

Диагностические биомаркеры для объективного измерения уровня боли

Согласно Международной ассоциации по изучению боли (IASP), боль – это неприятное чувство и эмоциональное переживание, связанное с явной или потенциальной угрозой повреждения тканей или описываемое в терминах такого повреждения [1]. По статистике, более 70% всех существующих болезней сопровождаются болью той или иной степени интенсивности, которой подвержены 64% людей в мире. Каждый пятый трудоспособный человек страдает от боли.

Основной функцией боли является защита организма. С точки зрения эволюции, если бы человек не чувствовал боли (например, укус змеи, термический ожог и др.), то люди просто бы не выжили. Существует редкое тяжелое генетическое заболевание – врожденная аналгезия, обладатели которого не чувствуют боли. Сейчас в мире от этого недуга страдает несколько сотен человек. Известен также синдром Марсили с уникальным механизмом наследования, при котором от поколения к поколению переходит нечувствительность к боли [2].

Раньше такие люди вообще не выживали, а сейчас они находятся под наблюдением врачей. Однако даже в таких условиях выживают немногие, так как боль сигнализирует не только о внешних, но и о внутренних нарушениях (заболевание сердца, аппендицит и др.). Комплексным изучением проблем боли занимается такая отрасль медицины, как алгология, которая находится на стыке научных дисциплин, имеющих непосредственное отношение к боли: травматологии, анестезиологии, онкологии, нейрохирургии, неврологии, психиатрии, эпидемиологии и др.

Классификация боли

Среди существующих многочисленных классификаций боли выделяют ноцицептивную, нейропатическую и дисфункциональную (табл. 1).

С точки зрения нейробиологии боль имеет три совершенно разных компонента. Есть боль, которая является ранней физиологической защитой системы. Эта боль называется **ноцицептивной** (рис. 1А). Ее чувствуют при прикосновении к чему-то горячему, холодному или острому. Она связана с активацией болевых рецепторов вследствие повреждения тканей и соответствует степени тканевого повреждения и длительности действия повреждающих факторов, а затем полностью регрессирует после заживления (послеоперационная боль, при травме, стенокардия у больных с ИБС, боль при язвенной болезни желудка, артритах и миозитах). Нейробиологический аппарат, вызывающий ноцицептивную боль, имеется даже у самой примитивной нервной системы.

Следующий вид боли – **воспалительная**. Она имеет адаптивный и защитный механизмы. Эта боль вызвана активацией иммунной системы в результате повреждения ткани или инфекции, что и вызывает воспалительную реакцию. Макрофаги, тучные клетки и нейтрофилы выделяют многочисленные медиаторы воспаления (рис. 1Б). Те воздействуют на ноцицепторы и повышают их чувствительность (рис. 1Б). Цель воспалительной боли – не допустить дополнительной травматизации тканей и обеспечить оптимальные условия для их заживления.

Нейропатическая боль возникает при повреждении или органическом заболевании периферических либо центральных звеньев соматосенсорной нервной системы (при травме нерва, диабетической полинейропатии, постгерпетической невралгии, травме спинного мозга, церебральном

инсульте, рассеянном склерозе, сирингомиелии и др.). Нейропатическая боль, в отличие от ноцицептивной и воспалительной, не является сигналом о повреждении тканей и не имеет защитной функции. Ее причина – возникновение патологических изменений в самой нервной системе на разных уровнях.

Боль, которая не защищает, является дезадаптивной или патологической (**дисфункциональной**) болью (рис. 1В). Патогенез заключается в том, что эта боль обусловлена изменением функционального состояния, в первую очередь, церебральных систем, участвующих в контроле боли. Главное отличие дисфункциональной боли от ноцицептивной и нейропатической заключается в том, что при традиционном обследовании не удается выявить причину боли или органические заболевания, которые могли бы объяснить происхождение боли. Основными факторами, способствующими развитию этого типа боли, являются не органические заболевания или повреждения, а психологические, социальные факторы и эмоциональный стресс. К типичным примерам такой боли относятся фибромиалгия, головная боль напряжения, психогенная боль и др. [15].

В зависимости от длительности течения боль классифицируют на острую и хроническую (табл. 2).

Острая боль – это сигнал о повреждении ткани, в основе которого лежит местный патологический процесс, связанный с травмой, воспалением, инфекцией, который имеет временное течение. Острая боль полезна и адаптивна, потому что это жизненное физиологическое восприятие, приводящее человека в готовность к какому-то вредоносному агенту в окружающей среде, которого необходимо избежать. Хроническая боль продолжается более 3-6 месяцев, т.е. больше обычного периода заживления тканей. Она утрачивает свое полезное сигнальное значение и может приобрести черты болезни.

Диагностика боли и оценка ее интенсивности

До настоящего времени в медицине не было способа определения интенсивности болевых ощущений. Существует несколько шкал для оценки болевого синдрома. Все они основаны на субъективном описании боли, поэтому сравнения от индивида к индивиду затруднены, так как боль является многомерным и сложным явлением. Существуют шкалы по оценке только интенсивности и уменьшения боли, например Визуально-аналоговая шкала, или ВАШ (англ. VAS), а также многомерные шкалы, по которым оценивают не только интенсивность боли, но и другие ее характеристики (эмоциональные, аффективные, когнитивные и социальные).

Основным методом оценки боли является применение шкалы VAS (рис. 2).

Шкала VAS позволяет выполнить некоторое сравнение и облегчает оценку эффективности лечения. Простота использования VAS привела к ее широкому распространению для измерения интенсивности боли в клинических исследованиях.

Таблица 1. Классификация видов боли

Виды боли		
Ноцицептивная	Нейропатическая (повреждение нервных структур)	Дисфункциональная
Переломы, травмы, ушибы	Кора больших полушарий	Фибромиалгия
Воспаление	Зрительный бугор	Психогенная боль
Миофасциальный болевой синдром	Столб мозга	Головная боль напряжения
Суставной синдром – дегенеративные изменения в суставах	Проводники спинного мозга	
	Задние рога спинного мозга	
	Нервный корешок	
	Периферический нерв	

Таблица 2. Классификация боли по временному признаку [16]

Боль	Длительность
Острая	Длительность боли не превышает 6 недель
Подострая	Боль, сохраняющаяся от 6 до 12 недель
Хроническая	Боль длительностью от 12 недель и более
Рецидив боли	Боль не возникала в течение не менее 6 месяцев
Обострение хронической боли	Боль возобновилась через короткий промежуток времени

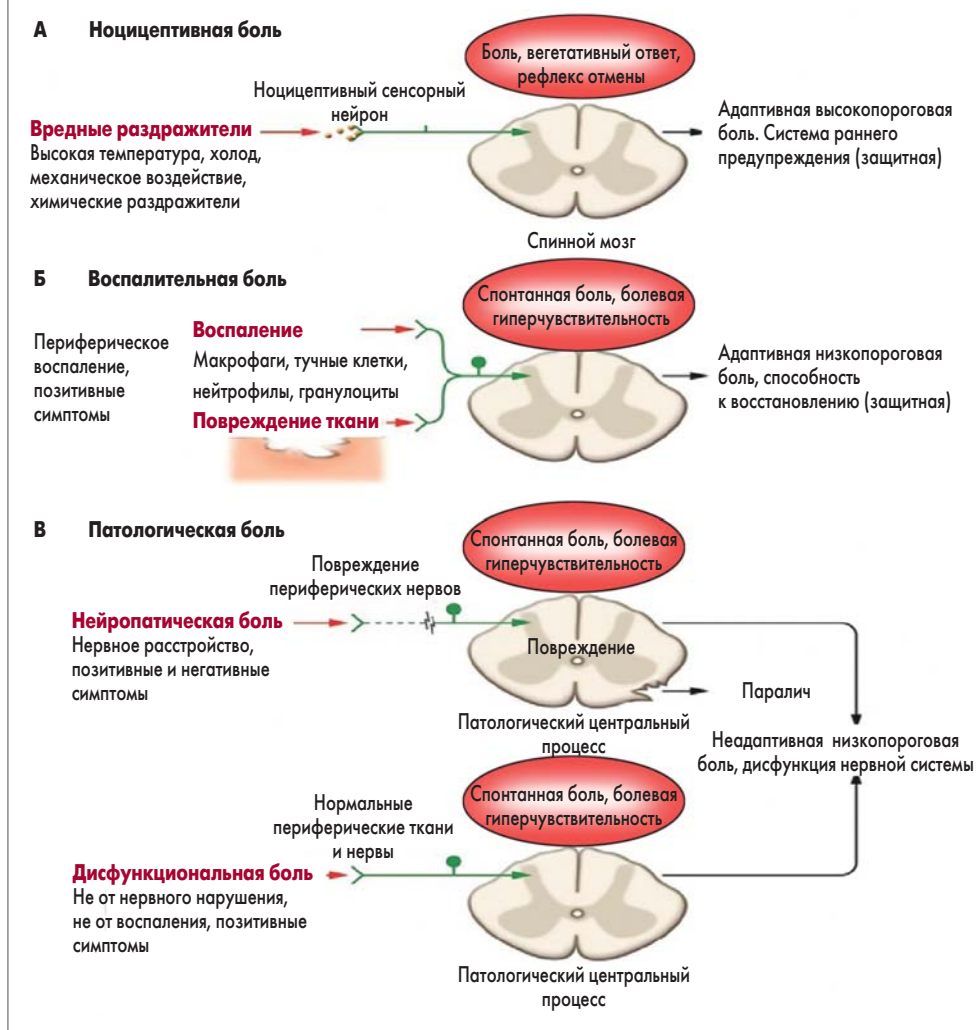


Рис. 1. Классификация видов боли

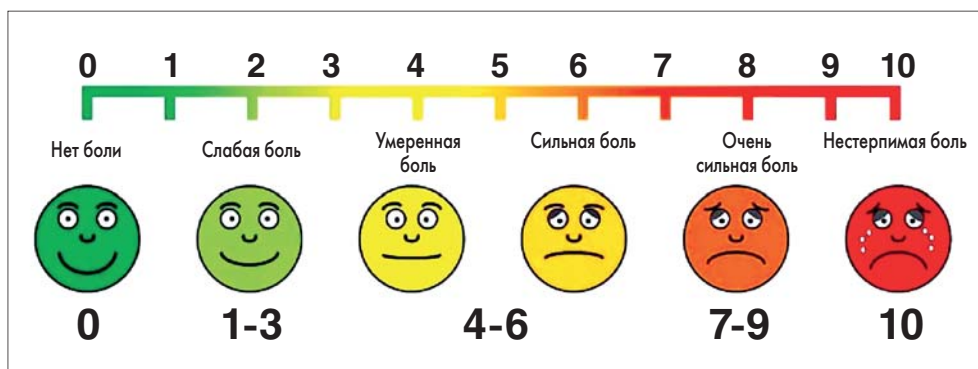


Рис. 2. Визуально-аналоговая шкала оценки интенсивности боли

Кроме того, балльная система VAS по оценке интенсивности боли имеет высокую чувствительность к изменениям в уровне боли, особенно – при острых болевых состояниях. Однако при оценке хронической боли существуют определенные ограничения. При хронических болевых синдромах VAS имеет достоверно низкую чувствительность из-за широкого разнообразия между пациентами по причине эмоционального, аффективного и когнитивного ответа на боль.

Объективное измерение боли с использованием биомаркеров

Биомаркеры становятся важными инструментами при заболеваниях, где субъективное мнение пациента и/или собственное клиническое впечатление врача не всегда надежны.

В 2019 г. в статье А. Niculescu и соавт. [17] сообщается о том, что исследователям удалось идентифицировать биомаркеры экспрессии генов, которые имеют отношение к боли. Ученые применили оценку боли по шкале VAS и провели анализ экспрессии генов у пациентов с низким (боль по VAS ≤2 из 10) и высоким уровнями боли (боль по VAS ≥6 из 10).

В работе в качестве биологического материала использовали цельную кровь (2,5-5 мл), которую собирали в пробирки PaxGene (содержат фирменные реагенты для стабилизации РНК) с помощью обычной венепункции. РНК экстрагировали по специальному протоколу. Далее по технологии microarray-анализа биотин-меченные РНК были гибридизированы с Affymetrix HG-U133 Plus 2.0 GeneChips (Affymetrix: более 40 000 генов). Матрицу окрашивали с использованием стандартных протоколов Affymetrix для усиления сигнала и сканировали на Affymetrix GeneArray 2500 сканере.

Microarray-анализ

Микроаггау-анализ или ДНК-микрочип представляет собой сложную технологию, используемую в медицине и молекулярной биологии. ДНК-микрочип – это небольшая поверхность, на которую с большой плотностью и в определенном порядке нанесены фрагменты одноцепочечной синтетической ДНК с известной последовательностью. Эти фрагменты выступают в роли зондов, с которыми связываются (гибридизируются) комплементарные им цепи ДНК из исследуемого образца, меченные флуоресцентным красителем. Содержание индивидуальных кДНК (кодирующая ДНК) в образце прямо пропорционально содержанию их мРНК и уровню активности соответствующих генов. Чем больше в растворе кДНК данного вида, тем больше ее прикрепляется к своей точке. Далее специальное сканирующее устройство определяет содержание кДНК в каждой точке микрочипа, а программа

Таблица 3. Исследование экспрессии 65 биомаркеров как генов-кандидатов боли					
№ п/п	Ген, символ/название	№ п/п	Ген, символ/название	№ п/п	Ген, символ/название
1	GNG7 G Protein subunit gamma 7	23	CLSPN Claspin	45	HLA-DQB1 Major histocompatibility complex, class II, DQ Beta 1
2	CNTN1 Contactin 1	24	COL2A1 Collagen type II alpha 1 chain	46	LOXL2 Lysyl oxidase like 2
3	LY9 Lymphocyte antigen 9	25	HLA-DQB1 Major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	47	MBNL3 Muscleblind like splicing regulator 3
4	CCDC144B Coiled-coil domain containing 144B (pseudogene)	26	Hs.554262	48	PTN Pleiotrophin
5	GBP1 Guanylate binding protein 1	27	PIK3CD Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit delta	49	RALGAP2 Ral GTPase activating protein catalytic alpha subunit 2
6	MFAP3 Microfibril associated protein 3	28	SVEP1 Sushi, von Willebrand factor type A, EGF And pentraxin domain containing 1	50	YBX3 Y-Box binding protein 3
7	CASP6 Caspase 6	29	TNFRSF11B TNF receptor superfamily member 11b	51	ZNF441 Zinc finger protein 441
8	COMT Catechol-Omethyltransferase	30	ZNF91 zinc finger protein 91	52	CCND1 Cyclin D1
9	RAB33A RAB33A, member RAS oncogene family	31	CDK6 Cyclin dependent kinase 6	53	CDK6 Cyclin-dependent kinase 6
10	ZYX Zyxin	32	EDN1 Endothelin 1	54	COMT Catechol-Omethyltransferase
11	MTERF1 Mitochondrial transcription termination factor 1	33	PPFIBP2 PPFIA binding protein 2	55	HTR2A 5-Hydroxytryptamine receptor 2A
12	COL27A1 Collagen type XXVII alpha 1 chain	34	DCAF12 DDB1 and CUL4 associated factor 12	56	NF1 Neurofibromin 1
13	HRAS HRas protooncogene, GTPase	35	DNAJC18 DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C18	57	SHMT1 Serine hydroxymethyltransferase 1
14	CALCA Calcitonin related polypeptide alpha	36	HLA-DRB1 Major histocompatibility complex, class II, DR Beta 1	58	TSPO Translocator protein
15	Protein phosphatase 1 regulatory inhibitor subunit 14B	37	SEPT7P2 Septin 7 pseudogene 2	59	DENND1B DENN domain containing 1B
16	ASTN2 Astrotactin 2	38	VEGFA Vascular endothelial growth factor A	60	MCRS1 Microspherule protein 1
17	ELAC2 ElaC ribonuclease Z 2	39	WNK1 WNK lysine deficient protein kinase 1	61	OSBP2 Oxysterol binding protein 2
18	HLA-DQB1 Major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	40	PBRM1 Polybromo1	62	FAM134B Family with sequence similarity 134 member B
19	PNOC Prepronociceptin	41	SFPQ Splicing factor proline and glutamine rich	63	ZNF429 Zinc finger protein 429
20	TCF15 Transcription factor 15 (Basic helixloop-helix)	42	PHC3 Polyhomeotic homolog 3	64	SMURF2 SMAD specific E3 ubiquitin protein ligase 2
21	TOP3A Topoisomerase (DNA) III alpha	43	CCDC85C Coiled-coil domain containing 85C	65	HLA-DQB1 Major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1
22	LRRC75A Leucine rich repeat containing 75A	44	GSPT1 G1 To S phase transition 1		

соотносит его с названием гена, представленного данной точкой. Результатом ДНК-микрочипового исследования является матрица из точек, интенсивность которых прямо пропорциональна активности соответствующих генов (рис. 3).

А. Niculescu и соавт. исследовали экспрессию 65 маркеров как генов-кандидатов боли (табл. 3). У некоторых из этих биологических маркеров отмечается усиление экспрессии при сильной боли (гены риска), а у других – снижение экспрессии (защитные гены или болеутоляющие гены).

В работе удалось идентифицировать биомаркеры экспрессии генов, которые прогнозируют боль у пациентов. Наиболее убедительные данные в отношении как потенциальных предикторов боли, так и наличия признаков причастности к боли

были собраны для следующих биомаркеров: GNG7, CNTN1, LY9, CCDC144B, GBP1 и MFAP3.

Выводы

Проблема боли занимает в медицине центральное место. До последнего времени в оценке уровня боли врачам приходилось полагаться только на жалобы пациента и его поведение. Разработанный учеными из США метод объективно предоставляет врачу информацию относительно боли, которую испытывает пациент. Данный метод основан на анализе большой панели биомаркеров с применением технологии Микроаггау. Для этого из образца крови пациента выделяют РНК (рибонуклеиновую кислоту) и анализируют с использованием специального биочипа. При компьютерной обработке сравнивают картину

экспрессии генов с соответствующими эталонами. В результате происходит оценка уровня боли и классификация ее типа. Кроме этого предлагается лекарственный препарат, который в данной ситуации может стать болеутоляющим. Это исследование имеет огромное значение для пациентов, которым назначают сильные опиоидные препараты, вызывающие привыкание, что в конечном итоге приводит к низкой эффективности таких средств. Благодаря этой научной работе, в ближайшее время болеутоляющие препараты можно будет назначать на основе анализа крови, а обнаруженные биомаркеры сопоставлять с возможными вариантами лечения для максимальной эффективности терапии.

Список литературы находится в редакции.



Рис. 3. Принцип измерения уровня экспрессии РНК для каждого гена (гибридизация мРНК с зондом – комплементарной ДНК последовательностью, закрепленной на чипе)