

2. Can melatonin reduce the severity of COVID-19 pandemic? / A. Shneider [et al.] // International Reviews of Immunology. – 2020. – Vol. 39(4). – P. 153–162.

3. The safety and efficacy of melatonin in the treatment of COVID-19: A systematic review and meta-analysis / X. Ch. Wang [et al.] // Medicine. 2020. – Vol. 101(39). – P. 30874.

ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЛОКАДЫ КАННАБИНОДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ 2-ГО ТИПА НА АНТИНОЦИЦЕПТИВНЫЕ СВОЙСТВА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕЙРОПАТИИ

Ерофеева А.-М. В.

Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси

Актуальность. Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани (МСК ЖТ), не зависимо от способа введения, ослабляют болевые ощущения при периферической нейропатии. Наиболее выраженное антиноцицептивное действие МСК ЖТ отмечено при их локальной трансплантации в область повреждения нерва [1]. Механизмы анальгетического эффекта МСК ЖТ не до конца ясны. Предполагается, что реализация анальгезирующего действия МСК осуществляется в том числе через каннабиноидный рецептор 2-го типа (CB₂), который с одной стороны участвует в поддержании жизнеспособности и миграционной активности стволовых клеток, а с другой – является компонентом антиноцицептивной системы в периферических тканях [2].

Цель. Провести сравнительное исследование влияния фармакологической блокады CB₂-рецепторов на мембранах стволовых клеток и в окружающих седалищный нерв тканях задней лапы крыс на антиноцицептивный эффект при трансплантации МСК ЖТ в модели периферической нейропатии.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено на 48 крысах-самцах Wistar с исходной массой 180-200 г. Модель нейропатии (НП) седалищного нерва формировали путем его аксотомии в левой задней конечности согласно ранее описанной методике [3]. Экспериментальных животных разделили на группы: первая – крысы с НП без лечения (n=10); вторая – крысы с НП и локальной трансплантацией аллогенных МСК ЖТ в дозе 1×10^6 клеток/кг (n=10); третья – крысы с НП и локальной трансплантацией МСК ЖТ после локального введения

антагониста CB_2 рецепторов AM630 (Sigma, США) в дозе 100 мкг/кг ($n=10$); четвертая – крысы с НП и локальной трансплантацией МСК ЖТ, инкубированных с AM630 (2 μ М, 24ч) ($n=10$) и пятая – крысы с ложной операцией ($n=8$). Протокол исследования одобрен комиссией по биоэтике при Институте физиологии НАН Беларуси (протокол № 1 от 2 февраля 2022 г.).

Антиноцицептивный эффект оценивали по порогу ноцицептивной реакции (ПНР) на механический стимул (тест Рэндалла-Селитто), латентному периоду ноцицептивной реакции (ЛПНР) на термический стимул (тест «Горячая пластина»), а также путем детального анализа походки с помощью аппаратно-программного комплекса CatWalk XT 10.6 (Noldus, Голландия) с определением функционального седалищного индекса (ФСИ). Измерения проводили еженедельно в течение 28 суток.

Статистический анализ данных проводили с использованием дисперсионного анализа повторных измерений (repeated-measures ANOVA) с последующими апостериорными сравнениями. Различия считали за статистически значимые при $p<0,05$.

Результаты. Моделирование НП у крыс вызывало развитие механической и термической гипералгезии к 7-м суткам исследования, о чем свидетельствовало снижение ПНР на 35,5% и ЛПНР на 34,3% ($p<0,01$ по сравнению со значением на 0-е сутки). Данные изменения сохранялись по 28-е сутки включительно.

Нарушения параметров походки отмечены уже с 7-х суток исследования и характеризовались выраженным уменьшением ФСИ (в 2,3 раза по сравнению с данными на 0-е сутки), а также сокращением длительности фазы опоры ипсилатеральной конечности (на 9,8%, $p<0,05$) и ее рабочего цикла (на 4,9%, $p<0,05$). Вместе с тем длительность фазы опоры ипсилатеральной конечности, и ее рабочий цикл восстанавливались в данной группе уже к 21-м суткам. На 28-е сутки отмечено снижение площади отпечатка (на 20,9%, $p<0,005$), площади максимального контакта (на 21,4%, $p<0,05$), а также максимальной (на 16,5%, $p<0,005$) и средней (7,8%, $p<0,05$) интенсивности отпечатка травмированной конечности. В случае крыс с ложной операцией, не отмечено статистически значимых различий ПНР и ЛПНР, а также изучаемых параметров походки на протяжении исследования.

Трансплантация аллогенных МСК ЖТ в дозе 1×10^6 клеток/кг приводила к восстановлению показателей ПНР и ЛПНР к 21-м суткам исследования ($p>0,05$ по сравнению со значениями до моделирования НП); по сравнению с группой животных с НП без лечения ПНР увеличился на 53,5% ($p<0,001$), ЛПНР – на 54,3% ($p<0,001$). Кроме того, введение МСК ЖТ возвращало к исходному уровню динамические параметры

походки и ФСИ к 14-м суткам исследования, а также отменяла вызванные перерезкой нерва изменения площади и интенсивности отпечатка травмированной конечности.

На 7-е сутки эксперимента после локального введения антагониста СВ₂ рецепторов АМ630 в область аксотомии седалищного нерва статистически значимых изменений показателей ПНР и ЛПНР не отмечено. Однако при инъекции АМ630 за 30 минут до трансплантации МСК ЖТ, начиная с 21-х суток после аксотомии, отмечено статистически значимое снижение ПНР по сравнению с данными на 0-е сутки на 15,6% ($p < 0,001$), ЛПНР – на 39,3% ($p < 0,001$), ширины и площади отпечатка (на 8,8% и 14,4% соответственно, $p < 0,05$), а также площади максимального контакта травмированной конечности (на 14,6%, $p < 0,05$). Кроме того, в данной группе не наблюдали восстановления длительности опоры ипсилатеральной конечности и ее рабочего цикла на протяжении исследования.

Трансплантация МСК ЖТ, преинкубированных с АМ630, сопровождалась аналогичными изменениями ПНР и ЛПНР: оба параметра на 21-е сутки были статистически значимо ниже таковых у крыс, получивших только МСК ЖТ на 8,3% ($p < 0,05$) и 18,5% ($p < 0,001$) соответственно. Вместе с тем, введение АМ630-преинкубированных МСК ЖТ способствовало восстановлению длительности фазы опоры и рабочего цикла травмированной конечности и отменяло уменьшение площади и интенсивности отпечатков к 14-м суткам исследования и далее. Возврат значений ФСИ к исходному уровню в данной группе отмечали лишь к 21-м суткам исследования.

Выводы. Таким образом, фармакологическая блокада СВ₂ рецепторов как в тканях в области аксотомии седалищного нерва, так и на МСК ЖТ приводит к ослаблению анальгетического действия последних. При этом блокада СВ₂ рецепторов в области повреждения нерва индуцирует более выраженное снижение антиноцицептивного эффекта МСК ЖТ. Для изучения влияния фармакологической блокады СВ₂ рецепторов на репаративные эффекты МСК ЖТ, а также на длительность вызываемых клеточной трансплантацией эффектов проводятся дальнейшие исследования.

Литература

1. Huh, Y. Neuroinflammation, bone marrow stem cells, and chronic pain / Y. Huh, R. R. Ji, G. Chen // *Frontiers in Immunology*. – 2017. – Vol. 8, № 1014. – P. 1–9.
2. Up-regulation of immunomodulatory effects of mouse bone-marrow derived mesenchymal stem cells by tetrahydrocannabinol pre-treatment involving cannabinoid receptor CB2 / J. Xie [et al.] // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7, № 6. – P. 6436–6447.
3. Оценка антиноцицептивного действия мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани при экспериментальной периферической нейропатической боли / А.-М. В. Ерофеева [и др.] // *Новости хирургии*. – 2021. – Т. 29, № 5. – С. 527–534.