

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 611.81:616.716.4-002

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-3-216-225>

Поступила в редакцию 27.03.2023

Received 27.03.2023

С. Г. Пашкевич<sup>1</sup>, С. П. Рубникович<sup>2,3</sup>, Т. Е. Кузнецова<sup>1</sup>, Е. В. Кузьменко<sup>3</sup>, Г. П. Миронова<sup>1</sup>,  
О. Г. Тихонович<sup>1</sup>, Ж. А. Гладкова<sup>1</sup>, К. Н. Жогаль<sup>1</sup>, Н. С. Сердюченко<sup>1</sup>, А. С. Грищенко<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

## МОРФОСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МОЗГЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В МОДЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ ВИСОЧНО-НИЖНЕЧЕЛЮСТНОГО СУСТАВА

**Аннотация.** В статье приведены результаты структурно-функциональных преобразований в мозжечке, ядрах тройничного нерва и гиппокампе крыс-самцов линии Вистар на фоне введения в пространство Меккеля мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в модели воспаления височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС).

Цель исследования – уточнить влияние инъекций МСК в пространство Меккеля на морфоструктурные особенности мозжечка, ядер тройничного нерва и гиппокампа в модели воспаления ВНЧС.

Показано, что введение МСК в пространство Меккеля в модели воспалительного процесса правого нижнего височно-челюстного сустава способствует восстановлению структуры ганглионарного слоя мозжечка, спинального ядра тройничного нерва и гиппокампа крыс к 28-м суткам. Это проявляется в увеличении плотности нейронов, снижении индекса нейродегенерации, а также в активации элементов глии.

**Ключевые слова:** крысы, мезенхимальные стволовые клетки, височно-нижнечелюстной сустав, адьювант Фрейнда, мозжечок, ядра тройничного нерва, гиппокамп, морфометрия

**Для цитирования:** Морфоструктурные изменения в мозге экспериментальных животных после применения мезенхимальных стволовых клеток в модели воспаления височно-нижнечелюстного сустава / С. Г. Пашкевич [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2023. – Т. 20, № 3. – С. 216–225. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-3-216-225>

Svetlana G. Pashkevich<sup>1</sup>, Sergey P. Rubnikovich<sup>2,3</sup>, Tatyana E. Kuznetsova<sup>1</sup>, Elena V. Kuzmenko<sup>3</sup>,  
Galina P. Mironova<sup>1</sup>, Olga G. Tikhonovich<sup>1</sup>, Zhanna A. Gladkova<sup>1</sup>, Kseniya N. Zhogal<sup>1</sup>,  
Nikolay S. Serdyuchenko<sup>1</sup>, Arseny S. Grishchenkov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

## MORPHOSTRUCTURAL CHANGES IN THE BRAIN OF EXPERIMENTAL ANIMALS AFTER USING MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE TEMPOROMANDIBULAR JOINT INFLAMMATION MODEL

**Abstract.** The article presents the results of structural and functional transformations in cerebellum, trigeminal nuclei, and hippocampus of male Wistar rats against the background of injection of mesenchymal stem cells (MSCs) into Meckel's space in the temporomandibular joint (TMJ) inflammation model.

The aim of the study was to clarify the effect of MSCs injections into Meckel's space on the morphostructural features of cerebellum, trigeminal nuclei, and hippocampus in the TMJ inflammation model.

Injecting the mesenchymal stem cells into Meckel's space in an inflammatory model of the right lower temporomandibular joint promotes the structure restoration of the ganglionic layer of the cerebellum, the spinal nuclei of the trigeminal nerve, and the hippocampus of rats by the 28th day. This is manifested in increasing the neuronal density, decreasing the neurodegeneration index, and in activating glia elements.

**Keywords:** rats, mesenchymal stem cells, temporomandibular joint, Freund's adjuvant, cerebellum, trigeminal nuclei, hippocampus, morphometry

**For citation:** Pashkevich S. G., Rubnikovich S. P., Kuznetsova T. E., Kuzmenko E. V., Mironova G. P., Tikhonovich O. G., Gladkova Zh. A., Zhogal K. N., Serdyuchenko N. S., Grishchenkov A. S. Morphostructural changes in the brain of experimental animals after using mesenchymal stem cells in the temporomandibular joint inflammation model. *Vestsi Natsyyanal'най akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 3, pp. 216–225 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-3-216-225>

**Введение.** Важным клиническим фактором риска развития угрожающего жизни состояния – синдрома обструктивного апноэ во сне – являются воспалительные процессы в области височно-нижнечелюстных суставов (ВНЧС) [1–3]. Известно, что функции дыхания, кровообращения, поддержания постоянства внутренней среды организма регулируют структуры ствола головного мозга. Тригеминокардиальный рефлекс может возникать при надавливании на глазные яблоки, во время операционных процедур, в том числе в периорбитальной области, при резекции опухолей в области моста и мозжечка, а повреждение проекций афферентной иннервации в области верхней и нижней челюсти повышает вероятность снижения уровня артериального давления, развития брадикардии, асистолии, апноэ во время бодрствования, а также усиливает перистальтическую функцию желудочно-кишечного тракта [4, 5]. Поскольку центростремительные нервы в составе тригеминоспинального солитарного тракта от лицевой области способны активировать ноцицептивные соматовисцеральные и висцеро-висцеральные рефлекссы, характерная для повышенной возбудимости системы тройничного нерва циркуляция возбуждения по замкнутому кругу проявляется различными дисфункциями: невралгией тройничного нерва, лицевыми болями, мигренеподобными состояниями, бруксизмом [5, 6]. Причем сонный бруксизм как более интенсивная форма ритмической активности жевательных мышц в 8 % случаев сопровождается остановкой работы сердца [3]. В связи с этим накапливаются сведения о том, что бруксизм, проявляясь гипервозбудимостью моторных центров мозга, в определенной степени относится не столько к патофизиологическим проявлениям, сколько к общефизиологическим [7].

Частота встречаемости бруксизма, по данным ВОЗ, приближается к показателю 4 человека на 100 000 населения [8]. Отмечают, что чаще всего у пациентов невралгии тройничного нерва имеют правостороннюю латерализацию и возникают вследствие сосудистых, эндокринно-обменных, аллергических и психических расстройств [9–11]. При прогрессировании отмечают нарушения процессов формирования памяти и концентрации внимания. Так, у пациентов с невралгиями тройничного нерва и другими хроническими болями фиксируют аномалии объема и микроструктуры центральной нервной системы в областях, связанных с восприятием боли, эмоций и консолидации памяти [12, 13]. По результатам магнитно-резонансной томографии 22 пациентов с правосторонней невралгией тройничного нерва и по итогам автоматической сегментации субполей гиппокампа с использованием FreeSurfer v6.0 здоровых людей выявлено значительное уменьшение объема ипсилатеральных СА1 и СА4 областей гиппокампа, зубчатой извилины, молекулярного слоя и области перехода гиппокамп–амигдала, сопровождающееся уменьшением объема ипсилатерального гиппокампа по сравнению со здоровым контролем. Таким образом, структурно-функциональные изменения, происходящие в гиппокампе, предполагают aberrантные процессы и реорганизацию нейронных связей, которые способствуют развитию и/или сохранению симптомов невралгии тройничного нерва [12].

В другом исследовании объемы гиппокампа после интенсивной терапии и лечения нормализовались в основном за счет СА2/СА3, СА4 областей и зубчатой извилины, которые участвуют в консолидации памяти и нейрогенезе [13]. Известно, что у взрослых людей нейрогенез необходим для обучения, сохранения или «забывания» воспоминаний, а снижение нейрогенеза является одним из клеточных механизмов развития депрессивного состояния [14]. Установлена способность мезенхимальных стволовых клеток (МСК) жировой ткани крыс мигрировать вдоль волокон краνιαльных нервов к участкам повреждения в головном мозге. При локализации нейродеструктивных процессов в области задней черепной ямки эффективно введение МСК в область окончаний тройничного нерва, ядра которого расположены в задней черепной ямке [15]. В экспериментах на половозрелых крысах-самцах линии Вистар в модели ВНЧС гистоструктуру и спонтанную электрическую активность в нервной ткани двух подъядер спинального ядра тройничного нерва (Sp5O и Sp5I) исследовали как с ипсилатеральной, так и с контрлатеральной стороны от места инъекции (справа) полного и неполного адьюванта Фрейнда. Установлено, что активация системы Т-хелперов второго типа и базофилов в рецептивных полях мандибулярных ветвей V пары черепно-мозговых нервов может сопровождаться не только нарушением гистоструктуры спинального ядра тройничного нерва, но и изменением условий передачи сигналов в его нейронных сетях. Предполагается, что поиск способов восстановления элементов глии позволит корректировать

установленные структурно-функциональные изменения [16]. Далее было установлено, что инъекция в ВНЧС 50 мкл раствора адьюванта Фрейнда через 7 сут ускоряет «забывание» выработанных условных рефлексов у крыс в тесте «челночная камера» [17]. Однократная инъекция МСК в пространство Меккеля через 10 мин после введения адьюванта Фрейнда способствует сохранности в течение 2 недель выработанного условного рефлекса избегания на уровне фоновых значений. Эффект улучшения процессов формирования памяти сохранялся до 42 сут наблюдения. В практическом аспекте полученные результаты свидетельствуют о важности своевременного лечения и санации ротовой полости. Установленные положительные эффекты МСК в отношении сохранности условных рефлексов избегания при моделировании воспаления ВНЧС обосновывают необходимость дальнейших исследований данного феномена [16, 17].

Цель исследования – уточнить влияние инъекций мезенхимальных стволовых клеток в пространство Меккеля на морфоструктурные особенности мозжечка, ядер тройничного нерва и гиппокампа в модели воспаления височно-нижнечелюстных суставов.

**Материалы и методы исследования.** Животных содержали в стандартных условиях вивария (температура воздуха  $23 \pm 1$  °С, вентиляционный режим 30 мин/ч) при свободном доступе к воде и пище, на одинаковом рационе в соответствии с нормами содержания лабораторных животных, с соблюдением светового и шумового режимов и международных правил биоэтики. Предварительно крыс-самцов линии Вистар адаптировали к экспериментальным условиям и приучали к рукам исследователя. После начала действия наркоза (30 мг/кг нембутала и 500 мг/кг уретана) животным массой тела 300–320 г ( $n = 30$ ) в правый ВНЧС медленно струйно вводили полный адьювант Фрейнда (Calbiochem, Behring Diagnostics, lot № 344289, lot № 2639) или апирогенный физиологический раствор ( $n = 6$ ) в объеме 50 мкл.

В исследовании использовали МСК, выделенные из жировой ткани брюшной полости самок крыс линии Вистар ( $n = 6$ ). МСК культивировали во флаконах на питательной среде F10 (Sigma-Aldrich, США), содержащей 10 % фетальной бычьей сыворотки (Sigma-Aldrich, США). Количество живых клеток в 1 мл клеточной суспензии подсчитывали в камере Горяева. Введение суспензии МСК в пространство Меккеля, где располагается узел Гассера тройничного нерва, осуществляли наркотизированным крысам. Для этого пальпировали ростральный участок скулового отростка верхней челюсти и определяли расположение инфраорбитального отверстия. Затем через это отверстие под углом  $10^\circ$  к срединной плоскости головы вводили стерильную хирургическую иглу (Troge, Германия) диаметром 0,4 мм. Иглу продвигали на 20–22 мм вглубь инфраорбитального канала до входа в пространство Меккеля. После этого осуществляли инъекцию 50 мкл суспензии МСК (концентрация 1,9 млн кл/мл).

Для проведения морфологических исследований нефиксированный мозг после глубокого замораживания (для исключения артефактов) помещали на криостатный блок. Фронтальные срезы мозга толщиной 7 мкм готовили на микротоме-криостате НМ 525 (Microm, Германия). Уровень срезов определяли по стереотаксическому атласу мозга крысы [18]. Для светооптического исследования срезы окрашивали тионином и толуидиновым синим по Нисслю. Криостатные срезы подсушивали на воздухе в течение 2–3 мин, а затем фиксировали в охлажденном 70 %-ном спирте в течение 1 ч. После фиксации срезы промывали в дистиллированной воде и окрашивали толуидиновым синим по Нисслю, согласно протоколу производителя (Biovitrum, Россия), 10 мин. Затем срезы промывали дистиллированной водой, помещали на 5–10 с в дифференцирующий раствор, быстро ополаскивали в 96 %-ном этаноле и заливали новой порцией 96 %-ного этанола на 1–4 мин. Процесс дифференцировки периодически контролировали под микроскопом. Затем препараты обезвоживали в 100 %-ном этаноле 60 с, просветляли в двух порциях ксилола (по 2 мин) и помещали в монтирующую среду.

Изучение микропрепаратов и изготовление микрофотографий осуществляли, используя микроскоп Altamí LUM-1 с цифровой камерой, программным обеспечением и 40-кратным увеличением объектива. На гистологических препаратах, окрашенных по Нисслю, подсчитывали количество нейронов: неизмененных, со слабым изменением структуры, с грубыми нарушениями структуры и клеток-теней. Нейроны были разделены на 4 группы: 1) нейроны нормальные, неизмененные (НН); 2) слабоизмененные нейроны (СН) – в которых сохранилось ядро, но имелись

структурные или тинкториальные нарушения компонентов цитоплазмы (острое набухание, гиперхроматоз, хроматолит, центральная тинкториальная ацидофилия и т. п.); 3) грубоизмененные нейроны (ГН) – сморщенные, с тяжелыми, гомогенизирующими и ишемическими изменениями и т. д.; 4) клетки-тени и нейроны отсутствующие (ОН) – те, которые исчезли, а на их месте остались очаги выпадения, разрежения или скопления глиоцитов [19, 20]. Далее рассчитывали процентное соотношение измененных нейронов и общего числа нейронов данного участка. Тяжесть поражения (ТП), объем поражения (ОП), степень поражения (СП) определяли по следующим формулам:

$$ТП = \frac{(ГН + ОН) \cdot 100}{ГН + ОН + СН + НН}; ОП = \frac{(ГН + ОН + СН) \cdot 100}{ГН + ОН + СН + НН}; СП = \frac{(2ОН + 2ГН + СН) \cdot 100}{2(ГН + ОН + СН + НН)}.$$

После вычисления ТП, ОП и СП подсчитывали процентное отношение нейронов с признаками нейродегенерации к общему числу нейронов, или индекс нейродегенерации (ИНД) [19, 20]. Также вычисляли глиальный индекс (ГИ) – отношение числа глиальных клеток к числу нейронов [19, 20]. Морфологическое исследование областей коры мозжечка, орального (Sp5O) подъядра спинального ядра тройничного нерва, а также СА1, СА2, СА3 и СА4 областей гиппокампа проводили у контрольных животных и на 21, 28, 35, 42 и 49-е сутки у тех крыс, которым внутрисуставно вводили полный адьювант Фрейнда и МСК.

Для статистической обработки данных применяли программы Statistica и Excel. Нормальность распределения определяли с помощью теста Шапиро–Уилка. Данные представляли в виде медианы (нижнего и верхнего квартиля – 25 %–75 %), для межгруппового сравнения использовали тест Манна–Уитни. Результаты считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** *Морфологические изменения в мозжечке крыс после введения полного адьюванта Фрейнда и мезенхимальных стволовых клеток.* Проведена визуальная оценка тинкториальных свойств клеток Пуркинье, их строения, формы и плотности расположения (рис. 1, а) в коре мозжечка. Показателем тяжести дегенеративных процессов служило наличие пикноморфных нейроцитов, клеток-теней, нейронов, подверженных сильной вакуолизации.

На 21-е сутки после введения полного адьюванта Фрейнда в область ВНЧС справа и инъекции МСК в пространство Меккеля справа (рис. 1) наблюдали увеличение плотности расположения клеток Пуркинье в ганглионарном слое по сравнению с контролем – от 20,78 (14,87; 23,96) до 28,45 (25,49; 31,94) мм ( $p < 0,05$ ).

Только к 21-м суткам значительное число нейронов имело грубые структурные изменения, что отражалось в существенном увеличении ИНД (от 16 (0; 25) в контроле до 61 (5; 67),  $p < 0,05$ ), а при дальнейшем наблюдении (с 28-х по 49-е сутки) не выявлено различий в плотности расположения нейронов (рис. 1, с) и значений ИНД по сравнению с контролем. Примечательно, что ГИ не имел существенных различий при всех сроках наблюдения.

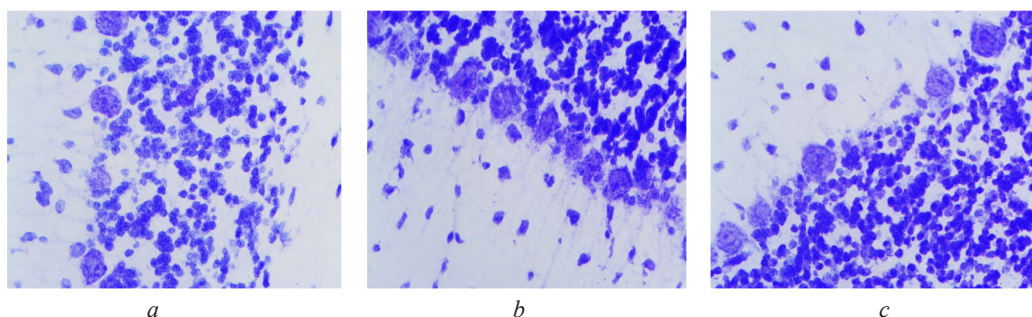


Рис. 1. Клетки Пуркинье в ганглионарном слое коры мозжечка в контроле (а) и в модели воспаления височно-нижнечелюстного сустава крыс-самцов после инъекции в пространство Меккеля мезенхимальных стволовых клеток самок крыс на 21-е (b) и 49-е (c) сутки. Окраска: толуидиновый синий по Ниссли.  $\times 400$

Fig. 1. Purkinje cells in the ganglionic layer of the cerebellar cortex in the control (a) and in the inflammation temporomandibular joint model of male rats after injection of mesenchymal stem cells of female rats into Meckel's space by the 21th day (b) and by the 49th day (c). Staining: Nissl toluidine blue.  $\times 400$

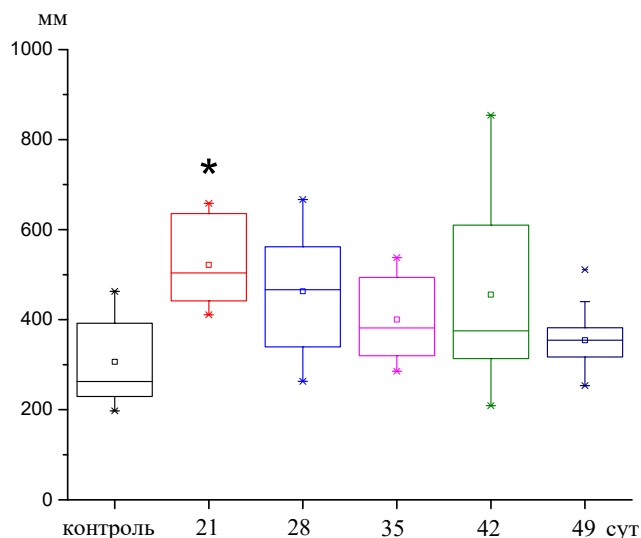


Рис. 2. Динамика средних размеров нейронов в спинальном ядре тройничного нерва крыс после введения полного адьюванта Фрейнда и стволовых клеток. \* – достоверность различий ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем

Fig. 2. Dynamics of average-size neurons in the spinal nucleus of the rat trigeminal nerve after administrating complete Freund's adjuvant and stem cells. \* – significance of differences ( $p < 0.05$ ) compared with control

*Морфологические изменения в спинальном ядре тройничного нерва крыс после введения полного адьюванта Фрейнда и мезенхимальных стволовых клеток.* В спинальном ядре тройничного нерва на 21-е сутки после введения полного адьюванта Фрейнда и МСК визуализировано незначительное увеличение числа нейронов в поле зрения, сопровождавшееся достоверным увеличением средних размеров клеток (с 334,93 (220,84; 414,16) в контроле до 503,58 (436,30; 635,98),  $p < 0,05$ ) (рис. 2).

При этом нейроны имели преимущественно нормальное строение, ИНД не имел значимых отличий от контрольных показателей. Начиная с 28-х суток колебания числа нервных клеток и их размеров были незначительными, а значения ИНД приближались к показателям контроля (рис. 3). Относительное содержание глиальных клеток на протяжении всего эксперимента изменялось не существенно.

*Морфологические изменения в гиппокампе крыс после введения полного адьюванта Фрейнда и мезенхимальных стволовых клеток.* В СА1 области гиппокампа на 21-е сутки после введения ПАФ и стволовых клеток не выявлено изменения плотности расположения нейронов (см. таблицу, рис. 3). С 28-х по 42-е сутки регистрировали увеличение плотности нервных клеток в области СА1 и уменьшение числа измененных нейронов. Результаты согласуются с данными, приведенными в работе [15,] и свидетельствуют о нейропротекторном действии МСК. Изменения ГИ не отмечено.

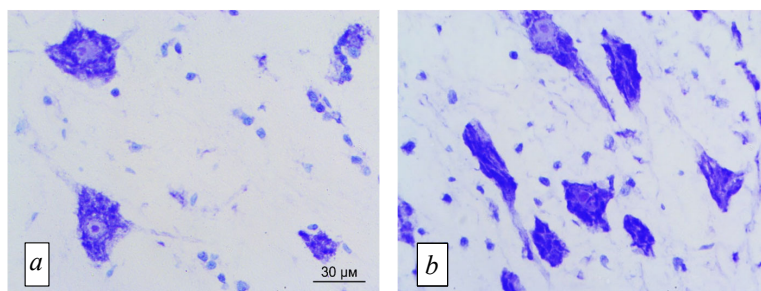


Рис. 3. Нейроны спинального ядра тройничного нерва крыс в контроле (a) и на 28-е сутки после введения полного адьюванта Фрейнда и стволовых клеток (b). Окраска: толуидиновый синий по Нислю.  $\times 400$

Fig. 3. Neurons of the spinal nucleus of the rat trigeminal nerve in the control (a) and the 28th day after administrating complete Freund's adjuvant and stem cells (b). Staining: Nissl toluidine blue.  $\times 400$

**Динамика морфометрических показателей СА областей гиппокампа в модели воспаления височно-нижнечелюстного сустава после введения полного адьюванта Фрейнда и мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани крыс**  
**Dynamics of morphometric indices of SA of the hippocampal regions in the temporomandibular joint inflammation model after administrating complete Freund's adjuvant and mesenchymal stem cells of adipose tissue of rats**

Показатель	Контроль	21-е сутки	28-е сутки	35-е сутки	42-е сутки	49-е сутки
<i>СА1 область гиппокампа</i>						
Плотность, мм <sup>2</sup>	4094,34 (3930,15; 4698,88)	3958,44 (3579,61; 4909,53)	4859,74 (4401,68; 5146,83)*	5177,51 (4467,02; 5407,56)*	5633,37 (5021,64; 5903,81)*	4905,41 (4602,63; 4979,81)
ИНД	30 (25; 36)	60 (51; 68)*	41 (28; 51)	36 (25; 52)	37 (30; 43)	39 (33; 46)
ГИ	0,18 (0,13; 0,23)	0,20 (0,18; 0,35)	0,18 (0,11; 0,25)	0,13 (0,11; 0,20)	0,12 (0,08; 0,18)	0,13 (0,09; 0,20)
<i>СА2 область гиппокампа</i>						
Плотность, мм <sup>2</sup>	2126,02 (1852,82; 2710,83)	2523,67 (2153,82; 2712,84)	2762,77 (2373,11; 2973,06)	2512,95 (2418,48; 2712,00)	2390,18 (2137,05; 2538,16)	2655,50 (2209,74; 2885,87)
ИНД	57 (40; 60)	92 (76; 97)*	78 (67; 86)*	76 (68; 83)*	58 (51; 0,67)	57 (52; 67)
ГИ	0,31 (0,22; 0,34)	0,53 (0,20; 0,82)	0,54 (0,43; 0,58)*	0,32 (0,24; 0,40)	0,35 (0,22; 0,55)	0,38 (0,28; 0,46)
<i>СА3 область гиппокампа</i>						
Плотность, мм <sup>2</sup>	2194,66 (2080,60; 2399,76)	2860,63 (2343,65; 2964,23)	3227,77 (2764,99; 3862,13)*	3130,17 (2905,02; 3438,43)*	2851,10 (2745,76; 3137,49)*	2517,39 (2322,36; 2774,56)*
ИНД	42 (26; 55)	70 (48; 80)*	71 (49; 83)*	66 (52; 76)*	59 (45; 65)	51 (43; 71)
ГИ	0,33 (0,30; 0,46)	0,26 (0,22; 0,38)	0,63 (0,55; 0,74)*	0,48 (0,41; 0,62)	0,38 (0,32; 0,46)	0,44 (0,24; 0,47)
<i>СА4 область гиппокампа</i>						
Плотность, мм <sup>2</sup>	1891,52 (1697,51; 2053,66)	2397,71 (2000,79; 2725,26)	2770,19 (2456,11; 3098,69)*	2521,54 (2061,14; 2860,71)*	3063,56 (2442,58; 3332,46)*	2034,85 (1960,01; 2302,36)
ИНД	40 (36; 48)	72 (63; 90)*	68 (55; 79)*	62 (50; 73)*	76 (67; 88)*	68 (55; 81)*
ГИ	0,37 (0,29; 0,42)	0,71 (0,52; 0,82)*	0,67 (0,56; 0,75)*	0,56 (0,50; 0,75)	0,44 (0,32; 0,53)	0,52 (0,45; 0,73)

Примечание. \* – достоверность различий ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем.

В области СА2 гиппокампа на 21–35-е сутки эксперимента отмечали значительный прирост ИНД ( $p < 0,05$ ), а следовательно, и дегенеративных изменений нервных клеток (см. таблицу). Содержание глиальных клеток значительно увеличилось только на 35-е сутки ( $p < 0,05$ ). Плотность расположения нейронов не претерпевала достоверных колебаний в период с 21-х по 49-е сутки после экспериментальных манипуляций.

В СА3 области гиппокампа с 28-х по 49-е сутки включительно выявлено значительное увеличение плотности расположения нейронов (см. таблицу, рис. 4). ИНД был значимо повышен с 21-х по 35-е сутки эксперимента ( $p < 0,05$ ), а количество глиальных клеток – только на 28-е сутки после введения полного адьюванта Фрейнда в ВНЧС и МСК в пространство Меккеля (см. таблицу).

В СА4 области гиппокампа (см. таблицу) существенное увеличение плотности расположения нейронов в период с 28-х по 35-е сутки сопровождалось значительными дегенеративными

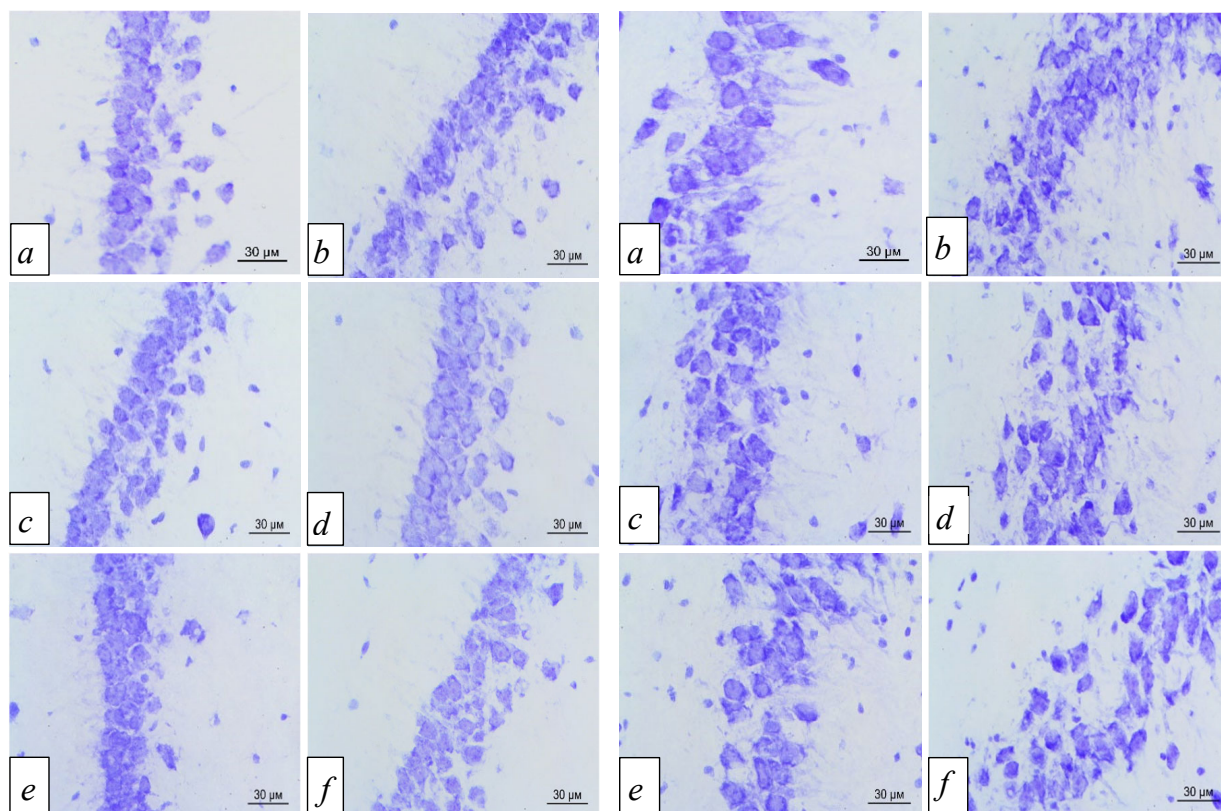


Рис. 4. Гистоструктура CA1 области (слева) и CA3 области (справа) гиппокампа крыс после введения полного адьюванта Фрейнда и стволовых клеток. *a* – контроль, *b* – 21-е сутки, *c* – 28-е сутки, *d* – 35-е сутки, *e* – 42-е сутки, *f* – 49-е сутки. Окраска: толуидиновый синий по Нисслю.  $\times 400$

Fig. 4. Histostructure of the CA1 region (left) and the CA3 region (right) of the rat hippocampus after administrating complete Freund's adjuvant and stem cells. *a* – control; *b* – 21st day; *c* – 28th day; *d* – 35th day; *e* – 42nd day; *f* – 49th day. Staining: Nissl toluidine blue.  $\times 400$

изменениями клеток ( $p < 0,05$ ). Следует отметить, что ИНД во все сроки наблюдения был повышен ( $p < 0,05$ ), а количество глии было увеличено на 21–28-е сутки после экспериментальных инъекций ( $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Данные о том, что все исследуемые области гиппокампа, мозжечка и ядер тройничного нерва к 21-м суткам имеют повышенный индекс нейродегенерации, коррелируют с ранее полученными результатами об ухудшении у крыс воспроизведения выработанного условного рефлекса избегания в челночной камере [17]. Следует отметить, что в модели воспаления височно-нижнечелюстного сустава воспроизведение выработанного условного рефлекса избегания ухудшается на неделю раньше, чем естественный процесс его угасания. В этих условиях однократная инъекция мезенхимальных стволовых клеток в пространство Меккеля значимо улучшала процессы запоминания, о чем свидетельствовало повышение периода сохранности выработанного инструментального рефлекса в среднем до 42 сут [17].

Установлено, что отмечаемые начиная с 28-х суток процессы восстановления в CA1 области гиппокампа, для которых характерно значительное увеличение плотности расположения нейронов, в дальнейшем могут привести к его полному восстановлению. Значимое и длительное возрастание индекса нейродегенерации в CA4 области гиппокампа свидетельствует о наибольшей чувствительности этого отдела к развитию воспалительных процессов и может быть обусловлено близостью к зубчатой извилине, ответственной за нейрогенез. Известно, что CA4 область гиппокампа прилегает к воротам зубчатой извилины, состоящей из зернистых клеток, аксоны которых (мшистые волокна) связывают зубчатую извилину и гиппокамп (CA4/CA3) [21]. В то же время в CA3 и CA2 областях гиппокампа к 42-м суткам наблюдалось улучшение структуры нервной ткани.

Таким образом, введение мезенхимальных стволовых клеток в пространство Меккеля на фоне инъекции полного адьюванта Фрейнда в правый нижний височно-челюстной сустав в значительной степени способствует восстановлению структуры ганглионарного слоя мозжечка, спинального ядра тройничного нерва и гиппокампа крыс.

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

### Список использованных источников

1. Jokubauskas, L. Relationship between obstructive sleep apnoea syndrome and sleep bruxism: a systematic review / L. Jokubauskas, A. Baltrušaitytė // *J. Oral Rehabil.* – 2017. – Vol. 44, N 2. – P. 144–153. <https://doi.org/10.1111/joor.12468>
2. Sleep bruxism is highly prevalent in adults with obstructive sleep apnea: a large-scale polysomnographic study / D. Li [et al.] // *J. Clin. Sleep Med.* – 2023. – Vol. 19, N 3. – P. 443–451. <https://doi.org/10.5664/jcsm.10348>
3. Анализ функционального состояния мышц челюстно-лицевой области у стоматологических пациентов с признаками бруксизма в сочетании с синдромом обструктивного апноэ во сне / С. П. Рубникович [и др.] // Докл. НАН Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 3. – С. 341–349.
4. The influence of trigeminocardiac reflex on postoperative cardiac adverse events in patients undergoing cerebellopontine angle tumor resections: a case-control study / Y. Zhao [et al.] // *World Neurosurg.* – 2023. – Vol. 172. – P. e291–e298. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2023.01.010>
5. González, A. G. Sleep Apnea-Hypopnea Syndrome and Sleep Bruxism: A Systematic Review / A. G. González, J. Montero, C. G. Polo // *J. Clin. Med.* – 2023. – Vol. 12, N 3. – Art. 910. <https://doi.org/10.3390/jcm12030910>
6. Down syndrome: orofacial pain, masticatory muscle hypotonia, and sleep disorders / B. Diciere-Pereira [et al.] // *Sleep.* – 2022. – Vol. 45, N 11. – Art. zsac181. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsac181>
7. Рубникович, С. П. Современные методы ортопедического лечения в комплексной реабилитации пациентов с мышечно-суставными дисфункциями в сочетании с признаками бруксизма / С. П. Рубникович, А. С. Грищенко, Ю. Л. Денисова // *Стоматолог.* – 2020. – № 2. – С. 55–63.
8. Surgical management of post-traumatic trigeminal neuralgia – case report and review of the literature / D. E. Bandary [et al.] // *J. Oral Maxillofac. Surg.* – 2022. – Vol. 80, N 2. – P. 214–222. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2021.08.266>
9. Sanner, F. Acute right-sided facial pain: a case report / F. Sanner // *Int. Endod. J.* – 2010. – Vol. 43, N 2. – P. 154–162. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2009.01654.x>
10. Incidence of trigeminal neuralgia: A population-based study in Central Sweden / T. S. Wettervik [et al.] // *Eur. J. Pain.* – 2023. – Vol. 27, N 5. – P. 580–587. <https://doi.org/10.1002/ejp.2081>
11. Somatosensory and trigeminal pathway abnormalities in Chinese patients with trigeminal neuralgia / Y. Li [et al.] // *Odontology.* – 2023. – Vol. 111, N 1. – P. 217–227. <https://doi.org/10.1007/s10266-022-00737-1>
12. Selective hippocampal subfield volume reductions in classic trigeminal neuralgia / M. F. Vaculik [et al.] // *Neuroimage: Clin.* – 2019. – Vol. 23. – Art. 101911. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2019.101911>
13. Pain relief reverses hippocampal abnormalities in trigeminal neuralgia / A. Noorani [et al.] // *Pain.* – 2022. – Vol. 23, N 1. – P. 141–155. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2021.07.004>
14. Altman, J. Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb / J. Altman // *J. Comp. Neurol.* – 1969. – Vol. 137, N 4. – P. 433–457. <https://doi.org/10.1002/cne.901370404>
15. Миграция периневрально введенных мезенхимальных стволовых клеток после травмы разной локализации у крыс / Ю. П. Токальчик [и др.] // *Новости мед.-биол. наук.* – 2018. – Т. 18, № 1. – С. 135–142.
16. Гладкова, Ж. А. Изучение структурно-функциональных особенностей спинального ядра тройничного нерва в модели воспаления височно-нижнечелюстных суставов крыс / Ж. А. Гладкова, Т. Е. Кузнецова, С. Г. Пашкевич // *Новости мед.-биол. наук.* – 2021. – Т. 21, №2. – С. 42–50.
17. Особенности процессов запоминания в модели воспаления височно-нижнечелюстного сустава / Г. П. Мирнова [и др.] // *Новости мед.-биол. наук.* – 2022. – Т. 22, № 1. – С. 174–179.
18. Paxinos, Y. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* / Y. Paxinos, C. Watson. – San Diego : Acad. Press, 1998. 256 p.
19. Молекулярная нейроморфология. Нейродегенерация М75 и оценка реакции нервных клеток на повреждение / Д. Э. Коржевский [и др.] ; под ред. Д. Э. Коржевского. – СПб. : СпецЛит, 2015. – 110 с.
20. Чубинидзе, А. И. К методике гистологического (морфологического) определения степени поражения центральной нервной системы / А. И. Чубинидзе // *Архив патологии.* – 1972. – № 11. – С. 77–78.
21. Different mossy fiber sprouting patterns in ILAE hippocampal sclerosis types / B. Schmeiser [et al.] // *Epilepsy Res.* – 2017. – Vol. 136. – P. 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2017.08.002>

### References

1. Jokubauskas L., Baltrušaitytė A. Relationship between obstructive sleep apnoea syndrome and sleep bruxism: a systematic review. *Journal of Oral Rehabilitation*, 2017, vol. 44, no. 2, pp. 144–153. <https://doi.org/10.1111/joor.12468>
2. Li D., Kuang B., Lobbezoo F., de Vries N., Hilgevoord A., Aarab G. Sleep bruxism is highly prevalent in adults with obstructive sleep apnea: a large-scale polysomnographic study. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 2023, vol. 19, no. 3, pp. 443–451. <https://doi.org/10.5664/jcsm.10348>



3. Rubnikovich S. P., Baradina I. N., Denisova Yu. L., Samuilov I. V., Davydov M. V., Kul'chitskii V. A. Analysis of the functional state of the muscles of the maxillofacial region in dental patients with signs of bruxism in combination with obstructive sleep apnea. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 3, pp. 341–349 (in Russian).
4. Zhao Y., Wang J., Li M., Ma T., Zhang X., Xu X., Zeng M., Peng Y. The influence of trigeminocardiac reflex on post-operative cardiac adverse events in patients undergoing cerebellopontine angle tumor resections: a case-control study. *World Neurosurgery*, 2023, vol. 172, pp. e291–e298. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2023.01.010>
5. González A. G., Montero J., Polo C. G. Sleep apnea-hypopnea syndrome and sleep bruxism: A systematic review. *Journal of Clinical Medicine*, 2023, vol. 12, no. 3, art. 910. <https://doi.org/10.3390/jcm12030910>
6. Diceri-Pereira B., Gomes M. F., Giannasi L. C., Nacif S. R., Oliveira E. F., Salgado M. A. C., de Oliveira Amorim J. B., Oliveira W., Bressane A., de Mello Rode S. Down syndrome: orofacial pain, masticatory muscle hypotonia, and sleep disorders. *Sleep*, 2022, vol. 45, no. 11, art. zsac181. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsac181>
7. Rubnikovich S. P., Grishchenkov A. S., Denisova Yu. L. Modern methods of orthopedic treatment in the complex rehabilitation of patients with muscular-articular dysfunctions in combination with signs of bruxism. *Stomatolog [Dentist]*, 2020, no. 2, pp. 55–63 (in Russian).
8. Bandary D. E., Lustofin S. V., McLaren J. R., Dillon J. K. Surgical management of post-traumatic trigeminal neuralgia – case report and review of the literature. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 2022, vol. 80, no. 2, pp. 214–222. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2021.08.266>
9. Sanner F. Acute right-sided facial pain: a case report. *International Endodontic Journal*, 2010, vol. 43, no. 2, pp. 154–162. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2009.01654.x>
10. Wettervik T. S., Snel D., Kristiansson P., Ericson H., Hamdeh S. A. Incidence of trigeminal neuralgia: A population-based study in Central Sweden. *European Journal of Pain*, 2023, vol. 27, no. 5, pp. 580–587. <https://doi.org/10.1002/ejp.2081>
11. Li Y., Yang G., Zhai X., Kang Y., Xie Q.-F. Somatosensory and trigeminal pathway abnormalities in Chinese patients with trigeminal neuralgia. *Odontology*, 2023, vol. 111, no. 1, pp. 217–227. <https://doi.org/10.1007/s10266-022-00737-1>
12. Vaculik M. F., Noorani A., Hung P. S.-P., Hodaie M. Selective hippocampal subfield volume reductions in classic trigeminal neuralgia. *NeuroImage: Clinical*, 2019, vol. 23, art. 101911. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2019.101911>
13. Noorani A., Hung P. S.-P., Zhang J. Y., Sohng K., Laperriere N., Moayedi M., Hodaie M. J. Pain relief reverses hippocampal abnormalities in trigeminal neuralgia. *Pain*, 2022, vol. 23, no. 1, pp. 141–155. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2021.07.004>
14. Altman J. Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. *Journal of Comparative Neurology*, 1969, vol. 137, no. 4, pp. 433–457. <https://doi.org/10.1002/cne.901370404>
15. Tokal'chik Yu. P., Pashkevich S. G., Navitskaya V. V., Shan'ko Yu. G. Migration of perineurally injected mesenchymal stem cells after trauma of different localization in rats. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of biomedical sciences*, 2018, vol. 18, no. 1, pp. 135–142 (in Russian).
16. Gladkova Zh. A., Kuznetsova T. E., Pashkevich S. G. Study of the structural and functional features of the spinal nucleus of the trigeminal nerve in the model of inflammation of the temporomandibular joints in rats. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of biomedical sciences*, 2021, vol. 21, no. 2, pp. 42–50 (in Russian).
17. Mironova G. P., Kuz'menko E. V., Pashkevich S. G., Serdyuchenko N. S. Features of memory processes in the model of inflammation of the temporomandibular joint. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of biomedical sciences*, 2022, vol. 22, no. 1, pp. 174–179 (in Russian).
18. Paxinos Y., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. San Diego, Academic Press, 1998. 256 p.
19. Korzhhevskii D. E., Grigor'ev I. P., Kolos E. A., Sukhorukova E. G., Kirik O. V., Alekseeva O. S., Gusel'nikova V. V. *Molecular neurodegeneration. M75 neurodegeneration and assessment of the response of nerve cells to damage*. Sankt-Peterburg, SpetsLit Publ., 2015. 110 p. (in Russian).
20. Chubininidze A. I. To the method of histological (morphological) determination of the degree of damage to the central nervous system. *Arkhiv patologii [Archive of pathology]*, 1972, no. 11, pp. 77–78 (in Russian).
21. Schmeiser B., Li J., Brandt A., Zentner J., Doostkam S., Freiman T. M. Different mossy fiber sprouting patterns in ILAE hippocampal sclerosis types. *Epilepsy Research*, 2017, vol. 136, pp. 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2017.08.002>

## Информация об авторах

Пашкевич Светлана Георгиевна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: skupasht@mail.ru

Рубникович Сергей Петрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, ректор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rubnikovich@mail.ru

## Information about the authors

Svetlana G. Pashkevich – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: skupasht@mail.ru

Sergey P. Rubnikovich – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Rector. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rubnikovichs@mail.ru

*Кузнецова Татьяна Евгеньевна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tania\_k@mail.ru

*Кузьменко Елена Викторовна* – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: elena-stom@yandex.ru

*Миронова Галина Павловна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

*Тихонович Ольга Геннадьевна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tixon-ol@mail.ru

*Гладкова Жанна Анатольевна* – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: gladkova\_z@mail.ru

*Жогаль Ксения Николаевна* – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ksenya.zhogal@gmail.com

*Сердюченко Николай Сергеевич* – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, науч. консультант. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: temporo@mail.ru

*Грищенков Арсений Сергеевич* – канд. мед. наук, доцент, ст. преподаватель. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ip.arseny@gmail.com

*Tatyana E. Kuznetsova* – Ph. D. (Biol.). Leading Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tania\_k@mail.ru

*Elena V. Kuzmenko* – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (Brovka Str., 3/3, 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: elena-stom@yandex.ru

*Galina P. Mironova* – Ph. D. (Biol.). Leading Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

*Olga G. Tikhonovich* – Ph. D. (Biol.). Leading Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tixon-ol@mail.ru

*Zhanna A. Gladkova* – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: gladkova\_z@mail.ru

*Kseniya N. Zhogal* – Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ksenya.zhogal@gmail.com

*Nikolay S. Serdyuchenko* – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, scientific consultant. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: temporo@mail.ru

*Arseny S. Grishchenkov* – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Senior Lecturer. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ip.arseny@gmail.com