

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА RS2167270 ГЕНА ЛЕПТИНА (*LEP*) С ИНТЕНСИВНОСТЬЮ БОЛИ У БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРИТОМ КОЛЕННОГО СУСТАВА



© М.Ю. Крылов*, Л.И. Алексеева, Е.П. Шарапова

Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой, Москва, Россия

Обоснование. Остеоартрит (ОА) — значимая социальная проблема, так как является самым частым заболеванием суставов. ОА является многофакторным заболеванием, при котором большое внимание уделяется роли наследственных факторов. В последнее время ряд исследований продемонстрировал вклад ряда генов в субъективную оценку боли при ОА, которая является главным симптомом этого заболевания. Была показана связь генов *P2X7*, *TRPV1* и *TACR1* и некоторых других с чувствительностью к боли. Одним из факторов риска возникновения боли, среди многих других, является повышенный вес. Абдоминальная жировая ткань является источником высвобождения провоспалительных адипокинов, вызывающих системное воспаление, связанное с повреждением многих тканей, включая субхондральную кость, синовиальную оболочку. Лептин является эндогенным гормоном из семейства адипокинов, кодируемым геном ожирения лептином (*LEP*), который синтезируется главным образом в адипоцитах. Роль гена *LEP* в субъективной оценке боли при ОА в отечественных исследованиях не изучалась.

Цель. Изучить возможную связь полиморфизма rs2167270 (A19G) гена *LEP* с интенсивностью боли у больных ОА коленного сустава.

Материалы и методы. Исследование проведено среди женщин с диагнозом ОА. Используя шкалу ВАШ (Визуальная аналоговая шкала) для оценки субъективной боли самим пациентом, были изучены пациентки со слабой болью в коленном суставе — группа 1 (индекс ВАШ ≤ 40 мм) и пациентки с умеренной или выраженной болью — группа 2 (индекс ВАШ > 40 мм). Генетические варианты A19G полиморфизма гена лептина были изучены с помощью полимеразной цепной реакции с последующим анализом длин рестриктных фрагментов (ПЦР-ПДРФ метод).

Результаты. В группе пациентов с умеренной или выраженной интенсивностью боли (группа 2, $n=61$) по сравнению с группой 1 ($n=36$) показана статистически значимая связь с высоким индексом массы тела ($p=0,006$). В этой группе пациентов выявлена повышенная частота носителей 19GG генотипа ($p=0,051$) по сравнению с группой 1. Носители 19GG генотипа статистически значимо имели более высокий показатель ВАШ в коленном суставе и ранний возраст дебюта ОА по сравнению с носителями генотипа 19AA ($p=0,035$ и $p=0,015$ соответственно).

Заключение. Полученные данные открывают новые возможности прогнозирования болевого симптома у больных ОА коленного сустава путем генетического тестирования A19G полиморфных вариантов гена *LEP*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: остеоартрит коленного сустава; боль по ВАШ; ожирение; индекс массы тела; полиморфизм rs2167270 гена *LEP*.

ASSOCIATION OF THE RS2167270 POLYMORPHISM OF THE LEPTIN GENE (*LEP*) WITH THE INTENSITY OF PAIN IN PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS OF THE KNEE

© Mikhail Yu. Krylov*, Ludmila I. Alekseeva, Eugenia P. Sharapova

V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia

BACKGROUND: Osteoarthritis (OA) is a significant social problem as it is the most common disease of the joints. OA is a multifactorial disease in which great attention is paid to hereditary factors. Recently, a number of studies have demonstrated the contribution of a number of genes to the subjective assessment of pain in OA, which is the main symptom of this disease. The association of *P2X7*, *TRPV1* and *TACR1* genes and some others with pain sensitivity has been shown. One of the risk factors of pain among many others, is the increased weight. Abdominal adipose tissue is a source of release of pro-inflammatory adipokines that cause systemic inflammation associated with damage to many tissues, including subchondral bone, synovial membrane. Leptin is an endogenous hormone from the adipokine family encoded by the obesity gene leptin (*LEP*) and which is synthesized primarily in adipocytes.

AIMS: To investigate the possible association of rs2167270 (A19G) polymorphism of the *LEP* gene with pain intensity in patients with knee OA.

MATERIALS AND METHODS: The study was conducted among women diagnosed with OA. Using the VAS scale (Visual analog scale), patients with mild knee pain — group 1 (VAS ≤ 40 mm) and patients with moderate or severe pain — group 2 (VAS > 40 mm) were selected for pain assessment. Genetic variants of A19G leptin gene polymorphism were studied by polymerase chain reaction followed by restriction fragment length analysis (PCR-RFLP) method.

RESULTS: In the group of patients with moderate or severe pain intensity (group 2, $n=61$), a statistically significant association was shown with a higher body mass index ($p=0.006$) and an increased frequency of carriers of the 19GG genotype ($p=0,051$) compared to group 1 ($n=36$). Carriers of the 19GG genotype statistically significantly had a higher rate of knee pain and an early age of OA debut compared to carriers of the 19AA genotype ($p=0,035$ and $p=0,015$, respectively).

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



CONCLUSIONS: The findings open up new possibilities for predicting pain symptoms in patients with knee OA by genetic testing of A19G polymorphic variants of the leptin gene.

KEYWORDS: knee osteoarthritis; pain, obesity; BMI; polymorphism rs2167270 LEP gene.

ОБОСНОВАНИЕ

Остеоартрит (ОА) — гетерогенная группа заболеваний различной этиологии со сходными биологическими, морфологическими, клиническими проявлениями и исходом, в основе которых лежит поражение всех компонентов сустава, в первую очередь хряща, а также субхондральной кости, синовиальной оболочки, связок, капсулы, околоустьевых мышц [1]. Этой патологией страдают более 80% всех пациентов с заболеваниями суставов. По последним данным ФГБНУ НИИР имени В.А. Насоновой, распространенность ОА среди населения России составила 13% [2]. ОА оказывает существенное влияние на качество жизни и является одной из главных причин тотального эндопротезирования коленного (КС) и тазобедренного (ТБС) суставов. ОА рассматривается как мультифакториальное заболевание, связанное с множеством эндогенных (пол, возраст, наследственность) и экзогенных (большая механическая нагрузка и ожирение) факторов [3]. Наиболее часто при ОА поражается КС, особенно у женщин. Точная причина ОА до сих пор четко не выяснена. Многие исследования продемонстрировали связь заболевания с ожирением [4], полом, возрастом, травмой сустава и полигенным эффектом генетических факторов [5]. Близнецовые и семейные исследования показали участие наследственного компонента при ОА [6]. Было постулировано, что ОА является генетически гетерогенным заболеванием, при котором каждый частный индивидуальный генетический вариант вносит незначительный вклад в риск развития ОА. Во многих клинических исследованиях отмечена связь ОА с избыточной массой тела, которая может оказывать высокую нагрузку на суставы, при этом индекс массы тела (ИМТ) составляет $>30 \text{ кг/м}^2$. Ожирением называется избыточное отложение жира в организме. У женщин риск развития ожирения в 3,6 раза выше, чем у мужчин, и часто сопровождается развитием тяжелых сопутствующих заболеваний, таких как сахарный диабет 2-го типа, артериальная гипертензия, атеросклероз и др. Ожирение способствует усугублению клинических проявлений ОА, в частности, усилению боли в КС. Абдоминальная брюшная жировая ткань тучных людей может содержать большое количество макрофагов. Последние могут продуцировать цитокины, такие как IL-1 β , TNF, IL-6, лептин, адипонектин и другие [7]. Некоторые провоспалительные цитокины регулируют ферменты, принадлежащие к семействам металлопротеиназ и белков ADAMTS, которые участвуют в деградации хряща [8]. Инфрателлярная жировая прослойка в КС также является источником провоспалительных цитокинов [9], которые вызывают системное воспаление [10]. Жировая ткань содержит множество биологически активных веществ, и среди них адипокины и адипоцитокины занимают важное место. Лептин является эндогенным гормоном и одним из основных адипокинов, участвующих в метаболических процессах при ОА. Этот гормон, кодируемый геном ожирения (*LEP*), синтезируется главным образом в адипоцитах и является основным регулятором массы тела. Он контролирует метаболизм глюкозы и липидов путем связывания с лептиновым рецептором [11]. Dumond

и соавт. [12] первыми описали экспрессию лептина в суставном хряще и синовиальной жидкости, причем экспрессия в нормальных хондроцитах здорового хряща была менее выражена, чем экспрессия лептина хондроцитами при ОА. Лептин, как один из представителей семейства адипокинов, играет важную роль в заболеваниях опорно-двигательного аппарата, таких как ОА [13–16], метаболических заболеваниях, таких как диабет [17], и сердечно-сосудистых заболеваниях, таких как гипертония и атеросклероз [18]. Этот адипокин кодирует ген *LEP*, расположенный на 7-й хромосоме в сегменте 31.3q [19]. Было показано существование нескольких полиморфизмов гена *LEP*, из которых полиморфизм rs2167270 (A19G) встречается наиболее часто. Функции лептина осуществляются с помощью связывания с лептиновым рецептором (LEPR), генетические варианты которого ассоциированы с большим спектром фенотипов.

Наиболее частым и главным симптомом при ОА является хроническая боль. По современной классификации, характер боли определяется в зависимости от основного патогенетического механизма: ноцицептивного — связанного с местными процессами в суставе (синовит и поражение клеток костного мозга), нейропатического — связанного с болью нейронального характера и дисфункционального — связанного с общими факторами, влияющими на боль. При ОА основными механизмами развития боли, согласно последним исследованиям, принято считать ноцицептивный и нейрогенный. Современное представление о механизмах инициации боли при ОА у людей и в экспериментальных моделях изложено в недавнем большом обзоре [20]. Авторы рассматривают три основных механизма инициации боли: местные процессы в суставе, связанные с болью при ОА, нейрональные механизмы, участвующие в боли при ОА, и общие факторы, влияющие на боль при ОА. Кроме хряща, все структуры суставов иннервируются ноцицепторами. Хотя отличительной чертой ОА является деградация хряща, суставы при ОА демонстрируют множественные структурные изменения хряща, кости и синовиальной ткани. В частности, было предложено расценивать боль при ОА как результат синовита и поражения клеток костного мозга, в то время как вклад других патологий в генерацию боли был менее существенен. Что касается периферических нейрональных механизмов боли при ОА, то была показана периферическая ноцицептивная сенсibilизация, и на некоторых стадиях могут быть задействованы нейропатические механизмы. Несколько исследований показывают, что нейтрализация интерлейкина-1 β и фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) может уменьшить боль при ОА. Многие пациенты с ОА имеют сопутствующие заболевания, такие как ожирение, системное воспаление низкой степени тяжести и сахарный диабет. Кроме того, боль при ОА могут усугублять психологические и социально-экономические факторы, а в некоторых случаях были обнаружены генетические факторы, влияющие на боль при ОА. В настоящее время проводятся исследования с целью улучшения мониторинга ОА и боли при ОА. Для оценки интенсивности боли (ИБ) существует несколько типов шкал. Шкалы позволяют оценить субъективные болевые ощущения, которые испытывает пациент в момент исследования.

Наиболее широкое распространение получили вербальные, визуальные и цифровые шкалы или шкалы, в которых сочетаются все три варианта оценки. Визуально-аналоговая шкала (ВАШ) — Visual Analogue Scale (VAS) предназначена для определения субъективного ощущения боли пациентом в момент исследования. ИБ также определяет быстрое прогрессирование ОА и неблагоприятный исход эндопротезирования. Шкала ВАШ для ОА КС и ТБС получила наибольшее распространение среди клиницистов для субъективной оценки пациентом ИБ при воспалительных заболеваниях суставов. Показано, что у пациентов с ОА КС и повышенной массой тела отмечается максимальная ИБ. В исследовании R. Marks [21] было установлено, что ИБ у пациентов с ОА КС и ожирением была достоверно статистически выше, чем у лиц с низким ИМТ.

Недостатком шкалы ВАШ является ее одномерность, т. е. по этой шкале больной отмечает лишь ИБ. Вместе с тем эмоциональная составляющая болевого синдрома может вносить существенные погрешности в показатель ВАШ.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить возможную связь полиморфизма rs2167270 гена *LEP* с ИБ у пациентов с ОА КС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место и время проведения исследования

Место проведения. Исследование проведено в НИИР им. В.А. Насоновой.

Время исследования. Данное исследование представляло собой фрагмент кандидатской диссертации, сбор материалов для которой осуществлялся с сентября 2013 г. по декабрь 2017 г., электронная база всех собранных данных стала доступна в 2019 г.

Изучаемые популяции (одна или несколько)

Изучена выборка пациенток с ОА КС, жительниц Москвы и Московской области.

Критерии включения: наличие демографических данных о возрасте, возрасте начала заболевания, длительности, ИМТ, данные ИБ по ВАШ, наличие генотипирования по полиморфизму rs2167270 гена *LEP*.

Другие критерии включения/исключения не применялись.

Способ формирования выборки из изучаемой популяции (или нескольких выборок из нескольких изучаемых популяций)

Выборка пациенток была сформирована произвольным способом из пациенток, отвечающих критериям включения. В качестве контрольной группы для генотипирования выступали здоровые сотрудники лаборатории и частично доноры крови.

Дизайн исследования

Одноцентровое одновыборочное неконтролируемое экспериментальное одномоментное исследование.

Описание медицинского вмешательства

Все исследуемые пациентки заполнили анкеты согласно критериям включения и сдали кровь из пери-

ферической вены в количестве 10 мл для дальнейшего хранения при температуре -20°C или выделения геномной ДНК для последующего генетического тестирования изучаемого полиморфизма гена лептина. Образцы крови пациенток с ОА были необходимы для создания коллекции ДНК и изучения ряда генетических маркеров цитокинов, адипокинов, ассоциированных с ОА.

Протокол исследования включал заполнение карт амбулаторных и стационарных больных с клиническим диагнозом ОА, куда вносились анамнестические данные, результаты общеклинического обследования, данные лабораторно-инструментальных методов обследования, результаты генетического исследования полиморфизма гена *LEP* и создание компьютерной электронной базы.

Далее из базы данных осуществлялся отбор пациентов по показателю ИБ в группу 1 (ВАШ <40 мм) или группу 2 (ВАШ >40 мм).

Методы

Геномная ДНК от пациентов с ОА была выделена из свежей периферической или замороженной венозной крови, используя коммерческие наборы «ГС-генетика» компании «ДНК-Технология» (Москва). Полиморфизм A19G гена *LEP* был изучен в индивидуальных образцах ДНК с помощью полимеразной цепной реакции с последующим анализом длин рестриктных фрагментов (ПЦР-ПДРФ метод), как было описано ранее [23].

Краткое описание процедуры: A19G-варианты гена *LEP* были амплифицированы с использованием специфических праймеров — F:5'-CCC GCGAGGTGCACACTG-3' и R:5'AGGAGGAAGGAGCGCGCC-3' с последующим расщеплением соответствующей эндонуклеазой MspA1I. Ампликоны подвергали гидролизу соответствующей эндонуклеазой (компания «Сибэнзим») в соответствии с рекомендациями производителя. Продукты гидролиза (на основании которых устанавливались генотипы) амплифицированных ДНК-фрагментов были идентифицированы в 2–3% агарозном или 8% полиакриламидном геле, окрашены этидиумом бромидом с последующей визуализацией в ультрафиолетовом свете.

Интерпретация показателей ВАШ: в группу 1 были отнесены все пациенты с показателями ВАШ от 0 до 40 мм включительно. В группу 2 были отнесены пациенты с показателями ВАШ от 41 до 100 мм.

Основной исход исследования

Основным результатом, выявленным в ходе исследования, была связь умеренной или выраженной боли в КС с повышенной частотой мутантного генотипа 19GG полиморфизма A19G гена *LEP*.

Анализ в подгруппах

Больные ОА КС были разделены на 2 подгруппы на основании оценки ИБ, определенной каждым больным для наиболее болезненного сустава по шкале ВАШ.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки: размер выборки предварительно не рассчитывался.

Методы статистического анализа данных. Обработку данных проводили с помощью пакета программ StatSoft, версия 6.0 (StatSoft Inc, Tulsa, USA). Непрерывные

переменные в исследуемой выборке представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом [25-й; 75-й перцентили]. Для определения статистической значимости различий частот и аллелей исследуемого полиморфизма гена *LEP* в подгруппах использовали таблицы сопряженности и критерий χ^2 . В случаях, когда ожидаемые значения были от 5 до 9, критерий χ^2 рассчитывался с поправкой Йейтса. Если ожидаемые значения хотя бы в одной ячейке были меньше 5, использовался 2-сторонний критерий Фишера. Для проверки соответствия распределения изучаемых показателей нормальному был использован критерий Шапиро–Уилка. Статистическая значимость различий между A19G полиморфизмом и количественными показателями в двух группах пациентов была изучена с помощью непараметрического метода с использованием критерия Манна–Уитни. Для анализа межгрупповых различий, не имеющих нормального распределения, был применен критерий Краскела–Уоллиса. Уровень значимости различий принимали равным 5% ($p < 0,05$). Анализ ассоциаций генотипов полиморфизма rs2167270 гена *LEP* с риском развития боли проводили путем вычисления показателя отношения шансов (ОШ) с 95% доверительными интервалами (ДИ).

Этическая экспертиза

Исследование было одобрено ЛЭК ФГБНУ «НИИР им. В.А. Насоновой» РАМН (протокол №5 от 13 февраля 2014 г.). Письменное информированное согласие было получено от всех пациентов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

В исследование были включены 36 пациентов 1-й группы (37,1%) со слабой ИБ (показатель ВАШ ≤ 40 мм в КС), в возрасте (Me) 64 [54,5; 72] года, с возрастом начала заболевания 50 [42,5; 59,5] лет, длительностью заболевания 5 [3; 14] лет и ИМТ [29,5; 32] кг/м². Во 2-ю группу (62,9%) с умеренной или выраженной ИБ (показатель ВАШ > 40 мм в КС) вошел 61 пациент со средним возрастом (Me) 63 [57,5; 67] года, с возрастом начала заболевания 50 [40; 55] лет, длительностью заболевания 10 [5; 23] лет и ИМТ [32,3; 35] кг/м².

Основные результаты исследования

Сравнение средних демографических и клинико-инструментальных показателей между группами пациентов с разной ИБ представлено в табл. 1. У пациентов в группе 2 были выявлены достоверно значимо более молодой средний возраст начала заболевания и более высокий показатель ИМТ по сравнению с пациентами группы 1 ($p = 0,043$ и $p = 0,006$ соответственно). Не выявлено значимых различий между группами в среднем возрасте и длительности заболевания ОА.

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма A19G гена *LEP* в группах пациентов с ОА КС в зависимости от ИБ представлено в табл. 2.

Проведенный анализ распределения частот генотипов и аллелей A19G полиморфизма между 2 группами

Таблица 1. Средние демографические и клинические характеристики больных остеоартритом коленных суставов в зависимости от интенсивности боли

Характеристики	Группа 1 ВАШ ≤ 40 мм n=36	Группа 2 ВАШ > 40 мм n=61	p
Возраст, годы	64 [54,5; 72]	63 [57,5; 67]	0,669
Возраст начала заболевания, годы	50 [42,5; 59,5]	50 [40; 55]	0,043
Длительность заболевания, годы	5 [3; 14]	10 [5; 23]	0,180
ИМТ, кг/м ²	29,5 [26,9; 32]	32,3 [29,5; 35]	0,006

Примечание. ВАШ — визуальная аналоговая шкала; ИМТ — индекс массы тела; все количественные значения представлены как медиана Me [25-й; 75-й перцентили]; статистически значимыми считались значения $p < 0,05$.

Таблица 2. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма A19G гена лептина среди больных остеоартритом коленных суставов с разной интенсивностью болевого симптома

Частоты генотипов (n)				
Генотипы	Группа 1 (ВАШ ≤ 40 мм) n=36	Группа 2 (ВАШ > 40 мм) n=61	ОШ (95%ДИ)	p
AA	14 (38,9)	17 (27,9)	1,65 (0,62–4,29)	0,368
AG	20 (55,5)	30 (49,2)	1,29 (0,52–3,21)	0,691
GG	2 (5,5)	14 (22,9)	5,06 (1,04–48,17)	0,051
Частоты аллелей (2n)				
A	48 (66,7)	64 (52,4)	0,55 (0,29–1,05)	0,053
G	24 (33,3)	58 (47,6)	1,81 (0,95–3,49)	0,053

Примечание. Формат представления данных.

Частоты генотипов представлены в виде числа носителей (чел.) и их доли (%) в каждой группе.

Частоты аллелей представлены в виде двойного числа носителей (чел.) и их доли (%) в каждой группе (расчет идет на 2 хромосомы).

ВАШ — визуальная аналоговая шкала; ОШ — отношение шансов; ДИ — 95% доверительные интервалы; статистически значимыми считались значения $p < 0,05$.

Жирным шрифтом выделены сравниваемые показатели.

Таблица 3. Средние демографические и клинические показатели больных остеоартритом коленных суставов в зависимости от полиморфизма A19G гена *LEP*

Показатели	Генотипы			P
	AA n=31	AG n=50	GG n=16	
Возраст начала ОА, годы	50 [45; 60]	50 [40; 55]	48 [40; 52]	0,015
Длительность заболевания, годы	9,5 [3,5; 15]	12,5 [4; 25]	10 [4,5; 18]	0,260
Индекс массы тела, кг/м ²	32 [27,5; 35]	32 [28,5; 35,5]	30 [28; 34]	0,681
Индекс ВАШ, мм	40 [20; 58]	50 [30; 58]	50 [40; 58]	0,035

Примечание. Все значения представлены как Ме [25-й; 75-й перцентили], ИМТ — индекс массы тела; ВАШ — визуальная аналоговая шкала; статистически значимыми считались значения $p < 0,05$; p — генотип 19GG против генотипа 19AA.

в зависимости от ИБ выявил тенденцию к более высокой частоте мутантного генотипа 19GG у пациентов 2-й группы с выраженной ИБ. Однако различия в частотах генотипов не достигали статистически значимых различий (22,9% и 5,5% соответственно, $p = 0,051$). В этой группе наблюдался также тренд более высокой частоты выявления аллеля 19G по сравнению с аналогичной частотой в 1-й группе, и различия между ними также не достигали статистически значимых показателей ($p = 0,053$). Носительство генотипа 19GG во 2-й группе пациентов сопровождалось более высоким показателем ОШ (5,06 (1,04–48,17); $p = 0,051$). Следовательно, можно предположить, что носительство генотипа 19GG изученного полиморфизма гена *LEP*, вероятно, может ассоциироваться с предрасположенностью к умеренной или выраженной ИБ при ОА КС по сравнению с другими генотипами. Установлено, что носительство генотипа 19GG в этой группе пациентов не влияло на показатель ИМТ, который был сходным у носителей других генотипов.

Демографические и клинические характеристики пациентов с ОА в зависимости от полиморфизма A19G гена *LEP* представлены в табл. 3.

В изученной когорте больных ОА была обнаружена ассоциация генетических вариантов полиморфизма A19G с дебютом заболевания и величиной индекса ВАШ коленного сустава. Носители генотипа 19GG статистически значимо раньше заболели ОА КС по сравнению с носителями генотипа 19AA ($p = 0,015$). Средний показатель ИБ по ВАШ в коленном суставе у носителей генотипа 19GG был статистически значимо выше, чем у носителей 19AA генотипа ($p = 0,035$). Не обнаружено связи полиморфизма A19G с ИМТ и длительностью заболевания среди пациентов с ОА КС.

Нежелательные явления

Отсутствовали.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Изучена связь полиморфизма A19G гена *LEP* с разной интенсивностью болевого симптома в 2 группах пациентов с ОА КС. Пациенты с умеренной или выраженной ИБ в КС показали статистически значимую связь с высоким индексом ИМТ ($p = 0,006$), повышенной частотой мутантного генотипа 19GG ($p = 0,051$) и более ранним началом заболевания ($p = 0,043$) по сравнению с пациентами с незначительной ИБ. Гомозиготный мутантный генотип

19GG был ассоциирован с высоким показателем ВАШ ($p = 0,035$) и ранним дебютом ОА КС ($p = 0,015$) по сравнению с генотипом дикого типа 19AA.

Обсуждение основного результата исследования

Хроническая боль при ОА является одним из наиболее частых симптомов этого заболевания. Перечень факторов риска развития ОА включает травму сустава, возраст, пол, ожирение, метаболический синдром, генетическую предрасположенность и пр. Последний фактор риска (предрасположенности), возможно, связан с генетическими вариантами лептина. Как показали многие исследования, проведенные в разных популяциях, этот эндогенный гормон обладает большим спектром воздействий на суставной хрящ. Помимо экспрессии в хряще, синовиальной жидкости и области образования остеоцитов, уровень лептина ассоциировался с тяжестью поражения хряща.

Показано, что лептин считается основным регулятором массы тела и взаимосвязан с ожирением. Повышенный вес является хорошо установленным модифицирующим фактором риска ОА КС, описанным в ранее проведенных исследованиях [24–28]. Индивидуальные различия в болевых фенотипах можно объяснить такими факторами, как возраст, пол, гормональный статус, возраст начала заболевания, генетические полиморфизмы генов, участвующих в формировании предрасположенности к ОА. Проведено несколько исследований, описывающих ассоциацию однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) генов с интенсивностью чувствительности к боли. У больных ОА была показана связь генов *P2X7*, *TRPV1* и *TACR1* с чувствительностью к боли. Описана ассоциация генетического варианта катехол-О-метилтрансферазы (COMT) с выраженной болью при ОА бедра, однако эта связь не была подтверждена у больных с ОА КС. Выявлена ассоциация *TRPV1* 585Ile/Ile генотипа с низкой болевой чувствительностью у больных с ОА КС. Эффективный контроль хронической боли — одна из наиболее важных и сложных задач, возникающих у больных с ревматическими заболеваниями.

Развитие симптоматического ОА КС связано с продолжительностью жизни и отмечено у 40% мужчин и 47% женщин. Риск особенно высок у индивидуумов с ожирением [29]. Исследования Felson и соавт. [30] показали, что снижение ИМТ на две единицы или более в течение 10 лет ассоциировано с 50% снижением риска развития симптоматического ОА КС у женщин. Кроме того, продолжительность воздействия высокого ИМТ во взрослом

возрасте повышает риск возникновения ОА КС, что свидетельствует о важности контроля веса на протяжении всей жизни как средства первичной профилактики ОА. В канадском национальном исследовании (более 5000 человек) [31] было продемонстрировано, что риск возникновения ОА КС или ОА ТБС был в 7 раз выше у индивидов с повышенным весом по сравнению с лицами, имеющими сниженный или нормальный вес.

Известно, что лептин является белковым продуктом гена *LEP* и контролирует аппетит и процессы метаболизма при ОА. Продукция лептина регулируется приемом пищи и гормонами, а также медиаторами воспаления ФНО- α , ИЛ1, ИЛ6. Показано, что общие полиморфизмы в регуляторной части гена *LEP* также могут быть связаны с продукцией лептина в сыворотке. Проведенные ранее исследования показали, что аллель 19G в гомозиготном состоянии полиморфизма A19G гена *LEP* был ассоциирован с более низкими уровнями лептина по сравнению с 19AA и 19AG генотипами [32]. Эти данные, однако, не были подтверждены в исследованиях, проведенных в Италии и Финляндии [33, 34]. В настоящем исследовании мы установили вероятную ассоциацию выраженной ИБ в коленном суставе с носительством мутантного генотипа 19GG по сравнению с диким 19AA генотипом. Опубликовано только несколько исследований, описывающих ассоциацию SNP генов с интенсивностью чувствительности к боли. У больных ОА была показана связь генов *P2X7*, *TRPV1* и *TACR1* с чувствительностью к боли. В работе van Meurs и соавт. [35] описывается ассоциация генетического варианта *COMT* с выраженной болью при ОА бедра, однако эта связь не была подтверждена у больных ОА КС [36]. Valdes и соавт. [37] показали ассоциацию *TRPV1* 585Ile/Ile-генотипа с низкой болевой чувствительностью у больных ОА КС. Последние исследования [38] показали связь боли с новыми генами, кодирующими μ -, κ - и δ -рецепторы опиоидных генов (*OPRM1*, *OPRK1* и *OPRD1*). Генетический вариант гена *PCSK1* обладал сильным протективным действием в отношении боли при ОА КС [39]. Альгезиометрический эффект данного гена был подтвержден в эксперименте у мышей с удаленным геном *PACE4*. Болевое восприятие было разным при анализе rs6746030 полиморфизма гена *SCN9A*. Reimann и соавт. [40] нашли ассоциацию генетического варианта этого гена с индивидуальным восприятием боли. Авторы показали, что индивиды воспринимают разную интенсивность боли на ноцицептивный стимул в зависимости от rs6746030 генотипа. Следует отметить, что полигенный характер ОА предполагает участие других генов, ассоциированных с болевой чувствительностью при ОА.

Хроническая боль — одно из основных проявлений иммуновоспалительных ревматических заболеваний, таких как ревматоидный артрит и псориатический артрит, определяющих тяжесть страданий, снижение качества жизни и инвалидизацию больных. Причина этого заключается в комплексном механизме развития хронической боли. Он включает не только стимуляцию болевых рецепторов, вызванную поражением элементов скелетно-мышечной системы, но также изменение восприятия боли, связанное с феноменом центральной сенситизации (ЦС).

Факторами, способствующими развитию ЦС при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях, являются ожирение, депрессия и тревожность, поражение соматосенсорной системы, недостаточное купирование боли в дебюте заболевания.

Ограничения исследования

Представленные данные имеют ряд ограничений, связанных с небольшим размером изученной выборки пациентов с ОА, особенно тех, которые отмечают слабую ИБ по ВАШ. Полученные данные требуют осторожности при их интерпретации. Результаты, представленные в настоящем пилотном исследовании, требуют подтверждения с использованием больших по размеру выборок пациентов из разных этнических популяций и изучения роли других полиморфизмов гена *LEP*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хроническая скелетно-мышечная боль затрагивает все аспекты жизни человека. Однако механизмы его генетического контроля остаются малоизученными. Генетические исследования боли осложняются высокой сложностью и неоднородностью фенотипов боли. Опубликовано только несколько исследований, описывающих ассоциацию SNP генов с интенсивностью чувствительности к боли. У больных с ОА была показана связь генов *P2X7*, *TRPV1*, *TACR1*, *COMT*, *PCSK1*, *SCN9A* с чувствительностью к боли. В исследовании, проведенном в 2020 г. [41], выявлена связь 5 генов (*SLC398A*, *ECM1*, *EXD3*, *FOXP2* и *AMIGO3*), ассоциированных с хронической болью. Авторы полагают, что скелетно-мышечная боль при ОА определяется многими признаками, связанными с нервной системой и генетическими корреляциями с антропологическими, социально-демографическими, психиатрическими компонентами.

В настоящем исследовании показано, что у пациентов с ОА КС выраженная боль ассоциирована с повышенным индексом ИМТ, возрастом начала ОА и высокой частотой мутантного генотипа полиморфизма A19G гена *LEP* по сравнению с группой ОА КС с незначительной болью. Показано, что мутантный генотип 19GG ассоциирован с более молодым возрастом начала ОА КС и более высоким индексом ВАШ по сравнению с гомозиготным генотипом дикого типа 19AA. Исходя из полученных данных, ИБ можно контролировать путем рекомендаций по снижению ИМТ (контроль веса) и предсказания возможной вероятности ИБ у больных ОА КС путем скринирования полиморфизма rs2167270 гена *LEP*. Настоящее исследование подтверждает генетическую природу субъективного восприятия боли при ОА КС, определенной по ВАШ. Учитывая полигенную природу патогенеза ОА, данное исследование свидетельствует о том, что полиморфизм гена *LEP*, возможно, является одним из многих генов, определяющих интенсивность болевого симптома при ОА КС. Мутантный генотип 19GG полиморфизма rs2167270 (A19G) гена *LEP*, возможно, является новым предиктором боли у пациентов с ОА КС. Полученные результаты открывают новую терапевтическую мишень для купирования болевого симптома у больных ОА и могут способствовать открытию механизмов хронической боли.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Работа выполнена на базе НИИР им. В.А. Насоновой с привлечением средств учреждения.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

Участие авторов. Крылов М.Ю. — существенный вклад в концепцию исследования, осуществление исследования, написание статьи; Алексеева Д.И. — существенный вклад в дизайн исследования, внесение в рукопись существенной (важной) правки с целью повышения

научной ценности статьи; Шарапова Е.П. — анализ данных и интерпретация результатов; внесение в рукопись существенной (важной) правки с целью повышения научной ценности статьи. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

Благодарности. Авторы выражают слова благодарности врачам отдела метаболических заболеваний костей и суставов Института ревматологии им. В.А. Насоновой за помощь в отборе пациентов для настоящего исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Ревматология. Клинические рекомендации / Под ред. Е.Л. Насонова — М.; 2010. — 326 с. [*Rheumatology. Clinical Recommendations*. Ed. by Nasonov EL. Moscow; 2010. 326 p. (In Russ.)].
2. Фоломеева О.М., Галушко Е.А., Эрдес Ш.Ф. Распространенность ревматических заболеваний в популяциях взрослого населения России и США // *Научно-практическая ревматология*. — 2008. — Т. 12. — №4. — С. 4-13. [Folomeeva OM, Galushko EA, Erdes SF. Prevalence of rheumatic diseases in adult populations of Russian Federation and USA. *Rheumatol Sci Pract*. 2008;12(4):4-14. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2008-529>
3. Goldring MB, Goldring SR. Osteoarthritis. *J Cell Physiol*. 2007;213(3):626-634. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.21258>
4. Стребкова Е.А., Алексеева Л.И. Остеоартроз и ожирение // *Научно-практическая ревматология*. — 2015. — Т. 53. — №5. — С. 542-552 [Strebkova EA, Alekseeva LI. Osteoarthritis and obesity. *Rheumatol Sci Pract*. 2015;53(5):542-552. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2015-542-552>
5. Spector TD, MacGregor AJ. Risk factors for osteoarthritis: genetics. *Osteoarthritis Cartil*. 2004;12:39-44. doi: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2003.09.005>
6. Valdes AM, Spector TD. Genetic epidemiology of hip and knee osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(1):23-32. doi: <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.191>
7. Wisse BE. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(11):2792-2800. doi: <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000141966.69934.21>
8. Berenbaum F, Griffin TM, Liu-Bryan R. Review: Metabolic Regulation of Inflammation in Osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2017;69(1):9-21. doi: <https://doi.org/10.1002/art.39842>
9. Ioan-Facsinay A, Kloppenburg M. An emerging player in knee osteoarthritis: the infrapatellar fat pad. *Arthritis Res Ther*. 2013;15(6):225. doi: <https://doi.org/10.1186/ar4422>
10. Pitsavos C, Tampourlou M, Panagiotakos DB, et al. Association Between Low-Grade Systemic Inflammation and Type 2 Diabetes Mellitus Among Men and Women from the ATTICA Study. *Rev Diabet Stud*. 2007;4(2):98-104. doi: <https://doi.org/10.1900/RDS.2007.4.98>
11. Woods AJ, Stock MJ. Leptin activation in hypothalamus. *Nature*. 1996;381(6585):745-745. doi: <https://doi.org/10.1038/381745a0>
12. Dumond H, Presle N, Terlain B, et al. Evidence for a key role of leptin in osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48(11):3118-3129. doi: <https://doi.org/10.1002/art.11303>
13. Neumann E, Junker S, Schett G, et al. Adipokines in bone disease. *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12(5):296-302. doi: <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.49>
14. Gandhi R, Takahashi M, Smith H, et al. The synovial fluid adiponectin-leptin ratio predicts pain with knee osteoarthritis. *Clin Rheumatol*. 2010;29(11):1223-1228. doi: <https://doi.org/10.1007/s10067-010-1429-z>
15. Gandhi R, Kapoor M, Mahomed NN, Perruccio AV. A comparison of obesity related adipokine concentrations in knee and shoulder osteoarthritis patients. *Obes Res Clin Pract*. 2015;9(4):420-423. doi: <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2015.02.003>
16. Gandhi R, Sharma A, Kapoor M, et al. Racial Differences in Serum Adipokine and Insulin Levels in a Matched Osteoarthritis Sample: A Pilot Study. *J Obes*. 2016;2016:1-5. doi: <https://doi.org/10.1155/2016/8746268>
17. Videman T, Gibbons LE, Kaprio J, Battie MC. Challenging the cumulative injury model: positive effects of greater body mass on disc degeneration. *Spine J*. 2010;10(1):26-31. doi: <https://doi.org/10.1016/j.spinee.2009.10.005>
18. Fasshauer M, Bluher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci*. 2015;36(7):461-470. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.04.014>
19. Isse N, Ogawa Y, Tamura N, et al. Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene. *J Biol Chem*. 1995;270(46):27728-27733. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.270.46.27728>
20. Eitner A, Hofmann GO, Schaible HG. Mechanisms of Osteoarthritic Pain. *Studies in Humans and Experimental Models. Front Mol Neurosci*. 2017;10:349. doi: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00349>
21. Marks R. Obesity Profiles with Knee Osteoarthritis: Correlation with Pain, Disability, Disease Progression. *Obesity*. 2007;15(7):1867-1874. doi: <https://doi.org/10.1038/oby.2007.221>
22. Altman R, Asch E, Bloch D, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: classification of osteoarthritis of knee. *Arthritis Rheum*. 1986;29(8):1039-1049. doi: <https://doi.org/10.1002/art.1780290816>
23. Крылов М.Ю., Беневоленская Л.И., Мякоткин В.А. Полиморфизм A19G гена лептина и полиморфизмы Gln223Arg и Lys109Arg гена рецептора лептина при постменопаузальном остеопорозе // *Научно-практическая ревматология*. — 2010. — Т. 15. — №5. — С. 27-30. [Krylov MY, Benevolenskaya LI, Myakotkin VA. Leptin A19G polymorphism and leptin receptor Gln223Arg and Lys109Arg polymorphisms in postmenopausal osteoporosis. *Rheumatol Sci Pract*. 2010;15(5):27-30 (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2010-727>
24. Simopoulou T, Malizos KN, Iliopoulos D, et al. Differential expression of leptin and leptin's receptor isoform (Ob-Rb) mRNA between advanced and minimally affected osteoarthritic cartilage; effect on cartilage metabolism. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007;15(8):872-883. doi: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2007.01.018>
25. Plotnikoff R, Karunamuni N, Lytyvak E, et al. Osteoarthritis prevalence and modifiable factors: a population study. *BMC Public Health*. 2015;15:1195. doi: <https://doi.org/10.1186/s12889-015-2529-0>
26. Litwic A, Edwards MH, Dennison EM, Cooper C. Epidemiology and burden of osteoarthritis. *Br Med Bull*. 2013;105:185-199. doi: <https://doi.org/10.1093/bmb/lds038>
27. Blagojevic M, Jinks C, Jeffery A, Jordan KP. Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(1):24-33. doi: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2009.08.010>
28. Grotle M, Hagen KB, Natvig B, et al. Obesity and osteoarthritis in knee, hip and/or hand: an epidemiological study in the general population with 10 years follow-up. *BMC Musculoskelet Disord*. 2008;9:132. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2474-9-132>
29. Murphy L, Schwartz TA, Helmick CG, et al. Lifetime risk of symptomatic knee osteoarthritis. *Arthritis Care Res*. 2008;59(9):1207-1213. doi: <https://doi.org/10.1002/art.24021>
30. Felson DT, Zhang Y, Anthony JM, et al. Weight loss reduces the risk for symptomatic knee osteoarthritis in women The Framingham Study. *Ann Intern Med*. 1992;116(7):535-539. doi: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-116-7-535>
31. Ackerman IN, Osborne RH. Obesity and increased burden of hip and knee joint disease in Australia: Results from a national survey. *BMC Musculoskelet Disord*. 2012;13(1):254. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2474-13-254>

32. Hager J, Clément K, Francke S, et al. A polymorphism in the 5' untranslated region of the human ob gene is associated with low leptin levels. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998;22(3):200-205. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0800567>
33. Lucantoni R, Ponti E, Berselli ME, et al. The A19G Polymorphism in the 5' Untranslated Region of the Human Obese Gene Does Not Affect Leptin Levels in Severely Obese Patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(10):3589-3591. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem.85.10.6860>
34. Karvonen MK, Pesonen U, Heinonen P, et al. Identification of new sequence variant in the leptin gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(9):3239-3242. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem.83.9.5135>
35. van Meurs JB, Uitterlinden AG, Stolk L, et al. A functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene is associated with osteoarthritis-related pain. *Arthritis Rheumatol.* 2009;60(2):628-629. doi: <https://doi.org/10.1002/art.24175>
36. Neogi T, Soni A, Doherty SA, et al. Contribution of the COMT Val158Met variant to symptomatic knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(1):315-317. doi: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-203836>
37. Valdes AM, De Wilde G, Doherty SA, et al. The Ile585Val TRPV1 variant is involved in risk of painful knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(9):1556-1561. doi: <https://doi.org/10.1136/ard.2010.148122>
38. Olesen AE, Nielsen LM, Feddersen S, et al. Association Between Genetic Polymorphisms and Pain Sensitivity in Patients with Hip Osteoarthritis. *Pain Pract.* 2018;18(5):587-596. doi: <https://doi.org/10.1111/papr.12648>
39. Malfait AM, Seymour AB, Gao F, et al. A role for PACE4 in osteoarthritis pain: evidence from human genetic association and null mutant phenotype. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(6):1042-1048. doi: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200300>
40. Reimann F, Cox JJ, Belfer I, et al. Pain perception is altered by a nucleotide polymorphism in SCN9A. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107(11):5148-5153. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0913181107>
41. Tsepilov YA, Freidin MB, Shadrina AS, et al. Analysis of genetically independent phenotypes identifies shared genetic factors associated with chronic musculoskeletal pain conditions. *Commun Biol.* 2020;3(1):329. doi: <https://doi.org/10.1038/s42003-020-1051-9>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]:

***Крылов Михаил Юрьевич**, к.м.н. [Mikhail Yu. Krylov, MD, PhD]; адрес: Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34А [address: Kashirskoe shosse 34A, 115522 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9922-5124>; Researcher ID: N-6239-2019; Scopus Author ID: 920397006951088; eLibrary SPIN: 2696-7661; e-mail: mekry@yandex.ru

Алексеева Людмила Ивановна, д.м.н., профессор [Ludmila I. Alekseeva, MD, PhD, Professor];

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8931-4991>; eLibrary SPIN: 4714-8572; e-mail: dr.alekseeva@mail.com

Шарапова Евгения Павловна, к.м.н. [Eugenia P. Scharapova MD, PhD, researcher];

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2048-5183>; eLibrary SPIN: 9994-0234; e-mail: 2116i@mail.ru

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

ЦИТИРОВАТЬ:

Крылов М.Ю., Алексеева Л.И., Шарапова Е.П. Ассоциация полиморфизма rs2167270 гена лептина (LEP) с интенсивностью боли у больных остеоартритом коленного сустава // *Ожирение и метаболизм.* — 2021. — Т. 18. — №2. — С. 210-217. doi: <https://doi.org/10.14341/omet10189>

TO CITE THIS ARTICLE:

Krylov MY, Alekseeva LI, Sharapova EP. Association of the rs2167270 polymorphism of the leptin gene (LEP) with the intensity of pain in patients with osteoarthritis of the knee. *Obesity and metabolism.* 2021;18(2):210-217. doi: <https://doi.org/10.14341/omet10189>