

Хондроитина сульфат оказывает антиноцицептивное и нейропротективное действие при нейропатической боли, вызванной хронической компрессией, у крыс за счет повышения концентрации противовоспалительных молекул и снижения окислительного стресса

Реферативный перевод

Источник: International Journal of Health Sciences Vol. 15, Issue 5 (September — October 2021)

Olutayo Folajimi Olaseinde, Bamidele Victor Owoyele

ВВЕДЕНИЕ

Нейропатическая боль (НБ) — хроническое состояние, возникающее в результате повреждения соматосенсорной системы [1]. Связанные с ней симптомы включают гипералгезию и аллодинию. Несмотря на огромные достижения в методах лечения НБ, эффективное лечение пациентов с этим инвалидирующим состоянием остается сложным [2]. Таким образом, необходимо изучить эффективные и безопасные варианты лечения НБ.

Накопленные данные показывают роль реакционноспособных соединений кислорода (РСК) и воспалительных цитокинов в прогрессировании НБ [3]. Повреждение нервов стимулирует высвобождение посредников воспаления, таких как фактор некроза

опухоли (ФНО) — α и интерлейкин (ИЛ) — 1β [4]. Также сообщается, что при НБ активируется ядерный фактор (NF) — κB , играющий значительную роль в воспалительном процессе [5]. Блокада воспалительных цитокинов облегчает гипералгезию и аллодинию, вызванные повреждением нерва.

Традиционные способы лечения НБ приносят ограниченную пользу и обладают несколькими побочными эффектами, в том числе атаксия, потеря веса, расстройства настроения и невнятная речь, что препятствует правильному соблюдению режима лечения и снижает эффективность снижения боли [6]. Таким образом, исследователи ищут альтернативные методы с меньшими побочными явлениями. Моделирование НБ при помощи хронической ком-

прессионной травмы (ХКТ) широко применяется для определения эффективности потенциальных препаратов для облегчения НБ. ХКТ относительно просто индуцировать, и она вызывает повышенную болевую чувствительность, которая устойчива, стабильна и длится не менее 1 месяца после инициации [7]. В одной работе сообщается, что ХКТ вызывает активацию иммунных клеток, а также выработку некоторых посредников воспаления [8]. Эти посредники воспаления играют ключевые роли в прогрессировании нейропатии [9]. В исследованиях сообщается о взаимосвязи между содержанием ФНО- α и С-реактивного белка (СРБ) у пациентов с нейропатией [10]. Таким образом, исследование эффектов провоспалительных и противовоспалительных посредников, а также антиоксидантов, при лечении в экспериментах с моделированием ХКТ может сыграть ключевую роль в изучении патологической физиологии НБ. Такие исследования могут дать информацию о новых мишенях для обезболивающих препаратов [11].

Хондроитина сульфат (ХС), член семейства галактозаминогликанов (ГалАГ), применяется как медленно действующий симптоматический препарат для лечения остеоартрита в связи со своими хондропротективными и противовоспалительными свойствами [12]. ГалАГ обладают широким спектром биологической активности, значимой с медицинской точки зрения, включая рост и дифференциацию клеток [12–15]. В связи с большим количеством значимых биологических эффектов ГалАГ многие исследователи в настоящее время изучают их. Механизм облегчения боли под действием ХС не до конца ясен. Хотя Nemoto и соавт. [16] при помощи частичного лигирования седалищного нерва (ЧЛСН) у мышей показали, что антиноцицептивное действие ХС обусловлено подавлением фосфорилирования р38 MAPK в спинном мозге и активацией А β -волокон.

В настоящем исследовании оценивалось, эффективен ли ХС против НБ, индуцированной ХКТ, путем оценки поведения, характерного для боли, биохимических и гистологических параметров. Результаты этого исследования могут быть полезны для разработки эффективного лечения на основе ХС для лечения НБ.

ПЛАН ЭКСПЕРИМЕНТА

Животных распределяли на 6 групп ($n = 5$ крыс на группу): (1) Контрольная группа без лигирования: крысам в этой группе вводили физиологический раствор (12 мл/кг внутрь) вместо активного препарата. (2) Группа имитации процедуры: крысам этой группы делали разрез кожи и нижележащих тканей и ушивали без лигирования нерва. Животным вводили физиологический раствор (12 мг/кг внутрь) вместо препарата. (3) Группа ХКТ: у крыс индуцировали повреждение седалищного нерва путем хронического сдавливания и вводили физиологический раствор. (4) Группа ХС1: животным накладывали лигатуру и вводили низкую дозу ХС (600 мг/кг внутрь). (5) Группа ХС2: животным накладывали лигатуру и вводили высокую дозу ХС (900 мг/кг внутрь). (6) Группа ИМИ: животным накладывали лигатуру и вводили имипрамин (10 мг/кг внутрь) в качестве стандарта.

Для вызывания хронической боли у крыс моделировали нейропатию путем ХКТ на основе хорошо описанной модели [18]. Крысам вводили пентобарбитал натрия для наркоза (90 мг/кг в/б) и сбрасывали шерсть в нижней части спины. Выбриту область дезинфицировали 70 % изопропиловым спиртом и раствором йода. Делали разрез на коже правой задней конечности и обнажали седалищные нервы под бедренной мышцей (рис. 1а). На седалищные нервы накладывали четыре лигатуры для сдавливания нерва с промежутком 1 мм (рис. 1б). Кожу животных из контрольной группы с имитацией процедуры (ИП) и бедренную мышцу надрезали для обнажения

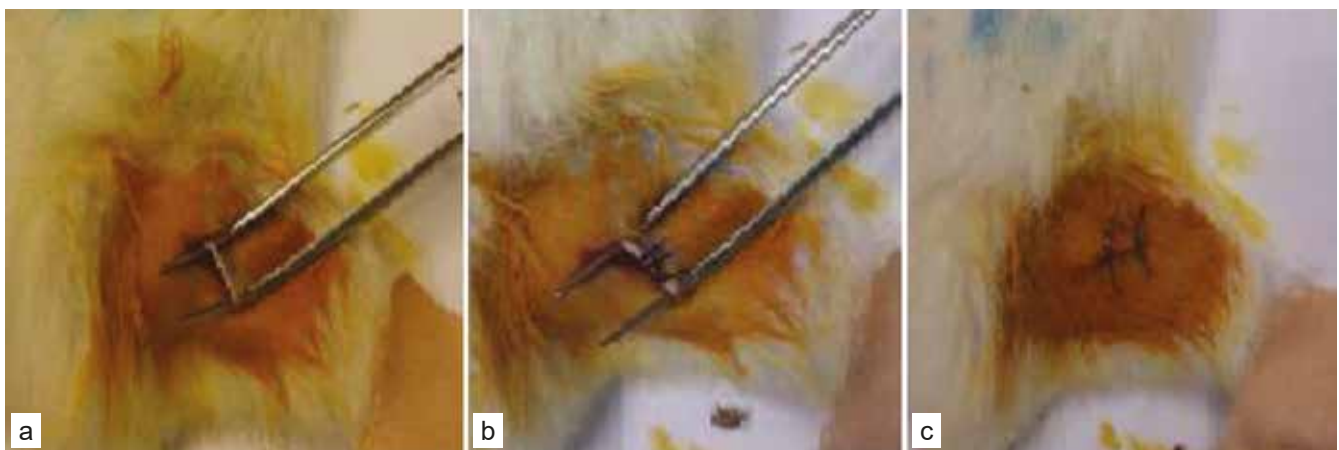


Рисунок 1. Индукция хронической компрессионной травмы: (а) обнаженный седалищный нерв, (б) лигированный правый седалищный нерв, (с) шов на коже правой задней конечности.

седалищных нервов, но не лигировали нерв. Затем кожу ушивали хромированным кетгутом 4,0 (рис. 1с). Контрольным крысам без лигатур разрез не делали [19]. Оценку гиперчувствительности к боли проводили за 2 дня до ХКТ и на 3-й, 7-й, 14-й, 21-й дни после ХКТ во всех группах.

Порог ноцицепции до индукции (До-И или Исх.) оценивали (за 2 дня до ХКТ) при помощи нити фон Фрея, чтобы определить исходный порог, порог ноцицепции после индукции (После-И) оценивали через 3 дня после ХКТ и затем на 10, 17 и 24 дни после начала введения препарата.

Оценки поведения, указывающего на НБ, состояли из трех тестов: механическая аллодиния, термическая гипералгезия и холодовая аллодиния. Проводился специальный гистологический анализ [25] на основании следующих параметров: анализ, компоненты нерва, такие как эпиневрий, периневрий и эндоневрий, а также нервные волокна, наличие воспалительных инфильтратов, Шванновские клетки, фибробласты и кровеносные сосуды. В седалищном нерве определяли активность супероксиддисмутазы, каталазы (КАТ) и малонового диальдегида (МДА). Проводили также определение оксида азота и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в головном мозге. Активность кальцитонин-ген-родственного пептида (КГРП) и СРБ в сыворотке определяли в гомогенате

ткани мозга с помощью набора реактивов производства Bioassay Technology Laboratory (Шанхай, Китай). ИЛ-6, ФНО- α и NF- κ B-p65 в сыворотке определяли с помощью набора для ИФА производства Elabscience (США).

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Данные поведенческих тестов анализировали с помощью двухфакторного дисперсионного анализа с использованием множественных апостериорных сравнений Тьюки. Для сравнения между разными группами биомаркеров использовали однофакторный дисперсионный анализ с последующим апостериорным критерием Тьюки с использованием программы Graph Pad Prism 8. $P < 0,05$ считали статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка механической аллодинии и температурной гипералгезии

В таблице 1 показано значимое ($P < 0,0004$) различие болевого порога при механическом воздействии на конечность с противоположной процедуре стороны в контрольной группе без лигирования (КБЛ) ($16,83 \pm 0,33$ в сравнении с $14,00 \pm 0,76$) и группе ИП ($16,17 \pm 0,33$ в сравнении с $14,00 \pm 0,76$) по сравнению с крысами после ХКТ. В табл. 2 показано значимое

Таблица 1. ХС обращал аллодинию противоположной конечности.

	КБЛ	ИП	ЛК	ХС1	ХС2	ИМИ
Исх.	$16,8 \pm 0,3$	$16,2 \pm 0,3$	$17,0 \pm 0,2$	$16,5 \pm 0$	$17,0 \pm 0,2$	$16,5 \pm 0,3$
День 3	$16,8 \pm 0,3$	$16,2 \pm 0,3$	$14,0 \pm 0,8^*$	$14,3 \pm 0,7$	$14,0 \pm 0,9^*$	$14,2 \pm 1,1$
День 10	$16,3 \pm 0,3$	$16,2 \pm 0,6$	$13,3 \pm 0,9^*\#$	$13,3 \pm 1,1^*\#$	$15,3 \pm 0,8$	$13,3 \pm 1,3^*\#$
День 17	$15,6 \pm 0,4$	$15,8 \pm 0,4$	$12,6 \pm 0,7^*\#$	$15,3 \pm 0,8$	$16,0 \pm 0,3^\dagger$	$12,3 \pm 0,9^*\#$
День 24	$16,8 \pm 0,3$	$15,8 \pm 0,3$	$12,3 \pm 0,3^*\#$	$16,7 \pm 0,3^\dagger$	$17,2 \pm 0,2^\dagger$	$13,0 \pm 1,2^*\#$

Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего ($n = 5$) по оценке с помощью двухпараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. $^*\#^\dagger P < 0,05$, значимо в сравнении с *КБЛ. #=ИП, † =ЛК. Исх.: исходный порог. ХС — хондроитина сульфат.

Таблица 2. ХС обращал аллодинию конечности со стороны проведения процедуры.

	КБЛ	ИП	ЛК	ХС1	ХС2	ИМИ
Исх.	$16,7 \pm 0,4$	$16,3 \pm 0,3$	$17,0 \pm 0,2$	$16,3 \pm 0,2$	$16,7 \pm 0,5$	$16,3 \pm 0,2$
День 3	$16,7 \pm 0,4$	$16,0 \pm 0,3$	$13,0 \pm 0,7^{**}$	$13,0 \pm 0,7^{**}$	$12,5 \pm 0,7^{**}$	$13,0 \pm 0,6^{**}$
День 10	$16,3 \pm 0,2$	$16,0 \pm 0,6$	$12,0 \pm 0,9^{**}$	$12,3 \pm 0,7^*\#$	$13,8 \pm 0,6^*$	$13,0 \pm 0,7^{**}$
День 17	$15,8 \pm 0,3$	$15,5 \pm 0,4$	$12,0 \pm 0,8^{**}$	$15,0 \pm 0,9^\dagger$	$15,3 \pm 0,2^\dagger$	$12,5 \pm 0,8^{**}$
День 24	$16,7 \pm 0,4$	$15,0 \pm 0,4$	$11,7 \pm 0,4^{**}$	$15,8 \pm 0,7^\dagger$	$16,2 \pm 0,2^\dagger$	$12,5 \pm 0,8^{**}$

Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего ($n = 5$) по оценке с помощью двухпараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. $^*\#^\dagger P < 0,05$, значимо в сравнении с *КБЛ. #=ИП, † =ЛК. Исх.: порог в исходный момент. ХС: Хондроитина сульфат.

($P < 0.0001$) различие болевого порога при механическом воздействии на конечность с той же стороны, на которой проводилась процедура, в контрольной группе без лигирования (КБЛ) ($16,67 \pm 0,40$ в сравнении с $13,00 \pm 0,72$) и группе ИП ($16,02 \pm 0,35$ в сравнении с $13,00 \pm 0,72$) по сравнению с крысами после ХКТ. ХС в низкой дозе (ХС1) в значительной степени обращал механическую аллодинию противоположной конечности на 17 день после ХКТ ($15,33 \pm 0,83$ в сравнении с $12,67 \pm 0,70$) и 24 день после ХКТ

($16,67 \pm 0,31$ в сравнении с $12,33 \pm 0,31$), как показано в табл. 1А. Подобным образом, ХС в высокой дозе (ХС2) в значительной степени обращал механическую аллодинию конечности с противоположной стороны на 17 день после ХКТ ($17,17 \pm 0,21$ в сравнении с $12,33 \pm 0,31$) и 24 день после ХКТ ($17 \pm 0,31$ в сравнении с $12,33 \pm 0,31$), как показано в табл. 1А. Кроме того, ХС в низкой дозе (ХС1) в значительной степени обращал механическую аллодинию конечности с той же стороны, где проводилась процеду-

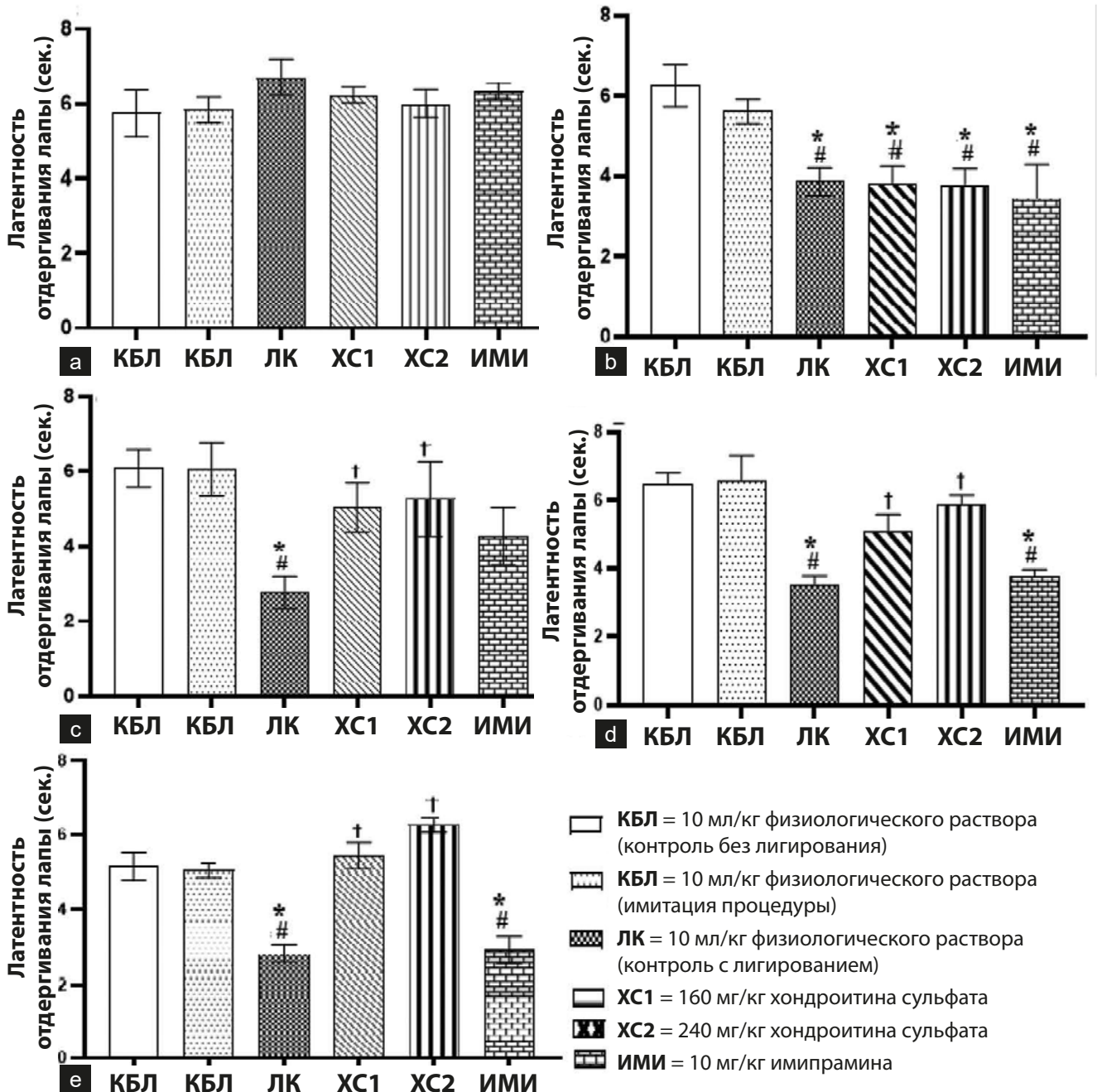
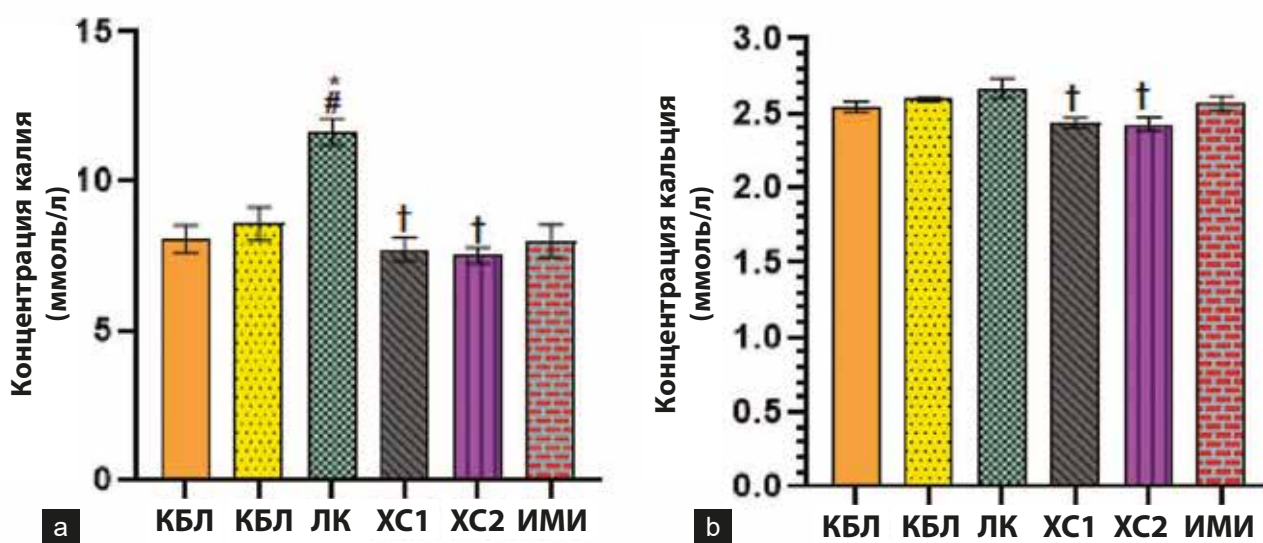


Рисунок 2. Хондроитина сульфат обращал температурную гипералгезию при нейропатической боли, индуцированной сдавливанием седалищного нерва. (а) Температурный тест до операции, (б) Температурный тест на 3 день после операции, (с) Температурный тест на 10 день после операции, (д) Температурный тест на 17 день после операции, (е) Температурный тест на 24 день после операции. Данные выражены как среднее \pm стандартная ошибка среднего ($n = 5$) по оценке с помощью двухпараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. *#† $P < 0,05$, значимо в сравнении с *=КБЛ, #=ИП, †=ЛК.

ра, на 17 день после ХКТ ($15,00 \pm 0,99$ и $11,67 \pm 0,83$) и 24 день после ХКТ ($15,83 \pm 0,67$ в сравнении с $11,33 \pm 0,40$), как показано на рис. 2b. Подобным образом, ХС в высокой дозе (ХС2) в значительной степени обращал механическую аллодинию конечности с той же стороны на 17 день после ХКТ ($15,33 \pm 0,17$ в сравнении с $11,67 \pm 0,83$) и 24 день после ХКТ ($16,17 \pm 0,21$ в сравнении с $11,33 \pm 0,40$), как показано в табл. 1В. Введение имипрамина (10 мг/кг) не вызвало значимых различий в пороге отдергивания лапы по сравнению с группой ХКТ.

На рис. 3 показано, что применение ХС значительно ($P < 0,0001$) снижало температурную гипералгезию, на что указывало повышение порога отдергивания лапы при температурном воздействии у крыс после ХКТ. Процедура моделирования ХКТ значительно повышала температурную гипералгезию, о чем свидетельствовало значительное ($P < 0,0001$) снижение порога отдергивания лапы у крыс, перенесших ХКТ ($3,85 \pm 0,34$ с), по сравнению с контролями без лигирования

(КБЛ) ($6,26 \pm 0,52$ с) и группой ИП ($5,61 \pm 0,30$ с) через 3 дня после лигирования (рис. 2). Значительное ($P < 0,0001$) снижение порога отдергивания лапы при температурном воздействии в группе ХКТ было очевидно до 21 дня по сравнению с контрольными животными без лигирования и группой ИП (рис. 2). Значительное повышение латентности отдергивания лапы при температурном воздействии у крыс из группы ХС1 наблюдали на 10 день ($5,03 \pm 0,67$ в сравнении с $2,76 \pm 0,43$ с), 17 день ($5,10 \pm 0,49$ в сравнении с $3,51 \pm 0,26$ с) и 24 день ($5,43 \pm 0,34$ в сравнении с $2,80 \pm 0,23$ с) после ХКТ по сравнению с лигированными контрольными животными (ЛК). Кроме того, значительное повышение латентности отдергивания лапы при температурном воздействии у крыс из группы ХС2 наблюдали на 10 день ($5,26 \pm 0,41$ в сравнении с $2,76 \pm 0,43$ с), 17 день ($5,90 \pm 0,25$ в сравнении с $3,51 \pm 0,26$ с) и 24 день ($6,26 \pm 0,20$ в сравнении с $2,80 \pm 0,23$ с) после ХКТ по сравнению с лигированными контрольными животными (рис. 2a-с, соответственно).



- КБЛ** = 10 мл/кг физиологического раствора (контроль без лигирования)
- КБЛ** = 10 мл/кг физиологического раствора (имитация процедуры)
- ЛК** = 10 мл/кг физиологического раствора (контроль с лигированием)
- ХС1** = 160 мг/кг хондроитина сульфата
- ХС2** = 240 мг/кг хондроитина сульфата
- ИМИ** = 10 мг/кг имипрамина

Рисунок 3: Хондроитина сульфат обращал изменение концентрации калия (а) и кальция (b) в сыворотке крыс. Данные выражены как среднее \pm стандартная ошибка среднего ($n = 5$) по оценке с помощью однопараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. * $\#$ † $P < 0,05$, значимо в сравнении *КБЛ, #=ИП, †=ЛК.

Оценка холодовой аллодинии

Введение ХС значительно ($P < 0,0001$) ослабляло холодовую аллодинию на той же конечности у крыс, оценивавшуюся при помощи капли ацетона (табл. 4 и 6). Это было очевидно по снижению оценки реакции конечности с той же стороны, где проводилась процедура, в группе ХС1 на 17 день после ХКТ ($0,83 \pm 0,48$ в сравнении с $2,67 \pm 0,33^0$) и 24 день после ХКТ ($1,00 \pm 0,37$ в сравнении с $3,00 \pm 0,00^0$) (табл. 4) и частоте реакций конечности со стороны проведения процедуры на 17 день после ХКТ ($23,33 \pm 15,85$ в сравнении с $93,33 \pm 6,67\%$) и 24 день после ХКТ ($20,00 \pm 7,30$ в сравнении с $100,00 \pm 0,00\%$) (табл. 6). Это было очевидно по снижению оценки реакции конечности со стороны проведения процедуры в группе ХС0.67 на 17 день после ХКТ ($0,67 \pm 0,21$ в сравнении с $2,67 \pm 0,33^0$) и 24 день после ХКТ ($1,00 \pm 0,49$ в сравнении с $3,00 \pm 0,00^0$) (табл. 4) и частоте реакций конечности со стороны проведения процедуры на 17 день после ХКТ ($13,33 \pm 4,22$ в сравнении с $93,33 \pm 6,67\%$) и 24 день после ХКТ ($20,00 \pm 16,33$ в сравнении с $100,00 \pm 0,00\%$) (табл. 4). ХКТ приводила к холодовой аллодинии конечности со стороны проведения процедуры у крыс на 3 день после ХКТ по сравнению с контрольной группой без лигирования (КБЛ) и контрольной группой имитации процедуры (ИП). На это указывало снижение оценки реакции ($2,17 \pm 0,48^0$) и частоты реакции

($83,33 \pm 6,15\%$) на конечности с той же стороны в группе лигированных контрольных животных (ЛК) на 3 день после ХКТ по сравнению с оценкой реакции КБЛ ($0,17 \pm 0,17^0$) и ИП ($0,17 \pm 0,17^0$) и частотой реакции в КБЛ ($3,33 \pm 3,33\%$) и ИП ($3,33 \pm 3,33\%$) (табл. 4 и 6). Однако на противоположной конечности крыс после ХКТ не было обнаружено признаков холодовой аллодинии в сравнении с нелигированными контрольными животными и группой ИП (табл. 3 и 5).

Влияние ХС на ионы калия и кальция

У крыс, перенесших лигирование, показано значительное ($P < 0,0001$) ($11,65 \pm 0,44$ ммоль/л) повышение концентрации ионов калия в сыворотке по сравнению с животными без лигирования ($8,06 \pm 0,46$ ммоль/л) и группой ИП ($8,57 \pm 0,55$ ммоль/л) (рис. 3а). Введение ХС1 и ХС2 значительно снижало концентрацию ионов калия ($7,71 \pm 0,40$ ммоль/л и $7,51 \pm 0,26$ ммоль/л, соответственно) в сыворотке крыс по сравнению с лигированной контрольной группой ($11,65 \pm 0,44$ ммоль/л) (рис. 3а). Кроме того, у крыс, которым вводили имипрамин (10 мг/кг), также значительно ($7,99 \pm 0,55$ ммоль/л) снизилась концентрация ионов калия в сыворотке по сравнению с лигированными контрольными крысами. Кроме того, концентрация ионов кальция у крыс из лигированной

Таблица 3. Влияние ХС на оценку реакции лапы с противоположной стороны при тесте с каплей ацетона.

	КБЛ	ИП	ЛК	ХС1	ХС2	IMI
Исх.	$0,17 \pm 0,2$	$0,3 \pm 0,2$	$0,3 \pm 0,2$	$0,17 \pm 0,2$	$0,16 \pm 0,2$	$0,16 \pm 0,2$
День 3	$0,3 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0$	$0,8 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$
День 10	$0,3 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,5$	$0,67 \pm 0,5$
День 17	$0,3 \pm 0,2$	$0,3 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0$	$0,3 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0$
День 24	$0,3 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0$	$0,5 \pm 0,2$	$0,16 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,5^{**}$

Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего ($n = 5$) по оценке с помощью двухпараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. * $\dagger P < 0,05$, значимо в сравнении с *КБЛ, #=ИП. Исх.: порог в исходный момент. ХС: Хондроитина сульфат

Таблица 4. Влияние ХС на оценку реакции лапы со стороны проведения процедуры при тесте с каплей ацетона.

	КБЛ	ИП	ЛК	ХС1	ХС2	IMI
Исх.	$0,3 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$0,3 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$
День 3	$0,17 \pm 0,2$	$0,17 \pm 0,2$	$2,17 \pm 0,5^{**}$	$2,5 \pm 0,2^{**}$	$2,7 \pm 0,2^{**}$	$2,7 \pm 0,2^{**}$
День 10	$0,3 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,26$	$2,5 \pm 0,3^{**}$	$1,7 \pm 0,2^*$	$2,5 \pm 0,3^{**}$	$1,8 \pm 0,3^*$
День 17	$0,17 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,3^{**}$	$0,8 \pm 0,4^\dagger$	$0,67 \pm 0,2^\dagger$	$2,3 \pm 0,5^{**}$
День 24	$0,3 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0^{**}$	$1,0 \pm 0,4^\dagger$	$0,67 \pm 0,5^\dagger$	$3 \pm 0^{**}$

Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего ($n = 5$) по оценке с помощью двухпараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. * $\dagger P < 0,05$, значимо в сравнении с *КБЛ, #=ИП, \dagger =ЛК. Исх.: порог в исходный момент. ХС: Хондроитина сульфат.

контрольной группы ($2,67 \pm 0,07$ ммоль/л) была значительно повышена по сравнению с группой ХС1 ($2,44 \pm 0,03$ ммоль/л) и группой ХС2 ($2,43 \pm 0,05$ ммоль/л) ($P < 0,009$) (рис. 3б).

Влияние ХС на пероксидное окисление липидов

Концентрация МДА в гомогенате лигированного седалищного нерва повысилась ($11,81 \pm 1,36$ мкМ) значительно ($P < 0,0001$) по сравнению с животными без лигирования ($5,13 \pm 0,62$ мкМ) и животными из группы ИП ($5,44 \pm 0,38$ мкМ). У крыс в группах ХС1

и ХС2 показано значительное снижение ($7,85 \pm 0,62$ и $7,03 \pm 0,25$ мкМ, соответственно) концентрации МДА по сравнению с лигированными контрольными животными ($11,81 \pm 1,36$ мкМ) в гомогенате седалищного нерва (рис. 4а).

Влияние ХС на антиоксидантные ферменты

Общая антиоксидантная способность (ОАС) сыворотки, а также активность КАТ и супероксиддисмутазы (СОД) в седалищном нерве значительно ($P < 0,05$) повысилась у крыс, получавших

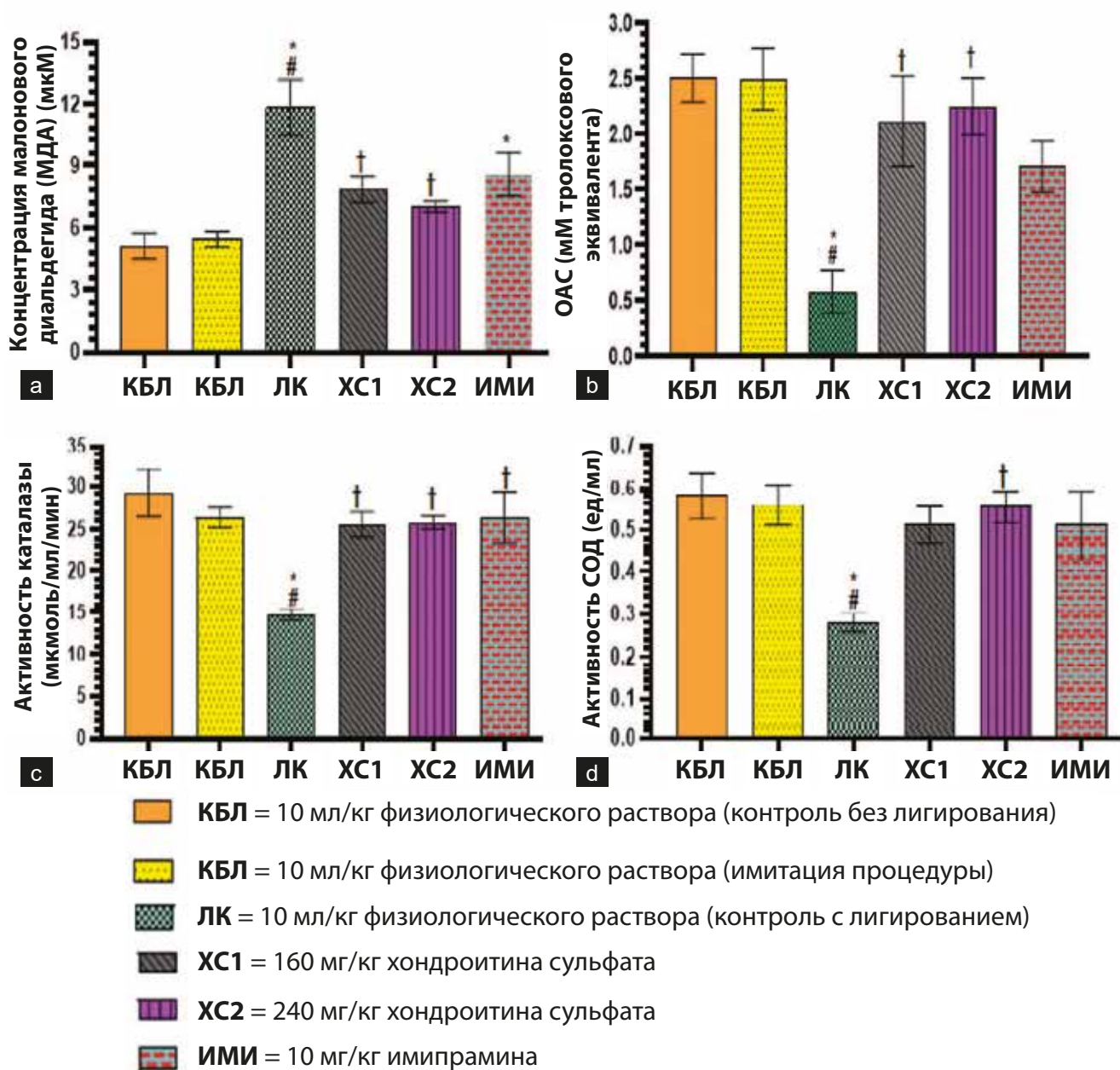


Рисунок 4. Хондроитина сульфат нормализовал пероксидное окисление липидов и активность антиоксидантных ферментов у крыс. (а) Концентрация МДА в седалищном нерве, (б) ОАС сыворотки, (в) Концентрация КАТ в седалищном нерве, (д) Концентрация СОД в седалищном нерве. Данные выражены как среднее \pm стандартная ошибка среднего ($n = 5$) по оценке с помощью однопараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. * $\#$ † $P < 0,05$, значимо в сравнении с *КБЛ, #=ИП, †=ЛК. КАТ: каталаза; СОД: супероксиддисмутаза; ОАС: общая антиоксидантная способность.

ХС (600 мг/кг и 900 мг/кг по сравнению с контрольными лигированными крысами (рис. 4b-d). ОАС в сыворотке лигированных контрольных крыс была значительно ($P < 0,0004$) снижена ($0,59 \pm 0,19$ мМ) по сравнению с нелигированными контрольными крысами ($2,51 \pm 0,21$ мМ), ИП ($2,50 \pm 0,28$ мМ) и крысами, получавшими ХС. У крыс, получавших ХС в низкой (ХС1) и высокой (ХС2) дозе, показано значительное повышение ($P < 0,0004$) ОАС ($2,12 \pm 0,41$ и $2,25 \pm 0,26$ мМ) по сравнению с лигированными контрольными крысами ($0,59 \pm 0,19$ мМ) (рис. 4b).

Активность КАТ в гомогенате лигированного седалищного нерва крыс из групп ХС1 и ХС2 ($25,58 \pm 1,47$ и $25,79 \pm 0,76$ мкмоль/мл/мин, соответственно) значительно повысилась ($P < 0,005$) по сравнению с лигированными контрольными крысами ($14,74 \pm 0,67$ мкмоль/мл/мин) (рис. 4с). Активность СОД в гомогенате лигированного седалищного нерва крыс, получавших ХС в дозе 900 мг/кг ($0,56 \pm 0,04$ ед/мл) значительно повысилась ($P < 0,003$) по сравнению с лигированными контрольными крысами ($0,28 \pm 0,02$ ед/мл) (рис. 4d).

Влияние ХС на С-реактивный белок и кальцитонин-ген-родственный пептид (КГРП)

Концентрация СРБ и КГРП в сыворотке лигированных контрольных крыс значительно повысилась по сравнению с нелигированными и получавшими ХС крысами. Концентрация СРБ в сыворотке крыс из групп ХС1 и ХС2 ($0,43 \pm 0,03$ нг/мл и $0,39 \pm 0,03$ нг/мл соответственно) значительно снизилась ($P < 0,0001$) по сравнению с лигированными контрольными крысами ($0,61 \pm 0,03$ нг/мл) (рис. 5b).

У крыс, получавших имипраимид 10 мг/кг, показано значительное снижение концентрации СРБ ($0,47 \pm 0,02$ нг/мл) по сравнению с лигированными контрольными крысами ($0,61 \pm 0,03$ нг/мл). Концентрация КГРП в сыворотке крыс из группы ХС2 значительно снизилась ($P < 0,0006$) ($178,17 \pm 30,62$ пг/мл) по сравнению с лигированными контрольными крысами ($310,01 \pm 16,28$ пг/мл) (рис. 5с).

Влияние ХС на оксид азота и ЛДГ в головном мозге

Концентрация оксида азота (NO) в гомогенатах головного мозга лигированных контрольных крыс была значительно ($P < 0,0004$) снижена

Таблица 5. Влияние ХС на частоту реакции лапы с противоположной стороны при тесте с каплей ацетона

	КБЛ	ИП	ЛК	ХС1	ХС2	IMI
Исх.	6,7 ± 4,2	6,7 ± 4,2	6,7 ± 4,2	6,7 ± 4,2	6,7 ± 4,2	3,3 ± 3,3
День 3	6,7 ± 4,2	13,3 ± 6,7	36,7 ± 12,0*	50,0 ± 4,50**	40,0 ± 10,3*	30,0 ± 14,4
День 10	6,7 ± 4,2	10,5 ± 4,5	20,0 ± 5,2	13,3 ± 6,7	23,3 ± 13,1	20,0 ± 13,7
День 17	6,7 ± 4,2	6,7 ± 4,2	24,3 ± 5,4	6,7 ± 4,2	10,0 ± 4,5	26,7 ± 4,2
День 24	6,7 ± 4,2	10,0 ± 4,5	26,7 ± 4,2	10,0 ± 4,5	3,3 ± 3,3	26,7 ± 8,4**

Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего ($n = 5$) по оценке с помощью двухпараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. ** $P < 0,05$, значимо в сравнении с *КБЛ. #=ИП. Исх.: порог в исходный момент. ХС: Хондроитина сульфат.

Таблица 6. Влияние ХС на частоту реакции той же лапы со стороны проведения процедуры при тесте с каплей ацетона.

	КБЛ	ИП	ЛК	ХС1	ХС2	IMI
Исх.	10,0 ± 6,8	13,3 ± 4,2	10,0 ± 4,5	10,0 ± 6,8	13,3 ± 6,7	13,3 ± 4,2
День 3	3,3 ± 3,3	3,3 ± 3,3	83,3 ± 6,1,0*#	90,0 ± 6,8*#	93,3 ± 4,2*#	93,3 ± 4,2*#
День 10	6,7 ± 4,2	20,0 ± 5,2	90,0 ± 6,8*#	50,0 ± 11,3*†	80,0 ± 13,7*#	63,3 ± 12,0*#
День 17	3,3 ± 3,3	10,0 ± 6,8	93,3 ± 6,7*#	23,3 ± 15,8†	13,3 ± 4,2†	76,7 ± 16,7*#
День 24	6,7 ± 4,2	10,0 ± 4,5	100,0 ± 0*#	20,0 ± 7,3†	20,0 ± 16,3†	100,0 ± 0*#

Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего ($n = 5$) по оценке с помощью двухпараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. ** $P < 0,05$, значимо в сравнении с *КБЛ. #=ИП. Исх.: порог в исходный момент. ХС: Хондроитина сульфат.

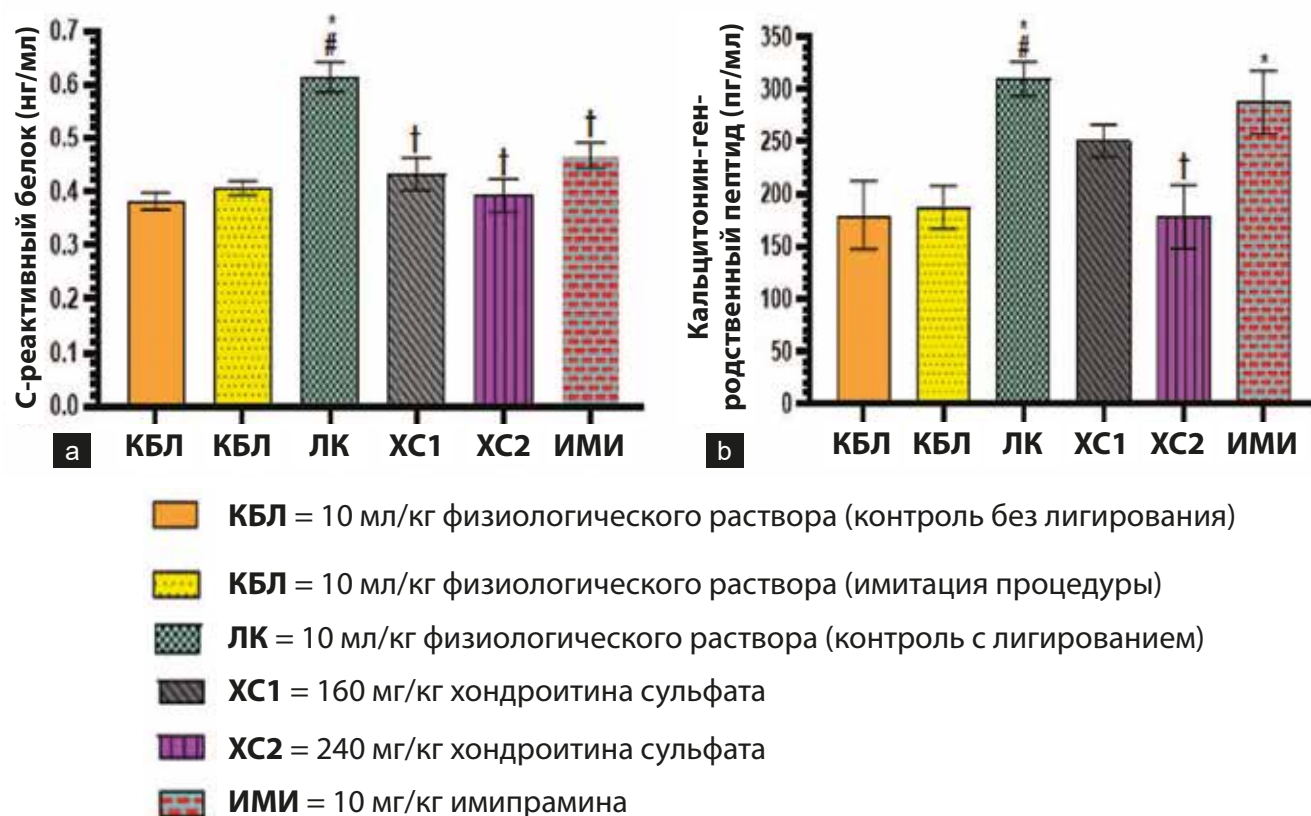


Рисунок 5. Хондроитина сульфат обращал изменение концентрации С-реактивного белка и кальцитонин-ген-родственного пептида (КГРП), в сыворотке крыс (а) С-реактивный белок, (б) КГРП. Данные выражены как среднее ± стандартная ошибка среднего ($n = 5$) по оценке с помощью однопараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. * $\#$ † $P < 0,05$, значимо в сравнении с *КБЛ, #=ИП, †=ЛК.

($5,39 \pm 0,32$ мкМ) по сравнению с нелигированными контрольными крысами ($9,60 \pm 0,61$ мкМ) и крысами, получавшими ХС ($9,25 \pm 0,78$ мкМ). Концентрации NO в головном мозге крыс в группе ХС1 ($8,70 \pm 0,96$ в сравнении с $5,39 \pm 0,32$ мкМ) и ХС2 ($9,44 \pm 0,56$ в сравнении с $5,39 \pm 0,32$ мкМ) были значительно ($P < 0,0004$) повышены по сравнению с лигированными контрольными животными (рис. 6а). Активность ЛДГ в головном мозге крыс в группе ХС1 ($376,23 \pm 51,27$ Ед/л в сравнении с $631,03 \pm 14,48$ Ед/л) и ХС2 ($245,85 \pm 28,70$ в сравнении с $631,03 \pm 14,48$ Ед/л) были значительно ($P < 0,0001$) повышены по сравнению с лигированными контрольными животными (рис. 6б).

Влияние ХС на интерлейкин-6 (ИЛ-6), ФНО- α и ядерный фактор каппа-В-р65 (NF- κ B-р65) в сыворотке

Концентрация ИЛ-6 в сыворотке лигированных контрольных крыс ($1,73 \pm 0,14$ нг/л) и крыс, получавших 10 мг/кг имипрамида ($2,08 \pm 0,13$ нг/л) были значительно ($P < 0,0001$) снижены по сравнению с нелигированными контрольными животными ($2,84 \pm 0,09$ нг/л) и животными, получав-

шими ХС ($2,69 \pm 0,15$ нг/л). Концентрация ИЛ-6 в группах ХС1 и ХС2 была значительно повышена ($2,45 \pm 0,13$ и $2,62 \pm 0,02$ нг/л, соответственно) по сравнению с лигированными контрольными крысами ($1,73 \pm 0,14$ нг/л) (рис. 7а). Концентрации ФНО- α в сыворотке у лигированных контрольных крыс ($60,27 \pm 3,94$) были значительно повышены по сравнению с нелигированными ($43,91 \pm 1,44$) и получавшими ХС крысами ($44,43 \pm 1,78$ нг/л). Концентрация ФНО- α в сыворотке крыс из групп ХС1 и ХС2 была значительно ($P < 0,0001$) снижена ($50,36 \pm 0,71$ нг/л и $47,85 \pm 1,84$ нг/л в сравнении с $60,27 \pm 3,94$ нг/л, соответственно) по сравнению с лигированными контрольными крысами [рис. 7б]. Концентрации NF- κ B-р65 в сыворотке у лигированных контрольных крыс ($0,96 \pm 0,02$ нг/мл) были значительно ($P < 0,005$) повышены по сравнению с нелигированными ($0,79 \pm 0,01$) и получавшими ХС крысами ($0,80 \pm 0,05$ нг/мл). Концентрация NF- κ B-р65 в сыворотке крыс из групп ХС1 и ХС2 была значительно ($P < 0,005$) снижена ($0,82 \pm 0,02$ нг/л и $0,82 \pm 0,03$ нг/л в сравнении с $0,96 \pm 0,02$ нг/л, соответственно) по сравнению с лигированными контрольными крысами (рис. 7с).

Влияние ХС на гистологические особенности седалищного нерва

Гистологическое исследование седалищного нерва нелигированных и перенесших имитацию процедуры крыс показало правильно организованные миелиновые пласты, наличие круглых аксонов и отсутствие клеточной инфильтрации (рис. 8а и б), в лигированных седалищных нервах крыс, не получавших препарат, обнаружено несколько зон отека, клеточная инфильтрация (полиморфные клетки и лимфоциты), значительное воспаление, вакуолизация, деградация миелиновых пластов (миелиновые эллипсоиды) (рис. 8с), у крыс с лигированным седалищным нервом, получавших ХС в дозе 600 и 900 мг/кг, отек, вакуолизация, клеточная инфильтрация и нарушения организации миелиновых пластов были выражены меньше, чем у лигированных крыс, не получавших ХС (рис. 8д и е), у лигированных крыс, получавших имипрамин 10 мг/кг (рис. 8ф), обнаружен менее выраженный отек, вакуолизация, клеточная инфильтрация и более правильная организация миелиновых пластов, чем у крыс с лигированным седалищным нервом, не получавших препараты.

ОБСУЖДЕНИЕ

Моделирование ХКТ на грызунах широко используется в качестве модели повреждения нерва, сопровождающегося аллодинией и гипералгией [18, 31]. НБ вызывается сдавливанием седалищного нерва четырьмя свободными лигатурами [18].

ХС — наиболее распространенные компоненты циркулирующих ГалАГ, которые встречаются у человека в наибольшем количестве. Они присутствуют в соединительной ткани [31]. Предыдущие работы показали, что ХС оказывают благоприятное действие при воспалении атеросклеротических бляшек в результате ожирения [32] и при воспалительных заболеваниях кишечника [33]. Показано, что ХС, отдельно [28] или в сочетании с глюкозамином [34], облегчает боль при остеоартрите. Кроме того, сообщалось, что ХС облегчает индуцированную формалином постоянную тактильную аллодинию [35]. Также сообщалось, что введение ХС подавляет индуцированную ЧЛСН тактильную аллодинию [16]. Антиноцицептивный эффект ХС и возможные механизмы с особым вниманием к антиоксидантным свойствам изучались на крысах Вистар. В этом исследовании также изуча-

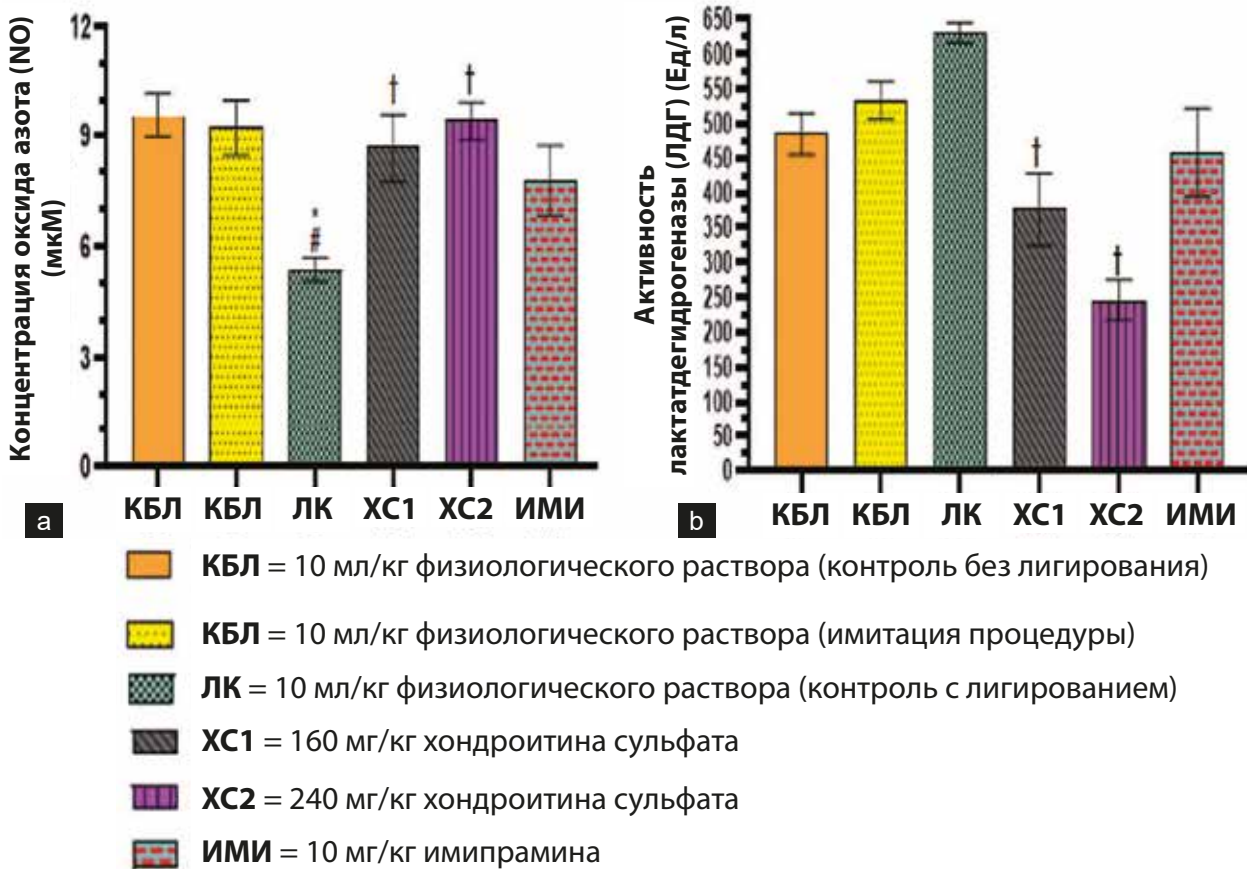


Рисунок 6. Хондроитина сульфат нормализовал концентрацию оксида азота (NO) и активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в головном мозге (а) концентрация NO и (б) активность ЛДГ у крыс. Данные выражены как среднее ± стандартная ошибка среднего (n = 5) по оценке с помощью однопараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. *#†P < 0,05, значимо в сравнении с *КБЛ, #=ИП, †=ЛК

ли роль цитокинов и других медиаторов боли в антиноцицептивных эффектах ХС.

Механическая гиперчувствительность [21, 26, 36] и температурная гиперчувствительность, наблюдаемые при НБ, можно моделировать в исследованиях на животных [37, 38]. Тест с ацетоном можно использовать в качестве мультимодального раздражителя с целью доказательства измененной обработки ноцицептивной информации при ХКТ [39, 40].

В этом исследовании моделировали НБ при помощи ХКТ, чтобы оценить влияние ХС на аллодинию и гипералгезию и степень индукции НБ у крыс посредниками воспаления. Было отмечено, что индукция ХКТ приводила к развитию значительной механической аллодинии, температурной гипералгезии и холодовой аллодинии после операции. Однако

ХС ослаблял индуцированные ХКТ изменения поведения, в том числе указывающие на механическую аллодинию, температурную гипералгезию и холодовую аллодинию в зависимости от дозы. Эти данные дают основания полагать, что ХС эффективно ослабляет симптомы НБ в виде механической аллодинии, температурной гипералгезии и холодовой аллодинии в модели ХКТ. Наблюдаемый эффект ХС в виде ослабления индуцированной ХКТ механической аллодинии может быть обусловлен ингибированием фосфорилирования p38 MAPK в спинном мозге и активацией А β -волокон, как описано Nemoto и соавт. [16]. В этой работе также показано, что ХС эффективно облегчает симптомы механической аллодинии, температурной гипералгезии и холодовой аллодинии при НБ, индуцированной ХКТ. Результаты

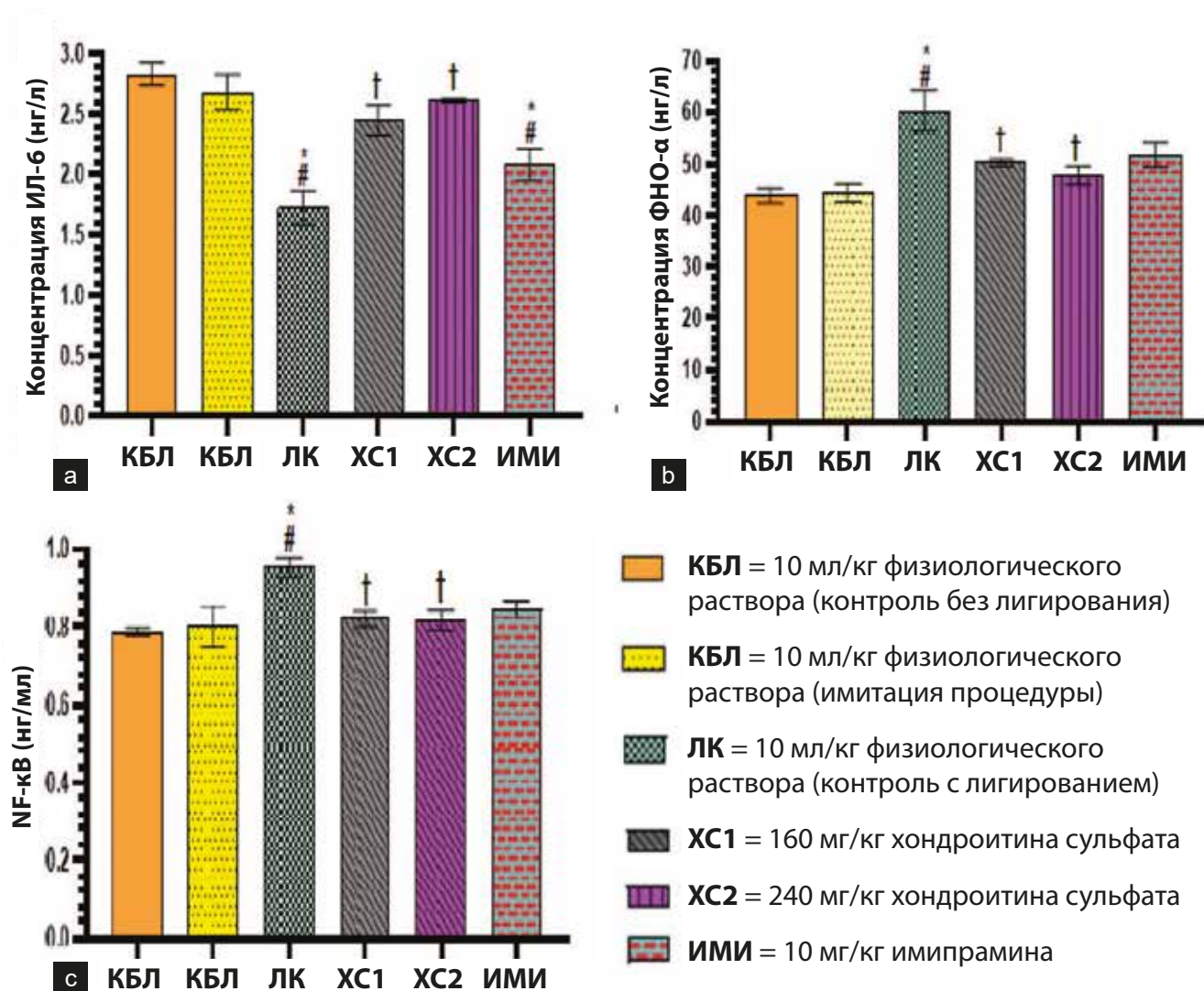


Рисунок 7. Хондроитина сульфат нормализовал концентрацию воспалительных цитокинов (а) интерлейкина-6 (б) фактора некроза опухолей (ФНО) — α (с) NF- κ B у крыс. Данные выражены как среднее \pm стандартная ошибка среднего ($n = 5$) по оценке с помощью однопараметрического дисперсионного анализа и затем апостериорного критерия Тьюки. *#† $P < 0,05$, значимо в сравнении с *КБЛ, #=ИП, †=ЛК. КБЛ: контроли без лигирования; ИП: имитация процедуры; ЛК: лигированные контроли; ХС1: хондроитина сульфат 600 мг/кг; ХС2: хондроитина сульфат 900 мг/кг; ИМИ: имипрамин 10 мг/кг

этого исследования также дают основания полагать, что обезболивающий эффект ХС сильнее, чем у 10 мг/кг имипрамина.

Перед хирургической процедурой индукции ХКТ ни у одного из животных не было каких-либо симптомов холодовой аллодинии, температурной гипералгезии или механической аллодинии как на той же стороне, где проводилось вмешательство, так и на противоположной стороне.

Механическая аллодиния, определяемая при помощи нити фон Фрея после ХКТ и наблюдавшаяся в этом исследовании, описана в разных источниках [41, 42]. Для изучения поведения, характерного для боли, у животных часто применяется температурное раздражение [43]. Преимущества температурного раздражения включают относительно постоянные пороги в разных частях тела, различные психофизические и физиологические исследования, четко установившие диапазоны температур, приводящие к тепловой ноцицепции и лежащие в основе механизмы. Таким образом, реакция на болезненные температурные раздражители остается одним из действительных и лучших поведенческих инструментов для изучения боли у животных.

Сообщалось, что патологическая физиология нарушения нервной системы, НБ и диабетическая нейро-

патия связаны с аномальной экспрессией и функцией Ca^{2+} каналов [44]. В этом исследовании гиперкальцемия, то есть состояние повышенной концентрации ионов Ca^{2+} в крови, наблюдалось в контрольной группе крыс с лигированным нервом (не получавших препарат). ХС снижал повышенную концентрацию Ca^{2+} у крыс с ХКТ. Сообщалось, что повышение внеклеточной концентрации свободного Ca^{2+} или облегчение его потока через мембрану снижает антиноцицептивное действие опиоидов. С другой стороны, снижение внеклеточной концентрации свободного Ca^{2+} или его трансмембранного потока повышает антиноцицептивное действие опиоидов или способствует антиноцицепции само по себе [45, 46].

Гиперкалиемия, состояние повышенной внеклеточной концентрации иона калия (K^+), возникает при ограничении выведения калия почками в результате уменьшения скорости клубочковой фильтрации потока через канальцы, доставки натрия в дистальные нефроны или экспрессии чувствительных к альдостерону переносчиков ионов в дистальном нейроне [47]. Появляющиеся доказательства показывают, что гиперкалиемия может влиять на возбудимость нейронов и, следовательно, способствовать периферической нейропатии [38, 47, 48]. Нормальное электрофизиологическое состояние можно восстановить

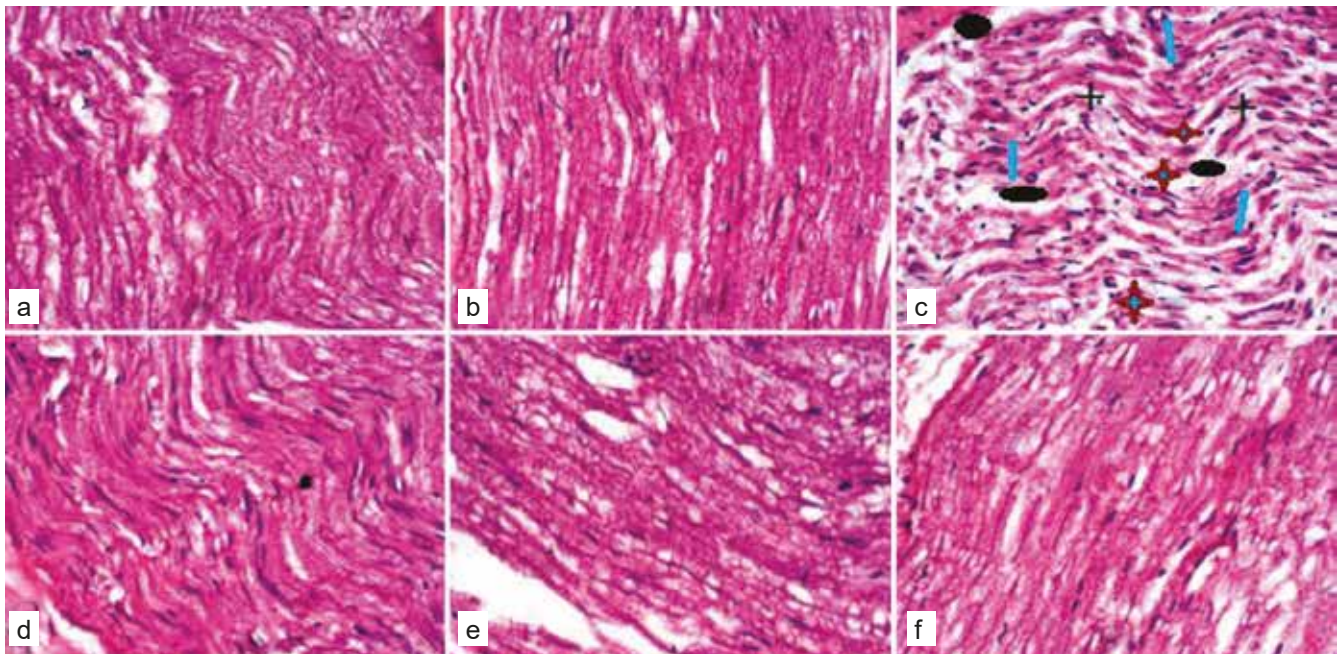


Рисунок 8. Гистологический анализ седалищного нерва крыс на 22 день после операции. (а и б) в нелигированном седалищном нерве крыс миелиновые пласты были правильно организованы, аксоны имели округлую форму и отсутствовала клеточная инфильтрация; (с) в лигированных седалищных нервах крыс, не получавших препарат, присутствует несколько зон отека (черная сфера), клеточная инфильтрация (полиморфные клетки и лимфоциты) (+) (значительная инфильтрация), вакуолизация (*), деградированные пласты миелина (миелиновые эллипсоиды) (i); (d) лигированные седалищные нервы крыс, получавших 600 мг/кг (е) и 900 мг/кг (h) лигированные седалищные нервы крыс, получавших имипрамин 10 мг/кг. На d-f отек уменьшен, организация миелиновых пластов более правильная, снижена вакуолизация и клеточная инфильтрация по сравнению с лигированными нервами животных, не получавших препарат. Окрашивание гематоксилином и эозином.

путем снижения концентрации К⁺ в сыворотке [38]. Данные этого исследования показали, что концентрация К⁺ в сыворотке лигированных крыс, не получавших препарат, была значительно повышена, а введение ХС снижало ее. Подтверждено, что гиперкалиемия может быть фактором риска периферической нейропатии [38, 47].

Роль свободных радикалов в патологических состояниях у людей подтверждена многими исследованиями [49, 50]. Полагают, что окислительный стресс клеток и тканей напрямую связан с повышенным содержанием супероксидных радикалов. Реакция избытка супероксида с СОД приводит к образованию большого количества внутриклеточного пероксида водорода. Пероксидное окисление клеточных мембран в организме ведет к образованию МДА, что может дополнительно усилить повреждение мембраны [51]. Концентрация МДА — достоверный маркер пероксидного окисления липидов, косвенно показывающий степень повреждения клеток свободными радикалами [52, 53].

В этом исследовании лечение ХС снижало повышенную концентрацию МДА и нормализовало активность КАТ, супероксиддисмутазы и ОАС. После повреждения нервов наблюдается значительное повышение пероксидного окисления липидов [54, 55]. Наблюдения показывают, что ХС обладает антиоксидантной активностью, очевидной по снижению пероксидного окисления липидов и повышению активности антиоксидантных ферментов. Предыдущие результаты других авторов [56, 57] показали, что ХС обладает антиоксидантной способностью. Сообщалось, что ХС подавляет образование реакционно-способных соединений кислорода [58]. КАТ и СОД участвуют в расщеплении супероксидных анионных радикалов, которые являются маркерами сильного окислительного стресса [59]. Это объясняет значительное повышение активности КАТ, СОД и ОАС в сдвинутом нерве после лечения ХС.

Снижение концентрации СРБ после лечения ХС можно приписать его способности ингибировать активацию NF-κB, что может быть одним из путей подавления воспаления под действием ХС [60, 61]. NF-κB — фактор транскрипции, наряду с СРБ играющий значительные роли во многих воспалительных процессах [62, 63].

В предыдущих исследованиях сообщается, что чрезмерное количество КГРП может быть признаком активации чувствительных афферентных нервов [64]. Это исследование показало повышенное количество КГРП у крыс после ХКТ, не получавших ХС. Таким образом, определение КГРП можно считать важным маркером активации чувствительных афферентных нервов [65]. Это показывает, что КГРП

может вызывать пролиферацию КГРП-содержащих ноцицепторов и сенсibilизировать эти ноцицепторы. Кроме того, данные этого исследования показали, что у крыс, получавших 900 мг/кг ХС, содержание КГРП ниже, чем у лигированных контрольных крыс. Это дополнительно подтверждает обезболивающие свойства ХС.

Оксид азота (NO) играет важные роли во множестве нейробиологических процессов. Известно, что NO играет много важных физиологических ролей в нейротрансмиссии [66, 67] и защитных механизмах организма [68, 69]. Показано, что NO обладает как про-, так и антиноцицептивными свойствами [70]. Сообщается, что NO оказывает нейропротективное действие посредством киназы Akt и фактора транскрипции CREB в пути выживания в зернистых клетках мозжечка [71, 72]. Различные работы показали, что NO оказывает не только цитотоксические, но и цитопротективные эффекты в ЦНС [68, 69]. Отмечено, что лечение ХС ведет к повышению концентрации NO в головном мозге. Этот результат четко показывает, что NO оказывает нейропротективное действие, так как повышение содержания NO было связано с другими благоприятными эффектами ХС у крыс, такими как антиноцицепция и улучшение биохимических показателей. Это сходно с наблюдением Džoljić и соавт. [73], которые показали нейропротективное действие NO [73].

Показано, что повреждение нервов провоцирует высокочастотные разряды высокой частоты, во время которых лактат становится предпочтительным субстратом [74]. Лактат транспортируется монокарбоксилатными транспортерами в мозг [75]. Эти транспортеры позволяют нейронам переносить лактат в качестве эффективного «топлива» даже в условиях недостатка субстрата, благодаря своему большому родству к лактату [74]. Активность ЛДГ в мозге у лигированных крыс, не получавших ХС, повышалась, однако введение ХС снижало активность ЛДГ. Прочие исследования показали, что повышенная активность ЛДГ в мозге или крови может быть подходящим маркером дегенеративных изменений нервов [76]. Следовательно, снижение активности ЛДГ в мозге после введения ХС дополнительно показывает ее нейропротективный потенциал.

НБ, индуцированная ХКТ, вызывала повышение концентрации ФНО-α в сыворотке в этом исследовании. ФНО-α присутствует на ранних стадиях цитокинового каскада и, следовательно, считается прототипом медиатора воспаления [77, 78]. Роль ФНО-α как в периферической, так и в центральной сенсibilизации при НБ хорошо описана [77, 78]. Результаты этого исследования показали повышен-

ную концентрацию ФНО- α в сыворотке крыс после ХКТ. Эти данные согласуются с результатами предыдущих исследований [79] и других лабораторий [80]. Дача внутрь ХС снижала концентрацию NF- κ B-p65 в сыворотке. Исследования показали, что NF- κ B-p65 является значимым фактором транскрипции, играющим важные роли и напрямую связанным с патогенезом нескольких заболеваний [81], в частности, с прогрессированием хронической боли [82, 83]. Результаты исследований показали, что ИЛ-6 — это цитокин с множественными функциями, способный оказывать как воспалительное, так и противовоспалительное действие в зависимости от контекста [84]. В различных исследованиях сообщается, что ИЛ-6 повышает концентрацию противовоспалительных цитокинов в крови [85, 86]. Данные этого исследования показали, что ИЛ-6 играет нейропротективную роль после лечения ХС. Индукция ХКТ снижала концентрацию ИЛ-6 в сыворотке. Дача ХС внутрь повышала концентрацию ИЛ-6 в сыворотке. Предыдущие исследования показали, что введение ИЛ-6 ослабляет вызванную эндотоксином выработку ФНО- α , что дополнительно подтверждает проти-

вовоспалительную роль ИЛ-6 [87, 88]. Кроме того, в исследованиях сообщается, что ИЛ-6 снижает дисфункцию нервов, в том числе нормализует скорость проведения по чувствительным и двигательным нервам, снижает температурную гипералгезию, тактильную аллодинию и перфузию эндоневрия седалищного нерва [87, 89]. Множество исследований подтверждают роль ИЛ-6 в инициации и стимуляции нейрорепаративных реакций [90]. Гистологическое исследование препаратов седалищного нерва крыс после повреждения и лечения ХС, окрашенных гематоксилином и эозином, очевидно показали благоприятное действие ХС на регенерацию аксонов, снижение зоны отека, воспалительной инфильтрации, воспаления, вакуолизации, а также меньшее количество деградированных пластов миелина у крыс, получавших ХС, по сравнению с лигированными крысами, не получавшими препарат. Эти результаты дают основания полагать, что лечение ХС способствует восстановлению функции за счет усиления регенерации аксонов крыс после повреждения седалищного нерва. Наблюдаемые эффекты в этом исследовании могут быть обуслов-

Комментарий главного редактора

Обезболивающая эффективность парентерального хондропротектора Алфлутоп

Алфлутоп — оригинальный инъекционный препарат на основе биоактивного концентрата из 4 видов мелкой морской рыбы, который содержит гликозаминогликаны, в том числе глюконовую кислоту, хондроитина-4 и -6-сульфат, дерматансульфат, кератансульфат, аминокислоты и микроэлементы. Препарат обладает хондропротективным и противовоспалительным эффектом, регулируя обмен веществ в хрящевой ткани. Хондропротективное действие связано с угнетением активности гиалуронидазы и других ферментов, которые принимают участие в разрушении межклеточного матрикса. В результате действия происходит нормализация биосинтеза гиалуроновой кислоты, коллагена II типа и структурных протеогликанов. Алфлутоп тормозит биосинтез медиаторов воспаления, снижает проницаемость капилляров.

Протеогликаны, входящие в его состав, оказывают трофическое действие и обладают замещающим эффектом, увеличивая, по данным МРТ, показатели гидрофильности, высоты хряща и однородности костной ткани. Результаты различных клинических исследований демонстрируют эффективность препарата Алфлутоп при дегенеративно-дистрофических заболеваниях позвоночника и крупных суставов. У больных с алгическими вертеброгенными синдромами препарат способствует стойкому уменьшению боли, увеличению подвижности позвоночника и расширению функциональных возможностей пациентов.

Более чем 20-летний опыт применения препарата Алфлутоп на территории РФ и стран СНГ демонстрирует преимущества терапии парентеральными хондропротекторами по сравнению

с применением НПВП у пациентов с неспецифической болью в спине. Эти преимущества реализуются за счет воздействия на патогенетические пути возникновения болевого синдрома, благодаря восстановлению поврежденной соединительной ткани и замедлению дегенеративных процессов в хряще. Более выраженное обезболивание в комбинации с НПВП, по сравнению с монотерапией НПВП, способствует уменьшению потребности в анальгетиках в дальнейшем. Расширяет возможности применения препарата Алфлутоп у различных возрастных групп (особенно у пожилых пациентов) благоприятный профиль безопасности. На фоне терапии отсутствует негативное влияние на желудочно-кишечный тракт и не наблюдается тенденция к увеличению кардиоваскулярного риска.

лены участием ХС в нескольких физиологических процессах у крыс [91], включая модуляцию дифференциации и пролиферации нейронов [90]. Также, как описано Sugařara [92], у крыс с ХКТ, получавших имипрамин в дозе 10 мг/кг, был меньше отек, вакуолизация и клеточная инфильтрация, а организация миелиновых пластов была лучше, чем у лигированных крыс, не получавших препарат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ХС облегчает НБ при ее моделировании с помощью ХКТ, возможно, в результате его способности снижать высвобождение медиаторов воспаления и повышать концентрацию противовоспалительных медиаторов во время повреждения седалищного нерва. Кроме того, он показал способность снижать окислительный стресс и повышать содержание антиоксидантов, важных для регенерации нервов.

Литература

- Rowbotham MC. Mechanisms of neuropathic pain and their implications for the design of clinical trials. *Neurology* 2005;65:566-73.
- Baastrop C, Finnerup NB. Pharmacological management of neuropathic pain following spinal cord injury. *CNS Drugs* 2008;22:455-75.
- Kim HK, Park SK, Zhou JL, Taglialatela G, Chung K, Coggeshall RE, et al. Reactive oxygen species (ROS) play an important role in a rat model of neuropathic pain. *Pain* 2004;111:116-24.
- Taves S, Berta T, Chen G, Ji RR. Microglia and spinal cord synaptic plasticity in persistent pain. *Neural Plast* 2013;2013:753656.
- Ma W, Bisby MA. Increased activation of nuclear factor kappa B in rat lumbar dorsal root ganglion neurons following partial sciatic nerve injuries. *Brain Res* 1998;797:243-54.
- Attal N, Cruccu G, Baron R, Haanpaa M. EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision: Treatment of neuropathic pain. *Eur J Neurol* 2010;17:113-88.
- Austin PJ, Wu A, Moalem-Taylor G. Chronic constriction of the sciatic nerve and pain hypersensitivity testing in rats. *J Vis Exp* 2012;61:3393.
- Akimoto N, Honda K, Uta D, Beppu K, Ushijima Y, Matsuzaki Y, et al. CCL-1 in the spinal cord contributes to neuropathic pain induced by nerve injury. *Cell Death Dis* 2013;4:679-9.
- Rahbardar MG, Amin B, Mehri S, Mirnajafi-Zadeh J, Hosseinzadeh H. Rosmarinic acid attenuates development and existing pain in a rat model of neuropathic pain: An evidence of anti-oxidative and anti-inflammatory effects. *Phytomedicine* 2018;40:59-67.
- Uher T, Bob P. Neuropathic pain, depressive symptoms, and c-reactive protein in sciatica patients. *Int J Neurosci* 2012;123:204-8.
- Chen Z, Doyle TM, Luongo L, Largent-Milnes TM, Giancotti LA, Kolar G, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor 1 activation in astrocytes contributes to neuropathic pain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019;116:10557-62.
- Du Souich P, Garcia AG, Verges J, Montell E. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of chondroitin sulphate. *J Cell Mol Med* 2009;13:1451-63.
- Borsig L, Wang L, Cavalcante M, Cardoso-Reis L. Selectin blocking activity of fucosylated chondroitin sulfate glycosaminoglycan from sea cucumber. Effect on tumor metastasis and neutrophil recruitment. *J Biol Chem* 2007;282:14984-91.
- Peniche C, Fernández M, Rodríguez G, Parra J, Jimenez J, Bravo AL, et al. Cell supports of chitosan/hyaluronic acid and chondroitin sulphate systems. Morphology and biological behaviour. *J Mater Sci Mater Med* 2007;18:1719-26.
- Raman R, Sasisekharan V, Sasisekharan R. Structural insights into biological roles of protein-glycosaminoglycan interactions. *Chem Biol* 2005;12:2003-22.
- Nemoto W, Yamada K, Nakagawasa O, Ogata Y, Chiba M, Yamagata R, et al. Effect of repeated oral administration of chondroitin sulfate on neuropathic pain induced by partial sciatic nerve ligation in mice. *J Pharmacol Sci* 2018;137:403-6.
- Zimmermann M, Heidelberg FR. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983;16:109-10.
- Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988;33:87-107.
- Jaggi AS, Singh N. Differential effect of spironolactone in chronic constriction injury and vincristine-induced neuropathic pain in rats. *Eur J Pharmacol* 2010;648:102-9.
- Rahbardar MG, Amin B, Mehri S, Mirnajafi-Zadeh J. Effect of alcoholic extract of aerial parts of *Rosmarinus officinalis* L. On pain, inflammation and apoptosis induced by chronic constriction injury (CCI) model of neuropathic pain in rats. *J Ethnopharmacol* 2016;194:117-30.
- Bonin RP, Bories C, De Koninck YA. Simplified up-down method (SUDO) for measuring mechanical nociception in rodents using von Frey filaments. *Mol Pain* 2014;10:26.
- Deuis JR, Dvorakova LS, Vetter I. Method used to evaluate pain behaviours in rodents. *Front Mol Neurosci* 2017;10:284.
- Flatters SJ, Bennett GJ. Ethosuximide reverses paclitaxel- and vincristine-induced painful peripheral neuropathy. *Pain* 2004;109:150-61.
- Choi Y, Yoon YW, Na HS, Kim SH, Chung JM. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain* 1994;59:369-76.
- de la Parra MM, de la Peña AA, Rosales TA, Naal MN, Rangel FJ, Sánchez TG. Comparison between in situ sciatic nerve grafts and vein grafts with platelet-rich plasma. Experimental study in rabbits. *Cir Plast* 2013;23:86-90.
- Amer MD, Mazen NF, Mohamed NM. Role of calorie restriction in alleviation of age-related morphological and biochemical changes in sciatic nerve. *Tissue Cell* 2014;46:497-504.
- Siddique YH, Ara G, Mohammad A. Estimation of lipid peroxidation induced by hydrogen peroxide in cultured human lymphocytes. *Dose Response* 2012;10:1-10.
- Weydert CJ, Cullen JJ. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nat Protoc* 2010;5:51-66.
- Nandi A, Chatterjee IB. Assay of superoxide dismutase activity in animal tissues. *J Biosci* 1988;13:305-15.
- Rubio CP, Tvarijonaviciute A, Martinaz-Subiela S, Hernández-Ruiz J, Cerón JJ. Validation of an automated assay for the measurement of cupric reducing antioxidant capacity in serum of dogs. *BMC Vet Res* 2016;12:137.
- Campo GM, D'Ascola A, Avenoso A, Campo S, Ferlazzo AM, Micali C et al. Glycosaminoglycans reduce oxidative damage induced by copper (Cu+2), iron (Fe+2) and hydrogen peroxide (H2O2) in human fibroblast cultures. *Glycoconj J* 2004;20:133-41.
- Melgar-Lesmes P, Garcia-Polite F, Del-Rey-Puech P. Treatment with chondroitin sulphate to modulate inflammation and atherogenesis in obesity. *Atherosclerosis* 2016;245:82-7.
- Segarra S, Martínez-subiela S, Cerda-Cuellar M, Martínez-Puig D, Muñoz-Prieto A, Rodríguez-Franco F, et al. Oral chondroitin sulphate and prebiotics for the treatment of canine inflammatory bowel disease: A randomised, controlled clinical trial. *BMC Vet Res* 2016;10:49.
- Mazières B, Hucher M, Zaïm M, Garnero P. Effect of chondroitin sulphate in symptomatic knee osteoarthritis: A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Ann Rheum Dis* 2007;66:639-45.
- Nemoto W, Yamada K, Ogata Y, Nakagawasa O, Onodera K, Skurai H, et al. Chondroitin sulphate attenuates formalin-induced persistent tactile allodynia. *J Pharmacol Sci* 2016;131:275-8.
- Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods* 1994;53:55-63.
- Xie HT, Xia ZY, Pan X, Zhao B, Liu ZG. Puerarin ameliorates allodynia and hyperalgesia in rats with peripheral nerve injury. *Neural Regen Res* 2018;13:1263-8.
- Arnold R, Pianta TJ, Pussell BA, Kirby A, O'Brien K, Sullivan K, et al. Randomized, controlled trial of the effect of dietary potassium restriction on nerve function in CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2017;12:1569-77.
- Ruan Y, Gu L, Yan J, Guo J, Geng X, Shi H, et al. An effective and concise device for detecting cold allodynia in mice. *Sci Rep* 2018;8:14002.
- Vissers K, Meer T. Behavioral and pharmacological validation of the acetone spray test in Gerbils with a chronic constriction injury. *Anesth Analg* 2005;101:457-64.
- Owoyeye BV, Bakare AO. Analgesic properties of aqueous bark extract of *Adansonia digitata* in Wistar rats. *Biomed Pharmacother* 2018;97:209-12.
- Elliott MB, Oshinsky ML, Amenta PS, Awe OO, Jallo JI. Nociceptive neuropeptide increases and periorbital allodynia in a model of traumatic brain injury. *Headache* 2012;52:966-84.
- Xu X, Huang Y. Objective pain assessment: A key for the management of chronic pain. *F1000Res* 2020;9:35.
- Fernyhough P, Calcutt NA. Abnormal calcium homeostasis in peripheral neuropathies. *Cell Calcium* 2010;47:130-9.
- Prado WA. Involvement of calcium in pain and antinociception. *Braz J Med Biol Res* 2001;34:449-61.
- Taddese A, Nah SY, McCleskey EW. Selective opioid inhibition of small nociceptive neurons. *Science* 1995;270:1366-9.
- Hunter RW, Bailey MA. Hyperkalemia: Pathophysiology, risk factors and consequences. *Nephrol Dial Transplant* 2019;34:iii2-11.
- Bostock H, Walters RJ, Andersen KV, Murray NM, Taube D, Kiernan MC. Has potassium been prematurely discarded as a contributing factor to the development of uremic neuropathy? *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:1054-7.

49. Halliwell B, Gutteridge JM. Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed. Oxford, United Kingdom: Clarendon Press Oxford; 1999.
50. Esterbauer H, Ramos P. Chemistry and pathophysiology of oxidation of LDL. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1996;127:31-64.
51. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Phys Res Commun* 2017;3:419-25.
52. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiadomosci Lekarskie* 2004;57:453-5.
53. Lukas M, Toth I, Reber SO, Slattery DA, Veenema AH, Neumann ID. The neuropeptide oxytocin facilitates pro-social behavior and prevents social avoidance in rats and mice. *Neuropsychopharmacology* 2011;36:2159-68.
54. Turedi S, Yulug E, Alver A, Bodur A, Ince I. A morphological and biochemical evaluation of the effects of quercetin on experimental sciatic nerve damage in rats. *Exp Ther Med* 2018;15:3215-24.
55. Bakare AO, Owoyele BV. Antinociceptive and neuroprotective effects of bromelain in chronic chronic constriction injury-induced neuropathic pain in Wistar rats. *Korean J Pain* 2020;33:13-22.
56. Bauerova K, Ponist S, Kuncirova V, Mihalova D, Paulovicova E, Volpi N. Chondroitin sulfate effect on induced arthritis in rats. *Osteoarthritis Cartilage* 2011;19:1373-9.
57. Campo GM, Avenoso A, Campo S, Nastasi G, Traina P, D'Ascola A, et al. The antioxidant activity of chondroitin-4-sulphate, in carbon tetrachloride-induced acute hepatitis in mice, involves NF-kappaB and caspase activation. *Br J Pharmacol* 2008;155:945-56.
58. Campo GM, Avenoso A, Campo S, Ferlazzo AM, Calatroni A. Chondroitin sulphate: Antioxidant properties and beneficial effects. *Mini Rev Med Chem* 2006;6:1311-20.
59. Celino FT, Yamaguchi S, Miura C, Ohta T, Tozawa Y, Iwai T, et al. Tolerance of spermatogonia to oxidative stress is due to high level of Zn and Cu/Zn superoxide dismutase. *PLoS One* 2011;6:e16938.
60. Largo R, Martinez-Calatrava MJ, Sanchez-Pernaute O, Marcos ME, Moreno-Rubio J, Aparicio C, et al. Effect of a high dose of glucosamine on systemic and tissue inflammation in an experimental model of atherosclerosis aggravated by chronic arthritis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297:H268-76.
61. Kantor ED, Lampe JW, Vaughan TL, Peters U, Rehm CD, White E. Association between use of specialty dietary supplements and C-reactive protein concentrations. *Am J Epidemiol* 2012;176:1002-13.
62. Hua J, Sakamoto K, Kikukawa T, Abe C, Kurosawa H, Nagaoka I. Evaluation of the suppressive actions of glucosamine on the interleukin-1 β -mediated activation of synoviocytes. *Inflamm Res* 2011;56:432-8.
63. Forchhammer L, Thorn M, Met O, Gad M, Weidner MS, Claesson MH, et al. Immunobiological effects of glucosamine in vitro. *Scand J Immunol* 2003;58:404-11.
64. Bullock CM, Kelly S. Calcitonin gene-related peptide receptor antagonists: Beyond migraine pain—a possible analgesic strategy for osteoarthritis? *Curr Pain Headache Rep* 2013;17:375.
65. Sulaiman H, Gabella G, Davis C, Mutsaers SE, Boulos P, Laurent GJ, et al. Presence and distribution of sensory nerve fibers in human peritoneal adhesions. *Ann Surg* 2001;234:256-61.
66. Yamamoto K, Takei H, Koyanagi Y, Koshikawa N, Kobayashi M. Presynaptic cell type-dependent regulation of GABAergic synaptic transmission by nitric oxide in rat insular cortex. *Neuroscience* 2015;284:65-77.
67. Yassin L, Radtke-Schuller S, Asraf H, Grothe B, Hershfinke M, Forsythe ID, et al. Nitric oxide signaling modulates synaptic inhibition in the superior paraolivary nucleus (SPN) via cGMP-dependent suppression of KCC2. *Front Neural Circuits*. 2014;8:65.
68. Akyol O, Zoroglu SS, Armutcu F, Sahin S, Gurel A. Nitric oxide as a physiopathological factor in neuropsychiatric disorders. *In Vivo* 2004;18:377-90.
69. Boje KM. Nitric oxide neurotoxicity in neurodegenerative diseases. *Front Biosci* 2004;9:763-76.
70. Nakamura T, Lipton SA. Redox regulation of mitochondrial fission, protein misfolding, synaptic damage, and neuronal cell death: Potential implications for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Apoptosis* 2010;15:1354-63.
71. Calabrese V, Cornelius C, Rizzarelli E, Owen JB, Dinkova-Kostova AT, Butterfield DA. Nitric oxide in cell survival: A Janus molecule. *Antioxid Redox Signal* 2009;11:2717-39.
72. Contestabile A, Ciani E. Role of nitric oxide in the regulation of neuronal proliferation, survival and differentiation. *Neurochem Int* 2004;45:903-14.
73. Džoljić E, Grbatinić I, Kostić V. Why is nitric oxide important for our brain? *Funct Neurol* 2015;30:159-63.
74. Baltan S. Can lactate serve as an energy substrate for axons in good times and in bad, in sickness and in health? *Metab Brain Dis* 2015;30:25-30.
75. Vijay N, Morris M. Role of monocarboxylate transporters in drug delivery to the brain. *Curr Pharm Design* 2014;20:1487-98.
76. Riske L, Thomas RK, Baker GB, Dursun SM. Lactate in the brain: An update on its relevance to brain energy, neurons, glia and panic disorder. *Ther Adv Psychopharmacol* 2017;7:85-9.
77. Kukkar A, Singh N, Jaggi AS. Attenuation of neuropathic pain by sodium butyrate in an experimental model of chronic constriction injury in rats. *J Form Med Assoc* 2014;113:921-8.
78. Leung L, Cahill CM. TNF-alpha and neuropathic pain a review. *J Neuroinflamm* 2010;7:27.
79. Kukkar A, Singh N, Jaggi AS. Neuropathic pain-attenuating potential of aliskiren in chronic constriction injury model in rats. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2013;14:116-23.
80. Gong D, Geng C, Jiang L, Aoki Y, Nakano M, Zhong L. Effect of pyrroloquinoline quinone on neuropathic pain following chronic constriction injury of the sciatic nerve in rats. *Eur J Pharmacol* 2012;697:53.e8.
81. Al-Shobaili HA, Farhan J, Zafar U, Rasheed Z. Functional role of human interleukin-32 and nuclear transcription factor-kB in patients with psoriasis and psoriatic arthritis. *Int J Health Sci (Qassim)* 2018;12:29-34.
82. Niederberger E, Geisslinger G. The IKK-NF-kappaB pathway; a source for novel molecular drug targets in pain therapy? *FASEB J* 2008;22:3432-42.
83. Bowles RD, Mata BA, Bell RD. In vivo luminescence imaging of NFkappa B activity and serum cytokine levels predict pain sensitivities in a rodent model of osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol* 2014;66:637-46.
84. Rothaug M, Becker-Paully C, Rose-John S. The role of interleukin-6 signaling in nervous tissue. *Biochim Biophys Acta* 2016;1863:1218-27.
85. Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Møller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285:E433-7.
86. Olaniyan MF, Ozuruoke DF, Afolabi T. Possible inflammatory responses in hypercholesterolemia patients receiving treatment using raw liquid extract of young cashew leaves in herbal homes in Nigeria. *Int J Health Sci (Qassim)* 2019;13:14-8.
87. Cox AA, Sagot Y, Hedou IG, Grek C, Wilkes IT, Vinik AI, et al. Lowdose pulsatile interleukin-6 as a treatment option for diabetic peripheral neuropathy. *Front Endocrinol* 2017;8:89.
88. Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans. *FASEB J* 2003;17:884-6.
89. Cameron NE, Cotter MA. The neurocytokine, interleukin-6, corrects nerve dysfunction in experimental diabetes. *Exp Neurol* 2007;207:23-9.
90. Zigmund RE. gp130 cytokines are positive signals triggering changes in gene expression and axon outgrowth in peripheral neurons following injury. *Front Mol Neurosci* 2011;4:62.
91. Zhou C, Mi S, Li J, Gao J, Wang X, Sang Y. Purification, characterization and antioxidant activities of chondroitin sulphate extracted from Raja porosa cartilage. *Carbohydr Polym* 2020;241:116306.
92. Sugahara K, Mikami T, Uyama T, Mizuguchi S, Nomura K, Kitagawa H. Recent advances in the structural biology of chondroitin sulfate and dermatan sulfate. *Curr Opin Struct Biol* 2003;13:612-20.