

УДК: 616.5-004.1-092

ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТЫ И ИХ РОЛЬ В ОБМЕНЕ ХОНДРОЦИТОВ И МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ.

А.Ф.Панасюк и Е.В.Ларионов

Институт ревматологии (директор-академик РАМН В.А.Насонова) РАМН

Хондроитинсульфаты (ХС) вместе с кератан-, дерматан-, гепарансульфатами и гепарином относятся к группе соединений, которые имеют общее название - сульфатированные гли-

ры, состоящие из последовательно соединенных дисахаридных единиц, каждая из которых содержит гексозамин и урсоную кислоту или галактозу. Физико-химические свойства одних и тех

Таблица 1.

Гликозаминогликаны и их распределение в тканях позвоночных

	Тип Локализация	Состав дисахаридной единицы
1.	<u>Гиалуроновая кислота</u> Стекловидное тело, синовия, кожа, хрящ, кости, рыхлая СТ	Д-глюкуроновая кислота- Д-глюкозамин (dGlcUA)-(dGlcNAc)
2.	<u>Хондроитин</u> Роговица, аорта, хрящ, кожа, кости, склера	d-GlcUA - Д-галактозамин d-GalNAc)
3.	<u>Хондроитин-4-сульфат</u> Хрящ, кожа, сухожилия	d-GlcUA - d-GalNAc
4.	<u>Хондроитин-6-сульфат</u> Хрящ, кожа, сухожилия	d-GlcUA - d-GalNAc
5.	<u>Гепарин</u> Кожа, легкие, печень, сосуды	Л-Идуоновая кислота - d-GlcNAc (1-IdUA) или d-GlcUA - d-GlcNAc
6.	<u>Гепарансульфат</u> Легкие, аорта	d-GlcUA - d-GlcNAc или 1-IdUA - d-GlcNAc
7.	<u>Кератансульфат I</u> Роговица	Галактоза (Gal) - d-GlcNAc
8.	<u>Кератансульфат II</u> Хрящ	Gal - d-GlcNAc
9.	<u>Дерматансульфат</u> Кожа, сухожилия, склера, роговица, сердечные клапаны	1-IdUA - d-GlcNAc или 1-IdUA - d-GalNAc

козаминогликаны (ГАГ). Химический состав ГАГ, найденных в соединительной ткани (СТ) позвоночных, представлен в табл. 1. Эти соединения представляют из себя линейные полиме-

же типов гликозаминогликанов, выделенных из разных типов СТ позвоночных, могут различаться между собой главным образом за счет степени и места сульфатирования данных соединений [3, 7, 37]. Классическим примером являются хондроитин-4 (ХС-4) и хондроитин-6 (ХС-6) сульфаты. Это изомеры, отличающиеся только локализацией в их молекуле сульфатной группы: у ХС-4 она присоединена к 4-му атому углерода в

молекуле галактозамина, а у ХС-6, соответственно, к 6-му атому. Сами ХС-4 и ХС-6 также могут быть гетерогенны по структуре. Внутри их цепей часто присутствуют дисахаридные субъединицы, в которых сульфатная группа либо отсутствует совсем, либо занимает несвойственное для данного ГАГ положение при 2, 4 или 6 атомах углерода; молекула дисахарида может быть гиперсульфатирована сразу в двух или трех положениях [27]. Эта биохимическая вариабельность строения позволяет данным молекулам иметь различную молекулярную массу и плотность заряда на своей поверхности. Именно эти характеристики и определяют многочисленные свойства данных ХС.

В матриксе хряща ГАГ всегда соединены с белком и входят в состав протеогликанов. Мономер протеогликана хряща [4, 23] состоит из 50-60 цепей кератансульфата и 100 цепей ХС, которые ковалентно связаны со стержневым бел-

вого порядка. Далее образуются агрегаты более высокого порядка, в которых димеры одновременно соединены с двумя и более молекулами связующего белка [2].

В обоих случаях боковые цепи протеогликанов, состоящие из ГАГ, переплетаются с волокнами коллагена и создают плотную трехмерную сетку, которая обеспечивает как избирательный проход через неё различных макромолекул, так и прочную пространственную структуру. За счет своей высокой гидрофильности цепи ГАГ сорбируют воду, и внутри хрящевого матрикса формируется герметизированная система, из которой при нагрузке на поверхности хряща выделяется жидкость, формирующая защитную пленку и обеспечивающая почти идеальное скольжение в суставе.

Возрастные изменения концентрации и качественного состава ГАГ в разных видах хрящевой ткани изучены достаточно хорошо. У по-

звоночных характерной особенностью качественного состава ГАГ во всех изученных видах хряща на ранних стадиях его развития является отсутствие кератансульфата [7, 13, 15, 34]. У человека появления кератансульфата в хряще черепа, грудины и ребер отмечено только после 8 недель

Таблица 2.

Состав мономера протеогликана хряща.
(по Т.Hardmgham, 1981) – молекулярный вес от 1.0 до 4.0 x 10⁶ дальтон

Композиция	Кол-во цепей	Мол. вес	% от общего веса
Белок	1	2.0 - 3.0x10 ⁵	7-12
Хондроитинсульфат	100	20000	80-85
Кератансульфат	50	5500	7
Олигосахара	50	1200-2000	1-3
Заряженные группы			
Сульфатная		4500 на молекулу	
Карбоксильная		4200 на молекулу	
Всего:		8700 на молекулу	

ком. Мономеры протеогликана (табл. 2) несут большой отрицательный заряд и являются основными блоками для построения как минимум двух видов белково-полисахаридных комплексов хрящевого матрикса. Во-первых, они формируют агрегаты с гиалуроновой кислотой, когда 100-140 протеогликановых мономеров соединены с длинной цепью гиалуроновой кислоты. Это поистине гигантская молекула, напоминающая по строению ерш для мытья посуды и имеющая молекулярный вес до 400 x 10⁶ дальтон [23]. Во-вторых, мономеры протеогликана при ассоциации их С-концевых участков могут образовывать димеры, которые в свою очередь взаимодействуют N-концевыми участками с молекулами гликопротеина и формируют агрегаты пер-

внутриутробного развития [34]. В эмбриональном хряще ГАГ представлены главным образом ХС-4 и ХС-6, а также гепарансульфатом [11, 13, 39, 50]. В процессе эмбрионального развития количество гепарансульфата в хрящевой ткани падает, а кератансульфата нарастает. Содержание ХС также нарастает на ранних этапах эмбриогенеза, причем с явным преобладанием ХС-4 над ХС-6 [34]. Степень сульфатирования ГАГ также увеличивается по мере эмбрионального развития [30, 36, 46]. Начиная с постнатального периода в хрящевой ткани суммарное количество ГАГ с возрастом постепенно снижается, но при этом удельное содержание кератансульфата продолжает нарастать. Отношение ХС-4 и ХС-6 достигает максимума в раннем постнаталь-

и ГАГ изменяется уже на самых ранних этапах повреждения суставного хряща [4, 7, 24, 38]. Разрушение белково-полисахаридных комплексов

глюкозамин [27, 48], а также полусинтетические гиперсульфатированные полисахариды, такие как артепарон и пентозан [19, 26, 41], способны

стимулировать биосинтез как коллагена, так и протеогликанов в хрящевой ткани. В наших собственных исследованиях при изучении влияния препарата ГАГ, содержащего ХС-4 и кератансульфат, на культуру хондроцитов человека было установлено, что характер его действия различен и зависит от концентрации.

Таблица 3.

Влияние препарата сульфатированных ГАГ (с ГАГ) на заживление полнослойной раны у крыс.

Опыт	Размер полнослойной раны (в % от исходного)						
	дни после операций						
	7	10	14	18	21	24	27
контроль (n=5)	79±15	60±12	37±7	20±3	9±2	4±2	0
с ГАГ 1 мг/мл (n=5)	66±10	50±17	25±7	10±3**	0*	0	0
с ГАГ 2 мг/мл (n=5)	69±7	49±7	31±8	15±3	5±2	0	0

* $p < 0,01$ (критерий Стьюдента) в сравнении с контролем

** $p < 0,05$ (критерий Вилкоксона) в сравнении с контролем

резко изменяет свойства хрящевой ткани, делает её неустойчивой к нагрузкам и приводит к дальнейшей деградации коллагенового каркаса [22, 44]. Подобные изменения происходят и при старении [3, 25].

Как уже упоминалось, в норме цепи ГАГ

При высоком содержании ГАГ в культуральной среде (150-200 мкг/мл) было отмечено достоверное подавление размножения хондроцитов, но при этом продукция протеогликанов и коллагена возрастала (табл. 4). В низких концентрациях (менее 10 мкг/мл) этот препарат достоверно

Таблица 4.

Влияние ГАГ на обмен хондроцитов человека в культуре ткани

Показатель обмена	Концентрация ГАГ (мкг/мл)			
	Контроль	5	100	200
Синтез ДНК по включению ^3H -тимидина	3877±222	5142±254*	2097±395*	1951±412*
Продукция коллагена (по ^{14}C -оксипролину)	1824±146	1739±202	2648±139*	2724±156*
Продукция протеогликанов по включению $^{35}\text{SO}_4$	634±61	703±82	879±60*	820±71

* различия по сравнению с контролем достоверны ($p < 0,05$)

свободном виде практически отсутствуют, но при патологических состояниях, когда идет разрушение белково-полисахаридных комплексов, они появляются и способны проявлять свои дополнительные уникальные свойства.

Одним из них является способность ХС влиять на пролиферацию и обмен хондроцитов. Правда, имеющиеся в литературе данные иногда противоречивы, но значительно чаще исследователи выявили достоверное влияние этих веществ на основные показатели обмена клеток. Было показано, что ХС и сульфатированный

(на 20-30%) повышал размножение хондроцитов, но не влиял на показатели обмена этих клеток. Данный эффект на клетки хряща может быть следствием как непосредственного действия ХС через построение определенного типа матрикса или встраивания их в клеточную мембрану, так и в результате метаболизации цепей ГАГ и утилизации промежуточных метаболитов. Такими соединениями являются гексозамины, сахара и сульфаты. Для всех этих соединений известно, что они могут стимулировать и рост, и обмен хрящевой ткани [18]. Существует достаточное ко-

личество работ о влиянии сульфатированного глицозамина на пролиферацию и обмен хондроцитов [27, 49]. Нет необходимости говорить о роли сахаров потому, что они используются клеткой во многих обменных реакциях. Что же касается сульфата, то даже при незначительном его снижении в биологических жидкостях (с 0,3 mM до 0,2mM) наблюдается резкое, более чем на одну треть, снижение продукции протеогликанов в

нии достоверно по сравнению с контролем повышали кровоток в предплечье и в кончике пальца. Улучшение происходило как за счет уменьшения вазоспазма сосудов, так и вследствие антифиброзного действия данных соединений. Можно предположить, что ХС способны также улучшать кровоток в синовиальной ткани и в субхондральной зоне кости, приводя к стабилизации показателей обмена хряща.

Таблица 5.

Влияние препаратов, содержащих сульфатированные ГАГ, на состояние микроциркуляции у больных системной склеродермией

Капиллярный кровоток (мл·100г·мин ⁻¹)	Предплечье			Кончик пальца		
	Отсутствие эффекта	Повышение (усиление)	Снижение (ослабление)	Отсутствие эффекта	Повышение	Снижение
ГАГ	21 (3)	43 (6)	36 (5)	0	84 (11)	16 (2)
Контроль ²	0	25 (1)	75 (3)	0	25 (1)	76 (3)
Вазоспазм ³						
ГАГ	21 (3)	15 (2)	64 (9)	8(1)	41 (5)	51 (7)
Контроль ²	0	50 (2)	50 (2)	50 (2)	25 (1)	25 (1)
Вазодилатационный потенциал ⁴						
ГАГ	7 (1)	29 (4)	64 (9)	0	25 (3)	75(9)
Контроль ²	0	100 (4)	0	0	75 (3)	25 (1)

Примечания: Величины представлены в % от общего количества обследованных больных, в скобках указано число больных в каждой группе.

1. Капиллярный кровоток исследовался методом клиренса ¹³³Xe из внутрикожного депо.
2. В качестве контроля использовался местно изотонический раствор натрия хлорида.
3. Вазоспазм (% уменьшения кровотока во время пробы Вальсальвы) исследовался методом лазер-Допплер флуометрии
4. Вазодилатационный потенциал методом лазер-Допплер флуометрии оценивался по изменению (в %) кровотока после 3-минутного местного воздействия источником тепла при t 42°C.

хрящевой ткани человека [32, 33].

Было установлено [12, 29], что ХС способны подавлять синтез липидов. При введении ХС внутривенно, подкожно или перорально у экспериментальных животных отмечалось значительное снижение уровня сывороточных липидов. Эти наблюдения легли в основу применения ХС в качестве препаратов для предотвращения и лечения артеросклероза. Положительное влияние ГАГ на сосудистую систему было отмечено и в наших исследованиях, проведенных у больных системной склеродермией. Оценка состояния микроциркуляции методами лазер-Допплер флуометрии и клиренса ¹³³Xe, проведен нами совместно с проф. Э.С.Мач, показала (табл. 5), что препараты ГАГ, содержащие ХС-4 и кератансульфат, при локальном их приме-

Недавно было обнаружено [16], что ХС в системе in vitro подавляют апоптоз, вызванный закисью азота. Предобработка хондроцитов кролика смесью ХС в концентрации 100 мкг/мл в 70% случаев снижала количество гибнущих клеток в среднем на 28%, этот эффект пропорционально зависел от времени воздействия закиси азота.

Одним из наиболее известных и важных свойств сульфатированных ГАГ является их способность подавлять активность ферментов, принимающих участие в разрушении межклеточного матрикса СТ. Они способны подавлять активность гиалуронидазы и эластазы гранулоцитов [9, 10], кислых катепсинов [31], коллагеназы [20], лизосомальных гидролаз, сериновых протеиназ [14] и ряда других ферментов [21, 45]. Подобны-

ми свойствами обладает и сульфатированный гликозамин [48]. По нашим собственным наблюдениям препараты ГАГ *in vitro* в концентрации 100 мкг/мл полностью подавляли активность 0,1% раствора пепсина, что прямо доказывает их способность снижать деятельность кислых протеиназ, которая резко повышена в условиях

что смесь ХС-4 и кератансульфата, а также артепарон и румалон в концентрациях от 100 до 200 мкг/мл на 30-40% подавляют синергическое действие коллагеназы и свободных кислородных радикалов [5]. Близкие результаты были недавно получены и другими исследователями, которые показали, что ХС обладают защитным действи-

Схема 1.
 Механизмы влияния сГАГ на обмен хрящевой ткани



воспаления.

Кроме того, сульфатированные ГАГ способны частично блокировать действие свободных кислородных радикалов. В эксперименте на культуре хондроцитов человека мы показали,

ем в отношении влияния кислородных радикалов на клеточные мембраны хондроцитов [47].

Противовоспалительный эффект ГАГ связан, по-видимому, не только с их влиянием на активность ферментов и подавление перекисно-

го окисления липидов. Общеизвестно, что эти полианионные соединения очень хорошо связывают различные молекулы. Цепи ГАГ могут менять конформацию молекул (например, ферментов, факторов роста и других цитокинов) и таким образом снижать их биологическую активность. ГАГ также способны блокировать антигенные детерминанты, препятствуя развитию иммунных и аутоиммунных процессов [28]. Было показано [49], что ХС и сульфатированный гликозамин обладают определенным противоотечным действием, хотя не способны предотвратить отек, уже инициированный такими медиаторами воспаления как брадикинин, серотонин или гистамин. Противоотечное действие сульфатированных ГАГ, по-видимому, осуществляется за счет двух механизмов. Во-первых, ГАГ забирают на себя воду и тем самым изымают её из ткани. Во-вторых, ГАГ способны прерывать на начальных этапах афферентное звено воспаления, осуществляемое макрофагами. ХС, связывая полностью или частично продукты распада и, возможно, часть медиаторов, блокируют хемотаксис и таким образом лишают макрофаги возможности появляться в очаге воспаления, распознавать антигены и высвобождать соответствующие медиаторы. К такому заключению мы пришли в результате изучения гистологических препаратов, отражающих динамику формирования рубца роговицы у экспериментальных животных. В случае местного применения ГАГ в постоперационный период в зоне формирования рубца отмечалось практически полное отсутствие макрофагов и отека роговицы. Позднее влияние ХС и их частично деполимеризованных производных на макрофаги было доказано в специальных исследованиях [47]. Так, ХС подавляли направленный хемотаксис лейкоцитов человека, индуцированный зимозан-активированной сывороткой, снижали фагоцитоз и высвобождение лизоцима. Сравнение с нестероидными противовоспалительными препаратами показало, что ХС были более эффективны во время клеточной фазы воспаления, чем на стадии отека. Однако, по данным Omata T. и соавт. [43], ХС при скормливания крысам способны подавлять потерю протеогликанов хряща в ответ на введение брадикинина. Кроме того, показано, что предварительное введение животным протеогликанов, богатых ХС, предотвращает развитие артрита, индуцированного микобактерией туберкулеза [28].

К сожалению, многие механизмы действия

ГАГ и ХС пока изучены недостаточно, но уже сейчас можно с уверенностью утверждать (схема 1), что ГАГ в целом и ХС в частности оказывают влияние на многие показатели обмена соединительнотканного матрикса.

К настоящему времени на фармацевтическом рынке имеется ряд препаратов, содержащих различные ГАГ и их аналоги. Наиболее известными из них являются "Структур" и "Хондросульф". Эти препараты состоят из смеси нативных ХС-4 и ХС-6 в отношении, близком к таковому в хряще взрослых здоровых людей. За последние несколько лет опубликован ряд работ [1, 17, 18, 35], показывающих, что эти препараты, а также сульфатированный гликозамин [27] эффективны при остеоартрозе и других дегенеративных заболеваниях суставов. Положительным качеством сульфатированных ГАГ является практически полное отсутствие побочного действия на желудочно-кишечный тракт, почки, свертывающую систему крови и гомеостаз в целом. Можно предположить, что эти препараты окажутся перспективными для применения не только в ревматологии, но и в других областях медицины.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Алексеева Л.И., Беневоленская Л.И., Насонов Е.Л. и соавт. Структур (хондроитин сульфат) - новый терапевтический препарат для лечения остеоартроза. Тер. архив, 1999, 71, 5, 51-53.
2. Мусил Я., Новакова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах. 1984, М., Мир, 215.
3. Никитин В.Н., Перский Е.Э., Утевская Л.А. Возрастная и эволюционная биохимия коллагеновых структур. Киев, Наукова Думка, 1977, 242.
4. Павлова В.Н., Копьева Т.Н., Слуцкий Л.И., Павлов Г.Г. Хрящ. М., Медицина, 1988, 317.
5. Панасюк А.Ф., Ярошук Г.В., Митрович Д. Влияние свободных радикалов на пролиферацию и обмен хондроцитов и на чувствительность клеточного монослоя к действию протеаз. Вопросы мед. химии, 1995, 41, 6, 19-22.
6. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань, М. Медицина, 1981- 312.
7. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. Л., Медицина, 1969, 375.
8. Стейси М. Баркер С. Углеводы живых тканей.-М., Мир, 1965, 324.

9. Andrews JL, Ghosh P, Lentini A, Ternai B. The interaction of pentosan polysulphate with human neutrophil elastase and connective tissue matrix components, *Chem. Biol. Interact.*, 1983, 47, 157-173.
10. Baici A, Salgam P, Fehr K, Boni A. Inhibition of human elastase from PMN leukocytes by glycosaminoglycan polysulphate (arteparon). *Biochem. Pharmacol.*, 1980, 29, 1723-1727.
11. Bjelle A.O., Antonopoulos C.A., Engfeldt B. et al. Fractionation of the glycosaminoglycans of human articular cartilage on estiola cellulose in aging and in osteoarthritis. *Calcifid Tissue Res.*, 1972, 8, 3, 237-246.
12. Camejo G., Hurt-damejo E., Rosengren B. et al. Modification of copper-catalyzed oxidation of low density lipoprotein by proteoglycans and glycosaminoglycans. *J. Lipid Res.*, 1991, 32, 1983-1991.
13. Campo R.D., Tourtellotte C.D. The composition of bovine cartilage and bone. *Biochem. Biophys. Acta*, 1967, 141, 3, 614-624.
14. Carreno MR, Muniz OE, Howell DS. The effect of glycosaminoglycan polysulfuric acid ester on articular cartilage in experimental osteoarthritis: effect on morphological variables of disease severity. *J. Rheumatol.*, 1986, 13, 490-497.
15. Chvapil M. Physiology of connective tissue. Butterworths, London and Czechoslovak Medical Press, Prague, 1967, 417.
16. Conrozier T. Death of articular chondrocytes. Mechanisms and protection., *Presse Med.*, 1998, 27, 36, 1859-1861.
17. Conrozier T. Chondroitin sulfate (CS 4&6): practical applications and economic impact. *Presse Med.*, 1998, 27, 36, 1866-1868.
18. Deal CL., Moskowitz RW. Nutraceuticals as therapeutic agents in osteoarthritis. The role of glucosamine, chondroitin sulfate and collagen hydrolysate. *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, 1999, 25, 2, 379-395.
19. Glade M.J. Polysulphated glucosaminoglycans accelerates net synthesis of collagen and glycosaminoglycan by arthritic equine cartilage tissues and chondrocytes. *Am. J. Vet. Res.*, 1990, 51, 779-785.
20. Halverson P.B., Cheung H.S., Struve J., McCarty D.J. Suppression of active collagenase from calcified lapine synovium by arteparon. *J. Rheumatol.*, 1987, 14, 1013-1017.
21. Hannan H., Ghosh P., Bellenger C., Taylor T. Systemic administration of glycosaminoglycan polysulphate (arteparon) provides partial protection of articular cartilage from damage produced by meniscectomy in the canine. *J. Orthop. Res.*, 1987, 5, 47-59.
22. Hardingham T. Chondroitin sulfate and joint disease. *Osteoarthritis Cartilage*, 1998, 6, suppl A, 3-5.
23. Hardingham T. Proteoglycans. *Biochem. Soc. Trans.*, 1981, 9, 6, 489-497.
24. Howell D.S. Pathogenesis of osteoarthritis. *Am. J. Med.*, 1986, 80, 24-28.
25. Joint Cartilage Degradation. Basic and clinical aspects., Eds. Woessner J. F., Howell D.S., 1993, Marcel Dekker, Inc., NY-Basel-Hong Kong, 557.
26. Kalbhen D.A. Pharmacological studies on the anti-inflammatory effect of a semisynthetic polysaccharide (pentosan polysulfate). *Pharmacology*, 1973, 9, 74-79.
27. Kelly G.S. The role glucosamine sulfate and chondroitin sulfate in the treatment of degenerative joint disease. *Alt. Med. Rev.*, 1998, 3, 1, 27-39.
28. Kingston A.E., Carney S.L., Hicks C.A., Billingham M.E. In vitro and in vivo effects of proteoglycan fractions in adjuvant treated rats.- *Agents Actions Suppl.*, 1993, 39, p. 75-79.
29. Konador A., Kawiak J. Changes in chondroitin sulfate concentration in rabbit blood plasma depending on the method of its administration.- *Arch. Immunol. Therap. Experiment.*, 1977, 25, 895-903.
30. Kondo K., Seno N., Anno K. Mucopolysaccharides from chicken skin of three age groups.- *Biochem. Biophys. Acta*, 1971, 244, 3, 513-522.
31. Kontawelert P., Francis D.L., Brooks P.M., Ghosh P. Application of an enzyme-linked immunosorbent-inhibition assay to quantitate the release of KS peptides into fluids of the rat subcutaneous air pouch model and the effects of chondroprotective drugs on the release process. *Rheumatol Intern*, 1989, 9, 77-83.
32. Van der Kraan P.M., de Vries B.J., Vitters E.L., et al. Inhibition of glycosaminoglycan synthesis in anatomically intact rat patellar by paracetamol-induced serum sulfate depletion. *Biochem. Pharmacol.*, 1988, 37, 6, 3683-3690.
33. Van der Kraan P.M., Vitters E.L., de Vries B.J., van den Berg W.B. High susceptibility of human articular cartilage glycosaminoglycan synthesis to changes in inorganic sulfate availability. *J. Orthop. Res.*, 1990, 8, 4, 565-571.
34. Lash J.W., Saxen L., Kosher R.A. Human chon-

- drogenesis: glycosaminoglycan content of embryonic human cartilage. *J. Exp. Zool.*, 1974, 189, 1, 127-131.
35. Leeb B.F., Schweitzer H., Montag K., Smolen J.S. A metaanalysis of chondroitin sulfate in the treatment of osteoarthritis. *J. Rheumatol.*, 2000, 27, 1, 205-211.
36. Lipson M.J., Cerskus R.A., Silbert J.E. Glycosaminoglycans and glycosaminoglycan-degrading enzyme of *Rana catesbeiana* back skin during late stages of metamorphosis. *Develop. Biol.*, 1971, 25, 2, 198-208.
37. Lohmander S., Antonopoulos C.A., Friberg U. Chemical and metabolic heterogeneity of chondroitin sulfate and keratan sulfate in guinea pig cartilage and nucleus pulposus. *Biochem. Biophys. Acta*, 1973, 304, 2, 430-448.
38. Mankin H.J. Reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis. *N. Engl. J. Med.*, 1974, 1310-1335.
39. Mathews B., Glagov S. Acid mucopolysaccharide patterns in development and aging of human and other vertebrate cartilage. In: *Biochemie et physiologie du tissu conjonctif*. Lyon, 1966, 21-26.
40. Meaney M.F. Increased accuracy and precision in screening for urinary mucopolysaccharides. *N. Z. J. Med. Lab. Technol.*, 1974, 28, 2, 29-34.
41. Muller W., Panse P., Brand S., Strubb A. In vivo study of the distribution, affinity for cartilage and metabolism of arteparon. *Z. Rheumatol.*, 1983, 42, 355-361.
42. Murata K. Effect of age on distribution of acidic glycosaminoglycans in normal human urine: special reference to proportion of chondroitin sulfate A to the C-isomer. *Experientia*, 1973, 29, 10, 1219-1221.
43. Omata T., Segawa Y., Itokazu Y. et al. Effects of chondroitin sulfate-C on bradykinin-induced proteoglycan depletion in rats. *Arzneimittelforschung.*, 1999, 49, 7, 577-581.
44. Plaas A.H.K., West L.A., Wong-Palm S., Nelson F.R.T. Glycosaminoglycan sulfation in human osteoarthritis. Disease-related alterations at the non-reducing termini of chondroitin and dermatan sulfate. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, 20, 12642-12649.
45. Postmen O., Forsskahl B., Markhind M. Local glycosaminoglycan polysulphate injection therapy in osteoarthritis of the hand. A placebo controlled double-blind clinical study. *Scand. J. Rheumatol.*, 1988, 17, 197-202.
46. Prodi G. Data on dermis mucopolysaccharides and their evolution in growing animals. In: *Biochemie et physiologie du tissu conjonctif*. Lyon, 1966, 33-39.
47. Ronca F., Palniieri L., Panicucci P., Ronca G. Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate. *Osteoarthritis Cartilage*, 1998, 6, suppl A, 14-21.
48. Setnikar I., Pacini M.A., Revel L. Antiarthritic effect of glucosamine sulfate studied in animal models. *Arzneim. Forsch.*, 1991, 41, 542-545.
49. Setnikar I. Antireactive properties of "chondroprotective" drugs. *Int. J. Tissue React.*, 1992, 41, 253-261.
50. Stanescu V., Stanescu R., Maroteaux P. Chemical studies on the human growth cartilage in fetuses and newborns. *Biol. Neonate*, 1973, 23, 5-6, 432-445.
51. Sugiura N., Iwasaki S., Aoki S. et al. Suppression of pannus-like extension of synovial cells by lipid-derivatized chondroitin sulfate: in vitro and in vivo studies using *Escherichia coli*-induced arthritic rabbits. *Int. J. Exp. Pathol.*, 1995, 76, 5, 369-379.
52. Verbruggen G., Veys E.M. Influence of sulphated glycosaminoglycans upon proteoglycan metabolism of synovial lining cells. *Acta Rheumatol. Belg.*, 1977, 1, 75-92.