

Экспрессия генов каспазы 3, матриксной металлопротеиназы 9, тканевого ингибитора металлопротеиназ 1, катепсинов S и K у больных остеоартритом, нуждающихся в эндопротезировании крупных суставов

Четина Е.В., Глемба К.Е., Маркова Г.А., Макаров С.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва
Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А

Остеоартрит (ОА) — хроническое ревматическое заболевание, которое характеризуется болью и разрушением ткани сустава. Боль при ОА является основным клиническим симптомом, ограничивающим трудоспособность, и одним из показаний к эндопротезированию сустава. Однако у 10–40% больных ОА болевые ощущения сохраняются и после операции.

Цель исследования — на основании ретроспективного анализа относительной экспрессии генов в крови перед операцией разработать метод поиска биомаркеров для прогнозирования динамики боли в послеоперационном периоде и определения целесообразности проведения эндопротезирования.

Пациенты и методы. Исследована кровь 53 больных ОА (средний возраст 56,5±8,9 года) перед эндопротезированием коленного сустава и 26 здоровых доноров (средний возраст 55±8,3 года). Общую РНК выделяли из крови и после обратной транскрипции в комплементарную ДНК использовали для определения уровня относительной экспрессии генов в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты и обсуждение. Ретроспективный анализ экспрессии генов, ассоциированных с центральной сенситизацией, у 53 больных ОА перед эндопротезированием показал, что данные об экспрессии фактора некроза опухоли α, интерлейкина 1β, циклооксигеназы 2 и трансформирующего фактора роста β1 неинформативны в связи с их высокой экспрессией в крови у всех пациентов. Высокая экспрессия гена катепсина S (у 17% больных), гена катепсина K (у 21%), а также низкая экспрессия гена тканевого ингибитора металлопротеиназ 1 (у 31%) могут указывать на возможное сохранение боли после операции. Напротив, при низкой экспрессии гена каспазы 3 (у 43% больных) и гена матриксной металлопротеиназы 9 (у 23%) можно ожидать отсутствия боли после эндопротезирования.

Заключение. Анализ экспрессии генов в крови больных ОА перед эндопротезированием представляется перспективным подходом для прогнозирования динамики боли после хирургического лечения.

Ключевые слова: остеоартрит; боль; экспрессия генов; периферическая кровь; прогнозирование результата эндопротезирования.

Контакты: Елена Васильевна Четина; etchetina@mail.ru

Для ссылки: Четина ЕВ, Глемба КЕ, Маркова ГА, Макаров СА. Экспрессия генов каспазы 3, матриксной металлопротеиназы 9, тканевого ингибитора металлопротеиназ 1, катепсинов S и K у больных остеоартритом, нуждающихся в эндопротезировании крупных суставов. Современная ревматология. 2020;14(2):52–56. DOI: 10.14412/1996-7012-2020-2-52-56

The gene expression of caspase 3, matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinases-1, and cathepsins S and K in patients with osteoarthritis requiring large joint replacement

Chetina E.V., Glemba K.E., Markova G.A., Makarov S.A.

*V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow
34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia*

Osteoarthritis (OA) is a chronic rheumatic disease that is characterized by pain and articular cartilage degradation. Pain in OA is a main clinical symptom that limits working capacity and is one of the indications for joint replacement. However, 10–40% of patients with OA also continue to experience painful sensations after surgery.

Objective: to develop a method for searching for biomarkers to predict the dynamics of pain in the postoperative period and to determine the feasibility of arthroplasty on the basis of a retrospective analysis of relative blood gene expression prior to surgery.

Patients and methods. The investigators tested the blood taken from 53 OA patients (mean age, 56.5±8.9 years) before knee arthroplasty and from 26 healthy donors (mean age, 55±8.3 years). Total RNA was isolated from blood and after reverse transcription into complementary DNA was used to measure the level of relative gene expression in real-time polymerase chain reaction.

Results and discussion. A retrospective analysis of the expression of genes associated with central sensitization in 53 patients with OA before arthroplasty showed that the data on the expression of tumor necrosis factor- α , interleukin- β , cyclooxygenase-2, and transforming growth factor β 1 were uninformative due to their high blood expression in all the patients. The high gene expression of cathepsin S (in 17% of the patients) and cathepsin K (in 21%) and the low gene expression of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 (TIMP-1) (in 31%) may indicate that postoperative pain can be persistent. In contrast, no post-arthroplasty pain can be expected in 43% OA patients with low caspase 3 expression and in 23% of those with low MMP-9 one.

Conclusion. Analysis of pre-arthroplasty blood gene expression in patients with OA seems to be a promising approach to predicting the dynamics of pain after surgical treatment.

Keywords: osteoarthritis; pain; gene expression; peripheral blood; prediction of arthroplasty outcome.

Contact: Elena Vasilyevna Chetina; etchetina@mail.ru

For reference: Chetina EV, Glemba KE, Markova GA, Makarov SA. The gene expression of caspase 3, matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinases-1, and cathepsins S and K in patients with osteoarthritis requiring large joint replacement. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2020;14(2):52–56. DOI: 10/14412/1996-7012-2020-2-52-56

Остеоартрит (ОА) – хроническое ревматическое заболевание, которое характеризуется болью и разрушением ткани сустава. Боль при ОА является основным клиническим симптомом, ограничивающим трудоспособность. Поскольку в настоящее время не существует модифицирующих заболевание лекарственных препаратов для терапии ОА, в его лечении широко применяются нестероидные противовоспалительные препараты, а на поздней стадии заболевания сильная боль является одним из важных показаний для эндопротезирования. Эндопротезирование коленного сустава – наиболее распространенный вариант хирургического лечения суставов. Число таких операций ежегодно растет и к 2030 г. может увеличиться в 7 раз [1]. Между тем у 10–40% больных болевые ощущения сохраняются и после эндопротезирования коленного сустава [2]. Понимание факторов, которые влияют на исходы оперативного лечения, будет способствовать более правильному подбору пациентов для эндопротезирования [3].

При ОА боль классифицируется как: 1) ноцицептивная, которая возникает при повреждении и/или воспалении тканей сустава вследствие активации тканевых ноцицепторов и имеет защитную функцию, и/или 2) невропатическая, которая обусловлена повреждением или дисфункцией нервной системы и включает нарушения периферических и центральных механизмов сенситизации [4, 5]. Периферическая сенситизация сопровождается снижением пороговых значений и повышением чувствительности ноцицепторов [6]. Центральная сенситизация характеризуется избыточным ответом центральных нейронов на сигналы рецепторов, а также измененной передачей сигнала от сенсорных нейронов, нарушением функции нисходящих антиноцицепторов, повышенной активностью усиливающих боль путей, временной суммацией (wind-up) и долговременным потенцированием нейронных синапсов в коре головного мозга [7].

Исследования последних лет показали превалирование центральной сенситизации у 30% больных ОА, в том числе на поздних стадиях заболевания [8]. Вероятно, это является причиной сохранения боли после эндопротезирования. В связи с высокой стоимостью хирургического лечения существует необходимость в прогнозировании его результатов.

Предикторами постоперационной хронической боли служат женский пол, высокий индекс массы тела, ожирение, более высокий уровень боли до операции и применение опиоидов или антидепрессантов до операции [9–11]. Кроме того, в качестве предикторов сохранения боли пред-

лагается использовать методы временной суммации (wind-up) или условной модуляции боли [12–15].

Недавние исследования механизмов центральной сенситизации выявили ряд молекулярных маркеров, ассоциированных с болью, включая некоторые цитокины, хемокины, транспортеры кальция или глутамата, каспазы и протеазы [16]. В частности, повышенный сывороточный уровень СРБ коррелировал с концентрацией интерлейкина (ИЛ) 6 в синовиальной жидкости и интенсивностью боли у пациентов с ОА [17]. Это позволяет предположить перспективность использования некоторых из этих маркеров в качестве предикторов сохранения боли после операции.

Действительно, высокие концентрации фактора некроза опухолей (ФНО) α , матриксной металлопротеиназы (ММП) 13 и ИЛ6 в синовиальной жидкости оказались независимыми предикторами сохранения боли через 2 года после эндопротезирования [18].

Кроме того, показано, что катепсин S вносит вклад в поддержание невропатической боли путем расщепления трансмембранного хемокина на поверхности нейронов [19, 20]. Каспаза 6 способна регулировать сигнальный путь нейрон – микроглия и центральную сенситизацию [21]. ММП9 необходима для индукции невропатической боли, а ММП2 – для ее длительного поддержания [22]. При этом показано, что ММП9 может преодолевать гематоэнцефалический барьер. В то же время хроническую пониженную экспрессию тканевого ингибитора металлопротеиназ (ТИМП) в астроцитах связывают с развитием хронического невровоспаления и гипералгезии [23]. Немаловажно, что все эти гены экспрессируются как в клетках нервной ткани, так и в крови, причем уровни экспрессии катепсинов S и K коррелируют в крови и суставном хряще больных ОА [24], что дает основания надеяться на корреляцию их экспрессии в крови и клетках нервной ткани.

Цель настоящего проекта – разработать метод поиска биомаркеров для прогнозирования динамики боли после эндопротезирования и целесообразности его проведения на основании ретроспективного анализа относительной экспрессии генов в крови перед операциями.

Пациенты и методы. Пациенты. Исследована кровь 53 больных ОА (средний возраст $56,5 \pm 8,9$ года) перед эндопротезированием коленного сустава. Все больные имели III или IV рентгенологическую стадию ОА по Kellgren и Lawtence, испытывали сильную боль и страдали хромотой. Диагноз ОА устанавливали согласно классификационным критериям ACR (American College of Rheumatology) [25]. Протокол исследова-

ния одобрен локальным этическим комитетом, информированное согласие получено от всех больных.

Контрольную группу составили 26 произвольно набранных доноров крови (средний возраст $55 \pm 8,3$ года) без ревматических заболеваний и отягощенной наследственности, сопоставимых по полу и возрасту с группой больных.

Молекулярно-биологические методы. Общую РНК выделяли из цельной крови, используя коммерческий набор РИБО-золь-А («ИнтерЛабСервис», Москва). Обратнo-транскриптазную реакцию проводили с использованием коммерческого набора «Реверта» («ИнтерЛабСервис», Москва). Относительную экспрессию генов определяли с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с применением прибора модели 7300 Applied Biosystems и наборов для экспрессии генов (Applied Biosystems, США): каспазы 3 (Hs00263337_m1), ФНО α (Hs00174128_m1), ММП9 (Hs00234579_m1), катепсина К (Hs00166156_m1), трансформирующего фактора роста (ТФР) $\beta 1$ (Hs99999918_m1), ИЛ1 β (Hs00174097_m1), циклооксигеназы (ЦОГ) 2 (Hs00153133_m1), катепсина S (Hs00175407_m1), ТИМП1 (Hs00171558_m1), как описано ранее [26]. β -Актин использовали в качестве эндогенного контроля.

Результаты. Предварительный ретроспективный прогностический анализ основан на наших предыдущих наблюдениях, выявивших, что у 30–40% больных ОА боль сохраняется после операции. В связи с этим у некоторых пациентов послеоперационная боль может быть связана с повышенной по сравнению со здоровыми лицами экспрессией предполагаемых маркерных генов, которую можно оценить перед эндопротезированием. Те гены, экспрессия которых повышена у 30–40% больных, могут предположительно считаться кандидатами в прогностические маркеры.

Ретроспективный анализ экспрессии генов, ассоциированных с центральной сенситизацией, у 53 больных ОА перед эндопротезированием показал, что данные об экспрессии генов ФНО α , ИЛ1 β , ЦОГ2, ТРФ $\beta 1$ неинформативны в связи с их высокой экспрессией в крови у всех пациентов.

Напротив, экспрессия гена катепсина S оказалась высокой у 17% больных ОА, а катепсина К – у 21% (рис. 1). В то же время экспрессия гена ТИМП1 была низкой у 31% больных ОА (см. рис. 1), каспазы 3 – у 43%, а ММП9 – у 23% (рис. 2).

Продемонстрировать работу метода можно на примере анализа экспрессии генов у отдельных больных ОА перед эндопротезированием. Анализ относительной экспрессии комбинаций генов ТИМП1 и ММП9 показал, что у больных №1 и №4, в отличие от больных №2 и №3, экспрессия ТИМП1 выше, чем ММП9, по сравнению со здоровыми лицами (см. таблицу). Экспрессия генов катепсина S и К у больных №5 и №8 выше, а у больных №6 и №7 ниже, чем у здоровых лиц. Кроме того, экспрессия генов ТИМП1, ММП9 и каспазы 3 у больного №10 превышала уровень контроля, а у больных №9 и №11 практически не отличалась от контроля (за исключением ТИМП1 у больного №11).



Рис. 1. Соотношение числа больных с высокой относительной экспрессией генов катепсина S и К (черный сегмент) и низкой экспрессией гена ТИМП1 (черный сегмент) в крови у больных ОА перед эндопротезированием

Fig. 1. The ratio of the number of patients with high relative cathepsin S and K gene expressions (black segment) to that of those with low TIMP1 gene expression (black segment) in the blood of patients with OA before arthroplasty

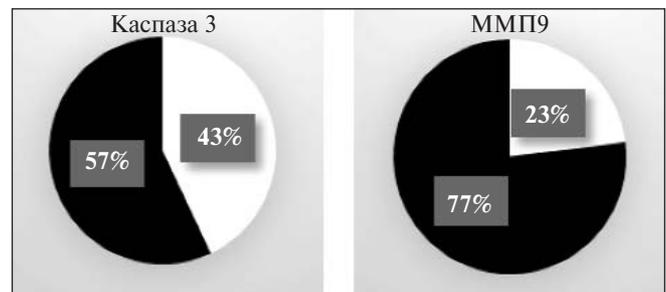


Рис. 2. Соотношение числа больных с низкой относительной экспрессией генов каспазы 3 (белый сегмент) и ММП9 (белый сегмент) в крови у больных ОА перед эндопротезированием

Fig. 2. The ratio of the number of patients with low relative caspase 3 (white segment) and TIMP-9 (white segment) gene expressions in the blood of patients with OA before arthroplasty

Относительная экспрессия генов в крови у больных ОА перед эндопротезированием по сравнению со здоровыми лицами (n=26)
Relative blood gene expression in patients with OA before arthroplasty compared to healthy individuals (n = 26)

Больные ОА	Относительная экспрессия генов контроль		
	ТИМП1	ММП9	
№1	10,14	4,70	
№2	0,78	0,93	
№3	2,05	2,93	
№4	3,76	1,19	
		Катепсин К	Катепсин S
№5	4,26	4,54	
№6	0,70	0,84	
№7	0,28	0,63	
№8	2,30	1,36	
		ТИМП1	ММП9
№9	1	0,78	0,93
№10	1	36,06	24,79
№11	1	2,29	1,40
			Каспаза 3
№9	1		1,05
№10	1		38,91
№11	1		0,69

Обсуждение. Несмотря на технологический прогресс в эндопротезировании, сохранение боли после операции является проблемой как для пациента, так и для врачей. Существенное улучшение функции сустава и уменьшение боли, которые отмечаются на ранних сроках после операции, не у всех больных сохраняются в отдаленном периоде. При этом, хотя целью эндопротезирования является освобождение от боли и улучшение функции, факторы, определяющие отдаленные результаты эндопротезирования при ОА, а также индивидуальное восприятие боли и ее интенсивность после операции, пока не изучены [27]. Это может быть обусловлено тем, что боль является субъективным ощущением и включает физиологические, когнитивные и эмоциональные компоненты.

Тем не менее основанием для поиска предикторов сохранения боли после операции в крови больных ОА до операции среди генов, контролирующих метаболизм, могут служить сообщения о различных метаболических нарушениях, обусловленных болью и связанных с ожирением, воспалением, наличием коморбидностей, а также поражением других суставов [3, 28]. Кроме того, исследование персистирующей боли в экспериментах на животных показало, что химические или воспалительные стимулы могут изменять экспрессию белков на клеточном уровне, влияя на фенотип и функцию периферических и центральных ноцицептивных нейронов и глиальных клеток [29, 30]. Поэтому степень нарушения данных метаболических процессов можно оценить по изменению экспрессии генов.

Несмотря на отмеченную ранее роль провоспалительных цитокинов как прогностических маркеров сохранения боли после операции [17, 18], наши исследования показали, что они неинформативны, поскольку их экспрессия повышена в крови у всех больных ОА перед операцией. Данные литературы, свидетельствующие о прогностической роли изученных в данной работе генетических маркеров, отсутствуют.

Поскольку повышенная экспрессия протеаз и каспаз ассоциируется с центральной сенситизацией, высокая экспрессия генов катепсина S (у 17% больных), катепсина K (у 21%), а также низкая экспрессия гена ТИМП1 (у 31%) может указывать на возможное сохранение боли после операции у этих пациентов. Напротив, у 43% больных ОА с низкой экспрессией гена каспазы 3 и у 23% больных ОА с

низкой экспрессией гена ММП9 можно ожидать отсутствие боли после эндопротезирования.

Более детальное представление о взаимовлиянии генов позволяет получить анализ экспрессии генов ММП9 и ТИМП1. При этом, поскольку экспрессия гена ТИМП1 превышает экспрессию протеиназы, можно предположить, что больные №1 и №4 не будут испытывать боль после операции. У больного №2 послеоперационная боль тоже маловероятна, так как у него экспрессия этих генов ниже уровня их экспрессии у здоровых лиц. Напротив, у больного №3 можно предполагать сохранение боли после операции ввиду того, что экспрессия гена ММП9 у него превышает экспрессию гена ТИМП1.

Кроме того, экспрессия генов катепсина S и K либо повышена (у больных №5 и №8), либо ниже уровня контроля (больные №2 и №3). Поэтому сохранение боли после операции, скорее всего, будет наблюдаться только у больных №5 и №8. Если сравнить экспрессию генов каспазы 3, ММП9 и ТИМП1, то можно полагать, что больной №9, скорее всего, не будет испытывать боль вследствие низкой экспрессии этих трех генов, как и больной №11, у которого наблюдались превышение экспрессии гена ТИМП1 по сравнению с контролем и низкая экспрессия генов ММП9 и каспазы 3. У больного №10 экспрессия исследованных генов оказалась повышена. У него можно ожидать развитие боли. Это объясняется тем, что, хотя экспрессия гена ТИМП1 у этого больного превышает таковую гена ММП9, у него имеется также высокая экспрессия гена каспазы 3.

Предлагаемый метод является недорогим и технически простым. Однако, поскольку нами проведено ретроспективное исследование, предлагаемый метод необходимо опробовать в реальной клинической практике не только в плане подтверждения прогностической эффективности предлагаемых молекулярных маркеров, но и путем расширения набора исследуемых генов, экспрессия которых связана с болью.

Заключение. Таким образом, на основании наших исследований предложен метод поиска биомаркеров для прогнозирования динамики боли после операции и целесообразности проведения эндопротезирования. В то же время идентификация пациентов с высоким риском сохранения боли после операции потребует улучшения качества медикаментозной терапии этих больных ОА без хирургического вмешательства.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Филатова ЕС, Туровская ЕФ, Алексеева ЛИ и др. Анализ патогенетических механизмов хронической суставной боли у больных ревматоидным артритом и остеоартрозом коленных суставов. Научно-практическая ревматология. 2014;52(6):631-5. [Filatova ES, Turovskaya EF, Alekseeva LI, et al. Analysis of the pathogenetic mechanisms of chronic joint pain in patients with rheumatoid arthritis and knee osteoarthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2014;52(6):631-5. (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2014-631-635
2. Туровская ЕФ, Алексеева ЛИ, Филатова ЕГ. Механизмы хронической боли при остеоартрозе коленного сустава. Научно-практическая ревматология. 2014;52(5):526-9. [Turovskaya EF, Alekseeva LI, Filatova EG. Mechanisms of chronic pain at osteoarthritis of the knee. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2014;52(5):526-9. (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2014-526-529
3. Hilton ME, Gioe T, Noorbaloochi S, Singh JA. Increasing comorbidity is associated with worsening physical function and pain after primary total knee arthroplasty. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016 Oct 7;17(1):421.
4. Kidd BL, Urban LA. Mechanisms of inflammatory pain. *Br J Anaesth*. 2001 Jul; 87(1):3-11.
5. Treede RD, Jensen TS, Campbell JN, et al. Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology*. 2008 Apr 29;70(18):1630-5. Epub 2007 Nov 14.
6. Campbell JN, Meyer RA. Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron*. 2006 Oct 5;52(1): 77-92.
7. Nijs J, Van Houdenhove B, Oostendorp RA. Recognition of central sensitization in patients with musculoskeletal pain: Application of pain neurophysiology in man-

- ual therapy practice. *Man Ther.* 2010 Apr;15(2): 135-41. doi: 10.1016/j.math.2009.12.001. Epub 2009 Dec 24.
8. Akinci A, Al Shaker M, Chang MH, et al. Predictive factors and clinical biomarkers for treatment in patients with chronic pain caused by osteoarthritis with a central sensitization component. *Int J Clin Pract.* 2016 Jan;70(1):31-44. doi: 10.1111/ijcp.12749. Epub 2015 Nov 11.
9. Liu SS, Buvanendran A, Rathmell JP, et al. Predictors for moderate to severe acute post-operative pain after total hip and knee replacement. *Int Orthop.* 2012 Nov;36(11): 2261-7. doi: 10.1007/s00264-012-1623-5. Epub 2012 Jul 29.
10. Judge A, Arden NK, Cooper C, et al. Predictors of outcomes of total knee replacement surgery. *Rheumatology (Oxford).* 2012 Oct;51(10):1804-13. Epub 2012 Apr 24.
11. Wylde V, Dixon S, Blom AW. The role of preoperative self-efficacy in predicting outcome after total knee replacement. *Musculoskeletal Care.* 2012 Jun;10(2):110-8. doi: 10.1002/msc.1008. Epub 2012 Feb 24.
12. Petersen KK, Arendt-Nielsen L, Simonsen O, et al. Presurgical assessment of temporal summation of pain predicts the development of chronic postoperative pain 12 months after total knee replacement. *Pain.* 2015 Jan;156(1):55-61. doi: 10.1016/j.pain.0000000000000022
13. Granot M, Lowenstein L, Yarnitsky D, et al. Postcesarean section pain prediction by preoperative experimental pain assessment. *Anesthesiology.* 2003 Jun;98(6):1422-6.
14. Edwards RR, Mensing G, Cahalan C, et al. Alteration in pain modulation in women with persistent pain after lumpectomy: influence of catastrophizing. *J Pain Symptom Manage.* 2013 Jul;46(1):30-42. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2012.06.016. Epub 2012 Oct 25.
15. Yarnitsky D, Crispel Y, Eisenberg E, et al. Prediction of chronic post-operative pain: preoperative DNIC testing identifies patients at risk. *Pain.* 2008 Aug 15;138(1):22-8. Epub 2008 Jan 8.
16. Ji RR, Xu ZZ, Gao YJ. Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain. *Nat Rev Drug Discov.* 2014 Jul;13(7):533-48. doi: 10.1038/nrd4334. Epub 2014 Jun 20.
17. 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. Epub 2006 Dec 5.
18. Gandhari 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.
19. Clark AK, Yip PK, Grist J, 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. Epub 2007 Jun 5.
20. Clark AK, Yip PK, Malcangio M. The liberation of fractalkine in the dorsal horn requires microglial cathepsin S. *J Neurosci.* 2009 May 27;29(21):6945-54. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0828-09.2009
21. 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/JCI72230. Epub 2014 Feb 17.
22. 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.
23. 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.
24. Четина ЕВ, Маркова ГА, Таскина ЕА и др. Молекулярные механизмы регуляции боли у больных остеоартрозом. *Научно-практическая ревматология.* 2016;54(4): 424-31.
- [Chetina EV, Markova GA, Taskina EA, et al. Molecular mechanisms of pain regulation in patients with osteoarthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2016;54(4):424-31. (In Russ.]. doi: 10.14412/1995-4484-2016-424-431
25. Altman R, Asch E, Bloch D. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum.* 1986 Aug;29(8):1039-49.
26. Tchetaeva EV, Poole AR, Zaitseva EM, et al. Differences in mTOR (mammalian target of rapamycin) gene expression in the peripheral blood and articular cartilages of osteoarthritic patients and disease activity. *Arthritis.* 2013;2013:461486. doi: 10.1155/2013/461486. Epub 2013 Jun 25.
27. National Institutes of Health. NIH Consensus Statement on total knee replacement. *NIH Consensus State Sci Statements.* 2003;20:1-32.
28. Hawker GA, Badley EM, Borkhoff CM, et al. Which patients are most likely to benefit from total joint arthroplasty? *Arthritis Rheum.* 2013 May;65(5):1243-52. doi: 10.1002/art.37901
29. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell.* 2009 Oct 16;139(2):267-84. doi: 10.1016/j.cell.2009.09.028
30. Woolf CJ. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain.* 2011 Mar;152(3 Suppl):S2-15. doi: 10.1016/j.pain.2010.09.030. Epub 2010 Oct 18.

Поступила/отрецензирована/принята к печати

Received/Reviewed/Accepted

29.12.2019/5.02.2020/12.02.2020

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №12-04-00038а). 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 investigation has been supported by the Russian Foundation for Basic Research (Projects No. 12-04-00038a). The investigation has not been sponsored. 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>