

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ БЛОКАДА КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ II ТИПА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В МОДЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИЧЕСКОЙ БОЛИ

РЕЗЮМЕ

Ерофеева А.-М.В.¹,
Пинчук С.В.²,
Рябцева С.Н.¹,
Молчанова А.Ю.¹

¹ ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»
(220072, г. Минск, ул. Академическая, 28, Республика Беларусь)

² ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»
(220072, г. Минск, ул. Академическая, 27, Республика Беларусь)

Автор, ответственный за переписку:
Ерофеева Анна-Мария Вадимовна,
e-mail: amyerofeyeva@zoho.eu

Цель исследования. Оценить антиноцицептивный и репаративный эффекты мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) на фоне фармакологической блокады каннабиноидных рецепторов СВ₂ в модели периферической нейропатической боли.

Материал и методы. У 40 крыс-самцов Wistar осуществили моделирование периферической нейропатии (НП) путём иссечения участка седалищного нерва. На 7-е сутки исследования проведена трансплантация МСК ЖТ (1×10^6 клеток/кг) в область повреждения седалищного нерва без дополнительных воздействий, а также после локального введения антагониста СВ₂-рецептора AM630 и предварительной инкубации с AM630. В течение 90 суток регистрировали ноцицептивную чувствительность и анализировали походку крыс с помощью CatWalk XT (Noldus, Нидерланды). На 21-е и 90-е сутки проведена оценка гистоструктуры дистального сегмента седалищного нерва после аксотомии.

Результаты. Фармакологическая блокада СВ₂-рецепторов как на мембранах МСК ЖТ, так и в мягких тканях, окружающих место повреждения седалищного нерва, приводила к снижению порога и латентного периода ноцицептивной реакции с 28-х суток исследования по сравнению с группой крыс с НП и группой животных после трансплантации только МСК ЖТ. После локального введения AM630 перед трансплантацией МСК ЖТ отмечены ухудшение параметров походки, вызванные НП, и увеличение доли повреждённых нервных волокон в дистальном сегменте седалищного нерва. Трансплантация МСК, преинкубированных с AM630, не оказывала существенного влияния на скорость восстановления параметров походки, к 90-м суткам исследования сопровождалась снижением числа повреждённых нервных волокон.

Заключение. Блокада СВ₂-рецепторов как на мембранах МСК, так в зоне повреждения периферического нерва сопровождается снижением антиноцицептивного эффекта МСК при их локальной трансплантации и подавляет репаративное действие МСК.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, нейропатическая боль, седалищный нерв, каннабиноидные рецепторы, фармакологическая блокада СВ₂-рецепторов

Статья поступила: 25.05.2023

Статья принята: 17.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Ерофеева А.-М.В., Пинчук С.В., Рябцева С.Н., Молчанова А.Ю. Фармакологическая блокада каннабиноидных рецепторов II типа при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в модели периферической нейропатической боли. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 141-152. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.13

PHARMACOLOGICAL BLOCKADE OF CANNABINOID TYPE II RECEPTORS AND MESENCHYMAL STEM CELL TRANSPLANTATION IN A MODEL OF PERIPHERAL NEUROPATHIC PAIN

Yerofeyeva A.-M.V.¹,
Pinchuk S.V.²,
Rjabceva S.N.¹,
Molchanova A.Yu.¹

¹ Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya str. 28, Minsk 220072, Republic of Belarus)

² Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya str. 28, Minsk 220072, Republic of Belarus)

Corresponding author:
Anna-Maria V. Yerofeyeva,
e-mail: amyerofeyeva@zoho.eu

ABSTRACT

Objective. To evaluate the anti-nociceptive and reparative effects of adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSCs) under the pharmacological blockade of cannabinoid CB₂ receptors in a model of peripheral neuropathic pain.

Material and methods. In 40 male Wistar rats, modeling of peripheral neuropathy (NP) was performed by excising a sciatic nerve. On day 7 of the study, ADMSCs (1×10^6 cells/kg) were transplanted into the area of sciatic nerve injury without additional influences or after administration of the CB₂ receptor antagonist AM630, as well as after incubation with AM630. Within 90 days, nociceptive sensitivity was studied, as well as a detailed analysis of gait using CatWalk XT (Noldus, Netherlands). On day 21 and day 90, histostructure of the distal segment of the sciatic nerve was assessed.

Results. Pharmacological blockade of CB₂ receptors both on the ADMSCs and in the soft tissues surrounding the site of sciatic nerve injury led to a decrease in withdrawal threshold and withdrawal latency from day 28 of the study compared with the group of rats with NP and transplantation of ADMSCs only. Local injection of AM630 before transplantation of ADMSCs contributed to the development of NP-induced gait disturbances and increase of the number of damaged nerve fibers in the distal segment of sciatic nerve. Transplantation of ADMSCs pretreated with AM630 did not significantly affect the rate of recovery of gait parameters, and decreased the number of damaged nerve fibers by day 90 of study.

Conclusion. Blockade of CB₂ receptors, both on the membranes of MSCs and in the area of damage to the peripheral nerve, has a negative effect on the development of the anti-nociceptive and reparative effects of MSCs.

Key words: mesenchymal stem cells, neuropathic pain, sciatic nerve, cannabinoid receptors, pharmacological blockade of CB₂ receptors

Received: 25.05.2023
Accepted: 17.11.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Yerofeyeva A.-M., Pinchuk S., Rjabceva S., Molchanova A. Pharmacological blockade of cannabinoid type II receptors and mesenchymal stem cell transplantation in a model of peripheral neuropathic pain. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 141-152. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.13

ВВЕДЕНИЕ

Хронические болевые синдромы нейрогенного происхождения, связанные с повреждением или дисфункцией периферических звеньев соматосенсорной нервной системы [1], встречаются у 7–20 % жителей Европы [2] и у 30–50 % населения планеты [3]. Клеточная терапия с использованием мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) представляется перспективной в отношении повреждений периферических нервов и связанных с ними болевых синдромов [4, 5]; их антиноцицептивный эффект при локальной трансплантации показан в моделях нейропатии различной этиологии [6–11]. Способность МСК купировать нейропатическую боль в настоящее время связывают главным образом с подавлением локальной воспалительной реакции путём секреции ряда паракринных факторов [5], однако механизмы активации данных процессов не до конца раскрыты.

Каннабиноидные CB_2 -рецепторы участвуют в модуляции трансдукции, передаче и обработке ноцицептивного сигнала как на периферическом, так и на центральном уровне соматосенсорной нервной системы [12] и являются мишенью для купирования болевого синдрома. МСК способны продуцировать лиганды CB_2 -рецепторов [13], что может быть одним из механизмов их анальгетического действия. С другой стороны, CB_2 -рецепторы присутствуют в МСК и участвуют в поддержании их жизнеспособности и метаболической активности [13–16], что указывает о возможном взаимодействии МСК с эндогенными каннабиноидами в области трансплантации. Для понимания роли CB_2 -рецепторов в реализации анальгетического и репаративного действия МСК при локальном введении в область повреждения периферического нерва необходимо исследовать изменения эффектов МСК в условиях блокады данных рецепторов.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка антиноцицептивного и репаративного эффектов мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на фоне фармакологической блокады каннабиноидных CB_2 -рецепторов в модели периферической нейропатической боли.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 40 крысах-самцах линии Wistar массой 180–200 г. Животных содержали в виварии ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси» со свободным доступом к воде и пище и циклом день/ночь 12/12 ч. Методом простой рандомизации (с использованием таблицы случайных чисел) животных разделили на 4 группы, в каждой группе $n = 10$:

1) крысы с моделью периферической нейропатии (НП) без лечения (группа НП);

2) крысы с моделью НП и трансплантацией аллогенных МСК ЖТ в область повреждения седалищного нерва (группа НП + МСК ЖТ);

3) крысы с моделью НП и трансплантацией МСК ЖТ при фармакологической блокаде CB_2 -рецепторов в мягких тканях области повреждения седалищного нерва (группа НП + AM630 + МСК ЖТ);

4) крысы с моделью НП и трансплантацией МСК ЖТ, которым осуществили фармакологическую блокаду CB_2 -рецепторов при предварительном инкубировании с селективным антагонистом (группа НП + пре-AM630-МСК ЖТ).

Все манипуляции с экспериментальными животными проведены с соблюдением принципов биоэтики, изложенных в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Протокол исследования одобрен Комиссией по биоэтике при ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси» (протокол № 1 от 02.02.2023).

Хирургические манипуляции. Моделирование НП осуществляли на левой задней конечности крыс путём аксотомии участка седалищного нерва размером 0,5 см, согласно ранее описанной методике [8]. Операцию проводили под общим наркозом, индуцируемым внутривенной инъекцией тиопентала натрия (ОАО «Синтез», Россия) в дозе 20 мг/кг с применением местной анестезии (гидрохлорид лидокаина (ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Республика Беларусь), 0,1 мл внутримышечно).

Трансплантация МСК ЖТ. На 7-е сутки после моделирования НП экспериментальным группам вводили МСК ЖТ в количестве 1×10^6 клеток/кг. МСК ЖТ, выделенные из висцерального жира интактных крыс, согласно ранее описанной методике [17], культивировали в CO_2 -инкубаторе (37 °C; 5%-й CO_2) до 3-го пассажа. На проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson, США) исследован фенотип МСК ЖТ по наличию характерных маркеров CD29, CD44 и CD90 и отсутствию гемопоэтического маркера CD45. Суспензию клеток в фосфатно-солевом (PBS, phosphate-buffered saline) буфере (pH = 7,2; Sigma-Aldrich, Германия) вводили внутримышечно инсулиновым шприцом с интегрированной иглой 30 G четырьмя инъекциями вокруг зоны оперативного иссечения участка нерва по воображаемому циферблату на 3, 6, 9 и 12 часов.

Фармакологическая блокада CB_2 -рецепторов. С целью блокады CB_2 -рецепторов на мембранах МСК ЖТ клетки инкубировали с селективным антагонистом AM630 (Sigma-Aldrich, Германия) в течение 24 ч (2 μ M). Фармакологическую блокаду CB_2 -рецепторов в мягких тканях области повреждения седалищного нерва осуществляли путём внутримышечного введения AM630 (100 мкг/кг) за 15 мин до трансплантации МСК ЖТ. Антагонист AM630 разводили в растворителе, состоящем из стерильного PBS-буфера (pH = 7,4; Sigma-Aldrich, Германия) и 0,2%-го диметилсульфоксида (NeoFroxx GmbH, Германия).

Оценка ноцицептивной чувствительности. Для определения ноцицептивной чувствительности на механический стимул (порога ноцицептивной реак-

ции (ПНР) использовали алгезиметр «Рэндалла-Селитто» (Panlab, Испания), для определения ноцицептивной чувствительности на термический стимул (латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР)) – алгезиметр «Горячая пластина» (Panlab, Испания) [18]. Измерения проводили трёхкратно с интервалом 5–7 мин. Оценку ноцицептивной чувствительности проводили на 0-е, 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 60-е и 90-е сутки исследования.

Анализ параметров походки. Детальный анализ походки проводили с использованием аппаратно-программного комплекса CatWalk XT 10.6 (Noldus, Нидерланды). Установка позволяет проводить качественную и количественную оценку параметров походки во время непринуждённого передвижения животного по стеклянному подиуму. Интенсивность зелёного света в месте контакта лап с поверхностью стеклянного подиума, подсвечиваемого зелёной LED-подсветкой, фиксировали высокоскоростной видеокамерой с широкоугольным объективом Gevicam GP-3360 (GEViCAM Inc., США), расположенной под коридором. Анализ отпечатков лап и подсчёт параметров походки осуществляли с помощью программного обеспечения данного аппаратно-программного комплекса. До начала исследования животных адаптировали к прибору и условиям записи пробежек. Пробежки каждого животного регистрировали в тёмном вентилируемом помещении по 3 раза с максимальным уровнем варибельности шага 60 % и временем пробежки не более 5,00 с. В анализ включали статические и динамические параметры, которые в данной модели отражают степень тонических болевых ощущений, а также косвенно демонстрируют функциональное состояние седалищного нерва. Динамические параметры включали:

- Stand time – длительность фазы опоры лапы на поверхность;
- Swing time – длительность фазы переноса лапы в воздухе;
- Duty cycle – рабочий цикл лапы, отношение длительности фазы опоры лапы к длительности полного цикла шага.

Статические параметры походки:

- Print length – длина отпечатка;
- Print width – ширина отпечатка;
- Print area – площадь отпечатка;
- Max contact area – площадь отпечатка при наиболее интенсивном контакте лапы с поверхностью;
- Max intensity – максимальная интенсивность отпечатка лапы;
- Mean intensity – средняя интенсивность отпечатка лапы;
- Sciatic functional index (SFI) – функциональный седалищный индекс (ФСИ).

Данные параметры были отобраны на основании предыдущих исследований [6–7, 19]. Для исключения влияния скорости пробежек и массы тела животных на показатели параметров походки данные рассчитывали в процентах от контралатеральной задней конечности, кроме ФСИ.

Оценка гистоструктуры седалищного нерва.

На 21-е и 90-е сутки исследования осуществлён забор дистального сегмента седалищного нерва для гистоло-

гического исследования. Материал фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. Просмотр и оцифровку полученных препаратов осуществляли на световом микроскопе Optec BK 5000 с цифровой камерой (Optec, Китай) на увеличении $\times 400$. На поперечных срезах седалищного нерва осуществлён подсчёт процентного содержания нормальных и повреждённых нервных волокон [20]. Оценка морфометрических параметров осуществлялась в поле зрения микроскопа на увеличении $\times 400$ (площадью 67072,0 мкм²) не менее чем в пяти полях зрения.

Статистика. Статистическую обработку данных выполняли в программе Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Данные проверяли на нормальность распределения критерием Шапиро – Уилка. При нормальном распределении признака результаты представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$); при ненормальном – как медиана и квартили ($Me (Q25; Q75)$). Отличия в показателях ноцицептивной чувствительности и параметров походки оценивали с помощью дисперсионного анализа повторных измерений с апостериорными сравнениями методом наименьшей значимой разницы. Морфометрические данные сравнивали критерием Краскелла – Уоллиса с последующими апостериорными сравнениями. Вывод о статистической значимости отличий делали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изменения ноцицептивной чувствительности.

На 7-е сутки после моделирования НП наблюдали развитие механической и термической гипералгезии. Об этом свидетельствовало снижение показателей ПНР ипсилатеральной конечности на 35,5 % ($c 136,0 \pm 1,9$ до $87,7 \pm 2,0$ г) и ЛПНР на 34,3 % ($c 18,1 \pm 0,6$ до $11,9 \pm 0,4$ с) относительно исходных значений ($p < 0,001$) (рис. 1а, б). На протяжении исследования не отмечено тенденции к восстановлению показателей ПНР и ЛПНР до первоначальных значений. ПНР контралатеральной здоровой конечности статистически значимо не изменялся на протяжении исследования ($p > 0,05$ по сравнению с 0-ми сутками; рис. 1а).

Однократное внутримышечное введение МСК ЖТ в область повреждения седалищного нерва приводило к увеличению ПНР ипсилатеральной конечности к 14-м суткам на 32,3 % ($c 85,4 \pm 2,0$ до $113,0 \pm 1,9$ г; $p < 0,001$ к 7-м суткам; рис. 1а), ЛПНР – на 17,1 % ($c 11,7 \pm 0,5$ до $13,7 \pm 0,5$ с; $p < 0,001$ к 7-м суткам; рис. 1б). К 21-м суткам исследования ПНР ипсилатеральной конечности увеличился уже до $129,4 \pm 2,0$ г ($p < 0,001$ к 7-м суткам; $p > 0,05$ к 0-м суткам; рис. 1а), а ЛПНР – до $16,2 \pm 0,5$ с (на 38,5 % выше; $p < 0,001$ к 7-м суткам; $p > 0,05$ к 0-м суткам; рис. 1б). Далее по 90-е сутки включительно ПНР и ЛПНР статистически значимо не отличались от исходных значений ($p > 0,05$; рис. 1а, б). Введение МСК ЖТ крысам с НП также статистически значимо повышало их ПНР и ЛПНР при сравнении с нелечеными животными уже на 14-е сутки исследования: ПНР был выше на 26,2 % ($p < 0,001$), а ЛПНР – на 20,2 % ($p < 0,001$). С 21-х суток и далее увели-

чение ПНР относительно группы НП без лечения составило 53,5 % ($p < 0,001$), ЛПНР – 54,3 % ($p < 0,001$).

Введение антагониста АМ630 в дозе 100 мкг/кг в область повреждения нерва крысам с НП на 7-е сутки исследования не приводило к статистически значимым изменениям ПНР ипсилатеральной конечности, а также ЛПНР через 15 мин (табл. 1).

Введение МСК ЖТ через 15 мин после фармакологической блокады CB_2 -рецепторов в области повреждения седалищного нерва приводило к увеличению ПНР на 14-е сутки эксперимента на 21,9 % относительно значений на 7-е сутки ($94,5 \pm 2,1$ до $115,2 \pm 2,6$ г;

$p < 0,001$). При этом данные значения статистически значимо не отличались от группы НП + МСК ЖТ ($p > 0,05$), но были на 18,7 % выше, чем в группе НП без лечения ($p < 0,001$). К 21-м суткам ПНР имел тенденцию к снижению по сравнению с группой НП + МСК ЖТ и тенденцию к повышению на 33,3 % по сравнению с группой НП без лечения ($p < 0,001$). На 28-е сутки ПНР возрастал до $120,4 \pm 4,1$ г, что на 9,3 % было ниже значений группы НП + МСК ЖТ ($p < 0,001$) и на 33,2 % выше, чем у нелеченых крыс ($p < 0,001$; рис. 1а). В дальнейшем наблюдали тенденцию к снижению ПНР (рис. 1а). В отношении ЛПНР к 14-м суткам исследования наблюдали увеличение данного показателя

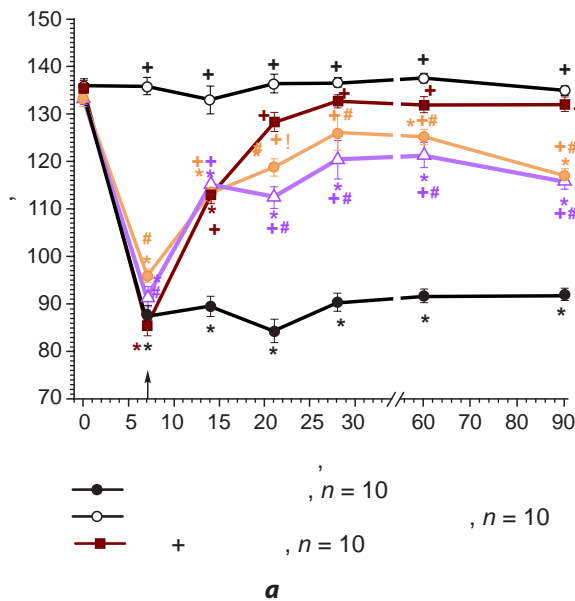


РИС. 1. Динамика ноцицептивной чувствительности к механическому (а) и термическому (б) стимулам у крыс с НП, трансплантацией МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады CB_2 -рецепторов антагонистом АМ630: стрелкой обозначено время трансплантации МСК ЖТ; * – $p < 0,05$ по сравнению с 0-ми сутками; + – $p < 0,05$ по сравнению с НП без лечения; # – $p < 0,05$ по сравнению с НП + МСК ЖТ; ! – $p < 0,05$ по сравнению с НП + АМ630 + МСК ЖТ

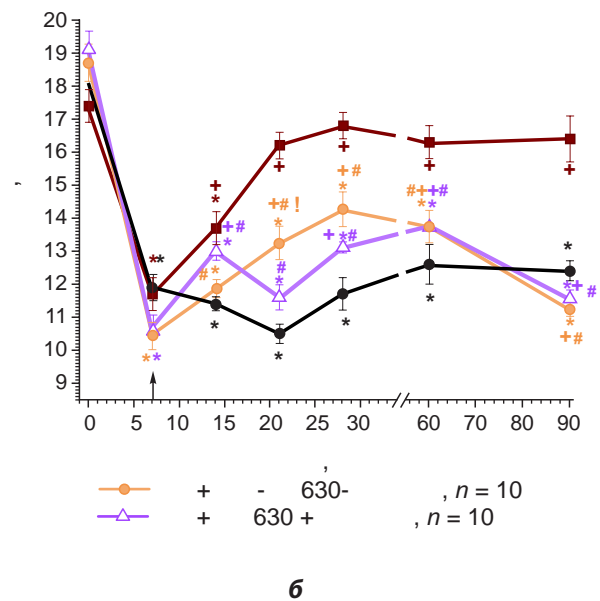


FIG. 1. Dynamics of nociceptive sensitivity to mechanical (а) and thermal (б) stimuli in rats with neuropathy, transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells upon pharmacological blockade of CB_2 receptors by the АМ630 antagonist: the arrow indicates the time of transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; * – $p < 0,05$ compared to day 0; + – $p < 0,05$ compared to the group with neuropathy without treatment; # – $p < 0,05$ compared to the group with neuropathy and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; ! – $p < 0,05$ compared to the group with neuropathy, pharmacological blockade with the АМ630 antagonist and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells

ТАБЛИЦА 1
ПОКАЗАТЕЛИ НОЦИЦЕПТИВНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КРЫС С НП ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ АНТАГОНИСТА АМ630 В ОБЛАСТЬ ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА

Показатели	ПНР (левая лапа), г	ПНР (правая лапа), г	ЛПНР, с
0-е сутки	133,2 ± 1,3	132,5 ± 1,0	19,1 ± 0,6
7-е сутки	91,2 ± 1,8*	133,9 ± 0,9	10,6 ± 0,3*
Через 15 мин после введения АМ630	94,5 ± 2,1*	131,6 ± 1,3	10,7 ± 0,3*

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с 0-ми сутками.

TABLE 1
PARAMETERS OF NOCICEPTIVE SENSITIVITY IN RATS WITH NEUROPATHY AFTER ADMINISTRATION OF THE АМ630 ANTAGONIST TO THE AREA OF SCIATIC NERVE INJURY

на 21,5 % относительно значений на 7-е сутки: с $10,7 \pm 0,3$ до $13,0 \pm 0,3$ с ($p < 0,001$; без статистически значимых различий с группой НП + МСК ЖТ ($p > 0,05$); на 14,0 % выше в сравнении с группой НП без лечения ($p < 0,05$) (рис. 16). К 28-м суткам отмечено увеличение ЛПНР до $13,1 \pm 0,2$ с, при этом показатель был на 22,0 % ниже значений относительно группы НП + МСК ЖТ ($p < 0,001$). К 90-м суткам исследования наблюдали выраженное снижение ЛПНР до $11,5 \pm 0,3$ с ($p > 0,05$ по сравнению с НП без лечения; $p < 0,001$ по сравнению с НП + МСК ЖТ; рис. 16).

Введение МСК ЖТ, преинкубированных с АМ630, способствовало увеличению ПНР ипсилатеральной конечности на 14-е сутки исследования на 18,3 % относительно значений на 7-е сутки (с $95,9 \pm 1,4$ до $113,4 \pm 2,0$ г; $p < 0,001$; рис. 1а) и ЛПНР – на 13,3 % относительно значений на 7-е сутки (с $10,5 \pm 0,4$ до $11,9 \pm 0,3$ с; $p < 0,001$). При этом ПНР не отличался от значений в группе НП + МСК ЖТ ($p > 0,05$) и в группе НП + АМ630 + МСК ЖТ ($p > 0,05$), а ЛПНР был на 13,1 % ниже значений группы НП + МСК ЖТ и статистически значимо не отличался от группы с НП без лечения ($p > 0,05$). К 21-м суткам оба показателя в данной группе были ниже таковых у крыс, получивших только МСК ЖТ, на 8,3 % ($p < 0,05$) и 18,5 % ($p < 0,001$) соответственно, но выше, чем у группы НП + АМ630 + МСК ЖТ, на 5,6 % и 13,8 % соответственно ($p < 0,05$). К 90-м суткам наблюдали снижение ПНР до $117,0 \pm 1,5$ г ($p < 0,001$ к группе НП без лечения; $p < 0,001$ к группе НП + МСК ЖТ), ЛПНР – до $11,3 \pm 0,2$ с ($p > 0,05$ к НП без лечения; $p < 0,001$ к НП + МСК ЖТ).

При сравнении обоих способов фармакологической блокады СВ₂-рецепторов установлено, что после трансплантации преинкубированных с АМ630 МСК ЖТ наблюдали повышение ПНР относительно группы НП + АМ630 + МСК ЖТ на 21-е сутки исследования на 5,6 % ($p < 0,05$), а также снижение ЛПНР на 14-е сутки на 8,5 % ($p < 0,05$) с последующим повышением на 21-е сутки исследования на 13,8 % ($p < 0,02$). На более поздних сроках исследования не выявлено статистически значимых различий исследуемых показателей между данными группами. В целом трансплантация МСК ЖТ после локальной инъекции АМ630 приводила к более выраженному снижению антиноцицептивного действия МСК ЖТ.

Динамические параметры походки. В группе НП без лечения с 7-х суток эксперимента наблюдали сокращение длительности фазы опоры ипсилатеральной конечности до 91,0 % ($p < 0,001$), рабочего цикла – до 95,4 % ($p < 0,001$), при этом статистически значимых отличий в длительности фазы переноса не наблюдалось ($p > 0,05$; рис. 2в). К 21-м суткам исследования наступало адаптационное восстановление вышеописанных параметров (рис. 2а, б).

После введения МСК ЖТ в дозе 1×10^6 клеток/кг в область перерезки седалищного нерва к 14-м суткам наблюдали восстановление длительности фазы опоры (до 98,4 %) и рабочего цикла (до 101,9 %) (рис. 2а, б), далее не выявлено каких-либо изменений. После введения МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады СВ₂-рецепторов в области перерезки седалищного нерва восстановление длительности фазы опоры фиксирова-

ли к 60-м суткам исследования (рис. 2а), рабочего цикла – на 90-е сутки исследования (рис. 2б). На 28-е сутки эксперимента отмечено снижение длительности фазы опоры ипсилатеральной конечности по сравнению с группой НП без лечения (на 8,1 %; $p < 0,005$) и рабочего цикла (на 5,1 %; $p < 0,01$). По сравнению с группой НП + МСК ЖТ, длительность фазы опоры ипсилатеральной лапы была ниже на 21-е (на 7,1 %; $p < 0,05$) и на 28-е (на 8,8 %; $p < 0,002$) сутки исследования; рабочий цикл – на 14-е (на 6,8 %; $p < 0,005$) и 60-е (на 4,9 %; $p < 0,02$) сутки исследования. Введение пре-АМ630-МСК ЖТ приводило к восстановлению длительности фазы опоры к 14-м суткам до 99,2 % ($p > 0,05$ к 0-м суткам; $p < 0,05$ к группе НП без лечения) и рабочего цикла – до 100,5 % ($p > 0,05$ к 0-м суткам; $p < 0,05$ к группе НП без лечения). Статистически значимых отличий по динамическим параметрам от группы НП + МСК ЖТ не было выявлено, а паттерн изменений указанных параметров походки в этих двух группах носил схожий характер.

Функциональный седалищный индекс. Данный показатель в группе НП без лечения снизился в 2,3 раза – на 229,9 % (с $-7,65 \pm 0,30$ до $-24,99 \pm 2,45$; $p < 0,001$ по сравнению с данными на 0-е сутки) к 7-м суткам исследования (рис. 2г). Тенденция к восстановлению данного показателя наблюдалась лишь с 60-х суток исследования, однако к 90-м суткам восстановления ФСИ до исходного уровня не отмечено ($p < 0,01$) (рис. 2г). После трансплантации МСК ЖТ к 14-м суткам исследования наблюдали восстановление ФСИ до $-7,75 \pm 1,57$. Далее на протяжении исследования не наблюдали статистически значимых изменений ФСИ в сравнении со значениями на 0-е сутки. При введении АМ630 за 15 мин до трансплантации МСК ЖТ к 14-м суткам исследования отмечено частичное восстановление ФСИ (до $-16,75 \pm 1,74$; $p < 0,002$ к 0-м суткам; $p < 0,05$ к группе НП без лечения). С 21-х суток исследования показатель снова снизился до уровня группы НП без лечения (до $-26,69 \pm 3,05$; $p < 0,001$ к 0-м суткам; $p > 0,05$ к группе НП без лечения). ФСИ в данной группе вернулся к исходному уровню лишь к 90-м суткам исследования (до $12,10 \pm 1,85$), но при этом статистически значимо не отличался от НП без лечения. По сравнению с группой НП + МСК ЖТ ФСИ в данной группе был статистически значимо снижен на 14-е ($p < 0,001$), 21-е ($p < 0,001$) и 28-е ($p < 0,001$) сутки эксперимента. После трансплантации преинкубированных с АМ630 МСК ЖТ к 21-м суткам ФСИ полностью восстановился (до $-9,16 \pm 1,12$; $p > 0,05$ к 0-м суткам; $p < 0,001$ к группе НП без лечения). По сравнению с группой НП + МСК ЖТ ФСИ в данной группе был ниже на 14-е сутки исследования (на 76,4 %; $p < 0,005$).

Статические параметры походки. С 28-х суток и далее в группе НП без лечения отмечено снижение длины отпечатка травмированной конечности по сравнению с 0-ми сутками до 93,6 % ($p < 0,02$; рис. 3а), ширины отпечатка – до 96,1 % ($p < 0,001$; рис. 3б). Площадь отпечатка ипсилатеральной конечности снизилась до 84,5 % от контралатеральной конечности ($p < 0,001$; рис. 3в), площадь максимального контакта – до 84,7 % ($p < 0,005$; рис. 3е), максимальная интенсивность отпе-

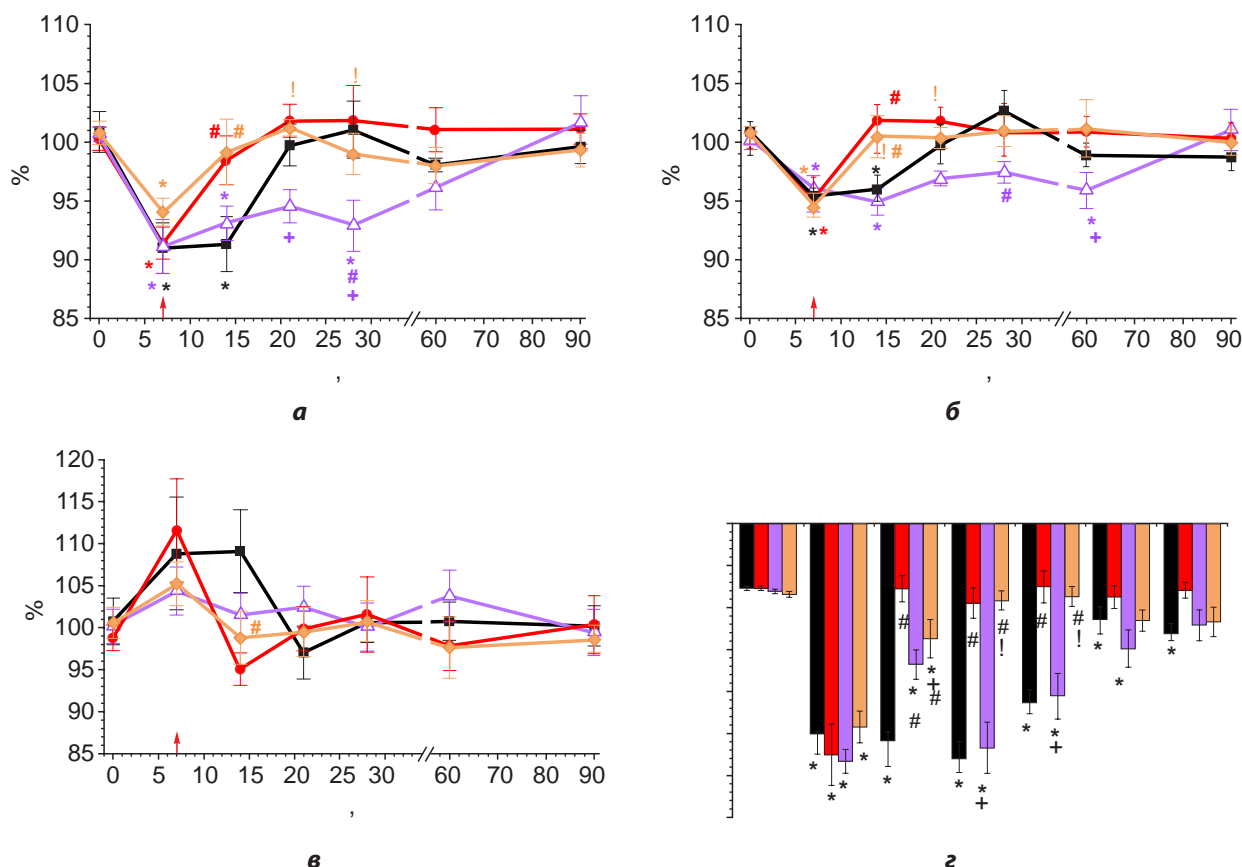


РИС. 2. Изменения динамических параметров походки (а–в), а также функционального седалищного индекса (z) у крыс после моделирования НП, трансплантации МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады CB_2 -рецепторов антагонистом АМ630: стрелкой обозначено время трансплантации; * – $p < 0,05$ к значениям до моделирования НП; # – $p < 0,05$ к группе НП без лечения; + – $p < 0,05$ к НП + МСК ЖТ; ! – $p < 0,05$ к группе НП + АМ630 + МСК ЖТ

FIG. 2. Changes in dynamic gait parameters (a–b) and sciatic functional index (z) in rats with neuropathy, transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells upon pharmacological blockade of CB_2 -receptors by the AM630 antagonist: the arrow indicates the time of transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; * – $p < 0.05$ compared to day 0; + – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy without treatment; # – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; ! – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy, pharmacological blockade with the AM630 antagonist and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells

чатка – до 91,5 % ($p < 0,001$; рис. 3г), средняя интенсивность – до 98,3 % ($p < 0,01$; рис. 3д). Тенденции к восстановлению статических параметров походки у животных данной группы не было отмечено по 90-е сутки наблюдения включительно.

После трансплантации МСК ЖТ на протяжении исследования не наблюдали статистически значимых изменений статических параметров. Относительно группы НП без лечения наблюдали увеличение площади отпечатка и площади максимального контакта отпечатка, а также параметров интенсивности на 28-е ($p < 0,005$) и 60-е ($p < 0,02$) сутки эксперимента. При трансплантации МСК ЖТ через 15 мин после введения АМ630 с 21-х суток эксперимента наблюдали снижение площади отпечатка до 90,2 % от контралатеральной конечности ($p < 0,002$ к 0-м суткам; рис. 3в). По сравнению с группой НП без лечения на 21-е сутки исследования отмечено сокращение ширины отпечатка до 93,8 % ($p < 0,001$), максимальной

интенсивности отпечатка – до 102,5 % ($p < 0,001$), средней интенсивности – до 100,3 % ($p < 0,005$; рис. 3б, г, д). Относительно группы НП + МСК ЖТ площадь отпечатка лапы была ниже на 21-е ($p < 0,05$), 28-е ($p < 0,05$) и 60-е ($p < 0,005$) сутки эксперимента; площадь максимального контакта – на 28-е и 60-е сутки эксперимента ($p < 0,05$). Другие параметры походки не отличались по сравнению с группой НП + МСК ЖТ. После трансплантации пре-АМ630-МСК ЖТ не отмечено статистически значимых изменений статических параметров походки относительно значений до моделирования НП, а также относительно группы НП + МСК ЖТ.

Изменения гистологической структуры седалищного нерва. Содержание нормальных и повреждённых нервных волокон дистального сегмента седалищного нерва экспериментальных групп оценивали по состоянию миелиновой оболочки и расположению осевого цилиндра в нервном волокне. Нормальные нервные во-

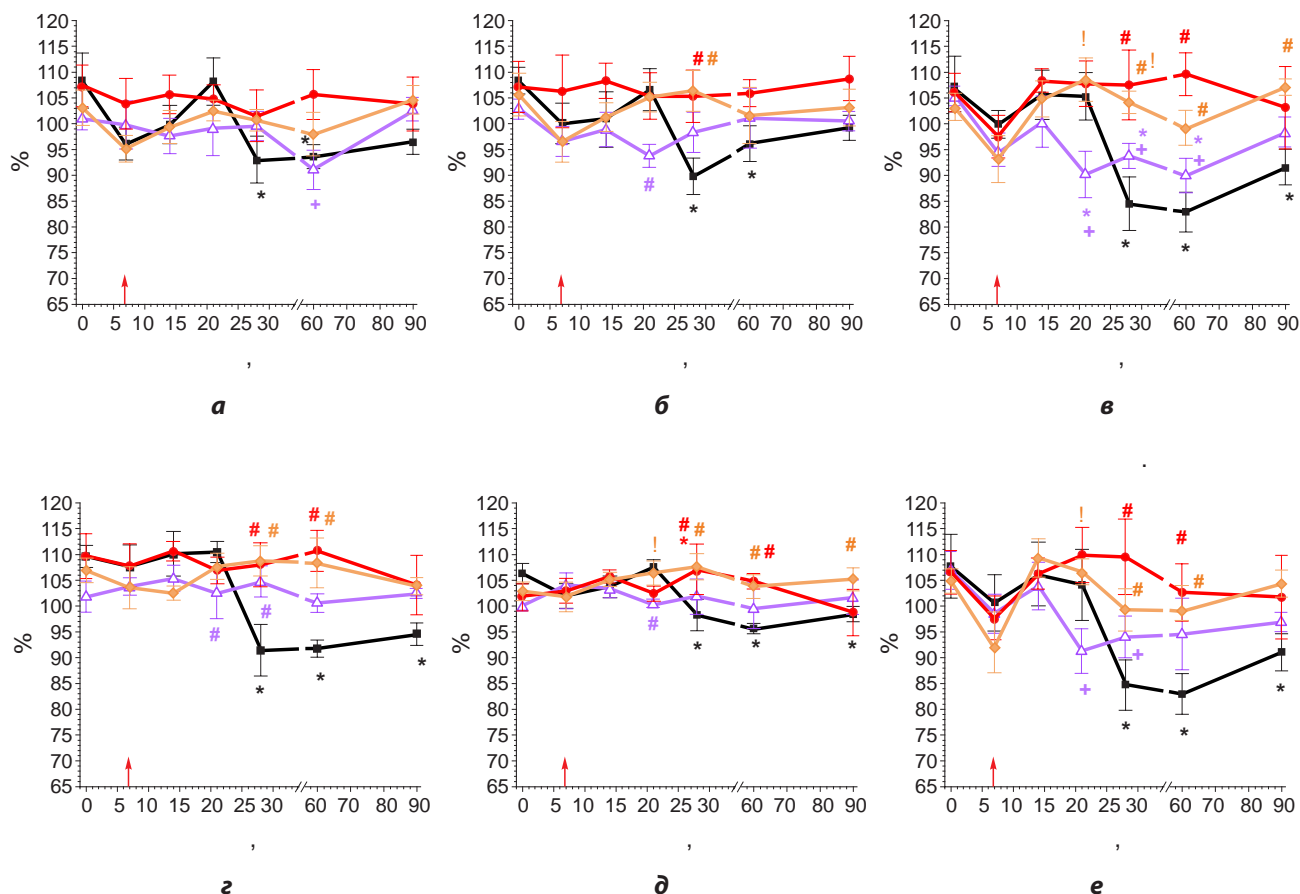


РИС. 3. Изменения статических параметров походки: длины и ширины отпечатка (а, б), площади отпечатка (в, е), а также параметров интенсивности (з, д), – у крыс после моделирования НП, трансплантации МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады CB_2 -рецепторов антагонистом АМ630. Стрелкой обозначено время трансплантации; * – $p < 0,05$ к значениям до моделирования НП; # – $p < 0,05$ к группе НП без лечения; + – $p < 0,05$ к НП + МСК ЖТ; ! – $p < 0,05$ к группе НП + АМ630 + МСК ЖТ

FIG. 3. Dynamics of static gait parameters: print length and width (а, б), print area (в, е) and print intensity (з, д) in rats with neuropathy, transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells upon pharmacological blockade of CB_2 -receptors by the АМ630 antagonist. the arrow indicates the time of transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; * – $p < 0.05$ compared to day 0; + – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy without treatment; # – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells; ! – $p < 0.05$ compared to the group with neuropathy, pharmacological blockade with the АМ630 antagonist and transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells

локна представляли собой чётко дифференцированные осевые цилиндры, вокруг которых определялась равномерно окрашенная миелиновая оболочка с чёткими границами. Повреждённые нервные волокна характеризовались набуханием, вакуольной дегенерацией миелиновой оболочки, размытием границ нервного волокна, при этом осевой цилиндр был смещён к периферии либо не определялся на гистологических срезах (рис. 4).

В группе НП без лечения на 21-е сутки эксперимента содержание нормальных и повреждённых нервных волокон в дистальном сегменте седалищного нерва составляло 13 [11,75; 14] % и 87 [86; 87,5] % соответственно (табл. 2; рис. 4в).

После трансплантации МСК ЖТ на 21-е сутки исследования в дистальном сегменте седалищного нерва доля сохранных нервных волокон была статистически

значимо выше по сравнению с группой НП без лечения ($p = 0,002$; рис. 4а).

После введения МСК ЖТ на фоне фармакологической блокады CB_2 -рецепторов в мягких тканях области перерезки седалищного нерва на 21-е сутки не наблюдали статистически значимых изменений содержания нормальных и повреждённых нервных волокон в сравнении с группой НП без лечения ($p = 0,326$), однако их количество было существенно ниже по сравнению с группой НП + МСК ЖТ ($p = 0,004$).

К 90-м суткам исследования при НП без лечения наблюдали 74 [72; 74] % повреждённых нервных волокон и 13 [11; 14] % неизменённых (табл. 2). После трансплантации МСК ЖТ на 90-е сутки исследования количество повреждённых нервных волокон было статистически значимо ниже таковых при НП без лечения ($p = 0,001$).

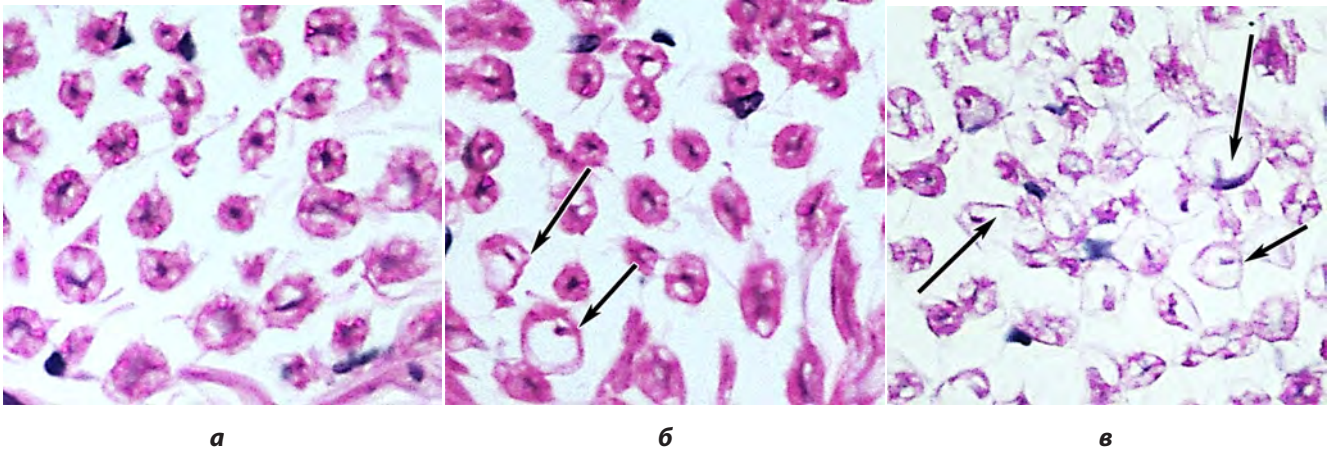


РИС. 4.
 Миелиновые нервные волокна седалищного нерва крысы: **а** – сохранённые нервные волокна фрагмента дистального участка седалищного нерва животного из группы после введения МСК ЖТ, 21-е сутки; **б** – наличие дистрофически изменённых нервных волокон (стрелки) в дистальном фрагменте седалищного нерва животного из группы НП + преАМ630-МСК ЖТ, 21-е сутки; **в** – наличие дистрофически изменённых нервных волокон (стрелки) в дистальном фрагменте седалищного нерва группы животных НП без лечения. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение × 400

FIG. 4.
 Myelinated nerve fibers of rat's sciatic nerve: **a** – preserved nerve fibers of the distal part of the sciatic nerve of animal from the group after of transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells, day 21; **б** – dystrophic nerve fibers (arrows) in the distal fragment of the sciatic nerve of the animal from the group with neuropathy and transplantation of pre-AM630 and adipose-derived mesenchymal stem cells, day 21; **в** – dystrophic altered nerve fibers (arrows) in the distal fragment of the sciatic nerve of the animal from the group with neuropathy without treatment, day 21. Hematoxylin and eosin staining, magnification × 400

ТАБЛИЦА 2
СОДЕРЖАНИЕ НОРМАЛЬНЫХ И ПОВРЕЖДЁННЫХ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН ДИСТАЛЬНОГО СЕГМЕНТА СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ГРУПП НА 21-Е И 90-Е СУТКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

TABLE 2
THE CONTENT OF NORMAL AND DAMAGED NERVE FIBERS OF THE SCIATIC NERVE DISTAL SEGMENT OF THE ANIMALS FROM EXPERIMENTAL GROUPS ON THE DAYS 21 AND 90 OF THE STUDY

Группа	% нормальных нервных волокон	% повреждённых нервных волокон
21-е сутки исследования		
НП без лечения	13 [11,75; 14]	87 [86; 87,5]
НП + МСК ЖТ	86 [84; 86]*	14 [13; 16]*
НП + АМ630 + МСК ЖТ	48 [48; 48]#	52 [51; 52]#
НП + преАМ630-МСК ЖТ	55 [49; 55]	45 [38; 51]
90-е сутки исследования		
НП без лечения	26 [25; 28]	74 [72; 74]
НП + МСК ЖТ	61 [61; 63]*	37 [37; 39]*
НП + АМ630 + МСК ЖТ	37 [26; 37]#	63 [60; 74]#
НП + преАМ630-МСК ЖТ	65 [56,5; 65]*:1	35 [32; 43,5]*:1

Примечание. * – $p < 0,05$ к НП без лечения; # – $p < 0,05$ к НП + МСК; 1 – $p < 0,05$ между преинкубированием и локальным введением (критерий Краскелла – Уоллиса)

После введения МСК ЖТ на фоне локального введения антагониста АМ630 на 90-е сутки наблюдали снижение доли повреждённых нервных волокон по сравнению с группой НП без лечения ($p = 0,008$) и нарастание по сравнению с группой НП + МСК ЖТ ($p = 0,036$). Трансплантация пре-АМ630-МСК приводила к 90-м суткам исследования к снижению числа повреждённых нервных волокон и увеличению числа нормальных нервных во-

локон по сравнению с НП без лечения ($p = 0,042$) и была сравнима с группой НП + МСК ЖТ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Трансплантация МСК ЖТ в настоящее время позиционируется как эффективный метод снижения прогрес-

сирования болевого синдрома воспалительного [21] и нейрогенного происхождения [6–11]. Эффективность МСК ЖТ в подавлении таких нарушений ноцицептивной чувствительности, как механическая и термическая гипералгезия и аллодиния, показана в экспериментальных моделях хронического лигирувания седалищного нерва [8] и подглазничного нерва [9] у грызунов, а также в моделях частичного [8, 10] и полного травматического повреждения нерва [6–7], модели стрептозотоцин-индуцированной диабетической полинейропатии [11]. Тем не менее, механизмы реализуемых МСК ЖТ эффектов изучаются до сих пор. Известно, что эндоканнабиноидная система участвует в подавлении трансдукции и передачи ноцицептивного сигнала как в периферических тканях, так и в центральной нервной системе, и модуляция её компонентов служит одной из мишеней купирования болевого синдрома при нейропатической боли. С другой стороны, МСК ЖТ экспрессируют компоненты эндоканнабиноидной системы, в частности рецепторов СВ₁ и СВ₂ [14–16], при активации которых увеличивается секреция ими таких факторов, как фактор роста эндотелия сосудов, трансформирующий фактор роста-бета и фактор роста гепатоцитов [16]. Кроме того, активация СВ₂-рецептора на МСК приводит к снижению уровня продукции интерлейкина (ИЛ)-6, ИЛ-8 и фактора некроза опухоли α, а также увеличению ИЛ-10 [13, 15, 22]. На основании имеющихся в литературе данных авторы предположили, что СВ₂-рецепторы являются посредниками в реализации иммуномодулирующих и антиноцицептивных эффектов МСК ЖТ.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что фармакологическая блокада СВ₂-рецепторов как на мембранах МСК, так и в мягких тканях, окружающих место повреждения седалищного нерва, способствует снижению антиноцицептивного эффекта МСК ЖТ при их трансплантации в область перерезки седалищного нерва крыс, на что указывало отсутствие восстановления ПНР и ЛПНР в соответствующих группах животных, а также усугубление механической и термической гипералгезии на поздних сроках исследования (рис. 1а, б). Блокада СВ₂-рецепторов на МСК существенно замедляла восстановление ФСИ (рис. 2г), а их деактивация в тканях в области перерезки седалищного нерва и вовсе полностью отменяла восстанавливающий ФСИ эффект МСК (рис. 2г). Приведённые выше факты в совокупности позволяют предполагать как минимум ослабление антиноцицептивных свойств МСК ЖТ в ответ на блокаду указанного рецептора.

При гистологическом исследовании дистального сегмента седалищного нерва выявлен протекторный эффект МСК, выразившийся в ослаблении дегенеративных изменений нервных волокон. Оба способа блокады СВ₂-рецепторов отменяли упомянутое протекторное действие МСК ЖТ на повреждённые нервные волокна. Содержание последних на 21-е сутки эксперимента не отличалось в этих группах от такового у нелеченых животных (табл. 2). Кроме того, на поздних сроках исследования (90 суток) блокада СВ₂-рецепторов в мягких тканях ипсилатеральной характеризовалась

более высокой долей повреждённых нервных волокон, чем в группе НП + пре-АМ630-МСК (табл. 2). В совокупности результаты данного исследования указывают на вовлечение СВ₂-рецепторов в механизмы протекторных эффектов МСК ЖТ. При этом блокада СВ₂-рецепторов на периферических нервных волокнах в большей степени сказывается на репаративном потенциале МСК, а фармакологическая инактивация этих рецепторов на самих стволовых клетках – на их антиноцицептивном действии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально подтверждено, что фармакологическая блокада СВ₂-рецепторов как на мембранах МСК ЖТ, так и в зоне повреждения периферического нерва ослабляет антиноцицептивное и репаративное действие МСК ЖТ при их локальной трансплантации. Это указывает на непосредственное участие данных рецепторов в протекторных эффектах, реализуемых МСК. Дальнейшее исследование влияния стимуляции СВ₂-рецепторов позволит оценить степень усиления антиноцицептивных и репаративных эффектов МСК ЖТ при их трансплантации в область повреждения периферического нерва.

Источник финансирования

Исследование проведено на базе ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси» в рамках диссертационной работы за счёт средств республиканского бюджета.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Scholz J, Finnerup NB, Attal N, Aziz Q, Baron R, Bennett MI, et al. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: Chronic neuropathic pain. *Pain*. 2019; 160(1): 53-59. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001365
- Bouhassira D. Neuropathic pain: Definition, assessment and epidemiology. *Rev Neurol (Paris)*. 2019; 175(1-2): 16-25. doi: 10.1016/j.neurol.2018.09.016
- Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D, et al. Neuropathic pain. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3: 17002. doi: 10.1038/nrdp.2017.2
- Cavalli E, Mammana S, Nicoletti F, Bramanti P, Mazon E. The neuropathic pain: An overview of the current treatment and future therapeutic approaches. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2019; 33: 2058738419838383. doi: 10.1177/2058738419838383
- Zhou Y, Yamamoto Y, Xiao Z, Ochiya T. The immunomodulatory functions of mesenchymal stromal/stem cells mediated via paracrine activity. *J Clin Med*. 2019; 8(7): 1025. doi: 10.3390/jcm8071025

6. Ерофеева А.-М.В., Молчанова А.Ю. Влияние трансплантации аллогенных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на ноцицептивные реакции и параметры походки крыс с экспериментальной периферической нейропатией. *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук*. 2022; 19(4): 404-412. [Yerofeyeva AMV, Molchanova AYU. Impact of adipose-derived allogeneic mesenchymal stem cell transplantation on nociceptive reactions and gait parameters in rats with experimental peripheral neuropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Medical series*. 2022; 19(4): 404-412. (In Russ.)]. doi: 10.29235/1814-6023-2022-19-4-404-412
7. Ерофеева А.-М.В. Влияние фармакологической блокады каннабиноидных рецепторов 1 типа на эффективность трансплантации мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной периферической нейропатии. *Вестник ВГМУ*. 2022; 21(6): 46-57. [Erofeeva AMV. The impact of pharmacological blocking of type 1 cannabinoid receptors on the effectiveness of mesenchymal stem cell transplantation in experimental peripheral neuropathy. *Vitebsk Medical Journal*. 2022; 21(6): 46-57. (In Russ.)]. doi: 10.22263/2312-4156.2022.6.47
8. Guo W, Chu YX, Imai S, Yang JL, Zou S, Mohammad Z, et al. Further observations on the behavioral and neural effects of bone marrow stromal cells in rodent pain models. *Mol Pain*. 2016; 12: 1744806916658043. doi: 10.1177/1744806916658043
9. Guo W, Wang H, Zou S, Gu M, Watanabe M, Wei F, et al. Bone marrow stromal cells produce long-term pain relief in rat models of persistent pain. *Stem Cells*. 2011; 29(8): 1294-1303. doi: 10.1002/stem.667
10. Siniscalco D, Giordano C, Galderisi U, Luongo L, de Novellis V, Rossi F, et al. Long-lasting effects of human mesenchymal stem cell systemic administration on pain-like behaviors, cellular, and biomolecular modifications in neuropathic mice. *Front Integr Neurosci*. 2011; 5: 79. doi: 10.3389/fnint.2011.00079
11. Naruse K, Sato J, Funakubo M, Hata M, Nakamura N, Kobayashi Y, et al. Transplantation of bone marrow-derived mononuclear cells improves mechanical hyperalgesia, cold allodynia and nerve function in diabetic neuropathy. *PLoS One*. 2011; 6(11): e27458. doi: 10.1371/journal.pone.0027458
12. Carey LM, Xu Z, Rajic G, Makriyannis A, Romero J, Hillard C, et al. Peripheral sensory neuron CB2 cannabinoid receptors are necessary for both CB2-mediated antinociceptive efficacy and sparing of morphine tolerance in a mouse model of anti-retroviral toxic neuropathy. *Pharmacol Res*. 2023; 187: 106560. doi: 10.1016/j.phrs.2022.106560
13. Rossi F, Bernardo ME, Bellini G, Luongo L, Conforti A, Manzo I, et al. The cannabinoid receptor type 2 as mediator of mesenchymal stromal cell immunosuppressive properties. *PLoS One*. 2013; 8(11): e80022. doi: 10.1371/journal.pone.0080022
14. Roche R, Hoareau L, Bes-Houtmann S, Gonthier MP, Laborde C, Baron JF, et al. Presence of the cannabinoid receptors, CB1 and CB2, in human omental and subcutaneous adipocytes. *Histochem Cell Biol*. 2006; 126(2): 177-187. doi: 10.1007/s00418-005-0127-4
15. Xie J, Xiao D, Xu Y, Zhao J, Jiang L, Hu X, et al. Up-regulation of immunomodulatory effects of mouse bone-marrow derived mesenchymal stem cells by tetrahydrocannabinol pre-treatment involving cannabinoid receptor CB2. *Oncotarget*. 2016; 7(6): 6436-6447. doi: 10.18632/oncotarget.7042
16. Ruhl T, Karthaus N, Kim BS, Beier JP. The endocannabinoid receptors CB1 and CB2 affect the regenerative potential of adipose tissue MSCs. *Exp Cell Res*. 2020; 389(1): 111881. doi: 10.1016/j.yexcr.2020.111881
17. Василевич И.Б., Пинчук С.В., Лобанок Е.С., Волотовский И.Д. Морфофункциональное состояние мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани крыс в условиях подавления окислительного стресса. *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук*. 2014; (2): 82-88. [Vasilevich IB, Pinchuk SV, Lobanok ES, Volotovskii ID. Morphology-function state of rat adipose-derived mesenchymal stem cells under the suppression of oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Medical series*. 2014; (2): 82-88. (In Russ.)].
18. Deuis JR, Dvorakova LS, Vetter I. Methods used to evaluate pain behaviors in rodents. *Front Mol Neurosci*. 2017; 10: 284. doi: 10.3389/fnmol.2017.00284
19. Kappos EA, Sieber PK, Engels PE, Mariolo AV, D'Arpa S, Schaefer DJ, et al. Validity and reliability of the CatWalk system as a static and dynamic gait analysis tool for the assessment of functional nerve recovery in small animal models. *Brain Behav*. 2017; 7(7): e00723. doi: 10.1002/brb3.723
20. Choi S, Choi HJ, Cheong Y, Lim YJ, Park HK. Internal-specific morphological analysis of sciatic nerve fibers in a radiofrequency-induced animal neuropathic pain model. *PLoS One*. 2013; 8(9): e73913. doi: 10.1371/journal.pone.0073913
21. Mert T, Kurt AH, Arslan M, Çelik A, Tugtag B, Akkurt A. Anti-inflammatory and anti-nociceptive actions of systemically or locally treated adipose-derived mesenchymal stem cells in experimental inflammatory model. *Inflammation*. 2015; 38(3): 1302-1310. doi: 10.1007/s10753-014-0101-1
22. Ruhl T, Corsten C, Beier JP, Kim BS. The immunosuppressive effect of the endocannabinoid system on the inflammatory phenotypes of macrophages and mesenchymal stromal cells: a comparative study. *Pharmacol Rep*. 2021; 73(1): 143-153. doi: 10.1007/s43440-020-00166-3

Сведения об авторах

Ерофеева Анна-Мария Вадимовна – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории биологического моделирования, ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», e-mail: amyerofeyeva@zoho.eu, <https://orcid.org/0000-0002-9407-9295>

Пинчук Сергей Владимирович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии клетки, ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», e-mail: pinchuksv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5499-5950>

Рябцева Светлана Николаевна – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией «Центр электронной и световой микроскопии», ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», e-mail: ryabceva@physiology.by, <https://orcid.org/0000-0001-5960-3656>

Молчанова Алла Юрьевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологического моделирования, ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», e-mail: kjordknits@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5053-6602>

Information about the authors

Anna-Maria V. Yerofeyeva – Postgraduate, Junior Research Officer at the Laboratory of Biological Modeling, Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: amyerofeyeva@zoho.eu, <https://orcid.org/0000-0002-5499-5950>

Sergei V. Pinchuk – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Molecular Cell Biology, Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: pinchuksv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5499-5950>

Svetlana N. Rjabceva – Cand. Sc. (Med.), Head of the Laboratory «Center of Electron and Light Microscopy», Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: ryabceva@physiology.by, <https://orcid.org/0000-0001-5960-3656>

Alla Yu. Molchanova – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Biological Modeling, Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: kjordknits@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5053-6602>

Вклад авторов

Ерофеева А.-М.В. – проведение исследования, анализ данных, написание текста.

Пинчук С.В. – проведение исследования.

Рябцева С.Н. – руководство научно-исследовательской работой, редактирование текста.

Молчанова А.Ю. – концепция исследования, утверждение итогового варианта рукописи.