

УДК 615.225

DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-2-133-139

Анальгетический эффект кардиотонических стероидов на фоне алкогольной нейропатии у крыс

В. А. Кашкин^{✉1, 2}

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова
Минздрава России, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,
194223, Россия, Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44

Сведения об авторе

Владимир Александрович
Кашкин,
SPIN-код: 6184-0878,
Scopus Author ID: 6701337632,
ORCID: 0000-0002-7202-0233,
e-mail: kashkinv@gmail.com

Для цитирования: Кашкин, В. А. (2020) Анальгетический эффект кардиотонических стероидов на фоне алкогольной нейропатии у крыс. *Интегративная физиология*, т. 1, № 2, с. 133–139. DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-2-133-139

Получена 27 октября 2019;
прошла рецензирование
28 ноября 2019;
принята 29 ноября 2019.

Финансирование: Данное экспериментальное исследование выполнено в рамках Государственных заданий № АААА-А18-118070690064-0 ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова МЗ РФ и № АААА-А18-118012290373-7 Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. П. Сеченова РАН.

Права: © Автор (2020).
Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Целью данного исследования была оценка антиноцицептивного эффекта кардиотонических стероидов на фоне развития алкогольной нейропатии у грызунов. Патология была сформирована путем хронического и форсированного потребления алкоголя в нарастающей концентрации. Модель форсированного употребления высоких доз алкоголя в течение 8 недель позволила сформировать симптомокомплекс, который был характерен для алкогольной нейропатии. При имитации (моделировании) острого алкогольного абстинентного синдрома выяснено, что на второй день после отмены алкоголя происходило увеличение почечной экскреции маринобуфагенина, ингибитора альфа-1 изоформы Na/K-АТФазы, с параллельным увеличением порога тактильной аллодинии, что указывает на вовлеченность кардиотонических стероидов в процесс ноцицепции при алкогольной зависимости. Концентрация маринобуфагенина в моче была измерена иммуноферментным анализом. Также было продемонстрировано, что оубаин, ингибитор альфа-3 изоформы Na/K-АТФазы, при системном введении статистически значимо увеличивал порог тактильной аллодинии, что указывает на выраженный обезболивающий эффект тестируемого стероида. Полученные данные свидетельствуют о том, что модуляция системы Na/K-АТФазы и ее эндогенных лигандов имеет терапевтический потенциал при развитии хронической боли на фоне алкогольной зависимости.

Ключевые слова: маринобуфагенин, оубаин, алкогольная нейропатия, Na/K-АТФаза, крысы.

Analgesic effect of cardiotonic steroids in rats with alcoholic neuropathy

V. A. Kashkin✉^{1,2}

¹ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6–8 Lva Tolstogo Str., Saint Petersburg 197022, Russia

² Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, 44 Toreza Avenue, Saint Petersburg 194223, Russia

Author

Vladimir A. Kashkin,
SPIN: 6184-0878,
Scopus Author ID: 6701337632,
ORCID: 0000-0002-7202-0233,
e-mail: kashkinv@gmail.com

For citation: Kashkin, V. A. (2020) Analgesic effect of cardiotonic steroids in rats with alcoholic neuropathy. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 2, pp. 133–139. DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-2-133-139

Received 27 October 2019;
reviewed 28 November 2019;
accepted 29 November 2019.

Funding: This research was carried out within the framework of State Assignment no. AAAA-A18-118070690064-0 Pavlov First Saint Petersburg State Medical University and State Assignment no. AAAA-A18-118012290373-7 Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences.

Copyright: © The Author (2020).
Published by Herzen State Pedagogical University of Russia.
Open access under
CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The present study aimed to assess the possible antinociceptive effect of cardiotonic steroids during the development of alcoholic neuropathy. The pathology was formed in rodents by means of forced alcohol consumption in increasing concentration. The force consumption of high doses of alcohol for 8 weeks allowed us to model a symptomatic complex typical for alcoholic neuropathy. During consequent modelling of the acute alcohol withdrawal syndrome, it was established that on the second day after the withdrawal there was an increase in the renal excretion of marinobufagenin, an alpha-1 isoform inhibitor of Na/K-ATPase, with a simultaneous increase in the threshold of tactile allodynia; that indicated the involvement of cardiotonic steroids in the process of nociception in alcohol dependence. The concentration of marinobufagenin in urine was measured by enzyme-linked immunoassay. It was also demonstrated that intraperitoneally administered ouabain, an alpha-3 isoform inhibitor of Na/K-ATPase, significantly increased the threshold of tactile allodynia, indicating a pronounced analgesic effect of the steroid. These data suggest that the system of Na/K-ATPase and its endogenous ligands has therapeutic potential against the development of chronic pain associated with alcohol dependence.

Keywords: marinobufagenin, alcoholic neuropathy, ouabain, Na/K-ATPase, rats.

Введение

Наиболее частым осложнением хронической алкогольной интоксикации является алкогольная нейропатия, которая характеризуется поражением периферического отдела нервной системы. Алкогольная нейропатия имеет симптомы, схожие с другими формами повреждения нервов: покалывание, онемение конечностей, озноб, нарушение координации и так далее. Все это может сопровождаться хроническими болями, типичными для периферической нейропатии.

Вероятно, причиной развития алкогольной нейропатии является прямой нейротоксический эффект этанола и его метаболитов (Claus et al. 1985; Koike et al. 2003; Monforte et al. 1995).

Однако данные, полученные в последние годы, показали, что в развитии патологии могут иметь значение и другие факторы, индуцирующие нейродегенеративные процессы, такие как оксидативный стресс и инсулиновая резистентность (Bosch-Morell et al. 1998; Cohen et al. 2007; de la Monte et al. 2005; 2008; 2009; Mellion et al. 2013).

В настоящее время при данном виде нейропатии применяется симптоматическое лечение (анальгетики, антидепрессанты, антиконвульсанты), дающее лишь временное облегчение. В качестве дополнительной терапии могут использоваться препараты, восполняющие дефицит биологически активных веществ в организме: бенфотимамин, альфа-липоевая кислота, ацетил-L-карнитин, метилкобаламин (Chopra, Tiwari 2012).

Около 20 лет назад было высказано предположение, что кардиотонические стероиды могут быть вовлечены в развитие алкогольной зависимости (Bagrov et al. 1999). У крыс введение дигоксина приводило к уменьшению потребления алкоголя, тогда как иммунизация животных против дигоксина, оуабаина и маринбуфагина (МБГ) заметно усиливала добровольное потребление этанола (Bagrov et al. 1999). У мышей введение МБГ предотвращало внутривенное самовведение этанола, тогда как иммунизация против МБГ облегчала поведение, связанное с поиском алкоголя (Kashkin et al. 2002). Кроме того, МБГ опосредует прессорный ответ при алкогольной абстиненции, который связан с ретенцией почечного натрия у крыс (Kashkin et al. 2008).

Целью данного исследования была оценка возможного антиноцицептивного эффекта у кардиотонического стероида оуабаина при системном введении на фоне развития алкогольной нейропатии.

Материалы и методы исследования

Все экспериментальные процедуры выполнены в соответствии с рекомендациями «Руководства по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» (Belozertseva 2014).

Препараты

Этанол ($d = 0,73$) для потребления крысами разводили дистиллированной водой до необходимой концентрации (v/v). Оуабаин (Sigma-Aldrich, США) предварительно разводили в дистиллированной воде и вводили внутривенно в объеме 1 мл/кг.

Животные и условия их содержания

В экспериментах использовали самцов крыс стока Wistar массой 200–250 г ($n = 24$) (питомник «Рапполово», Россия). Животных содержали в стандартных условиях (фоторежим — 12 ч свет/12 ч темнота; температура воздуха — 20 ± 1 °C; влажность — 50 ± 20 %), при свободном доступе стандартному корму.

Моделирование патологии

Животные были подвергнуты процедуре форсированного потребления раствора этанола в нарастающих концентрациях на протяжении 8 недель. Еженедельно концентрацию этанола повышали в следующем порядке: 9 % (v/v), 15 % (v/v), 20 % (v/v), 25 % (v/v), 30 % (v/v). Далее

до окончания моделирования патологии животные получали этанол в концентрации 30 % (v/v) (Kashkin et al. 2016). Доступ к корму не был ограничен, доступ к воде был ограничен. Для предотвращения дегидратации ежедневно на 2 часа животным предоставляли дополнительную поилку с питьевой водой. Контрольные животные (группа № 1) получали только питьевую воду, без ограничений.

Оценка развития болевого синдрома (тактильная аллодиния)

Процедуру тестирования проводили через 8 недель после начала моделирования патологии (на фоне потребления этанола), затем ежедневно в течение 7 дней острого абстинентного синдрома и на протяжении последующей 5-дневной терапии оуабаином, где тестирование проводили до введения оуабаина, через 60, 120 и 180 минут после введения.

Для оценки развития болевого синдрома измеряли тактильную аллодинию. Определение порога тактильной реактивности было проведено по методу Chaplan и соавторов (Chaplan et al. 1994) с помощью набора из 8 стандартных волосков фон Фрея (Touch Test[®], North Coast Medical, Inc, Gilroy, CA). Жесткость филаментов, выражаемая как минимальное усилие, необходимое для сгибания волоска, возрастала логарифмически с абсолютными значениями от 0,692 г до 28,840 г. У каждой крысы порог вначале определяли на левой лапе, а затем на правой лапе. Кончиком волоска прикасались к середине плантарной поверхности лапы с усилием, необходимым для сгибания волоска, и удерживали волосок в таком положении 6–8 секунд. Положительный ответ регистрировали, если животное резко отдергивало лапу во время касания или если после удаления волоска следовало резкое сгибание лапы. Тестирование начинали с использования волоска, соответствующего усилию в 3,630 г. Затем стимулы (волоски) предъявляли в возрастающей или убывающей последовательности. В случае положительного ответа предъявляли волосок с меньшей жесткостью, и, наоборот, в случае негативного ответа предъявляли волосок с большей жесткостью. После первоначального определения порога чувствительности по тому же принципу предъявляли еще 4 волоска.

Среднеэффективный порог тактильной реактивности был рассчитан по методу, описанному Dixon (Dixon 1980) в модификации Chaplan с коллегами (Chaplan et al. 1994).

Измерение концентрации МБГ в моче

Образцы мочи за 24 ч были собраны при помощи метаболических клеток (Lab Products, Inc. Seaford, DE, USA). Концентрацию МБГ (пмоль/24 ч) в моче измеряли с использованием флуороиммунного анализа (*Dissociation Enhanced Fluoro Immuno Assay* — DELFIA) при помощи мышинных моноклональных антител 4G4 (*mAb*) (Fedorova et al. 2002).

Статистический анализ данных

Обработку полученных данных проводили с помощью пакета статистических программ SAS (SAS v.9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, США). Для анализа данных использовался однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), в случае обнаружения достоверного влияния исследуемого фактора последующие межгрупповые сравнения (*post hoc analysis*) были проведены с использованием критерия Даннетта. Данные по тактильной аллодинии представлены как площадь под кривой процента от 50 % порога отдергивания лапы (0–180 минут), которое было рассчитано с использованием трапецидального правила. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

После 8 недель форсированного употребления алкоголя у экспериментальных животных этанол был заменен на питьевую воду. Крысы были посажены в метаболические клетки для взятия образцов суточной мочи. На протяжении всего абстинентного синдрома ежедневно у крыс оценивали пороги тактильной аллодинии. Проведение однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) показало, что при развитии острого алкогольного абстинентного синдрома на 2-й день наблюдений у крыс происходило увеличение порога тактильной реактивности ($p < 0,05$, критерий Даннетта, рис. 1, правая панель), которое сопровождалось параллельным увеличением почечной экскреции МБГ ($p < 0,05$, критерий Даннетта, рис. 1, левая панель).

Это наблюдение позволило предположить, что блокада активности Na/K-АТФазы может влиять на выраженность болевого синдрома на фоне развития алкогольной нейропатии.

Через 7 дней абстиненции крысам был возвращен алкоголь в соответствующей концентрации (30 %). После стабилизации потребления алкоголя крысам вводили внутривентриально оубаин — ингибитор альфа-3 изоформы Na/K-АТФазы в течение 5 дней в дозах 0,1;

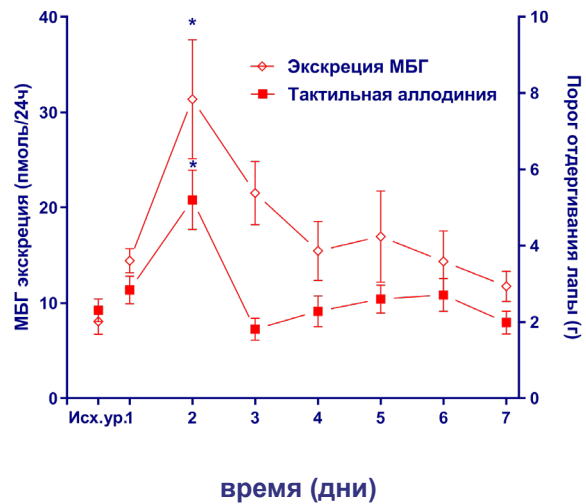


Рис. 1. Развитие аллодинии и экскреция маринобуфагенина (МБГ) на фоне отмены этанола у крыс. Развитие аллодинии после отмены этанола оценивали с помощью калиброванных микрофиламентов фон Фрея. Данные представлены в виде средних значений порога отдергивания задних лап ($M \pm SEM$, левая ось ординаты). Измерения проводились ежедневно. $n = 18$. Точка «исх. ур.» — значения порогов, измеренные в последний день перед отменой этанола. Экскреция МБГ оценивалась в суточной моче крыс с помощью иммуоферментного анализа. Данные представлены в виде средних значений концентрации МБГ в моче на сутки ($M \pm SEM$, правая ось ординаты). $n = 6$. * — $p < 0,05$, статистически значимое отличие от показателя в исходном уровне (критерий Даннетта)

Fig. 1. Development of tactile allodynia and renal excretion of marinobufagenin during alcohol withdrawal in rats. The development of tactile allodynia during alcohol withdrawal was assessed with the help of graded microfilaments. The data are presented in mean values of the threshold for hind legs movement ($M \pm SEM$, left vertical axis). Assessment was carried out daily. $n = 18$. The point of “initial level” — threshold values, measured the day before alcohol withdrawal. Renal excretion of marinobufagenin was measured by means of immunoenzymometric analysis. The data are presented in mean values of marinobufagenin concentration in the urine during a 24-hour period ($M \pm SEM$, right vertical axis). $n = 6$. * — difference is significant at $p < 0.05$ (Dunnett’s criterion)

0,33 и 0,56 мг/кг, или дистиллированную воду (контрольная группа). Параллельно у крыс оценивали тактильную реактивность до введения, через 60 и 120 минут после введения вещества или же его растворителя ежедневно. Было показано, что вызванное оуабаином увеличение порогов тактильной аллодинии носило выраженный, статистически значимый и дозозависимый характер ($p < 0,05$, критерий Даннетта, рис. 2). Однако длительность действия препарата была ограничена 60 минутами после его внутрибрюшинного введения. Максимальный эффект отмечался в дозе 0,33 мг/кг на протяжении всего периода введения.

В проведенном исследовании было продемонстрировано, что острый алкогольный абстинентный синдром характеризуется увеличением экскреции МБГ с параллельным увеличением порога тактильной аллодинии, который был снижен на фоне хронического употребления этанола. Также было показано, что системное введение оуабаина сопровождается увеличением порога тактильной аллодинии. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что блокада активности Na/K-АТФазы на фоне алкогольной нейропатии приводит к обезболивающему эффекту.

Обсуждение

Полученные результаты согласуются с литературными данными, где был показан антиноцицептивный эффект оуабаина в сочетании с лидокаином и морфином (Zeng et al. 1999), с клонидином (Zeng et al. 2007), а также при интратекальном введении оуабаина (Ou-Yang et al. 2008).

Анальгетический эффект оуабаина на модели нейропатической боли, вызванной хроническим употреблением алкоголя, вероятно, можно объяснить следующим. Установлено, что, помимо «классического» влияния на ионообменную функцию Na/K-АТФазы, оуабаин может модулировать трансдукторную функцию фермента. Являясь видоспецифичным и дозозависимым блокатором альфа-3 изоформы Na/K-АТФазы у крыс (O'Brien et al. 1994), оуабаин, при внутрибрюшинном введении в сопоставимых дозах, оказывал антиноцицептивное действие на модели формалинового теста у крыс (Lopatina et al. 2012). В проведенном исследовании было доказано, что обезболивающий эффект оуабаина реализуется через сигнальную функцию Na/K-АТФазы, которая связана с активностью натриевых каналов $Na_{v1.8}$ в периферических от-

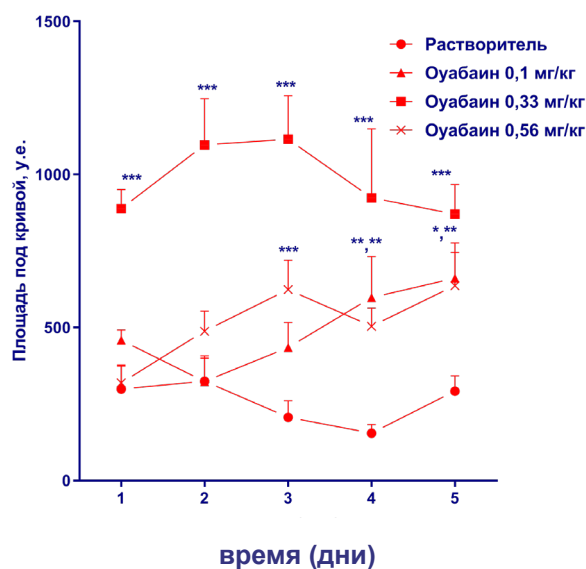


Рис. 2. Влияние оуабаина на тактильную аллодинию у крыс.

На протяжении 5 дней животным вводили оуабаин (0,1; 0,33 или 0,56 мг/кг) или его растворитель внутрибрюшинно. Тактильную аллодинию оценивали до введения, через 60 и 120 минут после введения вещества или же его растворителя. Данные представлены как площадь под кривой процента от максимально возможного эффекта (%MPE), рассчитанная с использованием трапециoidalного правила. $n = 6$, в каждой группе.

Примечания: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ — статистически значимые отличия от контрольной группы в соответствующий день теста (тест Даннетта)

Fig. 2. Thresholds of tactile allodynia after administration of ouabain in rats.

Over the period of 5 days ouabain (0.1; 0.33 or 0.56 mg/kg) or its solvent was intraperitoneally administered to the test animals. Tactile allodynia was assessed before, and 60 and 120 minutes after the administration of ouabain or its solvent. The data are presented as the area under the curve of the percentage of maximum possible effect (%MPE), calculated with the application of the trapezoidal rule. $n = 6$, in each group

Notes: * — $p < 0.05$, ** — $p < 0.01$, *** — $p < 0.001$ — significant differences from the control group on a corresponding day (Dunnett's test)

делах и на спинальной уровне ноцицептивной системы (Krylov et al. 2000; Lopatina et al. 2012).

Таким образом, модуляция активности Na/K-АТФазы может оказывать терапевтический эффект в отношении хронического болевого синдрома при алкогольной нейропатии.

References

- Bagrov, Y. Y., Dmitrieva, N. I., Manusova, N. B. et al. (1999) Involvement of endogenous digitalis-like factors in voluntary selection of alcohol by rats. *Life Sciences*, vol. 64, no. 20, pp. PL219–PL225. DOI: 10.1016/s0024-3205(99)00131-9 (In English)
- Belozertseva, I. V. (comp.). (2014) *Rukovodstvo po ispol'zovaniyu laboratornykh zhivotnykh dlya nauchnykh i uchebnykh tselei v PSPbGMU im. I. P. Pavlova [Handbook on use of laboratory animals for scientific and educational purposes in First Pavlov State Medical University of Saint Petersburg]*. 2nd ed. Saint Petersburg: First Pavlov State Medical University of Saint Petersburg Publ., 79 p. (In Russian)
- Bosch-Morell, F., Martínez-Soriano, F., Colell, A. et al. (1998) Chronic ethanol feeding induces cellular antioxidants decrease and oxidative stress in rat peripheral nerves. Effect of S-adenosyl-L-methionine and N-acetyl-L-cysteine. *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 25, no. 3, pp. 365–368. PMID: 9680183. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00036-7 (In English)
- Chaplan, S. R., Bach, F. W., Pogrel, J. W. et al. (1994) Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 53, no. 1, pp. 55–63. PMID: 7990513. DOI: 10.1016/0165-0270(94)90144-9 (In English)
- Chopra, K., Tiwari, V. (2012) Alcoholic neuropathy: Possible mechanisms and future treatment possibilities. *British Journal of Clinical Pharmacology*, vol. 73, no. 3, pp. 348–362. PMID: 21988193. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2011.04111.x (In English)
- Claus, D., Eggers, R., Engelhardt, A. et al. (1985) Ethanol and polyneuropathy. *Acta Neurologica Scandinavica*, vol. 72, no. 3, pp. 312–316. DOI: 10.1111/j.1600-0404.1985.tb00876.x (In English)
- Cohen, A. C., Tong, M., Wands, J. R., de la Monte, S. M. (2007) Insulin and insulin-like growth factor resistance with neurodegeneration in an adult chronic ethanol exposure model. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, vol. 31, no. 9, pp. 1558–1573. PMID: 17645580. DOI: 10.1111/j.1530-0277.2007.00450.x (In English)
- de la Monte, S. M., Longato, L., Tong, M. et al. (2009) The liver-brain axis of alcohol-mediated neurodegeneration: Role of toxic lipids. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 6, no. 7, pp. 2055–2075. PMID: 19742171. DOI: 10.3390/ijerph6072055 (In English)
- de la Monte, S. M., Xu, X. J., Wands, J. R. (2005) Ethanol inhibits insulin expression and actions in the developing brain. *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 62, no. 10, pp. 1131–1145. PMID: 15870954. DOI: 10.1007/s00018-005-4571-z (In English)
- de la Monte, S. M., Yeon, J. E., Tong, M. et al. (2008) Insulin resistance in experimental alcohol-induced liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, vol. 23, no. 8, pt 2, pp. e477–e486. PMID: 18505416. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05339.x (In English)
- Dixon, W. J. (1980) Efficient analysis of experimental observations. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, vol. 20, pp. 441–462. PMID: 7387124. DOI: 10.1146/annurev.pa.20.040180.002301 (In English)
- Fedorova, O. V., Talan, M. I., Agalakova, N. I. et al. (2002) Endogenous ligand of α_1 sodium pump, marinobufagenin, is a novel mediator of sodium chloride-dependent hypertension. *Circulation*, vol. 105, no. 9, pp. 1122–1127. PMID: 11877366. DOI: 10.1161/hc0902.104710 (In English)
- Kashkin, V. A., Bagrov, A. Y., Fedorova, O. V. et al. (2002) Marinobufagenin (MBG) suppression of ethanol-seeking behavior is associated with inhibition of brain cortex Na/K-ATPase in mice. *European Neuropsychopharmacology*, vol. 12, no. 3, pp. 217–223. DOI: 10.1016/S0924-977X(02)00026-3 (In English)
- Kashkin, V. A., Shekunova, E. V., Muzhikyan, A. A. et al. (2016) Model' alkogol'noj nejropatii u krysa [Experimental models of alcoholic neuropathy in rats]. *Ehksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya — Experimental and Clinical Pharmacology*, vol. 79, no. 12, pp. 29–33. (In Russian)
- Kashkin, V. A., Zvartau, E. E., Fedorova, O. V. et al (2008) Endogenous bufadienolide mediates pressor response to ethanol withdrawal in rats. *European Neuropsychopharmacology*, vol. 18, no. 1, pp. 74–77. PMID: 17683916. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2007.05.006 (In English)
- Koike, H., Iijima, M., Sugiura, M. et al. (2003) Alcoholic neuropathy is clinicopathologically distinct from thiamine-deficiency neuropathy. *Annals of Neurology*, vol. 54, no. 1, pp. 19–29. PMID: 12838517. DOI: 10.1002/ana.10550 (In English)
- Krylov, B. V., Derbenev, A. V., Podzorova, S. A. et al. (2000). Morphine decreases the voltage sensitivity of slow sodium channels. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 30, pp. 431–439. DOI: 10.1007/bf02463098 (In English)
- Lopatina, E. V., Yachnev, I. L., Penniyaynen, V. A. et al. (2012) Modulation of signal-transducing function of neuronal membrane Na⁺,K⁺-ATPase by endogenous ouabain and low-power infrared radiation leads to pain relief. *Medicinal Chemistry*, vol. 8, no. 1, pp. 33–39. PMID: 22420548. DOI: 10.2174/157340612799278531 (In English)
- Mellion, M. L., Nguyen, V., Tong, M. et al. (2013) Experimental model of alcohol-related peripheral neuropathy. *Muscle & Nerve*, vol. 48, no. 2, pp. 204–211. PMID: 23761140. DOI: 10.1002/mus.23744 (In English)
- Monforte, R., Estruch, R., Valls-Solé, J. et al. (1995) Autonomic and peripheral neuropathies in patients with chronic alcoholism. A dose-related toxic effect of alcohol. *Archives of Neurology*, vol. 52, no. 1, pp. 45–51. PMID: 7826275. DOI: 10.1001/archneur.1995.00540250049012 (In English)

- O'Brien, W. J., Lingrel, J. B., Wallick, E. T. (1994) Ouabain binding kinetics of the rat alpha two and alpha three isoforms of the sodium-potassium adenosine triphosphate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 310, no. 1, pp. 32–39. PMID: 8161218. DOI: 10.1006/abbi.1994.1136 (In English)
- Ou-Yang, H. D., Zeng, W. A., Li, Q. et al. (2008) Effects of intrathecal ouabain and tizanidine injection for treatment of neuropathic pain in rats. *Nan fang yi ke da xue xue bao — Journal of Southern Medical University*, vol. 28, no. 10, pp. 1760–1763. PMID: 18971165. (In Chinese)
- Persson, A. K., Kim, I., Zhao, P. et al. (2013a) Sodium channels contribute to degeneration of dorsal root ganglion neurites induced by mitochondrial dysfunction in an in vitro model of axonal injury. *The Journal of Neuroscience*, vol. 33, no. 49, pp. 19250–19261. PMID: 24305821. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2148-13.2013 (In English)
- Persson, A. K., Liu, S., Faber, C. G. et al. (2013b) Neuropathy-associated Na_v1.7 variant I228M impairs integrity of dorsal root ganglion neuron axons. *Annals of Neurology*, vol. 73, no. 1, pp. 140–145. PMID: 23280954. DOI: 10.1002/ana.23725 (In English)
- Zeng, W., Chen, X., Dohi, S. (2007) Antinociceptive synergistic interaction between clonidine and ouabain on thermal nociceptive tests in the rat. *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society*, vol. 8, no. 12, pp. 983–988. PMID: 17892975. DOI: 10.1016/j.jpain.2007.07.006 (In English)
- Zeng, W., Dohi, S., Shimonaka, H., Asano, T. (1999) Spinal antinociceptive action of Na⁺-K⁺ pump inhibitor ouabain and its interaction with morphine and lidocaine in rats. *Anesthesiology*, vol. 90, no. 2, pp. 500–508. PMID: 9952158. DOI: 10.1097/00000542-199902000-00026 (In English)