

Ассоциация высокой скорости гликолиза и активности разобщения окисления и фосфорилирования в клетках крови больных на поздней стадии остеоартрита коленного сустава с развитием послеоперационной боли

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

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

Цель исследования — определить связь экспрессии генов, опосредующих продукцию клеточной энергии, с развитием хронической послеоперационной боли (ПБ) после тотального эндопротезирования (ТЭ) коленного сустава (КС) у больных остеоартритом (ОА).

Материал и методы. Перед ТЭ исследована кровь у 50 пациентов с III–IV стадией ОА КС и жалобами на постоянную боль и нарушение функции сустава. Группу контроля составили 26 здоровых лиц. Интенсивность боли оценивали по визуальной аналоговой шкале (ВАШ), краткому опроснику ВРІ и индексу WOMAC, наличие невропатической боли — по опросникам DN4 и PainDETECT. Развитие ПБ анализировали через 3 и 6 мес после ТЭ. Суммарную РНК, выделенную из крови, использовали для определения экспрессии генов PKM2, ЛДГ, СДГ, АМРК α , ПДГ, ИДГ, МДГ и АТФ-синтазы с помощью количественной обратнo-транскриптазной полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты и обсуждение. ПБ ≥ 30 мм по ВАШ выявлена у 17 больных. Перед ТЭ экспрессия всех исследуемых генов была значимо повышена по сравнению с таковой в группе контроля. Однако различий клинических, болевых и функциональных показателей в обследованной группе пациентов с ОА не наблюдалось. До операции у пациентов, у которых впоследствии развилась ПБ, отмечалась значительно более высокая экспрессия генов, связанных с гликолизом (PKM2, ЛДГ), циклом Кребса (СДГ) и основного регулятора энергетического метаболизма (АМРК α), по сравнению с больными, удовлетворенными результатами ТЭ. В то же время не обнаружено различий в экспрессии ПДГ и других генов ферментов цикла Кребса (ИДГ, МДГ), а также АТФ-синтазы у пациентов с ПБ и без ПБ.

Заключение. Развитие ПБ связано с более высокой скоростью гликолиза и недостатком энергии предположительно вследствие более высокой активности разобщения окисления и фосфорилирования, которую можно наблюдать до ТЭ.

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

Контакты: Елена Васильевна Четина; etchetina@mail.ru

Для ссылки: Четина ЕВ, Маркова ГА, Глемба КЕ, Макаров МА. Ассоциация высокой скорости гликолиза и активности разобщения окисления и фосфорилирования в клетках крови больных на поздней стадии остеоартрита коленного сустава с развитием послеоперационной боли. Современная ревматология. 2024;18(1):21–27. DOI: 10.14412/1996-7012-2024-1-21-27

Association of a high rate of glycolysis and the activity of the uncoupling of oxidation and phosphorylation in the blood cells of patients with late-stage knee osteoarthritis and the development of postoperative pain

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

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

Objective: to investigate the relationship between the expression of genes mediating cellular energy production and the development of chronic postoperative pain (CPP) after total knee arthroplasty (TKA) in patients with osteoarthritis (OA).

Material and methods. Prior to TKA, the blood of 50 patients with stage III–IV knee OA and complaints of constant pain and joint dysfunction was analyzed. The control group consisted of 26 healthy individuals. Pain intensity was assessed using a visual analogue scale (VAS), a short BPI questionnaire and the WOMAC index, and the presence of neuropathic pain was assessed using the DN4 and PainDETECT questionnaires. The development of CPP was determined 3 and 6 months after TKA. Total RNA isolated from blood was used to determine the expression of PKM2, LDH, SDH, AMPK α , PDH, IDH, MDH and ATP synthase genes by real-time quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction.

Results and discussion. CPP ≥ 30 mm according to VAS was detected in 17 patients. Before TKA, the expression of all analyzed genes was significantly increased compared to that of the control group. However, there were no differences in clinical, pain-related and functional indicators in the analyzed group of patients with OA. Before surgery, patients who subsequently developed CPP had significantly higher expression of genes

related to glycolysis (PKM2, LDH), Krebs cycle – KC (SDH) and master regulator of energy metabolism (AMPK α) than patients who were satisfied with the results of TKA. At the same time, no differences were found in the expression of PDH and other KC enzyme genes (IDH, MDH) and ATP synthase in patients with and without CPP.

Conclusion. The development of CPP is associated with a higher rate of glycolysis and energy deficiency, presumably due to the higher uncoupling activity of oxidation and phosphorylation that can be observed before TKA.

Keywords: knee osteoarthritis; prediction of postoperative pain; gene expression; energy metabolism; blood.

Contact: Elena Vasilievna Chetina; etchetina@mail.ru

For reference: Chetina EB, Markova GA, Glemba KE, Makarov MA. Association of a high rate of glycolysis and the activity of the uncoupling of oxidation and phosphorylation in the blood cells of patients with late-stage knee osteoarthritis and the development of postoperative pain. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2024;18(1):21–27. DOI: 10.14412/1996-7012-2024-1-21-27

Остеоартрит (ОА) – хроническое заболевание суставов, характеризующееся прежде всего разрушением суставного хряща и субхондральной кости, синовиальным воспалением и нарушением обмена веществ. ОА является основной причиной боли и инвалидности, и им страдает около 10–15% населения мира [1]. Однако метаболические механизмы развития этих изменений в коленных суставах (КС) до конца неясны.

В настоящее время невозможно полное излечение ОА, поэтому используется только симптоматическая терапия для временного облегчения боли и улучшения функции сустава. Консервативное лечение, включая снижение веса, физиотерапию, физические упражнения, не всегда приводит к желаемым результатам. У многих пациентов на фоне медикаментозного лечения сохраняется интенсивная боль, продолжается прогрессирование заболевания, возникают нежелательные явления, связанные с приемом лекарств [2]. Боль и прогрессирование деструкции суставов приводят к необходимости использования хирургических методов лечения, в частности менискэктомии и высококой остеотомии большеберцовой кости. Тотальное эндопротезирование (ТЭ) КС является завершающим этапом лечения и проводится в связи с жалобами пациентов на постоянную боль и нарушение функции сустава. Однако, несмотря на значительное улучшение состояния большинства пациентов после ТЭ, оно не всегда позволяет добиться желаемых результатов. Примерно в 10–40% случаев отмечается неэффективность данного вида лечения, одной из основных причин которой является развитие послеоперационной боли (ПБ) [3].

Боль при ОА вызвана в первую очередь повреждением ткани сустава в результате его разрушения и, как следствие, воспалением. При этом боль может быть обусловлена не только воспалительной реакцией ткани сустава, но и нейрогенным воспалением, а также может включать невропатический компонент из-за повреждения нервных окончаний [4]. Так, поскольку суставы иннервируются периферической нервной системой, ноцицепторы могут активироваться сигналами из окружающей среды. Кроме того, показана роль центральной нервной системы в возникновении боли при движении [5]. На молекулярном уровне боль обусловлена продукцией хондроцитами цитокинов, таких как фактор некроза опухоли α (ФНО α), интерлейкин (ИЛ) 1 β , ИЛ6, и фактора роста нервов, которые увеличивают разрушение хряща и индуцируют гипералгезию. В частности, повышение экспрессии ИЛ1 β [6] и циклооксигеназы (ЦОГ) 1 и ЦОГ2 [7] приводило к деградации хряща, экспрессии матриксной металлопротеиназы (ММП) 9, ММП2, катепсинов К и S [8, 9] и усилению невропатической боли. В свою очередь, ФНО α

способен непосредственно активировать сенсорные нейроны через собственные рецепторы и инициировать каскад провоспалительных реакций [10].

Недавно мы показали, что высокая экспрессия генов, связанных с воспалением, деградацией внеклеточного матрикса и апоптозной активностью, может служить важным биомаркером развития ПБ у пациентов с ОА КС [11]. Кроме того, клинические проявления у больных ОА положительно коррелировали с биопсихосоциальными индексами. Например, степень тяжести боли по краткому опроснику боли ВРІ (Brief Pain Inventory) коррелировала с индексом тревожности по опроснику HADS (Hospital Anxiety and Depression scale), а показатели невропатической боли по PainDETECT и DN4 (Douleur Neuropathique 4 Questions) – со стадией ОА, депрессией по HADS и экспрессией провоспалительных цитокинов ФНО α и ИЛ1 β [11]. Поскольку эти биомаркеры взаимосвязаны с метаболическими нарушениями, которые наблюдаются при ОА [12], важно понять их природу для прогнозирования и лечения ПБ.

Слабое системное воспаление, наблюдаемое при ОА [13], является высокоэнергетопотребляющим процессом, так как воспалительная реакция сопровождается пролиферацией клеток иммунной системы и синтезом большого числа провоспалительных цитокинов [14]. Поэтому при воспалении клетки иммунной системы зависят от аэробного гликолиза, превращающего пируват в лактат (эффект Варбурга) при участии пируваткиназы 2 (ПКМ2) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ), а также от альтернативного пути повторного окисления восстановленного никотинамиддинуклеотида (НАДН), продуцируемого в гликолизе [8]. Действительно, активность ПКМ2 у больных ОА повышена по сравнению с таковой у здоровых лиц [15], а в опытах на животных развитие спонтанного ОА было связано с адаптивным усилением гликолиза, на которое указывало увеличение соотношения концентраций лактат/пируват [16]. Повышение активности гликолиза способно поддерживать воспаление, поскольку синтез аденозинтрифосфата (АТФ) происходит значительно быстрее [17], чем окислительные фосфорилирование (ОФ), и обеспечивает энергией процессы синтеза провоспалительных цитокинов. Поэтому одновременно в этих клетках подавляется окислительный митохондриальный метаболизм с участием цикла Кребса и электронтранспортной цепи (ЭТС), который оказывает противовоспалительное действие. Это проявляется в снижении экспрессии ферментов дегидрогеназ изоцитрата (ИДГ), сукцината (СДГ), малата (МДГ), в результате активности которых продуцируются восстановительные эквиваленты в форме НАДН₂ или флавинадениндинуклеотида, которые окисляются в ЭТС.

При ОФ электроны от метаболитов цикла Кребса переносятся на кислород, а выделяющаяся энергия используется для синтеза АТФ. У эукариот данный процесс осуществляется при участии ряда белков, закрепленных в мембранах митохондрий, которые называют дыхательной цепью переноса электронов. Белки цепи переноса электронов используют энергию, полученную при передаче электронов от восстановленных молекул (например, НАДН) на кислород, для перемещения протонов через мембрану. При перемещении протонов создается разница концентраций ионов водорода, и возникает электрохимический градиент [18], который возвращает протоны обратно в митохондрии через основание АТФ-синтазы. Поток протонов заставляет вращаться кольцо из с-субъединиц фермента, в результате чего активный центр синтазы изменяет форму и фосфорилирует аденозиндифосфат, превращая его в АТФ. Дополнительным регулятором активности цикла Кребса является система разобщения окисления и фосфорилирования, которая обеспечивает утечку протонов через внутреннюю мембрану митохондрий и уменьшает продукцию свободных радикалов [19]. Одним из таких митохондриальных белков-переносчиков является разобщающий белок UCP2.

Цель исследования — определить связь экспрессии генов, опосредующих продукцию клеточной энергии, с развитием хронической ПБ после ТЭ КС у больных ОА.

Материал и методы. В проспективное исследование было включено 50 пациентов, соответствовавших критериям ОА КС ACR (American College of Rheumatology) [20], которым в 2018–2019 гг. в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» (НИИР им. В.А. Насоновой) было проведено ТЭ. До ТЭ все больные имели постоянную выраженную боль 60–70 мм по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) и нарушение функции КС (по мнению врача и пациента), рентгенологические изменения в виде III–IV стадии ОА по Kellgren–Lawrence [21], 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 — $65,8 \pm 7,3$ года), не имевших значимой сопутствующей патологии и ОА КС.

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИР им. В.А. Насоновой, информированное согласие получено от всех пациентов.

Перед хирургическим вмешательством определяли уровень боли по ВАШ, использовали также опросник VPI [22] и индекс WOMAC [23]. Для выявления невропатической боли применяли опросники PainDETECT [24] и DN4 [25], депрессии и тревожности — HADS [26].

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

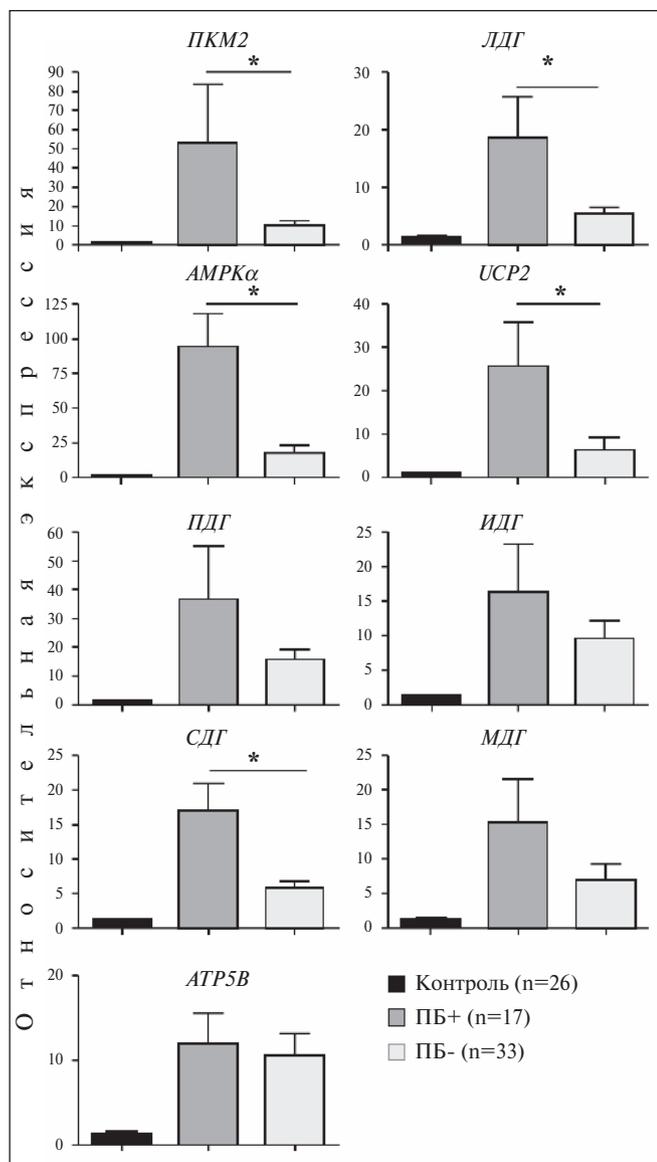
Выделение общей РНК и реакция обратной транскрипции (ОТ). Для определения экспрессии генов общую РНК выделяли из 100 мкл цельной крови сразу после ее получения с применением реагента Extract RNA («Евроген», Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Общая РНК имела $A260/290 > 1,9$. RT-реакцию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

Количественная полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени. Использовали готовые праймеры и зонды для анализа TaqMan (Applied Biosystems, США) генов человека: ПКМ2 (*Hs00987255_m1*), ЛДГ (*Hs00929956_m1*), АМРК α (*Hs01562315_m1*), UCP2 (*Hs01075227_m1*), СДГ (*Hs01042482_m1*), ПДГ (*Hs00264851_m1*), ИДГ (*Hs00188065_m1*), МДГ (*Hs00938918_m1*) и АТФ5В (*Hs00969569_m1*). Эндогенным контролем служил β -актин. Количественную оценку экспрессии генов проводили методом ПЦР в реальном времени (Quant Studio 5, Applied Biosystems, США). Объем 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 °С в течение 2 мин и начальной активации при 95 °С в течение 10 мин реакционной смеси подвергали 40 циклам амплификации (15 с при 95 °С для денатурации и 1 мин отжига и удлинения при 60 °С). 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 испытуемого) 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 при отклонении от нормального распределения данных использовались ранговые корреляции Спирмена. Поскольку одна из подгрупп включала менее 30 пациентов, при межгрупповых расчетах применяли непараметрический тест Манна–Уитни. Для сравнения процентных соотношений использовали двусторонний Z-тест. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Клинические параметры больных ОА. Средний возраст пациентов с ОА ($n=50$) составлял $65,8 \pm 7,3$ года, а средняя длительность заболевания — $9,9 \pm 6,1$ года. Эти пациенты имели ОА III–IV стадию по классификации Kellgren–Lawrence (III стадия была у 35; IV — у 15 пациентов) и повышенный индекс массы тела (ИМТ) — в среднем $30,5 \pm 3,8$ кг/м². Суммарный индекс WOMAC колебался от 300 до 1435 (в среднем 1064 ± 225), тогда как показатель общей боли составил в среднем $222,8 \pm 62,6$, общей функциональной недостаточности — $746,5 \pm 159,6$ и общей скованности — $93,9 \pm 24,6$.

Перед ТЭ все пациенты испытывали постоянную боль в КС на протяжении последних 6 мес. Большинство обследованных



Относительная экспрессия генов PKM2, LDH, PDH, IDH, SDH, MDH, UCP2, AMPKα и ATP5B, определяемая с помощью ПЦР в реальном времени в крови пациентов с ПБ (ПБ+, n=17) и без ПБ (ПБ-, n=33) 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 подгруппами пациентов с ОА

Relative expression of the genes PKM2, LDH, PDH, IDH, SDH, MDH, UCP2, AMPKα and ATP5B, determined using real-time PCR in the blood of patients with CPP (CPP+, n=17) and without CPP (CPP-, n=33) compared to healthy individuals (n=26). Gene expression levels in healthy individuals were set to 1.0, which is required for relative quantification according to the real-time PCR protocol.

* – Significant differences between subgroups of patients with OA

отмечали легкую боль в покое (в среднем – 31,3±2,2 мм), а 2 больных – сильную боль в покое (80 мм). По данным опросника VPI, средняя интенсивность боли перед операцией составила 4,8±1,1. Оценка невропатической боли с использованием опросника DN4 равнялась в среднем 1,95±1,1. У 1 пациента имелись элементы невропатической боли по DN4 (>4 баллов). Средний счет по опроснику PainDETECT

достигал 6,0±4,1, а у 1 пациента выявлена невропатическая боль (>18 баллов). Аномальная тревожность (>11 баллов) по HADS наблюдалась у 3 больных, пограничные уровни тревожности (8–10 баллов) – у 14 (28%). Кроме того, в 9 (18%) случаях имелась депрессия (11–15), а в 14 (28%) – пограничные значения (8–10 баллов) по шкале депрессии HADS [11].

Через 3 мес после ТЭ КС у 17 (34%) больных отмечалась ПБ (ее интенсивность составляла в среднем 34,3±2,3 мм по ВАШ), которая к 6-му месяцу наблюдения несколько усилилась (в среднем до 38,6±2,5 мм). Были сформированы две подгруппы пациентов: в 1-ю включено 17 пациентов с ПБ, во 2-ю – 33 пациента без ПБ. Сравнение клинических характеристик обеих подгрупп перед операцией подробно описано в нашей предыдущей работе [11]. При этом не отмечено значимых различий по большинству параметров. Однако при наличии ПБ значимо чаще регистрировалась артериальная гипертензия (АГ), которая в этой подгруппе выявлена у 11 (65%) из 17 больных, в то время как при отсутствии ПБ она зарегистрирована у 10 (30%) из 33 пациентов. Кардиоваскулярные заболевания отмечались у 6 больных: у 1 в 1-й подгруппе и у 5 во 2-й подгруппе. Кроме того, в 1-й подгруппе несколько чаще встречались ожирение 1-й степени (p=0,08) и тревожность по опроснику HADS (p=0,07), а интенсивность боли во 2-й подгруппе была несколько выше (p=0,07), но эти различия не достигали статистической значимости [11].

Экспрессия генов в крови. Экспрессия всех исследованных генов в обеих подгруппах была значительно повышена по сравнению с таковой у здоровых лиц. В 1-й подгруппе выявлено статистически значимое повышение экспрессии генов PKM2 (p=0,03), LDH (p=0,05), AMPKα (p=0,0009), UCP2 (p=0,009) и SDH (p=0,05) по сравнению с больными 2-й подгруппы (см. рисунок). Межгрупповых различий в экспрессии генов PDH, IDH, MDH и ATP5B не обнаружено.

Корреляционный анализ экспрессии генов с биопсихосоциальными параметрами. При корреляционном анализе выявлена положительная связь между индексом PainDETECT и экспрессией генов AMPKα, PDH, PKM2, MDH, IDH и LDH (см. таблицу). Степень тяжести боли по VPI отрицательно коррелировала с экспрессией гена MDH, аналогичная тенденция наблюдалась и в отношении генов AMPKα и UCP2. Кроме того, продемонстрирована тенденция к позитивной связи между показателем DN4 и экспрессией генов AMPKα и PKM2.

Наряду с этим выявлен высокий уровень статистически значимой положительной корреляции экспрессии изученных генов с продукцией провоспалительных цитокинов ФНОα и ИЛ1β (r=0,5–0,9, p<0,05). Напротив, активность ЦОГ2 негативно коррелировала с экспрессией генов энергетического метаболизма (r=0,3–0,4, p<0,05).

Обсуждение. Поскольку слабая воспалительная реакция при ОА [13] нуждается в существенных затратах клеточной энергии [14], возникла концепция о взаимодействии между клеточной биоэнергетикой/метаболизмом и воспалением [27], которое развивается вследствие неспособности поддержания клеткой энергетического баланса [28, 29]. В нашем исследовании экспрессия исследуемых генов, связанных с продукцией энергии, была значительно повышена у пациентов обеих групп, поскольку слабое системное воспаление характерно для всех больных ОА. Это также подтверждается положительной корреляцией исследуемых генов с экспрессией провоспалительных цитокинов ФНОα и ИЛ1β.

Корреляция биопсихосоциальных показателей и экспрессии генов до проведения ТЭ КС (n=50)
Correlation of biopsychosocial indicators and gene expression before TKA (n=50)

Показатель	АМРКа	ПДГ	ПКМ2	МДГ	ИДГ	УСР2	ЛДГ
DN4	0,328; p=0,08		0,297; p=0,09				
PainDETECT	0,433; p=0,02	0,418; p=0,03	0,429; p=0,02	0,492; p=0,01	0,422; p=0,03		0,385; p=0,03
VPI (тяжесть боли)	-0,330; p=0,09			-0,376; p=0,04		-0,343; p=0,07	

Вместе с тем известно, что для выполнения провоспалительных функций у макрофагов М1 активируется гликолиз и подавляется деятельность цикла Кребса [30]. Напротив, в иммуномодуляторных клетках, таких как макрофаги М2 и регуляторные Т-лимфоциты, преобладающим способом получения энергии является ОФ [31]. В нашем исследовании также отмечена значительно более высокая гликолитическая активность в клетках крови у больных ОА с ПБ, чем у пациентов, довольных результатами операции. Это может быть связано не только с более высокой скоростью синтеза АТФ при гликолизе по сравнению с ОФ, но и с продукцией метаболитов, которые сами способны служить сигнальными молекулами и активировать провоспалительные сигнальные пути [32, 33]. Поэтому полученные результаты согласуются с данными наших предыдущих исследований, показавших, что у пациентов с ПБ экспрессия провоспалительных цитокинов существенно выше [11]. Кроме того, обнаруженная у таких больных значительно более высокая экспрессия ЛДГ хорошо соотносится с данными о развитии метаболической дисфункции на уровне экспрессии ЛДГ, которые продемонстрированы в исследованиях на животных моделях раннего ОА [34].

В то же время экспрессия ПДГ и генов, кодирующих белки цикла Кребса, в исследованных группах существенно не различалась, за исключением СДГ, экспрессия которой была значительно выше при наличии ПБ. В связи с этим следует отметить, что повышенная скорость окисления сукцината СДГ также отмечалась при активации провоспалительных макрофагов [35], поскольку приводит к обратному транспорту электронов в ЭТС на уровне комплекса I и, как следствие, к гиперпродукции свободных радикалов (СР) [29]. В свою очередь, избыток СР, вероятно, является причиной усиления экспрессии гена *UCP2* у больных с ПБ, поскольку белок, кодируемый этим геном, способен контролировать продукцию СР [36]. Нарушение регуляции экспрессии СДГ также наблюдалось на ранней стадии заболевания у больных ОА и на модели ОА у мышей [34, 37], а исследования метаболома подтвердили дисфункцию цикла Кребса у больных ОА [38].

При этом продукция энергии в ЭТС при ОФ у больных обеих групп сравнима, поскольку экспрессия АТФ-синтазы

у них различалась незначительно. Более высокая экспрессия гена *АМРКа* у больных с ПБ, указывает на значительно большую потребность в энергии в форме АТФ в клетках крови по сравнению с таковой у пациентов без ПБ, что также может быть связано с избыточным синтезом провоспалительных цитокинов, как было показано нами ранее [11].

Кроме того, важно отметить связь между экспрессией генов энергетического метаболизма и психобиосоциальными показателями у больных ОА. Так, положительная корреляция между индексом PainDETECT и экспрессией генов АМРКа, ПДГ, ПКМ, МДГ, ИДГ и ЛДГ и тенденция к позитивной связи между показателем DN4 и экспрессией генов АМРКа и ПКМ2 могут указывать на усиление невропатической боли при повышении экспрессии перечисленных генов энергетического метаболизма. Это согласуется с данными о положительной корреляции показателей опросника DN4 с экспрессией провоспалительных цитокинов ФНО α и ИЛ1 β , которые представлены в наших предыдущих исследованиях [11] и в работах других авторов [39]. Аналогичные результаты получены J. Li и соавт. [40] в исследованиях на животных: активация АМРКа метформином уменьшала боль при ОА. Отрицательная корреляция экспрессии гена МДГ с тяжестью боли по опроснику VPI также не противоречит отсутствию значимых различий в экспрессии этого гена в изученных подгруппах больных ОА.

Заключение. Таким образом, на поздней стадии ОА больные, у которых развивается ПБ, отличаются повышенной активностью гликолитического пути получения энергии и нарушениями функционирования ОФ. При этом по сравнению с остальными пациентами они испытывают значительно больший дефицит энергии, который, вероятно, обусловлен избыточными внутриклеточными синтетическими процессами, включающими синтез провоспалительных цитокинов, и ассоциируется с усилением невропатической боли. Чтобы подтвердить наши выводы о вовлечении энергетического метаболизма в развитие ПБ, необходимы дальнейшие исследования с участием больших когорт пациентов. Эти данные будут способствовать более глубокому пониманию патогенеза ОА.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Hunter DJ, Felson DT. Osteoarthritis. *BMJ*. 2006 Mar 18;332(7542):639-42. doi: 10.1136/bmj.332.7542.639.
- Abramson SB, Attur M. Developments in the scientific understanding of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(3):227. doi: 10.1186/ar2655. Epub 2009 May 19.
- Wylde V, Hewlett S, Learmonth ID, et al. Persistent pain after joint replacement: prevalence, sensory qualities, and postoperative determinants. *Pain*. 2011 Mar;152(3):566-572. doi: 10.1016/j.pain.2010.11.023. Epub 2011 Jan 15.
- Orita S, Ishikawa T, Miyagi M, et al. Pain-related sensory innervation in monoiodoacetate-induced osteoarthritis in rat knees that gradually develops neuronal injury in addition to inflammatory pain. *BMC Musculoskelet Disord*. 2011 Jun 16;12:134. doi: 10.1186/1471-2474-12-134.
- Ordeberg G. Characterization of joint pain in human OA. *Novartis Found Symp*. 2004; 260:105-15.
- Attur MI, Belitskaya-Levy C, Krasnokutsky S, et al. Increased interleukin-1 gene expression in peripheral blood leukocytes is associated with increased pain and predicts risk

- for progression of symptomatic knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2011 Jul;63(7):1908-17. doi: 10.1002/art.30360.
7. Vardeh D, Wang D, Costigan M, et al. COX2 in CNS neural cells mediates mechanical inflammatory pain hypersensitivity in mice. *J Clin Invest.* 2009 Feb;119(2):287-94. doi: 10.1172/JCI37098 Epub 2009 Jan 5.
8. Leichsenring A, Bäcker I, Wendt W, et al. Differential expression of Cathepsin S and X in the spinal cord of a rat neuropathic pain model. *BMC Neurosci.* 2008 Aug 12;9:80. doi: 10.1186/1471-2202-9-80.
9. 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.
10. Ohtori S, Takahashi K, Moriya H, Myers RR. TNF-alpha and TNF-alpha receptor type 1 upregulation in glia and neurons after peripheral nerve injury: studies in murine DRG and spinal cord. *Spine (Phila Pa 1976).* 2004 May 15;29(10):1082-8. doi: 10.1097/00007632-200405150-00006.
11. 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.
- [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. In Russ.]. doi: 10.14412/1996-7012-2022-3-42-49
12. Четина ЕВ, Маркова ГА, Шарарова ЕП. Сахарный диабет 2 типа при остеоартрите: существует ли связь метаболических нарушений с деструкцией суставов и болевым синдромом? Биомедицинская химия. 2019;65(6):441-456.
- [Chetina EV, Markova GA, Sharapova EP. Type 2 Diabetes Mellitus in Osteoarthritic Patients: Does Association Between Metabolic Impairments, Joint Destruction, and Pain Exist? *Biomeditsinskaya Khimiya.* 2019;65(6):441-456. (In Russ.)].
13. Sellam J, Berenbaum F. Is osteoarthritis a metabolic disease? *Joint Bone Spine.* 2013 Dec;80(6):568-73. doi: 10.1016/j.jbspin.2013.09.007.
14. O'Neill LA, Hardie DG. Metabolism of inflammation limited by AMPK and pseudo-starvation. *Nature.* 2013 Jan 17;493(7432):346-55. doi: 10.1038/nature11862.
15. Yang X, Chen W, Zhao X, et al. Pyruvate Kinase M2 Modulates the Glycolysis of Chondrocyte and Extracellular Matrix in Osteoarthritis. *DNA Cell Biol.* 2018 Mar;37(3):271-277. doi: 10.1089/dna.2017.4048.
16. Johnson K, Jung A, Murphy A, et al. Mitochondrial oxidative phosphorylation is a downstream regulator of nitric oxide effects on chondrocyte matrix synthesis and mineralization. *Arthritis Rheum.* 2000 Jul;43(7):1560-70. doi: 10.1002/1529-0131(200007)43:7<1560::AID-ANR21>3.0.CO;2-S.
17. Liu-Bryan R, Terkeltaub R. Emerging regulators of the inflammatory process in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2015 Jan;11(1):35-44. doi: 10.1038/nrrheum.2014.162.
18. Hosler JP, Ferguson-Miller S, Mills DA. Energy transduction: proton transfer through the respiratory complexes. *Annu Rev Biochem.* 2006;75:165-87. doi: 10.1146/annurev.biochem.75.062003.101730.
19. Azzu V, Jastroch M, Divakaruni AS, Brand MD. The regulation and turnover of mitochondrial uncoupling proteins. *Biochim Biophys Acta.* 2010 Jun-Jul;1797(6-7):785-91. doi: 10.1016/j.bbabi.2010.02.035.
20. 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. doi: 10.1002/art.1780290816.
21. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 1957 Dec;16(4):494-502. doi: 10.1136/ard.16.4.494.
22. Cleeland CS, Ryan KM. Pain assessment: global use of the Brief Pain Inventory. *Ann Acad Med Singap.* 1994 Mar;23(2):129-38.
23. Bellamy N. WOMAC Osteoarthritis Index: A User's Guide. London: University of Western Ontario; 1995.
24. 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.
25. Bouhassira D, Attal N, Alchaar H, et al. Comparison of pain syndromes associated with nervous or somatic lesions and development of a new neuropathic pain diagnostic questionnaire (DN4). *Pain.* 2005 Mar;114(1-2):29-36. doi: 10.1016/j.pain.2004.12.010. Epub 2005 Jan 26.
26. 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.
27. Liu TF, Brown CM, El Gazzar M, et al. Fueling the flame: bioenergy couples metabolism and inflammation. *J Leukoc Biol.* 2012 Sep;92(3):499-507. doi: 10.1189/jlb.0212078.
28. Salminen A, Kaarniranta K. AMP-activated protein kinase (AMPK) controls the aging process via an integrated signaling network. *Ageing Res Rev.* 2012 Apr;11(2):230-41. doi: 10.1016/j.arr.2011.12.005.
29. Williams NC, O'Neill LAJ. A Role for the Krebs Cycle Intermediate Citrate in Metabolic Reprogramming in Innate Immunity and Inflammation. *Front Immunol.* 2018 Feb 5;9:141. doi: 10.3389/fimmu.2018.00141.
30. Galvan-Pena S, O'Neill LAJ. Metabolic reprogramming in macrophage polarization. *Front Immunol.* 2014 Sep 2;5:420. doi: 10.3389/fimmu.2014.00420. eCollection 2014.
31. O'Neill LAJ. Glycolytic reprogramming by TLRs in dendritic cells. *Nat Immunol.* 2014 Apr;15(4):314-5. doi: 10.1038/ni.2852.
32. McGettrick AF, O'Neill LAJ. How metabolism generates signals during innate immunity and inflammation. *J Biol Chem.* 2013 Aug 9;288(32):22893-8. doi: 10.1074/jbc.R113.486464. Epub 2013 Jun 24.
33. Mills E, O'Neill LAJ. Succinate: a metabolic signal in inflammation. *Trends Cell Biol.* 2014 May;24(5):313-20. doi: 10.1016/j.tcb.2013.11.008. Epub 2013 Dec 19.
34. Altman FP. A metabolic dysfunction in early murine osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 1981 Jun;40(3):303-6. doi: 10.1136/ard.40.3.303.
35. Mills EL, Kelly B, Logan A, et al. Succinate dehydrogenase supports metabolic repurposing of mitochondria to drive inflammatory macrophages. *Cell.* 2016 Oct 6;167(2):457-470.e13. doi: 10.1016/j.cell.2016.08.064. Epub 2016 Sep 22.
36. Moukdar F, Robidou J, Lyght O, et al. Reduced antioxidant capacity and diet-induced atherosclerosis in uncoupling protein-2-deficient mice. *J Lipid Res.* 2009 Jan;50(1):59-70. doi: 10.1194/jlr.M800273-JLR200.
37. Nahir AM, Vitis N, Silbermann M. Cellular enzymatic activities in the articular cartilage of osteoarthritic and osteoporotic hip joints of humans: a quantitative cytochemical study. *Aging (Milano).* 1990 Dec;2(4):363-9. doi: 10.1007/BF03323952.
38. Van Pevénage PM, Birchmier JT, June RK. Utilizing metabolomics to identify potential biomarkers and perturbed metabolic pathways in osteoarthritis: A systematic review. *Semin Arthritis Rheum.* 2023 Apr;59:152163. doi: 10.1016/j.semarthrit.2023.152163
39. 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.
40. Li J, Zhang B, Liu WX, et al. Metformin limits osteoarthritis development and progression through activation of AMPK signalling. *Ann Rheum Dis.* 2020 May;79(5):635-645. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-216713. Epub 2020 Mar 10.

Поступила/отрецензирована/принята к печати

Received/Reviewed/Accepted

11.07.2023/13.09.2023/16.09.2023

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования России (Project № 1021062512064-0).

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.

This work was carried out with the financial support of the Russian Ministry of Education and Science (project №1021062512064-0).

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>

Маркова Г.А. <https://orcid.org/0000-0001-5946-5695>

Глемба К.Е. <https://orcid.org/0000-0003-3971-2593>

Макаров М.А. <https://orcid.org/0000-0002-5626-7404>