

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(30)

2023 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован
Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 25.09.23
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 120 экз.
Усл. печ. л. 15,5. Уч.-изд. л. 9,54.
Зак. 556.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и
экологии человека»
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в КУП
«Редакция газеты
«Гомельская праўда»
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., профессор)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор, зам. гл. редактора), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), К.Н. Буздакин (к.т.н., доцент), Н.Г. Власова (д.б.н., профессор, научный редактор), А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веякин (к.б.н., доцент), А.В. Воропаева (к.б.н., доцент), Д.И. Гавриленко (к.м.н.), М.О. Досина (к.б.н., доцент), А.В. Жарикова (к.м.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., доцент, отв. секретарь), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаяев (к.м.н., доцент), Д.В. Кравченко (к.м.н.), А.Н. Лызинов (д.м.н., профессор), А.В. Макарич (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), В.М. Мишура (д.м.н., доцент), Я.Л. Навменова (к.м.н., доцент), Э.А. Надьров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), А.С. Подгорная (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), И.П. Ромашевская (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н., доцент), А.П. Саивончик (к.б.н.), А.Е. Силин (к.б.н., доцент), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), И.О. Стома (д.м.н., профессор), Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент)

Редакционный совет

А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), О.В. Алейникова (д.м.н., чл.-кор. НАН РБ, Минск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Е.Л. Богдан (Минск), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), В.И. Жарко (Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Е.Н. Кроткова (к.м.н., доцент, Минск), Н.Г. Кручинский (д.м.н., профессор, Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (МЗ РБ, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Д. Тронько (д.м.н., чл.-кор. НАН, акад. НАМН Украины, Киев), А.Л. Усс (д.м.н., профессор, Минск), В.А. Филонюк (д.м.н., профессор, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,

ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», 2023

№ 2(30)

2023

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Обзоры и проблемные статьи**Reviews and problem articles**

С.В. Зыблева, Ю.И. Рожко, А.В. Жарикова, Б.О. Кабешев, С.Л. Зыблев

S.V. Zybleva, Yu.I. Rozhko, A.V. Zharikova, B.O. Kabeshev, S.L. Zyblev

Роль N-ацетилцистеина в терапии заболеваний, характеризующихся окислительным стрессом (обзор литературы) 6

The role N-acetylcysteine (nac) in the therapy of diseases characterized by oxidative stress (literature review)

Медико-биологические проблемы**Medical-biological problems**

Н.Н. Веялкина, Л.А. Белая, О.С. Аксёненко, А.Е. Сусленкова, Е.А. Медведева

N.N. Veialkina, L.A. Belaia, O.S. Aksenenko, A.E. Suslenkova, E.A. Medvedeva

Влияние хронического рентгеновского облучения в малых дозах на грудной отдел в эксперименте 17

Effect of chronic X-ray irradiation in low doses on the thoracic region in an experiment

И.Е. Гурьянова, Е.А. Полякова, К. Суффритти, Л.Б. Коростелева, С.Н. Алешкевич, Ю.С. Жаранкова, М.В. Белевцев

I.E. Guryanova, E.A. Polyakova, C. Suffritti, L.B. Korosteleva, S.N. Aleshkevich, Y.S. Zharankova, M.V. Belevtsev

Клиническая эффективность применения метода по определению расщепленного высокомолекулярного кининогена в диагностике наследственного ангиоотека 23

Clinical efficiency of the cleaved high-molecular-weight kininogen detection in the diagnosis of hereditary angioedema

А.-М.В. Ерофеева, С.В. Пинчук, С.Н. Рябцева, А.Ю. Молчанова

A.-M. Yerofeyeva, S. Pinchuk, S. Rjabceva, A. Molchanova

Активация каннабиноидных рецепторов II типа как вариант потенцирования мезенхимальных стволовых клеток в модели периферической нейропатической боли 29

Activation of type II cannabinoid receptors as variant for mesenchymal stem cell potentiation in a model of peripheral neuropathic pain

Я.И. Исайкина, В.В. Солодовникова, Р.Л. Фролова, Ю.В. Савич, А.А. Жерносеченко, Е.М. Скрыгина

Y. Isaikina, V. Solodovnikova, R. Frolova, U. Savich, H. Zhernasechanka, A. Skrahina

Мезенхимальные стволовые клетки из костного мозга пациентов с лекарственно-устойчивым туберкулезом для применения в клеточной терапии 40

Mesenchymal stem cells from bone marrow of patients with drug-resistant tuberculosis for cellular therapy

М.В. Кадука, Т.А. Бекяшева, С.А. Иванов, В.В. Ступина

M.V. Kaduka, T.A. Bekjasheva, S.A. Ivanov, V.V. Stupina

Содержание изотопов урана в некоторых видах пищевых продуктов. Оптимизация метода определения 46

Uranium isotopes content in the certain types of foodstuffs. Optimization of the analytical method

Е.К. Нилова, К.Н. Буздалкин		E.K. Nilova, K.N. Buzdalkin	
Геометрический фактор для оценки плотности загрязнения почвы <i>in-situ</i>	54	Geometry factor for <i>in-situ</i> soil contamination density estimation	
А.М. Островский, И.Н. Коляда		A.M. Ostrovsky, I.N. Kolyada	
Анализ смертности населения Гомельской области от инфекционных и паразитарных болезней в 2009-2019 гг.	62	Mortality analysis of the Gomel region population from infectious and parasitic diseases in 2009-2019	
Н.В. Поклонская, Ю.А. Шилова, Т.В. Амвросьева		N.V. Paklonskaya, Yu.A. Shilova, T.V. Amvrosieva	
Метод мультиплексной полимеразной цепной реакции для диагностики вирусной кишечной инфекции неуточненной	69	Multiplex polymerase chain reaction method for the diagnosis of unspecified viral acute gastroenteritis	

Клиническая медицина

Clinical medicine

Л.И. Данилова, В.А. Рожко, И.В. Веялкин, И.Г. Савастеева, С.Н. Никонович, Т.М. Шаршакова		L.I. Danilova, V.A. Rozhko, I.V. Veyalkin, I.G. Savasteeva, S.N. Nikonovich, T.M. Sharshakova	
Клинико-лабораторные особенности аутоиммунного тиреоидита у субъектов когорты по результатам скрининга	74	Clinical and laboratory features of autoimmune thyroiditis in subjects of the cohort according to the results of screening	
А.Ю. Захарко, А.С. Подгорная, О.В. Мурашко, Т.В. Статкевич, А.Р. Ромбальская		A.Yu. Zaharko, A.S. Podgornaya, O.V. Murashko, T.V. Statkevich, A.R. Rombalskaya	
Течение беременности, родов, состояние фетоплацентарного комплекса у женщин с абдоминальным ожирением и гипертензивными расстройствами	88	Course of pregnancy, delivery, the state of the fetoplacental complex in women with abdominal obesity and hypertensive disorders	
В.В. Крюков		V.V. Kryukov	
Состояние когнитивной сферы участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС	95	The state of the cognitions of clean-up workers of the consequences of the Chernobyl accident	
Д.М. Лось, В.С. Волчек		D. Los', V. Volchek	
Оценка осведомленности женского населения Гомельской области о профилактике и ранней диагностике рака молочной железы	106	Assessment of awareness of the female population of Gomel region about prevention and early diagnosis of breast cancer	
Н.А. Песковая, А.В. Солнцева		N.A. Peskavaya, A.V. Solntsava	
Факторы снижения минеральной плотности костной ткани у детей с синдромом Шерешевского-Тернера	111	Factors of reduced bone mineral density in children with Turner syndrome	

Обмен опытом

Experience exchange

Н.А. Метляева, А.Ю. Бушманов, И.А. Галстян, В.Ю. Нугис, М.В. Кончаловский, О.В. Щербатых, Ф.С. Торубаров, Е.О. Нечаева, А.С. Кретов, В.В. Кореньков

N.A. Metlyeva, A.Yu. Bushmanov, I.A. Galstyan, V.Yu. Nugis, M.V. Konchalovsky, O.V. Shcherbatykh, F.S. Torubarov, E.O. Nechaeva, A.S. Kretov, V.V. Korenkov

Психофизиологическая оценка индивидуальных особенностей личности у двух пациентов с тяжелыми местными лучевыми поражениями кистей рук и острой лучевой болезнью I степени (30 лет наблюдения)

Psychophysiological Assessment of Individual Personality in Two Patients with Severe Local Radiation Injuries (LRI) of Hand and Acute Radiation Sickness (ARS) I Degree (30 Years of Follow-up)

АКТИВАЦИЯ КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ II ТИПА КАК ВАРИАНТ ПОТЕНЦИРОВАНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В МОДЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИЧЕСКОЙ БОЛИ

¹Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь;

²Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь

Трансплантация мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) рассматривается в качестве потенциального компонента комплексной терапии периферической нейропатической боли. Анальгетический эффект МСК ЖТ доказан, и одним из потенциально возможных вариантов его усиления и пролонгации могла бы явиться активация каннабиноидных рецепторов II типа (CB₂-рецепторов). В данной работе проведена оценка антиноцицептивного и репаративного эффектов МСК ЖТ при фармакологической стимуляции каннабиноидных рецепторов II типа селективным агонистом AM1241 на мембранах МСК ЖТ, а также в тканях области травматического повреждения седалищного нерва крыс в эксперименте. Установлено, что фармакологическая стимуляция CB₂-рецепторов на мембранах МСК ЖТ ускоряла восстановление ноцицептивной чувствительности к механическому и термическому стимулам по сравнению с трансплантацией только МСК ЖТ. Заблаговременная (перед трансплантацией МСК ЖТ) активация CB₂-рецепторов в окружающих седалищный нерв тканях более эффективно ослабляла ноцицептивные реакции на воздействие термическим стимулом в отдаленные сроки эксперимента. Стимуляция CB₂-рецепторов не оказывала существенного влияния на скорость восстановления параметров походки крыс после трансплантации МСК ЖТ, но приводила к восстановлению структуры дистального сегмента седалищного нерва крыс. Последнее выразилось в усилении пролиферации шванновских клеток и снижении числа поврежденных нервных волокон.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, нейропатическая боль, каннабиноидные рецепторы, анализ походки

Введение

Периферическая нейропатическая боль относится к самостоятельным хроническим болевым синдромам, вызванным структурным либо функциональным повреждением звеньев соматосенсорной нервной системы [1]. Её распространенность варьирует от 7 до 20% взрослого населения Европы, ежегодно наблюдается рост числа пациентов с данной патологией [1-2]. Современная стратегия лечения нейропатической боли включает многоступенчатое применение фармакотерапевтических и физиотерапевтических методов, тогда как при их неэффективности нередко прибегают к полной блокаде нерв-

ных стволов [3]. Трансплантация мезенхимальных стволовых клеток (МСК) является новым методом терапии хронического болевого синдрома, связанного с повреждением периферических нервов [4]. Анальгезирующий и нейропротекторный эффект МСК показан в экспериментальных моделях периферической neuropatii различной этиологии при разных способах введения [4-7]. Вместе с тем механизмы реализуемых МСК ЖТ эффектов на данный момент не до конца раскрыты. Одним из предполагаемых механизмов антиноцицептивных и репаративных эффектов МСК ЖТ является взаимодействие их секретора с компонентами антиноцицептивной системы организ-

ма в периферических тканях, в частности СВ₂-рецепторами, либо через активацию СВ₂-рецепторов на мембранах стволовых клеток [8-9]. Исследование влияния активации СВ₂-рецепторов при трансплантации МСК ЖТ и в область повреждения периферического нерва позволит оценить роль данных рецепторов в эффектах стволовых клеток, и на основании полученных результатов предложить способ усиления эффективности клеточной трансплантации.

Целью данной работы явилась оценка антиноцицептивного и репаративного эффектов МСК ЖТ при фармакологической стимуляции каннабиноидных рецепторов СВ₂ в модели периферической нейропатической боли.

Материал и методы исследования

В экспериментальное исследование были включены крысы-самцы линии Wistar с исходной массой 180-200 г (n=40). Животных содержали в виварии Института физиологии НАН Беларуси со свободным доступом к воде и пище. Все манипуляции проведены с соблюдением принципов, изложенных в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Исследование одобрено Комиссией по биоэтике при Институте физиологии НАН Беларуси (протокол № 1 от 02.02.2023 г.).

Методом рандомизации животные были разделены на следующие группы:

1) группа с моделью периферической нейропатической боли без лечения (группа НП без лечения, n=10);

2) группа с моделью периферической нейропатической боли с трансплантацией МСК ЖТ аллогенного происхождения в область повреждения седалищного нерва крыс (НП+МСК ЖТ, n=10);

3) группа с моделью периферической нейропатической боли с трансплантацией МСК ЖТ на фоне фармакологической активации СВ₂-рецепторов AM1241 в мягких тканях области повреждения седалищного нерва крыс (НП+AM1241+МСК ЖТ, n=10);

4) группа с моделью периферической нейропатической боли после трансплантации МСК ЖТ предварительно инкубированных с селективным агонистом СВ₂-рецепторов AM1241 (НП+пре-AM1241 МСК ЖТ, n=10).

Хирургические манипуляции. Моделирование периферической нейропатической боли/нейропатии (НП) выполняли методом аксотомии участка седалищного нерва (5 мм) левой задней конечности крыс [4]. До операции животных наркотизировали тиопенталом натрия (ОАО «Синтез», РФ) в дозе 20 мг/кг и дополнительно применяли местную анестезию (лидокаина гидрохлорид (ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь), 0,1 мл, внутримышечно). После операции крыс рассаживали в индивидуальные клетки и наблюдали до выхода из наркотического сна.

Трансплантация МСК ЖТ. В работе использовали МСК, выделенные из жировой ткани интактных крыс согласно использованному ранее методу [10]. Клетки культивировали в среде DMEM, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 mM L-глутамина, 0,01 мл базового раствора комплексного антибиотика-антимикотика во флаконах для монослойных культур (Sarstedt, Германия) в CO₂-инкубаторе (37°C, 5% CO₂). Для экспериментов применяли МСК ЖТ 3-го пассажа. К этому времени формировалась гомогенная культура адгезированных ко дну флакона клеток, имеющих фибробластоподобную форму. Проведена проверка фенотипа МСК ЖТ на наличие мезенхимальных маркеров CD29, CD44 и CD90, а также отсутствие гемопоэтического маркера CD45 на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson, США). По результатам измерений доля клеток, положительных по наличию мезенхимальных маркеров, составляла более 97%, гемопоэтических – менее 3%. Жизнеспособность клеток контролировали на проточном цитофлуориметре с использованием красителя пропидиум иодид: доля клеток, исключающих данный

краситель (жизнеспособные клетки), составляла более 90%. Перед трансплантацией МСК ЖТ переводили в суспензионное состояние, обрабатывая раствором трипсина (0,25%) и ЭДТА (0,02%) (Gibco, США), и затем готовили суспензию в стерильном фосфатно-солевом буфере (pH=7,2; Gibco, США). Введение МСК ЖТ проводили на 7-е сутки после моделирования НП в область повреждения нерва по периметру места хирургического вмешательства в количестве 1×10^6 клеток/кг.

Активация CB₂-рецепторов. Фармакологическую стимуляцию CB₂-рецепторов в мягких тканях области аксотомии седалищного нерва в группе НП+AM1241+МСК ЖТ выполняли за 15 мин до трансплантации МСК ЖТ. Селективный агонист CB₂-рецепторов AM1241 (Cayman-Chemical, США), растворенный в стерильном PBS-буфере (pH=7,4) с добавлением 0,2% ДМСО, вводили внутримышечно по периметру аксотомии седалищного нерва в дозе 1 мг/кг. Активацию CB₂-рецепторов на мембранах МСК ЖТ осуществляли путём инкубирования с AM1241 (2 мМ, 24 ч).

Оценка ноцицептивной чувствительности. Ноцицептивную чувствительность к механическому стимулу регистрировали в тесте Рэндалла-Селитто на одноимённом алгезиметре (Panlab, Испания), определяющем порог ноцицептивной реакции (ПНР). Ноцицептивную чувствительность к термическому стимулу оценивали в тесте «Горячая пластина», определяли латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР) на одноимённом алгезиметре (Panlab, Испания) [11]. Тестирование для каждого животного проводили трехкратно с интервалом 5-7 мин, для анализа использовали усредненные данные. Измерения проводили на 0, 7, 14, 21, 28, 60 и 90-е сутки эксперимента.

Анализ параметров походки. Походку крыс анализировали аппаратно-программным комплексом CatWalk XT 10.6 (Noldus, Нидерланды), позволяющем при видеозаписи непринужденной ходьбы животного по подсвечиваемому стеклянному подиуму

регистрировать статические и динамические параметры походки, которые в дальнейшем анализировали в программном обеспечении комплекса. Походку каждого животного анализировали по достижении 3 успешных видеозаписей с максимальным уровнем варибельности шага 60% и временем пробежки не более 5,00 с. В анализ включали статические и динамические параметры на основании предыдущих исследований данной модели нейропатической боли [4-5].

Динамические параметры включали:

Stand time – длительность фазы опоры конечности о поверхность дорожки;

Swing time – длительность фазы переноса лапы, ее нахождения в воздухе;

Duty cycle – рабочий цикл лапы, процент длительности фазы опоры лапы от длительности полного цикла шага.

Статические параметры походки:

Print length – длина отпечатка лапы;

Print width – ширина отпечатка лапы;

Print area – площадь отпечатка лапы;

Max contact area – площадь максимального контакта отпечатка лапы;

Max intensity – максимальная интенсивность отпечатка лапы;

Mean intensity – средняя интенсивность отпечатка лапы;

Sciatic functional index (SFI) – функциональный седалищный индекс (ФСИ).

Параметры походки, за исключением ФСИ, рассчитывали в виде процентного соотношения левой травмированной конечности к контралатеральной правой задней конечности. Данное преобразование выполняли с целью исключения влияния скорости пробежек и массы тела животных на исследуемые показатели походки.

Оценка гистоструктуры седалищного нерва. На 21 и 90-е сутки эксперимента животных подвергали эвтаназии (тиопентал натрия, 200 мг/кг), затем извлекали дистальный сегмент седалищного нерва левой задней лапы и фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине (Labiko, РФ). Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином

по стандартной методике. Фотографирование поперечных срезов седалищного нерва осуществляли на световом микроскопе Optec ВК 5000 с цифровой камерой (Optec, Китай) на увеличении $\times 400$. Степень повреждения дистального сегмента седалищного нерва оценивали путём подсчёта процентного содержания нормальных и поврежденных нервных волокон дистального сегмента седалищного нерва экспериментальных групп, а также количества шванновских клеток (ШК) на 100 нервных волокон. Нормальные и поврежденные нервные волокна оценивали по состоянию миелиновой оболочки и расположению осевого цилиндра в нервном волокне [12]. Подсчёт выполняли не менее чем в пяти полях зрения при увеличении $\times 400$.

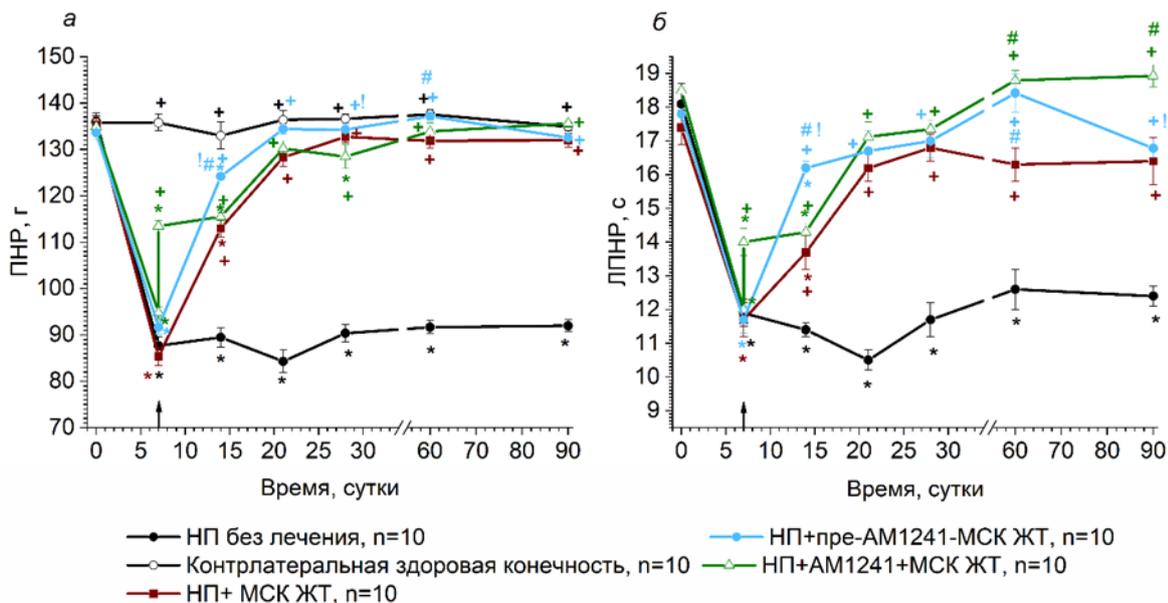
Статистика. Статистический анализ данных выполняли с помощью пакета STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США). Данные проверяли на нормальность распределения критерием Шапиро-Уилка. Отличия показателей ноцицептивной чувствительности и параметров походки оценивали методом дисперсионного анализа повтор-

ных измерений с апостериорными сравнениями методом наименьшей значимой разницы. Данные морфометрии сравнивали критерием Краскелла-Уоллиса с последующими апостериорными сравнениями. Вывод о статистической значимости отличий делали при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Изменения ноцицептивной чувствительности. В группе НП без лечения на 7-е сутки эксперимента наблюдали снижение ПНР ипсилатеральной конечности на 35,5% (с $136,0 \pm 1,9$ г до $87,7 \pm 2,0$ г) и ЛПНР на 34,3% (с $18,1 \pm 0,6$ с до $11,9 \pm 0,4$ с) относительно исходных значений ($p < 0,001$ для обоих параметров) (рисунок 1). Механическая и термическая гипералгезия сохранялась в данной группе до конца исследования.

После трансплантации МСК ЖТ в область повреждения седалищного нерва показатели термической и механической чувствительности значительно отличались от предыдущей группы. К 14-м суткам эксперимента отмечено увеличение ПНР ипсилатеральной конечности на 32,3% (с



Стрелка – время трансплантации мезенхимальных стволовых клеток; * – $p < 0,05$ по сравнению с исходными значениями; + – $p < 0,05$ по сравнению с 1-й группой исследования; # – $p < 0,05$ по сравнению со 2-й группой исследования; ! – $p < 0,05$ по сравнению с 3-й группой исследования

Рисунок 1 – Динамика ноцицептивной чувствительности у крыс групп исследования к механическому (а) и термическому (б) стимулам

85,4±2,0 г до 113,0±1,9 г; $p < 0,001$ к группе НП без лечения, рисунок 1а), а ЛПНР – на 17,1 % (с 11,7±0,5 с до 13,7±0,5 с; $p < 0,001$ к группе НП без лечения, рисунок 1б). К 21-м суткам исследования ПНР достиг 129,4±2,0 г ($p < 0,001$ к группе НП без лечения, рисунок 1а), а ЛПНР увеличился до 16,2±0,5 с ($p < 0,001$ по сравнению с НП без лечения, рисунок 1б). В дальнейшем ПНР и ЛПНР вышли на плато (рисунок 1).

Введение АМ1241 в дозе 1 мг/кг в область повреждения седалищного нерва на 7-е сутки эксперимента уже через 15 мин приводило к увеличению ПНР ипсилатеральной конечности на 19,6% (с 94,8±1,2 г до 113,5±1,2 г; $p < 0,001$ к группе НП без лечения) и ЛПНР на 16,8% (с 12,0±0,4 с до 14,0±0,4 с; $p < 0,001$ к группе НП без лечения), что указывает на развитие умеренного анальгетического эффекта при стимуляции СВ₂-рецепторов в мягких тканях задней лапы крыс (таблица 1).

После трансплантации МСК ЖТ на фоне фармакологической стимуляции СВ₂-рецепторов в области аксотомии седалищного нерва наблюдали увеличению ПНР на 14-е сутки эксперимента до 115,5±0,8 г ($p < 0,001$ к группе НП без лечения, $p > 0,05$ к группе НП+МСК ЖТ). Далее по 90-е сутки включительно динамика изменения ПНР не отличалась статистически значимо от группы НП+МСК ЖТ (рисунок 1а). К 14-м суткам эксперимента ЛПНР увеличился до 14,3±0,3 с ($p < 0,001$ к группе НП без лечения, $p > 0,05$ к группе НП+МСК ЖТ). На 21-е сутки отмечено увеличение ЛПНР до 17,4±0,6 с ($p < 0,001$ к группе НП без лечения, $p > 0,05$ к группе НП+МСК ЖТ). В дальнейшем отме-

чена тенденция к возрастанию ЛПНР: с 60-х суток исследования наблюдали увеличение ЛПНР относительно группы НП+МСК ЖТ на 15,3% ($p < 0,001$), к 90-м суткам разница составила 15,2 % ($p < 0,001$; рисунок 1б).

Трансплантация МСК ЖТ, преинкубированных с агонистом АМ1241, приводила к «скачку» ПНР ипсилатеральной конечности на 14-е сутки исследования до 124,2±0,7 г ($p < 0,001$ к группе НП без лечения), и увеличению данного показателя относительно группы НП+МСК ЖТ на 9,9% ($p < 0,001$; рисунок 1а). ЛПНР в этой группе также возрос на 14-е сутки исследования до 16,2±0,2 с ($p < 0,001$ к группе НП без лечения), и был достоверно выше данного показателя относительно группы НП+МСК ЖТ на 18,2% ($p < 0,001$; рисунок 1б). К 21-м суткам исследования ПНР ипсилатеральной конечности достиг 134,4±1,1 г ($p < 0,001$ к группе НП без лечения, $p > 0,05$ к группе НП+МСК ЖТ), ЛПНР – 16,9±0,6 с ($p < 0,001$ к группе НП без лечения, $p > 0,05$ к группе НП+МСК ЖТ). Далее динамика изменения ПНР и ЛПНР была схожа с таковой в группе НП+МСК ЖТ: на 60-е сутки эксперимента отмечено увеличение ПНР относительно данного показателя в группе НП+МСК ЖТ на 4,0% ($p < 0,02$) и ЛПНР – на 12,9 % ($p < 0,001$). По сравнению с группой НП+АМ1241+МСК ЖТ, трансплантация пре-АМ1241-МСК ЖТ способствовала росту ПНР на 14-е (на 7,5%, $p < 0,001$) и на 28-е сутки исследования (на 4,5%, $p < 0,01$, рисунок 1а). ЛПНР крыс этой группы также повышался на 14-е сутки исследования (на 13,3%, $p < 0,02$ по сравнению с группой НП+АМ1241+МСК

Таблица 1 – Показатели ноцицептивной чувствительности крыс с моделью нейропатии после введения АМ1241

Показатели	ПНР (левая лапа), г	ПНР (правая лапа), г	ЛПНР, с
0-е сутки	134,9±1,1	130,7±0,7	18,5±0,3
7-е сутки	94,8±1,2*	134,5±1,0	12,0±0,4*
через 15 мин после введения АМ1241	113,5±1,2*!	134,4±1,2	14,0±0,4*!

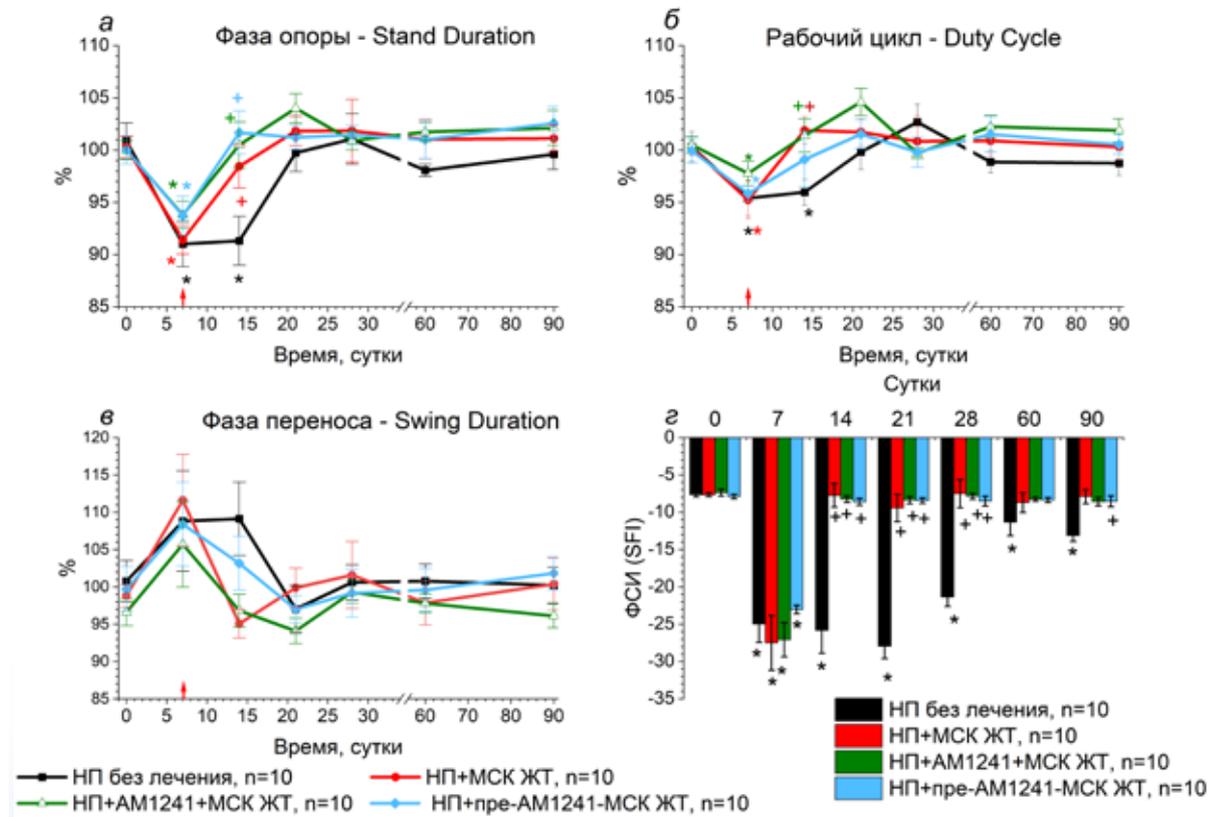
Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с 0-ми сутками; ! – $p < 0,05$ по сравнению с 7-ми сутками

ЖТ, рисунок 1б), и по 60-е сутки включительно продолжал постепенно возрастать. Однако к 90-м суткам эксперимента этот показатель был на 11,1% ниже, чем в группе НП+АМ1241+МСК ЖТ ($p < 0,002$). Последнее позволяет предположить, что активация периферических СВ₂-рецепторов оказывает более выраженное потенцирование антиноцицептивного эффекта МСК.

Динамические параметры походки. На 7-е сутки эксперимента во всех экспериментальных группах наблюдали нарушение динамических параметров походки. В группе НП без лечения отмечены сокращение длительности фазы опоры ипсилатеральной конечности до 91,0% ($p < 0,001$, рисунок 2а); рабочего цикла – до 95,4% ($p < 0,001$, рисунок 2б) по сравнению с 0-ми сутками эксперимента. При анализе длительности фазы переноса не обнаружено статистически значимых различий от 0-х суток в данной группе ($p > 0,05$, рисунок

2в). К 21-м суткам исследования наступало адаптационное восстановление длительности фазы опоры и рабочего цикла ипсилатеральной конечности (рисунки 2а, 2б).

После трансплантации МСК ЖТ в область перерезки седалищного нерва выявлено ускорение восстановления динамических параметров походки. К 14-м суткам эксперимента отмечено увеличение длительности фазы опоры (до 98,4%) и рабочего цикла (до 101,9%, рисунки 2а, 2б), далее не наблюдали изменений данных параметров. Как после трансплантации МСК ЖТ на фоне активации СВ₂-рецепторов в мягких тканях области аксотомии седалищного нерва, так и после трансплантации пре-АМ1241-МСК ЖТ, зафиксировано восстановление динамических параметров к 14-м суткам исследования. Динамика изменения данных параметров не отличалась статистически значимо от группы НП+МСК ЖТ ($p > 0,05$, рисунки 2а, 2б).



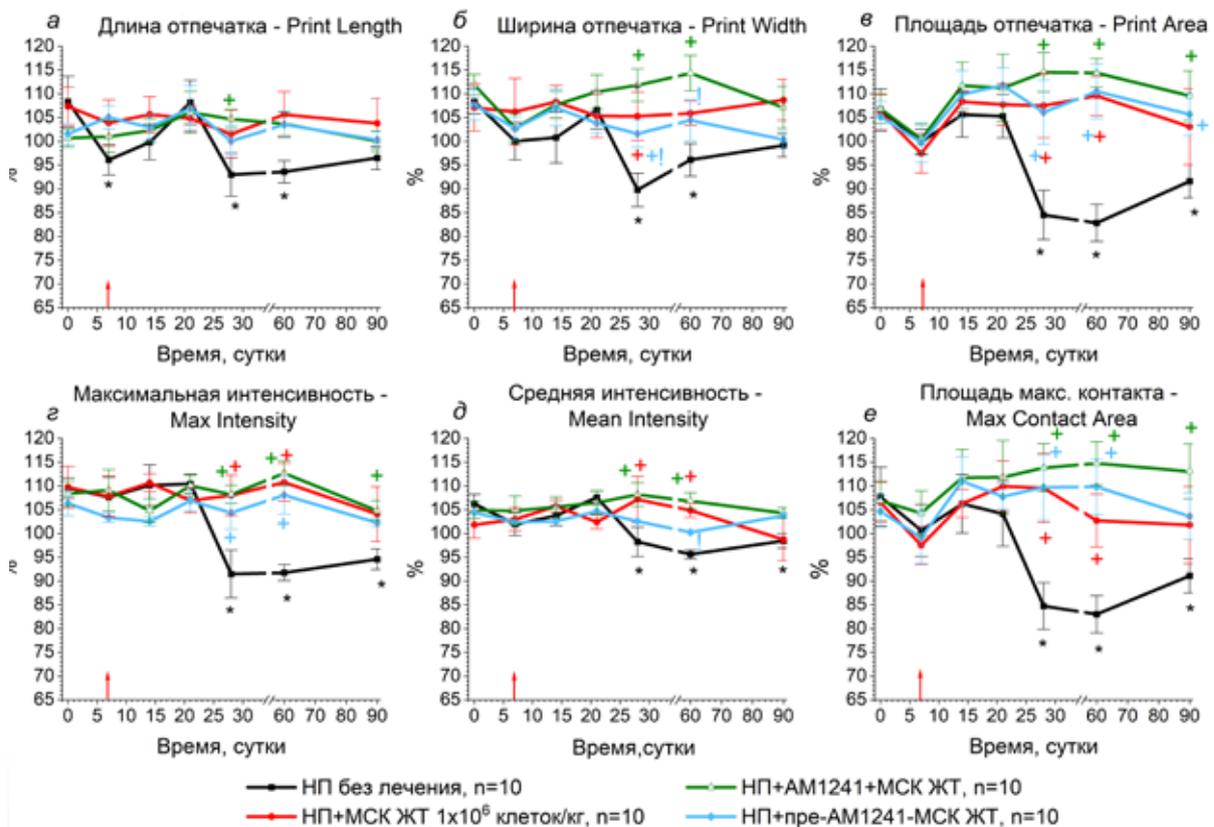
Стрелка – время трансплантации мезенхимальных стволовых клеток; * – $p < 0,05$ по сравнению с начальными значениями; + – $p < 0,05$ по сравнению с 1-й группой исследования

Рисунок 2 – Изменения динамических параметров походки (а, б, в) и функционального седалищного индекса (г) у крыс групп исследования

Функциональный седалищный индекс. Во всех экспериментальных группах на 7-е сутки эксперимента отмечено резкое снижение ФСИ. В группе НП без лечения данный показатель снизился в 2,3 раза (с $-7,65 \pm 0,30$ до $-24,99 \pm 2,45$; рисунок 2г). Восстановления ФСИ до исходного уровня в данной группе не наблюдалось до конца эксперимента. После трансплантации МСК ЖТ фиксировали рост ФСИ до $-7,75 \pm 1,57$ по сравнению с группой НП без лечения ($p < 0,001$), что соответствовало значениям ФСИ до начала эксперимента в группе НП+МСК. Восстановление ФСИ до исходного уровня к 14-м суткам исследования регистрировали и при трансплантации МСК ЖТ на фоне фармакологической стимуляции SV_2 -рецепторов в мягких тканях области аксотомии седалищного нерва (группа НП+AM1241+МСК ЖТ), а также

трансплантации пре-AM1241-МСК ЖТ, статистически значимых отличий показателей динамических параметров от таковых в группе НП+МСК ЖТ не обнаружено ($p > 0,05$, рисунок 2г).

Статические параметры походки. В группе НП без лечения нарушения статических параметров походки отмечали лишь с 28-х суток исследования (рисунок 3а-е). По сравнению со значениями до моделирования НП (0-е сутки) наблюдали снижение длины отпечатка травмированной конечности до 93,6% от контралатеральной конечности ($p < 0,02$, рисунок 3а), ширины отпечатка – до 96,1% ($p < 0,001$, рисунок 3б), площади отпечатка – до 84,5% ($p < 0,001$, рисунок 3в), площади максимального контакта – до 84,7%, ($p < 0,005$, рисунок 3е), максимальной интенсивности отпечатка – до 91,5% ($p < 0,001$, рисунок 3г), и сред-



Стрелка – время трансплантации мезенхимальных стволовых клеток; * – $p < 0,05$ по сравнению с начальными значениями; + – $p < 0,05$ по сравнению с 1-й группой исследования; ! – $p < 0,05$ по сравнению с 3-й группой исследования

Рисунок 3 – Изменения статических параметров походки (а-е) у крыс групп исследования

ней интенсивности отпечатка – до 98,3% ($p < 0,01$, рисунок 3д). Нарушения статических параметров походки сохранялись в данной группе до конца эксперимента.

После трансплантации МСК ЖТ в область аксотомии седалищного нерва статистически значимых изменений статических параметров походки по сравнению с исходными значениями (0-ми эксперимента) не наблюдали. По сравнению с аналогичными данными группы НП без лечения отмечено достоверное увеличение площади и площади максимального контакта отпечатка, а также параметров интенсивности на 28-е сутки ($p < 0,005$) и 60-е сутки эксперимента ($p < 0,02$). Активация СВ₂-рецепторов как в мягких тканях области аксотомии седалищного нерва перед трансплантацией МСК ЖТ, так и трансплантация пре-AM1241-МСК ЖТ сопровождалась отсутствием изменений статических параметров походки на протяжении исследования, также статистически значимых отличий от аналогичных параметров походки животных группы НП+МСК ЖТ не обнаружено (рисунок 3).

Морфологический анализ структуры седалищного нерва. При исследовании гистоструктуры дистального сегмента седалищного нерва крыс на 21 и 90-е сутки после аксотомии наблюдали как нормальные миелинизированные нервные волокна, представленные осевыми цилиндрами, окруженными четко визуализируемой миелиновой оболочкой, так и поврежденные нервные волокна с вакуольной дистрофией миелиновой оболочкой с размытием её границ, осевые цилиндры в данных волокнах были смещены от центра к периферии либо не визуализировались (рисунок 4).

На 21-е сутки исследования у крыс группы НП без лечения в дистальном сегменте седалищного нерва наблюдали высокое содержание поврежденных нервных волокон (87 (86;87,5)% и относительно низкое число ШК 6 (6;6) клеток на 100 нервных волокон). К 90-м суткам эксперимента в группе НП без лечения сохранялся высокий процент поврежденных нерв-

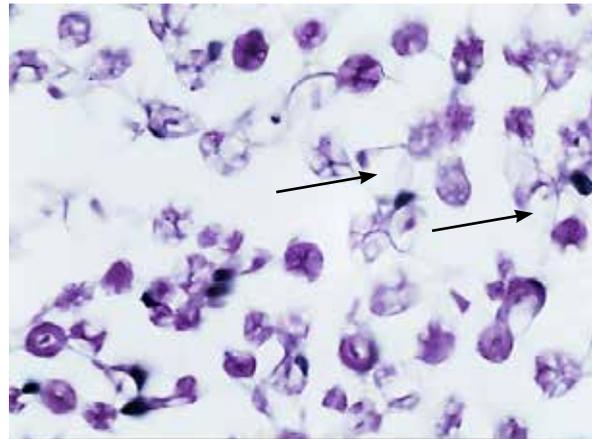


Рисунок 4 – Дистальный сегмент седалищного нерва крысы: поврежденные нервные волокна указаны стрелками, окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

ных волокон, но отмечена пролиферация ШК (таблица 3).

После трансплантации МСК ЖТ в область аксотомии седалищного нерва на 21-е сутки исследования отмечено статистически значимое снижение доли поврежденных нервных волокон, а также увеличение числа ШК по сравнению с группой НП без лечения ($p = 0,002$ и $p = 0,040$, соответственно). На 90-е сутки исследования доля поврежденных нервных волокон была значительно ниже по сравнению с группой НП без лечения ($p = 0,001$), однако достоверных различий по количеству ШК между этими группами выявлено не было ($p = 0,326$) (таблица 3).

После трансплантации МСК ЖТ на фоне стимуляции СВ₂-рецепторов в мягких тканях области аксотомии седалищного нерва на 21-е сутки исследования доля поврежденных нервных волокон не отличалась от групп НП без лечения ($p = 0,402$) и НП+МСК ($p = 0,305$). Вместе с тем отмечено выраженное увеличение числа ШК на 100 нервных волокон по сравнению с группой НП без лечения ($p = 0,009$) аналогично группе НП+МСК. К 90-м суткам эксперимента наблюдали значительное уменьшение доли поврежденных нервных волокон в данной группе как по сравнению с группой НП без лечения ($p = 0,002$), так и

Таблица 3 – Процентное содержание поврежденных нервных волокон и шванновских клеток дистального сегмента седалищного нерва экспериментальных групп исследования

Группа	% поврежденных нервных волокон	Кол-во шванновских клеток, на 100 нервных волокон
21-е сутки после моделирования НП		
НП без лечения	87 [86;87,5]	6 [6;6]
НП+МСК ЖТ	14 [13;16]*	13,5 [12,25;13,87]*
НП+АМ1241+МСК ЖТ	39 [28;48,75]	17,5 [15;19]*
НП+пре-АМ1241-МСК ЖТ	8 [6;8]*!	31 [26;31]*#!
90-е сутки после моделирования НП		
НП без лечения	74 [72;74]	13 [11;14]
НП+МСК ЖТ	37 [37;39]*	16 [15;16]*
НП+АМ1241+МСК ЖТ	11 [8,5;11,5]*#	18 [14,75;21]
НП+пре-АМ1241-МСК ЖТ	12 [7;12]*#	18 [17;20]

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с 1-й группой исследования; # – $p < 0,05$ по сравнению со 2-й группой исследования; ! – $p < 0,05$ по сравнению с 3-й группой исследования (критерий Краскелла-Уоллиса)

с группой НП+МСК ($p=0,033$). Однако содержание ШК в данной группе не отличалось статистически значимо ни от группы НП без лечения ($p=0,396$), ни от группы НП+МСК ($p=0,135$; таблица 3).

Трансплантация пре-АМ1241-МСК в область аксотомии приводила к выраженному увеличению числа нормальных нервных волокон и снижению доли поврежденных нервных волокон на 21-е сутки эксперимента относительно группы НП без лечения ($p=0,004$) и характеризовалась более высоким числом ШК по сравнению с группой НП без лечения ($p=0,002$) и группой НП+МСК ($p=0,009$). На 90-е сутки исследования в данной группе отмечали сохранение низкой доли содержания поврежденных нервных волокон по сравнению с группой НП без лечения ($p=0,001$) и группой НП+МСК ($p=0,027$). Однако пролиферация ШК в данной группе не отличалась статистически значимо от групп НП без лечения ($p=0,121$) и группы НП+МСК ($p=0,143$). В то же время при активации СВ₂-каннабиноидных рецепторов на мезенхимальных стволовых клетках на 21-е сутки эксперимента выявлено более значимое снижение доли пораженных нервных волокон и нарастание числа шванновских клеток в дистальном сегменте седалищ-

ного нерва по сравнению с группой животных, у которых выполнено локальное введение агониста АМ1241 ($p=0,004$ и $p=0,014$ соответственно). Следовательно, активация СВ₂-каннабиноидных рецепторов на мембранах мезенхимальных стволовых клетках усиливает регенераторные эффекты МСК более значимо, чем активация данных рецепторов в мягких тканях задней лапы крыс в раннем периоде патологического процесса.

Обсуждение результатов. Каннабиноидные рецепторы СВ₂ в периферических тканях участвуют в модуляции передачи ноцицептивного сигнала, их активация также способствует подавлению локальной воспалительной реакции [8]. В данном исследовании антиноцицептивный эффект стимуляции СВ₂-рецепторов наблюдали после введения агониста АМ1241 в область аксотомии седалищного нерва (рисунок 1), а последующая трансплантация МСК ЖТ приводила к росту ЛПНР относительно других экспериментальных групп в долгосрочном периоде. Усиление антиноцицептивного действия МСК ЖТ наблюдали и при трансплантации МСК ЖТ, предварительно инкубированных с АМ1241. Вероятно, выявленное повышение эффективности антиноцицептивного действия клеточного

трансплантата обусловлено тем, что активация СВ₂-рецепторов на МСК ЖТ приводит к снижению секреции ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α , стимулируя в то же время продукцию ИЛ-10 [9]. С одной стороны, тот факт, что восстановление анализируемых динамических и статических параметров походки в наших исследованиях было отмечено после трансплантации только МСК ЖТ, затрудняет оценку эффективности стимуляции СВ₂-рецепторов как в мягких тканях области аксотомии седалищного нерва, так и на мембранах самих МСК ЖТ. С другой стороны, результаты тестов на ноцицептивные реакции согласуются с данными гистологического исследования. При анализе гистоструктуры дистального сегмента седалищного нерва после его перерезки наблюдали выраженную демиелинизацию нервных волокон. Введение МСК ЖТ предотвращало развитие указанных патологических изменений в нервных волокнах. Стимуляция СВ₂-рецепторов как в мягких тканях области аксотомии седалищного нерва, так и на мембранах МСК ЖТ приводила к выраженной пролиферации шванновских клеток к 21-м суткам эксперимента. При этом, активация СВ₂-рецепторов на МСК усиливала протекторное действие МСК ЖТ, что выразилось в самом низком проценте поврежденных нервных волокон по сравнению со всеми группами на 21-е сутки эксперимента (таблица 3). Вследствие активации пролиферации ШК, наблюдаемой на 21-е сутки эксперимента, на более позднем сроке исследования в группах НП+АМ1241+МСК ЖТ и НП+пре-АМ1241-МСК ЖТ регистрировали более низкое содержание дистрофически измененных нервных волокон по сравнению с группой животных, получивших только МСК ЖТ. Последнее указывает на стимуляцию репаративного эффекта МСК ЖТ на фоне обоих способов активации СВ₂-рецепторов.

Заключение

Результаты данного исследования свидетельствуют о том, что активация СВ₂-рецепторов на мембранах стволовых кле-

ток потенцирует антиноцицептивный и репаративный эффекты МСК ЖТ. При стимуляции периферических СВ₂-рецепторов на нервных волокнах и иммунных клеток мягких тканей происходит усиление анальгетического эффекта МСК ЖТ в более позднем периоде, в то время как активация репаративных процессов, стимулируемых МСК, наблюдается с раннего периода развития патологического процесса.

Библиографический список

1. Bouhassira, D. Neuropathic pain: definition, assessment and epidemiology / D. Bouhassira // *Revue Neurologique* – 2019. – Vol. 175, № 1-2. – P. 16-25. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2018.09.016>
2. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic neuropathic pain / J. Scholz [et al.] // *Pain*. – 2019. – Vol. 160, № 1. – P. 53-59. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001365>
3. The neuropathic pain: An overview of the current treatment and future therapeutic approaches / E. Cavalli [et al.] // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* – 2019. – Vol. 33. – № 2058738419838383. <https://doi.org/10.1177/2058738419838383>
4. Ерофеева, А.-М.В. Влияние трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс с экспериментальной периферической нейропатией / А.-М.В.Ерофеева, А.Ю. Молчанова // *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук.* – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 404-412. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-4-404-412>
5. Ерофеева, А.-М.В. Влияние фармакологической блокады каннабиноидных рецепторов 1 типа на эффективность трансплантации мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной периферической нейропатии / А.-М.В. Ерофеева // *Вестник ВГМУ* – 2022. – Т. 21, № 6. – С. 46-57. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2022.6.47>
6. Further observations on the behavioral and neural effects of bone marrow stromal cells in rodent pain models / W. Guo [et al.] // *Mol. Pain*. – 2016. – Vol. 12, № 1744806916658043. – P. 1-12. <https://doi.org/10.1177/1744806916658043>
7. Transplantation of bone marrow-derived mononuclear cells improves mechanical hyperalgesia, cold allodynia and nerve function in diabetic neuropathy / K. Naruse [et al.] // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, № 11. – P. e27458. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027458>
8. Up-regulation of immunomodulatory effects of mouse bone-marrow derived mesenchymal stem cells by tetrahydrocannabinol pre-treatment involving cannabinoid receptor CB₂ / J. Xie [et al.] // *Oncotarget* – 2016 – Vol. 7, № 6. – P. 6436-6447. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7042>

9. The endocannabinoid receptors CB₁ and CB₂ affect the regenerative potential of adipose tissue MSCs / T. Ruhl [et al.] // Exp. Cell Res. – 2020. – Vol. 389, № 111881. – P. 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2020.111881>

10. Морфофункциональное состояние мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани крыс в условиях подавления окислительного стресса / И.Б. Василевич [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2014. – № 2. – С. 82-88.

11. Deuis, J.R. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents / J.R. Deuis, L.S. Dvorakova, I. Vetter // Front. Mol. Neurosci. – 2017. – Vol. 10, № 284. – P. 1-17. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>

12. Internal-specific morphological analysis of sciatic nerve fibers in a radiofrequency-induced animal neuropathic pain model / S. Choi [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, № 9. – P. e73913. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073913>

A.-M. Yerofeyeva, S. Pinchuk, S. Rjabceva, A. Molchanova

**ACTIVATION OF TYPE II CANNABINOID RECEPTORS AS
VARIANT FOR MESENCHYMAL STEM CELL POTENTIATION
IN A MODEL OF PERIPHERAL NEUROPATHIC PAIN**

Transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSCs) is currently considered as one of the treatment methods of peripheral neuropathic pain. The analgesic effect of ADMSCs has been proven, and one of the potential options for its enhancement and prolongation could be the activation of type 2 cannabinoid receptors (CB₂ receptors). The antinociceptive and reparative effects of ADMSCs were analyzed after type 2 cannabinoid receptors (CB₂) pharmacological stimulation by the selective agonist AM1241 on the ADMSC's membranes and in the tissues of the area of sciatic nerve traumatic injury in rats. It was found that pharmacological stimulation of CB₂ receptors on ADMSC's membranes accelerated the recovery of nociceptive sensitivity to mechanical and thermal stimuli compared with transplantation of ADMSCs alone. Early (before transplantation of ADMSCs) activation of CB₂ receptors in tissues surrounding the sciatic nerve more effectively attenuated nociceptive responses to thermal stimuli in the long-term period of the experiment. Stimulation of CB₂ receptors did not significantly affect the rate of recovery of gait parameters in rats after ADMSCs transplantation, but led to the structure recovery of the sciatic nerve distal segment of rats. The latter was expressed in increased proliferation of Schwann cells and a decrease in the number of damaged nerve fibers.

Key words: *mesenchymal stem cells, neuropathic pain, cannabinoid receptors, gait analysis*

Поступила 07.06.23