

АССОЦИАЦИЯ БОЛЕВОГО СИНДРОМА С УРОВНЕМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРОЗОМ

Е.В.Четина, Г.А.Маркова, Е.А.Таскина, Е.П.Шарапова,
Н.Г.Кашеварова, Л.И.Алексеева, С.А.Макаров

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А.Насоновой»
(ФГБНУ НИИР им. В.А.Насоновой), г.Москва, Российская Федерация

На основании анализа профилей экспрессии генов, участвующих в деструкции суставного хряща, воспалении и регуляции метаболизма, исследованы механизмы, определяющие уровень боли у больных остеоартрозом (ОА) с разными уровнями экспрессии гена mTOR в крови и на разных стадиях заболевания. Разные уровни боли у больных ОА могут быть связаны с соотношением экспрессии генов MMP9 и TIMP1, избыточной или недостаточной активностью гена mTOR, а также с экспрессией факторов роста TGFβ1 и VEGF, участвующих в процессах регенерации тканей.

Ключевые слова: остеоартроз, боль, экспрессия генов, кровь, mTOR, MMP9, TIMP1

Введение. Остеоартроз (ОА) является распространенным заболеванием соединительной ткани, сопровождающимся разрушением суставного хряща и болью – основным клиническим симптомом, ограничивающим трудоспособность [1, с. 117; 2, с. S6]. На молекулярном уровне болевой синдром при ОА тесно связан с нарушениями сигнальных путей, регулируемых mTOR (mammalian target of rapamycin) – главным регулятором центральной и периферической чувствительности к боли [3,4]. Ранее мы показали, что низкая экспрессия гена mTOR в крови больных ОА ассоциировалась с более высокими показателями боли по сравнению с больными, имеющими высокую экспрессию этого гена [5, с. 461486; 6, с.27]. Однако молекулярные механизмы природы разного уровня боли у больных ОА, имеющих разные уровни экспрессии гена mTOR, неясны.

Целью данной работы было изучение механизмов, определяющих уровень боли на основании анализа профилей экспрессии генов, участвующих в деструкции суставного хряща, воспалении и регуляции метаболизма в крови больных ОА с разными уровнями экспрессии гена mTOR и на разных стадиях заболевания.

Материалы и методы. Работа проведена на образцах периферической крови 47 амбулаторных больных ОА (60±7.1 лет) и 27 здоровых людей – контроль (58,6±8,3 лет), Состояние больных оценивали на основании показаний клинических, рентгенологических, ультразвукового и денситометрического методов. Общую РНК выделяли из крови и после обратной транскрипции использовали для определения уровня экспрессии генов в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты. Результаты проведенных исследований показали, что в подгруппе больных ОА с низкой экспрессией (НЭ) гена mTOR экспрессия катепсина К и тканевого ингибитора металлопротеиназы (TIMP)1 не превышают экспрессию этих генов у здоровых людей. Напротив, экспрессия металлопротеиназы (MMP)9 оказалась значительно ($p < 0,05$) выше контроля. В случае больных с высокой экспрессией (ВЭ) гена mTOR экспрессия протеаз и TIMP1 значительно ($p < 0,05$) повышена.

Экспрессия про-воспалительного цитокина интерлейкина (IL)-1β и циклооксигеназы (COX)2 также незначительно отличалась от нормы в подгруппе больных с НЭ гена mTOR, а у амбулаторных больных с ВЭ гена mTOR экспрессия COX2 значительно превышала норму.

Экспрессия трансформирующего фактора роста (TGF)β1 и сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в подгруппе больных с НЭ гена mTOR не превышала норму, а у амбулаторных больных с ВЭ гена mTOR экспрессия данных факторов роста значительно превышала его уровни у здоровых лиц.

Обсуждение. Исследование профилей экспрессии генов, участвующих в деструкции ВКМ, ингибитора деструктивных протеиназ, провоспалительных цитокинов и факторов роста в крови, проведенное в настоящей работе, позволяет прояснить некоторые аспекты регуляции боли у больных ОА. Так, в подгруппе больных с НЭ гена mTOR с учетом низкой экспрессии генов провоспалительных цитокинов маловероятно, что боль связана с воспалительной реакцией. Боль, вероятно, обусловлена повышенной активностью

MMP9, которая не сдерживается ее главным ингибитором – TIMP1 [7, с.336], чья экспрессия оставалась на уровне контроля. Индукция боли при активации данной металлопротеиназы также отмечалась ранее в исследованиях *in vitro* и на животных моделях [7, с. 336; 8, с. 331; 9, с. 1935; 10, с. 563]. Более того, боль при высокой экспрессии MMP9 может усиливаться за счет способности этого фермента блокировать действие анальгетиков, поскольку сообщалось о вкладе MMP9 в развитие толерантности к морфину [11, с. 86].

Кроме того, пониженная экспрессия гена mTOR, вероятно связанная с повышенной экспрессией его ингибитора AMPK, может также обуславливать сильную боль у данной группы больных, поскольку ранее сообщалось об усилении боли при ингибировании экспрессии mTOR [12, с. 1080].

В подгруппе амбулаторных больных ОА с ВЭ гена mTOR боль может быть связана с деструктивными процессами ввиду высокой экспрессии генов протеаз катепсина К и MMP9. Боль может усиливаться и за счет высокой активности воспаления, которая определяется увеличением экспрессии IL-1 β , COX2, и ассоциируется с более частыми случаями синовита у больных этой подгруппы [5, с. 461486; 6, с. 27]. Неовакуляризация, обусловленная высокой экспрессией VEGF, также может приводить к усилению боли, поскольку образование новых сосудов сопровождается формированием сенсорных нейронов [13, с. 390]. Кроме того, появление боли у этих пациентов может способствовать ВЭ гена mTOR, что также связывают с формированием боли [3, с. 64; 4, с. 21].

Однако у больных с ВЭ гена mTOR отмечена также высокая экспрессия генов TIMP1 и AMPK, ингибирующих активность генов MMP9 и mTOR, соответственно. В этой связи отмечалось, что подавление экспрессии mTOR посредством AMPK приводило к уменьшению боли [14, с. 9]. Это может быть причиной того, что несмотря на синовит и высокие уровни экспрессии генов, связанных с деструктивными процессами, больные подгруппы больных ОА с ВЭ гена mTOR испытывают менее интенсивную боль.

Особое значение для них может также иметь высокая экспрессия гена TGF β 1. Хотя по данным некоторых исследований на хондроцитах животных и человека *in vitro* [15, с. 478], TGF β 1 может участвовать в активации фактора роста нервов (NGF) и усиливать боль, другие исследования, напротив, связывают повышенную экспрессию TGF β 1 с подавлением боли, ассоциированным с

усилением процессов регенерации ткани [16, с. 76; 17, с. 16; 18, с. 30; 19, с. 1502]. При этом ранее отмечалась отрицательная корреляция между уровнями TGF β 1 и рентгенологической стадией ОА [20, с. 1047]. VEGF также может участвовать в регенерации тканей сустава [21, с. 1763]. Это может объяснять несколько большее число пациентов с рентгенологической стадией II в группе с ВЭ гена mTOR по сравнению с подгруппой, имевшей НЭ гена mTOR. Вероятно, смещение равновесия от деструкции к регенерации может способствовать уменьшению боли при ОА. Экспрессия всех исследованных генов, связанных с процессами регенерации при ВЭ гена mTOR, оказалась значительно выше, чем у здоровых лиц.

Заключение. Разные уровни боли у больных ОА с разными уровнями экспрессии гена mTOR могут быть связаны с соотношением экспрессии генов MMP9 и TIMP1, избыточной или недостаточной активностью гена mTOR, а также с экспрессией факторов роста TGF β 1 и VEGF, участвующих в процессах регенерации тканей.

Работа осуществлена при финансовой поддержке РФФИ (проект №12-04-00038а).

ЛИТЕРАТУРА

1. Tchetina E.V. Genetic mechanisms of cartilage degradation in the development and osteoarthritis / E.V. Tchetina, L.A. Semyonova.- In: Protein Purification and Analysis III - Methods and applications; Edited by iConcept Press; ISBN 978-1-922227-65-2; iConcept Press Ltd., 2014.- 117 с.
2. The impact of osteoarthritis: implications for research / J.A. Buckwalter [et al].- Clin Orthop Relat Res.- 2004,- 427 Suppl.- S6 p.
3. The mTOR signaling pathway regulates pain-related synaptic plasticity in rat entorhinal-hippocampal pathways / D. Lyu [et al].- Mol Pain.- 2013.- 9.- 64 p.
4. Activation of mammalian target of rapamycin contributes to pain nociception induced in rats by BmK I, a sodium channel-specific modulator / F. Jiang [et al].- Neurosci Bull.- 2014.- 30.- 21 p.
5. Differences in mTOR (mammalian target of rapamycin) gene expression in the peripheral blood and articular cartilages of osteoarthritic patients and disease activity / E.V. Tchetina.- Arthritis.- 2013.- 2013.- 461486 p.
6. Прогнозирование течения остеоартроза по экспрессии гена mTOR (mammalian target of rapamycin) / Е.В. Четина [и др].- Научно-практическая ревматология.- 2012.- №1.-27 с.
7. Matrix metalloprotease regulation of neuropathic pain / R.R. Ji [et al].- Trends Pharmacol Sci.- 2009.-30.- 336 p.
8. Distinct roles of matrix metalloproteases in the early- and late-phase development of neuropathic pain / Y. Kawasaki.- Nat Med.- 2008.-14.- 331 p.
9. Neuroprotective effects of overexpressing tissue inhibitor of metalloproteinase TIMP-1 / E. Tejima [et al].- J Neurotrauma.- 2009.- 26.- 1935 p.

10. Osteochondral angiogenesis and increased protease inhibitor expression in OA. / R.E. Franses [et al.].- Osteoarthritis Cartilage.- 2010.- 18.- 563 p.
11. Involvement of matrix metalloproteinase-9 in the development of morphine tolerance / K. Nakamoto [et al.].- Eur J Pharmacol.- 2012.- 683.- 86 p.
12. mTORC1 inhibition induces pain via IRS-1-dependent feedback activation of ERK / O.K. Melemedjian [et al.].- Pain.- 2013.- 154.- 1080 p.
13. Mapp P.I. Mechanisms and targets of angiogenesis and nerve growth in osteoarthritis / P.I. Mapp, D.A. Walsh.- Nat Rev Rheumatol.- 2012.- 8.- 390 p.
14. Price T.J. AMPK: An emerging target for modification of injury-induced pain plasticity / T.J. Price, G. Dussor.- Neurosci Lett.- 2013.- 557.- Pt A.- 9 p.
15. TGF- β is a potent inducer of Nerve Growth Factor in articular cartilage via the ALK5-Smad2/3 pathway. Potential role in OA related pain? / E.N. Blanley Davidson [et al.].- Osteoarthritis Cartilage.- 2015.- 23.- 478 p.
16. Transforming growth factor- β in normal nociceptive processing and pathological pain models / A. Lantero [et al.].- Mol Neurobiol.- 2012.-45.- 76 p.
17. Transforming growth factor- β 1 impairs neuropathic pain through pleiotropic effects. / S. Echeverry [et al.].- Mol Pain.- 2009.- 5.- 16 p.
18. Management of Osteoarthritis with Avocado/Soybean Unsaponifiables / B.A. Christiansen [et al.].- Cartilage.- 2015.- 6.- 30 p.
19. BAMBI (bone morphogenetic protein and activin membrane-bound inhibitor) reveals the involvement of the transforming growth factor- β family in pain modulation / M. Tramullas [et al.].- J Neurosci.- 2010.- 30.- 1502 p.
20. Effect of an exercise and dietary intervention on serum biomarkers in overweight and obese adults with osteoarthritis of the knee / S.D. Chua [et al.].- Osteoarthritis Cartilage.- 2008.-16.- 1047 p.
21. Tissue repair driven by two different mechanisms of growth factor plasmids VEGF and NGF in mice auricular cartilage: regeneration mediated by administering growth factor plasmids / K. Kolostova [et al.]. - Eur Arch Otorhinolaryngol.- 2012.- 269.- 1763 p.

ASSOCIATION OF PAIN SYNDROME WITH GENE EXPRESSION LEVEL IN THE BLOOD OF OSTEOARTHRITIS PATIENTS

Tchetina E.V., Markova G.A., Taskina E.A., Sharapova E.P., Kashevarova N.G., Alekseyeva L.I., Makarov S.A.

V.A.Nasonova Scientific and Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russian Federation

The mechanisms responsible for pain sensitivity have been studied in osteoarthritic (OA) patients demonstrating different levels of mTOR gene expression in the peripheral blood and at different stages of the disease based on the analysis of gene expression profiles involved in articular cartilage destruction, inflammation and metabolism regulation. Variability in pain sensitivity in OA patients could be associated with MMP9 and TIMP1 gene expression ratio, excessive or insufficient mTOR gene expression as well as with expression levels of TGF β 1 and VEGF regulatory growth factors involved in tissue regeneration.

Keywords: osteoarthritis, pain, gene expression, peripheral blood, mTOR, MMP9, TIMP1.