

## Стандартизированные формы хондроитина сульфата как патогенетическое средство лечения остеоартрита в контексте постгеномных исследований

Громова О.А.<sup>1,2</sup>, Торшин И.Ю.<sup>1,2</sup>, Ли́ла А.М.<sup>3,4</sup>, Алексе́ева Л.И.<sup>3,4</sup>, Таскина Е.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт фармакоинформатики Федерального исследовательского центра «Информатика и управление» Российской академии наук, Москва; <sup>2</sup>Центр хранения и анализа больших данных Национального центра цифровой экономики ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва; <sup>3</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва; <sup>4</sup>кафедра ревматологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

<sup>1</sup>Россия, 119333, Москва, ул. Вавилова, 44, корп. 2; <sup>2</sup>Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, 1;

<sup>3</sup>Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А; <sup>4</sup>Россия, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Систематический анализ 37 постгеномных исследований остеоартрита – ОА (геномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика) позволил выделить 483 гена и соответствующих белка, нарушение уровней и активности которых участвует в патогенезе заболевания. Эти белки могут быть условно подразделены на три группы: 1) структурные белки соединительной ткани (СТ); 2) белки, поддерживающие активность ростовых факторов СТ; 3) белки, способствующие ремоделированию и деградации СТ, а также белки, связанные с регуляцией воспаления (клеточный ответ на фактор некроза опухоли  $\alpha$ , интерлейкин 1, бактериальные липополисахариды, активация NF- $\kappa$ B и др.). Важно отметить эпигенетические эффекты (гипометилирование ДНК), связанные с патогенезом ОА, что указывает на необходимость использования витаминов группы В в его терапии. Хондропротекторы (симптоматические препараты замедленного действия) – хондроитина сульфат (ХС) и глюкозамина сульфат (ГС), – помимо уменьшения воспаления через ингибирование NF- $\kappa$ B и рецепторов липополисахаридов (толл-рецепторы), также способствуют повышению экспрессии генов структурных белков СТ, ростовых факторов СТ и модулируют активность белков ремоделирования и деградации СТ. Эти эффекты ХС/ГС позволили описать комплексные механизмы патогенетического действия ХС/ГС при терапии ОА.

**Ключевые слова:** постгеномные технологии; персонализированная медицина; стандартизированные формы хондропротекторов; хондроитина сульфат; Хондрогард; глюкозамина сульфат.

**Контакты:** Ольга Алексеевна Громова; [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com)

**Для ссылки:** Громова ОА, Торшин ИЮ, Ли́ла АМ и др. Стандартизированные формы хондроитина сульфата как патогенетическое средство лечения остеоартрита в контексте постгеномных исследований. Современная ревматология. 2021;15(1):136–143. DOI: 10.14412/1996-7012-2021-1-136-143

### Standardised Forms of Chondroitin Sulfate as a Pathogenetic Treatment of Osteoarthritis in the Context of Post-Genomic Studies

Gromova O.A.<sup>1,2</sup>, Torshin I. Yu.<sup>1,2</sup>, Lila A.M.<sup>3,4</sup>, Alekseeva L.I.<sup>3,4</sup>, Taskina E.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Federal Research Center «Informatics and Management», Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Big Data Storage and Analysis Center of the National Center for Digital Economy of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «M.V. Lomonosov Moscow State University», Moscow, Russia;

<sup>3</sup>V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia; <sup>4</sup>Department of Rheumatology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia.

<sup>1</sup>44, Vavilova str., Moscow 119333, Russia; <sup>2</sup>1, Leninskiye gory, Moscow 119234, Russia; <sup>3</sup>34A, Kashirskoe shosse, Moscow 115522, Russia; <sup>4</sup>2/1, Barrikadnaya St., Build. 1, Moscow 125993, Russia

A systematic analysis of 37 post-genomic osteoarthritis (OA) studies (genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics) allowed to isolate 483 genes and corresponding proteins, their levels and activity disturbances are involved in the pathogenesis of the disease. These proteins can be conditionally subdivided into three groups: 1) structural proteins of connective tissue (CT); 2) proteins that support the activity of CT growth factors; 3) proteins that promote CT remodeling and degradation, as well as proteins associated with the regulation of inflammation (cellular response to tumor necrosis factor  $\alpha$ , interleukin 1, bacterial lipopolysaccharides, NF- $\kappa$ B activation, etc.). It is important to note the epigenetic effects (DNA hypomethylation) associated with the pathogenesis of OA, which indicates the need for the use of vitamins group B in the therapy. Chondroprotectors (symptomatic slow-acting drugs) – chondroitin sulfate (CS) and glucosamine sulfate (GS), – in addition to reducing inflammation through inhibition of NF- $\kappa$ B and lipopolysaccharide receptors (Toll-receptors), also contribute to an increase in the expression of genes

for structural CT proteins, CT growth factors and modulate the activity of CT remodeling and degradation proteins. These effects of CS/GS allowed to describe the complex mechanisms of the pathogenetic action of CS/GS in the treatment of OA.

**Keywords:** post-genomic technologies; personalized medicine; standardised forms of chondroprotectors; chondroitin sulfate; Chondroguard; glucosamine sulfate.

**Contact:** Olga Alekseevna Gromova; unesco.gromova@gmail.com

**For reference:** Gromova OA, Torshin IYu, Lila AM, et al. Standardised Forms of Chondroitin Sulfate as a Pathogenetic Treatment of Osteoarthritis in the Context of Post-Genomic Studies. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2021;15(1):136–143.

**DOI:** 10.14412/1996-7012-2021-1-136-143

Остеоартрит (ОА) – самая распространенная патология опорно-двигательного аппарата в мире [1], включающая гетерогенную группу 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, околосуставных мышц (коды М15–М19 по МКБ-10).

Анализ молекулярных механизмов патогенеза ОА становится возможным благодаря развитию постгеномной медицины. Постгеномные технологии позволяют анализировать патогенез ОА, оценивать действие хондропротекторов на разных уровнях: *генома* (совокупность всех генов), *транскриптома* (совокупность всех РНК транскриптов генов), *протеома* (совокупность всех белков) и *метаболома* (совокупность всех метаболитов) человека. В контексте постгеномной медицины предполагается, что геномные, транскриптомные, протеомные и метаболомные данные будут востребованы при проведении персонализированной фармакотерапии у пациента с ОА [2].

Постгеномные исследования показали, что *метаболиты в синовиальной жидкости и крови* могут использоваться в качестве биомаркеров развития ОА, прогноза и ответа на терапию. Метаболомный состав синовиальной жидкости и крови является пациент-специфичным, что важно для персонализации терапии [3].

*Протеомный анализ синовиальной жидкости* позволил установить пять протеомных паттернов воспаления суставов при ОА. В частности, были обнаружены два пептидных пика, являющиеся перспективными диагностическими маркерами ОА. Эти пики существенно отличались у пациентов с умеренной стадией ОА (II–III) по сравнению с пациентами с ранними (0 и I) и поздней (IV) стадиями ОА. В результате разработана модель алгоритма диагностики ОА с точностью около 97% [4].

*Транскриптомные исследования* показали возможность дифференциальной молекулярной диагностики ревматоидного артрита (РА) и ОА на основании паттерна экспрессии транскриптома человека. По данным многоцентрового исследования, чувствительность прогнозирования РА составила 96%, а ОА – 86%. Выявлено, что патогенетически и терапевтически значимыми сигнальными путями для дифференциальной диагностики ОА являются путь интерферона  $\gamma$  (IFNG) и путь гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) [5].

Постгеномные технологии позволяют проводить комплексную оценку эффективности и безопасности различных лекарств, используемых для лечения ОА. В фармакотерапии пациентов с ОА важная роль принадлежит хондропротекторам – препаратам на основе стандартизированных субстанций хондроитина сульфата (ХС) и глюкозамина сульфата (ГС) [6].

Молекулы ХС/ГС не только являются своего рода «строительным материалом» хряща, но и проявляют ряд специфических фармакологических эффектов, в том числе противовоспалительный [7, 8].

В настоящем исследовании проведено сопоставление геномных, транскриптомных, протеомных отклонений, наблюдаемых при ОА, и влияния ХС и ГС на геном, транскриптом, протеом и метаболом.

### Систематический анализ постгеномных исследований

В базе данных PubMed было найдено 2293 исследования по запросу «osteoarthritis AND (genome OR transcriptome OR proteome OR metabolome)», которым соответствовали 1290 постгеномных исследований в базе данных GEO (Gene Express Omnibus).

С помощью новых алгоритмов топологического [9] и метрического анализа данных [10, 11] были отобраны 37 постгеномных исследований, относящихся к *геномике* (исследования эффектов генетических полиморфизмов), *транскриптомике* (изучение экспрессии генов и уровней РНК), *протеомике* (уровни белков протеома) и *метаболомике* (уровни метаболитов). Систематический компьютерный анализ текстов 37 постгеномных исследований ОА (геномика, транскриптомика, протеомика) позволил выделить 483 гена и соответствующих этим генам белков, нарушение уровней и активности которых играет роль в патогенезе ОА. Результаты фармакопротеомных исследований хондроцитов позволили установить 54 белка, уровни которых существенно изменяются под воздействием ХС/ГС.

Анализ ключевых слов показал, что постгеномные исследования ХС/ГС по сравнению с постгеномными исследованиями ОА характеризовались преобладанием ключевых слов, описывающих *синтез и ремоделирование соединительной ткани* (СТ): фибронектин, коллагеназа, митохондриальный метаболизм, секреция белков, коллаген  $\alpha_1$  (XII типа), тромбоспондин (THBS1), аннексин, матриксная металлопротеиназа (ММП) 1, инсулиноподобный фактор роста 1 (ИФР1, главный анаболический медиатор суставного хряща) и *противовоспалительное действие*: подавление синтеза интерлейкина (ИЛ) 1, сигнального пути NF- $\kappa$ B, простагландинов, хемокина с мотивом C-C, фактора TRAF6, связанного с рецептором фактора некроза опухолей  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ), рис. 1.

Дополнение анализа ключевых слов данными о функциональных категориях белков по номенклатуре Gene Ontology – GO (рис. 2) показало, что среди белков, вовлеченных в патогенез ОА и одновременно регулируемых экзогенными ХС/ГС, преобладают *белки внеклеточного матрикса СТ*, в том числе *белки метаболизма коллагена*, белки, участвующие в ремоделировании СТ (организация фибрилл коллагена, переработка внеклеточного матрикса, ММП, раны заживление, дифференцировка остеобластов, активация каскада ERK1/2, клеточный ответ на ретиноиды), а также

белки, вовлеченные в регуляцию воспаления (клеточный ответ на ФНО $\alpha$ , связывание цинка, связывание кальция, клеточный ответ на ИЛ1, клеточный ответ на липополисахариды, сигнальный путь хемокинов, миграция лейкоцитов, секреция ИЛ8, активация NF- $\kappa$ B).

Обобщение данных постгеномных исследований позволило выделить гены и белки, реализующие структурно-модифицирующие эффекты ХС и ГС в отношении хрящевой ткани у пациентов с ОА.

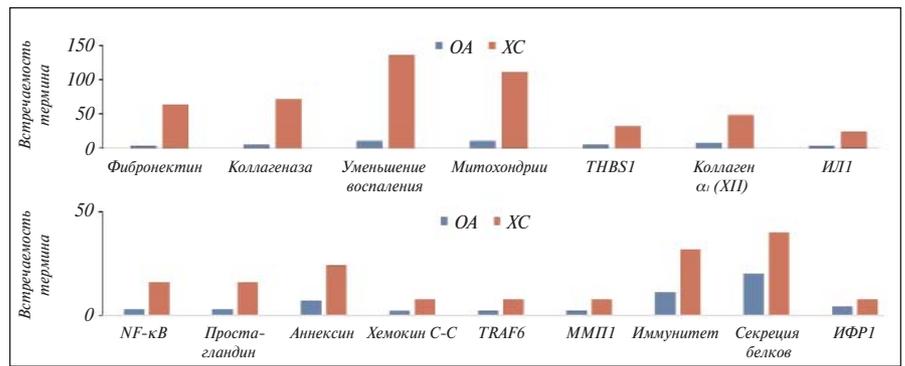
**Обобщение данных постгеномных исследований: гены и белки, реализующие хондротективные эффекты ХС и ГС**

Интегральный анализ данных 37 постгеномных исследований позволил выявить 36 белков и генов, которые вовлечены в патогенез ОА и одновременно регулируются экзогенными ХС/ГС (см. таблицу). Белки, представленные в таблице, могут быть условно подразделены на три группы: 1) структурные белки СТ; 2) белки, поддерживающие активность ростовых факторов СТ; 3) белки, способствующие ремоделированию и деградации СТ. Рассмотрим эффекты экзогенных ХС и ГС в отношении этих групп белков.

**ХС/ГС и структурные белки СТ**

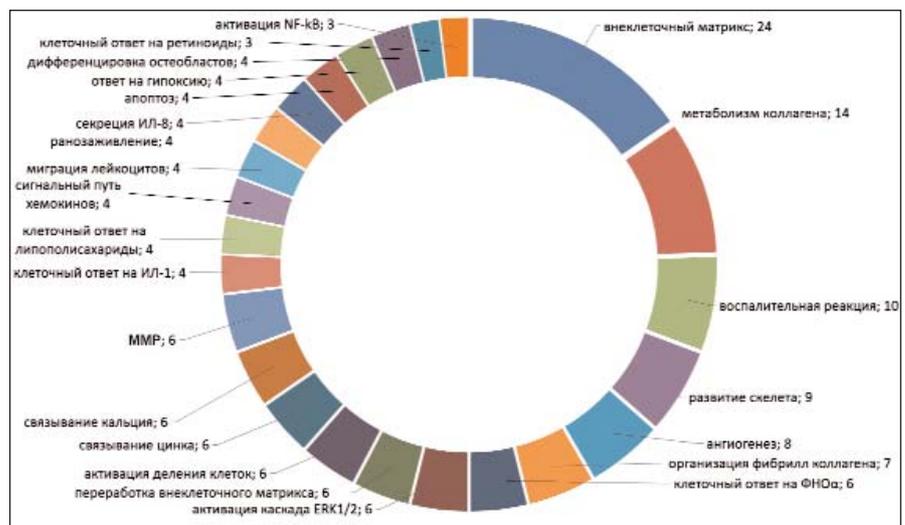
Данная группа белков наиболее обширна (16 из 36 белков, см. таблицу). Постгеномные фармакопротеомные исследования показали, что ХС/ГС повышают уровни всех этих 16 белков, что соответствует усилению синтеза структурных компонентов СТ хряща и, следовательно, устранению повреждений хряща.

К структурным белкам СТ относится прежде всего *коллаген различных типов* (COL1A1, COL2A1, COL1A2 и др., всего 9 белков). Ряд коллагенов образуют/стабилизируют жесткие коллагеновые фибриллы СТ (COL1A1, COL1A2, COL5A1, COL12A1, COL2A1, COL15A1), другие в большей мере вовлечены во взаимодействия с фибробластами/хондроцитами СТ (COL6A1, COL6A3, COL3A1). Так, COL2A1 (хондрокальцин) – коллаген хряща, который обеспечивает эластические свойства хряща. Коллаген COL5A ( $\alpha$ 1-V) не только образует фибриллы, но и активно связывается с гепарансульфатом, тромбоспондином, гепарином. Транскриптомное профилирование клеток пациентов с ОА позволило выявить гены-кандидаты, связанные с риском развития ОА [12], включая гены, участвующие в формировании костной ткани (CLEC3B, CDH11, GPNMB, CLEC3A, CHST11, MSX1, MSX2), и гены, кодирующие коллагены (COL13A1, COL14A1, COL15A1, COL8A2).



**Рис. 1.** Анализ ключевых слов, характерных для постгеномных исследований ХС/ГС, по сравнению с постгеномными исследованиями ОА. Встречаемость термина представлена в абсолютных единицах (число статей)

**Fig. 1.** Analysis of keywords, characteristic for post-genomic studies of CS/GS, compared to post-genomic studies of OA. The occurrence of the term is presented in absolute units (number of articles)



**Рис. 2.** Аннотация белков патогенеза ОА, регулируемых посредством экзогенных ХС/ГС (по номенклатуре GO); приведены абсолютные числа белков по функциональным группам

**Fig. 2.** Annotation of pathogenic proteins of OA, regulated by exogenous CS/GS (according to the GO nomenclature); absolute numbers of proteins by functional groups are shown

Повышение уровня белков коллагенов при воздействии ХС также сопровождается увеличением уровня *белков, взаимодействующих с коллагенами*: PCOLCE, фибронектин, тромбоспондины. Белок PCOLCE (проколлагеновый усилитель С-эндопептидазы 1) ускоряет созревание коллагена. Фибронектин связывает коллаген, участвует в регуляции отложения коллагена и в заживлении ран. Белок олигомерного матрикса COMP (тромбоспондин 5) необходим для секреции коллагена I и XII типов и поддержания структурной целостности хряща за счет взаимодействия с коллагенами и фибронектином. Тромбоспондин 5 также является супрессором апоптоза хондроцитов, который блокирует активацию каспазы 3, индуцирует белки выживания клеток BIRC3, BIRC2, BIRC5 и XIAP [13]. Тромбоспондин 5 и тромбоспондин 1 регулируют взаимодействие хондроцитов с внеклеточным матриксом хряща через интегрины [14]. Полногеномное секвенирование позволило идентифицировать редкие

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ / EXPERIMENTAL INVESTIGATIONS

Гены и белки, вовлеченные в патогенез ОА и регулируемые ХС/ГС (суммирование данных постгеномных исследований)  
 Genes and proteins involved in the pathogenesis of OA and regulated by CS/GS (generalized data from post-genomic studies)

Ген	ХС	ГС	Белок	Функция
<i>ADAMTS1</i>	7,9	1,4	ММП с тромбоспондиновыми мотивами 1	Расщепляет протеогликан хряща, агрекан в месте прикрепления ХС, ингибитор ангиогенеза
<i>ACAN</i>	7,3	2,9	Агрекан (хрящевой специфичный протеогликановый ядерный белок, или протеогликановый ХС1)	Основной компонент ВКМ хряща, обеспечивает упругость и эластичность хряща, связывается с гиалуронатом
<i>COL12A1</i>	5,5	4,2	Цепь $\alpha_1$ коллагена (XII типа)	Поддерживает фибриллярную структуру коллагена
<i>COL6A3</i>	5,2	2,7	Коллаген $\alpha_3$ (VI типа)	Взаимодействие с хондроцитами
<i>HAPLN1</i>	4,7	1,4	Гиалуронат/протеогликан-связывающий белок 1	Стабилизирует взаимодействие протеогликанов с гиалуронатом в суставном хряще
<i>THBS1</i>	4	1,1	Тромбоспондин 1	Межклеточные взаимодействия
<i>TNC</i>	3,6	2,4	Тенасцин (мышечно-сухожильный антиген)	Регулирует миграцию и регенерацию клеток, лиганд интегринов
<i>CHI3L1</i>	3,4	3,2	Хитиназо-3-подобный протеин 1 (гликопротеин хряща)	Способствует уничтожению бактерий макрофагами, антибактериальные эффекты при ОА
<i>COL6A1</i>	2,7	1,5	Цепь $\alpha_1$ коллагена (VI типа)	Взаимодействие с фибробластами
<i>TGFBI</i>	2,6	1,8	Трансформирующий фактор роста $\beta_1$	Адгезия на клетках, обработанных коллагеном
<i>CTGF</i>	2,5	1,2	Фактор роста соединительной ткани	Деление и дифференцировка хондроцитов
<i>COMP</i>	2,5	1,9	Олигомерный матриксный белок хряща	Стабилизация трехмерной структуры коллагеновых волокон. Структурная целостность хряща
<i>ABI3BP</i>	2	1,2	Nesh-связывающий белок	Взаимодействия фибробластов с ХС
<i>PRELP</i>	1,9	–	Проларгин	Крепление базальных мембран к ХС
<i>OGN</i>	1,9	1,1	Мимекан (остеоглицин)	Формирование костной ткани
<i>MMP3</i>	1,8	1,4	Стромелизин 1 (ММП3)	Деградация фибронектина, ламинина, коллагена III, IV, X и IX типов и ХС протеогликанов хряща
<i>TNFAIP6</i>	1,8	–	ФНО-индуцируемый белок 6	Гиалуронат-связывающий белок, взаимодействия клетка-матрица
<i>PCOLCE</i>	1,8	1,3	Энхансер 1 проколлагеназы проколлагена С	Ускоряет созревание коллагена
<i>COL5A1</i>	1,7	–	Цепь $\alpha_1$ коллагена (V типа)	Коллаген, образующий фибриллы, связывается с гепарансульфатом и тромбоспондином
<i>COL3A1</i>	1,6	–	Цепь $\alpha_1$ коллагена (III типа)	Коллаген фибрилл, регулирует развитие коры головного мозга
<i>IGFBP7</i>	1,6	–	Белок 7, связывающий ИФР	Связывает ИФР1 и ИФР2, стимулирует выработку простациклина
<i>COL1A1</i>	1,5	1,4	Цепь $\alpha_1$ коллагена (I типа)	Коллаген, образующий фибриллы
<i>COL1A2</i>	1,5	1,4	Цепь $\alpha_2$ коллагена (I типа)	Коллаген, образующий фибриллы
<i>COL2A1</i>	1,4	1,3	Цепь $\alpha_1$ коллагена (II типа, хондрокальцин)	Обеспечивает эластические свойства хряща
<i>PRG4</i>	1,4	–	Протеогликан 4 (лубрицин)	Обеспечивает эластические свойства хряща и рассеивание энергии синовиальной жидкости
<i>COL15A1</i>	1,4	–	Цепь $\alpha_1$ коллагена (XV типа)	Стабилизирует микрососуды, мышечные клетки
<i>IGFBP2</i>	1,3	–	Белок 2, связывающий ИФР	Продлевает период полураспада ИФР
<i>IGFBP3</i>	1,2	–	Белок 3, связывающий ИФР	Стабильность ИФР
<i>FSTL1</i>	1,2	–	Фоллистатин-подобный белок 1	Модуляция факторов роста и дифференцировки фибробластов

Ген	ХС	ГС	Белок	Функция
<i>FN1</i>	0,9	2,1	Фибронектин	Связывает коллаген, фибрин, гепарин, актин, участвует в заживлении ран
<i>MMP2</i>	0,77	–	Коллагеназа IV типа (желатиназа А)	Активация провоспалительных путей NF-κB, NFAT, IRF
<i>CCL2</i> ( <i>MCP-1</i> )	0,7	–	Лиганд хемокина 2 с мотивом С-С (хемотаксический и активирующий фактор моноцитов)	Хемотаксис моноцитов и базофилов, вовлечен в патогенез псориаза, РА, ОА, атеросклероза
<i>ADAMTS2</i>	0,7	–	ADAM-металлопептидаза с тромбоспондином	Созревание коллагена при сборке фибрилл
<i>MMP1</i>	0,7	–	Коллагеназа 1 фибробластов	Расщепляет коллаген I, II, III, VII, X типов
<i>MMP13</i>	0,6	0,8	Коллагеназа 3 (ММП13)	Дегградация коллагена, фибронектина, тенасцина, аггеркана, активация ростового фактора TGFβ1
<i>WNT3A</i>	0,69	–	Белок Wnt3a	Активация frizzled-рецепторов, морфогенез тканей

**Примечание.** Представлено воздействие ХС, ГС на уровни соответствующих белков: показатели >1,0 – повышение уровней, <1,0 – снижение. Белки упорядочены по убыванию эффектов ХС. ВКМ – внеклеточный матрикс.

**Note.** The effect of CS, GS on the levels of the corresponding proteins is presented: indicators > 1.0 – increase in levels, <1.0 – decrease. Proteins are ordered in descending order of CS effects. ВКМ – extracellular matrix

полиморфизмы в генах тромбоспондина 5 (*114IG> C, Asp369His*) и *SHADL (rs532464664, Val330Glyfs\*106)*, связанные с высоким риском ОА тазобедренного сустава (4657 больных ОА и 207 514 лиц без ОА, контроль) [15].

Воздействие ХС/ГС на хондроциты повышает уровни и других структурно-образующих белков СТ: агрекана ACAN (хрящ-специфический белок ХС-протеогликанов, основной компонент ВКМ хряща, противостоящий сжатию хряща), тенасцина (TNC, лиганд интегринов, способствует росту нейритов), гиалуронан-протеогликан-связывающего белка (HAPLN1, стабилизирует взаимодействие протеогликанов с гиалуроновой кислотой в хряще), протеогликана 4 (лубрицин, предотвращает отложение белка на хряще из синовиальной жидкости).

#### ХС/ГС и активность ростовых факторов СТ

Экзогенные ХС/ГС повышают уровни 7 белков, участвующих в реализации эффектов факторов роста СТ, нарушение активности которых ассоциировано с патогенезом ОА. К этим ростовым факторам относится, в частности, ИФР – индуктор синтеза коллагена и агрекана, играющий важную роль в поддержании структурной целостности и метаболизма хряща. ХС/ГС стимулируют повышение уровней ИФР-связывающих белков IGFBP2, IGFBP3 и IGFBP7, которые увеличивают стабильность и время действия ИФР, продлевая тем самым период его полураспада [16] и регулируя взаимодействие ИФР с рецепторами на поверхности клеток [17]. Интересно, что белок IGFBP7 также стимулирует выработку простагличина [18].

Кроме того, ХС/ГС повышают уровни фактора роста соединительной ткани (СТGF, способствует делению и дифференцировке хондроцитов, опосредует адгезию фибробластов [19]), фоллистатин-подобного белка 1 (модулирует факторы роста и дифференцировки фибробластов и хондроцитов), кератопептилина (TGFβ1), поддерживающего адгезию фибробластов на коллагене в процессе роста и деления клеток [20].

Снижая экспрессию гена *WNT3A* и активность белка Wnt3a, ХС тормозит избыточную активацию frizzled-ре-

цепторов и гиперпролиферацию хондроцитов хряща в месте повреждения. Аберрантная активация сигнального пути Wnt/β-катенин является одним из механизмов патогенеза ОА. Экзогенный хондроитинсульфат Е (ХС-Е, хондроитин-4,6-сульфат) действует как специфический ингибитор биологических эффектов передачи сигналов Wnt3a в фибробластах NIH3T3, снижая передачу сигналов Wnt3a посредством негативной регуляции рецептора LRP6. Ограничение передачи сигналов Wnt3a посредством обработки ХС4/6 тормозит Wnt3a-опосредованную стимуляцию гиперпролиферации клеток в зоне поражения хряща, но не нарушает Wnt3a-опосредованное снижение апоптоза [21].

#### ХС/ГС и белки, способствующие ремоделированию и дегградации СТ

ХС/ГС оказывают модулирующее действие на ферменты группы ММП, участвующих в ремоделировании и дегградации структурных компонентов СТ. Секвенирование транскриптома показало, что под влиянием ММП и других протеиназ внеклеточного матрикса развивается синдром фасеточных суставов, это связано с нарушением баланса активности ММП [22].

С одной стороны, ХС/ГС снижают уровень ММП1, ММП13. Эти ферменты являются коллагеназами, т. е. участвуют в расщеплении коллагена. ММП1 (коллагеназа фибробластов) расщепляет коллаген I, II, III, VII, X типов [23]; ММП2 (коллагеназа 4) играет роль в окислительном стрессе, инициирует первичный врожденный иммунный ответ и активирует провоспалительные пути NF-κB, NFAT, IRF; ММП13 (коллагеназа 3) вовлечена в дегградацию коллагена, фибронектина, тенасцина, аггеркана, фактора роста СТ (СТGF) и в дегградацию хряща в целом [24]. Снижение уровня этих ММП приводит к уменьшению дегградации СТ хряща.

С другой стороны, ХС/ГС повышают уровни ММП3 и ADAMTS1. ММП3 (стромелизин 1) способствует дегградации фибронектина, ламинина, коллагена III, IV, X и IX типов, хондроитина протеогликанов хряща; ADAMTS1 рас-

шепляет протеогликан хряща агрекан в месте прикрепления ХС и является ингибитором ангиогенеза [25].

Анализ транскриптома человека позволил идентифицировать 1080 дифференциально экспрессируемых генов патогенеза ОА. В частности, найдены гены, участвующие в сигнальном пути Wnt (*USP46*, *CPVL*, *FKBP5*, *FOSL2*, *GADD45B*, *PTGS1* и *ZNF423*). Важно отметить, что экспрессия *ADAMTS1* была снижена в синовиальных оболочках суставов пациентов с ОА [26]. Поэтому активация MMP3 и агреканазы *ADAMTS1* на фоне повышения синтеза компонентов СТ (см. предыдущий раздел) вызывает повышение интенсивности ремоделирования СТ.

Также отметим, что ХС/ГС способствуют снижению уровня хемокина *CCL2* (хемотаксический белок моноцитов, MCP1). Белок *CCL2*, стимулируя хемотаксис моноцитов и базофилов, вовлечен в патогенез заболеваний, характеризующихся наличием моноцитарных инфильтратов (псориаз, РА, ОА, атеросклероз), что приводит к ускорению деградации СТ.

Интересным результатом постгеномных исследований ОА, связанных с активностью хемокинов, является выявление связей между эпигенетикой и патофизиологией ОА. Эпигенетика изучает формы наследования, обусловленные не изменениями последовательности генома, а химическими модификациями генома (прежде всего, метилированием ДНК). Как известно, метилирование ДНК в существенной степени зависит от обеспеченности фолатами и другими витаминами группы В. Возникающее на фоне витаминных дефицитов гипометилирование ДНК ассоциировано с тромбозом болей, формированием врожденных дефектов позвоночника, нарушениями прорезывания зубов и другими врожденными пороками развития СТ [27].

Полногеномный анализ aberrантного метилирования ДНК в 470 870 CpG-локусах генома пациентов с ОА тазобедренного и коленного суставов в возрасте старше 55 лет ( $n=108$ ) позволил идентифицировать 16 816 метилированных CpG-локусов со значимыми различиями между пациентами с ОА и лицами того же возраста без ОА (контроль). Из 16 816 CpG-локусов 84,5% характеризовались гипометилированием [28]. У пациентов с ОА гипометилирование геномной ДНК отмечено, в частности, вблизи генов хемокинов *CCL3L3* (хемокиновый мотив лиганда С-С) и *IL-8* (ИЛ 8) и соответствовало провоспалительному ответу [29]. Абнормальное метилирование геномной ДНК хондроцитов также указывало на гипометилирование при ОА фактора роста соединительной ткани *CTGF* и хемокина *CX3CL1*,

что соответствовало повышению экспрессии *CTGF* и *CX3CL1* [30].

#### Стандартизация субстанций ХС и их постгеномные эффекты

Степень стандартизации существенно влияет на постгеномные эффекты экзогенных ХС [31–34]. Например, фармакопротеомное исследование трех различных экстрактов ХС на внутриклеточных и внеклеточных протеомах хондроцитов человека показало, что экстракт ХС1 модулировал уровни 27 белков, ХС2 – 4, а ХС3 – 15, большинство из этих белков являлись компонентами внеклеточного матрикса. Из трех протестированных экстрактов хондроитинсульфатов ХС1 вызывал активацию воспалительных и каталитических путей, тогда как экстракты ХС2 и ХС3<sup>1</sup> характеризовались противовоспалительным и анаболическим ответом [31].

Фармацевтическая стандартизация ХС имеет определяющее значение для получения воспроизводимых клинических результатов и повышения безопасности терапии. Так, в метаанализе 8 контролируемых исследований ( $n=771$ ), в которых использовалось внутримышечное введение препарата Хондрогард (ХГ) в комплексной терапии пациентов с ОА (средний возраст  $53,6\pm 6,2$  года), подтверждены статистически значимые ассоциации между применением ХГ и уменьшением боли по визуальной аналоговой шкале – ВАШ (ХГ:  $-28,3$  мм, контроль:  $-1,6$  мм;  $p=0,042$ ), снижением индексов Лекена (ХГ:  $-4,3$ , контроль:  $-1,4$ ;  $p=0,0349$ ) и WOMAC (ХГ:  $-338,4$  мм, контроль:  $-219,8$  мм;  $p=0,004$ ). Частота побочных эффектов значимо не различалась в группах ХГ и контроля [35].

#### Заключение

В настоящей работе представлен первый этап постгеномных исследований патогенеза ОА, сформирован профиль, включающий 483 исследования, и рассмотрены результаты обобщенного анализа постгеномных исследований патогенеза ОА и фармакопротеомных исследований 36 белков и генов, которые вовлечены в патогенез ОА и одновременно регулируются экзогенными ХС/ГС. Эти белки определяют клеточный ответ на терапию ОА с использованием ХС/ГС. Постгеномные исследования показали, что стандартизированные формы ХС/ГС не только снижают системное воспаление путем ингибирования NF-κB и толл-рецепторов, но и повышают уровень структурных белков СТ, активность сигнальных путей ростовых факторов хряща и модулируют уровень белков ремоделирования/деградации хряща, синовиальной ткани и других видов СТ.

<sup>1</sup>Фармацевтически стандартизированная субстанция производства Биоиберики, С.А.У. (Испания).

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2020 Jan 18;395(10219):200–11. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32989-7.
- Torshin IYu. Bioinformatics in the post-genomic era: physiology and medicine. New York: Nova Biomedical Books; 2007.
- Rockel JS, Kapoor M. The Metabolome and Osteoarthritis: Possible Contributions to Symptoms and Pathology. *Metabolites*. 2018 Dec 13;8(4):92. doi: 10.3390/metabo8040092.
- Pan X, Huang L, Chen J, et al. Analysis of synovial fluid in knee joint of osteoarthritis: 5 proteome patterns of joint inflammation based on matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Int Orthop*. 2012 Jan;36(1):57–64. doi: 10.1007/s00264-011-1258-y. Epub 2011 Apr 21.
- Woetzel D, Huber R, Kupfer P, et al. Identification of rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients by transcriptome-based rule set generation. *Arthritis Res Ther*. 2014 Apr 1;16(2):R84. doi: 10.1186/ar4526.
- Алексеева ЛИ. Обновление клинических рекомендаций по лечению больных

- остеоартритом 2019 года. Русский медицинский журнал. 2019;(4):2-6.
- [Aleksieva LI. Update of clinical guidelines for the treatment of patients with osteoarthritis in 2019. *Russkii meditsinskii zhurnal*. 2019;(4):2-6. (In Russ.)].
7. Лила АМ, Громова ОА, Торшин ИЮ и др. Молекулярные эффекты хондрогарда при остеоартрите и грыжах межпозвоночного диска. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2017;9(3):88-97. [Lila AM, Gromova OA, Torshin IYu, et al. Molecular effects of chondroguard in osteoarthritis and herniated discs. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2017;9(3):88-97. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2017-3-88-97
8. Громова ОА, Торшин ИЮ, Лила АМ, Громов АН. Молекулярные механизмы глюкозамина сульфата при лечении дегенеративно-дистрофических заболеваний суставов и позвоночника: результаты протеомного анализа. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2018;10(2):38-44. [Gromova OA, Torshin IYu, Lila AM, Gromov AN. Molecular mechanisms of action of glucosamine sulfate in the treatment of degenerative-dystrophic diseases of the joints and spine: results of proteomic analysis. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2018;10(2):38-44. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2018-2-38-44.
9. Torshin IYu, Rudakov KV. On the theoretical basis of the metric analysis of poorly formalized problems of recognition and classification. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2015;25(4):577-87.
10. Torshin IY, Rudakov KV. Combinatorial analysis of the solvability properties of the problems of recognition and completeness of algorithmic models. Part 1: Factorization approach. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2017;27:16-28.
11. Torshin IY, Rudakov KV. On the Procedures of Generation of Numerical Features Over Partitions of Sets of Objects in the Problem of Predicting Numerical Target Variables. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2019;29(4):654-67.
12. Karlsson C, Dehne T, Lindahl A, et al. Genome-wide expression profiling reveals new candidate genes associated with osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010 Apr;18(4):581-92. doi: 10.1016/j.joca.2009.12.002. Epub 2010 Jan 4.
13. Chen FH, Thomas AO, Hecht JT, et al. Cartilage oligomeric matrix protein/thrombospondin 5 supports chondrocyte attachment through interaction with integrins. *J Biol Chem*. 2005 Sep 23;280(38):32655-61. doi: 10.1074/jbc.M504778200. Epub 2005 Jul 28.
14. Koelling S, Clauditz TS, Kaste M, Miosge N. Cartilage oligomeric matrix protein is involved in human limb development and in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(3):R56. doi: 10.1186/ar1922. Epub 2006 Mar 15.
15. Styrkarsdottir U, Helgason H, Sigurdsson A, et al. Whole-genome sequencing identifies rare genotypes in COMP and CHADL associated with high risk of hip osteoarthritis. *Nat Genet*. 2017 May;49(5):801-5. doi: 10.1038/ng.3816. Epub 2017 Mar 20.
16. Zhou J, Li W, Kamei H, Duan C. Duplication of the IGFBP-2 gene in teleost fish: protein structure and functionality conservation and gene expression divergence. *PLoS One*. 2008;3(12):e3926. doi: 10.1371/journal.pone.0003926. Epub 2008 Dec 12.
17. Ingermann AR, Yang YF, Han J, et al. Identification of a novel cell death receptor mediating IGFBP-3-induced anti-tumor effects in breast and prostate cancer. *J Biol Chem*. 2010 Sep 24;285(39):30233-46. doi: 10.1074/jbc.M110.122226. Epub 2010 Mar 30.
18. Akaogi K, Okabe Y, Funahashi K, et al. Cell adhesion activity of a 30-kDa major secreted protein from human bladder carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994 Feb 15;198(3):1046-53. doi: 10.1006/bbrc.1994.1149.
19. Nakanishi T, Nishida T, Shimo T, et al. Effects of CTGF/Hcs24, a product of a hypertrophic chondrocyte-specific gene, on the proliferation and differentiation of chondrocytes in culture. *Endocrinology*. 2000 Jan;141(1):264-73. doi: 10.1210/endo.141.1.7267.
20. Skonier J, Bennett K, Rothwell V, et al. Beta ig-h3: a transforming growth factor-beta-responsive gene encoding a secreted protein that inhibits cell attachment in vitro and suppresses the growth of CHO cells in nude mice. *DNA Cell Biol*. 1994 Jun;13(6):571-84. doi: 10.1089/dna.1994.13.571.
21. Willis CM, Klüppel M. Inhibition by chondroitin sulfate E can specify functional Wnt/ $\beta$ -catenin signaling thresholds in NIH3T3 fibroblasts. *J Biol Chem*. 2012 Oct 26;287(44):37042-56. doi: 10.1074/jbc.M112.391490. Epub 2012 Aug 22.
22. Chen C, Xu G, Sun Y, Cui Z. Transcriptome sequencing reveals dynamic changes in matrix metalloproteinases in facet joint osteoarthritis. *Exp Ther Med*. 2020 Apr;19(4):2475-82. doi: 10.3892/etm.2020.8488. Epub 2020 Feb 4.
23. Springman EB, Angleton EL, Birkedal-Hansen H, van Wart HE. Multiple modes of activation of latent human fibroblast collagenase: evidence for the role of a Cys73 active-site zinc complex in latency and a «cysteine switch» mechanism for activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Jan;87(1):364-8. doi: 10.1073/pnas.87.1.364.
24. Kennedy AM, Inada M, Krane SM, et al. MMP13 mutation causes spondyloepimetaphyseal dysplasia, Missouri type (SEMD(MO)). *J Clin Invest*. 2005 Oct;115(10):2832-42. doi: 10.1172/JCI22900.
25. Vazquez F, Hastings G, Ortega MA, et al. METH-1, a human ortholog of ADAMTS-1, and METH-2 are members of a new family of proteins with angio-inhibitory activity. *J Biol Chem*. 1999 Aug 13;274(33):23349-57. doi: 10.1074/jbc.274.33.23349.
26. Zhang X, Bu Y, Zhu B, et al. Global transcriptome analysis to identify critical genes involved in the pathology of osteoarthritis. *Bone Joint Res*. 2018 May 5;7(4):298-307. doi: 10.1302/2046-3758.74.BJR-2017-0245.R1. eCollection 2018 Apr.
28. Lin X, Li L, Liu X, et al. Genome-wide analysis of aberrant methylation of enhancer DNA in human osteoarthritis. *BMC Med Genomics*. 2020 Jan 3;13(1):1. doi: 10.1186/s12920-019-0646-9.
29. Yang J, Wang N. Genome-wide expression and methylation profiles reveal candidate genes and biological processes underlying synovial inflammatory tissue of patients with osteoarthritis. *Int J Rheum Dis*. 2015 Sep;18(7):783-90. doi: 10.1111/1756-185X.12643. Epub 2015 Jul 14.
30. Zhao L, Wang Q, Zhang C, Huang C. Genome-wide DNA methylation analysis of articular chondrocytes identifies TRAF1, CTGF, and CX3CL1 genes as hypomethylated in osteoarthritis. *Clin Rheumatol*. 2017 Oct;36(10):2335-42. doi: 10.1007/s10067-017-3667-9. Epub 2017 May 3.
31. Calamia V, Fernandez-Puente P, Mateos J, et al. Pharmacoproteomic study of three different chondroitin sulfate compounds on intracellular and extracellular human chondrocyte proteomes. *Mol Cell Proteomics*. 2012 Jun;11(6):M111.013417. doi: 10.1074/mcp.M111.013417. Epub 2011 Dec 27.
32. Calamia V, Mateos J, Fernandez-Puente P, et al. A pharmacoproteomic study confirms the synergistic effect of chondroitin sulfate and glucosamine. *Sci Rep*. 2014 Jun 10;4:5069. doi: 10.1038/srep05069.
33. Blanco FJ, Camacho-Encina M, Gonzalez-Rodriguez L, et al. Predictive modeling of therapeutic response to chondroitin sulfate/glucosamine hydrochloride in knee osteoarthritis. *Ther Adv Chronic Dis*. 2019 Aug 24;10:2040622319870013. doi: 10.1177/2040622319870013. eCollection 2019.
34. Calamia V, Lourido L, Fernandez-Puente P, et al. Secretome analysis of chondroitin sulfate-treated chondrocytes reveals anti-angiogenic, anti-inflammatory and anticatabolic properties. *Arthritis Res Ther*. 2012 Oct 2;14(5):R202. doi: 10.1186/ar4040.
35. Торшин ИЮ, Лила АМ, Наумов АВ и др. Метаанализ клинических исследований эффективности лечения остеоартрита препаратом Хондрогард. Фармакоэкономика и Фармакоэпидемиология. 2020;13(4):18-29. [Torshin IYu, Lila AM, Naumov AV, et al. Meta-analysis of clinical studies of the effectiveness of treatment of osteoarthritis with Chondroguard. *Pharmacoeconomics. Sovremennaya Farmakoekonomika i Farmakoepidemiologiya*. 2020;13(4):18-29. (In Russ.)].

Поступила/отрецензирована/принята к печати  
Received/Reviewed/Accepted  
9.12.2020/26.01.2021/29.01.2021

**Заявление о конфликте интересов / Conflict of Interest Statement**

Работа выполнена по гранту Российского фонда фундаментальных исследований № 19-07-00356

Исследование не имело спонсорской поддержки. 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.

The investigation has been conducted under Russian Foundation for Basic Research Grants No 19-07-00356.

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.

Громова О.А. <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>  
Торшин И.Ю. <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>  
Лиля А.М. <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>  
Алексеева Л.И. <https://orcid.org/0000-0001-7017-0898>  
Таскина Е.А. <https://orcid.org/0000-0001-8218-3223>