

## НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.16

### Исследование интраоперационных биоптатов *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала методом полимеразной цепной реакции

Родионова Л.В.<sup>1,2</sup>, Самойлова Л.Г.<sup>1</sup>, Богородская С.Л.<sup>1</sup>, Горохова В.Г.<sup>1</sup>, Сороковиков В.А.<sup>1,2</sup><sup>1</sup> ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);<sup>2</sup> Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Родионова Любовь Викторовна, e-mail: greidmacho@yandex.ru

#### Резюме

*Ligamentum flavum* участвует в развитии стенозирующего процесса позвоночного канала и дурального мешка, но механизмы, лежащие в основе дегенеративно-дистрофических изменений, изучены ещё недостаточно.

**Цель работы.** Исследовать экспрессию генов-кандидатов, принимающих участие в метаболизме соединительной ткани в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника.

**Материалы и методы.** Из интраоперационных биоптатов *Ligamentum flavum* 33 человек (16 мужчин и 17 женщин) со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника выделяли РНК, проводили обратную транскрипцию и ставили real-time ПЦР (CFX96, Biorad) со специфичными праймерами.

**Результаты.** Приведены характеристики экспрессии генов-кандидатов, активных в *Ligamentum flavum* обследованного контингента пациентов: генов ацетилтрансфераз NAT1 и NAT2; генов, определяющих интенсивность локального метаболизма (Dio1, Dio2 и Dio3); генов-рецепторов к эстрадиолу ESR1 и ESR2; генов, кодирующих рецепторы к факторам роста и паратиреоидному гормону. Во всех образцах *Ligamentum flavum* обнаружена активность генов AANAT, ESR2, FGFR1, FGFR3, NAA20, PTH1R и PTH2R. В подавляющем большинстве образцов (93,9–97,0%) были активны гены PDGFA, ESR1, CALCR, PDGFB. В 21,2–39,4 % образцов было выявлено «молчание» генов Dio1, Dio2, Dio3, NAT2 и GDF5, и только в 39,4 % образцов выявлены транскрипты гена NAT1. Наибольшая гетерогенность содержания транскриптов наблюдалась для генов Dio1, NAT2 и Dio2. Наиболее стабильной экспрессией в ткани *Ligamentum flavum* и узким диапазоном колебаний отличались гены с высоким уровнем активности AANAT, ESR2, NAA20 и гены со средним уровнем активности FGFR1, FGFR3, PTH1R и PTH2R.

**Заключение.** *Ligamentum flavum* является перспективным малоизученным субстратом для молекулярно-генетических исследований. Выявленные особенности локальной экспрессии генов в очаге патологии дают новую информацию о патогенезе стенозирующих процессов позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника.

**Ключевые слова:** стеноз позвоночного канала, дегенеративно-дистрофические заболевания позвоночника, *Ligamentum flavum*, экспрессия генов, real-time ПЦР

**Для цитирования:** Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Богородская С.Л., Горохова В.Г., Сороковиков В.А. Исследование интраоперационных биоптатов *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала методом полимеразной цепной реакции. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 144-150. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.16

### Molecular Genetic Studies of Intraoperative *Ligamentum Flavum* Bioplates of Patients with Spinal Canal Stenosis

Rodionova L.V.<sup>1,2</sup>, Samoilo L.G.<sup>1</sup>, Bogorodskaya S.L.<sup>1</sup>, Gorokhova V.G.<sup>1</sup>, Sorokovikov V.A.<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);<sup>2</sup> Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Corresponding author: Lyubov V. Rodionova, e-mail: greidmacho@yandex.ru

#### Abstract

**Background.** *Ligamentum flavum* is involved in the development of stenosis of the spinal canal and dural sac, but the mechanisms underlying degenerative-dystrophic changes have not yet been sufficiently studied.

**Aim.** To study the expression of candidate genes potentially involved in connective tissue metabolism in intraoperative samples of *Ligamentum flavum* of patients with stenosis processes of spinal canal and dural sac on the lumbar spine. **Materials and methods.** During the surgical treatment, *Ligamentum flavum* biopsies were collected from 33 people with stenosis processes of spinal canal and dural sac on the lumbar spine (16 men, 17 women). RNA was isolated, then reverse transcription was performed. After that, real time PCR was performed (CFX96, Biorad) with the specific primers (RealTimePrimers.com).

**Results.** The characteristics of the expression of candidate genes that are active in the *Ligamentum flavum* of the examined patient population are given: *NAT1* and *NAT2* acetyltransferase genes; genes that determine the intensity of local metabolism (*Dio1*, *Dio2* and *Dio3*); estradiol receptor genes *ESR1* and *ESR2*; genes encoding receptors for growth factors and parathyroid hormone. All *Ligamentum flavum* samples showed activity of the *NAT*, *ESR 2*, *FGFR1*, *FGFR3*, *NA20*, *PTH1R*, and *PTH2R* genes. In the vast majority of samples (93.9–97.0 %), the following genes were active: *PDGFA*, *ESR1*, *CALCR*, and *PDGFB*. In 21.2–39.4 % of samples, “silence” of the *Dio1*, *Dio2*, *Dio3*, *NAT2* and *GDF5* genes was detected, and only 39.4 % of samples revealed *NAT1* transcripts. The highest heterogeneity of transcript content was observed for *Dio1*, *NAT2*, and *Dio2*. The most stable expression in *Ligamentum flavum* tissue and a narrow range of fluctuations were characterized by genes with a high level of activity *AANAT*, *ESR2*, *NAA20* and genes with an average level of activity *FGFR1*, *FGFR3*, *PTH1R* and *PTH2R*.

**Conclusions.** *Ligamentum flavum* is a promising little-studied substrate for molecular genetic research. The revealed features of gene expression provide new information about pathogenesis, and the new fundamental knowledge obtained can provide a basis for developing methods for preventing the development of epidural fibrosis.

**Key words:** stenosis of the spinal canal, degenerative spine disorders, *Ligamentum flavum*, gene expression, real time PCR

**For citation:** Rodionova L.V., Samoilova L.G., Bogorodskaya S.L., Gorokhova V.G., Sorokovikov V.A. Molecular Genetic Studies of Intraoperative *Ligamentum Flavum* Biopsies of Patients with Spinal Canal Stenosis. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 144-150. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.16

## ВВЕДЕНИЕ

Недостаточная изученность закономерностей и механизмов, приводящих к развитию дегенеративно-дистрофической патологии позвоночника, не позволяет предложить патогенетически обоснованную коррекцию, направленную на профилактику или замедление развития заболевания [1, 2].

Жёлтая связка (*Ligamentum flavum*) является важным компонентом в патологическом механизме формирования стеноза позвоночного канала и дурального мешка [3]. Обсуждается значение гипертрофии жёлтой связки и её оссификации в данном процессе [4, 5]. Несмотря на значимость проблемы, молекулярные механизмы, лежащие в основе дегенеративно-дистрофических изменений *Ligamentum flavum*, ещё только начинают изучаться.

При оперативном лечении стенозирующих процессов позвоночного канала возможен отбор образцов *Ligamentum flavum* с последующим изучением в биопсийном материале профиля экспрессии ключевых генов, задающих векторы метаболических процессов. Подобные исследования, в частности, могут прояснить, с экспрессией каких генов связаны изменение активности и баланса анаболических и катаболических процессов в ткани связки, снижение доли эластина и развитие фиброза. Это поможет выявить критические механизмы, связанные с формированием дизадаптации, а также дать ценную информацию для анализа молекулярных механизмов патогенеза при стенозировании позвоночного канала.

Локальное или системное воздействие на данные процессы может оказаться эффективным для предотвращения прогрессирования болезни.

При анализе литературы выявлено, что экспрессия генов в *Ligamentum flavum* с недавнего времени вызывает интерес исследователей, но к нынешнему моменту достигнуты лишь некоторые успехи: выявлена ассоциация гипертрофии жёлтой связки у пациентов с люмбальным стенозом с повышенной экспрессией фактора роста соединительной ткани *CTGF* [6] и тромбоцитарного фактора роста *PDGF-BB* [7]. Несколько работ посвящены экспрессии фактора роста и дифференцировки *GDF5*, проявляющего остеогенные эффекты на культуре

клеток [8]. Выявлено участие рецептора фактора роста фибробластов (*FGFR3*) в оссификации с помощью митоген-активируемого протеин-киназного (MAPK) пути [9]. Обнаружено дозозависимое влияние эстрогенов на регуляцию клеточной пролиферации и деградации коллагена [10].

Однако, несмотря на интерес исследователей, пока остаются недостаточно изученными клеточные механизмы, лежащие в основе фиброзного разрастания и оссификации жёлтой связки, ведущие к стенозированию позвоночного канала. Предполагаем, что исследование нового перспективного субстрата для молекулярно-генетических исследований экспрессии ключевых генов, определяющих метаболизм соединительной ткани *Ligamentum flavum*, позволит выявить молекулярно-генетические особенности течения дегенеративно-дистрофической патологии позвоночника.

В соответствии с вышеперечисленным была поставлена **цель:** исследовать экспрессию генов-кандидатов, потенциально принимающих участие в метаболизме соединительной ткани в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника.

## МЕТОДЫ

Исследование жёлтой связки проведено в группе пациентов со стенозами позвоночного канала и дурального мешка, локализованными в поясничном отделе, – 33 человека, из которых 17 женщин и 16 мужчин. Больные включались в исследование методом сплошной выборки. Биоптаты *Ligamentum flavum*, собранные интраоперационно, замораживали в жидком азоте, гомогенизировали и экстрагировали из них РНК с использованием колоночных наборов реагентов «RNeasy® Fibrous Tissue Mini Kit» (Qiagen, Германия). После проведения обратной транскрипции с применением реагентов Promega (США) с кДНК ставили полимеразную цепную реакцию на термоциклере CFX96 (Biorad, США) со специфичными праймерами RealTimePrimers.com. Расшифровка аббревиатур, обозначающих гены, приведена в таблице 1.

Таблица 1

Перечень референтных последовательностей и праймеров генов-кандидатов

Table 1

List of reference sequences and primers of candidate genes

RefSeq accession Gene Bank	Обозначение гена	Кодируемый белок	Прямой праймер	Обратный праймер
NM_001088	AANAT	Арилалкил N-ацетилтрансфераза	CTCTCCACAGTCCAGGTGCTG	GAGGCAGCGAACTCACTGG
NM_001742	CALCR	Рецептор кальцитонина	CTTCCCGGGTTGGAGAAGTG	GAAGCAAAGGGTGTTCGCAG
NM_000792.5	Dio1	DIO1 йодтиронин дейодиназа I типа	AGTCAAGCGGAACATCCTGG	CGGACCTTCAAGACGAACCA
NM_000793.6	Dio2	DIO2 йодтиронин дейодиназа II типа	TAACAACCTCGGATGGGTGCT	GACGCCTTGGGAGGTATGAG
NM_001362.3	Dio3	DIO3 йодтиронин дейодиназа III типа	GTGATGTCGTGGATGGGGAG	AAGCAGACACCCCAACTTCC
NM_000125.4	ESR1	Рецептор к эстрагену 1-го типа	TTCGTCTGGGACTGCACTT	CAGGGCAGAAGGCTCAGAAA
NM_001437.3	ESR2	Рецептор к эстрагену 2-го типа (ER beta)	CCTCGAGTGGGCAGTATCAG	CTTTTGTCTTGTGTTCCCGCC
NM_015850.4	FGFR1	Рецептор 1 к фактору роста фибробластов	ATTTCTGCCTTGGCCCTACC	CTAGCGCAGTCTTTGGGGAA
NM_000142.5	FGFR3	Рецептор 3 к фактору роста фибробластов	AGGAGCTCTTCAAGCTGCTG	AGGTCCAGGTACTCGTCCG
NM_000557.5	GDF5	Фактор 5 роста и дифференцировки	GTCCACGAGAAAGCCCTGTT	GCTGGCTGAACAGGTACTCA
NM_016100.5	NAA20	N(alpha)-acetyltransferase 20, NatB catalytic subunit	CCCTGGGCAGTGGTTCTTAG	TCCTTCTGACCTAGCTGCCT
NM_000662.8	NAT1	N-ацетилтрансфераза 1-го типа	GACCTTGGATGTGGGAGGAT	ACAGCTCGGATCTGGTGTG
NM_000015.3	NAT2	N-ацетилтрансфераза 2-го типа	TTACAGACCTTGAAGCAAGAGG	GGTTCTCAAAGGGAACAGCC
NM_002607.6	PDGFA	Тромбоцитарный фактор роста, альфа-полипептид	GGTCGCTCCTGAAGCCAG	GGAGGAGAAACAGGGAGTGC
NM_002608.4	PDGFB	Тромбоцитарный фактор роста, бета-полипептид	CCAGCGCCCATTTTTTCATTCC	CCGGTTTTCTCTTTCAGCGG
NM_000316.3	PTH1R	Рецептор 1 к паратиреоидному гормону	GGCCAACTTGAGTCTGCTCT	AGTTTCTCATCTGCAGCCC
NM_005048.3	PTH2R	Рецептор 2 к паратиреоидному гормону	CGTCGTTACTGGCCACAAGT	ATTAGCCAACCCAGACGTG
NM_003255	ACTB	Актин-бета	CTCGCCTTTGCCGATCC	GGGGTACTTCAGGGTGAGGA
NM_004048.4	B2M	Бета-2-микроглобулин	ACACTGAATTCACCCCCCACT	TGCGGCATCTTCAAACCTCC
NM_001270491.2	RPL13A	Рибосомальный белок 13а	GCCATCGTGGCTAACAGTG	TGCCGTCAAACACCTTGAGA
NM_002046.7	GAPDH	Глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа	GACAGTCAGCCGCATCTTCT	GCGCCCAATACGACCAAATC

Контроль специфичности синтеза проводили с использованием кривых плавления ампликонов. В качестве генов «домашнего хозяйства» применяли ACTB, кодирующий (β)-актин; GADP, кодирующий глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу; RPL13A, ответственный за 60S рибосомальный белок L13а; B2M, кодирующий 2-микроглобулин. Подробная технология подготовки образцов и методики исследования детально описаны в ранее опубликованных работах [11]. Исследование одобрено локальным этическим комитетом, всеми пациентами было подписано добровольное информированное согласие.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Проблема оптимального выбора морфологического субстрата для молекулярно-генетических исследований

процессов, протекающих в зоне патологии при стенозах позвоночного канала, обуславливается тем, что необходимо получить достаточное количество гистологически однородного материала за как можно более короткое время, чтобы оперирующий хирург не отвлекался на тонкую препаровку материала и имел возможность быстрой его консервации.

В каждом виде биологической ткани имеется уникальный профиль экспрессии генов, характерный именно для этого вида биологического субстрата. Поэтому для молекулярно-генетических исследований важно иметь возможность изолировать достаточное количество только одной структуры без примеси других тканей, которые даже в малом объёме могут «смазать» картину экспрессии

и увеличить межиндивидуальную ошибку определения, что будет маскировать истинно протекающие процессы в исследуемом субстрате. Жёлтая связка, по нашему мнению, является перспективным и малоисследованным материалом, который находится непосредственно в патологическом очаге и может быть получен во время операции по декомпрессии и реконструкции позвоночного канала с интеграцией системы транспедикулярной фиксации.

В качестве критериев выбора генов-кандидатов нами определены: недостаточная изученность механизмов влияния на развитие дегенеративно-дистрофических процессов соединительной ткани; доказанное и/или потенциальное участие в метаболизме соединительной ткани; участие в регуляции активности локального метаболизма посредством периферической конверсии йодтиронинов; влияние на процессы оссификации и пролиферации (рис. 1).

С использованием вышеприведённой схемы проведена серия работ [11, 12, 13], в результате которых определены группы генов, экспрессирующихся в *Ligamentum flavum* обследованного контингента пациентов: гены, кодирующие ацетилтрансферазы (NAT1 и NAT2); гены, определяющие интенсивность локального метаболизма (Dio1, Dio2 и Dio3); гены, кодирующие рецепторы к эстрадиолу (ESR1 и ESR2); гены, кодирующие рецепторы к факторам роста и паратиреоидному гормону (рис. 1). Более подробный анализ экспрессии генов, ответственных за реакции ацетилирования, экспрессию рецепторов к половым стероидам и к основным факторам конверсии йодтиронинов, приведён в ранее опубликованных работах [11, 12, 13].

Обнаруженная активная экспрессия генов ESR1 и ESR2 в жёлтой связке обсуждена в нашей работе [12] и согласуется с результатами исследований, проведенных М.-Н. Chen et al. [10] с использованием других методов. Мы считаем, что данный факт, очевидно, свидетельствует о наличии, востребованности и активном синтезе рецепторов к эстрогенам ESR1 и ESR2 в *Ligamentum flavum* больных со стенозами позвоночного канала [12]. Выраженность экспрессии генов, кодирующих рецепторы к эстрадиолу, может быть одним из факторов, определяющих половозрастные различия в течении дегенеративно-дистрофической патологии позвоночника, а также указывает на участие половых гормонов в интенсифика-

ции синтеза соединений, необходимых при активации метаболических процессов и разрастании тканей [12].

С использованием современных молекулярно-генетических методов нами впервые установлено, что в *Ligamentum flavum* больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями позвоночника выражена экспрессия генов ацетилтрансфераз: NAT1, NAT2, AANAT, NAA20. Это может свидетельствовать о ранее неизвестной роли процессов ацетилирования в метаболизме соединительной ткани [11]. Часть выявленных вариантов экспрессии ацетилтрансфераз может быть охарактеризована как фактор склонности к развитию оссификации *Ligamentum flavum* [11].

При рассмотрении индивидуальных паттернов экспрессии генов, отражающих периферическую конверсию йодтиронинов в ткани *Ligamentum flavum*, была отмечена их многовариантность, что свидетельствует о гетерогенности локального метаболизма, возможно, вызванной различиями клинических вариантов течения дегенеративно-дистрофической патологии позвоночника [13].

В качестве критерия степени активности использовали деление всего диапазона выявления экспрессии на три одинаковых отрезка. Те гены, пороговый цикл (Ct) которых находился на первой трети всего диапазона изменений, считали высокоактивными; гены с пороговым циклом, расположенным в средней трети диапазона, – генами со средней активностью; гены с Ct в последней трети диапазона – низкоактивными. Таким образом, по возрастантию интенсивности экспрессии гены-кандидаты были оценены следующим образом: 1) как высокоактивные – ESR1, AANAT, ESR2, NAA20; 2) как гены со средней активностью – PDGFA, PTH1R, PTH2R, PDGFB, CALCR, FGFR1, FGFR3, Dio1, Dio2; 3) как гены со слабой активностью – NAT2, GDF5, Dio3, NAT1 (рис. 2).

Характеристики активности генов-кандидатов в ткани *Ligamentum flavum* приведены в таблице 2.

Абсолютно во всех образцах (100 %) *Ligamentum flavum* была обнаружена активность генов AANAT, ESR2, FGFR1, FGFR3, NAA20, PTH1R, PTH2R и генов «домашнего хозяйства» ACTB, GADP, RPL13A. В подавляющем большинстве образцов (93,9–97,0 %) были активны гены PDGFA, ESR1, CALCR, PDGFB. В 21,2–39,4 % образцов было выявлено «молчание» генов Dio1, Dio2, Dio3, NAT2 и GDF5. Только в 39,4 % образцов выявлены транскрипты NAT1 (см. табл. 1).

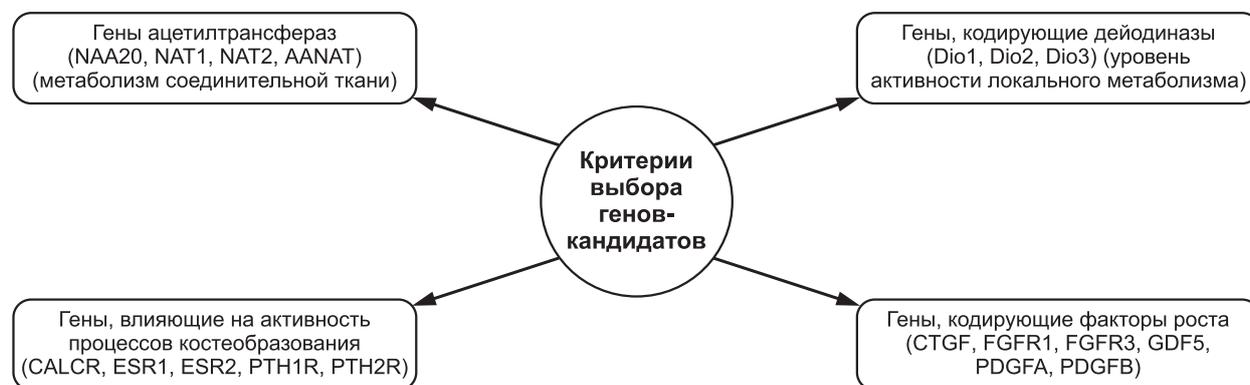
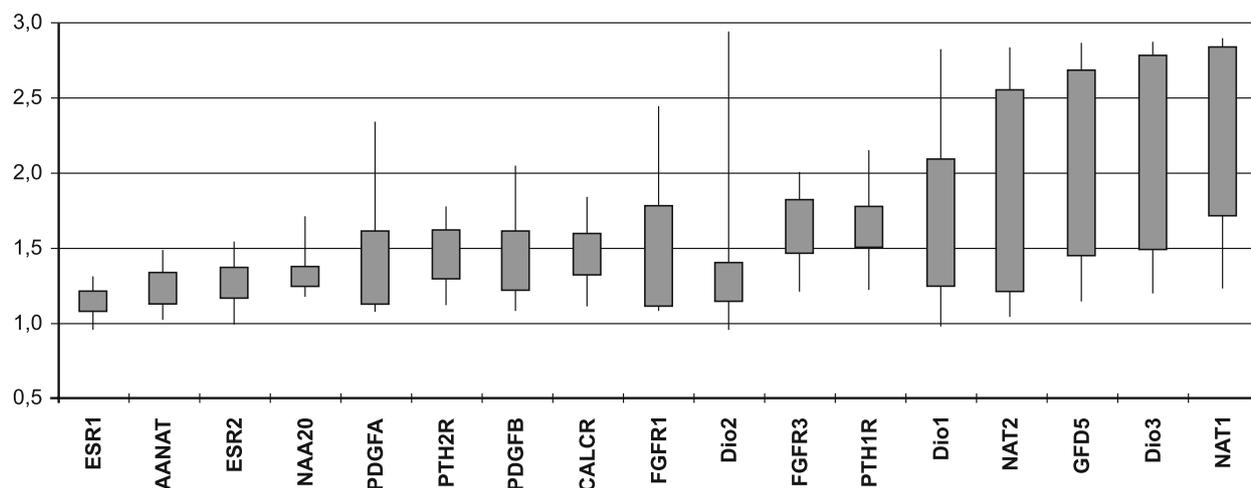


Рис. 1. Критерии выбора генов-кандидатов

Fig. 1. Criteria of selection of the candidate genes



**Рис. 2.** Экспрессия генов-кандидатов в интраоперационных биоптатах *Ligamentum flavum*, ранжированная по степени активности (по оси ординат – пороговый цикл Ct: чем активнее экспрессия, тем меньше Ct)

**Fig. 2.** Expression of candidate genes in *Ligamentum flavum* intraoperative biopsy samples ranked according to the degree of activity (ordinate axis is Ct threshold cycle: the more active the expression, the less Ct)

**Таблица 2**  
**Характеристики выявленной экспрессии генов-кандидатов в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum***

*Characteristics of the expression of candidate genes in Ligamentum flavum intraoperative samples*

Table 2

Обозначение гена	Количество наблюдений (n)	Среднее арифметическое значение порогового цикла (Ct ср.) после стандартизации	Стандартное отклонение	Ошибка среднего арифметического, выраженная в процентах от среднего арифметического значения	Процент выявления от численности исследуемой совокупности биоптатов
AANAT	33	1,246	0,159	12,79	100
CALCR	32	1,460	0,237	16,27	97
Dio1	23	1,684	0,608	36,08	69,7
Dio2	22	1,487	0,774	52,06	66,7
Dio3	20	2,072	0,682	32,93	60,6
ESR1	32	1,141	0,110	9,63	97
ESR2	33	1,282	0,175	13,63	100
FGFR1	33	1,460	0,493	33,80	100
FGFR3	33	1,645	0,257	15,61	100
GDF5	26	2,015	0,654	32,47	78,8
NAA20	33	1,360	0,172	12,66	100
NAT1	13	2,196	0,661	30,11	39,4
NAT2	24	1,913	0,714	37,32	72,7
PDGFA	31	1,429	0,467	32,67	93,9
PDGFB	32	1,453	0,322	22,16	97
PTH1R	33	1,658	0,255	15,38	100
PTH2R	33	1,441	0,212	14,73	100
ACTB*	33	1	0	0,00	100
GADP	33	1,070	0,082	7,68	100
RPL13A	33	0,974	0,104	10,70	100

**Примечание.** \* – выбран для стандартизации данных как наименее вариабельный.

Из таблицы 1 (предпоследний столбец) видно, что наибольшая гетерогенность содержания транскриптов наблюдалась для Dio1, NAT2 и Dio2. Как описано нами ранее [11, 12, 13], эти показатели могут отражать клинические особенности течения дегенеративно-дис-

трофических процессов в соединительной ткани. Таким образом, наиболее стабильной экспрессией в ткани *Ligamentum flavum* и узким диапазоном колебаний отличались гены с высоким (AANAT, ESR2, NAA20) и средним (FGFR1, FGFR3, PTH1R и PTH2R) уровнями активности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной нами серии работ по исследованию экспрессии генов-кандидатов в *Ligamentum flavum* показано, что жёлтая связка является новым перспективным субстратом для молекулярно-генетических исследований. Впервые выявленные особенности экспрессии генов в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* больных со стенозированием позвоночного канала и сужением дурального мешка дают новую информацию о патогенезе заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Животенко А.П., Кошкарева З.В., Сороковиков В.А. Профилактика послеоперационного рубцово-спаечного эпидурита: современное состояние вопроса. *Хирургия позвоночника*. 2019; 16(3): 74-81. doi: 10.14531/ss2019.3.74-81
2. Кириенко А.Н., Сороковиков В.А., Поздеева Н.А. Дегенеративно-дистрофические поражения шейного отдела позвоночника. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2015; 7: 21-25.
3. Lan X, Gao J, Xu JZ, Liu XM. Treatment of ossification of ligamentum flavum complicated with lumbar spinal stenosis. *Zhongguo Gu Shang*. 2017; 30(2): 175-178. doi: 10.3969/j.issn.1003-0034.2017.02.016
4. Haig AJ, Adewole A, Yamakawa KSJ, Kelemen B, Aagesen AL. The *Ligamentum flavum* at L4-5: Relationship with anthropomorphic factors and clinical findings in older persons with and without spinal disorders. *PMR*. 2012; 4(1): 23-29.
5. Rahimizadeh A, Soufiani H, Amirzadeh M, Rahimizadeh Sh. Ossification of the Ligamentum Flavum of the Lumbar Spine in Caucasians: Case Series. *J Spine Neurosurg*. 2017. 6(5). doi: 10.4172/2325-9701.1000283
6. Zhong ZM, Zha DS, Xiao WD, Wu SH, Wu Q, Zhang Y, et al. Hypertrophy of *Ligamentum flavum* in lumbar spine stenosis associated with the increased expression of connective tissue growth factor. *J Orthop Res*. 2011; 29(10): 1592-1597. doi: 10.1002/jor.21431
7. Zhang Y, Xu XM, Wu SP, Xia XZ, Li CT, Dedg CL, et al. Overexpression of platelet-derived growth factor-BB in degenerative hypertrophied *Ligamentum flavum*. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2011; 31(7): 1268-1272.
8. Zhong ZM, Chen JT, Zhang Y, Zha DS, Lin ZS, Zhao CY, et al. Growth/differentiation factor-5 induces osteogenic differentiation of human Ligamentum flavum cells through activation of ERK1/2 and p38 MAPK. *Cell Physiol Biochem*. 2010; 26(2): 179-186. doi: 10.1159/000320526
9. Matsushita T, Wilcox WR, Chan YY, Kawanami A, Bükülmez H, Balmes G, et al. FGFR3 promotes synchondrosis closure and fusion of ossification centers through the MAPK pathway. *Hum Mol Genet*. 2009; 18(2): 227-240.
10. Chen MH, Hu CK, Chen PR, Chen YS, Sun JS, Chen MH. Dose-dependent regulation of cell proliferation and collagen degradation by estradiol on ligamentum flavum. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014; 15: 238. doi: 10.1186/1471-2474-15-238
11. Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Шурыгина И.А., Склярченко О.В., Животенко А.П., Кошкарева З.В., и др. Особенности реакций ацетилирования у больных со стенозирующим процессом позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника в зависимости от выраженности оксификации *Ligamentum flavum*. *Патогенез*. 2020; 13(3): 45-52. doi: 10.25557/2310-0435.2020.03.45-52
12. Родионова Л.В., Сороковиков В.А., Самойлова Л.Г., Негреева М.Б., Склярченко О.В., Кошкарева З.В. Исследование факторов, определяющих половозрастные различия в течении дегенеративно-дистрофической патологии позвоночника, осложненной стенозом позвоночного канала. *Современные проблемы науки и образования*. 2016; 6: 200. URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=25829>.

13. Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Неvezhina А.В., Шурыгина И.А. Экспрессия генов дейодиназ в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном отделе позвоночника. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(6): 20-25. doi: 10.29413/ABS.2019-4.6.3

## REFERENCES

1. Zhivotenko AP, Koshkareva ZV, Sorokovikov VA. Prevention of postoperative epidural fibrosis: current state of the issue. *Spine Surgery*. 2019; 16(3): 74-81. doi: 10.14531/ss2019.3.74-81. (In Russ.)
2. Kirienko AN, Sorokovikov VA, Pozdeeva NA. Degenerative-dystrophic cervical spine disorders (review of literature). *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2015; 7: 21-25. (In Russ.)
3. Lan X, Gao J, Xu JZ, Liu XM. Treatment of ossification of Ligamentum flavum complicated with lumbar spinal stenosis. *Zhongguo Gu Shang*. 2017; 30(2): 175-178. doi: 10.3969/j.issn.1003-0034.2017.02.016
4. Haig AJ, Adewole A, Yamakawa KSJ, Kelemen B, Aagesen AL. The *Ligamentum flavum* at L4-5: Relationship with anthropomorphic factors and clinical findings in older persons with and without spinal disorders. *PMR*. 2012; 4(1): 23-29.
5. Rahimizadeh A, Soufiani H, Amirzadeh M, Rahimizadeh Sh. Ossification of the Ligamentum Flavum of the Lumbar Spine in Caucasians: Case Series. *J Spine Neurosurg*. 2017. 6(5). doi: 10.4172/2325-9701.1000283
6. Zhong ZM, Zha DS, Xiao WD, Wu SH, Wu Q, Zhang Y, et al. Hypertrophy of *Ligamentum flavum* in lumbar spine stenosis associated with the increased expression of connective tissue growth factor. *J Orthop Res*. 2011; 29(10): 1592-1597. doi: 10.1002/jor.21431
7. Zhang Y, Xu XM, Wu SP, Xia XZ, Li CT, Dedg CL, et al. Overexpression of platelet-derived growth factor-BB in degenerative hypertrophied *Ligamentum flavum*. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2011; 31(7): 1268-1272.
8. Zhong ZM, Chen JT, Zhang Y, Zha DS, Lin ZS, Zhao CY, et al. Growth/differentiation factor-5 induces osteogenic differentiation of human Ligamentum flavum cells through activation of ERK1/2 and p38 MAPK. *Cell Physiol Biochem*. 2010; 26(2): 179-186. doi: 10.1159/000320526
9. Matsushita T, Wilcox WR, Chan YY, Kawanami A, Bükülmez H, Balmes G, et al. FGFR3 promotes synchondrosis closure and fusion of ossification centers through the MAPK pathway. *Hum Mol Genet*. 2009; 18(2): 227-240.
10. Chen MH, Hu CK, Chen PR, Chen YS, Sun JS, Chen MH. Dose-dependent regulation of cell proliferation and collagen degradation by estradiol on ligamentum flavum. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014; 15: 238. doi: 10.1186/1471-2474-15-238
11. Rodionova LV, Samoylova LG, Shurygina IA, Sklyarenko OV, Zhivotenko AP, Koshkareva ZV, et al. Features of acetylation reactions in patients with stenosing process of the spinal canal and dural sac of the lumbar spine, depending on the severity of ossification of the *Ligamentum flavum*. *Pathogenesis*. 2020. 13(3): 45-52. doi: 10.25557/2310-0435.2020.03.45-52. (In Russ.)
12. Rodionova LV, Sorokovikov VA, Samoylova LG, Negreeva MB, Sklyarenko OV, Koshkareva ZV. Investigation of the factors that determine age and sex differences in the course of degenerative-dystrophic pathology of the spine, complicated by spinal stenosis. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016. 6: 200. URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=25829>. (In Russ.)
13. Rodionova LV, Samoylova LG, Nevezhina AV, Shurygina IA. Expression of deiodinase genes in intraoperative samples of *Ligamentum flavum* in patients with stenotic processes of the spinal canal and dural sac on the lumbar spine. *Acta biomedica scientifica*. 2019. 4(6): 20-25. doi: 10.29413/ABS.2019-4.6.3. (In Russ.)

**Сведения об авторах**

**Родионова Любовь Викторовна** – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: greidmacho@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5080-9225>

**Самойлова Лилия Григорьевна** – младший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: popovalg@mail.ru

**Богородская Светлана Леонидовна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: sbogorodskaya@mail.ru

**Горохова Виктория Григорьевна** – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru

**Сороковиков Владимир Алексеевич** – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: vasorokovikov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9008-6383>

**Information about the authors**

**Lyubov V. Rodionova** – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Teaching Assistant at the Department of Clinical Laboratory Medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: greidmacho@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5080-9225>

**Liliya G. Samoilova** – Junior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: popovalg@mail.ru

**Svetlana L. Bogorodskaya** – Cand. Sc. (Biol.), Senior Researcher at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: sbogorodskaya@mail.ru

**Viktoria G. Gorokhova** – Cand. Sc. (Chem.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru

**Vladimir A. Sorokovikov** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Head of the Department of Traumatology, Orthopedy and Neurosurgery, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: vasorokovikov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9008-6383>

Статья получена: 02.11.2020. Статья принята: 10.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 02.11.2020. Accepted: 10.11.2020. Published: 26.12.2020.