

Толл-подобные рецепторы как компонент патофизиологии остеоартрита: противовоспалительное, анальгетическое и нейропротекторное действие

Торшин И.Ю.^{1,2}, Громова О.А.^{1,2}, Лиля А.М.^{3,4}, Алексеева Л.И.³, Таскина Е.А.³

¹Институт фармакоинформатики Федерального исследовательского центра «Информатика и управление» Российской академии наук, Москва; ²Центр хранения и анализа больших данных Национального центра цифровой экономики ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва; ³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва; ⁴кафедра ревматологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва
¹Россия, 119333, Москва, ул. Вавилова, 42, корп. 2; ²Россия, 119192, Москва, Ломоносовский проспект, 27, корп. 1;
³Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А; ⁴Россия, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Толл-подобные рецепторы (Toll-like receptors, TLR) реагируют на бактериальные липополисахариды (ЛПС) и участвуют в формировании врожденного иммунитета. Избыточная активность TLR приводит к хронизации воспаления и к развитию ряда коморбидных патологий, включая остеоартрит (ОА). Компьютерный анализ текстов 52 312 публикаций, посвященных TLR, позволил систематически описать механизмы биологического действия TLR и их влияние на патофизиологию ОА. Выделены механизмы, посредством которых медленнодействующие препараты на основе стандартизированных форм хондроитина сульфата (ХС), обладающие симптом-модифицирующим и структурно-модифицирующим эффектом, могут способствовать снижению активности TLR и использоваться в терапии ОА. Сделанные выводы подтверждаются результатами хемореактивного анализа TLR, а также клиническими и экспериментальными данными.

Ключевые слова: хондроитин сульфат; глюкозамин сульфат; интеллектуальный анализ данных; системная биология; хемоинформатика; биоинформатика.

Контакты: Ольга Алексеевна Громова; unesco.gromova@gmail.com

Для цитирования: Торшин ИЮ, Громова ОА, Лиля АМ и др. Толл-подобные рецепторы как компонент патофизиологии остеоартрита: противовоспалительное, анальгетическое и нейропротекторное действие. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2021;13(4):123–129. DOI: 10.14412/2074-2711-2021-4-123-129

Toll-like receptors as a part of osteoarthritis pathophysiology: anti-inflammatory, analgesic and neuroprotective effects

Torshin I.Yu.^{1,2}, Gromova O.A.^{1,2}, Lila A.M.^{3,4}, Alekseeva L.I.³, Taskina E.A.³

¹Institute of pharmacoinformatics, Federal Research Center «Informatics and Management», Russian Academy of Sciences, Moscow;

²Big Data Storage and Analysis Center, National Center for Digital Economy, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow;

³V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow; ⁴Department of Rheumatology Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Ministry of Health of Russia, Moscow

¹42, Vavilova St., Build. 2, Moscow 119333, Russia; ²27, Lomonosovsky Prosp., Build. 1, Moscow 119192, Russia;

³34A, Kashirskoe Shosse, 115522 Moscow, Russia; ⁴2/1, Barrikadnaya St., Build. 1, Moscow 125993, Russia

Toll-like receptors (TLRs) act as receptors for bacterial lipopolysaccharides (LPS) and participate in innate immunity. Excessive TLRs activity leads to chronic inflammation and the development of several comorbid pathologies, including osteoarthritis (OA). Computer analysis of 52,312 publications devoted to TLRs was made to systematically describe the mechanisms of biological action of TLRs and their influence on the OA pathophysiology. In addition, we identified the mechanisms by which slow-acting drugs based on standardized forms of chondroitin sulfate (CS), which have symptom-modifying and structural-modifying effects, can decrease TLRs activity and be used in the treatment of OA. Our conclusions are supported by the results of TLRs chemoreactom analysis, as well as by clinical and experimental data.

Keywords: chondroitin sulfate; glucosamine sulfate; интеллектуальный анализ данных; systems biology; chemoinformatics; bioinformatics.

Contact: Olga Alekseevna Gromova; unesco.gromova@gmail.com

For reference: Torshin IYu, Gromova OA, Lila AM, et al. Toll-like receptors as a part of osteoarthritis pathophysiology: anti-inflammatory, analgesic and neuroprotective effects. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2021;13(4):123–129. DOI: 10.14412/2074-2711-2021-4-123-129

Толл-подобные рецепторы (Toll-like receptors, TLR) распознают бактериальные липополисахариды (ЛПС) и другие антигены бактерий, вирусов и грибов, активируя соответствующие ответы врожденного клеточного иммуни-

тета. TLR, как правило, локализуются на клеточной мембране. Они обостряют воспалительные реакции инфекционного и неинфекционного генеза и переводят воспаление в хроническую форму [1].

Избыточная активность TLR взаимосвязана с патофизиологией остеоартрита (ОА), эндотелиальной дисфункции, атеросклероза и ряда других патологий, ассоциированных с хроническим воспалением. Таким образом, понимание биологических ролей TLR и их таргетного ингибирования фармацевтическими средствами весьма важно для поддержания здоровья человека [2].

ОА долгое время рассматривался только как дегенеративное заболевание хряща. Действительно, при ОА происходит деградация хряща, в том числе вследствие нарушения баланса между механической перегрузкой и ее амортизацией хрящевой тканью. Однако накопленные данные указывают на то, что воспаление играет решающую роль в патогенезе ОА. Более того, в настоящее время считается, что подавление хронического неспецифического воспаления нестероидными противовоспалительными препаратами является одним из основных подходов к терапии ОА [3].

В частности, воспалительные реакции в хондроцитах запускаются при участии регуляторов врожденного иммунитета аларминов, которые активируют TLR [4].

Например, на сегодняшний день имеется много доказательств того, что TLR патогенетически связаны с механизмами развития и прогрессирования ОА [4]. Все структуры сустава, находящиеся под постоянной статической и динамической нагрузкой («механический стресс»), так или иначе непрерывно разрушаются и нуждаются в постоянном обновлении. Так, апоптотические и некротизированные клетки (хондроциты, синовиоциты и др.) и элементы разрушающегося межклеточного матрикса выступают в роли пускового сигнала для запуска синтеза DAMP (damage-associated molecular pattern – молекулярный фрагмент, ассоциированный с повреждением), который, в свою очередь, инициирует и поддерживает хроническое низкоинтенсивное (low-grade) воспаление. DAMP, поступающие во внеклеточное пространство, активируют клетки врожденного иммунитета.

Одним из важнейших и наиболее изученных представителей семейства белков DAMP является алармин 1 (HMGB1). Алармин 1 взаимодействует с элементами врожденного иммунитета (TLR2 и TLR4), активирует сигнальный путь NF-κB через адаптерный белок MyD88, что, в конечном итоге, приводит к увеличению синтеза провоспалительных цитокинов и апоптозу хондроцитов, способствуя деградации хрящевой ткани. Накапливается информация, что TLR4 может быть значимым биомаркером тяжести и прогрессирования ОА [4].

В связи с этим нами проведен систематический анализ научной литературы, посвященной молекулярной и клеточной физиологии TLR. По запросу «toll-like AND receptor» в базе данных биомедицинских публикаций PubMed было найдено 52 312 ссылок. Мы провели систематический компьютеризованный анализ всего массива публикаций с целью описания всех основных биологических механизмов действия TLR. Затем был проведен хемореактомный анализ дисахаридов, которые получают при гидролизе хондроитина сульфата (ХС). Проведенные анализы осуществлялись посредством современных методов анализа больших данных, развиваемых в рамках топологического [5, 6] и метрического [7] подходов к задачам распознавания/классификации [8, 9].

Результаты систематического компьютеризованного анализа литературы

В ходе систематического анализа литературы было выделено более 220 информативных биомедицинских терминов, отличающих публикации по биологическим ролям TLR от публикаций в контрольной выборке. В качестве контрольной выборки публикаций использовались 52 000 статей, случайно выбранных из 1 706 276 текстов, найденных по запросу «receptor NOT toll-like».

Аннотация полученных терминов посредством референсных таблиц «SNAP» [10] позволила рубрицировать тексты исследований по молекулярно-биологическим процессам в соответствии с международной номенклатурой Gene Ontology (GO) [11]. Посредством экспертного анализа полученного списка рубрик GO выделены 65 наиболее информативных рубрик, которые достоверно чаще встречались в выборке публикаций по ХС и/или глюкозамина сульфату (ГС), чем в контроле (в 3–25 раз чаще; $p < 0,05$ для каждого из 65 терминов). В результате была получена своего рода «карта» молекулярной физиологии TLR, включающая 65 молекулярных механизмов и 35 коморбидных патологий (рис. 1).

Анализ метрической диаграммы на рис. 1 показывает, что наиболее информативные ключевые слова, описывающие молекулярную физиологию TLR, естественным образом группируются в три кластера: кластер 1 «Провоспалительные цитокины и активация лимфоцитов», кластер 2 «Обострение воспалительных реакций в ответ на бактериальные и грибковые инфекции» и кластер 3 «Хронические коморбидные патологии». Заметим, что молекулярные механизмы патофизиологии ОА, на которые могут воздействовать ХС/ГС (интерлейкины – ИЛ, NF-κB киназа и др.), расположены преимущественно в кластере 1.

Механизмы действия TLR, связанные с провоспалительными цитокинами (GO:1900017) и лимфоцитами (**кластер 1**), включают усиление синтеза/секреции NF-κB-зависимых цитокинов фактора некроза опухоли α (ФНОα) (GO:1990774), ИЛ1 (GO:0050701), ИЛ6 (GO:0032675), α- и γ-интерферонов (GO:0072643, GO:0032607), изменение активности хемокиновых рецепторов (CCR1, CCR2 и др.), повышение синтеза провоспалительных простагландинов (GO:0004667, GO:0050220), усиление дегрануляции эозинофилов (GO:0043308) и регуляцию дифференцировки лимфоцитов CD4+ (GO:0043371) и CD8+ (GO:0002302), участвующих в механизмах осуществления приобретенного иммунитета. Активация TLR связана с нарушениями функции почек (альбинурия) и деградацией хрящевой ткани.

Вторым важным аспектом биологической функции TLR является их участие в активации воспаления в ответ на бактериальные, вирусные и грибковые инфекции, что неизбежно провоцирует развитие болевого синдрома (**кластер 2**). Данные инфекции включают: A03 «Шигеллез», A27 «Лептоспироз», A32 «Листериоз», A35 «Другие формы столбняка», B06 «Краснуха», B37 «Кандидоз», B44 «Аспергиллез», B58 «Токсоплазмоз», микобактериальные и стрептококковые инфекции, поражения соединительной ткани зубов (K02 «Кариес», K04.0 «Пульпит», K05.0 «Острый гингивит, хронический пародонтит») и др. Реагируя на ЛПС соответствующих микроорганизмов, TLR включают NF-κB-зависимые механизмы воспаления, приводящие к усилению синтеза провоспалительных цитокинов (**кластер 1**), активации

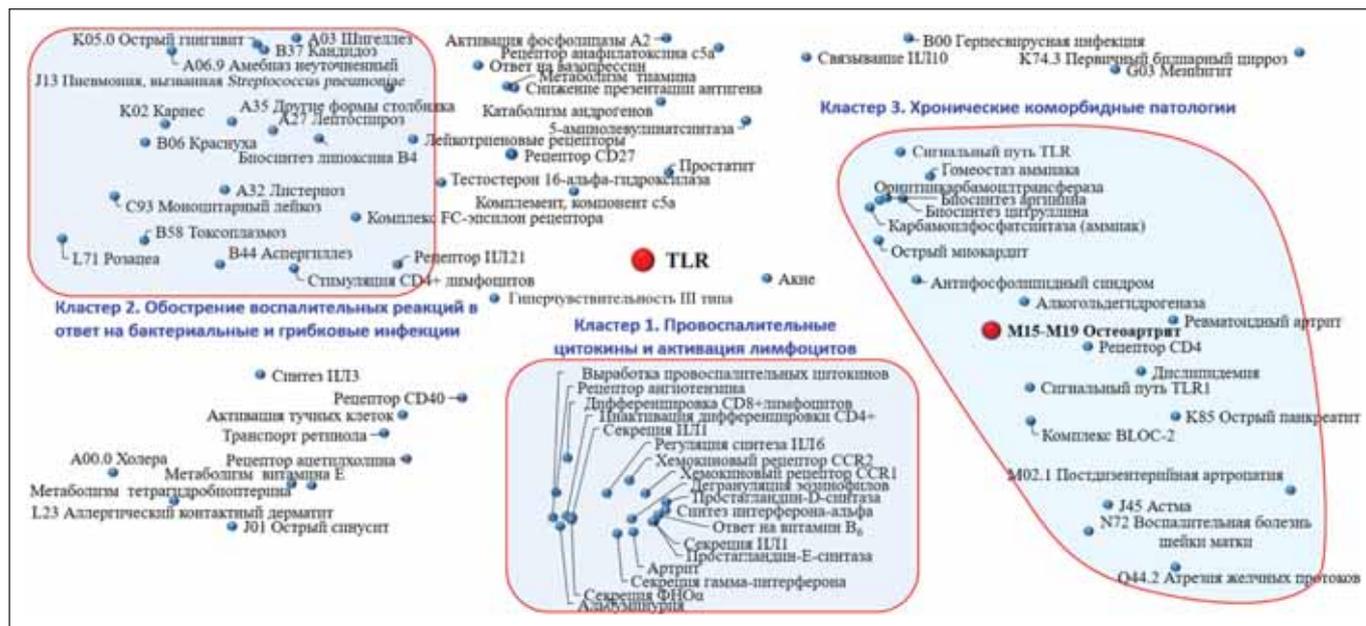


Рис. 1. Метрическая диаграмма, отражающая «карту» молекулярной физиологии TLR. Также приведены диагнозы по МКБ-10, отдельные симптомы и биологические процессы. Расстояние между точками, соответствующими терминам, обратно пропорционально совместной встречаемости терминов в исследованной выборке публикаций (чем ближе две произвольные точки, тем чаще встречается совместное употребление двух соответствующих терминов)

Fig. 1. Metric diagram showing the «map» of TLR molecular physiology. Diagnoses according to ICD-10, individual symptoms and biological processes are also shown. The distance between the points corresponding to the terms is inversely proportional to the joint occurrence of the terms in the studied sample of publications (the closer two arbitrary points are, the more often the joint use of two corresponding terms occurs)

T-лимфоцитов системы приобретенного иммунитета (GO:0001532 – рецептор ИЛ21; GO:003299 – комплекс FC-эпсилон рецептора; GO:0035783 – стимуляция CD4+ лимфоцитов), лейкотриеновых сигнальных путей (GO:0031774 – лейкотриеновые рецепторы; GO:2001306 – биосинтез липоксина B4) и других механизмов. Следует отметить также «внекластерные» бактериальные и вирусные инфекции (сальмонеллез, криптоспоридиоз, туберкулез, герпесвирусная инфекция, менингит, кластридиальные инфекции, РНК-вирусные инфекции, инфекция мочевыводящих путей и т. п.), ассоциированные с избыточной активностью TLR.

Обострение воспаления (вне зависимости от того, носит оно инфекционный или неинфекционный характер) ассоциировано с повышением риска формирования и более тяжелого течения хронических коморбидных патологий (кластер 3). Так, избыточная активность TLR связана с нарушениями функции почек (GO:0004087 – карбамоилфосфатсинтаза; GO:0004585 – орнитинкарбамоилтрансфераза; GO:0019240 – биосинтез цитруллина; GO:0097272 – гомеостаз аммиака), печени (дислипидемия, Q44.2 «Атрезия желчных протоков»; GO:0008106 – алкогольдегидрогеназа), ишемическими и инфекционными поражениями миокарда и головного мозга, болезнями дыхательной системы (J45 «Астма», N66.9 «Средний отит неуточненный», грипп, вирусный бронхит), а также острым панкреатитом, антифосфолипидным синдромом и с поражениями хрящевой ткани (M02.1 «Постдизентерийная артропатия», ревматоидный артрит, ОА, синовит, спондилоартропатии).

Помимо суммированных выше основных («кластерных») биологических эффектов TLR, следует также отметить достаточно неожиданные и весьма интересные эффек-

ты TLR на патофизиологию простатита, сахарного диабета (СД) 1-го типа, катаболизм андрогенов, а также взаимодействия TLR с микронутриентами (ретинол – витамин А, тиамин – витамин В₁, витамин В₆, витамин Е, тетрагидробиоптерин – молибден) и с активностью рецепторов ацетилхолина и вазопрессина.

Далее рассмотрены взаимосвязи между TLR и патофизиологией ОА, результаты хемореактного анализа TLR, результаты экспериментальных и клинических исследований эффектов ХС на активность TLR.

Повышенная активация TLR и патофизиология ОА

Экспериментальные исследования показали, что дендритные (т. е. антигенпрезентирующие) клетки стимулируют воспаление в моделях ОА посредством активации TLR-зависимых механизмов. В частности, уровни экспрессии различных TLR в дендритных клетках повышаются, а ингибирование TLR, наоборот, снижает ассоциированные с ОА воспаление и боль [12]. При ревматоидном артрите также повышена экспрессия TLR, чувствительных к белкам (TLR1, TLR2 и TLR4), и TLR, чувствительных к нуклеиновым кислотам (TLR7, TLR8 и TLR9) [1].

Такие биомаркеры воспаления, как ЛПС-связывающий белок LBP и различные типы TLR, являются предикторами прогрессирования ОА коленного сустава [13]. Белки LBP и CD14, которые являются компонентами сигнального пути TLR, участвуют в обострении ОА, вызванном диетой с высоким содержанием жиров и/или эндотоксемией. У мышей с делециями генов Lbp-/- или Cd14-/- разрушение хряща значительно снижено вследствие уменьшения экс-

прессии матричных металлопротеиназ (ММП) и других ферментов, разрушающих матрикс в хондроцитах, обработанных провоспалительными цитокинами [14].

Результаты проведенного систематического анализа показали, что среди различных типов TLR наиболее исследованы роли TLR2 и TLR4 в патогенезе ОА. Профили экспрессии TLR изменяются в модели ОА, индуцированного коллагеном. В частности, на более поздних стадиях заболевания в хондроцитах повышается экспрессия TLR1 и TLR2 [15].

Активация TLR2 способствует ускорению деградации хряща при ОА. Сигнальный путь рецептора TLR2 регулирует фибронектин-зависимую экспрессию ММП в хондроцитах через белок TonEBP, который реагирует на изменения осмолярности внеклеточной среды [16]. Боль является преобладающим симптомом ОА и связана с ферментативной деградацией протеогликана агрекана ММП. Известно, что фрагменты агрекана вызывают боль при ОА именно при участии TLR2 [17].

В клиническом исследовании было показано, что активность сигнального пути TLR2/NF-κB непосредственно влияет на формирование дегенеративного ОА коленного сустава. Сравнение образцов хряща пораженного ОА и нормального хряща, взятого от пациентов с ОА, прошедших оперативное вмешательство, указало на достоверное повышение экспрессии TLR, фактора NF-κB и ММП13 при ОА. Эти изменения в экспрессии были ассоциированы с повышенным индексом массы тела, семейным анамнезом ОА и с высокими значениями индекса WOMAC [18].

TLR4 участвует в синтезе MyD88, NF-κB и других провоспалительных и катаболических факторов в хондроцитах, индуцированных ИЛ1β. В эксперименте активация TLR4 способствовала повреждению хряща и субхондральной кости в модели ОА [19]. Активация TLR4 способствует развитию экспериментального ОА, возникающего на фоне диеты с высоким содержанием жиров. И наоборот, делеция гена *TLR4* тормозила процессы катаболизма хряща [20]. Люмикан, главный гликопротеин внеклеточного матрикса в суставном хряще у взрослых, увеличивает провоспалительную активацию TLR4, индуцированную ЛПС, что приводит к усилению деградации хряща [21].

Пациенты с ОА характеризуются повышенными уровнями гликированного гемоглобина (HbA1c ≥6,5%) на фоне

повышенной экспрессии TLR4 и ММП13 в синовиальной оболочке [22]. Экспрессия TLR4 в хондроцитах пациентов с ОА, страдающих СД 2-го типа, значительно выше, чем у пациентов с ОА без СД 2-го типа. TLR4 стимулирует катаболические и воспалительные реакции, вызванные высоким уровнем глюкозы в крови посредством активации NF-κB. Ингибирование NF-κB специфическим ингибитором bay11-7082 нивелировало провоспалительные эффекты TLR4 на хондроциты в условиях гипергликемии [23].

Поскольку воспаление при ОА связано с сигнальными каскадами рецептора TLR4, а ингибирование сигнального пути TLR4/NF-κB снижает прогрессирование ОА [24], то TLR4 является приемлемым целевым белком для разработки фармакологических препаратов для лечения ОА. Например, однократная внутрисуставная инъекция пептидного антагониста TLR4 ослабляет боль и деградацию хряща на модели индуцированного моноиодацетатом артрита у крыс. При этом отмечено значительное снижение уровней экспрессии генов, кодирующих ФНОα, ИЛ1β и ММП13 в хондроцитах коленных суставов [2]. Внутривенные инъекции ингибитора TLR4 (вещество TAK-242) уменьшали степень повреждения хряща [19].

Антиоксиданты растительного происхождения (полифенолы, биофлавоноиды и др.) ингибируют TLR4 и снижают его биологические эффекты (в том числе NF-κB-зависимые) в культурах клеток хондроцитов, взятых от пациентов с ОА. Антиоксидант S-аллилцистеин снижает уровни провоспалительных цитокинов ИЛ1β, ИЛ6 и ФНОα посредством ингибирования рецептора продуктов гликирования RAGE и TLR4 [25]. Ингибирование TLR4 биофлавоноидом линарином (экстракт *Chrysanthemum indicum*) подавляет ЛПС-индуцированную продукцию ИЛ6 и ФНОα в хондроцитах, снижает экспрессию циклооксигеназы-2 за счет образования комплекса «TLR4–MD2» и ингибирования NF-κB [26]. Снижая активность TLR4 и фактора NF-κB, куркуминовый полифенол фраксетин ингибирует апоптоз, воспаление и разрушение матрикса в хондроцитах, обработанных ИЛ1β [27]. Ресвератрол противодействует патофизиологии ОА, также ингибируя сигнальный путь TLR4/NF-κB [32581510].

При ревматоидном артрите отмечено повышение уровней/активности и других типов TLR. Протеомный анализ сыворотки при ревматоидном артрите показал обилие фрагментов TLR3 [28]. Уровни TLR4/5 являются диагностическими маркерами ОА коленного сустава у пациентов среднего и пожилого возраста [29], причем экспрессия TLR4/5 в сыворотке положительно коррелировала с концентрациями ИЛ1β, ИЛ6, ММП1 и ФНОα. Антиоксидант куркумин задерживает прогрессирование экспериментального ОА посредством снижения активности сигнального пути TLR9/NF-κB [30].

Результаты хемореактивного анализа дисахаридов ХС и ТLR

Анализ возможностей прямого взаимодействия дисахаридов, полученных в результате гидролиза ХС, с различными TLR был проведен на основе хемореактивного подхода, основанного на новейших технологиях машинного обучения, разрабатываемых в рамках топологического подхода к распознаванию и применяемого ранее в ряде работ [5–8]. Был проведен хемореактивный анализ дисахаридов (рис. 2),

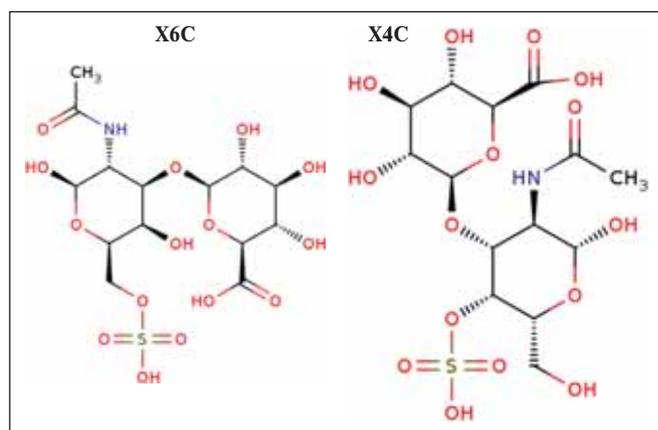


Рис. 2. Химические формулы исследованных дисахаридов ХС
Fig. 2. Chemical formulas of the studied CS disaccharides

соответствующих хондроитин-6-сульфату (Х6С) и хондроитин-4-сульфату (Х4С), составляющих основное действующее начало препарата Хондрогард.

В результате проведения хемореактомного анализа для анализируемых дисахаридов препарата были получены оценки взаимодействия с пятью типами TLR: TLR2, TLR4, TLR7, TLR8 и TLR9 (рис. 3). Хемореактомный анализ позволил сделать несколько важных выводов о взаимодействии дисахаридов ХС с TLR.

Во-первых, из представленных на рис. 3 данных очевидно, что для каждого из пяти типов рецепторов полученные значения констант активации рецепторов (EC_{50}) были существенно выше, чем значения констант ингибирования (IC_{50}). Как известно, чем больше значение константы, тем меньше взаимодействие с соответствующим таргетным белком (рецептором). Поэтому результаты хемореактомного анализа позволяют утверждать, что дисахариды ХС именно ингибируют, а не активируют TLR типов 2/4/7/8/9.

Во-вторых, константы ингибирования дисахаридов ХС существенно различались для разных типов TLR. Наиболее выражено было ингибирование TLR2 ($IC_{50}=160\pm 15$ нМ, ингибирование на 30–35%) и TLR8 ($IC_{50}=355\pm 25$ нМ, ингибирование на 21–25%). В наименьшей степени дисахариды ХС ингибировали TLR4 ($IC_{50}=6712\pm 59$ нМ, ингибирование на 20%). Значения констант ингибирования рецепторов остальных типов лежали в диапазоне 1000–2650 нМ (ингибирование на 15–20%). Таким образом, результаты позволяют говорить о более высоком сродстве дисахаридов ХС по отношению к ингибированию TLR2 и TLR8.

В-третьих, дисахариды, полученные из Х4С и Х6С, существенно не различались между собой по степени ингибирования TLR (разница в значениях IC_{50} не более 50 нМ). Таким образом, и Х4С, и Х6С будут способствовать ингибированию TLR, что будет снижать деградацию хряща.

Результаты экспериментальных и клинических исследований эффектов ХС на активность TLR

Взаимодействие между протеингликановыми фрагментами хряща и макрофагами обостряет течение ОА. Анализ транскриптома макрофагов от мышей с моделью ОА показал увеличение экспрессии сигнальных белков, участвующих в связывании интегрина, передаче сигналов по каскадам ФНО α и TLR. В частности, экспрессия TLR2 повышена в синовии. Блокада TLR2 с использованием специфических антител значительно снижала продукцию ФНО α в макрофагах, стимулированных фрагментами поврежденной ткани хряща [31].

Одним из способов частичной блокады TLR является использование экзогенных ХС и ГС. Эти молекулы-хондропротекторы (АТХ М01АХ25), взаимодействуя с TLR, тем самым блокируют связывание TLR с эндогенными протеогликанами, приводящими к активации воспаления в хряще. Ряд экспериментальных исследований подтверждают выводы, сделанные при хемореактомном анализе дисахаридов ХС.

Например, противовоспалительные эффекты фукозилированного ХС при пероральном приеме включают снижение концентраций ЛПС в сыворотке и ингибирование передачи сигнала от TLR4 к NF- κ B [32]. В экспериментальной модели ОА ХС регулирует TLR2/4-опосредованный

провоспалительный путь NF- κ B. Экспериментальный ОА вызывал повышенную экспрессию TLR2, TLR4, NF- κ B и подавление экспрессии структурного белка матрикса Сomp в хряще. Экзогенный ХС, наоборот, повышал экспрессию структурного белка Сomp и снижал экспрессию провоспалительных TLR2, TLR4, NF- κ B в хряще [33].

ХС и его дисахариды подавляют TLR-опосредованную секрецию ИЛ6 макрофаг-подобными клетками линии J774.1. Дисахаридная единица Х4С показала несколько более выраженное подавление секреции провоспалительного ИЛ6, чем дисахаридная единица Х6С [34]. Обе эти дисахаридные единицы способствуют ингибированию биологической активности TLR9 [35] (что соответствует результатам хемореактомного анализа, см. рис. 3).

Антагонисты TLR4, основанные на производных глюкозамина, связаны с более высокой стабилизацией белок-белкового комплекса «TLR4–MD2» и ингибируют ЛПС-стимулированный сигнал TLR4 [36]. В эксперименте производное глюкозамина N-пальмитоил-D-глюкозамин ингибирует TLR4 и предотвращает ЛПС-индуцированное воспаление, в том числе вызывающее невропатическую боль. Моделирование комплекса «лиганд–рецептор» посредством молекулярной динамики показало, что три молекулы производного глюкозамина связываются с белком MD2. В результате вследствие антагонизма TLR4 с белком MD2 снижается активация каскада NF- κ B [37].

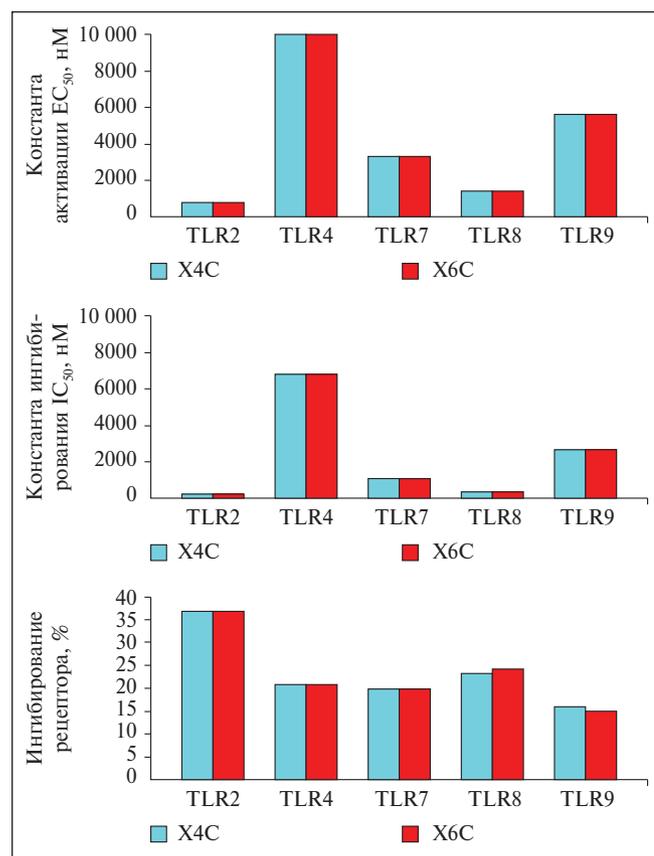


Рис. 3. Результаты хемореактомного анализа эффектов дисахаридов ХС на функцию TLR различных типов
Fig. 3. Chemoreactomic analysis results of CS disaccharides effects on different TLRs types function

Заключение

ОА — хроническое заболевание суставов, характеризующееся дегградацией хряща, образованием остеофитов, склерозом субхондральной кости и синовитом. Системные факторы (ожирение, метаболический синдром, воспаление и др.) способствуют прогрессированию ОА.

В настоящей работе представлены результаты систематического компьютерного анализа всего массива текстов 52 000 публикаций, посвященных TLR, дополненные результатами хемореактивного анализа эффектов воздействия дисахаридов ХС на TLR 2, 4, 7, 8 и 9-го типов. На примере препарата Хондрогард выделены механизмы, посредством которых хондропротекторы на основе стандартизированных форм ХС могут способствовать снижению активности TLR и вносить важный вклад в терапию ОА.

Сделанные выводы подтверждаются результатами хемореактивного анализа TLR, экспериментальными и клиническими данными. Установление способности Хондрогарда избирательно модулировать различные типы TLR позволяет существенно дополнить механизм действия данного препарата.

Следует подчеркнуть, что сделанные выше выводы относятся только к стандартизированным формам ХС, которые содержат достаточные количества Х4С и Х6С. Примером такой субстанции с высокой степенью стандартизации является ХС, который получен из хрящевой ткани быка и является действующим веществом препарата Хондрогард [38]. Эффективность и безопасность данного препарата неоднократно подтверждены в клинических исследованиях, а также в собственном метаанализе [39].

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Abdelwahab A, Palosaari S, Abdelwahab SA, et al. Differential synovial tissue expression of TLRs in seropositive and seronegative rheumatoid arthritis: A preliminary report. *Autoimmunity*. 2021 Feb;54(1):23-34. doi: 10.1080/08916934.2020.1864729. Epub 2020 Dec 30.
- Park H, Hong J, Yin Y, et al. TAP2, a peptide antagonist of Toll-like receptor 4, attenuates pain and cartilage degradation in a monoiodoacetate-induced arthritis rat model. *Sci Rep*. 2020 Oct 15;10(1):17451. doi: 10.1038/s41598-020-74544-5
- Herrero-Beaumont G, Perez-Baos S, Sanchez-Pernaute O, et al. Targeting chronic innate inflammatory pathways, the main road to prevention of osteoarthritis progression. *Biochem Pharmacol*. 2019 Jul;165:24-32. doi: 10.1016/j.bcp.2019.02.030. Epub 2019 Feb 27.
- Barreto G, Manninen M, Eklund K. Osteoarthritis and Toll-Like Receptors: When Innate Immunity Meets Chondrocyte Apoptosis. *Biology (Basel)*. 2020 Mar 30;9(4):65. doi: 10.3390/biology9040065
- Torshin IYu, Rudakov KV. Combinatorial analysis of the solvability properties of the problems of recognition and completeness of algorithmic models. Part 1: factorization approach. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2017;27(1):16-28.
- Torshin IYu, Rudakov KV. Combinatorial analysis of the solvability properties of the problems of recognition and completeness of algorithmic models. Part 2: metric approach within the framework of the theory of classification of feature values. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2017;27(2):184-99.
- Torshin IYu. Optimal dictionaries of the final information on the basis of the solvability criterion and their applications in bioinformatics. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2013;23(2):319-27.
- Torshin IYu, Rudakov KV. On the theoretical basis of the metric analysis of poorly formalized problems of recognition and classification. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2015;25(4):577-87.
- Torshin IYu, Rudakov KV. On the Procedures of Generation of Numerical Features Over Partitions of Sets of Objects in the Problem of Predicting Numerical Target Variables. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2019;29(4):654-67. doi: 10.1134/S105466181904017
- Zitnik M, Sosic R, Maheshwari S, Leskovec J. BioSNAP Datasets: Stanford Biomedical Network Dataset Collection, Aug 2018. Available from: <http://snap.stanford.edu/biodata>
- The Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong. *Nucleic Acids Res*. Jan 2019;47(D1):D330-D338.
- Nie F, Ding F, Chen B, et al. Dendritic cells aggregate inflammation in experimental osteoarthritis through a toll-like receptor (TLR)-dependent machinery response to challenges. *Life Sci*. 2019 Dec 1;238:116920. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116920. Epub 2019 Oct 11.
- Huang ZY, Perry E, Huebner JL, et al. Biomarkers of inflammation — LBP and TLR-predict progression of knee osteoarthritis in the DOXY clinical trial. *Osteoarthritis Cartilage*. 2018 Dec;26(12):1658-65. doi: 10.1016/j.joca.2018.08.005. Epub 2018 Aug 23.
- Won Y, Yang JI, Park S, Chun JS. LBP and CD14, cofactors of toll-like receptors, are essential for low-grade inflammation-induced exacerbation of post-traumatic osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2021 Feb 8. doi: 10.1002/art.41679
- Clanchy FIL, Borghese F, Bystrom J, et al. TLR expression profiles are a function of disease status in rheumatoid arthritis and experimental arthritis. *J Autoimmun*. 2021 Mar;118:102597. doi: 10.1016/j.jaut.2021.102597. Epub 2021 Jan 22.
- Hwang HS, Lee MH, Kim HA. The TLR-2/TonEBP signaling pathway regulates 29-kDa fibronectin fragment-dependent expression of matrix metalloproteinases. *Sci Rep*. 2021 Apr 26;11(1):8891. doi: 10.1038/s41598-021-87813-8
- Miller RE, Ishihara S, Tran PB, et al. An aggrecan fragment drives osteoarthritis pain through Toll-like receptor 2. *JCI Insight*. 2018 Mar 22;3(6):e95704. doi: 10.1172/jci.insight.95704
- Liu YX, Wang GD, Wang X, et al. Effects of TLR-2/NF- κ B signaling pathway on the occurrence of degenerative knee osteoarthritis: an *in vivo* and *in vitro* study. *Oncotarget*. 2017 Jun 13;8(24):38602-17. doi: 10.18632/oncotarget.16199
- Liu X, Cai HX, Cao PY, et al. TLR4 contributes to the damage of cartilage and subchondral bone in discectomy-induced TMJOA mice. *J Cell Mol Med*. 2020 Oct;24(19):11489-99. doi: 10.1111/jcmm.15763. Epub 2020 Sep 11.
- Kalaitzoglou E, Lopes EBP, Fu Y, et al. TLR4 Promotes and DAP12 Limits Obesity-Induced Osteoarthritis in Aged Female Mice. *JBM R Plus*. 2018 Oct 4;3(4):e10079. doi: 10.1002/jbm4.10079. eCollection 2019 Apr.
- Barreto G, Senturk B, Colombo L, et al. Lumican is upregulated in osteoarthritis and contributes to TLR4-induced pro-inflammatory activation of cartilage degradation and macrophage polarization. *Osteoarthritis Cartilage*. 2020 Jan;28(1):92-101. doi: 10.1016/j.joca.2019.10.011. Epub 2019 Nov 9.
- Murata K, Uchida K, Takano S, et al. Osteoarthritis patients with high haemoglobin A1c have increased Toll-like receptor 4 and matrix metalloprotease-13 expression in the synovium. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2019 Jul 16;12:1151-9. doi: 10.2147/DMSO.S209677. eCollection 2019.

23. Liang H, Wang H, Luo L, et al. Toll-like receptor 4 promotes high glucose-induced catabolic and inflammatory responses in chondrocytes in an NF- κ B-dependent manner. *Life Sci*. 2019 Jul 1;228:258-65. doi: 10.1016/j.lfs.2019.04.011. Epub 2019 Apr 4.
24. Wang B, Li J, Tian F. Downregulation of lncRNA SNHG14 attenuates osteoarthritis by inhibiting FSTL-1 mediated NLRP3 and TLR4/NF- κ B pathway through miR-124-3p. *Life Sci*. 2021 Apr 1;270:119143. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119143. Epub 2021 Feb 1.
25. Elmazoglu Z, Aydin Bek Z, Saribas SG, et al. S-Allylcysteine Inhibits Chondrocyte Inflammation to Reduce Human Osteoarthritis via Targeting RAGE, TLR4, JNK and Nrf2 Signaling: Comparison with Colchicine. *Biochem Cell Biol*. 2021 Apr 30. doi: 10.1139/bcb-2021-0004
26. Qi W, Chen Y, Sun S, et al. Inhibiting TLR4 signaling by linarin for preventing inflammatory response in osteoarthritis. *Aging (Albany NY)*. 2021 Feb 1;13(4):5369-82. doi: 10.18632/aging.202469. Epub 2021 Feb 1.
27. Wang Q, Zhuang D, Feng W, et al. Fraxetin inhibits interleukin-1 β -induced apoptosis, inflammation, and matrix degradation in chondrocytes and protects rat cartilage *in vivo*. *Saudi Pharm J*. 2020 Dec;28(12):1499-506. doi: 10.1016/j.jsps.2020.09.016. Epub 2020 Sep 25.
28. Tsuno H, Arito M, Suematsu N, et al. A proteomic analysis of serum-derived exosomes in rheumatoid arthritis. *BMC Rheumatol*. 2018 Nov 27;2:35. doi: 10.1186/s41927-018-0041-8. eCollection 2018.
29. Han W, Chen X, Wang X, et al. TLR-4, TLR-5 and IRF4 are diagnostic markers of knee osteoarthritis in the middle-aged and elderly patients and related to disease activity and inflammatory factors. *Exp Ther Med*. 2020 Aug;20(2):1291-8. doi: 10.3892/etm.2020.8825. Epub 2020 May 30.
30. Qiu B, Xu X, Yi P, Hao Y. Curcumin reinforces MSC-derived exosomes in attenuating osteoarthritis via modulating the miR-124/NF- κ B and miR-143/ROCK1/TLR9 signalling pathways. *J Cell Mol Med*. 2020 Sep;24(18):10855-65. doi: 10.1111/jcmm.15714. Epub 2020 Aug 9.
31. Hamasaki M, Terkawi MA, Onodera T, et al. Transcriptional profiling of murine macrophages stimulated with cartilage fragments revealed a strategy for treatment of progressive osteoarthritis. *Sci Rep*. 2020 May 5;10(1):7558. doi: 10.1038/s41598-020-64515-1
32. Hu S, Wang J, Xu Y, et al. Anti-inflammation effects of fucosylated chondroitin sulphate from *Acaudina molpadioides* by altering gut microbiota in obese mice. *Food Funct*. 2019 Mar 20;10(3):1736-46. doi: 10.1039/c8fo02364f
33. Korotkyi O, Huet A, Dvorshchenko K, et al. Probiotic Composition and Chondroitin Sulfate Regulate TLR-2/4-Mediated NF- κ B Inflammatory Pathway and Cartilage Metabolism in Experimental Osteoarthritis. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2021 Jan 18. doi: 10.1007/s12602-020-09735-7
34. Jin M, Iwamoto T, Yamada K, et al. Effects of chondroitin sulfate and its oligosaccharides on toll-like receptor-mediated IL-6 secretion by macrophage-like J774.1 cells. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2011;75(7):1283-9. doi: 10.1271/bbb.110055. Epub 2011 Jul 7.
35. Jin M, Iwamoto T, Yamada K, et al. Disaccharide derived from chondroitin sulfate A suppressed CpG-induced IL-6 secretion in macrophage-like J774.1 cells. *Cytokine*. 2010 Jul;51(1):53-9. doi: 10.1016/j.cyto.2010.03.002. Epub 2010 Mar 29.
36. Facchini FA, Zaffaroni L, Minotti A, et al. Structure-Activity Relationship in Monosaccharide-Based Toll-Like Receptor 4 (TLR4) Antagonists. *J Med Chem*. 2018 Apr 12;61(7):2895-909. doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b01803. Epub 2018 Mar 12.
37. Iannotta M, Belardo C, Trotta MC, et al. N-palmitoyl-D-glucosamine, a Natural Monosaccharide-Based Glycolipid, Inhibits TLR4 and Prevents LPS-Induced Inflammation and Neuropathic Pain in Mice. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 2;22(3):1491. doi: 10.3390/ijms22031491
38. Громова ОА, Торшин ИЮ, Зайчик БЦ и др. О различиях в стандартизации лекарственных препаратов на основе экстрактов хондроитина сульфата. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2021;14(1):40-52. doi: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2021.083
- [Gromova OA, Torshin IYu, Zaychik BTs, et al. Differences in the standardization of medicinal products based on extracts of chondroitin sulfate. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya = FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2021;14(1):41-53. doi: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2021.083 (In Russ.)].
39. Торшин ИЮ, Лиля АМ, Наумов АВ и др. Метаанализ клинических исследований эффективности лечения остеоартрита препаратом Хондрогард. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2020;13(4):18-29. doi: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2020.066
- [Torshin IYu, Lila AM, Naumov AV, et al. Meta-analysis of clinical trials of osteoarthritis treatment effectiveness with Chondroguard. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya = FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2020;13(4):18-29 (In Russ.)].

Поступила/отрецензирована/принята к печати

Received/Reviewed/Accepted

18.06.2021/20.07.2021/23.07.2021

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Статья опубликована при поддержке компании ЗАО «ФармФирма «Сотекс». В статье выражена позиция авторов, которая может отличаться от позиции компании ЗАО «ФармФирма «Сотекс». Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

Publication of this article has been supported by Sotex PharmFirma. The article expresses the position of the authors, which may differ from that of Sotex PharmFirma. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Громова О.А. <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>

Торшин И.Ю. <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>

Лиля А.М. <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>

Алексеева Л.И. <https://orcid.org/0000-0001-7017-0898>

Таскина Е.А. <https://orcid.org/0000-0001-8218-3223>