

Развитие послеоперационной боли у больных с поздней стадией остеоартрита коленного сустава связано с нарушением метаболизма и транспорта жирных кислот в клетках крови

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 — оценить различия в экспрессии генов, связанных с β -окислением и *de novo* синтезом жирных кислот (ЖК) в крови больных с поздней стадией остеоартрита (ОА) коленных суставов (КС) перед тотальным эндопротезированием (ТЭ) в зависимости от развития послеоперационной боли (ПБ) с целью определения молекулярных механизмов, ответственных за формирование хронической ПБ.

Материал и методы. Перед ТЭ исследована кровь 50 пациентов с III–IV стадией ОА КС с жалобами на постоянную боль и нарушение функции сустава. Группу контроля составили 26 здоровых лиц. Интенсивность боли оценивали по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) и краткому опроснику BPI. Кроме того, боль, скованность и физическую функцию определяли по индексу WOMAC, наличие невропатической боли — по опросникам DN4 и PainDETECT. Развитие ПБ оценивали через 3 и 6 мес после ТЭ. Суммарную РНК, выделенную из крови, использовали для определения экспрессии генов *ACLY*, *ACC1*, *MLYCD*, *FASN* и *CPT1A* 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 большинства исследуемых генов была значимо повышена по сравнению с контролем. Напротив, экспрессия гена *FASN* оказалась сравнимой у больных ОА и здоровых лиц. Различий клинических и функциональных показателей в группах пациентов, имевших и не имевших ПБ, не наблюдалось. До операции у пациентов, у которых впоследствии развилась ПБ, отмечалась значительно более высокая экспрессия генов *ACLY* и *CPT1A* по сравнению с теми, кто был удовлетворен результатами ТЭ. В то же время в исследованных группах не выявлено различий в экспрессии *ACC1*, *MLYCD* и *FASN*.

Заключение. Развитие ПБ связано с повышенным поступлением ЖК в митохондрии, обусловленным избыточной экспрессией гена *CPT1A*, а также с накоплением ацетил-КоА, продукта высокой экспрессии гена *ACLY*. Эти показатели можно оценивать в крови больных ОА перед ТЭ.

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

Контакты: Елена Васильевна Четина; etchetina@mail.ru

Для ссылки: Четина ЕВ, Маркова ГА, Глемба КЕ, Макаров МА. Развитие послеоперационной боли у больных с поздней стадией остеоартрита коленного сустава связано с нарушением метаболизма и транспорта жирных кислот в клетках крови. Современная ревматология. 2024;18(3):63–70. DOI: 10.14412/1996-7012-2024-3-63-70

The development of postoperative pain in patients with late-stage knee osteoarthritis is associated with impaired metabolism and transport of fatty acids in blood cells

Chetina E.B., 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 evaluate differences in the expression of genes associated with β -oxidation and *de novo* synthesis of fatty acids (FAs) in the blood of patients with the late stage of knee osteoarthritis (OA) before total knee arthroplasty (TA) depending on the development of postoperative pain (POP) in order to determine the molecular mechanisms responsible for the development of chronic POP.

Material and methods. Blood of 50 patients with stage III–IV knee OA complaining of constant pain and joint dysfunction was analyzed prior to TA. The control group consisted of 26 healthy individuals. Pain intensity was assessed using a visual analogue scale (VAS) and the BPI questionnaire. In addition, pain, stiffness and physical functioning were assessed using WOMAC index and the presence of neuropathic pain was assessed using the DN4 and PainDETECT questionnaires. The development of POP was assessed 3 and 6 months after TA. Total RNA isolated from blood was used to determine the expression of *ACLY*, *ACC1*, *MLYCD*, *FASN* and *CPT1A* genes by real-time quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction.

Results and discussion. POP ≥ 30 mm by VAS was detected in 17 patients. Before TA, the expression of most of the analyzed genes was significantly increased compared to controls, while the expression of the *FASN* gene was comparable in patients with OA and healthy individuals. There were

no differences in clinical and functional parameters between the groups of patients with and without POP. Before surgery, patients who subsequently developed POP had significantly higher expression of *ACLY* and *CPT1A* genes than patients who were satisfied with the results of TA. At the same time, no differences in the expression of *ACCI*, *MLYCD* and *FASN* were found in the groups analyzed.

Conclusion. The development of POP is associated with an increased supply of FAs to the mitochondria caused by overexpression of the *CPT1A* gene, as well as with the accumulation of acetyl-CoA, a product of high expression of the *ACLY* gene, which can be measured in the blood of OA patients before TA.

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

Contact: Elena Vasilievna Chetina; etchetina@mail.ru

For reference: Chetina EB, Markova GA, Glemba KE, Makarov MA. The development of postoperative pain in patients with late-stage knee osteoarthritis is associated with impaired metabolism and transport of fatty acids in blood cells. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2024;18(3):63–70. DOI: 10.14412/1996-7012-2024-3-63-70

Остеоартрит (ОА) коленного сустава (КС) характеризуется потерей структуры суставного хряща, ремоделированием субхондральной кости, синовиальным воспалением и формированием остеофитов [1]. Заболевание связывают с такими факторами, как ожирение, возраст, травма, пол и/или этническая принадлежность [2]. В настоящее время ОА страдает 7% населения мира, а жалобы на суставную боль предъявляет треть лиц старше 65 лет [3], что составляет почти 500 млн человек, причем с 1990 по 2019 г. этот показатель увеличился на 48% [4]. Хотя ОА — ведущая причина инвалидности, в настоящее время не существует препаратов, модифицирующих заболевание [2]. При консервативном лечении ОА КС в основном используются нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), гиалуроновая кислота, глюкокортикоиды и симптоматические препараты замедленного действия [5]. Их эффект обусловлен подавлением воспаления и боли, которая является основным клиническим симптомом, ограничивающим трудоспособность и повседневное самообслуживание пациента. На поздней стадии ОА сильная постоянная боль служит одним из важнейших показаний к тотальному эндопротезированию (ТЭ) сустава. ТЭ КС — наиболее распространенный метод хирургического лечения ОА во всем мире, число таких операций ежегодно увеличивается и, как предполагается, к 2030 г. оно вырастет в 7 раз [6]. Между тем после ТЭ КС у 10–40% пациентов боль сохраняется [7]. В связи с этим выяснение причин, влияющих на исход ТЭ, позволило бы предоставить больным ОА более реалистичную информацию о результатах операции и оптимизировать предоперационную подготовку, что особенно важно ввиду высокой стоимости ТЭ [8].

Наши предыдущие исследования, посвященные прогнозированию развития послеоперационной боли (ПБ), показали, что высокая экспрессия генов, связанных с воспалением, деградацией внеклеточного матрикса и апоптозной активностью, может служить важным биомаркером формирования ПБ при ОА [9]. Более того, клинические параметры больных ОА положительно коррелировали с биопсихосоциальными факторами (пол, возраст, психологическое состояние) и экспрессией исследованных генов [9]. Поскольку эти биомаркеры взаимосвязаны с метаболическими нарушениями при ОА [10], наши последующие исследования были посвящены изучению ассоциации ПБ с особенностями метаболизма углеводов у больных ОА. Были показаны более высокая скорость гликолиза и недостаток энергии, вероятно, вследствие более высокой активности разобщения окисления и фосфорилирования у пациентов с ПБ [11].

Нарушения энергетического метаболизма в клетках крови у больных ОА, ассоциированные с ПБ, могут быть вызваны также наличием метаболического синдрома, роль которого в развитии и прогрессировании ОА КС определена сравнительно недавно [12]. Метаболический синдром представляет собой гетерогенное заболевание, характеризующееся центральным ожирением, артериальной гипертензией (АГ), дислипидемией, повышением уровня глюкозы натощак или сахарным диабетом, которое также предрасполагает к развитию ОА [13]. Действительно, избыточная масса тела (индекс массы тела — ИМТ — >25 кг/м²) и ожирение (ИМТ >30 кг/м²) уже давно признаны основными факторами риска ОА КС [14]. Более того, высокий ИМТ сопровождается большей интенсивностью боли [15]. Поэтому важно знать, как связаны нарушения метаболизма липидов и ПБ.

Обмен липидных макронутриентов ассоциирован с метаболизмом жирных кислот (ЖК), который включает катаболические процессы, генерирующие энергию, и анаболические процессы, производящие строительные блоки для синтеза других соединений [16]. В процессе катаболизма ЖК продуцируют энергию, главным образом в форме аденозинтрифосфата (АТФ), при полном окислении до CO₂ и воды посредством β -окисления и в цикле Кребса [17].

При этом свободные длинноцепочечные (ДЦ) ЖК проникают в клетки при участии специфических транспортных белков, таких как транспортный белок ЖК семейства SLC27 [18], и далее преобразуются в молекулу ацил-кофермента А (ацил-КоА), который переносится в матрикс митохондрий с помощью пальмитоил-КоА трансферазы. В дальнейшем, в процессе β -окисления ацил-КоА в митохондриальном матриксе, длинные углеродные цепи ЖК фрагментируются на ряд двухуглеродных (ацетатных) единиц, образующих в сочетании с КоА молекулы ацетил-КоА, которые конденсируются с оксалоацетатом с образованием цитрата и поступают в цикл Кребса [17].

В то же время синтез ЖК *de novo* из ацетил-КоА осуществляется вне митохондрий, в цитозоле. Для получения цитозольного ацетил-КоА цитрат (образованный конденсацией ацетил-КоА с оксалоацетатом) удаляется из цикла Кребса и переносится через внутреннюю митохондриальную мембрану в цитозоль [19], где он расщепляется АТФ-цитратлиазой (ACLY) на ацетил-КоА и оксалоацетат. Оксалоацетат возвращается в митохондрии в виде малата [20]. Цитозольный ацетил-КоА карбоксилируется ацетил-КоА-карбоксилазой (ACC) в малонил-КоА, что является первой стадией синтеза ЖК, катализируемого синтазой ЖК (FASN) [21]. Регуляция

процесса синтеза ЖК *de novo* осуществляется посредством АСС и малонил-КоА декарбоксилазы (MLYCD), которая превращает малонил-КоА в ацетил-КоА и углекислый газ и, таким образом, катализирует обратную реакцию АСС [22].

Цель исследования — оценить различия в экспрессии генов, связанных с β -окислением и *de novo* синтезом ЖК, в крови больных с поздней стадией ОА КС перед ТЭ в зависимости от развития ПБ и определить молекулярные механизмы, ответственные за формирование хронической ПБ.

Материал и методы. В проспективное исследование было включено 50 пациентов с ОА, соответствовавших критериям ACR (American College of Rheumatology) [23], которым в 2018–2019 гг. в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» (НИИР им. В.А. Насоновой) проведено ТЭ. Средний возраст пациентов составил $67,6 \pm 7,5$ года. До ТЭ все они имели постоянную выраженную боль 60–70 мм по ВАШ и нарушение функции КС (по мнению врача и пациента), III–IV рентгенологическую стадию ОА по Kellgren–Lawrence [24], во всех случаях отсутствовал эффект консервативной терапии на протяжении не менее 6 мес.

Критерии не включения: 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 альфакальцитрол.

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.

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИР им. В.А. Насоновой (протокол №32 от 20.12.2018), информированное согласие получено от всех больных.

Перед хирургическим вмешательством определяли интенсивность боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ), использовали также краткий опросник боли (Brief Pain Inventory, BPI) [25] и индекс WOMAC [26]. Для выявления невропатической боли применяли опросники PainDETECT [27] и DN4 (Douleur Neuropathique en 4 Questions) [28]; депрессии и тревожности — госпитальную шкалу тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS) [29].

Развитие ПБ (≥ 30 мм по ВАШ) оценивали через 3 и 6 мес после 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 $> 1,9$. ОТ-реакцию проводили с использованием набора MMLV RT, содержащего обратную транскриптазу M-MLV, случайные гексануклеотидные праймеры и общую РНК, в соответствии с рекомендациями производителя («Евроген», Россия).

Количественная ПЦР в реальном времени. Применяли готовые праймеры и зонды для анализа TaqMan (Applied Biosystems, США) генов человека: *ACLY* (Hs00982738_m1), *ACC1*

(Hs01046047_m1), *MLYCD* (Hs00918031_m1), *FASN* (Hs01005622_m1) и *CPT1A* (Hs00912671_m1). Эндогенным контролем служил β -актин. Количественную оценку экспрессии генов проводили методом полимеразной цепной реакции (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 °C в течение 2 мин и начальной активации при 95 °C в течение 10 мин реакционные смеси подвергали 40 циклам амплификации (15 с при 95 °C для денатурации и 1 мин отжига и удлинения при 60 °C). Относительную экспрессию мРНК определяли методом $\Delta\Delta CT$, который подробно описан в инструкциях производителя (Applied Biosystems, США). Значение ΔCT рассчитывали путем вычитания значения CT для гена домашнего хозяйства β -актина из значения CT для каждого образца. Затем вычисляли $\Delta\Delta CT$ путем вычитания значения ΔCT для контроля (каждого здорового пациента) из значения ΔCT для каждого пациента с ОА. Каждую ПЦР проводили в двух повторностях. Три контроля были неизменно отрицательными для каждой реакции.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программы Statistica 10 for Windows и SPSS версии 22 (IBM, США), включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа. Для статистического анализа при отклонении от нормального распределения данных применяли ранговые корреляции Спирмена. Поскольку одна из групп включала менее 30 пациентов, при межгрупповых расчетах использовали непараметрический тест Манна–Уитни. Сравнение процентных соотношений проводили с помощью двустороннего Z-теста. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Клиническая характеристика больных ОА. Средний возраст пациентов с ОА ($n=50$) составил $67,6 \pm 7,5$ года, медиана длительности заболевания — 9,5 [5; 14,5] года. Пациенты имели III–IV стадию ОА по классификации Kellgren–Lawrence (35 — III стадию и 15 — IV), а также повышенный ИМТ (в среднем — $30,5 \pm 3,8$ кг/м²). Суммарный счет WOMAC колебался от 300 до 1435 мм (в среднем — 1064 ± 225 мм), тогда как интенсивность общей боли достигала в среднем $222,8 \pm 62,6$ мм, общая функциональная недостаточность — $746,5 \pm 159,6$ мм, общая скованность — $93,9 \pm 24,6$ мм.

В течение 6 мес перед ТЭ все пациенты испытывали постоянную боль в КС. Большинство больных ОА указали на легкую боль в покое (в среднем — $31,3 \pm 2,2$ мм), а 2 пациента — на сильную боль в покое (80 мм). По данным опросника BPI, средняя интенсивность боли перед операцией в обследованной когорте составила $4,8 \pm 1,1$. При оценке невропатической боли с использованием опросника DN4 ее медиана равнялась 2 [1; 2,5]. Один пациент имел невропатическую боль по данным опросника DN4 (> 4 баллов). Средний счет по опроснику PainDETECT составил $6,0 \pm 4,1$, у 1 пациента выявлена невропатическая боль (> 18 баллов). По HADS у 3 (0,06%) больных наблюдалась аномальная тревожность (> 11 баллов), а у 14 (28%) — пограничные уровни тревожности (8–10 баллов). Кроме того, у 9 (18%) пациентов имела депрессия (общая сумма баллов — 11–15),

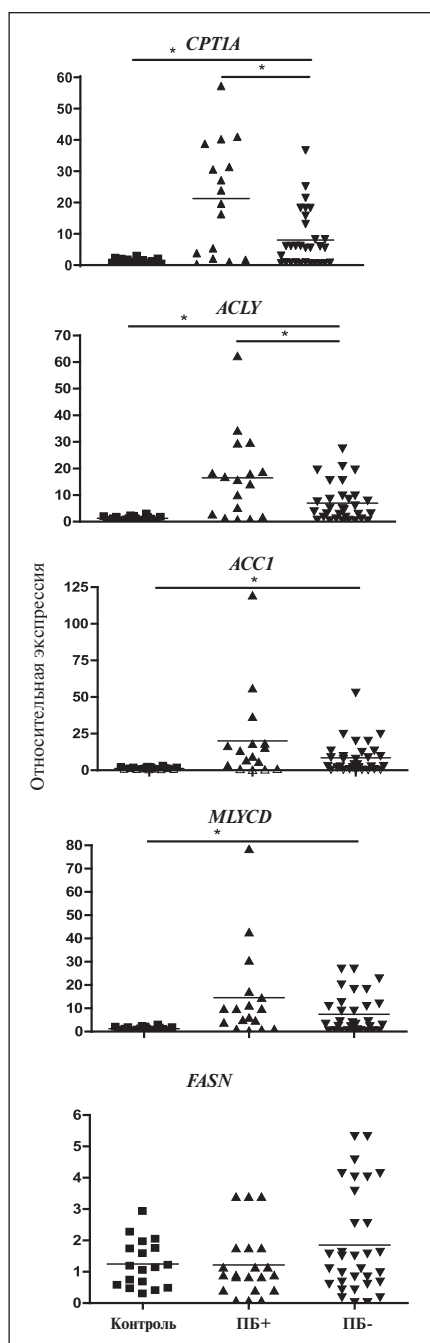


Рис. 1. Относительная экспрессия генов *CPT1A*, *ACLY*, *ACC1*, *MLYCD* и *FASN*, определенная с помощью ПЦР в реальном времени, в крови пациентов с ОА, имевших (ПБ+; $n=17$) и не имевших (ПБ-; $n=33$) ПБ, по сравнению с контролем ($n=26$). Уровни экспрессии генов в контроле приняты за 1,0, что необходимо для относительной количественной оценки в соответствии с протоколом ПЦР в реальном времени. * — значимые различия между группами пациентов с ОА

Fig. 1. Relative expression of *CPT1A*, *ACLY*, *ACC1*, *MLYCD* and *FASN* genes determined by real-time PCR in the blood of patients with OA who had (ПБ+; $n=17$) and did not have (ПБ-; $n=33$) POP compared to controls ($n=26$). Gene expression levels in the control were set to 1.0, which is required for relative quantification according to the real-time PCR protocol. * — significant differences between the groups of patients with OA

у 14 (28%) — пограничное состояние (8–10 баллов) по шкале депрессии HADS [9].

Через 3 мес после ТЭ у 17 (34%) пациентов отмечалась ПБ (в среднем — $34,3 \pm 2,3$ мм по ВАШ), которая сохранялась к 6-му месяцу наблюдения (в среднем — $38,6 \pm 2,5$ мм по ВАШ). В зависимости от наличия или отсутствия ПБ пациенты были распределены в две группы: с ПБ (1-я группа, $n=17$) и без ПБ (2-я группа, $n=33$).

Сравнение клинических характеристик пациентов обеих групп перед операцией подробно описано в нашем предыдущем исследовании [9]. При этом не выявлено значимых различий по большинству параметров. Однако у лиц с ПБ значимо чаще регистрировалась АГ, которая выявлена у 11 (65%) больных 1-й и у 10 (30%) больных 2-й группы (отношение шансов, ОШ 4,2; 95% доверительный интервал, ДИ 1,22–14,6; $p=0,019$). Кардиоваскулярные заболевания имелись у 6 больных: у 1 пациента 1-й группы был атеросклероз и у 5 больных 2-й группы — атеросклероз, кардиосклероз, ишемическая болезнь сердца, фибрилляция предсердий. Кроме того, наблюдались следующие тенденции: больные 1-й группы несколько чаще страдали ожирением 1-й степени ($p=0,08$) и тревожностью, по данным опросника HADS ($p=0,07$). Выраженность боли до операции оказалась незначительно выше у больных 2-й группы ($p=0,07$) [9].

Экспрессия генов в крови. Уровень большинства исследованных генов был значительно повышен в обеих группах пациентов с ОА по сравнению с контролем. В то же время экспрессия гена *FASN* в обеих группах больных ОА не отличалась от таковой у здоровых (рис. 1). У больных с ПБ выявлены статистически значимое повышение уровня генов *ACLY* ($p=0,0001$) и *CPT1A* ($p=0,01$), а также тенденция к более высокой экспрессии гена *ACC1* ($p=0,06$) по сравнению с таковой у пациентов без ПБ. Межгрупповых различий в уровнях генов *MLYCD* ($p=0,12$) и *FASN* ($p=0,23$) не обнаружено.

Корреляционный анализ экспрессии генов с биопсихосоциальными параметрами. Выявлены положительная связь между индексом PainDETECT и уровнем генов *ACLY*, *MLYCD*, *FASN* и *CPT1A*, а также тенденция к позитивной связи с экспрессией гена *ACC1* (см. таблицу). Степень тяжести боли по ВРП также положительно коррелировала с экспрессией генов *MLYCD* и *CPT1A*, а в отношении гена *ACLY* наблюдалась аналогичная тенденция. Кроме того, продемонстрирована положительная связь счета по DN4 с экспрессией генов *ACLY*, *CPT1A* и тенденция к позитивной связи данного показателя с уровнем генов *MLYCD* и *FASN*. Экспрессия гена *MLYCD* также положительно коррелировала с показателями ВРП и имела тенденцию к отрицательной связи с СОЭ. Кроме того, у этого показателя выявлена отрицательная корреляция с экспрессией гена *ACC1* и положительная с экспрессией *FASN*.

Наряду с этим большинство исследованных в настоящей работе генов показали высокий уровень статистически значимой положительной корреляции с экспрессией ранее изученных генов провоспалительных цитокинов — фактора некроза опухоли α (ФНО α) и интерлейкина (ИЛ)1 β , — катепсина S и K и генов энергетического метаболизма — *AMPK*, *PDH*, *ATP5B*, *PKM2*, *MDH*, *IDH*, *SDHB*, *IDH* и *UCP2* ($r=0,5–0,9$, $p<0,05$) [9, 11]. Исключение составил ген *FASN*, уровень которого положительно коррелировал только с концентрацией генов *LDHB*, *PDH*, *ATP5B* и *PKM2* ($r=0,4–0,7$, $p<0,05$), а с экспрессией остальных исследованных генов связи не обнаружено.

Чтобы оценить прогностическую ценность экспрессии генов *CPT1A* и *ACLY*, мы провели ROC-анализ (рис. 2), который подтвердил статистически значимую связь экспрессии указанных генов до ТЭ с вероятностью развития ПБ: пороговое значение экспрессии гена *CPT1A* составило 16,01 (AUC=0,719; 95% ДИ 0,588–0,773; $p=0,02$), а гена *ACLY* – 11,92 (AUC=0,727; 95% ДИ 0,647–0,818; $p=0,01$).

Обсуждение. Молекулярные механизмы, обуславливающие влияние метаболизма ЖК на развитие ПБ у больных ОА КС, неясны. Однако показано, что нарушение соотношения в составе внутриклеточных ЖК способствует повышению содержания провоспалительных липидов, особенно в жировой ткани, что связано с усилением боли и нарушением функции КС [30]. Но поскольку иммунная система играет значительную роль в патогенезе ОА, растворимые (цитокины и хемокины) и клеточные (моноциты и макрофаги) медиаторы воспаления участвуют в разрушении суставного хряща, развитии синовита и нарушении ремоделирования кости [31]. Поэтому наши данные о статистически значимо повышенной экспрессии большинства исследованных генов метаболизма ЖК, за исключением *FASN*, в крови больных обеих групп с поздней стадией ОА по сравнению со здоровыми лицами согласуются с приведенными выше сведениями о взаимосвязи нарушения метаболизма ЖК и клинических проявлений ОА.

Суть этих нарушений заключается в том, что в результате повышенной экспрессии переносчика ДЦ ЖК *CPT1A* в митохондриях больных ОА КС в процессе β -окисления продуцируется большое количество ацетил-КоА. Дополнительно ацетил-КоА образуется в гликолизе, активность которого у больных ОА обеих групп значительно выше, чем у здоровых лиц, что было показано нами ранее [11]. После конденсации ацетил-КоА с оксалоацетатом образуется цитрат, который может окисляться в цикле Кребса, а также переноситься в цитозоль и расщепляться посредством *ACLY* с образованием ацетил-КоА и оксалоацетата [19]. Поскольку экспрессия *ACLY* у больных ОА значительно выше, чем у здоровых лиц, то в цитоплазме клеток крови повышается концентрация ацетил-КоА. На следующем этапе ацетил-КоА карбоксилируется при участии АСС в малонил-КоА, однако экспрессия гена, ответственного за скорость обратной реакции, катализируемой *MLYCD*, также значительно повышена у больных ОА по сравнению с контролем, что приводит к возникновению бесполезного (futile) цикла [32]. Вследствие этого в клетках крови у всех больных с поздней стадией ОА накапливается большое количество ацетил-КоА. Следует отметить, что при ревматоидном артрите (РА) также наблюдалось перемещение значительных количеств ацетил-КоА из митохондрий в цитоплазму клеток для поддержания синтеза липидов *de novo* [33]. Кроме того, показано, что избыток ацетил-КоА определял провоспалительный фенотип Т-лимфоцитов в результате ацетилирования цитоскелета [34]. Напротив, деацетилирование белков при активации NAD^+ -зависимой деацетилазы (SIRT1) ресвератролом замедляло прогрессирование ОА, в том числе вследствие его противовоспалительного действия [35].

Коэффициенты корреляции по Спирмену между биопсихосоциальными показателями и экспрессией генов и их значимость (p), оцененные до проведения ТЭ ($n=50$)
Spearman correlation coefficients between biopsychosocial indicators and gene expression and their significance (p), assessed before TA ($n=50$)

Показатель	<i>ACLY</i>	<i>ACC1</i>	<i>MLYCD</i>	<i>FASN</i>	<i>CPT1A</i>
ИМТ			0,387 $p=0,04$		
DN4	0,393 $p=0,04$		0,325 $p=0,09$	0,447 $p=0,08$	0,409 $p=0,03$
PainDETECT	0,400 $p=0,04$	0,359 $p=0,07$	0,580 $p=0,001$		0,614 $p<0,001$
BPI (тяжесть боли)	0,335 $p=0,09$		0,450 $p=0,01$		0,469 $p=0,01$

Кроме того, наши данные об особенностях метаболизма ЖК в клетках крови больных с поздней стадией ОА согласуются с ранее полученными результатами других исследований, показавших, что при хроническом воспалении, например при РА, повышается скорость транспорта ДЦ ЖК в эффекторные Т-лимфоциты [36]. В то же время высокая экспрессия

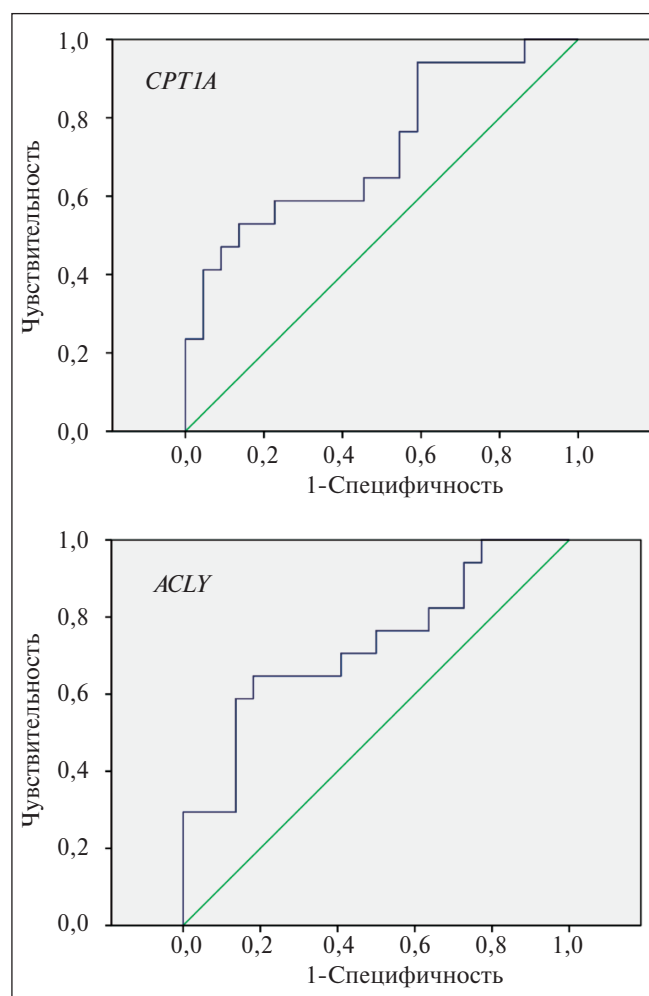


Рис. 2. Область под кривой (AUC), демонстрирующая связь экспрессии генов *CPT1A* и *ACLY* с развитием ПБ

Fig. 2. Area under the curve (AUC) demonstrating association between *CPT1A* and *ACLY* gene expression and the development of POP

гена *CPT1A* может оказывать противовоспалительное действие, поскольку активация *CPT1A* L-карнитином подавляла синовит в фибробластах крыс с ОА КС на модели, индуцированной повреждением передней крестообразной связки (ACLT) [37].

Интересно, что экспрессия гена *FASN*, определяющая скорость синтеза ЖК *de novo*, в обеих группах больных ОА не отличалась от контроля, возможно, вследствие высокой экспрессии гена *MLYCD*, продукт которого препятствует дальнейшей полимеризации малонил-КоА. Поэтому слабое воспаление при ОА, возможно, связано с отсутствием избыточного синтеза ДЦ ЖК *de novo*, необходимого для построения клеточных мембран при активации пролиферации Т-лимфоцитов [38]. Это также подтверждается тем, что ингибирование синтеза ДЦ ЖК подавляло дифференцировку Th17-клеток и улучшало состояние животных при артрите, индуцированном коллагеном [39].

В то же время развитие ПБ у больных с поздней стадией ОА, вероятно, связано с более высокой степенью дисбаланса метаболизма ЖК, обусловленного значительно более высокой экспрессией *CPT1A* и *ACLY* по сравнению с больными, удовлетворенными результатами ТЭ, которая приводит к более высокой концентрации ацетил-КоА в клетках крови. Это увеличивает вероятность неэнзиматического, а потому неконтролируемого, ацетилирования белковых молекул [40], которое увеличивает долю ацетилированной фракции [41] и приводит к нарушению их функций [42].

Связь метаболизма ЖК с развитием ПБ подтверждается положительной корреляцией экспрессии гена *MLYCD* с ИМТ, а также результатами предыдущих исследований, свидетельствующих о том, что снижение массы тела уменьшало боль у

больных ОА КС [43]. Более того, положительная корреляция экспрессии генов *MLYCD* и *CPT1A* с тяжестью боли по опроснику ВР1, а экспрессии генов *ACLY*, *MLYCD* и *CPT1A* с показателями опросников невропатической боли в крови больных с III–IV стадией ОА позволяет судить о возможном вовлечении нейрогенных механизмов в развитие ПБ на поздней стадии заболевания.

Следует также отметить, что, как и в случае ранее исследованных нами генов метаболизма углеводов, деградации внеклеточного матрикса, воспаления и апоптоза, связанных с ПБ у данной когорты больных [9, 11], качественных различий в экспрессии генов между обследованными группами не наблюдалось. Однако превышение пороговых значений экспрессии генов *CPT1A* и *ACLY*, которое можно определить перед ТЭ, ассоциировалось с ПБ. Поэтому с помощью определения уровня этих генов в крови перед операцией можно прогнозировать развитие ПБ.

Заключение. Таким образом, развитие ПБ у больных с поздней стадией ОА КС ассоциируется с избыточной экспрессией гена *CPT1A*, увеличивающей поступление ЖК в митохондрии, а также с накоплением ацетил-КоА, продукта высокой экспрессии гена *ACLY*. Эти показатели можно оценивать в крови больных ОА перед ТЭ.

Для подтверждения наших выводов о вовлечении метаболизма ЖК в развитие ПБ необходимы более детальные исследования с участием больших когорт пациентов. Полученные в настоящем исследовании результаты будут способствовать более глубокому пониманию участия метаболических процессов в патогенезе ОА.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Sharma L. Osteoarthritis of the Knee. *N Engl J Med*. 2021 Jan 7;384(1):51–59. doi: 10.1056/NEJMcip1903768.
- Hunter DJ, March L, Chew M. Osteoarthritis in 2020 and beyond: a lancet commission. *Lancet*. 2020 Nov 28;396(10264):1711–1712. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32230-3. Epub 2020 Nov 4.
- Turkiewicz A, Petersson IF, Bjork J, et al. Current and future impact of osteoarthritis on health care: a population-based study with projections to year 2032. *Osteoarthritis Cartilage*. 2014 Nov;22(11):1826–32. doi: 10.1016/j.joca.2014.07.015. Epub 2014 Jul 30.
- Hunter DJ, Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis. *Lancet*. 2019 Apr 27;393(10182):1745–1759. doi: 10.1016/S0140-6736(19)30417-9.
- Jang S, Lee K, Ju JH. Recent updates of diagnosis, pathophysiology, and treatment on osteoarthritis of the knee. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 5;22(5):2619. doi: 10.3390/ijms22052619.
- Kurtz S, Ong K, Lau E, et al. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *J Bone Joint Surg Am*. 2007 Apr;89(4):780–5. doi: 10.2106/JBJS.F.00222.
- Wylde V, Hewlett S, Learmonth ID, Dieppe P. Persistent pain after joint replacement: prevalence, sensory qualities, and post-operative determinants. *Pain*. 2011 Mar;152(3):566–572. doi: 10.1016/j.pain.2010.11.023. Epub 2011 Jan 15.
- Santaguida PL, Hawker GA, Hudak PL, et al. Patient characteristics affecting the prognosis of total hip and knee joint arthroplasty: a systematic review. *Can J Surg*. 2008 Dec;51(6):428–36.
- 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
- Четина ЕВ, Маркова ГА. 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. Type 2 diabetes mellitus in osteoarthritis: is there a connection between metabolic disorders and joint destruction and pain syndrome? *Biomeditsinskaya khimiya*, 2019;65(6):441–456. (In Russ.).]
- 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. [Chetina EV, Markova GA, Glemba KE, Markarov 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. (In Russ.)). doi: 10.14412/1996-7012-2024-1-21-27
12. Jansen NEJ, Molendijk E, Schiphof D, et al. Metabolic syndrome and the progression of knee osteoarthritis on MRI. *Osteoarthritis Cartilage*. 2023 May;31(5):647-655. doi: 10.1016/j.joca.2023.02.003. Epub 2023 Feb 16.
13. Niu J, Clancy M, Aliabadi P, et al. Metabolic Syndrome, Its Components, and Knee Osteoarthritis: The Framingham Osteoarthritis Study. *Arthritis Rheumatol*. 2017 Jun;69(6):1194-1203. doi: 10.1002/art.40087. Epub 2017 May 8.
14. Chen L, Zheng JJY, Li G, et al. Pathogenesis and clinical management of obesity-related knee osteoarthritis: Impact of mechanical loading. *J Orthop Translat*. 2020 May 15;24:66-75. doi: 10.1016/j.jot.2020.05.001. eCollection 2020 Sep.
15. Raud B, Gay C, Guiguet-Auclair C, et al. Level of obesity is directly associated with the clinical and functional consequences of knee osteoarthritis. *Sci Rep*. 2020 Feb 27;10(1):3601. doi: 10.1038/s41598-020-60587-1.
16. Stryer L. Fatty acid metabolism. In: Biochemistry. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company; 1995. P. 603–628.
17. Zechner R, Strauss JG, Haemmerle G, et al. Lipolysis: pathway under construction. *Curr Opin Lipidol*. 2005 Jun;16(3):333-40. doi: 10.1097/01.mol.0000169354.20395.1c.
18. Anderson CM, Stahl A. SLC27 fatty acid transport proteins. *Mol Aspects Med*. 2013 Apr-Jun;34(2-3):516-28. doi: 10.1016/j.mam.2012.07.010.
19. Zaidi N, Swinnen JV, Smans K. ATP-citrate lyase: a key player in cancer metabolism. *Cancer Res*. 2012 Aug 1;72(15):3709-3714. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-4112.
20. Ferre P, Fougelle F. SREBP-1c Transcription Factor and Lipid Homeostasis: Clinical Perspective. *Horm Res*. 2007;68(2):72-82. doi: 10.1159/000100426. Epub 2007 Mar 5.
21. Qian X, Yang Z, Mao E, Chen E. Regulation of fatty acid synthesis in immune cells. *Scand J Immunol*. 2018 Nov;88(5):e12713. doi: 10.1111/sji.12713.
22. Sacksteder KA, Morrell JC, Wanders RJ, et al. MCD encodes peroxisomal and cytoplasmic forms of malonyl-CoA decarboxylase and is mutated in malonyl-CoA decarboxylase deficiency. *J Biol Chem*. 1999 Aug 27;274(35):24461-8. doi: 10.1074/jbc.274.35.24461.
23. 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.
24. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis*. 1957 Dec;16(4):494-502. doi: 10.1136/ard.16.4.494.
25. Cleeland CS, Ryan KM. Pain assessment: global use of the Brief Pain Inventory. *Ann Acad Med Singap*. 1994 Mar;23(2):129-138.
26. Bellamy N. WOMAC Osteoarthritis Index: A User's Guide. London: University of Western Ontario; 1995.
27. 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.
28. 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.
29. 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.
30. Sibille KT, King C, Garrett TJ, et al. Omega-6: Omega-3 PUFA Ratio, Pain, Functioning, and Distress in Adults With Knee Pain. *Clin J Pain*. 2018 Feb;34(2):182-189. doi: 10.1097/AJP.0000000000000517.
31. Loukov D, Karampatos S, Maly MR, Bowdish DME. Monocyte activation is elevated in women with knee-osteoarthritis and associated with inflammation, BMI and pain. *Osteoarthritis Cartilage*. 2018 Feb;26(2):255-263. doi: 10.1016/j.joca.2017.10.018.
32. Shi L, Tu BP. Acetyl-CoA and the regulation of metabolism: mechanisms and consequences. *Curr Opin Cell Biol*. 2015 Apr;33:125-131. doi: 10.1016/j.ceb.2015.02.003. Epub 2015 Feb 20.
33. Raud B, McGuire PJ, Jones RG, et al. Fatty acid metabolism in CD8⁺ T cell memory: Challenging current concepts. *Immunol Rev*. 2018 May;283(1):213-231. doi: 10.1111/imr.12655.
34. Qiu J, Wu B, Goodman SB, et al. Metabolic Control of Autoimmunity and Tissue Inflammation in Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol*. 2021 Apr 2;12:652771. doi: 10.3389/fimmu.2021.652771. eCollection 2021
35. Deng Z, Li Y, Liu H, et al. The role of sirtuin 1 and its activator, resveratrol in osteoarthritis. *Biosci Rep*. 2019 May 10;39(5):BSR20190189. doi: 10.1042/BSR20190189. Print 2019 May 31.
36. O'Sullivan D, van der Windt GJW, Huang SC, et al. Memory CD8⁺ T cells use cell-intrinsic lipolysis to support the metabolic programming necessary for development. *Immunity*. 2014 Jul 17;41(1):75-88. doi: 10.1016/j.immuni.2014.06.005. Epub 2014 Jul 4.
37. Liao T, Mei W, Zhang L, et al. L-carnitine alleviates synovitis in knee osteoarthritis by regulating lipid accumulation and mitochondrial function through the AMPK-ACC-CPT1 signaling pathway. *J Orthop Surg Res*. 2023 May 26;18(1):386. doi: 10.1186/s13018-023-03872-9.
38. Endo Y, Asou HK, Matsugae N, et al. Obesity drives Th17 cell differentiation by inducing the lipid metabolic kinase, ACC1. *Cell Rep*. 2015 Aug 11;12(6):1042-1055. doi: 10.1016/j.celrep.2015.07.014. Epub 2015 Jul 30.
39. Miao Y, Wu X, Xue X, et al. Morin, the PPAR agonist, inhibits Th17 differentiation by limiting fatty acid synthesis in collagen-induced arthritis. *Cell Biol Toxicol*. 2023 Aug;39(4):1433-1452. doi: 10.1007/s10565-022-09769-3.
40. Paik WK, Pearson D, Lee HW, Kim S. Nonenzymatic acetylation of histones with acetyl-CoA. *Biochim Biophys Acta*. 1970 Aug 8;213(2):513-522. doi: 10.1016/0005-2787(70)90058-4.
41. Shi L, Tu BP. Protein acetylation as a means to regulate protein function in tune with metabolic state. *Biochem Soc Trans*. 2014 Aug;42(4):1037-1042. doi: 10.1042/BST20140135.
42. Wagner GR, Hirschey MD. Nonenzymatic protein acylation as a carbon stress regulated by sirtuin deacylases. *Mol Cell*. 2014 Apr 10;54(1):5-16. doi: 10.1016/j.molcel.2014.03.027.
43. Richette P, Poitou C, Garnero P, et al. Benefits of massive weight loss on symptoms, systemic inflammation and cartilage turnover in obese patients with knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011 Jan;70(1):139-44. doi: 10.1136/ard.2010.134015. Epub 2010 Oct 26.

Поступила/отрецензирована/принята к печати

Received/Reviewed/Accepted

16.02.2024/01.04.2024/05.04.2024

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.

The work was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of Russia (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>