

Прогнозирование развития послеоперационной боли у пациентов с поздней стадией остеоартрита коленного сустава по экспрессии генов деградации внеклеточного матрикса, воспаления и апоптоза в крови

Четина Е.В.¹, Глемба К.Е.¹, Маркова Г.А.¹, Нарышкин Е.А.¹, Таскина Е.А.¹,
Макаров М.А.¹, Лиля А.М.^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва;

²кафедра ревматологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

¹Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А; ²Россия, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Около 10–40% пациентов с остеоартритом (ОА) не удовлетворены исходом тотального эндопротезирования (ТЭ) крупных суставов. При этом наиболее частым осложнением, ассоциирующимся с неэффективностью ТЭ, является послеоперационная боль (ПБ).

Цель исследования — выделить гены, экспрессия которых в периферической крови до ТЭ связана с увеличением риска развития ПБ.

Пациенты и методы. Перед ТЭ исследована кровь 50 пациентов с поздней стадией ОА коленных суставов (КС), группу контроля составили 26 здоровых лиц. Уровень боли оценивали по визуальной аналоговой шкале (ВАШ), краткому опроснику VPI и индексу WOMAS, наличие невропатической боли — по опросникам DN4 и PainDETECT. Развитие ПБ определяли через 3 и 6 мес после ТЭ. Проводили количественную оценку уровней белка матриксной металлопротеиназы (ММП) 9 и тканевого ингибитора металлопротеиназы (ТИМП) 1 методом ELISA. Суммарную РНК, выделенную из крови, использовали для определения экспрессии генов каспазы 3, ММП9, ТИМП1, катепсинов К и S, фактора некроза опухолей (ФНО) α , интерлейкина (ИЛ) 1 β и циклооксигеназы 2 с помощью количественной обратнo-транскриптазной полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты и обсуждение. ПБ по ВАШ ≥ 30 мм отмечена у 17 больных. Перед ТЭ у этих пациентов была значимо повышена экспрессия генов катепсинов К и S, каспазы 3, ТИМП1, ИЛ1 β и ФНО α по сравнению с остальными больными ОА. ROC-анализ выявил статистически значимую связь между экспрессией этих генов и вероятностью развития боли после ТЭ.

Заключение. Высокая экспрессия генов, связанных с деградацией внеклеточного матрикса (катепсины S и K, ТИМП1), воспалением (ИЛ1 β , ФНО α) и апоптозом (каспаза 3), может служить важным биомаркером развития ПБ у пациентов с ОА КС. Для подтверждения ценности предоперационного исследования экспрессии генов для прогноза возникновения ПБ необходимы дальнейшие исследования с участием больших когорт пациентов.

Ключевые слова: остеоартрит коленного сустава; прогнозирование послеоперационной боли; экспрессия генов; периферическая кровь.

Контакты: Елена Васильевна Четина; etchetina@mail.ru

Для ссылки: Четина ЕВ, Глемба КЕ, Маркова ГА и др. Прогнозирование развития послеоперационной боли у пациентов с поздней стадией остеоартрита коленного сустава по экспрессии генов деградации внеклеточного матрикса, воспаления и апоптоза в крови. Современная ревматология. 2022;16(3):42–49. DOI: 10.14412/1996-7012-2022-3-42-49

Prediction of the development of postoperative pain in patients with late-stage knee osteoarthritis based on the expression of genes for degradation of the extracellular matrix, inflammation and apoptosis in the blood

Chetina E.V.¹, Glemba K.E.¹, Markova G.A.¹, Naryshkin E.A.¹, Taskina E.A.¹,
Makarov M.A.¹, Lila A.M.^{1,2}

¹V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow; ²Department of Rheumatology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow

¹34A, Kashirskoe shosse, Moscow 115522, Russia; ²2/1, Barrikadnaya street, building 1, Moscow 125993, Russia

About 10–40% of patients with osteoarthritis (OA) are not satisfied with the results of total arthroplasty (TA) of large joints. At the same time, the most common complication associated with the ineffectiveness of TA is postoperative pain (PP).

Objective: to identify genes whose expression in the peripheral blood before TA is associated with an increased risk of PP developing.

Patients and methods. Before TA, the blood of 50 patients with late-stage knee OA was examined; the control group consisted of 26 healthy individuals. The level of pain was assessed using the visual analog scale (VAS), the BPI short questionnaire, and the WOMAC index; the presence of neuropathic pain was assessed using the DN4 and PainDETECT questionnaires. The development of PP was determined 3 and 6 months after TA. The levels of matrix metalloproteinase protein (MMP) 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) 1 were quantified by ELISA. Total RNA isolated from blood was used to determine the expression of caspase 3, MMP9, TIMP1, cathepsins K and S, tumor necrosis factor (TNF) α , interleukin (IL) 1 β , and cyclooxygenase 2 genes using a quantitative real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction.

Results and discussion. PP according to VAS ≥ 30 mm was noted in 17 patients. Before TA, these patients had significantly increased expression of cathepsins K and S, caspase 3, TIMP1, IL1 β , and TNF α genes compared to other patients with OA. ROC analysis revealed a statistically significant relationship between the expression of these genes and the likelihood of developing pain after TA.

Conclusion. High expression of genes associated with degradation of the extracellular matrix (cathepsins S and K, TIMP1), inflammation (IL1 β , TNF α), and apoptosis (caspase 3) can serve as an important biomarker for the development of PP in patients with knee OA. To confirm the value of preoperative gene expression testing in predicting the onset of PP, further studies involving large cohorts of patients are needed.

Key words: knee osteoarthritis; prediction of postoperative pain; gene expression; peripheral blood.

Contact: Elena Vasilievna Chetina; etchetina@mail.ru

For reference: Chetina EV, Glemba KE, Markova GA, et al. Prediction of the development of postoperative pain in patients with late stage knee osteoarthritis based on the expression of genes for degradation of the extracellular matrix, inflammation and apoptosis in the blood. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2022;16(3):42–49. DOI: 10.14412/1996-7012-2022-3-42-49

Остеоартрит (ОА) — одно из наиболее распространенных заболеваний костно-мышечной системы. По оценкам Глобального исследования бремени болезней, в 2019 г. более 500 млн человек страдали ОА [1]. Эффективное и безопасное лечение этого заболевания является одной из приоритетных задач медицинской науки.

Современная концепция терапии ОА предполагает комплексный подход с использованием комбинации нефармакологических и фармакологических методов (с обязательным учетом коморбидности). Такой подход позволяет улучшить состояние пациента за счет уменьшения или полного избавления от боли, повышения функциональной и профессиональной активности, оптимизации психологического состояния и качества жизни в целом.

Однако у части больных, несмотря на консервативное лечение, отмечается прогрессирование заболевания, которое приводит к необходимости тотального эндопротезирования (ТЭ) суставов. Первичная артропластика является широко применяемым и эффективным методом хирургического лечения ОА крупных суставов. В Российской Федерации, согласно отчетам ФГБУ «Национальный исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» Минздрава России, за 5 лет (с 2014 по 2018 г.) количество выполняемых первичных ТЭ коленных суставов (КС) увеличилось с 36 843 до 47 945, что отражает общемировую тенденцию [2, 3]. Так, в 2017 г. в США было проведено 911 тыс. эндопротезирований этого сустава, в Германии — 191 тыс., а в Великобритании — 125 тыс. [3].

Вместе с тем не во всех случаях наблюдается высокий уровень удовлетворенности результатами ТЭ — около 10–40% пациентов отмечают неэффективность данного вида лечения. Одной из основных причин этого является развитие послеоперационной боли (ПБ) [4], основные предикторы которой до сих пор не выяснены. На возникновение боли и ее выраженность могут влиять ожидания пациента от операции, его возраст, пол, этническая принадлежность, семейное положение, социально-экономический статус, психологические особенности, состояние ментального здоровья и др. В последние годы появляется все больше доказательств того, что повышенная тревожность, депрессия, нарушение сна, катастрофизация боли, субъективно воспринимаемая неспра-

ведливость напрямую связаны с хронизацией боли после ТЭ КС. В недавно опубликованном систематическом обзоре, включавшем 181 клиническое исследование, продемонстрировано, что депрессия и тревога — основные причины развития долгосрочной боли и функциональных нарушений после ТЭ [5]. Кроме того, сама ПБ гетерогенна (ноцицептивная, невропатическая и невропластическая/дисфункциональная) и часто имеет смешанный характер, что требует консультации смежных специалистов и применения препаратов центрального действия из группы антиконвульсантов или антидепрессантов.

Выделение предикторов развития ПБ является актуальной задачей травматологии и ортопедии. Выяснение причин ее возникновения позволит улучшить исходы хирургического вмешательства. В настоящее время идет поиск биохимических и генетических биомаркеров, которые помогут прогнозировать развитие ПБ. В частности, было показано, что с интенсивностью боли при ОА взаимосвязаны многие цитокины, хемокины, металлопротеиназы (ММП), молекулы адгезии, факторы роста и др.: интерлейкин (ИЛ) 6, ИЛ7, ИЛ8, ИЛ10, ИЛ12, ИЛ13, ИЛ1 β , фактор некроза опухолей (ФНО) α , С-Х-С-хемокиновый лиганд (CXCL) 10, интерферон (IFN) γ , ММП3, ММП13, С-С-хемокиновый лиганд (MCP) 1, группа высокомолекулярных белков (HMGB) 1, С-С-хемокиновый лиганд 22 (MDC), кодируемая ALG1 хитобиосилдифосфодолихол-бета-маннозил-трансфераза (MT) 1, фактор ингибирования миграции макрофагов (MIF), ТИМП1, С-терминальный сшитый телопептид коллагена II типа (СТХ) II, олигомерный матриксный белок хряща (COMP), лектиновый домен С-типа, содержащий 11А (SCGF) β , сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF), трансформирующий ростовой фактор (TGF) β 2, сосудистый белок клеточной адгезии (сVCAM), молекула клеточной адгезии (сICAM), белок, расщепляющий СРБ при помощи ММП (CRPM), и нейротропный фактор мозга (BDNF) [6]. А. Pearle и соавт. [7] обнаружили при ОА связь между уровнем СРБ в сыворотке крови и концентрацией ИЛ6 в синовиальной жидкости, а также интенсивностью боли. Имеются сведения, что высокие концентрации ФНО α , ММП13 и ИЛ6 в синовиальной жидкости являются предикторами развития послеоперационной боли через 2 года после перенесенной артропластики [8]. В ряде исследований подтверждено наличие связи между BDNF,

ТИМП и CRPM и невропластическим, а также невропатическим компонентами боли [9]. Отмечено, что ММП9 и внутриклеточные каспазы способствуют индукции невропатической боли [10, 11], а экспрессия генов ММП2 и катепсина S — ее поддержанию за счет расщепления трансмембранного хемокина на поверхности нейронов [12]. Другими авторами показано, что изменение экспрессии ТИМП в астроцитах связано с развитием хронического невровоспаления и гипералгезии [13]. Эти данные позволяют предположить, что определение экспрессии некоторых из приведенных генов может использоваться в качестве предиктора развития потенциальных послеоперационных осложнений еще до выполнения ТЭ. Следует подчеркнуть, что все перечисленные выше белки и кодирующие их гены экспрессируются в нервной ткани, хряще и клетках периферической крови, тогда как экспрессия катепсина К демонстрирует значимую связь между хондроцитами и клетками крови и рассматривается как облигатный маркер обновления внеклеточного матрикса [14].

Цель исследования — определение генов, экспрессия которых в крови больных ОА связана с развитием боли после ТЭ КС.

Пациенты и методы. В проспективное исследование было включено 50 пациентов с ОА КС, удовлетворявших критериям ACR (American College of Rheumatology) [15–29], которым в 2018–2019 гг. в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» было проведено ТЭ. Средний возраст пациентов составил $67,6 \pm 7,5$ (54–82) года. До ТЭ все больные имели выраженную боль и нарушение функции КС (по мнению врача и пациента), рентгенологические изменения, соответствовавшие III–IV стадии ОА (по Kellgren–Lawrence), во всех случаях отсутствовал эффект консервативной терапии на протяжении не менее 6 мес.

Критериями не включения были любые ранее перенесенные операции на КС; наличие системных воспалительных ревматических заболеваний, онкологической, инфекционной, значимой эндокринной или другой висцеральной патологии, способной вызвать поражение скелетно-мышечной системы; асептический некроз бедренной или большеберцовой кости; прием препаратов, содержащих эстроген, прогестерон, глюкокортикоиды, бисфосфонаты и альфа-кальцидол.

Контрольную группу составили 26 здоровых лиц, сопоставимых по возрасту с пациентами основной группы: средний возраст — $65,8 \pm 7,3$ (42–74) года, не имевших значимой сопутствующей патологии и ОА КС.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой». От всех участников исследования получено информированное согласие.

Перед хирургическим вмешательством определяли уровень боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ), использовали также краткий опросник боли (Brief Pain Inventory, BPI) [16] и индекс WOMAC [17]. Для выявления невропатической боли применяли опросники PainDETECT и DN4 (Douleur Neuropathique en 4 Questions) [18], депрессии и тревожности — госпитальную шкалу тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS) [19].

Развитие ПБ (≥ 30 мм по ВАШ) оценивали через 3 и 6 мес после проведения ТЭ и выписки больного из стационара по результатам телефонного опроса.

Количественная оценка уровней белков ММП9 и ТИМП1. Периферическую кровь (10 мл) собирали с 07:00 до 09:00 в пробирки Vacutainer, содержащие этилендиаминтетрауксусную кислоту (BDH, Великобритания). Для фракционирования цельной крови использовали градиент плотности фиколла. Мононуклеарные клетки периферической крови, расположенные в интерфазе, собирали и дважды промывали фосфатно-солевым буфером. Полученные клетки крови замораживали и хранили при -80 °C до экстракции белка. Концентрации ММП9 (BMS2016-2) и ТИМП1 (BMS2018) определяли в изолированных РВМС (peripheral blood mononuclear cells) с применением коммерчески доступных наборов (Bender MedSystems GmbH, Австрия) для твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) в соответствии с инструкциями производителя. Результаты выражали на микрограмм ДНК, измеренной в лизатах РВМС.

Выделение общей РНК и реакция обратной транскрипции (ОТ). Для определения экспрессии генов общую РНК выделяли из 100 мкл цельной крови сразу после ее получения с применением реагента Extract RNA («Евроген», Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Общая РНК имела $A260/290 > 1,9$. RT-реакцию проводили с использованием набора MMLV RT, содержащего обратную транскриптазу MMLV, случайные гексануклеотидные праймеры и общую РНК, согласно рекомендациям производителя («Евроген», Россия).

Количественная ПЦР в реальном времени. Использовали готовые праймеры и зонды для анализа TaqMan (Applied Biosystems, США) генов человека: *катепсин S* (Hs00175407_m1), *катепсин K* (Hs00166165_m1), *каспаза 3* (Hs00263337_m1), *ФНО α* (Hs00174128_m1), *ИЛ1 β* (Hs00174097_m1), *ЦОГ2* (Hs00153133_m1), *ММП9* (Hs00234579_m1), *ТИМП1* (Hs00171558_m1). В качестве эндогенного контроля применяли β -актин. Количественную оценку экспрессии генов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (Quant Studio 5, Applied Biosystems, США). 1 мкл продукта ОТ подвергали ПЦР в реальном времени в 15 мкл общей реакционной смеси, содержащей 7,5 мкл TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, США), смысловой и антисмысловой праймеры 900 нМ, зонд 50 нМ и матричную кДНК. После одной стадии при 50 °C в течение 2 мин и начальной активации при 95 °C в течение 10 мин реакционные смеси подвергали 40 циклам амплификации (15 с при 95 °C для денатурации и 1 мин отжига и удлинения при 60 °C). Относительную экспрессию мРНК определяли методом $\Delta\Delta CT$, который подробно описан в инструкциях производителя (Applied Biosystems, США). Значение ΔCT рассчитывали путем вычитания значения CT для гена домашнего хозяйства β -актина из значения CT для каждого образца. Затем вычисляли $\Delta\Delta CT$ путем вычитания значения ΔCT для контроля (каждого здорового пациента) из значения ΔCT для каждого пациента с ОА. Каждую ПЦР проводили в двух повторностях. Три контроля были неизменно отрицательными для каждой реакции.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программы Statistica 10 for Windows и SPSS версии 22 (IBM, США), включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа. Для статистического анализа нормально распределенных данных использовались ранговые корреляции Пирсона и непарный t -критерий Стьюдента для сравнения между контрольными субъектами и подгруппами пациентов с ОА. Анализ ROC-кривых представлен в виде

Таблица 1. Сравнительная характеристика пациентов с ОА до проведения ТЭ КС
Table 1. Comparative characteristics of patients with OA before knee TA

Показатель	1-я группа (n=17)	2-я группа (n=33)	p
Возраст, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	70 [64; 75]	68 [61; 72]	0,70
Стадия ОА, n (%):			
III	12 (71)	23 (70)	0,94
IV	5 (29)	10 (30)	0,94
ИМТ, кг/м ² , Ме [25-й; 75-й перцентили]	32,4 [27,1; 34,5]	29,1 [27,3; 32,1]	0,31
Масса тела, n (%):			
нормальная	1 (6)	2 (6)	100
избыточная	5 (29)	17 (51,5)	0,14
ожирение 1-й степени	10 (59)	11 (33,5)	0,08
ожирение 2-й степени	1 (6)	3 (9)	0,71
Длительность болезни, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	8 [5,5; 12]	10 [5; 14]	0,90
СОЭ, мм/ч, Ме [25-й; 75-й перцентили]	8,5 [5,5; 19]	12 [10; 25]	0,27
Боль по ВАШ, мм, Ме [25-й; 75-й перцентили]	60 [60; 70]	70 [60; 70]	0,89
DN4, баллы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	2 [1,5; 3]	2 [1; 2]	0,24
PainDETECT, Ме [25-й; 75-й перцентили]	7 [4; 9]	4 [2; 9]	0,28
HADS тревожность, Ме [25-й; 75-й перцентили]	7 [4,5; 9,5]	5,5 [3,5; 7,5]	0,07
HADS депрессия, Ме [25-й; 75-й перцентили]	8,5 [6; 10,5]	7 [6; 9]	0,25
VPI (тяжесть боли), Ме [25-й; 75-й перцентили]	4,5 [3,9; 5,4]	5,5 [4,5; 5,8]	0,07
WOMAC, мм, Ме [25-й; 75-й перцентили]:			
суммарный	1130 [1020; 1260]	1150 [950; 1200]	0,99
боль	230 [195; 260]	230 [205; 270]	0,72
скованность	100 [75; 110]	100 [80; 115]	0,65
ФН	820 [710; 855]	760 [685; 830]	0,48
АГ, %	65	30	<0,01
Кардиоваскулярные заболевания, %	6	15	0,35

Примечание. ИМТ – индекс массы тела; ФН – функциональная недостаточность.

площадей под кривой (AUC) и 95% доверительных интервалов (ДИ). Диагностическая эффективность значений экспрессии генов оценивалась с использованием чувствительности и специфичности в точках отсечения. Для сравнения процентных соотношений был применен двусторонний Z-тест. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Сравнительный анализ исходных клинических параметров пациентов с ОА, у которых через 3–6 мес развилась или не развилась ПБ. Через 3 мес после ТЭ КС у 17 (34%) из 50 пациентов отмечалась ПБ (среднее значение $34,3 \pm 2,3$ мм по ВАШ), которая сохранялась к 6-му месяцу наблюдения ($38,6 \pm 2,5$ мм по ВАШ). В зависимости от наличия или отсутствия ПБ пациенты были распределены в две группы: с ПБ (1-я группа, $n=17$) и без ПБ (2-я группа, $n=33$). Сравнение обеих групп перед операцией не выявило значимых различий по большинству параметров (табл. 1). Отмечено, что у лиц с ПБ чаще регистрировалась артериальная гипертензия (АГ).

Экспрессия генов в крови. В 1-й группе выявлено статистически значимое повышение экспрессии генов *катепсина S* ($p=0,0006$), *катепсина K* ($p=0,007$), *каспазы 3* ($p=0,002$), *ТИМП1* ($p=0,017$), *ИЛ1 β* ($p=0,01$) и *ФНО α* ($p=0,006$) по сравнению с больными 2-й группы (рис. 1). Межгрупповых различий в экспрессии генов *ММП9* и *ЦОГ2* не выявлено.

Уровни белка ММП9 и ТИМП1 в клетках крови. Для дальнейшего изучения клинической значимости оценки относительной экспрессии исследуемых генов в крови больных с поздней стадией ОА были проанализированы уровни белков *ММП9* и *ТИМП1* во фракции клеток крови. Уровни белка *ТИМП1* у обследованных лиц с ПБ также оказались значительно выше, чем у пациентов без боли, в то время как концентрации белка *ММП9* существенно не различались в исследуемых группах (рис. 2).

Корреляционный анализ экспрессии генов с клиническими и рентгенологическими параметрами. При корреляционном анализе выявлена положительная связь между стадией ОА, индексом PainDETECT и болью в ночное время (табл. 2). Степень тяжести боли по VPI и показатели тревожности по HADS были взаимосвязаны с суммарным значением WOMAC. Кроме того, продемонстрирована позитивная связь между показателями DN4 и PainDETECT и этими показателями и депрессией, выявляемой по опроснику HADS.

Подтверждены значимые ассоциации между экспрессией исследуемых генов и многими клиническими и рентгенологическими параметрами ($n=50$). В частности, выявлена положительная связь между ИМТ и экспрессией генов *катепсина S* ($r=0,307$, $p=0,03$), *катепсина K* ($r=0,335$, $p=0,01$), *каспазы 3*

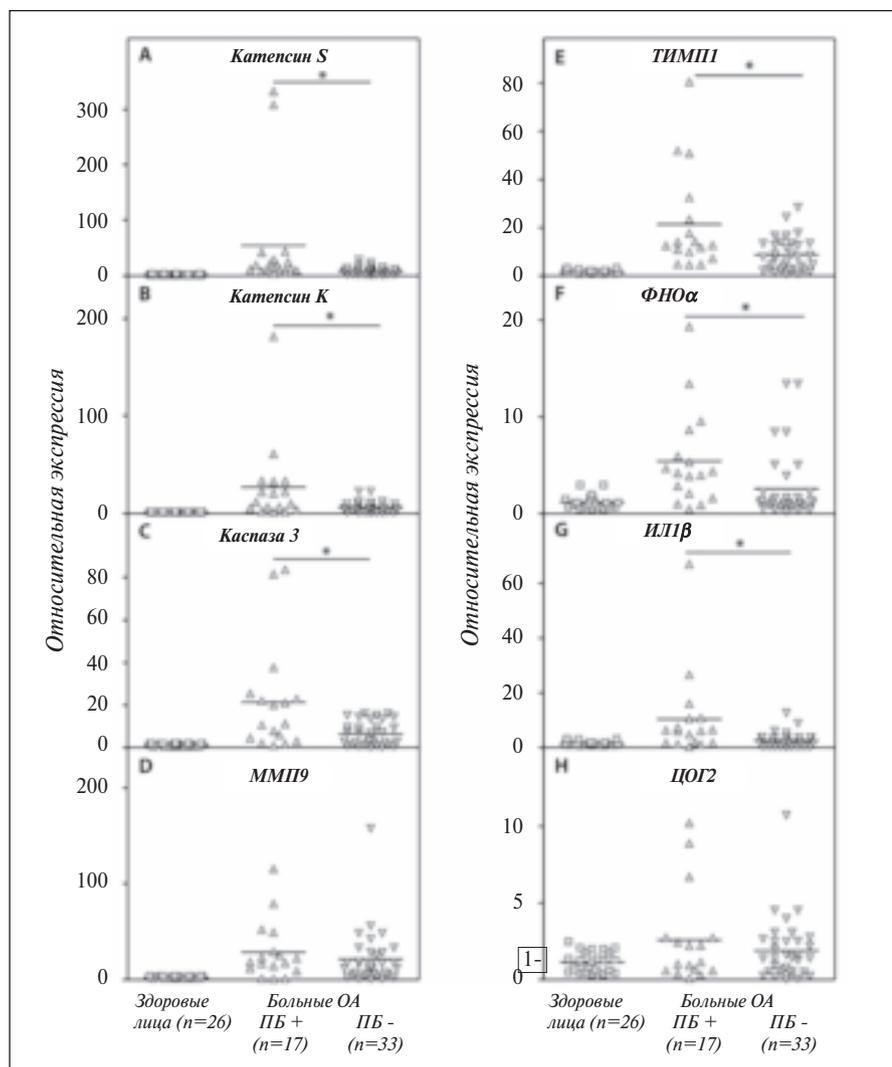


Рис. 1. Относительная экспрессия генов катепсина *S* (А), катепсина *K* (В), каспазы 3 (С), *MMP9* (D), *TIMP1* (Е), *TNFα* (F), *IL1β* (G) и *COX2* (H), определенная с помощью ПЦР в реальном времени в крови пациентов, у которых развилась ($n=17$) либо отсутствовала ($n=33$) ПБ, по сравнению со здоровыми лицами ($n=26$). Уровни экспрессии генов у здоровых лиц приняты за 1,0, что необходимо для относительной количественной оценки в соответствии с протоколом ПЦР в реальном времени.

* – значимые различия между группами пациентов с ОА

Fig. 1. Relative expression of cathepsin *S* (A), cathepsin *K* (B), caspase 3 (C), *MMP9* (D), *TIMP1* (E), *TNFα* (F), *IL1β* (G), and *COX2* (H) genes determined with using real-time PCR in the blood of patients who developed ($n=17$) or did not develop ($n=33$) PP compared with healthy individuals ($n=26$). Gene expression levels in healthy individuals are taken as 1.0, which is necessary for relative quantification in accordance with the real-time PCR protocol.

* – significant differences between the studied groups of patients with OA

($r=0,307$, $p=0,03$), *MMP9* ($r=0,439$, $p<0,01$) и *TIMP1* ($r=0,329$, $p=0,02$). Экспрессия гена *TIMP1* отрицательно коррелировала с показателями боли по ВАШ ($r=-0,317$, $p=0,02$) и суммарным значением WOMAC ($r=-0,290$, $p=0,04$). Показатели DN4 имели позитивную связь с экспрессией генов *TNFα* ($r=0,330$, $p=0,02$) и *IL1β* ($r=0,496$, $p<0,01$). Экспрессия гена *IL1β* также положительно коррелировала с параметрами PainDETECT ($r=0,313$, $p=0,04$).

Чтобы оценить прогностическую ценность экспрессии этих генов, мы провели ROC-анализ (рис. 3), который подтвердил статистически значимую связь между экспрессией

исследуемых генов до ТЭ с вероятностью развития ПБ: пороговые значения экспрессии исследуемых генов составляли: 9,09 для катепсина *S* (AUC=0,835; 95% ДИ 0,721–0,949; $p=0,000$), 5,96 для катепсина *K* (AUC=0,743; 95% ДИ 0,589–0,898; $p=0,005$), 7,67 для каспазы 3 (AUC=0,732; 95% ДИ 0,577–0,886; $p=0,008$), 9,12 для *TIMP1* (AUC=0,741; 95% ДИ 0,603–0,879; $p=0,006$), 1,88 для *TNFα* (AUC=0,738; 95% ДИ 0,589–0,887; $p=0,006$) и 3,3 для *IL1β* (AUC=0,763; 95% ДИ 0,615–0,91; $p=0,003$).

Обсуждение. Ранее идентифицировано несколько независимых предикторов персистирования боли после ТЭ КС на основе клинических характеристик больных [20]. В то же время другие исследования показали, что дооперационные значения клинических и биопсихосоциальных переменных не позволяют прогнозировать развитие ПБ, поскольку боль является субъективным ощущением и включает физиологические, когнитивные и эмоциональные компоненты [21]. В нашей работе в качестве прогностических маркеров ПБ использовалась экспрессия в крови генов, связанных с обновлением внеклеточного матрикса (катепсины *S* и *K* и *TIMP1*), апоптозом (каспаза 3) и воспалением (*TNFα* и *IL1β*). При этом экспрессия этих генов была значительно выше у больных ОА, у которых возникла ПБ, по сравнению с лицами, удовлетворенными результатами ТЭ. Высокая прогностическая ценность экспрессии этих генов в развитии данного осложнения была подтверждена обширной площадью под ROC-кривыми, что позволяет использовать их для прогнозирования развития ПБ. Наши результаты согласуются с ранее опубликованными наблюдениями, согласно которым повышенная концентрация цитокинов в синовиальной жидкости коррелирует с болью [22] и является независимым

предиктором развития болевого синдрома после ТЭ КС [9]. Кроме того, ранее проведенные исследования показали, что повышенная активность *MMP9* способствовала усилению боли в ответ на повреждение, которому может противодействовать активность *TIMP1* [23]. Следовательно, значительное повышение экспрессии гена *TIMP1* в нашем исследовании у пациентов, у которых возникла боль после операции, а также отрицательная корреляция между экспрессией гена *TIMP1* и индексами боли могут дополнительно указывать на высокую и неконтролируемую общую экспрессию генов *MMP* и провоспалительных цитокинов,

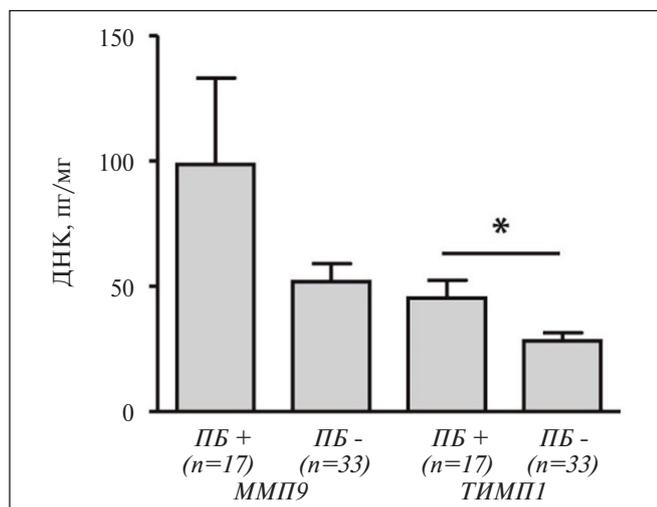


Рис. 2. Концентрации белков ММР9 и ТИМР1, измеренные с помощью ИФА в клетках крови больных с поздней стадией ОА, у которых развилась (n=17) либо отсутствовала (n=33) ПБ.

* – значимые различия между группами пациентов

Fig. 2. MMP9 and TIMP1 protein concentrations measured by ELISA in blood cells of patients with advanced OA who developed (n=17) or did not (n=33) PP. * – significant differences between the studied groups of patients

которые отвечают за поддержание боли. Более того, развитие ПБ у обследованных пациентов с ОА может объясняться высокой концентрацией в крови перед операцией *катепсина S*, который блокирует активацию Т-лимфоцитов и высвобождение периферических цитокинов [24]. Повышенная экспрессия гена *катепсина K*, связанная с ПБ, может быть взаимосвязана с изменением механочувствительности и увеличением активности афферентного нерва КС, что недавно было продемонстрировано в исследованиях на животных моделях ОА [25], тогда как увеличение экспрессии каспазы – результат усиления болевой чувствительности вследствие активации сенсорных нейронов, что ранее наблюдалось у пациентов с сахарным диабетом [26].

В нашем исследовании больные обеих групп практически не различались по степени рентгенологического повреждения КС, продолжительности заболевания, интенсивности боли и уровню СОЭ. Эти данные указывают на то, что клинико-инструментальные детерминанты не являются значимыми предикторами развития ПБ. Сходные результаты были получены и другими авторами [27], хотя в некоторых работах при ОА обнаружена связь между более низким уровнем боли до операции и менее благоприятным функциональным исходом [28]. При этом положительная корреляция исходных показателей по опроснику DN4 с экспрессией генов *ФНОα* и *ИЛ1β* в периферической крови может указывать на обострение симптомов невропатической боли в условиях воспаления, как и предполагалось в ранее опубликованных исследованиях [29].

В литературе имеются сведения о том, что наличие коморбидных состояний, в том числе АГ, ассоциировано с развитием ПБ [30]. По нашим данным, у пациентов 1-й группы также значимо чаще встречалась АГ. Не вызывает сомнения влияние тревожных и депрессивных состояний на риск развития неудовлетворительных исходов после операции, что демонстрируют многие исследования [5,

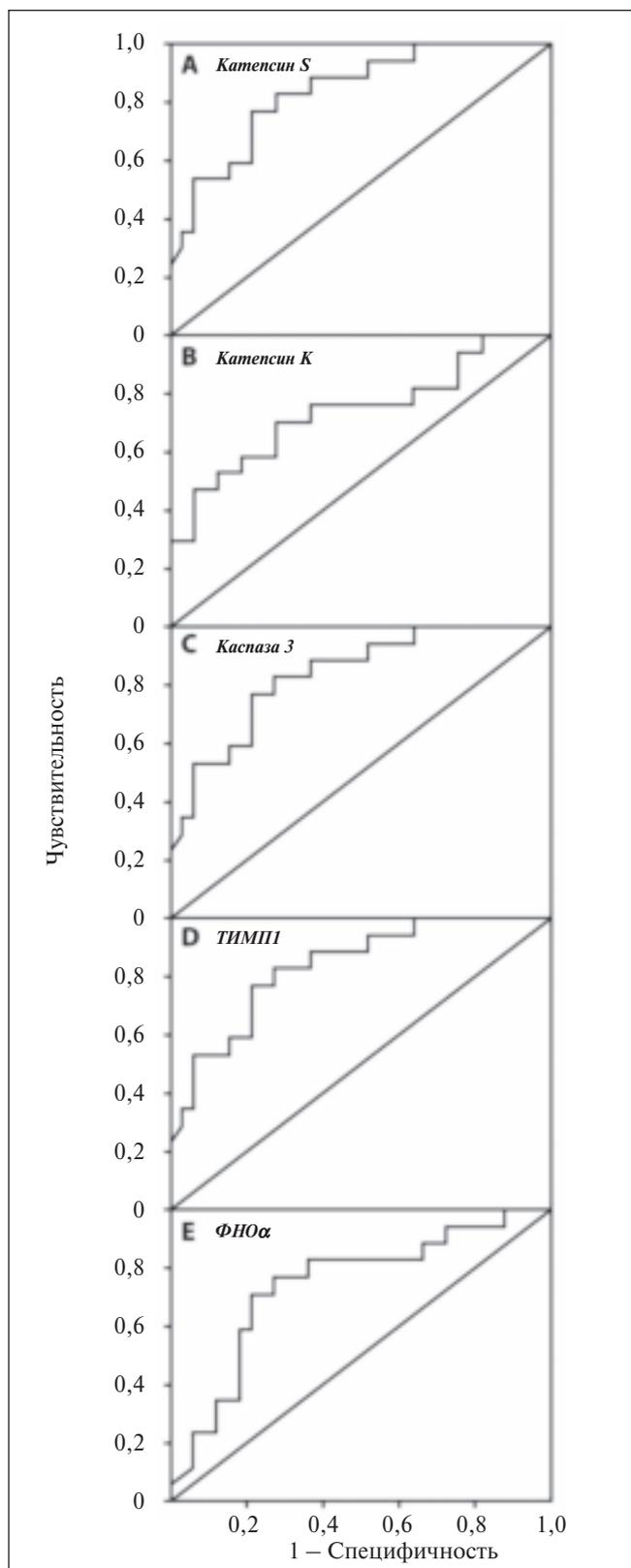


Рис. 3. Области под кривой (AUC), демонстрирующие связь между экспрессией генов в крови больных с поздней стадией ОА и развитием (n=17) либо отсутствием (n=33) ПБ

Fig. 3. Areas under the curve (AUC) demonstrating the relationship between gene expression in the blood of patients with advanced OA and development (n=17) or did not development (n=33) PP

Таблица 2. Коэффициенты корреляции между клиническими и биопсихосоциальными показателями и их значимость, оцененные до проведения ТЭ КС (n=50)

Table 2. Correlation coefficients between clinical and biopsychosocial indicators and their significance, assessed before TA CS (n=50)

Показатель	Боль ночью по ВАШ	Боль по WOMAC	ФН по WOMAC	Суммарный WOMAC	DN4	HADS депрессия
Стадия ОА	0,442; p=0,04		0,512; p=0,01			
PainDETECT	0,525; p=0,01				0,708; p<0,01	0,546; p=0,03
HADS: тревожность депрессия			0,551; p=0,01	0,472; p=0,03	0,312; p=0,03	0,678; p<0,01
VPI (тяжесть боли)		0,628; p<0,01	0,541; p=0,01	0,590; p<0,01		

28], в том числе наше. В настоящей работе, как и ранее в исследованиях других авторов [31], выявлена связь между симптомами невропатической боли и интенсивностью боли в дооперационном периоде: положительная корреляция показателей боли и DN4 с PainDETECT, депрессией/тревогой (HADS) и степенью тяжести боли (VPI). При этом высокая степень тяжести боли по VPI перед операцией отождествлялась с более благоприятным прогнозом в послеоперационном периоде (значительное ослабление боли), что было подтверждено в исследованиях зарубежных авторов [32].

Заключение. Таким образом, высокая базальная экспрессия генов, связанных с деградацией внеклеточного матрикса (*каспсины S и K, ТИМПП*), воспалением (*ФНО α и ИЛ1 β*) и апоптозом (*каспаза 3*), оцененная в крови пациентов с поздней стадией ОА перед артропластикой КС, может служить важным биомаркером развития ПБ. Чтобы подтвердить наши выводы о важности предоперационного исследования экспрессии генов для прогноза развития ПБ, необходимы дальнейшие исследования с участием больших когорт пациентов. Эти данные будут способствовать максимальному облегчению состояния больных с поздней стадией ОА, которым рекомендовано ТЭ КС.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Global Burden of Disease Collaborative Network. Global Burden of Disease Study 2019 (GBD 2019) results. 2020. <http://ghdx.healthdata.org/gbdresults-tool>.
- Андреева ТМ, Огрызко ЕВ, Попова ММ. Травматизм, ортопедическая заболеваемость, состояние травматолого-ортопедической помощи населению России в 2014 году. Москва: НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова; 2015. [Andreeva TM, Ogryzko EV, Popova MM. *Travmatizm, ortopedicheskaya zaboлеваemost', sostoyanie travmatologo-ortopedicheskoi pomoshchi naseleniyu Rossii v 2014 godu* [Traumatism, orthopedic morbidity, the state of traumatological and orthopedic care to the population of Russia in 2014]. Moscow: NMITS TO im. N.N. Priorova; 2015].
- Андреева ТМ, Огрызко ЕВ, Попова ММ. Травматизм, ортопедическая заболеваемость, состояние травматолого-ортопедической помощи населению России в 2018 году. Москва: НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова; 2019. [Andreeva TM, Ogryzko EV, Popova MM. *Travmatizm, ortopedicheskaya zaboлеваemost', sostoyanie travmatologo-ortopedicheskoi pomoshchi naseleniyu Rossii v 2014 godu* [Traumatism, orthopedic morbidity, the state of traumatological and orthopedic care to the population of Russia in 2018]. Moscow: NMITS TO im. N.N. Priorova; 2019].
- Abdelaal MS, Restrepo C, Sharkey PF. Global Perspectives on Arthroplasty of Hip and Knee Joints. *Orthop Clin North Am*. 2020 Apr;51(2):169-76. doi: 10.1016/j.ocl.2019.11.003. Epub 2020 Feb 6.
- Wylde V, Hewlett S, Learmonth ID, et al. Persistent pain after joint replacement: prevalence, sensory qualities, and postoperative determinants. *Pain*. 2011 Mar;152(3):566-72. doi: 10.1016/j.pain.2010.11.023. Epub 2011 Jan 15.
- Nakano N, Shoman H, Olavarria F, et al. Why are patients dissatisfied following a total knee replacement? A systematic review. *Int Orthop*. 2020 Oct;44(10):1971-2007. doi: 10.1007/s00264-020-04607-9. Epub 2020 Jul 8. 8.
- Pearle A, Scanzello C, George S, et al. Elevated high-sensitivity C-reactive protein levels are associated with local inflammatory findings in patients with osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007 May;15(5):516-23. doi: 10.1016/j.joca.2006.10.010. Epub 2006 Dec 5.
- Gandhi R, Santone D, Takahashi M, et al. Inflammatory Predictors of Ongoing Pain 2 Years Following Knee Replacement Surgery. *Knee*. 2013 Oct;20(5):316-8. doi: 10.1016/j.knee.2012.10.015. Epub 2012 Nov 14.
- Fayet M, Hagen M. Pain characteristics and biomarkers in treatment approaches for osteoarthritis pain. *Pain Manag*. 2021 Jan;11(1):59-73. doi: 10.2217/pmt-2020-0055. Epub 2020 Oct 30.
- Clark AK, Yip PK, Grist, et al. Inhibition of Spinal Microglial Cathepsin S for the Reversal of Neuropathic Pain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jun 19;104(25):10655-60. doi: 10.1073/pnas.0610811104. Epub 2007 Jun 5.
- Berta T, Park CK, Xu ZZ, et al. Extracellular caspase-6 drives murine inflammatory pain via microglial TNF-alpha secretion. *J Clin Invest*. 2014 Mar;124(3):1173-86. doi: 10.1172/JCI172230. Epub 2014 Feb 17.
- Kawasaki Y, Xu ZZ, Wang X, et al. Distinct roles of matrix metalloproteases in the early- and late-phase development of neuropathic pain. *Nat Med*. 2008 Mar;14(3):331-6. doi: 10.1038/nm1723. Epub 2008 Feb 10.
- Gardner J, Borgmann K, Deshpande MS, et al. Potential mechanisms for astrocyte-TIMP-1 downregulation in chronic inflammatory diseases. *J Neurosci Res*. 2006 May 15;83(7):1281-92. doi: 10.1002/jnr.20823.
- Tchetina EV, Makarov SA, Kuzin AN. Coordinated expression of the genes associated with cell growth (mTOR), collagen degradation (cathepsin K), and lipid metabolism (fatty acid synthase) in the peripheral blood and articular cartilage of the end-stage osteoarthritic patients. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(Suppl 3):694.
- Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 1957 Dec;16(4):494-502. doi: 10.1136/ard.16.4.494.
- Cleeland CS, Ryan KM. Pain assessment: global use of the Brief Pain Inventory. *Ann Acad Med Singap*. 1994 Mar;23(2):129-38.
- Bellamy, N. WOMAC Osteoarthritis In-

- dex: A User's Guide. London: University of Western Ontario; 1995.
18. Freynhagen R, Baron R, Gockel U, Tolle TR. PainDETECT: a new screening questionnaire to identify neuropathic components in patients with back pain. *Curr Med Res Opin.* 2006 Oct;22(10):1911-20. doi: 10.1185/030079906X132488.
 19. Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand.* 1983 Jun;67(6):361-70. doi: 10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x.
 20. Lewis GN, Rice DA, McNair PJ, et al. Predictors of persistent pain after total knee arthroplasty: a systematic review and meta-analysis. *Br J Anaesth.* 2015 Apr;114(4):551-61. doi: 10.1093/bja/aeu441. Epub 2014 Dec 26.
 21. Barroso J, Wakaizumi K, Reckziegel D, et al. Prognostics for pain in osteoarthritis: Do clinical measures predict pain after total joint replacement? *PLoS One.* 2020 Jan 8;15(1):e0222370. doi: 10.1371/journal.pone.0222370. eCollection 2020.
 22. Li L, Li Z, Li Y, et al. Profiling of inflammatory mediators in the synovial fluid related to pain in knee osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2020 Feb 14;21(1):99. doi: 10.1186/s12891-020-3120-0.
 23. Knight BE, Kozlowski N, Havelin J, et al. TIMP-1 Attenuates the Development of Inflammatory Pain Through MMP-Dependent and Receptor-Mediated Cell Signaling Mechanisms. *Front Mol Neurosci.* 2019 Sep 20;12:220. doi: 10.3389/fnmol.2019.00220. eCollection 2019.
 24. Eckert WA 3rd, Wiener JJM, Cai H, et al. Selective Inhibition of Peripheral Cathepsin S Reverses Tactile Allodynia Following Peripheral Nerve Injury in Mouse. *Eur J Pharmacol.* 2020 Aug 5;880:173171. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173171. Epub 2020 May 11.
 25. Nwosu LN, Gowler PRW, Burston JJ, et al. Analgesic effects of the cathepsin K inhibitor L-006235 in the monosodium iodoacetate model of osteoarthritis pain. *Pain Rep.* 2018 Oct 5;3(6):e685. doi: 10.1097/PR9.0000000000000685. eCollection 2018 Nov.
 26. Hulse RP, Beazley-Long N, Ved N, et al. Vascular endothelial growth factor-A165b prevents diabetic neuropathic pain and sensory neuronal degeneration. *Clin Sci (Lond).* 2015 Oct 1;129(8):741-56. doi:10.1042/CS20150124.
 27. Katz NP, Paillard FC, Ekman E. Determining the clinical importance of treatment benefits for interventions for painful orthopedic conditions. *J Orthop Surg Res.* 2015 Feb 3;10:24. doi: 10.1186/s13018-014-0144-x.
 28. Lungu E, Vendittoli PA, Desmeules F. Preoperative Determinants of Patient-reported Pain and Physical Function Levels Following Total Knee Arthroplasty: A Systematic Review. *Open Orthop J.* 2016 Jun 23;10:213-31. doi: 10.2174/1874325001610010213. eCollection 2016.
 29. Mai L, Zhu X, Huang F, et al. p38 Mitogen-Activated Protein Kinase and Pain. *Life Sci.* 2020 Sep 1;256:117885. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117885. Epub 2020 May 30.
 30. Lingard EA, Katz JN, Wright E, et al. Kinemax Outcomes Group. Predicting the outcome of total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 2004 Oct;86(10):2179-86. doi: 10.2106/00004623-200410000-00008.
 31. Kurien T, Arendt-Nielsen L, Petersen KK, et al. Preoperative Neuropathic Pain-like Symptoms and Central Pain Mechanisms in Knee Osteoarthritis Predicts Poor Outcome 6 Months After Total Knee Replacement Surgery. *J Pain.* 2018 Nov;19(11):1329-41. doi: 10.1016/j.jpain.2018.05.011. Epub 2018 Jun 18.
 32. Rehman Y, Lindberg MF, Arnljot K, et al. More Severe Radiographic Osteoarthritis Is Associated With Increased Improvement in Patients' Health State Following a Total Knee Arthroplasty. *J Arthroplasty.* 2020 Nov;35(11):3131-7. doi: 10.1016/j.arth.2020.06.025. Epub 2020 Jun 17.

Поступила/отрецензирована/принята к печати
Received/Reviewed/Accepted
3.03.2022/12.04.2022/16.04.2022

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (Project №0009-1021062512064-0).
Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

This work was supported financially by the Russian Ministry of Education and Science (Project №0009-1021062512064-0).

There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Четина Е.В. <https://orcid.org/0000-0001-7312-2349>
Глемба К.Е. <https://orcid.org/0000-0003-3971-2593>
Маркова Г.А. <https://orcid.org/0000-0001-5946-5695>
Нарышкин Е.А. <https://orcid.org/0000-0001-7622-9678>
Таскина Е.А. <https://orcid.org/0000-0001-8218-3223>
Макаров М.А. <https://orcid.org/0000-0002-5626-7404>
Лиля А.М. <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>