

© Коллектив авторов, 2023

УДК 57.089:57.084

Ерофеева А.-М.В., Антипова О.А., Жаворонок И.П., Рябцева С.Н., Молчанова А.Ю.

## Эффективность курсового применения пальмитоилэтаноламида и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной периферической нейропатической боли

ГНУ «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси»,  
220072, Минск, Республика Беларусь, ул. Академическая, д. 28

**Цель исследования** – изучение влияния курсового внутрибрюшинного введения пальмитоилэтаноламида (PEA, 1 мг/кг) в комбинации с однократным внутримышечным введением мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ,  $1 \times 10^6$  клеток/кг) на ноцицептивные реакции крыс и морфологию мягких тканей задней лапы крыс с периферической нейропатией (НП), вызванной перерезкой и иссечением участка седалищного нерва.

**Методика.** Исследование выполнено на 28 крысах-самцах стока Wistar. В соответствии с дизайном исследования, осуществили моделирование: 1) НП без лечения; 2) НП с однократной трансплантацией МСК ЖТ; 3) НП с однократной локальной трансплантацией МСК ЖТ и курсовым приемом PEA. Проведены измерения порога ноцицептивной реакции (ПНР) на механический стимул, латентного периода ноцицептивной реакции (ЛПНР) на термический стимул на протяжении 28 сут еженедельно и на 60-е сут. На 21-е сут после моделирования НП охарактеризована гистоструктура мягких тканей и сосудисто-нервного пучка задних лап крыс с периферической нейропатией на фоне трансплантации МСК ЖТ отдельно и в сочетании с курсовым приемом PEA

**Результаты.** Однократное введение МСК ЖТ приводило к увеличению ПНР и ЛПНР крыс с НП до исходных значений к 21-м сут после операции, подавляло воспаление периневральных тканей и способствовало неоваскуляризации сосудисто-нервного пучка в области аксотомии седалищного нерва. Курсовое внутрибрюшинное введение PEA на фоне трансплантации МСК приводило к увеличению ПНР начиная с 1-й инъекции PEA, но вместе с тем не приводило к восстановлению исходной ноцицептивной чувствительности на механический и термический стимулы на протяжении исследования, а также отменяло противовоспалительный эффект МСК ЖТ.

**Заключение.** Курсовое применение PEA при однократной трансплантации МСК ЖТ подавляло антиноцицептивное действие стволовых клеток, а также приводило к отмене их противовоспалительных эффектов в зоне иссечения седалищного нерва.

**Ключевые слова:** нейропатическая боль; мезенхимальные стволовые клетки; ноцицептивная чувствительность; пальмитоилэтаноламид

**Для цитирования:** Ерофеева А.-М.В., Антипова О.А., Жаворонок И.П., Рябцева С.Н., Молчанова А.Ю. Эффективность курсового применения пальмитоилэтаноламида и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальной периферической нейропатической боли. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 2023; 67(1): 39-47.

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.01.39-47

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Молчанова А.Ю.; сбор и обработка материала – Ерофеева А.-М.В., Антипова О.А., Жаворонок И.П.; статистическая обработка результатов – Ерофеева А.-М.В., Антипова О.А.; написание текста – Ерофеева А.-М.В.; редактирование – Рябцева С.Н., Молчанова А.Ю. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи — все авторы.

**Для корреспонденции:** Ерофеева Анна-Мария Вадимовна, email: amyerofeyeva@zoho.eu

**Финансирование:** Исследование проведено в рамках задания «Оценка влияния мезенхимальных стволовых клеток на ноцицептивную чувствительность и репаративные процессы в нерве и окружающих его тканях при экспериментальной нейропатии» ГПНИ «Трансляционная медицина» (№ госрегистрации 20191077).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 27.09.2022

Принята к печати 26.01.2023

Опубликована 17.02.2023

Yerofeyeva A.-M.V., Antipova O.A., Zhavoronok I.P., Rjabceva S.N., Molchanova A.Y.

**Effectiveness of a course treatment with palmitoylethanolamide and transplantation of mesenchymal stem cells in experimental peripheral neuropathic pain**Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus,  
Akademicheskaya St. 28, Minsk 220072, Republic of Belarus

**Aim.** To study the effect of repeated intraperitoneal administration of palmitoylethanolamide (PEA, 1 mg/kg) in combination with a single intramuscular injection of adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSCs,  $1 \times 10^6$  cells/kg) on nociceptive reactions and morphological changes in tissues of the hind legs of rats with peripheral neuropathic pain (PNP) due to sciatic nerve transection.

**Methods.** The study was conducted on 28 Wistar male rats. The study design included modeling of NP without treatment; NP with a single transplantation of ADMSCs; and NP with a single local transplantation of ADMSCs and a course treatment with PEA. The mechanical withdrawal threshold (MWT) and the thermal withdrawal latency (TWL) were measured weekly for 28 days and on day 60. On day 21 of experiment, the histological structure of soft tissues and neurovascular bundle of the hind paws of NP rats was assessed after transplantation of ADMSCs alone and in combination with the PEA course treatment.

**Results.** A single administration of ADMSCs increased the MWT and TWL in rats with PNP to the baseline values of postoperative day 21, inhibited inflammation of perineural tissues, and improved neovascularization of the vascular bundle in the sciatic axotomy area. A course of PEA intraperitoneal injections in combination with the ADMSCs transplantation increased MWT after the first PEA injection but did not result in recovery of the nociceptive sensitivity to mechanical and thermal stimuli throughout the study, and also abolished the anti-inflammatory effect of ADMSCs.

**Conclusion.** A combination of repeated PEA injections and ADMSCs reduced the antinociceptive effect of stem cells and abolished their anti-inflammatory effect in the area of sciatic nerve resection.

**Keywords:** neuropathic pain; mesenchymal stem cells; nociceptive sensitivity; palmitoylethanolamide

**For citation:** Yerofeyeva A.-M.V., Antipova O.A., Zhavoronok I.P., Rjabceva S.N., Molchanova A.Y. Effectiveness of course application of palmitoylethanolamide and transplantation of mesenchymal stem cells in experimental peripheral neuropathic pain. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2023; 67(1): 39-47. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.01.39-47

**Author's contribution:** concept and design of the study – Molchanova A.Y.; collection of material – Yerofeyeva A.-M.V., Antipova O.A., Zhavoronok I.P.; statistical data processing – Yerofeyeva A.-M.V., Antipova O.A.; writing of the text – Yerofeyeva A.-M.V.; editing of the text – Rjabceva S.N., Molchanova A.Y. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

**For correspondence:** Anna-Maria V. Yerofeyeva, Post-Graduate Student, Junior Researcher of the Laboratory of Modulation of Body Function, email: amyerofeyeva@zoho.eu

**Information about the authors:**Yerofeyeva A.-M.V., <https://orcid.org/0000-0002-9407-9295>Antipova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-5418-0874>Zhavoronok I.P., <https://orcid.org/0000-0001-9982-0719>Rjabceva S.N., <https://orcid.org/0000-0001-5960-3656>Molchanova A.Y., <https://orcid.org/0000-0001-5053-6602>

**Financing.** The study was performed within the framework of the project «Assessment of the influence of mesenchymal stem cells on nociceptive sensitivity and reparative processes in the nerve and surrounding tissues in experimental neuropathy» of the State research program «Translational Medicine» (registration number 20191077).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 27.09.2022

Accepted 26.01.2023

Published 17.02.2023

**Введение**

Нейропатическая боль, вызванная повреждением периферических нервов, проявляется хроническим болевым синдромом, который зачастую приводит к снижению дееспособности и инвалидности [1]. На сегодняшний день наблюдается неуклонный рост распространённости данной патологии, связанный в первую

очередь с ростом заболеваемости сахарным диабетом, увеличением выживаемости пациентов после курса химиотерапии, а также старением населения [1, 2]. Подбор эффективной терапии нейропатической боли осложнен не только разнообразием ее этиологии, но и побочными эффектами применяемых в клинике

стандартных схем фармакотерапии, включающих прием противосудорожных средств, трициклических антидепрессантов или даже опиоидов, что сопровождается побочным действием на ЦНС и может приводить к формированию зависимости [2].

Применение мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) для купирования периферической нейропатической боли перспективно так как: с одной стороны, доказаны их противовоспалительные, иммуномодулирующие и протекторные свойства [3, 4] и способность ослаблять болевые ощущения при периферической нейропатии на длительное время без психотропных побочных эффектов [5, 6], а с другой – относительно прост процесс выделения этих клеток по сравнению с МСК из других источников. Механизмы антиноцицептивного действия МСК ЖТ на сегодняшний день недостаточно изучены. Считается, что они реализуются в основном за счет паракринных факторов, секретлируемых стволовыми клетками. К основным биологически активным молекулам, секретлируемым МСК ЖТ и связанным с их обезболивающим и нейропротекторным действием, относят тканевую ингибитор металлопротеиназы-2, а также ряд факторов роста и цитокинов: трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), фактор роста гепатоцитов-1 (HGF-1), индуцируемый геном 6 фактор некроза опухолей (TSG-6) и интерлейкин-10 (IL-10) [7]. Кроме того, имеющиеся в научной литературе данные позволяют предполагать участие сигнальных липидных молекул в реализации анальгетического эффекта МСК ЖТ. В частности, при культивировании МСК человека обнаружены высокие концентрации эндогенных каннабиноидов 2-арахидоноилглицерола (2-AG), анандамида (AEA) и его конгенера пальмитоилэтаноламида (PEA) [8]. Среди них – PEA, известный своими противовоспалительными, анальгезирующими и нейропротекторными свойствами. Он не вызывает психотропных либо каких-либо иных побочных эффектов [9], способен при курсовом приеме эффективно купировать болевые ощущения при периферической нейропатии, что подтверждено как экспериментально [10, 11], так и в клинической практике [9, 11, 12]. Обезболивающие эффекты PEA реализуются непосредственно через рецепторы PPAR- $\alpha$  и GPR55 и опосредовано (посредством эффекта «свиты») на рецепторы CB<sub>1</sub>, CB<sub>2</sub> и TRPV1 [9, 13-15]. Он подавляет воспаление, ингибируя активацию микроглии, астроцитов и тучных клеток и выделение таких медиаторов воспаления и аллогенов, как фактор некроза опухоли- $\alpha$  и другие провоспалительные цитокины, фактор роста нервов, циклооксигеназа-2, и индуцибельная синтаза оксида азота [9, 16]. При хрониче-

ческих воспалительных состояниях это позволяет PEA оказывать протекторное действие на морфологию периферических нервов, уменьшать эндоневральный отек и макрофагальную инфильтрацию [16]. Предположительно применение PEA в комбинации с трансплантацией МСК ЖТ могло бы оказать более эффективное антиноцицептивное и репаративное действие при периферической нейропатической боли, чем использование только МСК.

Цель исследования – изучение влияния курсового введения PEA после локальной трансплантации МСК ЖТ на ноцицептивную чувствительность и морфологические изменения седалищного нерва и периневральных тканей при экспериментальной посттравматической нейропатии (НП) у крыс.

### Методика

Серии экспериментов выполнены на крысах-самцах стока Wistar ( $n=28$ ) с исходной массой 200-220 г. Животных содержали в помещении вивария Института физиологии НАН Беларуси со свободным доступом к воде и пище и циклом день/ночь 12/12 ч. Методом рандомизации животных разделили на группы: 1-я группа – модель периферической нейропатии (НП) без лечения ( $n=10$ ); 2-я – НП с однократной локальной трансплантацией МСК ЖТ в дозе  $1 \times 10^6$  клеток/кг ( $n=10$ ); 3-я группа – НП с однократной локальной трансплантацией МСК ЖТ в дозе  $1 \times 10^6$  клеток/кг и курсовым приемом PEA в дозе 1 мг/кг ( $n=8$ ). Все манипуляции с экспериментальными животными выполнены с соблюдением биоэтических принципов, изложенных в Хельсинкской декларации Международной Медицинской Ассоциации «О гуманном отношении к животным». Протоколы исследования одобрены комиссией по биоэтике при Институте физиологии НАН Беларуси.

Моделирование НП осуществляли методом аксономии седалищного нерва по ранее изложенной методике [5]. Хирургические манипуляции проводили под общим наркозом: тиопентал натрия (ОАО «Синтез», Россия) в дозе 20 мг/кг, внутривенно и местным обезболиванием (лидокаина гидрохлорид, ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь) в дозе 100 мкл, внутримышечно). После хирургического вмешательства животные находились под визуальным контролем в индивидуальных клетках до выхода из наркотического сна.

Аллогенную трансплантацию МСК ЖТ в дозе  $1 \times 10^6$  клеток/кг выполняли крысам с НП на 7-е сут после операции. Суспензию клеток, разведенную в стерильном физиологическом растворе, вводили внутри-

мышечно в область аксотомии четырьмя инъекциями по воображаемому циферблату на 3, 6, 9 и 12 ч. Предварительное выделение МСК ЖТ из жировой ткани интактных крыс, а также их культивирование выполняли согласно ранее описанной методике [5].

Внутрибрюшинное введение РЕА (Sigma Aldrich, Германия) соответствующей группе животных в дозе 1 мг/кг осуществляли через 1 ч после трансплантации клеток, и далее ежедневно в течение 7 сут. РЕА предварительно растворяли в смеси из Tween 80 (Sigma, США), 96 % этанола и апиrogenного физиологического раствора (соотношение 1:1:8).

Оценку ноцицептивных реакций на механический стимул проводили с помощью теста «Рэндалла-Селитто», предполагающего определение порога ноцицептивной реакции (ПНР). Ноцицептивную чувствительность на тепловой стимул оценивали тестом «Горячая пластина», определяющим латентный период ноцицептивной реакции (ЛПНР) [17]. Измерения проводили до моделирования НП, а также на 7, 14, 21, 28 и 60-е сут исследования. На 21-е сут после моделирования НП у экспериментальных групп после эвтаназии проведен забор области хирургического вмешательства в зоне аксотомии седалищного нерва для последующего гистологического исследования. После фиксации в 10 % забуференном формалине и обезвоживания, фрагменты тканей заливали в парафиновые блоки и изготавливали срезы толщиной 3-4 мкм. Полученные препараты окрашивали гематоксилин-эозином по стандартной методике. Микрофотографирование участков области аксотомии (кожа фасции, поверхностные и глубокие мышцы, сосудисто-нервные пучки) осуществляли при увеличении 40 и 100.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы STATISTICA 10 (Statsoft Inc., США). Графическую обработку данных осуществляли с помощью пакета OriginPro 2021 (OriginLab Corp.). Для оценки значимых различий применяли дисперсионный анализ повторных измерений (repeated-measures ANOVA) с последующими апостериорными сравнениями по методу наименьшей значимой разности. Различия принимали за статистически значимые при  $p < 0,05$ .

### Результаты

Индукция НП у крыс методом аксотомии седалищного нерва приводила к снижению ПНР ипсилатеральной конечности к 7-м сут после операции на 35,5 % (с  $136,0 \pm 1,9$  г до  $87,7 \pm 2,0$  г,  $p < 0,001$ ), а также к снижению ЛПНР на 34,3 % (с  $18,1 \pm 0,6$  с до  $11,9 \pm 0,4$  с,  $p < 0,001$ ). Механическая и термическая гипералгезии сохранялись в группе НП без лечения до конца иссле-

дования (рис. 1, а, 1, б). Однократное локальное введение МСК ЖТ в дозе  $1 \times 10^6$  клеток/кг способствовало полному восстановлению исходных значений ПНР к 14-м сут после введения клеток и данный эффект наблюдали до конца эксперимента ( $p > 0,05$ ) (рис. 1, а). Аналогичная тенденция наблюдалась и при оценке ЛПНР (рис. 1, б) [5].

Внутрибрюшинное введение РЕА в дозе 1 мг/кг с последующей трансплантацией МСК ЖТ приводило к увеличению ПНР ипсилатеральной конечности через 30 мин после инъекции клеток на 10,5 % (с  $95,2 \pm 1,0$  г до  $105,2 \pm 1,4$  г,  $p < 0,05$ ). К 11-м суткам отмечен дальнейший рост ПНР - на 24,7 % по сравнению со значениями на 7-е сут до введения РЕА (до  $118,7 \pm 2,5$ ,  $p < 0,05$ ). Данная тенденция сохранялась по 60-е сут включительно (рис. 1, а). При исследовании ноцицептивной чувствительности на термический стимул, к 8-м сут после моделирования НП отмечено увеличение ЛПНР до исходного уровня ( $p > 0,05$  по сравнению со значением до моделирования НП). С 11-х сут исследования наблюдали усиление термической гипералгезии, аналогичной НП без лечения ( $p > 0,05$  по сравнению с НП без лечения) (рис. 1, б). Тенденция к увеличению ЛПНР в данной группе отмечена лишь к 60-м сут исследования.

Гистологическое исследование зоны аксотомии седалищного нерва без лечения на 21-е сут после травмы нерва показало наличие неравномерно выраженного фиброза поверхностной и межмышечной фасций, атрофических изменений мышц, воспалительной инфильтрации в области постоперационного рубца и дистальных участков седалищного нерва (рис. 2, а; рис. 3, а) [5].

После однократного внутримышечного введения исследуемой дозы МСК ЖТ крысам с НП, наблюдали отсутствие воспалительной инфильтрации и значительно менее выраженный фиброз зоны хирургического вмешательства, а также минимальные дистрофические изменения мышц и интенсивный неоангиогенез в сосудисто-нервном пучке (рис. 2, б; рис. 3, б) [5].

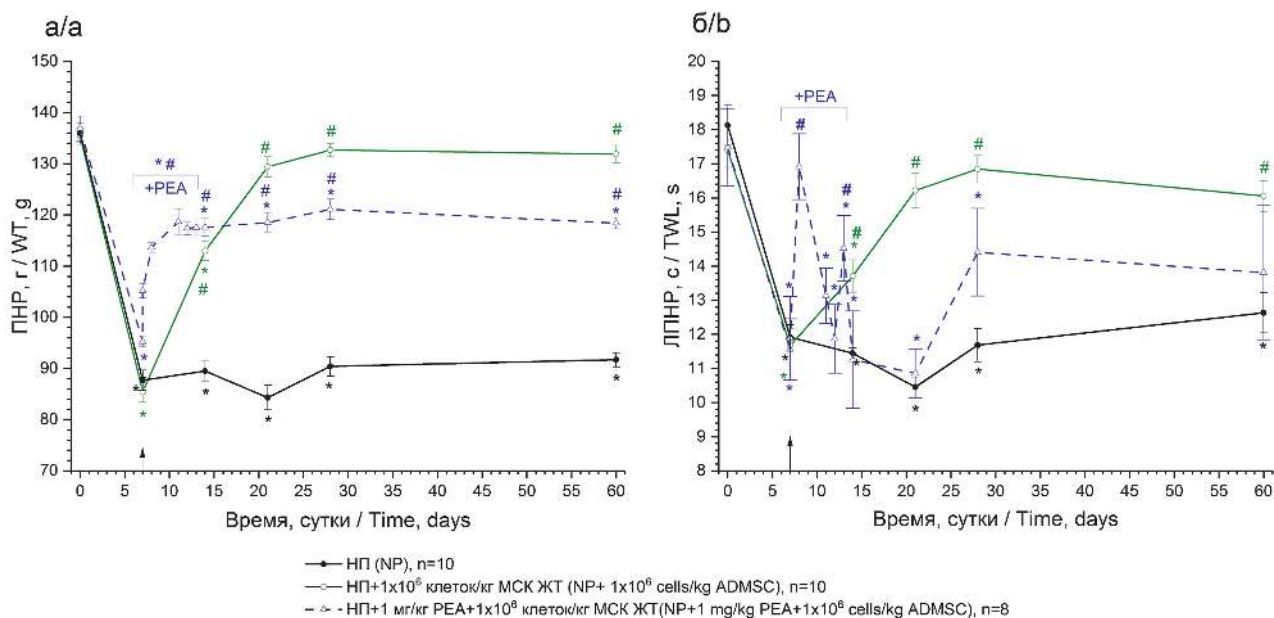
При курсовом внутрибрюшинном введении РЕА после однократной локальной трансплантации МСК ЖТ в зоне аксотомии седалищного нерва крыс наблюдали наличие отека подкожно-жировой клетчатки, дермы и межмышечной фасции, слабовыраженный фиброз поверхностной фасции с диффузной скудной лимфоцитарной инфильтрацией с примесью нейтрофилов, наряду с выраженным фиброзом межмышечной фасции с аналогичной воспалительной инфильтрацией (рис. 2, в). Очаги неравномерной атрофии отмечены у поверхностных и глубоких мышц на фо-

не умеренной гиперплазии глубоких мышц, фокусы межмышечного липоматоза, а также пролиферация клеток перимизия (рис. 2, в). В сосудисто-нервном пучке обнаружен выраженный фиброз эпи- и периневрия, отек периневрия и слабо выраженная воспалительная инфильтрация, а в нервных стволах — неоваскуляризация и пролиферация шванновских клеток (рис. 3, в). Глубокие ветви седалищного нерва задней лапы крысы характеризовались отеком нервных стволов в сосудисто-нервном пучке (рис. 3, в). В целом, при сочетании однократного введения МСК ЖТ в дозе 1 млн клеток с курсовым введением РЕА наблюдались признаки активного воспалительного процесса в сочетании с активацией и пролиферацией клеток перимизия, фибробластов, шванновских клеток по сравнению с группой животных, которым трансплантировали только МСК ЖТ.

### Обсуждение

Нейропатическая боль — это стойкая боль, вызванная повреждением нерва, которая может длиться от нескольких месяцев до нескольких лет, даже после того, как первичное повреждение ткани зажило. Современ-

ные методы лечения нейропатической боли не всегда успешны и могут сопровождаться серьезными побочными эффектами. В этой связи поиск альтернативных подходов к купированию нейропатической боли остается по-прежнему актуальным. В ряде исследований было показано, что трансплантация МСК снижает прогрессирование боли при моделировании нейропатии различного происхождения. В различных моделях нейропатической боли МСК вводили как непосредственно в очаг поражения, так и системно в кровоток [11, 18]. Например, внутривенная инъекция МСК костного мозга уменьшала механическую аллодинию и термическую гипералгезию в моделях хронического лигирования седалищного нерва [18] и подглазничного нерва [19] у грызунов, а также в моделях частичного повреждения нерва [20]. Внутримышечная инъекция МСК уменьшала механическую аллодинию и боль, вызванную холодом, в модели диабета, индуцированного стрептозотоцином [21], а также в модели орофациальной боли, вызванной перевязкой подглазничного нерва [19]. Внутриванглионарные и интратекальные инъекции МСК ослабляли механическую аллодинию и термическую гипералгезию при лигировании периферического нерва у крыс [22].



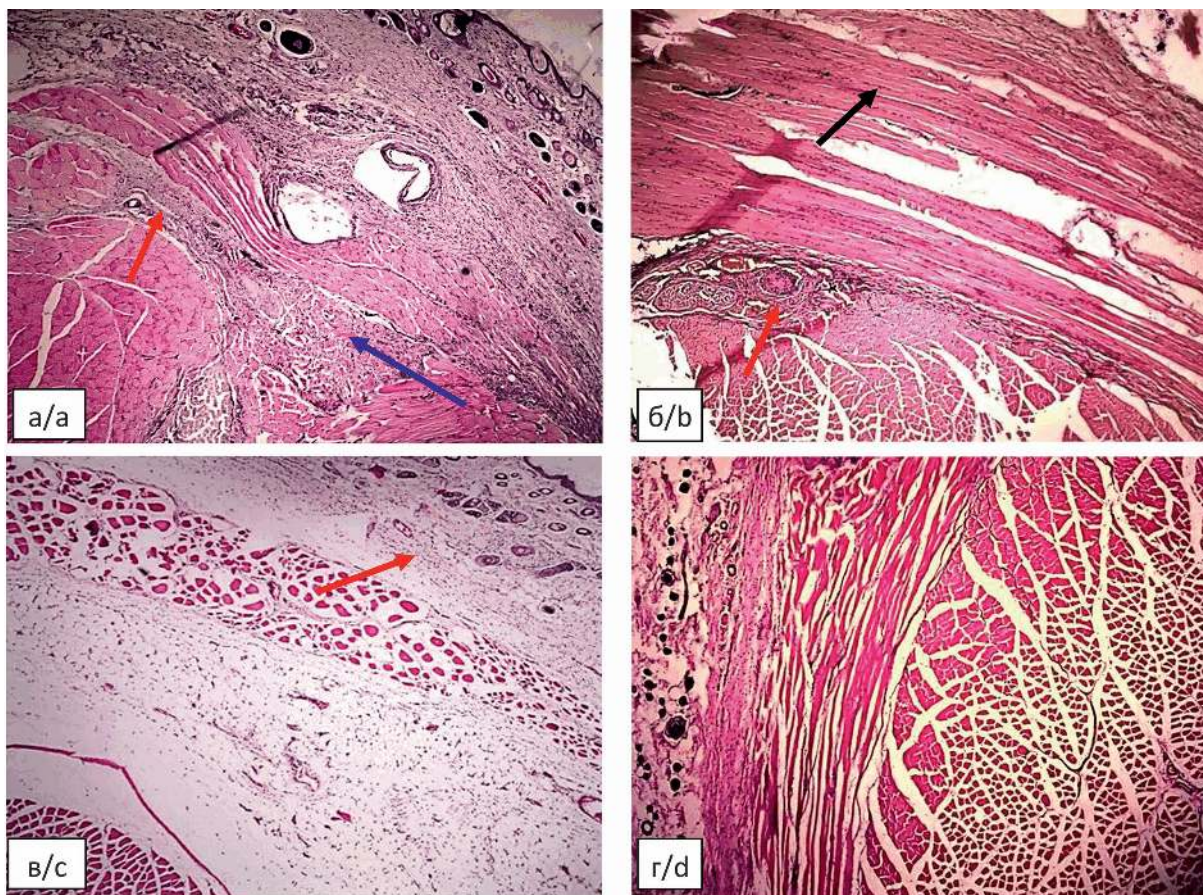
**Рис. 1.** Изменения порога ноцицептивной реакции (ПНР) ипсилатеральной конечности (а) и латентного периода ноцицептивной реакции (ЛПНР) (б) крыс после моделирования нейропатии (НП), однократного введения мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) (отмечено стрелкой) и курсовым внутрибрюшинным введением пальмитоилэтаноламида (РЕА); \* –  $p < 0,05$  по сравнению со значением до моделирования НП; # –  $p < 0,05$  по сравнению с НП без лечения.

**Fig. 1.** Changes in withdrawal threshold (WT) of ipsilateral hind paw (a) and thermal withdrawal latency (TWL) (b) in rats with neuropathic pain model (NP) after single injection of adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSC) and course intraperitoneal injections with palmitoylethanolamide (PEA) \* –  $p < 0.05$  compared to the baseline values; # –  $p < 0.05$  compared to NP without treatment.

В нашей относительно недавней статье мы продемонстрировали долгосрочное анальгезирующее действие однократной трансплантации МСК ЖТ в зону повреждения нерва [5]. Внутримышечное введение МСК ЖТ в дозе  $1 \times 10^6$  клеток/кг облегчало симптомы ранней и поздней нейропатической боли, включая механическую аллодинию и термическую гипералгезию, в течение нескольких месяцев на модели травматического повреждения седалищного нерва у крыс. Аналогичное по эффективности и продолжительности антиноцицептивное действие МСК ЖТ было воспроизведено и в представленном исследовании (рис. 1). Более того, гистологическое исследование показало, что введение МСК ЖТ в наших экспериментах пода-

вляло воспалительную инфильтрацию и прогрессирующее развитие фиброза в зоне повреждения, а также способствовало снижению степени атрофии мышечных волокон по сравнению с контрольной группой животных.

Все больше данных свидетельствует о том, что ключевую роль в возникновении и поддержании хронической боли (в том числе и нейропатической) играет воспаление в периферической и центральной нервной системе (ПНС и ЦНС). Характерные признаки нейровоспаления при хронических болевых состояниях включают инфильтрацию иммунных клеток в ПНС (например, седалищный нерв и ганглии задних корешков), активацию микроглии и астроцитов в ЦНС, и секрецию провоспалительных цитокинов и хемоки-



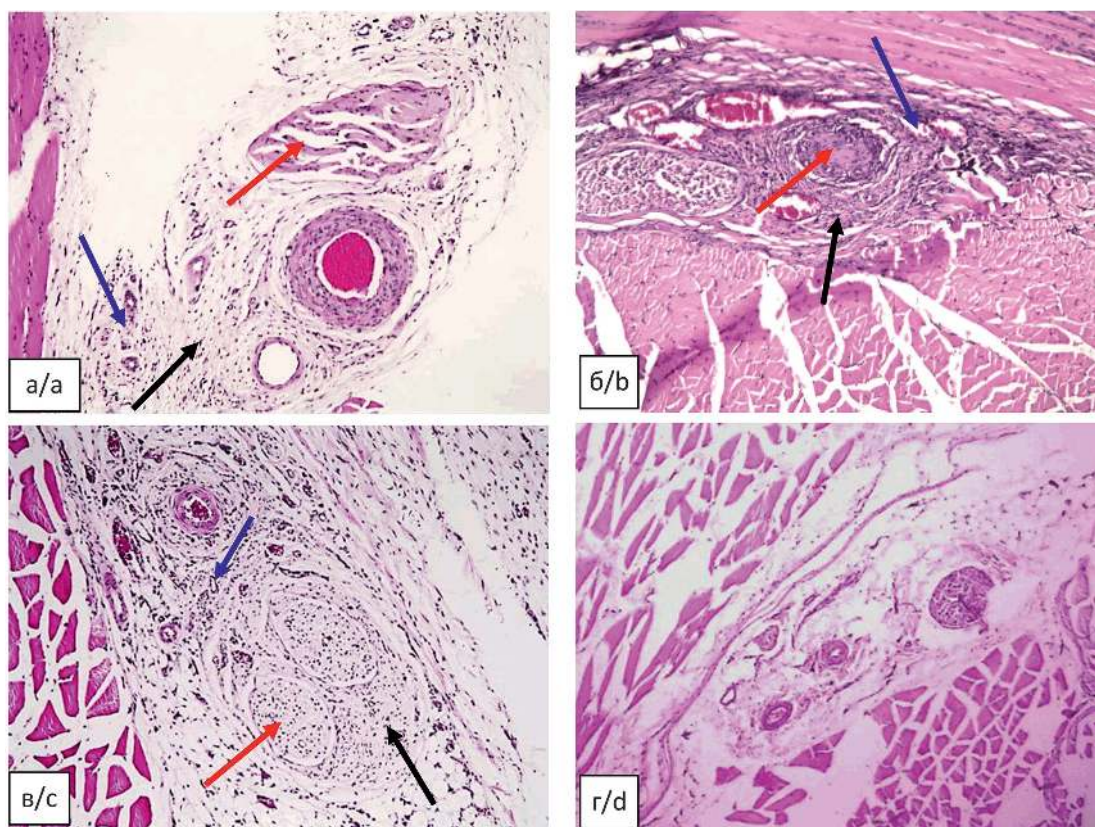
**Рис. 2.** Морфологические изменения мягких тканей задней лапы крыс на 21-е сутки после моделирования нейропатии без лечения (а), с аллогенной трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) (б) и в сочетании с курсовым внутривнутрибрюшинным введением пальмитоилэтаноламида (PEA) (в); гистоструктура мягких тканей задней лапы интактных крыс (г). Красная стрелка – воспалительная инфильтрация и фиброз; синяя стрелка – атрофия мышц; черная стрелка – гипертрофия мышц. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 40.

**Fig. 2.** Morphological changes in rat hind paw tissues on 21<sup>st</sup> day after modeling of neuropathic pain (a), with allogenic transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSCs) (b) and combined with course intraperitoneal injections with palmitoylethanolamide (PEA) (c); histostructure of intact rat hind paw tissues (d). Red arrow – inflammatory infiltration and fibrosis; blue arrow – muscle atrophy; black arrow – muscle hypertrophy. Hematoxylin and eosin stain, magnification 40.

нов [7, 9]. Как уже было упомянуто выше, механизмы анальгетического действия МСК изучены не до конца. Вместе с тем принято считать, что антиноцицептивные эффекты стволовых клеток прежде всего обусловлены паракринным действием секретируемых ими биологически активных молекул. Именно продукцией и выделением таких иммуномодуляторных или противовоспалительных субстанций как TGF- $\beta$ , IL-10, HGF-1 и др. может быть обусловлено обезболивающее и нейропротекторное действие МСК ЖТ. Накопленные данные свидетельствуют о том, что TGF- $\beta$ 1 ингибирует вызванную повреждением нерва активацию и пролиферацию клеток микроглии и астроцитов, а также снижает экспрессию и секрецию воспалительных цитокинов [7]. HGF-1 представляет собой

паракринный фактор клеточного роста, подвижности и морфогенеза, с активацией которого связан ряд регенеративных процессов. Подобно другим ростовым факторам, участвующим в репарации тканей, HGF-1 проявляет иммуномодулирующую активность [7]. Его роль в уменьшении хронической боли была признана, и способность стволовых клеток к секреции субстанции также доказана [22].

С другой стороны, повреждение нервной ткани или воспаление может сопровождаться активацией образования эндогенных липидных сигнальных молекул, функционирование которых направлено на поддержание гомеостаза и оказание протекторных эффектов. Одной из таких молекул является PEA. Этот представитель семейства N-ацилэтанолamines жирных кис-



**Рис. 3.** Морфологические изменения сосудисто-нервного пучка мягких тканей задней лапы крыс на 21-е сут после моделирования нейропатии (НП) (а), с аллогенной трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) (б) и в сочетании с курсовым внутривенным введением пальмитоилэтананоламида (PEA) (в); гистоструктура мягких тканей задней лапы intactных крыс (г). Красная стрелка – демиелинизация и разволокнение нервного ствола; синяя стрелка – неоангиогенез; черная стрелка – фиброз. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 40.

**Fig. 3.** Morphological changes in rat hind paw neurovascular bundle on 21<sup>st</sup> day after modeling of neuropathic pain (a), with allogenic transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSCs) (b) and combined with course intraperitoneal injections with palmitoylethanolamide (PEA) (c); histostructure of intact rat hind paw tissues (d). Red arrow – demyelination and nerve tearing; blue arrow – neoangiogenesis; black arrow – fibrosis. Hematoxylin and eosin stain, magnification 40.

лот является аутоакоидом и вырабатывается “по требованию” во всех тканях в качестве защитной реакции на травму, воспаление и боль. [9, 23]. Однако при затянувшемся синдроме боли или хроническом воспалении может развиваться «истощение» РЕА. [23]. Экзогенное введение данного липида может в таких случаях служить восполнению его эндогенного уровня, восстанавливая его защитное, противовоспалительное и обезболивающее действие. Воздействуя прямо или опосредовано на различные мишени как на мембране клетки, так и внутри нее, РЕА, способен предотвращать дегрануляцию тучных клеток, а также, подобно МСК, модулировать выделение про- и противовоспалительных цитокинов и активность микроглии и астроцитов [9, 24].

На основании приведенных выше сведений литературы в совокупности с данными собственных исследований авторы статьи предположили, что комбинированное применение МСК ЖТ и РЕА приведет к синергетическому повышению эффективности их антиноцицептивного и репаративного действия. Последнее, как ожидалось, будет выражаться в существенном сокращении сроков развития как репаративных изменений в периневральных тканях, так и проявления обезболивающего эффекта по сравнению с действием только МСК, а также в еще большем повышении значений ПНР и ЛПНР. Проведенные исследования показали, что действительно у животных, получивших инъекции МСК в комбинации с курсовым введением РЕА, было отмечено быстрое начало антиноцицептивного эффекта при экспериментальном исследовании (рис. 1, а, 1, б). Однако в дальнейшем (после прекращения инъекций РЕА) эффективность анальгетического действия МСК ЖТ, напротив, снизилась по сравнению с таковой у животных, получивших лечение только стволовыми клетками (рис. 1, а, 1, б). Данные тестов на ноцицептивные реакции согласовываются с результатами гистологического исследования седалищного нерва и периневральных тканей крыс разных групп У животных, получивших МСК ЖТ в комбинации с РЕА состояние тканей в зоне аксотомии характеризовалось наличием признаков активного воспаления, тогда как при введении только МСК ЖТ воспалительные проявления были минимальными.

С одной стороны, отсутствие синергизма однократной трансплантации МСК ЖТ и курсового введения РЕА при их комбинации говорит о том, что маловероятно исследуемый аутоакоид вовлечен в реализацию анальгетического действия стволовых клеток в качестве одного из важных звеньев. С другой стороны, отсутствие подтверждения гипотезы о потенцировании

анальгетического и репаративного эффектов, и более того, практически антагонизм двух факторов, по отдельности обладающих выраженным антиноцицептивными и репаративными свойствами, требует отдельно изучения и объяснения.

### Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что сочетание курсового введения РЕА с однократной трансплантацией МСК ЖТ приводило не только к ослаблению антиноцицептивного эффекта, но и к отмене противовоспалительного действия стволовых клеток. Трансплантация МСК ЖТ в комбинации с РЕА не только не превышала по эффективности как антиноцицептивное так и репаративное действие МСК ЖТ, но и приводила к ее снижению. Для объяснения антагонистического взаимодействия РЕА с МСК ЖТ при трансплантации в область повреждения нервной ткани необходимы дальнейшие исследования.

### Литература

#### (п.п. 1–4; 6–9; 11–24 см. References)

- Ерофеева А.-М.В., Жаворонок И.П., Антипова О.А., Счастливая Н.И., Семёник И.А., Рябцева С.Н. и др. Оценка антиноцицептивного действия мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани при экспериментальной периферической нейропатической боли. *Новости хирургии*. 2021; 29(5): 527–34. <https://dx.doi.org/10.18484/2305-0047.2021.5.527>
- Молчанова А.Ю., Жаворонок И.П., Пехтерева Е.И., Антипова О.А., Мелик-Касумов Т.Б., Павлють Т.О. и др. Антиноцицептивный эффект системного введения пальмитоилэтаноламида, стеароилэтаноламида и диклофенака натрия у крыс с экспериментальным нейрогенным болевым синдромом. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук*. 2018; 15(3): 331–8. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-331>

### References

- Finnerup N.B., Kuner R., Jensen T.S. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment. *Physiological Reviews*. 2021; 101(1): 259–301. <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2019>
- Scuteri D., Piro B., Morrone L.A., Corasaniti M.T, Vulnera M., Bagetta G. The need for better access to pain treatment: learning from drug consumption trends in the USA. *Functional Neurology*. 2017; 22(4): 229–30. <https://doi.org/10.11138/fneur/2017.32.4.229>
- Han Y.H., Kim K.H., Abdi S., Kim T.K. Stem cell therapy in pain medicine. *Korean Journal of Pain*. 2019; 32(4): 245–55. <https://doi.org/10.3344/kjp.2019.32.4.245>
- Zhou Y., Yamamoto Y., Xiao Z., Ochiya T. The Immunomodulatory Functions of Mesenchymal Stromal/Stem Cells Mediated via Paracrine Activity. *Journal of Clinical Medicine*. 2019; 8(7): 1025. <https://doi.org/10.3390/jcm8071025>
- Yerofeyeva A.M.V., Zhavarank I.P., Antipova O.A., Schastnaya N.I., Siamionik I.A., Rjabceva S.N., et al. Assessment of anti-nociceptive



- actions of adipose-derived mesenchymal stem cells in experimental peripheral neuropathic Pain. *Novosti Khirurgii*. 2021; 29(5): 527–34. (in Russian) <https://dx.doi.org/10.18484/2305-0047.2021.5.527>
6. Yousof S.M., ElSayed D.A., El-Baz A.A., Sallam H.S., Abbas F. Combined treatment of adipose derived-mesenchymal stem cells and pregabalin is superior to monotherapy for the treatment of neuropathic pain in rats. *Stem Cells International*. 2021; 2021: 8847110. <https://doi.org/10.1155/2021/8847110>
  7. Huh Y., Ji R.R., Chen G. Neuroinflammation, bone marrow stem cells, and chronic pain. *Frontiers in Immunology*. 2017; 8: 1014. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01014>
  8. Rossi F., Bernardo M.E., 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080022>
  9. Clayton P., Subah S., Venkatesh R., Hill M., Bogoda N. Palmitoylethanolamide: A Potential Alternative to Cannabidiol [published online ahead of print]. *Journal of Diet Supplements*. 2021: 1-26. <https://doi.org/10.1080/19390211.2021.2005733>
  10. Molchanova A.Y., Zhavoronok I.P., Pekhtereva E.I., Antipova O.A., Melik-Kasumov T.B., Pavlyut' T.O., et al. Antinociceptive effect of a systemic administration of palmitoylethanolamide, stearoylethanolamide and dicyclofenac in rats with experimental neurogenic pain syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Medical series*. 2018; 15(3): 331-8. (in Russian) <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-331>
  11. Scuteri D., Guida F., Boccella S., Palazzo E., Maione, S., Rodríguez-Landa J.F. Effects of palmitoylethanolamide (PEA) on nociceptive, musculoskeletal and neuropathic pain: systematic review and meta-analysis of clinical evidence. *Pharmaceutics*. 2022; 14(8): 1672. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14081672>
  12. Keppel Hesselink J.M., Kopsky D.J. Palmitoylethanolamide, a nutraceutical, in nerve compression syndromes: efficacy and safety in sciatic pain and carpal tunnel syndrome. *Journal of Pain Research*. 2015; 8: 729-734. <https://doi.org/10.2147/JPR.S93106>
  13. Petrosino S., Schiano Moriello A., Cerrato S., Fusco M., Puigdemont A., De Petrocellis L., et al. The anti-inflammatory mediator palmitoylethanolamide enhances the levels of 2-arachidonoyl-glycerol and potentiates its actions at TRPV1 cation channels. *British Journal of Pharmacology*. 2016; 173: 1154-62. <https://doi.org/10.1111/bph.13084>
  14. Lo Verme J., Fu J., Astarita G., La Rana G., Russo R., Calignano A., et al. The nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  mediates the anti-inflammatory actions of palmitoylethanolamide. *Molecular Pharmacology*. 2005; 67(1): 15-19. <https://doi.org/10.1124/mol.104.006353>
  15. Ryberg E., Larsson N., Sjögren S., Hjorth S., Hermansson N.O., Leonova J., et al. The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *British Journal of Pharmacology*. 2007; 152(7): 1092–1101. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707460>
  16. Bettoni I., Comelli F., Colombo A., Bonfanti P., Costa B. Non-neuronal cell modulation relieves neuropathic pain: efficacy of the endogenous lipid palmitoylethanolamide. *CNS Neurological Disorders Drug Targets*. 2013; 12(1): 34-44. <https://doi.org/10.2174/1871527311312010008>
  17. Deuis J.R., Dvorakova L.S., Vetter I. Methods used to evaluate pain behaviors in rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2017; 10: 284. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>
  18. Guo W., Chu Y.X., Imai S., Yang J.L., Zou S., Mohammad Z., et al. Further observations on the behavioral and neural effects of bone marrow stromal cells in rodent pain models. *Molecular Pain*. 2016; 12: 1744806916658043. <https://doi.org/10.1177/1744806916658043>
  19. 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. <https://doi.org/10.1002/stem.667>
  20. 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. *Frontiers in Integrative Neuroscience*. 2011; 5: 79. <https://doi.org/10.3389/fnint.2011.00079>
  21. 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027458>
  22. Li J., Deng G., Wang H., Yang M., Yang R., Li X., et al. Interleukin-1 $\beta$  pre-treated bone marrow stromal cells alleviate neuropathic pain through CCL7-mediated inhibition of microglial activation in the spinal cord. *Scientific Reports*. 2017; 7: 42260. <https://doi.org/10.1038/srep42260>
  23. Skaper S.D., Facci L., Giusti P. Mast cells, glia and neuroinflammation: partners in crime? *Immunology*. 2014; 141(3): 314-27. <https://doi.org/10.1111/imm.12170>
  24. Cordaro M., Impellizzeri D., Paterniti I., Bruschetta G., Siracusa R., De Stefano D., et al. Neuroprotective Effects of Co-UltraPEALut on Secondary Inflammatory Process and Autophagy Involved in Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*. 2016; 33(1): 132-46. <https://doi.org/10.1089/neu.2014.3460>

**Сведения об авторах:**

**Ерофеева Анна-Мария Вадимовна**, аспирант, мл. науч. сотр., лаб. модуляции функций организма;

**Антипова Ольга Александровна**, науч. сотр., лаб. модуляции функций организма;

**Жаворонко Ирина Петровна**, канд. биол. наук, зав. лаб. модуляции функций организма;

**Рябцева Светлана Николаевна**, канд. мед. наук, зав. лаб. «Центр электронной и световой микроскопии»;

**Молчанова Алла Юрьевна**, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. модуляции функций организма.