
   43. Що таке первинна культура?
   44. Поясніть суть методу первинного експланту.
   45. У яких випадках використовується механічна дезагрегація тканин?
   46. Що таке фідерний шар?
   47. Які клітини використовують у якості фідерних шарів?
   48. Навіщо використовують фідерні шари?
   49. Які переваги гетерологічної та гомологічної культури для приготування фідерного шару?
   50. Що таке пасажування клітин?
   51. З якою метою здійснюють пасажування?
   52. Які показники слід враховувати при визначенні посадкової кількості клітин з розрахунку до площі культурального посуду?
   53. Назвіть причини, які можуть ускладнювати процес зняття клітин з культурального посуду.
   54. В чому суть суспензійного клонування?
   55. Які види клітин здатні до суспензійного клонування?
   56. З чого отримують агар?
   57. Що входить до складу агару?
   58. Які види кріоконсервування клітин ви знаєте?
   59. Поясніть в чому суть програмного заморожування клітин?
   60. Поясніть в чому відмінність методу вітрифікації від програмного заморожування?
   61. Що таке кріопротектори?
   62. Які кріопротектори ви знаєте?
   63. Поясніть механізм дії кріопротекторів.
   64. Що таке стовбурові клітини?
   65. Як класифікують стовбурові клітини?
   66. Що може бути джерелом отримання стовбурових клітин?
   67. Якими властивостями володіють стовбурові клітини?
   68. Поясніть що таке мононуклеарна фракції клітин кісткового мозку?
   69. Назвіть які речовини використовують у якості градієнту щільності.
   70. Які методи використовують для виділення стовбурових клітин?
   71. Що таке цитогенетичний метод?
   72. З якою метою використовують цитогенетичний метод?
   73. Опишіть методику приготування препаратів хромосомних пластинок.
   74. Що таке відносна довжина хромосоми?
   75. Що таке абсолютна довжина хромосоми?
   76. Поясніть терміни «плечовий індекс» та «центромерний індекс».
   77. Класифікуйте хромосоми за довжиною центромерного індексу.
   78. Що таке мітотичний індекс?
   79. Що таке модальний клас?
   80. З якою метою використовується флуоресцентна мікроскопія?
   81. Поясніть принцип дії флуоресцентного мікроскопа.
   82. Що таке мікоплазма?
   83. З якою метою використовується флуоресцентна мікроскопія?
   84. Поясніть принцип дії флуоресцентного мікроскопа.
   85. Що таке мікоплазма?
   86. Що таке природні кілери?
   87. Яку функцію виконують природні кілери?
   88. Які функції виконують лімфоцити та нейтрофіли?
   89. Назвіть методики виділення лімфоцитів та нейтрофілів з крові.
   90. Яка роль макрофагів у організмі?
   91. Як ви розумієте термін «цитотоксична активність лімфоцитів»?
   92. Опишіть методику визначення цитотоксичної активності сироватки крові тварин.
   93. Що таке адоптивна імунотерапія?
   94. Клітинна імунотерапія вірусних захворювань.
   95. Клітинні вакцини.
   96. Ембріональні стовбурові клітини.
   97. Мезенхімальні стовбурові клітини.
   98. Імунологічні властивості мезенхімальних стовбурових клітин.
   99. Гістони та організація ДНК в хромосомах.
   100. Мітотичний цикл.
   101. Ферменти полімеризації.
   102. Механізм дії теломерази.
   103. Теломераза і онкогенез.
   104. Загальні принципи метилювання ДНК.
   105. Репарація пошкодженої ДНК.
   106. Особливості будови мРНК.
   107. Взаємодія тРНК з лігандами.
   108. Механізми сплайсингу.
   109. Будова білків.
   110. Принцип будови та властивості біомембран.
   111. Адгезивні мембранні білки.
   112. Морфологія апоптозу та некрозу.
   113. Більше стовбурових клітин міститься в організмі новонароджених чи статевозрілих ссавців.
   114. Хто вперше виділив мезенхімальні стовбурові клітини із кісткового мозку ссавців.
   115. Тотіпотентні стовбурові клітини – це.
   116. Які існують види контамінації культури клітин?
   117. Для дисоціації тканин можна використовувати розчини різноманітних протеаз у поєднанні з хелатуючими речовинами.
   118. Якими властивостями володіють стовбурові клітини?
   119. Охарактеризуйте плюрипотентні стовбурові клітини ссавців.
   120. Охарактеризуйте фенотипову характеристику мезенхімальних стовбурових клітин.
   121. Охарактеризуйте тотіпотентні стовбурові клітини ссавців.
   122. Що таке кріопротектори, поясніть механізм дії кріопротекторів
   123. Охарактеризуйте мультипотентні стовбурові клітини ссавців.
   124. Дайте характеристику стовбуровим клітинам навколоплідних органів.
   125. Поясніть що таке мононуклеарна фракції клітин кісткового мозку?

**6. Методи навчання**

- читання лекцій з використанням мультимедійних проекторів;

- проведення лабораторних занять і демонстрація експериментів;

- надання додаткових щотижневих консультацій для здобувачів;

- опитування під час занять;

- письмові контрольні роботи, реферати;

- проведення рубіжного та контролю знань у тестовій формі

- проведення екзамену у тестовій формі.

- дискусії та семінари на теми навчальної дисципліни «Стовбурові клітини у ветеринарній медицині і трансплантологія».

**7. Форма контролю**

- Поточний контроль знань – співбесіда, реферат, доповідь з презентацією за обраною темою;

- Підсумковий контроль знань – екзамен.

**8. Методичне забезпечення**

Науково-методичне забезпечення навчального процесу передбачає: державні стандарти, навчальні плани, підручники і навчальні посібники; інструктивно-методичні матеріали лабораторних занять; індивідуальні навчально-дослідні завдання; контрольні роботи; текстові та електронні варіанти тестів для поточного і підсумкового контролю, методичні матеріали для організації самостійної роботи здобувачів.

**9. Список рекомендованої літератури**

**Основна**

1. Клітинні технології у ветеринарній медицині. Навчальний посібник. Навчальний посібник для студентів ВНЗ ІІІ-ІУ р.а. за напрямком підготовки «Ветеринарна медицина» /Мазуркевич А.Й., В.В.Ковпак, В.Б.Данілов, М.О.Малюк, Ю.О.Харкевич. - Вид. ТОВ «ЦП «КОМПРИНТ», К. - 2014 – 131 с.
2. Стовбурові клітини у ветеринарній медицині, том І: Експериментальні дослідження з отримання, зберігання і застосування мезенхімальних стовбурових клітин. Монографія/Мазуркевич А.Й. Малюк М.О., Ковпак В.В., Харкевич Ю.О., Журба В.І.. – К.: ТОВ ЦП «Компринт», 2013.– 265 с.
3. Стовбурові клітини у ветеринарній медицині. Том ІІ. Експериментальні дослідження з отримання, зберігання і застосування стовбурових клітин. Монографія /Мазуркевич А.Й., Малюк М.О., Ковпак В.В., Харкевич Ю.О.-Вид. ТОВ ЦП «Компринт». – 2017. - 280 с.
4. Використання мезенхімальних стовбурових клітин для корекції репаративних процесів в організмі тварин-реципієнтів. Методичні рекомендації. Методичні рекомендації/Мазуркевич А.Й., Данілов В.Б., Малюк М.О., Ковпак В.В., Харкевич Ю.О., Журба В.І., Бобось О.Л., Золтан Н.І.Затв.наук.-методє радою Держфітосанітарної служби України (прот. № 1 від 21 грудня 2012 р.) . Київ. Вид. центр НУБіП України -2012 - 42 с.
5. Корекція репаративних процесів у патологічно змінених тканинах тваринного організму за допомогою стовбурових клітин. Методичні рекомендації. Затв. Наук.-метод. радою Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів, прот. 3 від 16 серпня 2017р./Мазуркевич А.Й., Малюк М. О., Данілов В. Б., Стародуб Л.Ф., Ковпак В. В., Харкевич Ю. О., Бобось О. Л., Кляп Н.І. Київ ЦП «КОМПРИНТ». – 44 с.

Д о д а т к о в а

1. Патобіологія клітини. Методичні рекомендації/ Мазуркевич А.Й., Мазуркевич Т.А., Данілов В.Б., Малюк М.О., Ковпак В.В., Харкевич Ю.О.– Вид.центр НУБіП України. –К.2016 – 39 с.
2. Кухарчук А.Л. Стволовые клетки: эксперимент, теория, клиника. Эмбриональные, мезенхимальные, нейральные и гемопоетические стволовые клетки / Кухарчук А.Л., Радченко В.В., Сирман В.М.- Черновцы: Золоті Литоври, 2004. - 505с.
3. Б. Албертс. Молекулярная биология клетки. В 3-х томах. Под редакцией Г.П. Георгиева.- М.:Мир, 1994.- 1573с.
4. Денни Мейер, Джон Харви. Ветеринарная лабораторная медицина (интерпретация и диагностика). Под редакцией Ю.М. Кеда.- М.:Софион,2007.-460с.
5. Р. Адамс. Методы культур клеток для биохимиков. Под редакцией В.Ю. Полякова.- М.: Мир 1983.-262с.

**Допоміжна**

1. Н.И. Мушкамбаров. Молекулярная биология.-М.:Медицинское информационное агенство, 2003.-545с.
2. Коструб О. О. Клітинна терапія при дегенеративних ушкодженнях сухожиль. / О. О. Коструб, Р. І. Блонський. – К. : Здоров’я, 2011. – 151 с.
3. Stem Cells Handbook / Edited by Stewart Seel.- Humana Pres Inc. Totowa, N.J.,2002-526p.
4. **Інформаційні ресурси**

<https://vsso.org/>

<https://teachmemedicine.org/hematology-and-oncology/#toggle-id-62>

<https://distribuzione.evsrl.it/ArticlesPdf/BOOK/ONCO37.pdf>

<https://www.aaha.org/globalassets/02-guidelines/oncology/2016_aaha_oncology_guidelines_for_dogs_and_cats.pdf>