

УДК 615.828:616.8-009.7+577.21
<https://doi.org/10.32885/2220-0975-2024-3-58-65>

© А. А. Сафиуллина, Г. В. Черепнев,
Г. И. Сафиуллина, Р. А. Власенкова, 2024

Полногеномное профилирование экспрессии генов в выборочных биоптатах мышечной ткани при миофасциальном болевом синдроме (пилотное сравнение транскриптомов мышечных биоптатов)

А. А. Сафиуллина^{1,*}, Г. В. Черепнев¹, Г. И. Сафиуллина¹, Р. А. Власенкова²

¹ Казанская государственная медицинская академия — филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования
420012, Казань, ул. Бутлерова, д. 36

² Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета
420008, Казань, ул. Кремлевская, д. 18



Введение. Миофасциальный болевой синдром (МФБС) является одной из наиболее частых патологий опорно-двигательного аппарата, вызывающих хронические боли. Этот вид боли достигает пика распространенности у лиц среднего возраста, женщины болеют в 2,5 раза чаще мужчин. Заболевание ведет к значительной потере трудоспособности и является не только медицинской, но и социальной проблемой. В то же время, ряд авторов до сих пор отмечают невысокую клиническую эффективность применяемых схем терапии. В данной ситуации является востребованным дальнейшее изучение патогенеза МФБС, в частности генетических аспектов реализации данного состояния.

Цель исследования — выполнить полногеномное профилирование экспрессии генов (исследование транскриптома) в выборочных биоптатах мышечной ткани отдельных пациентов с МФБС.

Материалы и методы. Для изучения генетических аспектов реализации МФБС было проведено профилирование экспрессии генов в образцах мышечной ткани методом полногеномного РНК секвенирования (RNA-Seq) у 5 пациентов с МФБС плечелопаточной области (2 пациента — с активной формой, 3 — с латентной).

Результаты. В результате транскриптомного анализа образцов мышечной ткани из зоны МФБС было выявлено статистически значимое 6–10-кратное увеличение экспрессии гена ENSG00000148677:ANKRD1 (ankyrin repeat domain 1) у обследованных с латентной формой МФБС в сравнении с пациентами с активной формой.

* Для корреспонденции:

Айгуль Айдаровна Сафиуллина

Адрес: 420012 Казань, ул. Бутлерова, д. 36,
Казанская государственная медицинская академия — филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования

E-mail: aigulsafiullina@mail.ru

* For correspondence:

Aigul A. Safiullina

Address: Kazan State Medical Academy —
Branch Campus of the Russian Medical Academy
of Continuing Professional Education,
bld. 36 ul. Butlerova, Kazan, Russia 420012

E-mail: aigulsafiullina@mail.ru

Для цитирования: Сафиуллина А. А., Черепнев Г. В., Сафиуллина Г. И., Власенкова Р. А. Полногеномное профилирование экспрессии генов в выборочных биоптатах мышечной ткани при миофасциальном болевом синдроме (пилотное сравнение транскриптомов мышечных биоптатов). Российский остеопатический журнал. 2024; 3: 58–65. <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2024-3-58-65>

For citation: Safiullina A. A., Cherepnev G. V., Safiullina G. I., Vlasenkova R. A. Full genomic profiling of gene expression in selected muscle tissue biopsy specimens from myofascial pain syndrome (pilot comparison of muscle biopsy transcriptomes). Russian Osteopathic Journal. 2024; 3: 58–65. <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2024-3-58-65>

Заключение. Результаты исследований позволили предположить, что одним из факторов реализации латентной формы МФБС может быть адаптивная гиперэкспрессия гена, кодирующего белок ANKRD1, который регулирует натяжение миофибрилл, дифференцировку миобластов, липидный обмен, влияет на развитие нейрональных связей.

Ключевые слова: миофасциальный болевой синдром, полногеномное профилирование экспрессии генов, исследование транскриптома

Источник финансирования. Исследование не финансировалось каким-либо источником.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Статья поступила: 28.01.2024

Статья принята в печать: 20.05.2024

Статья опубликована: 30.09.2024

UDC 615.828:616.8-009.7+577.21

<https://doi.org/10.32885/2220-0975-2024-3-58-65>

© Aigul A. Safiullina, Georgy V. Cherepnev,
Gulnara I. Safiullina, Ramilya A. Vlasenkova, 2024

Full genomic profiling of gene expression in selected muscle tissue biopsy specimens from myofascial pain syndrome (pilot comparison of muscle biopsy transcriptomes)

Aigul A. Safiullina^{1,*}, Georgy V. Cherepnev¹, Gulnara I. Safiullina¹, Ramilya A. Vlasenkova²

¹ Kazan State Medical Academy — Branch Campus of the Russian Medical Academy
of Continuing Professional Education
bld. 36 ul. Butlerova, Kazan, Russia 420012

² Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University
bld. 18 ul. Kremleovskaya, Kazan, Russia 420008

Introduction. Myofascial pain syndrome (MFPS) is one of the most frequent musculoskeletal pathologies causing chronic pain. This type of pain reaches the peak of prevalence in middle-aged individuals, women are affected 2,5 times more often than men. The disease leads to significant disability and is not only a medical but also a social problem. At the same time, a number of authors still note the low clinical efficacy of the applied therapy schemes. In this situation, further study of the pathogenesis of MFPS, in particular, genetic aspects of realization of this condition.

The aim of the study was to perform full genomic profiling of gene expression (transcriptome study) in selected muscle tissue biopsy specimens of individual patients and control individuals.

Materials and methods. To study the genetic aspects of MFPS realization, gene expression profiling in muscle tissue samples by full genome RNA sequencing (RNA-Seq) was performed in 5 patients suffering from myofascial brachial pain syndrome (2 patients with active form of MFPS, 3 — with latent form).

Results. The transcriptome analysis of muscle tissue samples from the MFPS area revealed a statistically significant 6-10-fold increase in the expression of the ENSG00000148677:ANKRD1 (ankyrin repeat domain 1) gene in the subgroup of patients with latent form of MFPS compared to active form of MFPS.

Conclusion. The results of the studies allowed to suggest that one of the factors of the latent form of MFPS realization may be adaptive hyperexpression of the gene encoding ANKRD1 protein, which regulates myofibrils tension, myoblasts differentiation, lipid metabolism, affects the development of neuronal connections.

Key words: myofascial pain syndrome, full genome profiling of gene expression, transcriptome study

Funding. The study was not funded by any source.

Conflict of interest. The authors declare no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

The article was received 28.01.2024

The article was accepted for publication 20.05.2024

The article was published 30.09.2024

Введение

Актуальность проблемы объясняется высоким уровнем распространённости миофасциального болевого синдрома (МФБС) у населения. Данная патология, как одно из проявлений болезненного состояния костно-мышечной системы, значительно снижает работоспособность пациентов, повышая затраты, связанные с организацией и проведением соответствующих лечебно-профилактических мер. Объективным основанием для диагностики МФБС является наличие в скелетных мышцах болезненных уплотнений — ведущих индикаторов данного синдрома [1–7].

Сохраняющийся высокий уровень случаев МФБС на фоне многочисленных научных исследований в области его диагностики, лечения и профилактики свидетельствует о существенной научно-практической актуальности данной проблемы в настоящее время.

С учетом сказанного, определяется необходимость в уточнении взглядов на природу МФБС, а также в разработке соответствующих междисциплинарных подходов к решению задач, связанных как с предупреждением возникновения данного расстройства, так и с рационализацией его лечения.

Следует отметить, что в научной литературе растет число публикаций, посвященных целенаправленным углубленным исследованиям миогенных и нейрогенных аспектов МФБС. В них особо подчеркивается мысль о том, что МФБС является следствием функциональных биомеханических нарушений опорно-двигательной системы. Конкретные причины этих нарушений нуждаются в системном исследовании ведущих механизмов развития боли [8, 9].

С учетом интегративной роли центральной нервной системы в обеспечении жизнедеятельности, ее пластичности как важнейшего свойства в процессе адаптации организма к изменениям окружающей среды, а также целостного реагирования организма на возникающие нарушения [10], представляет интерес изучение генетических аспектов болезненного миофасциального уплотнения. Подобные исследования в мире прежде не проводились.

Цель исследования — выполнить полногеномное профилирование экспрессии генов (исследование транскриптома) в выборочных биоптатах мышечной ткани у отдельных больных МФБС.

Материалы и методы

Место проведения и продолжительность исследования. Исследование проводили в период 2016–2017 гг. на базе Поликлиники Казанской государственной медицинской академии и Института фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета.

Характеристика участников. Под наблюдением находились 5 пациентов, страдающих МФБС плечелопаточной области (2 пациента — с активной формой, 3 — с латентной).

Критерии включения: подписание документа, одобренного этическим комитетом, о согласии пациента участвовать в программе исследования, будучи ознакомленным с условиями его проведения; согласие соблюдать требования протокола в течение всего периода исследования; хронический МФБС плечелопаточной области длительностью более 6 мес; удовлетворительное состояние соматического здоровья; отсутствие воспалительных процессов.

Критерии не включения: органические заболевания центральной и периферической нервной системы; последствия черепно-мозговых травм и травм позвоночника, суставов, связочного аппарата, сухожилий и мышц; психические расстройства; актуальная на момент исследования соматическая патология; онкологические заболевания; в анамнезе сердечно-легочная реанимация или операции под наркозом; наличие профессиональных вредностей в прошлом или в настоящее время; наличие вредных привычек (злоупотребление алкогольными напитками, прием веществ с наркотическим действием); прием гормональных препаратов; беременность и период лактации.

Исходы исследования и методы их регистрации. Пациентам проводили кинестезическую пальпацию скелетной мускулатуры для определения активных и латентных миофасциальных триггерных точек и забор мышечной ткани посредством полуавтоматических одноразовых биопсийных игл SLB 1410 из этих триггерных точек дельтовидной мышцы.

Профилирование экспрессии генов в образцах мышечной ткани было выполнено методом полногеномного РНК секвенирования (RNA-Seq) Института фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета, в лаборатории экстремальной биологии на секвенаторе «HiSeq2500 Illumina» [11, 12].

Анализ данных РНК-секвенирования. Все расчеты и визуализация выполнены с помощью программной оболочки RStudio и языка программирования R [13]. Полученные данные по экспрессии генов нормализованы. В связи с гетерогенностью данных (различные группы — активная форма МФБС, латентная форма, образцы здоровой ткани, а также возможный гетерогенный состав образцов — мышечная и жировая ткань) каждый образец нормализовывался отдельно. Были найдены идентификаторы генов по идентификаторам базы данных Ensembl с помощью пакета biomaRt [14].

Визуализация тепловых карт и кластерный анализ данных проведены с помощью пакета gplots: Gregory R. Warnes, Ben Bolker, Lodewijk Bonebakker, Robert Gentleman, Wolfgang Huber Andy Liaw, Thomas Lumley, Martin Maechler, Arni Magnusson, Steffen Moeller, Marc Schwartz and Bill Venables (2016). gplots: Various R Programming Tools for Plotting Data. R package version 3.0.1.

Кластерный анализ проведен с использованием манхэттенского расстояния в качестве меры подобия и полной кластеризацией связей [12].

Статистическая обработка. Для оценки различий экспрессии найденных генов между двумя малыми выборками по уровню количественно измеряемого признака использовали U-критерий Манна–Уитни. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,01$.

Этическая экспертиза. Данная работа проведена в соответствии с Хельсинской декларацией (принята в июне 1964 г., пересмотрена в октябре 2013 г.) и одобрена этическим комитетом Казанской государственной медицинской академии. От каждого участника исследования получено информированное согласие.

Результаты и обсуждение

Анализ транскриптома был выполнен двум пациентам с активной формой МФБС, трем — с латентной. В результате транскриптомного анализа образцов мышечной ткани из зоны МФБС было выявлено статистически значимое 6–10-кратное увеличение экспрессии гена ENSG00000148677:ANKRD1 (ankyrin repeat domain 1), $p < 0,01$, критерий Манна–Уитни, у обследованных с латентной формой МФБС в сравнении с пациентами с активной формой (тепловая карта на рис. 1).

На рис. 2 представлены значения экспрессии гена ENSG00000148677:ANKRD1 у пациентов с активной и латентной формами МФБС.

Известно, что белок ANKRD1 локализован в ядре клетки и действует как регулятор транскрипции в кардиомиоцитах крысы. Взаимодействие белка ANKRD1 и саркомерного белка миопалладина

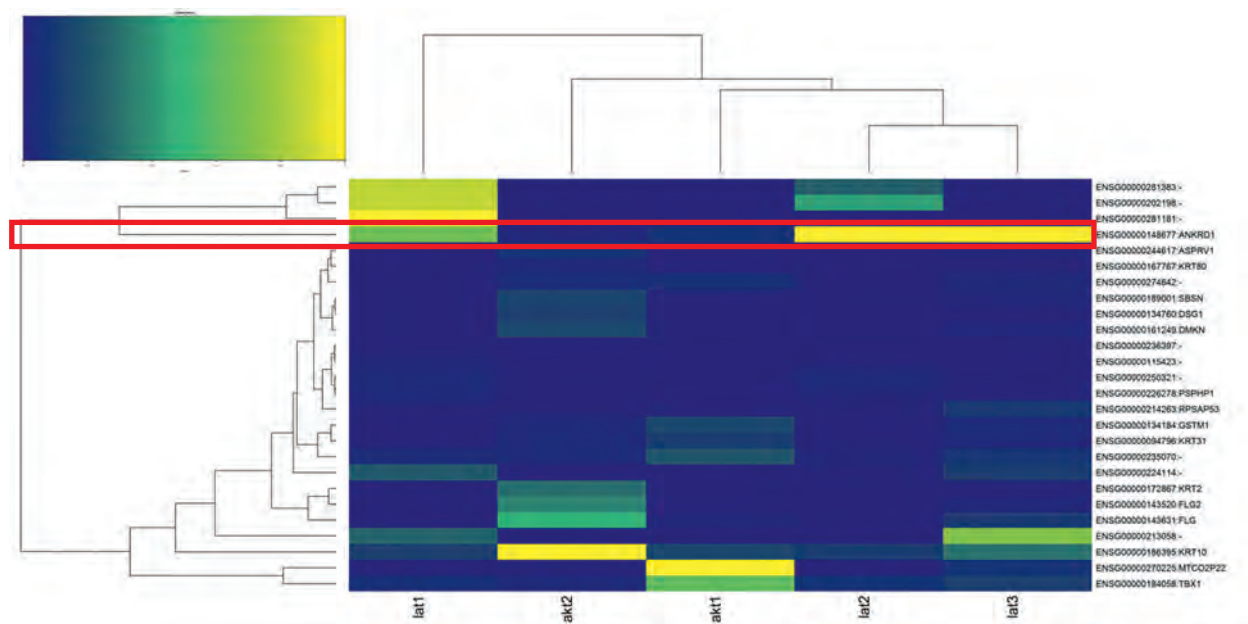


Рис. 1. Тепловая карта экспрессии генов биоптатов мышц пациентов с латентной и активной формами миофасциального болевого синдрома. Внизу обозначение обследуемых пациентов в столбцах (по порядку слева направо — lat1, akt2, akt1, lat2, lat3. Справа перечислены транскрибируемые гены. Интенсивность транскрипции гена, то есть считывание с него информации на матричную РНК, показана цветом: темно-синий — минимальная транскрипция (холодный цвет), желтый — максимальная. Максимальная разница по уровню транскрипции между латентной и активной формой констатирована для гена ANKRD1 (см. справа 4-ю строку сверху)

Fig. 1. Heat map of gene expression of muscle biopsies from patients with latent and active forms of myofascial pain syndrome. At the bottom, the designation of the examined patients in columns (in order from left to right — lat1, akt2, akt1, lat2, lat3. The transcribed genes are listed on the right. The intensity of gene transcription, that is, reading information from it to the matrix RNA, is shown in color: dark blue is the minimum transcription (cold color), yellow is the maximum. The maximum difference in the level of transcription between the latent and active forms was found for the ANKRD1 gene (see the 4th line above on the right)

может участвовать в сенсорном механизме, который воспринимает растяжение миофибрилл. ANKRD1 может играть важную роль в активации клеток эндотелия. Согласно данным литературы, мутации в гене ANKRD1 ассоциированы с семейной изолированной дилатационной кардиомиопатией — орфанным заболеванием [13].

Заключение

Была определена актуальность транскриптомного анализа образцов мышечной ткани из зоны миофасциального болевого синдрома. Результаты исследования позволили предположить, что одним из факторов реализации латентной формы данной патологии может быть адаптивная гиперэкспрессия гена, кодирующего белок ANKRD1. Последний регулирует натяжение миофибрилл, дифференцировку миобластов, липидный обмен, влияет на развитие нейрональных связей [14] и, соответственно, может участвовать в сенсорных механизмах. Несомненно, данное положение требует дальнейших научных изысканий.

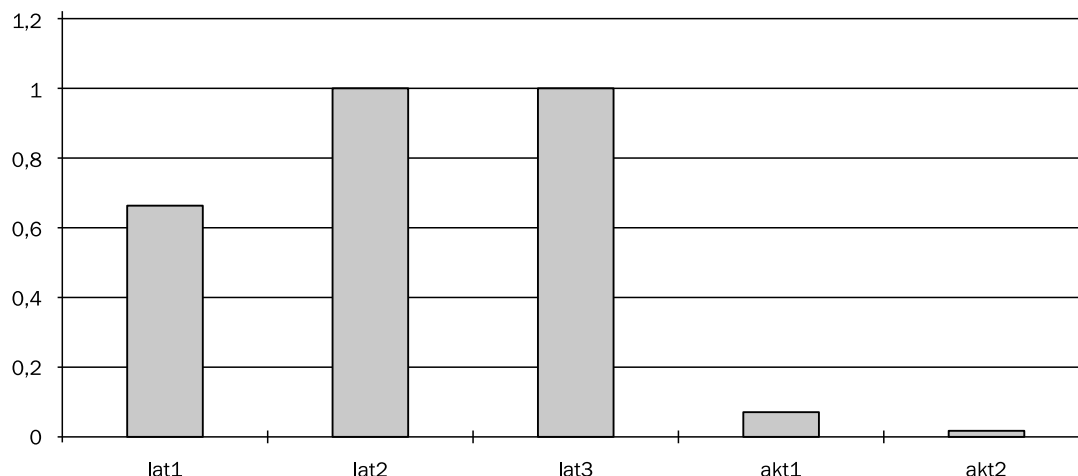


Рис. 2. Уровень экспрессии гена ENSG00000148677:ANKRD1 в биоптатах мышц у пациентов с латентной и активной формами миофасциального болевого синдрома

Fig. 2. Expression level of ENSG00000148677:ANKRD1 gene in muscle biopsy specimens from patients with latent and active forms of myofascial pain syndrome

Вклад авторов:

А.А. Сафиуллина — обзор публикаций по теме статьи, планирование и проведение исследования, написание и редактирование статьи

Г.В. Черепнев — разработка дизайна исследования, научное консультирование, редактирование статьи

Г.И. Сафиуллина — научное консультирование, редактирование статьи

Р.А. Власенкова — анализ и статистическая обработка результатов

Авторы одобрили финальную версию статьи для публикации, согласны нести ответственность за все аспекты работы и обеспечить гарантию, что все вопросы относительно точности и достоверности любого фрагмента работы надлежащим образом исследованы и решены.

Authors' contributions:

Aigul A. Safiullina — review of publications on the topic of the article, planning and conducting the research, writing and editing the article

Georgy V. Cherepnev — development of the research design, scientific counselling, editing of the article

Gulnara I. Safiullina — scientific counselling, article editing

Ramilya A. Vlasenkova — analysis and statistical processing of the results.

The authors have approved the final version of the article for publication, agree to be responsible for all aspects of the work and ensure that all questions regarding the accuracy and reliability of any fragment of the work are properly investigated and resolved.

Литература/References

1. Chen C.K., Nizar A.J. Myofascial pain syndrome in chronic back pain patients. Korean J. Pain. 2011;24(2):100–104. <https://doi.org/10.3344/kjp.2011.24.2.100>
2. Новикова Л. Б., Акопян А. П. Миофасциальный болевой синдром. Журн. неврол. и психиат. им. С. С. Корсакова. 2015; 115 (10): 21–24. <https://doi.org/10.17116/jnevro201511510121-24>

- [Novikova L.B., Akopyan A.P. Myofascial pain syndrome. S.S. Korsakov J. Neurol. Psychiat. 2015; 115 (10): 21–24. <https://doi.org/10.17116/jnevro201511510121-24> (in russ.)].
3. Иваничев Г.А. Сенсорная дезинтеграция в невропатологии. Казань: Мед. книга; 2015: 400 с.
[Ivanichev G.A. Sensory disintegration in neuropathology. Kazan: Med. book; 2015: 400 p. (in russ.)].
 4. Simons D.G. Clinical and etiological update of myofascial pain from trigger points. J. Musculoskelet. Pain. 1996; 4 (1–2): 93–122. https://doi.org/10.1300/j094v04n01_07
 5. Dommerholt J., Bron C., Franssen J. Myofascial trigger points: an evidence-informed review. J. Manual Manipulat. Ther. 2006; 14 (4): 203–221. <https://doi.org/10.1179/106698106790819991>
 6. Иваничев Г.А. Миофасциальная боль. Казань: Волга-Бизнес; 2007: 392 с.
[Ivanichev G.A. Myofascial pain. Kazan: Volga-Business; 2007: 392 p. (in russ.)].
 7. Новиков Ю.О., Белаш В.О., Новиков А.Ю. Современные представления об этиологии и патогенезе шейного болевого синдрома: обзор литературы. Рос. остеопат. журн. 2019; 3–4: 164–173. <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2019-3-4-164-173>
[Novikov Yu.O., Belash V.O., Novikov A.Yu. Modern views on etiology and pathogenesis of cervical pain syndromes: literature review. Russ. Osteopath. J. 2019; 3–4: 164–173. <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2019-3-4-164-173> (in russ.)].
 8. Сафиуллина А.А., Иваничев Г.А., Черепнев Г.В. и др. Клинико-иммунологические аспекты миофасциальной боли. Практич. мед. 2018; 16 (10): 126–129.
[Safiullina A.A., Ivanichev G.A., Cherepnev G.V. et al. Clinical and immunologic aspects of myofascial pain. Pract. Med. 2018; 16 (10): 126–129 (in russ.)].
 9. Мохов Д.Е., Белаш В.О., Аптекарь И.А., Ненашкина Э.Н., Потехина Ю.П., Трегубова Е.С., Беляев А.Ф. Соматическая дисфункция: Клинические рекомендации 2023. Рос. остеопат. журн. 2023; 2: 8–90. <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2023-2-8-90>
[Mokhov D.E., Belash V.O., Aptekar I.A., Nenashkina E.N., Potekhina Yu.P., Tregubova E.S., Belyaev A.F. Somatic Dysfunction: Clinical Guidelines 2023. Russ. Osteopath. J. 2023; 2: 8–90. <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2023-2-8-90> (in russ.)].
 10. Крыжановский Г.Н. Общая патофизиология нервной системы. М.: Медицина; 1997: 350 с.
[Kryzhanovsky G.N. General pathophysiology of the nervous system. M.: Medicine; 1997: 350 p. (in russ.)].
 11. Zhao S., Fung-Leung W.P., Bittner A. et al. Comparison of RNA-Seq and microarray in transcriptome profiling of activated T cells. PLoS One. 2014; 9: e78644. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078644>
 12. Goeman F., Fanciulli M. Application of RNA-Seq technology in cancer chemoprevention. Methods molec. Biol. 2016; 1379: 31–43.
 13. R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria: website. Available from: <https://www.R-project.org/>. Accessed May 28, 2018.
 14. Genecards. Human gene database: website. Available from: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ENSG00000148677>. Accessed May 28, 2018.

Сведения об авторах:

Айгуль Айдаровна Сафиуллина, канд. мед. наук, доцент кафедры рефлексотерапии и остеопатии, Казанская государственная медицинская академия — филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования
eLibrary SPIN: 9531-5405
ORCID ID: 0000-0003-2347-0390

Георгий Валентинович Черепнев, докт. мед. наук, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики, доцент, Казанская государственная медицинская академия — филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования
eLibrary SPIN: 6376-5000
ORCID ID: 0000-0001-7924-8356

Information about authors:

Aigul A. Safiullina, Cand. Sci (Med.), Associate Professor of the Department of Reflexotherapy and Osteopathy, Kazan State Medical Academy — Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education
eLibrary SPIN: 9531-5405
ORCID ID: 0000-0003-2347-0390

Georgiy V. Cherepnev, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Associate Professor Kazan State Medical Academy — Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education
eLibrary SPIN: 6376-5000
ORCID ID: 0000-0001-7924-8356

Гульнара Ильдусовна Сафиуллина, докт. мед. наук, заведующая кафедрой рефлексотерапии и остеопатии, доцент, Казанская государственная медицинская академия — филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования
eLibrary SPIN: 8145-1534
ORCID ID: 0000-0003-2890-8945

Рамиля Ахметовна Власенкова, мл. науч. сотр. Научно-исследовательской лаборатории «Биомаркер», ассистент кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии, Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета
eLibrary SPIN: 6876-8328
ORCID ID: 0000-0003-0082-6833

Gulnara I. Safiullina, Dr. Sci. (Med.), Head of Reflexotherapy and Osteopathy Department of Kazan State Medical Academy — Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Associate Professor
eLibrary SPIN: 8145-1534
ORCID ID: 0000-0003-2890-8945

Ramilya A. Vlasenkova, Junior Researcher of «Biomarker» Laboratory, Assistant Professor of the Department of Biochemistry, Biotechnology and Pharmacology Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University
eLibrary SPIN: 6876-8328
ORCID ID: 0000-0003-0082-6833