

ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
БЕЛАРУСИ»

Объект авторского права

УДК 616.8-009.7:[602.9:611.018.26:612.884:57.089]-092.9

**ЕРОФЕЕВА**  
**Анна-Мария Вадимовна**

**РОЛЬ КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В  
АНТИНОЦИЦЕПТИВНОМ ДЕЙСТВИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ  
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ  
НЕЙРОПАТИИ**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Минск 2024

Научная работа выполнена в государственном научном учреждении «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси»

**Научный руководитель:** **Рябцева Светлана Николаевна**, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий Центром морфологических исследований государственного научного учреждения «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси»

**Официальные оппоненты:** **Козловский Валерий Иванович**, доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии имени профессора М. В. Кораблёва учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет»

**Нижегородова Дарья Борисовна**, кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории Научно-исследовательского института экспериментальной и клинической медицины учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

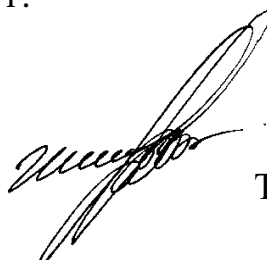
**Оппонирующая организация:** Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Защита состоится 14 февраля 2025 года в 14<sup>00</sup> на заседании совета по защите диссертаций К 01.36.01 при государственном научном учреждении «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси» по адресу: 220072, г. Минск, ул. Академическая, 28, тел./факс: 8 (017) 378-16-30, e-mail: khrustaleva.lir@gmail.com).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке государственного научного учреждения «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси».

Автореферат разослан «13» января 2025 г.

Ученый секретарь совета  
по защите диссертаций К 01.36.01,  
кандидат биологических наук, доцент



Т. А. Хрусталёва

## ВВЕДЕНИЕ

Нейропатическая боль (НБ) – это мучительные ощущения, вызванные патологическим возбуждением нейронов соматосенсорной системы, что приводит к значительному снижению качества жизни [Bannister K. et al., 2020; Корячкин В. А. и др., 2021]. По оценкам, от периферической НБ страдает до 17% взрослого населения земного шара [Cavalli E. et al., 2019; Finnerup N. B. et al., 2021]. Комплексные патогенетические механизмы, включающие центральную и периферическую сенситизацию, нейровоспаление и дегенерацию поврежденных нервных волокон, обуславливают сложность разработки терапевтических средств, способных длительно купировать НБ без побочных эффектов [Derry S. et al., 2019].

В последние годы трансплантация мезенхимальных стволовых клеток (МСК) позиционируется как эффективный метод купирования периферической НБ [Han Y. H. et al., 2019; Joshi H. P. et al., 2021; Pramana P. Y. et al., 2023]. Вместе с тем, механизмы антиноцицептивного действия МСК до сих пор являются предметом текущих экспериментальных исследований.

Предполагается, что в реализацию анальгезирующего действия МСК вовлечены каннабиноидные рецепторы  $CB_1$  и  $CB_2$ . Способность МСК жировой ткани (МСК ЖТ) к экспрессии данных рецепторов, как и эндогенных каннабиноидов, свидетельствует об участии эндоканнабиноидной системы в регуляции метаболической и пролиферативной активности данной популяции клеток [Köse S. et al., 2018; Ruhl T. et al., 2020]. Кроме того, стимуляция  $CB_1$ - и  $CB_2$ -рецепторов каннабиноидами растительного и синтетического происхождения приводит к ингибированию высвобождения медиаторов боли и подавлению возбудимости нейронов [Finn D. P. et al., 2021]. Эффективное обезболивающее действие данных субстанций обуславливает их использование в клинической практике в ряде стран [Mücke M. et al., 2018; Сафроненко А. В. и др., 2023]. Однако для избежания системных психотропных эффектов, вызываемых каннабиноидами, необходима разработка альтернативных методов модуляции эффектов, опосредованных рецепторами  $CB_1$  и  $CB_2$ .

Вышеизложенное позволяет предположить, что активация каннабиноидных рецепторов на мембранах МСК ЖТ или в зоне трансплантации стволовых клеток может повысить эффективность их анальгетического действия. Экспериментальное изучение влияния лигандов  $CB_1$ - и  $CB_2$ -рецепторов на антиноцицептивное действие МСК ЖТ поможет лучше понять не только механизмы этого эффекта, но и возможные способы его усиления. Актуальность данного исследования обусловлена: 1) важностью выявления механизмов взаимосвязи антиноцицептивного действия МСК ЖТ с активацией компонентов эндоканнабиноидной системы; 2) перспективой разработки методики коррекции хронических болевых синдромов, связанных с повреждением периферических нервов, с использованием данного типа стволовых клеток.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Связь работы с крупными научными программами и темами

Тематика диссертационного исследования соответствует пункту 2 «Биологические, химические, медицинские и фармацевтические технологии и производства» приоритетных направлений научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы, утвержденных указом Президента Республики Беларусь от 07.05.2020 г. № 156. Экспериментальные исследования на животных проведены в рамках ГПНИ «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» (2019–2020 гг.), задание 1.30 «Оценка влияния мезенхимальных стволовых клеток на ноцицептивную чувствительность и репаративные процессы в нерве и окружающих его тканях при экспериментальной нейропатии» (№ госрегистрации 20191077), а также в рамках ГПНИ «Трансляционная медицина» (2021–2023 гг.), НИР 4.1.1.3 «Оценка влияния обогащенной тромбоцитами плазмы, суспензии митохондрий и мезенхимальных стволовых клеток на ноцицептивную чувствительность, стимуляцию ангиогенеза и репаративные процессы в ишемизированной ткани при экспериментальной диабетической ангиопатии» (№ госрегистрации 20210528).

### Цель и задачи исследования

**Цель исследования** – установить вклад каннабиноидных рецепторов СВ<sub>1</sub> и СВ<sub>2</sub> в реализацию антиноцицептивного действия мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани при экспериментальной периферической нейропатии.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить влияние преинкубирования мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани с лигандами СВ<sub>1</sub>-рецепторов на развитие их антиноцицептивного эффекта после трансплантации в область повреждения седалищного нерва крыс.

2. Оценить воздействие преинкубирования мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани с лигандами СВ<sub>2</sub>-рецепторов на развитие их антиноцицептивного эффекта после трансплантации в область повреждения седалищного нерва крыс.

3. Выявить влияние фармакологической стимуляции и блокады СВ<sub>1</sub>- и СВ<sub>2</sub>-рецепторов в области повреждения седалищного нерва на эффективность антиноцицептивного действия мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани.

4. Оценить эффект трансплантации мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на фоне фармакологической стимуляции и блокады СВ<sub>1</sub>- и СВ<sub>2</sub>-рецепторов на количество поврежденных нервных волокон и шванновских клеток в седалищном нерве крыс.

**Объект исследования** – ноцицептивная чувствительность, статические и динамические параметры походки, гистологическая структура седалищного нерва крыс Wistar.

**Предмет исследования** – изменения ноцицептивной чувствительности, статических и динамических параметров походки, гистологической структуры седалищного нерва при экспериментальной нейропатии, трансплантации мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани и фармакологической стимуляции и инактивации каннабиноидных рецепторов.

### **Научная новизна**

1. Впервые выявлено нивелирующее действие однократной локальной трансплантации МСК ЖТ на нарушения статических и динамических параметров походки крыс, а также на нарушения ноцицептивной чувствительности и гистологической структуры седалищного нерва в экспериментальной модели периферической нейропатии.

2. Впервые установлено усиление антиноцицептивного, протекторного и репаративного действия МСК ЖТ на фоне предварительной активации их мембранных СВ<sub>1</sub>-рецепторов.

3. Впервые показано модулирующее влияние лигандов периферических СВ<sub>2</sub>-рецепторов на антиноцицептивный, протекторный и репаративный эффекты МСК ЖТ при трансплантации в область повреждения седалищного нерва крыс.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Однократная трансплантация аллогенных МСК ЖТ в дозе 1 миллион клеток/кг на фоне травматического повреждения седалищного нерва ускоряет восстановление динамических нарушений походки и функционального седалищного индекса. Указанный режим введения МСК предотвращает развитие нарушений статических параметров походки и ослабляет механическую и термическую гипералгезию.

2. В реализацию анальгетического и улучшающего походку эффектов МСК ЖТ при травме седалищного нерва в большей степени вовлечены их мембранные СВ<sub>1</sub>-рецепторы, чем СВ<sub>1</sub>-рецепторы повреждённых тканей. Активация мембранных СВ<sub>1</sub>-рецепторов МСК ЖТ перед трансплантацией в зону повреждения седалищного нерва усиливает вызванную клетками термическую анальгезию, а фармакологическая блокада снижает антиноцицептивный эффект при действии как термического, так и механического стимулов.

3. Предварительная активация СВ<sub>2</sub>-рецепторов на МСК ЖТ ускоряет развитие анальгетического эффекта, а инактивация, напротив, его ослабляет и замедляет восстановление функционального седалищного индекса. Стимуляция СВ<sub>2</sub>-рецепторов в области иссечения нерва перед введением МСК ЖТ

постепенно усиливает тепловую анальгезию, а их фармакологическая блокада ослабляет анальгетический эффект МСК ЖТ.

4. Инактивация СВ<sub>1</sub>- или СВ<sub>2</sub>-рецепторов на мембранах МСК ЖТ ослабляет их протекторное и репаративное влияние в поврежденном седалищном нерве, а активация – усиливает, уменьшая повреждение миелинизированных нервных волокон и увеличивая количество шванновских клеток. Стимуляция СВ<sub>2</sub>-рецепторов в зоне повреждения нерва способствует потенцированию протекторного и репаративного эффектов МСК ЖТ, но их фармакологическая блокада отменяет указанные эффекты стволовых клеток.

#### **Личный вклад соискателя ученой степени**

Выбор темы диссертационного исследования, постановка цели и задач исследования, интерпретация полученных результатов проведены автором совместно с научным руководителем к.б.н. А. Ю. Молчановой. Хирургические манипуляции по моделированию периферической нейропатии, трансплантация мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани, фармакологическая модуляция каннабиноидных рецепторов, измерение ноцицептивных реакций и параметров походки выполнены автором на базе Центра изучения боли Института физиологии НАН Беларуси. Морфологические исследования выполнены автором на базе Центра морфологических исследований Института физиологии НАН Беларуси, анализ результатов морфологических исследований выполнен при консультативном участии научного руководителя к.м.н. С. Н. Рябцевой. Выделение, культивирование и подготовка к трансплантации мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани крыс выполнены автором совместно с к.б.н. Пинчуком С. В. на базе лаборатории молекулярной биологии клетки Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Аналитический обзор литературы, сбор данных, статистическая и графическая обработка данных, написание текста диссертации и автореферата, апробация результатов исследования проделаны самостоятельно автором диссертации.

Результаты, включенные в диссертацию, представлены в совместных публикациях [1-А, 6-А, 8-А, 9-А, 10-А], в которых соавторы работ оказывали помощь в проведении отдельных экспериментов и их анализе. В отдельных публикациях [3-А, 4-А] автором диссертации выполнены определённые этапы совместных исследований. Без соавторства опубликованы 3 статьи в рецензируемых научных журналах [2-А, 5-А, 7-А]. Средний процент авторства составляет 79,0 %.

#### **Апробация результатов диссертации и информация об использовании ее результатов**

Основные результаты исследования представлены в виде докладов и обсуждены на следующих конференциях и научных мероприятиях: научной сессии БГМУ (Минск, 2020); республиканской научно-практической

конференции с международным участием «Актуальные проблемы медицины» (Гомель, 2021, 2023); международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» (Минск, 2022, 2023); международной научной конференции «Современные проблемы клеточной инженерии, иммунологии и аллергологии» (Минск, 2022, 2023); IV республиканской научной конференции «Сигнальные механизмы регуляции физиологических функций» (Минск, 2022); 77-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2023» (Минск, 2023); XXI конференции молодых учёных, специалистов и студентов, посвященной 60-летию Института медико-биологических проблем (Москва, 2023); научно-практическом семинаре «Роль молодежи в современной медицинской науке» в рамках 28-го международного форума «Здравоохранение Беларуси» (Минск, 2023); XX международной научной конференции молодых учёных «Молодёжь в науке – 2023» (Минск, 2023); международной конференции «The Challenge of Chronic Pain: from Genomics to Therapy» (Хинкстон, 2023). Материалы диссертации представлены в виде разработок на выставке научных достижений «100 инноваций молодых ученых» (Минск, 2022) и в финале 12-го сезона республиканского молодежного проекта «100 идей для Беларуси» (Минск, 2023).

#### **Опубликованность результатов диссертации**

По теме диссертации опубликовано: 10 статей в рецензируемых научных журналах, соответствующих части первой пункта 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (общий объем – 8,24 авторского листа), включающих 1 статью в зарубежном научном журнале на английском языке; 7 статей в сборниках научных трудов и материалах конференций (1,77 авторского листа); 14 тезисов докладов (1,16 авторского листа). Общий объем опубликованных материалов по теме диссертации составляет 11,17 авторского листа.

#### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 146 страницах (объем основного текста – 96 страниц); состоит из введения, общей характеристики работы, 6 глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, 3 главы результатов собственных исследований, главы анализа и обсуждения результатов исследования), заключения, библиографического списка, включающего 251 источник (44 – на русском языке и 207 – на английском) и списка публикаций соискателя (31 работа), приложения. Работа содержит 28 рисунков (объем – 16,5 страницы) и 7 таблиц (объем – 2 страницы).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Экспериментальные исследования проведены на крысах-самцах Wistar с исходной массой 180–200 г (n=124). Для индукции периферической нейропатической боли у крыс выполнено моделирование периферической нейропатии (НП) методом иссечения участка седалищного нерва на уровне верхней трети бедра [Jaggi A. S. et al., 2011]. Хирургическое вмешательство осуществляли под общим наркозом (тиопентал натрия, 20 мг/кг, внутривенно) в сочетании с местной анестезией (лидокаина гидрохлорид, 50 мкл на крысу, внутримышечно). В случае ложной операции, крысам в аналогичных условиях формировали доступ к участку седалищного нерва без перерезки с последующим ушиванием раны.

Выделение МСК ЖТ осуществляли путем обработки жировой ткани интактных крыс 0,25 % раствором коллагеназы с последующей фильтрацией и центрифугированием (10 мин при 1500 об/мин). Полученную фракцию клеток высеивали и культивировали в ростовой среде Игла, модифицированной по Дульбекко с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ L-глутамина, 10 мкл стандартного раствора антибиотика-антимикотика. Культивирование МСК ЖТ осуществляли в стандартных условиях в CO<sub>2</sub>-инкубаторе до 3-го пассажа. Трансплантацию МСК ЖТ выполняли на 7-е сутки после моделирования периферической нейропатии в дозе  $1 \times 10^6$  клеток/кг. Суспензию клеток вводили внутримышечно четырьмя инъекциями вокруг зоны повреждения нерва.

Для изучения влияния мембранных СВ<sub>1</sub>- и СВ<sub>2</sub>-рецепторов МСК ЖТ на реализуемое антиноцицептивное действие в условиях периферической нейропатии, осуществляли фармакологическую стимуляцию и блокаду этих рецепторов по следующей схеме: 1) МСК ЖТ без дополнительных воздействий; 2) МСК ЖТ, предварительно инкубированные с эндогенным агонистом СВ<sub>1</sub>-рецепторов анандамидом – АЕА (5 мМ, 24 ч); 3) МСК ЖТ, предварительно инкубированные с антагонистом СВ<sub>1</sub>-рецепторов AM251 (10 мМ, 24 ч); 4) МСК ЖТ, предварительно инкубированные с агонистом СВ<sub>2</sub>-рецепторов AM1241 (2 мМ, 24 ч); 5) МСК ЖТ, предварительно инкубированные с антагонистом СВ<sub>2</sub>-рецепторов AM630 (2 мМ, 24 ч). После инкубации клетки отмывали от лигандов, после чего готовили суспензию для введения. Для сравнения, исследовали группу крыс с периферической нейропатией (НП без лечения), а также группу ложнооперированных животных.

Для изучения влияния СВ<sub>1</sub>- и СВ<sub>2</sub>-рецепторов нервных волокон седалищного нерва и окружающих его тканей на антиноцицептивное действие МСК ЖТ, на 7-е сутки после моделирования НП соответствующим группам крыс перед трансплантацией стволовых клеток вводили в область повреждения



нерва селективные лиганды этих рецепторов по следующей схеме: 1) АЕА (100 мкг/кг); 2) АМ251 (400 мкг/кг); 3) АМ1241 (1 мкг/кг); 4) АМ630 (100 мкг/кг).

Выраженность болевого синдрома у крыс оценивали с помощью тестов на ноцицептивные реакции к механическому стимулу (тест Рэндалла-Селитто на определение порога ноцицептивной реакции, далее – ПНР) и тепловому стимулу (тест Горячая пластина на определение латентного периода ноцицептивной реакции, далее – ЛПНР) с использованием одноимённых алгезиметров (Panlab, Испания). ПНР отражал минимальную силу надавливания пластикового конуса на лапу, вызывающую ноцицептивную реакцию (отдергивание лапы, вокализация), ЛПНР – минимальное время нахождения крысы на пластине, нагретой до 50 °С, вызывающее ноцицептивную реакцию (подпрыгивание, вокализация, облизывание лап).

Параллельно применяли количественный анализ походки крыс с использованием аппаратно-программного комплекса CatWalk XT 10.6 (Noldus, Голландия). Регистрировали динамические параметры походки (длительность фазы опоры травмированной лапы, длительность фазы переноса, рабочий цикл лапы), функциональный седалищный индекс (ФСИ), а также статические параметры походки (длина, ширина отпечатка травмированной лапы, площадь отпечатка, площадь отпечатка при максимальном контакте лапы с поверхностью, максимальная и средняя интенсивность отпечатка травмированной лапы). Оценка вышеуказанных параметров походки позволяет охарактеризовать поведение животных при проявлениях боли, в том числе тактильной аллодинии, которые прямо либо опосредованно влияют на двигательную активность. Для каждого параметра, кроме ФСИ, рассчитывали процентное отношение значений левой (оперированной) конечности к правой здоровой лапе. Измерения ноцицептивной чувствительности и походки выполняли на 0, 7, 14, 21, 28, 60 и 90-е сутки.

Морфологические методы исследования включали анализ количества поврежденных нервных волокон и шванновских клеток участка седалищного нерва дистальнее зоны повреждения на 21 и 90-е сутки эксперимента. На гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином по стандартной методике, выполнен подсчет процентного количества поврежденных нервных волокон и относительного количества шванновских клеток (на 100 нервных волокон) на 400-кратном увеличении. Данные показатели в совокупности отражают выраженность активизации протекторных и репаративных процессов под влиянием МСК, которые соотносятся с их анальгетическим эффектом [Yin Q. H. et al., 2023].

Статистическую обработку данных выполняли в программе Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Графически результаты обрабатывали в программе OriginPro 2022 v.9.9 (OriginLab Corp., США). Данные проверяли на

нормальность распределения критерием Шапиро-Уилка. Значения ноцицептивной чувствительности и параметров походки представлены в виде  $M \pm SE$ , где  $M$  – среднее значение,  $SE$  – стандартная ошибка среднего. Статистический анализ выполняли с помощью двухфакторного дисперсионного анализа повторных измерений с последующими апостериорными сравнениями критерием Фишера. Показатели морфометрических подсчетов представлены в виде  $Me [Q1; Q3]$ , где  $Me$  – медиана,  $Q1$  – значение 25-го перцентиля,  $Q3$  – значение 75-го перцентиля. Данные показатели сравнивали критерием Краскелла-Уоллиса с последующими апостериорными сравнениями критерием Данна. Вывод о статистической значимости отличий делали при  $p < 0,05$ .

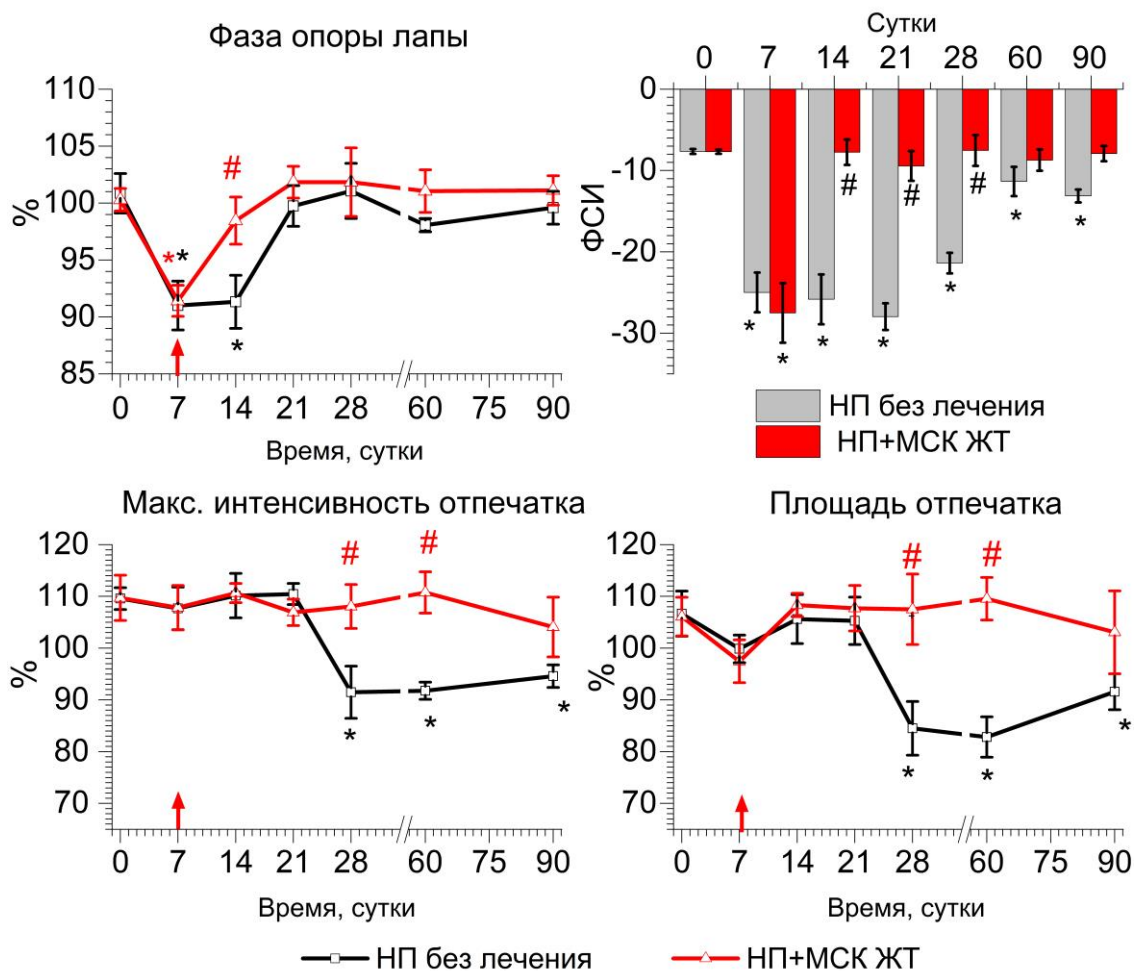
## **Результаты исследования**

### **Влияние трансплантации мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс в экспериментальной модели периферической нейропатии**

В представленном исследовании однократное введение МСК ЖТ в дозе  $1 \times 10^6$  клеток/кг в область повреждения седалищного нерва приводило к увеличению ПНР ипсилатеральной конечности к 14-м суткам эксперимента на 32,3 % ( $p < 0,001$  к 7-м суткам), ЛПНР – на 17,1 % ( $p < 0,001$  к 7-м суткам). К 21-м суткам эксперимента отмечено устранение механической и термической гипералгезии, с сохранением данного эффекта по 90-е сутки [1-А, 3-А, 4-А].

В данной работе впервые было охарактеризовано влияние указанного режима введения МСК ЖТ на параметры походки, характеризующие связь выраженности болевого синдрома и двигательной функции. У крыс в модели НП наблюдали нарушения динамических параметров походки (длительность фазы опоры травмированной лапы, рабочий цикл) и ФСИ с 7-х суток эксперимента. Наблюдаемое к 21-м суткам восстановление динамических характеристик походки далее сменялось сдвигами статических показателей травмированной лапы, характеризующих размеры отпечатка и его интенсивность (рисунок 1). Вместе с тем, нарушение ФСИ сохранялось по 90-е сутки включительно [1-А]. Проведенный анализ походки указывает на адаптацию крыс к хроническому болевому синдрому, что выражалось стремлением восстановить симметричность походки, сокращая силу, но не длительность опоры травмированной лапы.

После трансплантации МСК ЖТ в дозе  $1 \times 10^6$  клеток/кг в область повреждения седалищного нерва установлено восстановление динамических параметров походки уже к 14-м суткам эксперимента (рисунок 1). На данном сроке наблюдения также установлено восстановление ФСИ ( $p < 0,001$  по сравнению с НП без лечения). Однократное введение исследуемой дозы МСК ЖТ также предупреждало нарушение статических параметров походки, характеризующих площадь и интенсивность отпечатка лапы [1-А].



NP – нейропатия; МСК ЖТ – мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани; стрелка – время трансплантации МСК ЖТ; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с 0-ми сутками; # –  $p < 0,05$  по сравнению с НП без лечения

**Рисунок 1 – Изменения параметров походки у крыс после моделирования нейропатии и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани**

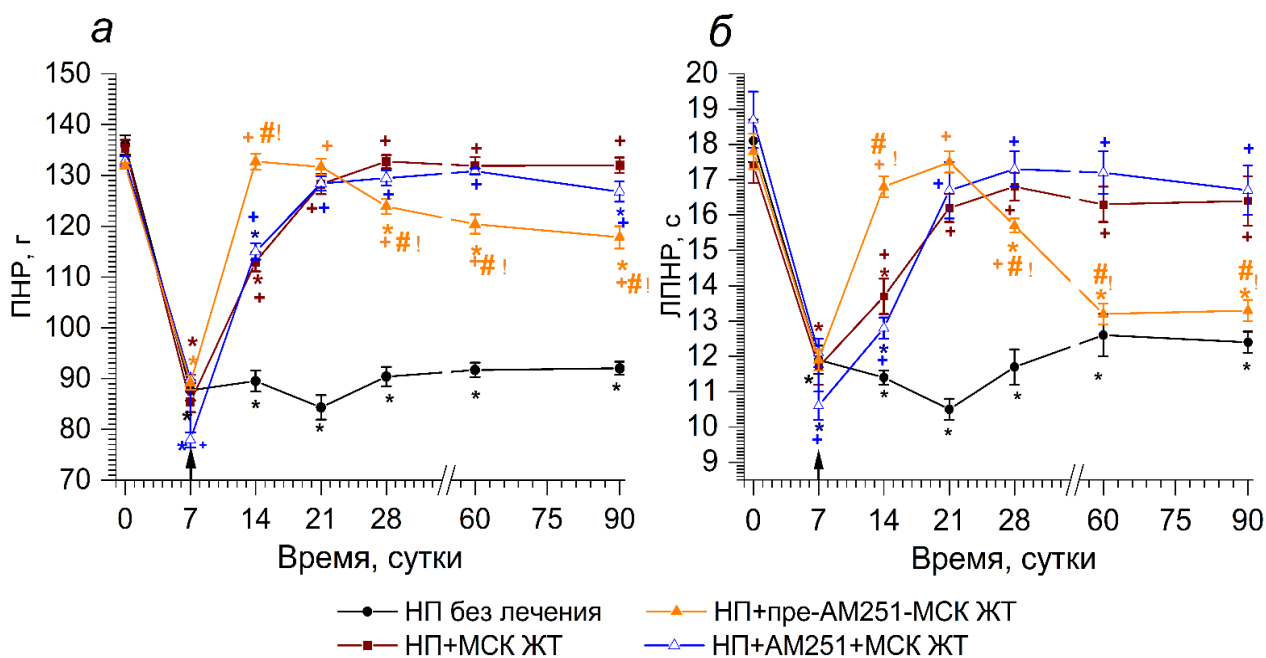
Полученные результаты свидетельствуют об ослаблении проявлений нейропатического болевого синдрома (гипералгезия к механическому и термическому стимулам, сдвиги характеристик походки) и улучшении функциональной активности седалищного нерва после трансплантации МСК ЖТ.

### **Модулирующее действие лигандов СВ<sub>1</sub>-рецепторов на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс при трансплантации МСК ЖТ в область повреждения седалищного нерва**

СВ<sub>1</sub>-рецепторы регулируют трансдукцию ноцицептивного сигнала в периферических тканях, а также синаптическую передачу сигнала боли на уровне центральной нервной системы [Vučković S. et al., 2018]. В то же время СВ<sub>1</sub>-рецепторы на мембранах МСК участвуют в регуляции их паракринной активности и дифференцировочного потенциала [Ruhl T. et al., 2020], что предполагает участие данного рецептора в реализации эффектов МСК ЖТ.

В данном исследовании установлено, что трансплантация МСК ЖТ на фоне стимуляции СВ<sub>1</sub>-рецепторов эндоканнабиноидом АЕА в зоне повреждения нерва приводила к 14-м суткам эксперимента к росту показателей ноцицептивных реакций относительно животных, получивших только МСК ЖТ: ПНР ипсилатеральной конечности – на 16,0 % (до 131,3±1,3 г; p<0,001); ЛПНР – на 21,9 % (до 16,7±0,4 с; p<0,001). Вместе с тем, с 21-х суток и далее отмечено отсутствие усиления антиноцицептивного эффекта МСК. После введения преинкубированных с АЕА МСК ЖТ в область повреждения седалищного нерва отмечен рост показателей ноцицептивных реакций относительно крыс, получивших только МСК ЖТ на 14-е сутки эксперимента: ПНР – на 17,8 % (до 133,1±1,2 г, p<0,001); ЛПНР – на 40,1 %, (до 19,2±0,4 с, p<0,001). С 21-х суток и далее длительность ЛПНР оставалась повышенной относительно животных с трансплантацией только МСК ЖТ (на 19,1 %, p<0,001), а также относительно животных, которым вводили АЕА в зону повреждения нерва перед введением МСК ЖТ (на 18,4 %, p<0,001) [6-А].

Выявлено ослабление антиноцицептивного эффекта МСК ЖТ после инкубирования их с антагонистом СВ<sub>1</sub>-рецепторов AM251, на что указывало снижение ПНР ипсилатеральной конечности к 60-м суткам исследования по сравнению с введением только МСК ЖТ на 8,7 % (до 120,4±1,9 г, p<0,001); ЛПНР – на 19,0 % (до 13,2±0,3 с, p<0,001) (рисунок 2).



НП – нейропатия; МСК ЖТ – мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани; ПНР – порог ноцицептивной реакции; ЛПНР – латентный период ноцицептивной реакции; стрелка – время трансплантации МСК ЖТ; \* – p<0,05 по сравнению с 0-ми сутками; + – p<0,05 по сравнению с НП без лечения; # – p<0,05 по сравнению с НП+МСК ЖТ; ! – p<0,05 по сравнению с локальным введением лиганда

**Рисунок 2 – Ноцицептивные реакции крыс к механическому (а) и термическому (б) стимулам у крыс с нейропатией, трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на фоне блокады СВ<sub>1</sub>-рецепторов антагонистом AM251**

На фоне фармакологической блокады СВ<sub>1</sub>-рецепторов в области повреждения нерва антагонистом AM251, трансплантация МСК ЖТ приводила к изменениям ПНР и ЛПНР, аналогичным группе с введением МСК ЖТ без дополнительных воздействий (рисунок 2) [2-А].

Анализ походки крыс показал, что как стимуляция и блокада СВ<sub>1</sub>-рецепторов в зоне повреждения седалищного нерва, так и предварительное инкубирование МСК ЖТ с агонистом данного рецептора не оказали влияния на динамику изменений статических и динамических параметров походки после последующей трансплантации МСК ЖТ [6-А]. Однако блокада СВ<sub>1</sub>-рецепторов на мембранах МСК ЖТ способствовала снижению ФСИ с 28-х суток эксперимента и далее до значений, зафиксированных у модели НП без восстановления, а также способствовала ухудшению статических параметров походки по сравнению с группой крыс, получивших только МСК ЖТ [2-А, 6-А].

Таким образом, активация СВ<sub>1</sub>-рецепторов на МСК ЖТ в ходе преинкубации с анандамидом приводит к усилению их антиноцицептивного эффекта, выраженного в тепловой анальгезии. Фармакологическая блокада данных рецепторов напротив, ослабляет анальгетический эффект клеток, что сопровождается снижением показателей ноцицептивных реакций с 28-х суток эксперимента, а также нарушением ФСИ и параметров площади и интенсивности отпечатка травмированной лапы. Стимуляция СВ<sub>1</sub>-рецепторов в тканях зоны повреждения седалищного нерва в значительно меньшей степени усиливает антиноцицептивный эффект последующей трансплантации МСК ЖТ в сравнении с преинкубацией, а блокада данного рецептора не оказывает влияния на способность МСК ЖТ устранять нарушения ноцицептивных реакций и походки крыс с НП. Полученные результаты свидетельствуют о ведущем участии СВ<sub>1</sub>-рецепторов, расположенных на мембранах МСК ЖТ, в развитии их антиноцицептивного действия в зоне повреждения седалищного нерва.

Стимуляция мембранных СВ<sub>1</sub>-рецепторов МСК ЖТ усиливает синтез и секрецию ими противовоспалительных цитокинов и факторов роста [Ruhl T. et al., 2020; Ruhl T. et al., 2021]. А в зоне травмы периферического нерва выделяется больше эндогенных каннабиноидов, которые быстро разрушаются [Donvito G. et al., 2018]. Результаты данного исследования указывают на то, что активация этих процессов способствует антиноцицептивному действию стволовых клеток при введении в область повреждения седалищного нерва.

## **Модулирующее действие лигандов СВ<sub>2</sub>-рецепторов на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс после трансплантации МСК ЖТ в область повреждения седалищного нерва**

В данном диссертационном исследовании продемонстрировано, что трансплантация МСК ЖТ на фоне стимуляции периферических СВ<sub>2</sub>-рецепторов приводит к возрастанию длительности ЛПНР по сравнению с группой НП+МСК ЖТ к 60-м суткам исследования на 15,3% ( $p < 0,001$ ). Трансплантация МСК ЖТ, преинкубированных с агонистом СВ<sub>2</sub>-рецепторов, приводила к росту показателей ноцицептивной чувствительности по сравнению с введением только стволовых клеток на 14-е сутки исследования: ПНР – на 9,9% (до  $124,2 \pm 0,7$  г,  $p < 0,001$ ); ЛПНР – на 18,2% (до  $16,2 \pm 0,2$  с,  $p < 0,001$ ), однако в дальнейшем изменения ПНР и ЛПНР по отношению к группе крыс, получивших только МСК, носили несущественный характер [8-А]. После трансплантации МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады периферических СВ<sub>2</sub>-рецепторов установлено прогрессирующее с 28-х суток эксперимента снижение ПНР ипсилатеральной лапы по сравнению с группой НП+МСК ЖТ на 9,3% (до  $120,4 \pm 4,1$  г,  $p < 0,001$ ); ЛПНР – на 22,0% (до  $13,1 \pm 0,2$  с,  $p < 0,001$ ) [10-А].

Трансплантация преинкубированных с антагонистом СВ<sub>2</sub>-рецепторов МСК ЖТ приводила к снижению ПНР ипсилатеральной конечности и ЛПНР относительно группы крыс, получивших только МСК, с 21-х суток исследования и далее. Введение антагониста СВ<sub>2</sub>-рецепторов АМ630 в зону повреждения седалищного нерва перед трансплантацией МСК ЖТ по сравнению с добавлением его в культуру МСК более негативно влияло на восстановление ноцицептивных реакций в краткосрочном периоде наблюдения: на 14-е сутки выявлено снижение ЛПНР на 8,5% ( $p < 0,05$ ), а на 21-е сутки – снижение ПНР на 5,6% ( $p < 0,05$ ) с одновременным ростом ЛПНР на 13,8% ( $p < 0,02$ ) [10-А]. Полученные результаты позволяют предположить, что активация СВ<sub>2</sub>-рецепторов в мягких тканях области повреждения седалищного нерва способствует потенцированию антиноцицептивного эффекта МСК ЖТ, а блокада – к более выраженному снижению данного эффекта.

В ходе анализа параметров походки крыс на фоне стимуляции СВ<sub>2</sub>-рецепторов установлено отсутствие влияния агониста АМ1241 (как при введении в зону повреждения нерва, так и при инкубировании с МСК) на динамику изменений статических и динамических параметров походки после трансплантации стволовых клеток в зону повреждения нерва [7-А, 8-А]. Вместе с тем, после введения МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады СВ<sub>2</sub>-рецепторов в область перерезки седалищного нерва установлено пролонгирование нарушений фаз шага: восстановление фазы опоры фиксировали к 60-м суткам исследования, рабочего цикла и ФСИ – к 90-м суткам

исследования [5-А, 10-А]. После данного воздействия выявлены нарушения статических параметров походки относительно группы крыс с трансплантацией только МСК ЖТ: снижение площади отпечатка ипсилатеральной конечности на 21-е сутки ( $p < 0,05$ ), 28-е сутки ( $p < 0,05$ ) и 60-е сутки эксперимента ( $p < 0,005$ ); площади максимального контакта – на 28 и 60-е сутки эксперимента ( $p < 0,05$ ). В ходе анализа параметров походки крыс после трансплантации преинкубированных с АМ630 МСК ЖТ отмечен лишь сдвиг восстановления ФСИ (с 14-х к 21-м суткам эксперимента).

Таким образом, активация СВ<sub>2</sub>-рецепторов на мембранах МСК ЖТ усиливает антиноцицептивное действие последующей трансплантации, ускоряя развитие данного эффекта, а стимуляция периферических СВ<sub>2</sub>-рецепторов перед трансплантацией МСК ЖТ приводит к постепенному нарастанию тепловой анальгезии в долгосрочном периоде. Оба способа активации СВ<sub>2</sub>-рецепторов не усиливают и не ослабляют способность стволовых клеток нивелировать нарушения походки крыс с НП. Блокада СВ<sub>2</sub>-рецепторов в мягких тканях приводит к более выраженному ослаблению антиноцицептивного действия МСК ЖТ и замедлению восстановления ФСИ в краткосрочном периоде по сравнению с инактивацией данных рецепторов на МСК ЖТ.

При повреждении периферических нервов в подавлении ноцицептивной чувствительности участвуют СВ<sub>2</sub>-рецепторы, расположенные в периферических тканях, в частности, на периферических нервных волокнах [Lin X. et al., 2022]. Данные рецепторы на МСК участвуют в поддержании их жизнеспособности и метаболической активности [Xie J. et al., 2016]. Результаты данной работы указывают на то, что реализация антиноцицептивного и репаративного эффекта МСК ЖТ в области повреждения седалищного нерва происходит частично посредством стимуляции СВ<sub>2</sub>-рецепторов на их мембранах, подобным образом как в случае СВ<sub>1</sub>-рецепторов. В свою очередь, МСК ЖТ стимулируют СВ<sub>2</sub>-рецепторы в области повреждения седалищного нерва, что приводит к постепенному снижению продукции провоспалительных цитокинов, но их участие не является ключевым, поскольку их влияние сказывается на развитии данного эффекта постепенно.

### **Изменения гистологической структуры поврежденного седалищного нерва крыс после трансплантации МСК ЖТ на фоне фармакологической активации и блокады СВ<sub>1</sub>- и СВ<sub>2</sub>-рецепторов**

При гистологическом исследовании седалищного нерва дистальнее иссечения выявлено репаративное и протекторное действие однократного введения МСК ЖТ, выраженное в подавлении прогрессирования дегенеративных изменений нервных волокон и стимуляции пролиферации шванновских клеток (ШК) [4-А, 6-А].

Стимуляция периферических СВ<sub>1</sub>-рецепторов не оказала существенного влияния на протекторный и репаративный эффекты МСК ЖТ, что согласуется с полученными данными ноцицептивных тестов и анализа походки. Однако, блокада СВ<sub>1</sub>-рецепторов в области повреждения седалищного нерва перед введением МСК ЖТ приводила к снижению количества шванновских клеток на поздних сроках исследования ( $p=0,003$ ), но не повлияла на количество поврежденных нервных волокон ( $p=0,311$ ) [6-А].

Предварительная активация СВ<sub>1</sub>-рецепторов на мембранах МСК ЖТ способствовала усилению пролиферации шванновских клеток на поздних сроках исследования ( $p=0,006$ ) и таким образом стимулировала регенерацию миелиновых нервных волокон в долгосрочном периоде. Блокада СВ<sub>1</sub>-рецепторов на МСК ЖТ оказывала противоположный эффект. Увеличение относительного числа ШК в поврежденном нерве наряду с низкой долей поврежденных нервных волокон после трансплантации преинкубированных с АЕА МСК ЖТ и элиминация данного эффекта после инкубации МСК с АМ251 указывает на то, что стимуляция пролиферации шванновских клеток также связана с активацией СВ<sub>1</sub>-рецепторов МСК ЖТ.

Активация СВ<sub>2</sub>-рецепторов как в мягких тканях, так и на мембранах МСК ЖТ приводила к активации пролиферации ШК и предотвращению разрушения нервных волокон. При этом стимуляция СВ<sub>2</sub>-рецепторов на мембранах МСК ЖТ ускоряла развитие данного эффекта. Инактивация СВ<sub>2</sub>-рецепторов в мягких тканях перед введением МСК ЖТ приводила к выраженному подавлению пролиферации шванновских клеток ( $p=0,004$ ) и росту числа поврежденных нервных волокон дистальнее зоны перерезки ( $p=0,027$ ), а блокада СВ<sub>2</sub>-рецепторов на МСК ЖТ затормаживала развитие протекторного и репаративного эффектов клеточной трансплантации [9-А]. Результаты экспериментов свидетельствуют в пользу того, что МСК ЖТ способны стимулировать СВ<sub>2</sub>-рецепторы в области трансплантации, посредством которых достигался антиноцицептивный эффект, наряду с активизацией протекторных и репаративных процессов в поврежденном нерве.

Обобщая результаты данного исследования, можно сделать вывод о том, что антиноцицептивное действие МСК ЖТ в зоне повреждения седалищного нерва связано с активацией СВ<sub>1</sub>-рецепторов стволовых клеток. В данном процессе участвуют также СВ<sub>2</sub>-рецепторы на мембранах МСК ЖТ, но в значительно меньшей мере. Периферические СВ<sub>1</sub>-рецепторы не оказывают существенного влияния на способность МСК ЖТ облегчать болевой синдром в условиях повреждения седалищного нерва. Вместе с тем, после трансплантации МСК ЖТ происходит локальная активация СВ<sub>2</sub>-рецепторов, расположенных на иммунных клетках, что должно приводить к постепенному снижению продукции аллогенов и подавлению ноцицепции.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

1. При однократной трансплантации аллогенных МСК ЖТ в дозе  $1 \times 10^6$  клеток/кг в область повреждения седалищного нерва крыс установлено выраженное антиноцицептивное действие, проявившееся в длительном ослаблении механической и термической гипералгезии по 90-е сутки исследования. После введения указанной дозы МСК ЖТ установлено ускорение восстановления динамических нарушений походки и функционального седалищного индекса к 7-м суткам после трансплантации, а также предотвращение нарушений статических параметров походки с 28-х суток эксперимента и далее. Выявлено протекторное и стимулирующее репаративные процессы действие МСК ЖТ в седалищном нерве дистальной зоны иссечения, выраженное в уменьшении доли поврежденных нервных волокон и активации пролиферации шванновских клеток [1-А, 3-А, 4-А, 11-А, 18-А – 21-А, 23-А, 24-А].

2. Предварительное инкубирование МСК ЖТ с эндогенным агонистом СВ<sub>1</sub>-рецепторов анандамидом способствует стойкому усилению их анальгетического эффекта в отношении ноцицептивных реакций к термическому стимулу у крыс с поврежденным седалищным нервом. Фармакологическая активация периферических СВ<sub>1</sub>-рецепторов в области повреждения седалищного нерва перед трансплантацией МСК ЖТ не оказывает существенного влияния на способность МСК ЖТ нивелировать механическую и термическую гипералгезию и устранять нарушения статических и динамических параметров походки [6-А, 15-А, 17-А, 27-А, 29-А – 31-А].

3. Фармакологическая блокада мембранных СВ<sub>1</sub>-рецепторов МСК ЖТ при предварительном инкубировании с антагонистом AM251 сокращает длительность ослабления механической гипералгезии после трансплантации в область повреждения седалищного нерва и приводит к полной отмене антиноцицептивного действия клеток в отношении термической гипералгезии к 60-м суткам эксперимента. Блокада СВ<sub>1</sub>-рецепторов на мембранах МСК ЖТ не влияет на восстановление динамических нарушений походки в краткосрочном периоде после трансплантации, но ослабляет способность МСК ЖТ устранять нарушения статических параметров походки. Инактивация СВ<sub>1</sub>-рецепторов поврежденных тканей не оказывает существенного влияния на антиноцицептивный и улучшающий походку эффект МСК ЖТ [2-А, 6-А, 22-А, 24-А, 29-А – 31-А].

4. Стимуляция СВ<sub>2</sub>-рецепторов на мембранах МСК ЖТ агонистом AM1241 ускоряет наступление антиноцицептивного действия МСК ЖТ к 7-м суткам после трансплантации. Активация периферических СВ<sub>2</sub>-рецепторов агонистом AM1241 в окружающих седалищный нерв тканях перед трансплантацией

усиливает вызванную МСК ЖТ термическую анальгезию к 60-м суткам эксперимента. Фармакологическая стимуляция СВ<sub>2</sub>-рецепторов не влияет на способность МСК ЖТ устранять нарушения походки крыс с поврежденным седалищным нервом [7-А, 8-А, 14-А – 17-А, 26-А, 29-А – 31-А].

5. Инактивация СВ<sub>2</sub>-рецепторов антагонистом АМ630 как при предварительном инкубировании с МСК ЖТ, так и при инъекции в зону повреждения седалищного нерва приводит к постепенному ослаблению антиноцицептивного действия стволовых клеток. Фармакологическая блокада СВ<sub>2</sub>-рецепторов на МСК ЖТ замедляет восстановление функционального седалищного индекса, а инактивация СВ<sub>2</sub>-рецепторов поврежденных тканей в области перерезки седалищного нерва дополнительно снижает эффективность МСК ЖТ в отношении статических и динамических параметров походки [5-А, 10-А, 12-А, 13-А, 15-А, 17-А, 29-А – 31-А].

6. После трансплантации МСК ЖТ, предварительно инкубированных с агонистом СВ<sub>1</sub>-рецепторов анандамидом, установлено уменьшение количества поврежденных миелинизированных нервных волокон к 21-м суткам после перерезки седалищного нерва и стимуляция пролиферации шванновских клеток к 90-м суткам. На фоне блокады СВ<sub>1</sub>-рецепторов МСК ЖТ выявлено торможение развития указанных эффектов. Фармакологическая активация СВ<sub>1</sub>-рецепторов в периферических тканях не оказывает существенного влияния на протекторный и репаративный эффекты клеточной трансплантации. Блокада СВ<sub>1</sub>-рецепторов поврежденных тканей не оказывает влияния на количество поврежденных нервных волокон после трансплантации стволовых клеток, но снижает влияние МСК ЖТ на количество шванновских клеток к 90-м суткам [6-А, 28-А, 30-А, 31-А].

7. Активация СВ<sub>2</sub>-рецепторов агонистом АМ1241 на мембранах МСК ЖТ способствует активации репаративных процессов в поврежденном нерве к 21-м суткам после повреждения седалищного нерва, а блокада данных рецепторов обладает обратным эффектом. Активация СВ<sub>2</sub>-рецепторов поврежденных тканей приводит к усилению репаративного и протекторного эффектов МСК ЖТ на более поздних сроках эксперимента (90-е сутки). Фармакологическая блокада периферических СВ<sub>2</sub>-рецепторов значительно снижает эффект МСК ЖТ, выраженный в уменьшении доли поврежденных миелинизированных нервных волокон и активации пролиферации шванновских клеток [8-А, 9-А, 10-А, 30-А, 31-А].

### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

1. Результаты исследования являются основой для разработки методики коррекции периферической нейропатической боли с использованием мезенхимальных стволовых клеток, а также методик коррекции хронических болевых синдромов при других заболеваниях.

2. Выявленные закономерности участия каннабиноидных рецепторов первого и второго типа в анальгетическом действии МСК ЖТ после трансплантации в область травматического повреждения седалищного нерва внедрены в образовательный процесс биологического факультета БГУ (акт № 2.4/376 от 01.12.2020), в учебный процесс Международного государственного экологического института им. А. Д. Сахарова БГУ (акт № 12 от 27.04.2023), а также в научно-производственный процесс Могилёвского государственного университета им. А. А. Кулешова (акт от 16.05.2023).

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

### Статьи в рецензируемых научных журналах

1-А. **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 // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 404–412.

2-А. **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 Витебского государственного медицинского университета. – 2022. – Т. 21, № 6. – С. 47–56.

3-А. Эффективность курсового применения пальмитоилэтаноламида и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной периферической нейропатической боли / **А.-М. В. Ерофеева**, О. А. Антипова, И. П. Жаворонок, С. Н. Рябцева, А. Ю. Молчанова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2023. – Т. 67, №1. – С. 39–47.

4-А. Сравнительная оценка эффективности системного и локального введения мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной нейропатии / **А.-М. В. Ерофеева**, Е. В. Фёдорова, С. Н. Рябцева, А. Ю. Молчанова // Проблемы здоровья и экологии. – 2023. – Т. 20, № 2. – С. 65–71.

5-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Изменения параметров походки крыс с периферической нейропатической болью при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток и фармакологической блокаде каннабиноидных рецепторов II типа / **А.-М. В. Ерофеева** // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2023. – Т. 22, № 3. – С. 45–54.

6-А. The role of cannabinoid CB1 receptors in the antinociceptive and reparative actions of mesenchymal stem cells in rats with peripheral neuropathic pain / **A.-M. V. Yerofeyeva**, S. V. Pinchuk, S. N. Rjabceva, A. Y. Molchanova // Ibrain. – 2023. – Vol. 9, iss. 3. – P. 245–257.

7-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Параметры походки крыс с периферической нейропатией при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток и фармакологической стимуляции каннабиноидных рецепторов II типа / **А.-М. В. Ерофеева** // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2023. – Т. 21, № 4. – С. 388–392.

8-А. Активация каннабиноидных рецепторов II типа как вариант потенцирования мезенхимальных стволовых клеток в модели периферической нейропатической боли / **А.-М. В. Ерофеева**, С. В. Пинчук, С. Н. Рябцева, А. Ю. Молчанова // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2023. – № 2(30). – С. 29–39.

9-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Репаративный эффект мезенхимальных стволовых клеток при модуляции каннабиноидных CB<sub>2</sub>-рецепторов в модели периферической нейропатии / **А.-М. В. Ерофеева**, С. Н. Рябцева, А. Ю. Молчанова // Здоровоохранение. – 2023. – № 12. – С. 75–80.

10-А. Фармакологическая блокада каннабиноидных рецепторов II типа при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в модели периферической нейропатической боли / **А.-М. В. Ерофеева**, С. В. Пинчук, С. Н. Рябцева, А. Ю. Молчанова // Acta Biomedica Scientifica. – 2023. – Т. 8, № 6. – С. 141–152.

#### **Статьи в сборниках и материалах конференций**

11-А. Сравнительная характеристика антиноцицептивных и репаративных эффектов недифференцированных и нейрогенно-предифференцированных мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной нейропатии седалищного нерва / **А.-М. В. Ерофеева**, И. П. Жаворонок, О. А. Антипова, Н. И. Счастливая, И. А. Семёник, С. Н. Рябцева, И. Б. Василевич, С. В. Пинчук, А. Ю. Молчанова // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. респ. науч.-практ. конф. с междунар. уч., Гомель, 11 ноября 2021 г. ; в 3 т. / Гомельский государственный медицинский университет ; ред. И. О. Стома [и др.]. – Гомель, 2021. – Т. 3. – С. 24–26.

12-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Влияние фармакологической блокады каннабиноидных рецепторов 2-го типа на антиноцицептивные свойства мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной нейропатии / **А.-М. В. Ерофеева** // Актуальные вопросы фармакологии и фармакотерапии : сб. мат. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. М. В. Кораблёва, Гродно, 24 января 2023 г. [Электронный ресурс] / Гродненский государственный медицинский университет ; отв. ред. С. Б. Вольф. – Гродно, 2023. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – С. 65–67.

13-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Антиноцицептивное действие мезенхимальных стволовых клеток на фоне фармакологической блокады каннабиноидных рецепторов 2-го типа в модели периферической нейропатии / **А.-М. В.**

**Ерофеева** // Фундаментальная наука в современной медицине – 2023 : материалы науч.-практ. конф. студентов и мол. уч. / Белорусский государственный медицинский университет ; под. ред. С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка, Т. В. Горлачёвой, Ф. И. Висмонта. – Минск, 2023. – С. 303–307.

14-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Параметры походки крыс с нейропатией после введения мезенхимальных стволовых клеток и стимуляции каннабиноидных рецепторов 2-го типа / **А.-М. В. Ерофеева** // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 75-й юбилейной науч.-практ. конф. студентов и мол. уч., Витебск, 20–21 апреля 2023 г. [Электронный ресурс] / Витебский государственный медицинский университет ; редкол. А. Н. Чуканов (председатель) [и др.]. – Витебск, 2023. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – С. 626–629.

15-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Параметры походки крыс с периферической нейропатией при фармакологической модуляции CB1 и CB2 каннабиноидных рецепторов и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток / **А.-М. В. Ерофеева** / Инновации в медицине и фармации 2023 : сб. мат. Междунар. науч.-практ. конф. студентов и мол. уч. / Белорусский государственный медицинский университет ; под ред. С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка. – Минск, 2023. – С. 668–672.

16-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Характеристика антиноцицептивных эффектов мезенхимальных стволовых клеток на фоне стимуляции каннабиноидных рецепторов 2-го типа при экспериментальной периферической мононейропатии / **А.-М. В. Ерофеева**, С. Н. Рябцева // Актуальные проблемы и перспективы развития гистологии, цитологии и эмбриологии: сб. материалов науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию каф. гистологии, цитологии и эмбриологии, Минск, 26 октября 2023 г. [Электронный ресурс] / Белорусский государственный медицинский университет ; под общ. ред. В. С. Гайдука. – Минск, 2023. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – С. 81–86.

17-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Эффективность мезенхимальных стволовых клеток при фармакологической модуляции каннабиноидных рецепторов CB1 и CB2 в экспериментальной модели нейрогенного болевого синдрома у крыс / **А.-М. В. Ерофеева**, С. Н. Рябцева // Актуальные проблемы медицины : сборник научных статей респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 30-летнему юбилею ГомГМУ, Гомель, 10 ноября 2023 г. ; в 3. т. / Гомельский государственный медицинский университет; редкол. И. О. Стома [и др.]. – Гомель, 2023. – Т. 2. – С. 89–92.

#### **Тезисы докладов в сборниках и материалах конференций**

18-А. Anti-nociceptive actions of adipose-derived mesenchymal stem cells administered locally in different regiment at experimental model of peripheral trauma-induced neuropathy / **А.-М. Erofeeva**, I. Zhavoronok, O. Antipova, N.

Schastnaya, S. Rjabceva, I. Siamionik, M. Derevyanko, A. Molchanova // Abstracts accepted for the International Scientific Conference on Medicine organized within the frame of the 78<sup>th</sup> International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, 12 March 2020 // Medicina (Kaunas) – 2020. – Vol. 56, Suppl. 1. – P. 181.

19-A. Regenerative actions of adipose-derived mesenchymal stem cells administered locally in different regiment within experimental model of peripheral neuropathy / I. Siamionik, **A.-M. Erofeeva**, I. Zhavoronok, O. Antipova, N. Schastnaya, M. Derevyanko, A. Molchanova, S. Rjabceva // Abstracts accepted for the International Scientific Conference on Medicine organized within the frame of the 78<sup>th</sup> International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, 12 March 2020 // Medicina (Kaunas) – 2020. – Vol. 56, Suppl. 1. – P. 189.

20-A. Сравнительная оценка антиноцицептивного действия мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани при экспериментальной нейропатии различного генеза / **A.-М. В. Ерофеева**, И. П. Жаворонок, О. А. Антипова, Н. И. Счастливая, С. А. Алексеев, С. Н. Чур, А. Ю. Молчанова // Поленовские чтения 2021 : сб. материалов XIX-XX Всеросс. науч.-практ. конф., Санкт-Петербург, 31 марта–2 апреля 2021 г. / Росс. науч.-исслед. нейрохирург. ин-т им. проф. А. Л. Поленова ; ред. Т. А. Азанчевская. – СПб, 2021. – С. 145.

21-A. **Ерофеева, А.-М. В.** Влияние аллогенной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на показатели функционального состояния седалищного нерва при экспериментальной периферической мононейропатии / **A.-М. В. Ерофеева**, А. Ю. Молчанова // Молодежь в науке – 2021 : тез. докл. XVIII Междунар. науч. конф. молодых ученых, Минск, 27–30 сентября 2021 г. ; в 2 ч. / Нац. академия наук Беларуси, Совет молодых ученых ; редкол.: В. Г. Гусаков (гл. ред.) [и др.]. – Ч. 2. – Минск, 2021. – С. 17–19.

22-A. **Ерофеева, А.-М. В.** Влияние фармакологической блокады каннабиноидных рецепторов 1 типа на эффективность трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в область повреждения седалищного нерва крыс / **A.-М. В. Ерофеева**, С. В. Пинчук, А. Ю. Молчанова // Сигнальные механизмы регуляции физиологических функций : труды IV Респ. науч. конф., Минск, 10 ноября 2022 г. // Новости медико-биологических наук. – 2022. – Т. 22, № 1. – С. 39–40.

23-A. Влияние курсового применения пальмитоилэтаноламида на антиноцицептивный эффект мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани при экспериментальной нейропатии у крыс / **A.-М. В. Ерофеева**, О. А. Антипова, И. П. Жаворонок, А. Ю. Молчанова // Фундаментальные и прикладные науки – медицине : труды междунар. науч. конф., Минск, 7 октября 2022 г. / Новости медико-биологических наук. – 2022. – Т. 22, № 3. – С. 43.

24-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Модулирующее действие блокады каннабиноидных рецепторов 1 типа на антиноцицептивный и репаративный эффекты мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной периферической нейропатии / **А.-М. В. Ерофеева**, А. Ю. Молчанова // Современные проблемы клеточной инженерии, иммунологии и аллергологии : тез. докл. междунар. науч. конф., Минск, 13–14 октября 2022 г. [Электронный ресурс] / Ин-т биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси; редкол.: А. Е. Гончаров (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2022. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – С. 39.

25-А. Сравнительная эффективность системной и локальной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной периферической нейропатии у крыс / **А.-М. В. Ерофеева**, Е. В. Фёдорова, С. В. Пинчук, А. Ю. Молчанова // Современные проблемы клеточной инженерии, иммунологии и аллергологии : тез. докл. междунар. науч. конф., Минск, 13–14 октября 2022 г. [Электронный ресурс] / Ин-т биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси; редкол.: А. Е. Гончаров (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2022. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – С. 40.

26-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Влияние фармакологической стимуляции каннабиноидных рецепторов второго типа на антиноцицептивный эффект мезенхимальных стволовых клеток в экспериментальной модели нейропатии седалищного нерва / **А.-М. В. Ерофеева** // XXI Конференция молодых учёных, специалистов и студентов, посвящ. 60-летию Института медико-биологических проблем : сб. мат., Москва, 20–21 апреля 2023 г. / Фед. гос. бюд. уч. науки Гос. науч. центр Рос. Фед. – Ин-т мед.-биол. проблем Рос. акад. наук. – Москва, 2023. – С.100–101.

27-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Модулирующее действие анандамида на антиноцицептивный эффект трансплантации мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной нейропатии седалищного нерва / **А.-М. В. Ерофеева** // Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2023 : сб. тезисов докл. LXXVII Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Минск, 19–20 апреля 2023 г. / Белорусский государственный медицинский университет ; под. ред. С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка. – Минск, 2023. – С. 961.

28-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Регенерация дистальной части седалищного нерва при модуляции каннабиноидных рецепторов первого типа и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в модели периферической нейропатии / **А.-М. В. Ерофеева**, С. Н. Рябцева // Молодежь в науке – 2023 : тезисы докладов XX Междунар. науч. конф. молодых ученых, Минск, 20–22 сентября 2023 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Совет молодых ученых ; редкол.: В. Г. Гусаков (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2023. – С. 418–420.

29-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Оценка участия периферических каннабиноидных рецепторов в антиноцицептивном действии мезенхимальных стволовых клеток в модели периферической нейропатии / **А.-М. В. Ерофеева** // *Фундаментальные и прикладные науки – медицине : труды междунар. науч. конф.*, Минск, 12 октября 2023 г. // *Новости медико-биологических наук.* – 2023. – Т. 23, № 3. – С. 40–41.

30-А. **Ерофеева, А.-М. В.** Изменение антиноцицептивного и репаративного эффектов мезенхимальных стволовых клеток при модуляции каннабиноидных рецепторов в модели нейропатической боли / **А.-М. В. Ерофеева** // *Современные проблемы клеточной инженерии, иммунологии и аллергологии : тез. докл. междунар. науч. конф., посвящ. 50-летию ин-та, Минск, 26–27 октября 2023 г. [Электронный ресурс] / Ин-т биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси ; редкол.: А. Е. Гончаров (гл. ред.) [и др.]*. – Минск, 2023. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM) – С. 13.

31-А. *Modulatory impact of cannabinoid receptors on mesenchymal stem cell-induced protective effects in rats with neuropathic pain / **А.-М. В. Yerofeyeva**, S. N. Rjabceva, A. Y. Molchanova // The Challenge of Chronic Pain: from Genomics to Therapy : abstract book, Hinxton, 29 November–1 December 2023 [Electronic resource] / Wellcome Genome Campus. – Hinxton, 2023. – 1 electron. opt. disc (CD-ROM). – P. 102.*



## РЭЗІЮМЕ

**Ерафеева Ганна-Марыя Вадзімаўна**

**Роля канабіноідных рэцэптараў у антынацыцэптыўным дзеянні мезенхімальных стваловых клетак тлушчавай тканкі пры эксперыментальнай перыферычнай нейрапатыі**

**Ключавыя словы:** мезенхімальныя стваловыя клеткі, неўрапатычны боль, перыферычная нейрапатыя, канабіноідныя рэцэптары, нацыцэптыўная адчувальнасць, паходка, сядальны нерв.

**Мэта даследавання:** даследаваць унёсак канабіноідных рэцэптараў СВ<sub>1</sub> і СВ<sub>2</sub> у рэалізацыю антынацыцэптыўнага дзеяння мезенхімальных стваловых клетак тлушчавай тканкі пры эксперыментальнай перыферычнай нейрапатыі.

**Метады даследавання:** эксперыментальнае мадэляванне, культываванне клетак, метаад алгаметрыі, аналіз паходкі, гісталагічныя, статыстычныя.

**Атрыманыя вынікі і іх навізна:** атрыманы новыя даныя аб эфектах лакальнай трансплантацыі алагенных мезенхімальных стваловых клетак тлушчавай тканкі не толькі на нацыцэптыўныя рэакцыі, але і на статычныя і дынамічныя параметры паходкі і гісталагічную структуру сядальнага нерва пацукоў у эксперыментальнай мадэлі перыферычнай нейрапатыі. Упершыню выяўлены мадулюючы ўплыў актывацыі і блакады перыферычных СВ<sub>2</sub>-рэцэптараў селектыўнымі лігандамі на антынацыцэптыўны, пратэктарны і рэпаратывны эфекты мезенхімальных стваловых клетак у вобласці пашкоджання сядальнага нерва. Упершыню вызначана працяглае ўзмацненне антынацыцэптыўнага, пратэктарнага і рэпаратывнага дзеяння мезенхімальных стваловых клетак тлушчавай тканкі пры актывацыі іх мембранных СВ<sub>1</sub>-рэцэптараў.

**Рэкамендацыі па выкарыстанню:** выяўленыя заканамернасці ўдзелу канабіноідных рэцэптараў першага і другога тыпу ў анальгетычным дзеянні мезенхімальных стваловых клетак тлушчавай тканкі могуць быць выкарыстаны для распрацоўкі метадыкі карэкцыі перыферычнага нейрапатычнага болю, а таксама карэкцыі хранічных болевых сіндромаў пры іншых захворваннях.

**Галіна выкарыстання:** паталагічная фізіялогія, неўрапаталогія, клеткавыя тэхналогіі.

## РЕЗЮМЕ

**Ерофеева Анна-Мария Вадимовна**

**Роль каннабиноидных рецепторов в антиноцицептивном действии мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани при экспериментальной периферической нейропатии**

**Ключевые слова:** мезенхимальные стволовые клетки, нейропатическая боль, периферическая нейропатия, каннабиноидные рецепторы, ноцицептивная чувствительность, походка, седалищный нерв.

**Цель работы:** изучить вклад каннабиноидных рецепторов CB<sub>1</sub> и CB<sub>2</sub> в реализацию антиноцицептивного действия мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани при экспериментальной периферической нейропатии.

**Методы исследования:** экспериментальное моделирование, культивирование клеток, метод алгометрии, анализ походки, гистологические, статистические.

**Полученные результаты и их новизна:** получены новые данные об эффектах локальной трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани не только на ноцицептивные реакции, но и на статические и динамические параметры походки и гистологическую структуру седалищного нерва крыс в экспериментальной модели периферической нейропатии. Впервые установлено модулирующее влияние активации и блокады периферических CB<sub>2</sub>-рецепторов селективными лигандами на антиноцицептивный, протекторный и репаративный эффекты мезенхимальных стволовых клеток в области повреждения седалищного нерва. Впервые показано длительное усиление антиноцицептивного, протекторного и репаративного действия мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани при активации их мембранных CB<sub>1</sub>-рецепторов.

**Рекомендации по использованию:** выявленные закономерности участия каннабиноидных рецепторов первого и второго типа в анальгетическом действии мезенхимальных стволовых клеток могут быть использованы для разработки методики коррекции периферической нейропатической боли, а также коррекции хронических болевых синдромов при других заболеваниях.

**Область применения:** патологическая физиология, невропатология, клеточные технологии.

## SUMMARY

**Yerafeyeva Hanna-Maryia Vadzimauna**

### **The role of cannabinoid receptors in the antinociceptive actions of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in experimental peripheral neuropathy**

**Keywords:** mesenchymal stem cells, neuropathic pain, peripheral neuropathy, cannabinoid receptors, nociceptive sensitivity, gait, sciatic nerve.

**Aim of the study:** to study the contribution of CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub> cannabinoid receptors to the implementation of the antinociceptive effect of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in experimental peripheral neuropathy.

**Research methods:** experimental modeling, cell cultivation, algometry method, gait analysis, histological, statistical.

**Obtained results and its novelty:** new data were obtained on the effects of local transplantation of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on nociceptive responses, static and dynamic gait parameters, and the histological structure of the sciatic nerve of rats in an experimental model of peripheral neuropathy. For the first time, the modulating effect of activation and blockade of peripheral CB<sub>2</sub>-receptors by selective ligands on the antinociceptive, protective and reparative effects of mesenchymal stem cells in the area of sciatic nerve damage have been found. For the first time, the long-term enhancement of the antinociceptive, protective and reparative effects of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells were shown upon activation of their membrane CB<sub>1</sub>-receptors.

**Recommendations for use:** the identified roles of type 1 and type 2 cannabinoid receptors in the analgesic effects of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells can be utilized to develop methods for alleviation of peripheral neuropathic pain and chronic pain syndromes associated with other diseases.

**Field of application:** pathophysiology, neuropathology, cell technologies.

Подписано в печать 31.12.2024.  
Формат 60×84/16. Бумага офсетная. Печать цифровая.  
Усл. печ. л. 1,57. Тираж 60 экз. Заказ № 10.

ФТИ НАН Беларуси.  
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,  
распространителя печатных изданий № 2/12 от 21.11.2013.  
220084, ул. Академика Купревича, 10, г. Минск.