

# МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.13

## Активность генов рецепторов к паратиреоидному гормону в биоптатах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне

Родионова Л.В.<sup>1,2</sup>, Самойлова Л.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

Рецепторы к паратиреоидному гормону PTH1R и PTH2R мало изучены при патологии позвоночника и могут быть вовлечены в процессы как эктопической оссификации связок позвоночника, так и фиброзного разрастания внеклеточной матрикса, а также в другие, ещё не известные, процессы, протекающие в патологическом очаге.

**Цель работы.** В интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника исследовать экспрессию генов, кодирующих рецепторы к паратиреоидному гормону, и оценить взаимосвязанность с экспрессией других генов, активных в соединительной ткани в условиях развивающейся патологии.

**Материалы и методы.** Исследования жёлтой связки проведены у 33 пациентов (17 женщин, 16 мужчин) со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника. Выделенная из биоматериала РНК (реагенты Qiagen, Германия), подвергалась обратной транскрипции, ставили полимеразную цепную реакцию с кДНК (реагенты Promega, США) с использованием термоциклера CFX96 (Biorad, США) со специально подобранными специфичными праймерами.

**Результаты.** В интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка впервые обнаружена и оценена экспрессия генов, кодирующих рецепторы к паратиреоидному гормону PTH1R и PTH2R, и выявлена их взаимосвязь с активностью генов, кодирующих рецепторы к эстрадиолу (ESR1 и ESR2) и FGFR3. Впервые обнаружены общие особенности экспрессии генов PTH1R и PTH2R, а также их различия. Доказано, что интенсивность экспрессии рецепторов к паратиреоидному гормону в интраоперационных биоптатах *Ligamentum flavum* не зависит от возраста, половой принадлежности, а также от наличия костно-хрящевых узлов по результатам МРТ. Выявлена взаимообусловленность дифференциальных изменений экспрессии генов рецепторного аппарата, принимающих участие в метаболизме тканей *Ligamentum flavum*.

**Ключевые слова:** стеноз позвоночного канала, дегенеративно-дистрофические заболевания позвоночника, экспрессия генов, желтая связка, PTH1R, PTH2R

Для цитирования: Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Сороковиков В.А. Активность генов рецепторов к паратиреоидному гормону в биоптатах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 113-123. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.13.

## Activity of Parathyroid Hormone Receptor Genes in *Ligamentum Flavum* Biopsies of Patients with Spinal Canal and Dural Sac Stenosis at the Lumbar Level

Rodionova L.V.<sup>1,2</sup>, Samoilova L.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

Parathyroid hormone receptors PTH1R and PTH2R are poorly studied in the pathology of the vertebral column and may be involved in both ectopic ossification of the vertebral ligaments and fibrous growth of the extracellular matrix, as well as in other unknown processes occurring in the pathological focus.

**Aim.** To study the expression of genes encoding parathyroid hormone receptors in intraoperative Ligamentum flavum samples of patients with stenosis of the spinal canal and the lumbar dural sac of the spine and to assess the correlation with the expression of other genes active in connective tissue in conditions of developing pathology.

**Materials and methods.** Studies of the Ligamentum flavum were performed in 33 patients (17 women, 16 men) with stenotic processes of the spinal canal and dural sac of the lumbar spine. RNA was isolated from the biopsies using Qiagen reagents (Germany). Then reverse transcription was performed. cDNA was used for setting up a polymerase chain reaction (Promega Reagents, USA) using a CFX96 thermal cycler (Biorad, USA) with specially selected specific primers.

**Results.** The expression of genes encoding parathyroid hormone receptors PTH1R and PTH2R was detected and evaluated for the first time in intraoperative Ligamentum flavum samples of patients with spinal canal and dural sac stenosis, and their relationship with the activity of genes encoding estradiol receptors (ESR1 and ESR2) and FGFR3 was revealed. For the first time, common features of PTH1R and PTH2R gene expression, as well as their differences, were revealed. It is proved that the intensity of expression of parathyroid hormone receptors in intraoperative Ligamentum flavum biopsies does not depend on age, gender, or the presence of bone and cartilage nodes according to MRI results. The interdependence of differential changes in the expression of genes of the receptor apparatus involved in the metabolism of Ligamentum flavum tissues was revealed.

**Key words:** stenosis of the spinal canal, degenerative spine disorders, gene expression, Ligamentum flavum, PTH1R, PTH2R

**For citation:** Rodionova L.V., Samoilova L.G., Sorokovikov V.A. Activity of Parathyroid Hormone Receptor Genes in Ligamentum Flavum Biopsies of Patients with Spinal Canal and Dural Sac Stenosis at the Lumbar Level. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 113-123. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.13.

Жёлтая связка является важным компонентом в патологическом механизме формирования стеноза позвоночного канала и дурального мешка [1, 2]. Известно о значении гипертрофии жёлтой связки и её оссификации в данном процессе [2, 3, 4]. Несмотря на значимость проблемы, молекулярные механизмы, лежащие в основе дегенеративно-дистрофических изменений *Ligamentum flavum*, ещё только начинают изучаться [5, 6], и патогенез этого процесса все ещё недостаточно ясен.

Перспективным подходом является изучение метаболических путей с целью выявления ключевой «мишени» для воздействия в саногенетических целях. Например, известно, что путь TGF- $\beta$  имеет решающее значение при патологической гипертрофии *Ligamentum flavum*. Опираясь на эти знания, исследователи пытаются получить «рычаги» воздействия на этот патологический процесс с помощью блокирования или модуляции механизма TGF- $\beta$  [2]. Дегенерация межпозвоковых дисков включает в себя увеличение активности деградирующих ферментов и убыль компонента внеклеточного матрикса (ВКМ) в процессе, который контролируется целым рядом цитокинов и факторов роста. Зарубежные исследователи предлагают использовать анаболические факторы роста для регенерации нормального матрикса межпозвоковых дисков, пытаясь таким образом восстановить высоту диска и обращая вспять дегенеративно-дистрофический процесс. Однако для того, чтобы такая терапия была успешной, необходимо, чтобы клетки-мишени экспрессировали соответствующие рецепторы [7]. Зная конкретные параметры рецепторного аппарата тканей патологического очага, можно будет разрабатывать новые подходы к лечению и профилактике, включая и поиск новых мишеней для персонализированной терапии [8, 9].

Перспективным является исследование действия паратиреоидного гормона (ПТГ) на локальном уровне в месте развития патологического процесса в позвоночнике. Основная функция ПТГ – угнетение формирования костной ткани через влияние на остеобласты и остеоциты, которые, выделяя различные факторы роста и цитокины, активируют остеокласты. Те в свою очередь начинают секретировать щелочную фосфатазу и коллаген, разрушая костную ткань. ПТГ опосредованно увеличивает канальцевую реабсорбцию  $\text{Ca}^{2+}$ , экскрецию

фосфатов почками, а также кишечную абсорбцию кальция путём индукции синтеза кальцитриола. В результате действия ПТГ происходит повышение концентрации кальция в крови и деминерализация костного матрикса, а также уменьшение концентрации фосфатов в плазме крови. Биологическое действие ПТГ осуществляется за счёт связывания со специфическими ПТГ-рецепторами на поверхности клеток [10].

Повышенная плотность остеоцитов сопровождается анаболический эффект ПТГ *in vivo*, тогда как ускоренная гибель остеоцитов может быть вызвана дефицитом эстрогена или избытком глюкокортикоидов и почечной недостаточностью [11]. Активация PTH1R в остеоцитах способствует межклеточному соединению, увеличивает экспрессию металлопротеиназы-9, потенцирует приток кальция через активированные растяжением катионные каналы, усиливает остеогенный ответ на механическую нагрузку *in vivo* и регулирует апоптоз [11].

У человека известно два типа рецепторов к паратиреоидному гормону – PTH1R и PTH2R, – расположенных на разных хромосомах (2-й и 3-й соответственно). В зарубежной литературе приводятся данные, свидетельствующие о взаимосвязи возрастных дегенеративных изменений структур позвоночника с полиморфизмом генов PTH1R и PTH2R. [12]. Обычно роль паратиреоидного гормона и связанного с ним сигнального каскада соотносят с регуляцией кальций-фосфорного обмена, развитием остеоартроза и остеопороза [13]. Однако теперь стало известно, что PTH1R и PTH2R могут связываться не только с «целевым» паратиреоидным гормоном. У каждого из них обнаружено ещё по одному дополнительному лиганду: паратиреоид-подобный гормон (PTHrP) для PTH1R и тубероинфундибулярный пептид, состоящий из 39 аминокислотных остатков (TIP39) – для PTH2R. При связывании с альтернативным лигандом активируются совершенно другие метаболические пути, хотя взаимодействие какого-либо лиганда с рецептором приводит к синтезу цАМФ и инициации внутриклеточной  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналикации, но в конце концов ПТГ и TIP39 вызывают различные реакции от PTH2R [14]. Так, в работах Е. Сато с соавт. выявлена роль PTH2R в продукции внеклеточного матрикса в ранах. Показано, что дефицит PTH2R или его дополнительного лиганда – TIP39 – задерживает репарацию, а лечение добавлением TIP39

ускоряет заживление. Эти исследования выявили новую роль сигнализации с участием *PTH2R* в производстве внеклеточного матрикса. Предполагают, что система *TIP39/PTH2R* является ранее неизвестным механизмом регуляции формирования внеклеточного матрикса и репарации ран [15].

Интересно, что тубероинфундибулярный пептид (*TIP39*), способствующий синтезу нейронов, активно работает в участках с выраженной экспрессией *PTH2R*. К этим областям относятся многие, участвующие в обработке ноцицептивной информации [16]. Помимо «традиционной» роли ПТГ, известно также модулирование памяти страха и психопатологии, с ним связанное через нейропептид *TIP39*, который действует через свой рецептор *PTH2R* [17]. Показано, что система *TIP39/PTH2R* является уникальной нейропептид-рецепторной системой, локализация и функции которой в центральной нервной системе отличаются от любых других нейропептидов [18].

Опубликованные в научной литературе данные указывают на то, что система лиганд/рецептор *TIP39/PTH2R* обеспечивает стимулирующую регуляцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси через гипоталамические глутаматэргические нейроны и что она может регулировать другие нейроэндокринные системы по аналогичному механизму [16]. Также показано, что сигнализация *TIP39/PTH2R* ингибирует пролиферацию и изменяет дифференцировку хондроцитов [19]. Предполагают также, что, связываясь с *PTH2R*, *TIP39* может непосредственно влиять на соматостатин и таким образом косвенно влиять на кортикотропин-рилизинг-гормон, содержащийся в нейронах [20]. Физиологическая роль *TIP39/PTH2R* может заключаться в ингибировании высвобождения гипоталамических количеств норадреналина во время хронической боли. Нейропептид может помочь поддерживать центральную сенсibilизацию, которая может служить для усиления охранительного поведения [21].

Обобщая приведённую информацию, следует сказать, что через рецепторный аппарат модулируется воздействие на ткани различных гормонов. Есть тропные ткани, где гормон, связываясь со специфическими рецепторами, запускает запрограммированный каскад реакций, а есть ткани, которые практически «не видят» этого гормона, так как на поверхности их клеток нет рецепторов, способных «узнать» его. Через увеличение и уменьшение экспрессии происходит так называемая *up-* и *down-*регуляция, то есть это ещё один уровень «тонкой настройки» метаболических изменений, ведущих к оптимальному выполнению функций. Рецепторы к ПТГ мало изучены при патологии позвоночника и могут быть вовлечены в процессы как эктопической оссификации связок позвоночника, так и фиброзного разрастания внеклеточного матрикса, а также в другие, ещё не известные, процессы, протекающие в патологическом очаге.

В соответствии с вышперечисленным была поставлена **цель**: в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника исследовать экспрессию генов, кодирующих рецепторы к паратиреоидному гормону и оценить взаимосопряжённость с экспрессией других генов, активных в соединительной ткани в условиях

развивающейся патологии. Критериями выбора генов-кандидатов являлись: 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, влияние на процессы оссификации и пролиферации.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования жёлтой связки проведены в группе пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка, локализованными в поясничном отделе, в которую вошли 33 человека (17 женщин и 16 мужчин). Критерием включения пациентов в исследование было наличие клинико-рентгенологических признаков стенозирования позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне, в частности, при толщине жёлтой связки более 3,5 мм и ширине позвоночного канала меньше 12 мм (по данным МРТ), и назначение оперативного лечения – декомпрессии и реконструкции позвоночного канала с интеграцией системы транспедикулярной фиксации. Таким образом, у всех пациентов, вошедших в исследование, была гипертрофия *Ligamentum flavum*, сопровождающаяся стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне позвоночника. Кроме того, у 93,5 % пациентов была диагностирована нестабильность позвоночно-двигательного сегмента. Всем пациентам были разъяснены характер и объём оперативного вмешательства, связанный с ним ожидаемый положительный эффект с последующим подписанием добровольного информированного согласия на участие в исследовании. Протокол исследования был предварительно одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии». Подробная характеристика пациентов, алгоритм их обследования и верификации диагноза приводится в ранее опубликованной нами работе [22]. Критериями исключения из исследования являлись: возраст моложе 18 лет; отсутствие подписанного информированного согласия; беременность; тяжёлая сопутствующая патология; инфекционные и гнойные заболевания.

Отсутствие группы клинического сравнения обусловлено этической невозможностью отбора образцов *Ligamentum flavum* у пациентов без патологии позвоночника или у других пациентов. Биоптаты *Ligamentum flavum*, собранные интраоперационно в раствор, предотвращающий гидролиз и осуществляющий стабилизацию нуклеиновых кислот (RNAlater (Qiagen, Германия)), подвергали препаровке для выделения единообразных фрагментов ткани без захвата чужеродных структур, а затем замораживали в жидком азоте, гомогенизировали и экстрагировали из них РНК наборами «RNeasy Fibrous Tissue» (Qiagen, Германия). После проведения обратной транскрипции с кДНК ставили полимеразную цепную реакцию с применением реагентов Promega (США) и термоциклера CFX96 (Biorad, США) со специфическими праймерами RealTimePrimers.com (табл. 1). Режим амплификации: 10 мин при 95° С; 2–40-й циклы: 15 с при 95° С, 1 мин при 60° С; считывание флуоресцентного сигнала и возврат на следующий цикл.

Таблица 1

Гены-кандидаты и праймеры, используемые для определения их экспрессии

Table 1

Candidate genes and primers used to determine their expression

RefSeq accession Gene Bank	Обозначение гена	Описание	Прямой праймер	Обратный праймер
NM_001088	AANAT	Aralkylamine N-acetyltransferase	CTCTCCACAGTCCAGGTGCTG	GAGGCAGCGAAACTCACTGG
NM_001742	CALCR	Calcitonin receptor	CTTCCCGGTTGGAGAAGTG	GAAGCAAAGGGTGTTCGAG
NM_000792.5	Dio1	DIO1 deiodinase, iodothyronine, type I	AGTCAAGCGGAACATCCTGG	CGGACCTTCAAGACGAACCA
NM_000793.6	Dio2	DIO2 deiodinase, iodothyronine, type II	TAACAACTCGGATGGGTGCT	GACGCCTTGGGAGGTATGAG
NM_001362.3	Dio3	DIO3 deiodinase, iodothyronine, type III	GTGATGTCGTGGATGGGGAG	AAGCAGACACCCCAACTTCC
NM_000125.4	ESR1	Estrogen receptor 1	TTCGTCTGGGACTGCACTT	CAGGGCAGAAGGCTCAGAAA
NM_001437.3	ESR2	Estrogen receptor 2 (ER beta)	CCTCGAGTGGGCAGTATCAG	CTTTTGTCTTGTGTTCCCGCC
NM_015850.4	FGFR1	Fibroblast growth factor receptor 1	ATTCTGCCTTGGCCCTACC	CTAGCGCAGTCTTTGGGGAA
NM_000142.5	FGFR3	FGFR3 fibroblast growth factor receptor 3 [ <i>Homo sapiens</i> (human)]	AGGAGCTCTTCAAGCTGCTG	AGGTCCAGGTACTCGTCGG
NM_000557.5	GDF5	GDF5 growth differentiation factor 5	GTCCACGAGAAAGCCCTGTT	GCTGGCTGAACAGGTACTCA
NM_016100.5	NAA20	N(alpha)-acetyltransferase 20, NatB catalytic subunit	CCCTGGGCAGTGGTTCTTAG	TCCTTCTGACCTAGCTGCCT
NM_000662.8	NAT1	N-acetyltransferase 1 (arylamine N-acetyltransferase)	GACCTTGGATGTGGGAGGAT	ACAGCTCGGATCTGGTGTG
NM_000015.3	NAT2	N-acetyltransferase 2 (arylamine N-acetyltransferase)	TTACAGACCTTGAAGCAAGAGG	GGTTCTCAAAGGGAACAGCC
NM_002607.6	PDGFA	Platelet-derived growth factor alpha polypeptide	GGTCGCTCCTGAAGCCAG	GGAGGAGAAACAGGGAGTGC
NM_002608.4	PDGFB	Platelet-derived growth factor beta polypeptide	CCAGCGCCCATTTTTCATTCC	CCGGTTTTCTTTGCAGCG
NM_000316.3	PTH1R	Parathyroid hormone 1 receptor	GGCCAACCTTGAGTCTGCTCT	AGTTTCTCATCTGCAGCCC
NM_005048.3	PTH2R	PTH2R parathyroid hormone 2 receptor	CGTCGTTACTGGCCACAAGT	ATTAGCCAACCCAGACGTG
NM_003255	ACTB	ACTB actin beta	CTCGCCTTGGCCGATCC	GGGGTACTTCAGGGTGAGGA
NM_004048.4	B2M	beta-2-microglobulin (B2M)	ACACTGAATTCACCCCCAC	TGCGGCATCTTCAAACCTCC
NM_001270491.2	RPL13A	ribosomal protein L13a	GCCATCGTGGCTAACAGTG	TGCCGTCAAACACCTTGAGA
NM_002046.7	GAPDH	GAPDH glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GACAGTCAGCCGCATCTCT	GCGCCCAATACGACCAAATC

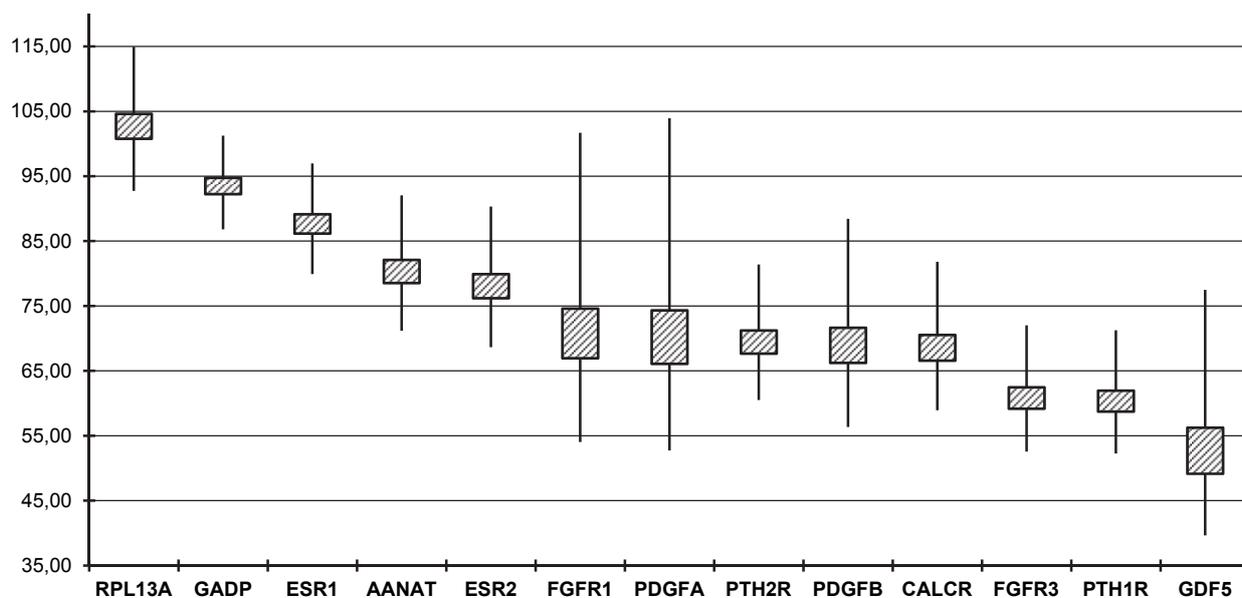
Контроль специфичности синтеза проводили с использованием кривых плавления ампликонов. В качестве генов «домашнего хозяйства» применяли: *ACTB*, кодирующий (β)-актин; *GADP*, кодирующий глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу; *RPL13A*, ответственный за 60S рибосомальный белок L13a; *B2M*, кодирующий 2-микроглобулин. Подробная методика подготовки образцов описана нами ранее [22].

**Статистическую обработку** результатов производили с помощью программы Statistica 10.0 (лицензия № АХАР402G263414FA-V), различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Для обработки категориальных данных использовали критерий согласия Пирсона ( $\chi^2$ ), предназначенный для проверки значимости расхождения эмпирических и теоретических частот. Значимость различий между группами по количественным показателям рассчитывали с помощью однофакторного

дисперсионного анализа. Исследование одобрено локальным этическим комитетом, всеми пациентами было подписано добровольное информированное согласие.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

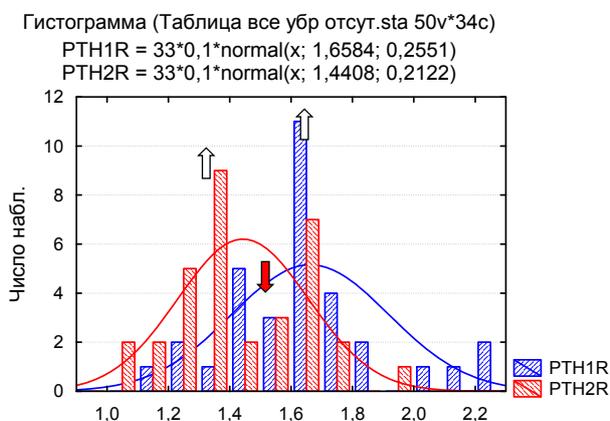
Во всех образцах интраоперационных биоптатов *Ligamentum flavum* обнаружены значительные количества матричной РНК *PTH1R* и *PTH2R*. Место рецепторов паратиреоидного гормона (*PTH1R* и *PTH2R*) в ранге средней интенсивности экспрессии генов в жёлтой связке отражено на рисунке 1. Если не учитывать наиболее активные гены «домашнего хозяйства» *RPL13A* и *GADP*, высокая экспрессия которых закономерна, то другими генами, превышающими активность *PTH1R* и *PTH2R*, были *AANAT* и гены, кодирующие рецепторы к эстрадиолу (*ESR1* и *ESR2*). Интенсивность транскрипции *ESR1* была статистически значимо выше, чем экспрессия *PTH1R*.



**Рис. 1.** Экспрессия генов в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum*, ранжированная по убыванию интенсивности. По оси ординат – величины, производные от Ct ( $1 : \frac{Ct_{гена}}{Ct_{ACTB}} \times 100$ )

**Fig. 1.** Gene expression in intraoperative *Ligamentum flavum* samples, ranked in descending order of intensity. At the ordinate axis – derived values from Ct ( $1 : \frac{Ct_{gene}}{Ct_{ACTB}} \times 100$ )

На первом этапе проведена оценка распределения (рис. 2). Видно, что распределение интенсивности экспрессии рецепторов к ПТГ в выборке не соответствует нормальному, что часто встречается в биологии и медицине. Тренд ожидаемого нормального распределения обозначен на графике линией, а реальное распределение – столбцами, высота которых увеличивается с числом наблюдений в данном диапазоне. На рисунке 2 видно, что как для *PTH1R*, так и для *PTH2R* выявлены два наиболее часто наблюдающихся диапазона активности (показано стрелками вверх), однако они не сливались, а между ними находился «провал» (показан стрелкой вниз). Такая особенность может нивелироваться увеличением количества исследований и на данном этапе вызывает трудности в интерпретации и пока признается как факт, характеризующий схожие особенности экспрессии *PTH1R* и *PTH2R*. По результатам оценки распределения для расчётов использовали непараметрические методы статистики.



**Рис. 2.** Оценка распределения экспрессии *PTH1R* и *PTH2R*  
**Fig. 2.** Assessment of the distribution of *PTH1R* and *PTH2R* expression

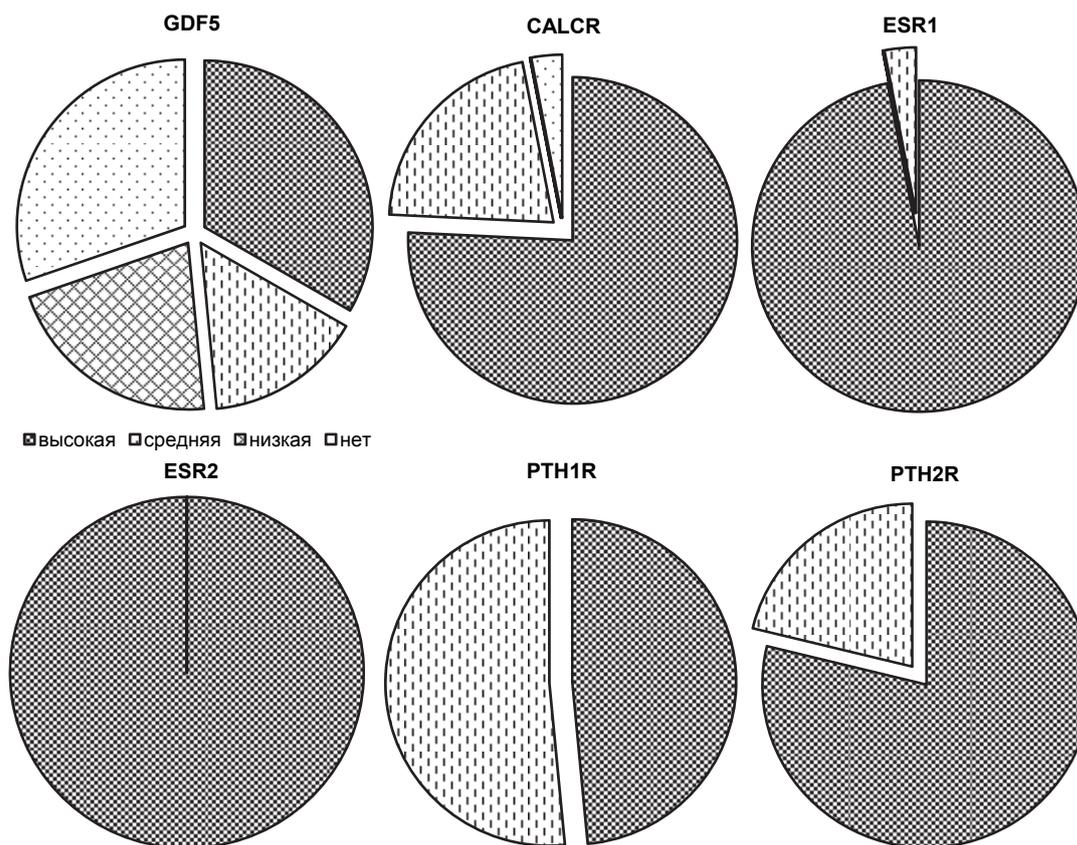
На данном этапе исследования активность генов *PTH1R* и *PTH2R* была самой часто встречающейся и активной после *ESR1* и *ESR2*. Из рисунка 3 видно, что нет образцов, которые бы показали низкую экспрессию или её отсутствие. *PTH2R* чаще проявлял высокую активность (78,8 % против 48,5 % для *PTH1R*) (рис. 3). Для сравнения приведены данные для *GDF5* – наиболее низкоактивного гена в ткани жёлтой связки (рис. 3).

Результаты проведения кластерного анализа представлены на рисунке 4. Видно, что паттерны экспрессии отражают, что рецепторы к ПТГ как 1-го, так и 2-го типа теснее других связаны с другими показателями. В соответствии с этими данными, наиболее основополагающие гены – это *CALCR*, *ESR2*, *PTH2R*, *FGFR3* и *PTH1R*: они тесно связаны между собой корреляционными связями и формируют своеобразное «ядро» – структуру, где эти показатели оказались в близких кластерах.

Оба гена, кодирующие рецепторы к ПТГ, работали сопряжённо и однонаправленно ( $r = 0,567$ ;  $p < 0,01$ ): при увеличении экспрессии одного увеличивалась экспрессия и другого (рис. 5), что было подтверждено с помощью корреляционного анализа.

При поиске коррелятивных связей не было выявлено сопряжённости экспрессии *PTH1R* и *PTH2R* с половой принадлежностью, возрастом (рис. 6) и наличием костнохрящевых узлов по результатам МРТ (табл. 2).

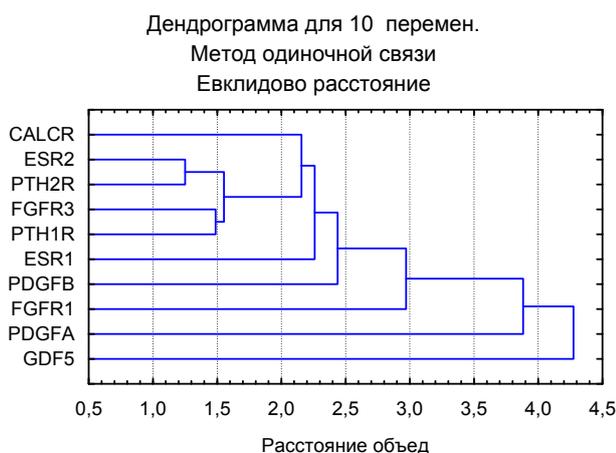
Также не все даже очень хорошо теоретически обоснованные взаимосвязи были обнаружены. Так, нет взаимосвязи между экспрессией рецепторов к кальцитонину (*CALCR*) и *PTH1R*, хотя их физиологический антагонизм давал основания ожидать такую ассоциацию, выраженную в отрицательной корреляции этих показателей. Интересна и неожиданно выявленная положительная корреляция между *CALCR* и *PTH2R*, несмотря на их, казалось бы, разнонаправленное действие.



Экспрессия	GDF5	PTH1R	PTH2R	CALCR	ESR1	ESR2
высокая	11 (33,3 %)	16 (48,48 %)	26 (78,78 %)	25 (75,76 %)	32 (96,97 %)	33 (100 %)
средняя	5 (15,15 %)	17 (51,52 %)	7 (21,21 %)	7 (21,21 %)	0	0
низкая	7 (21,21 %)	0	0	0	0	0
нет	10 (30,3 %)	0	0	1 (3,03%)	1 (3,03 %)	0

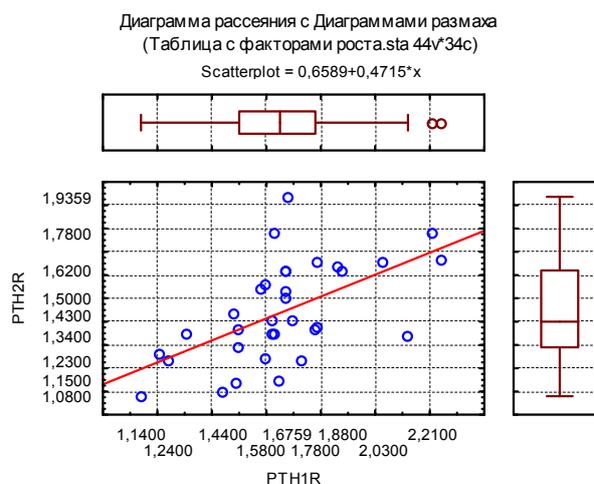
**Рис. 3.** Характеристика активности экспрессии генов-кандидатов в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне (n = 33)

**Fig. 3.** Characteristics of the activity of candidate genes expression in intraoperative *Ligamentum flavum* samples from patients with stenosing processes of the spinal canal and dural sac at the lumbar level (n = 33)



**Рис. 4.** Иерархическая кластеризация данных экспрессии генов-кандидатов

**Fig. 4.** Hierarchical clustering of candidate gene expression data



**Рис. 5.** Взаимосвязь экспрессии *PTH1R* и *PTH2R*

**Fig. 5.** Relationship between *PTH1R* and *PTH2R* expression

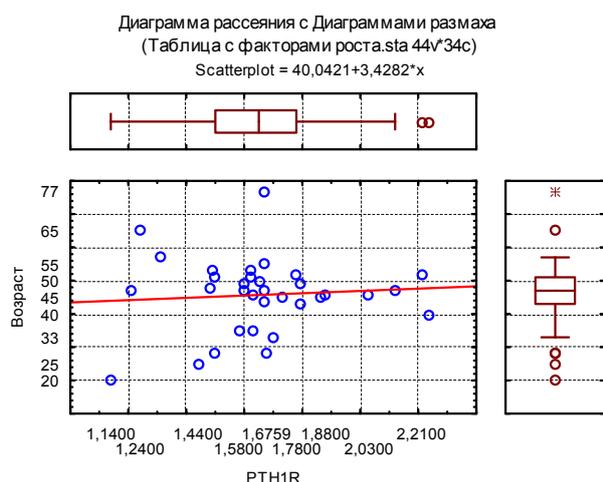


Рис. 6. Исследование возможной взаимосвязи экспрессии PTH1R и PTH2R с возрастом пациентов (взаимосвязь не выявлена)

Fig. 6. Investigation of a possible relationship between the expression of PTH1R and PTH2R with the age of patients (no relationship was found)

Трудно предположить причины положительной коррелятивной связи между PTH2R и CALCR, поскольку ПТГ и кальцитонин являются функциональными антагонистами и, соответственно, действуют разнонаправленно. Возможно, антагонистическое действие кальцитонина и ПТГ не так ярко выражено в ткани *Ligamentum flavum*, как можно было бы теоретически ожидать. Но возможно также, что PTH2R в данном случае экспрессируется для взаимодействия со своим другим недавно открытым лигандом, называемым TIP39. Исходя из этого, можно предположить, что если для заживления ран необходима активность PTH2R [15], то в случае фиброзных процессов, наоборот, чтобы они не были сильно выражены, экспрессия этого рецептора должна быть ниже. То есть излишняя активность PTH2R при связывании не с ПТГ, а с TIP39 может приводить к образованию излишков внеклеточного матрикса и таким образом – к фиброзу и стенозу позвоночного канала за счёт гипертрофии жёлтой связки. С одной стороны, увеличение концентрации ПТГ и связывание его с рецепторами способствуют увеличению

Таблица 3  
Коэффициенты корреляции (r) между экспрессией рецепторов к ПТГ и другими изучаемыми параметрами

Table 3  
Correlation coefficients (r) between the expression of parathyroid hormone receptors and other studied parameters

Показатели	PTH1R	PTH2R
Наличие костно-хрящевых узлов по признакам МРТ	0,133	-0,010
Вес	<b>0,484</b>	0,293
Объём бёдер	<b>0,456</b>	0,322
Концентрация T <sub>3</sub> в сыворотке крови	<b>-0,400</b>	<b>-0,390</b>
ESR1	<b>0,589</b>	<b>0,823</b>
ESR2	<b>0,500</b>	<b>0,570</b>
FGFR1	-0,290	-0,280
FGFR3	<b>0,394</b>	<b>0,436</b>
AANAT	<b>0,749</b>	<b>0,799</b>
CALCR	0,180	<b>0,457</b>
PDGFA	-0,280	0,225
PDGFB	-0,340	<b>0,442</b>
GADP	-0,140	<b>-0,430</b>

Примечание. Полужирным шрифтом выделены коэффициенты корреляции, достигающие уровня статистической значимости (критическое значение  $r = 0,35$  при  $p < 0,05$ ).

мобилизации кальция, его выходу в кровеносное русло, а с другой стороны, связывание с альтернативным лигандом вызывает совсем иное действие. Таким образом, определение изолированной экспрессии PTH1R и PTH2R дало новую информацию об их наличии в тканях жёлтой связки, и на следующем этапе целесообразно продолжить исследование, выполнив анализ экспрессии других малоизвестных важных лигандов PTH1R и PTH2R – PTHLH и TIP39. PTHLH (parathyroid hormone-like hormone) – гормон, подобный ПТГ; известно, что он задействован в хондрогенезе, но пока очень мало изучен [23].

При проведении корреляционного анализа выявлена структура взаимоотношений транскрипции генов рецепторов PTH1R и PTH2R с экспрессией других генов (рис. 7).

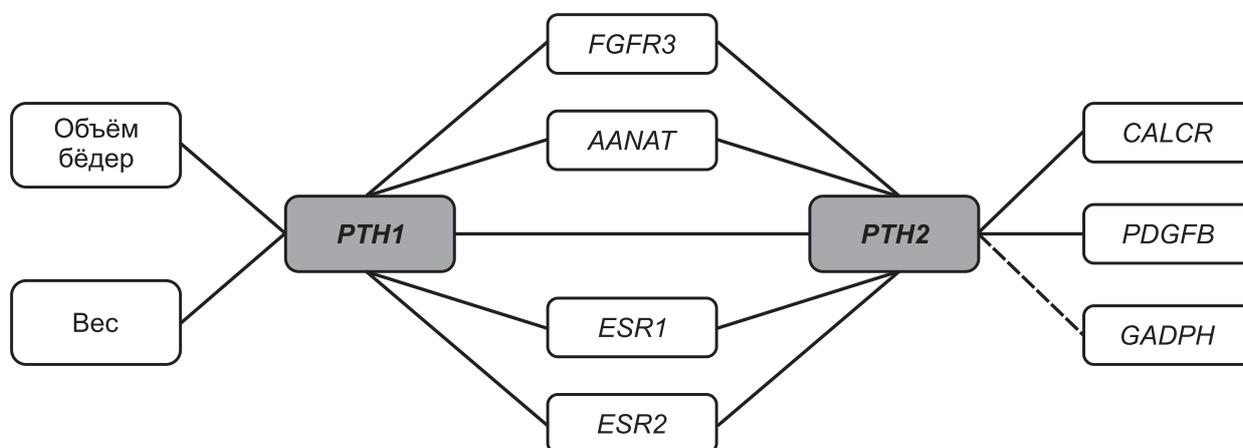


Рис. 7. Структура корреляционных связей экспрессии рецепторов паратиреоидного гормона с другими показателями: сплошная линия – прямая корреляция; пунктирная линия – обратная корреляция

Fig. 7. The structure of correlations between the expression of parathyroid hormone receptors with other indicators: solid line – direct correlation; stipple line – inverse correlation

Видно, что общими связями рецепторов *PTH1R* и *PTH2R* были ассоциации с рецепторами к эстрадиолу (*ESR1* и *ESR2*), а также с экспрессией фактора роста фибробластов 3 (*FGFR3*) и гена N-ацетилтрансферазы (*AANAT*). Очевидно, что именно эти гены действуют скоординировано, образуя устойчивые профили экспрессии, взаимоактивируя и взаимообуславливая активность друг друга (см. рис. 7). На «втором плане» в этой структуре были такие антропометрические показатели, как вес и объём бёдер, которые изменялись параллельно с *PTH1R*, и экспрессия рецепторов к кальцитонину (*CALCR*), бета-полипептиду тромбоцитарного фактора роста (*PDGFB*) и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназе (*GAPDH*) (см. рис. 7).

Для дальнейшего анализа все образцы были разделены на 3 подгруппы по возрастанию активности экспрессии *PTH1R* и *PTH2R*: 1-я подгруппа – наиболее высокая экспрессия; 2-я подгруппа – средняя экспрессия; 3-я подгруппа – относительно низкая экспрессия (рис. 8, 9). В таблице 3 приведены статистически значимые различия по экспрессии генов-кандидатов в подгруппах, разделённых по активности генов *PTH1R* и *PTH2R*. Очень много общего выявлено между подгруппами, сформированными по активности экспрессии *PTH1R* и *PTH2R*, что отражает сопряжённость изменений этих рецепторов 1-го и 2-го типа, но есть и небольшие различия (табл. 3). Данные, полученные при ранжировании по активности рецепторов к ПТГ, достаточно информативны,

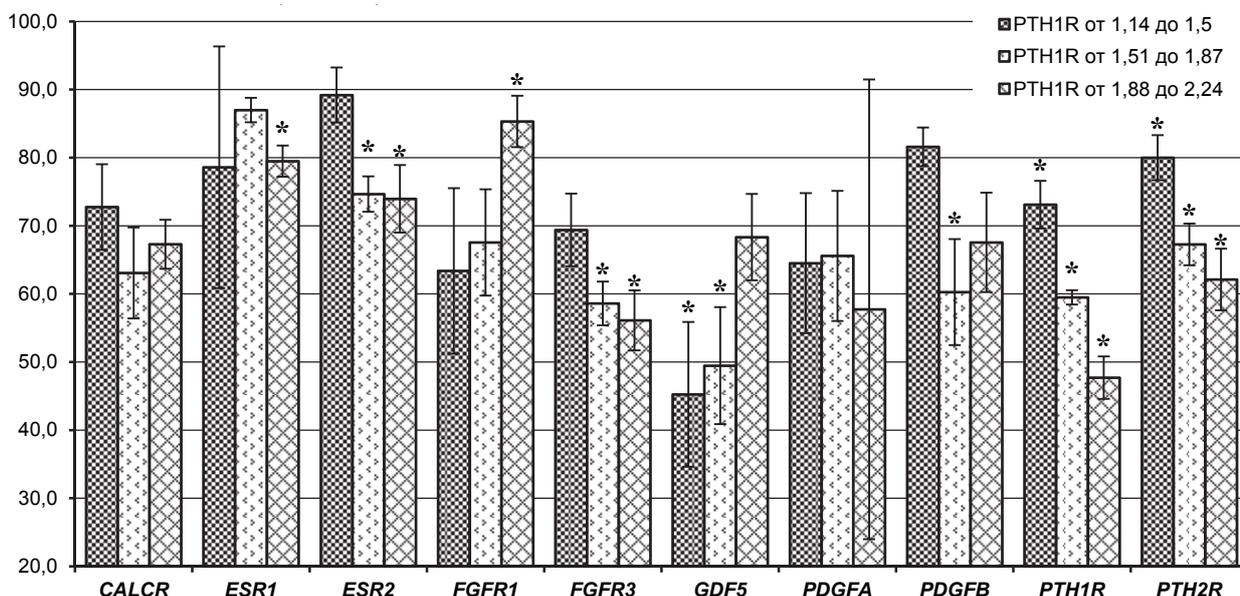


Рис. 8. Профиль экспрессии генов-кандидатов в *Ligamentum flavum*, ранжированный по активности гена *PTH1R*: \* –  $p < 0,05$   
 Fig. 8. Expression profile of candidate genes in *Ligamentum flavum*, ranked by *PTH1R* gene activity: \* –  $p < 0,05$

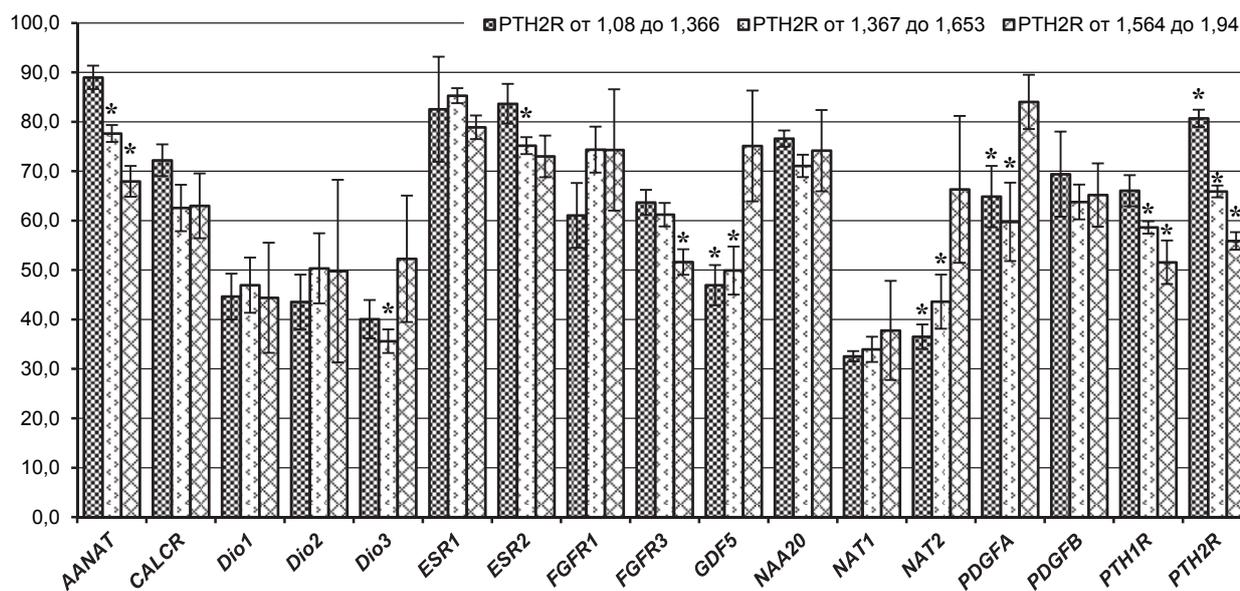


Рис. 9. Профиль экспрессии генов-кандидатов в *Ligamentum flavum*, ранжированный по активности гена *PTH2R*: \* –  $p < 0,05$   
 Fig. 9. Expression profile of candidate genes in *Ligamentum flavum*, ranked by *PTH2R* gene activity: \* –  $p < 0,05$

Таблица 3

Статистически значимые различия по экспрессии генов-кандидатов

Statistically significant differences in the expression of candidate genes

Table 3

Группы Диапазон Ст Номер подгруппы	Разделено по PTH1R			Разделено по PTH2R		
	1,14–1,5	1,51–1,87	1,88–2,24	1,08–1,366	1,367–1,653	1,654–1,94
	1	2	3	1	2	3
AANAT	1–2	2–3	1–3	1–2	2–3	1–3
CALCR	1–2	–	–	1–2	–	–
Dio1	–	–	–	–	–	–
Dio2	–	2–3	1–3	–	–	–
Dio3	–	–	–	–	2–3	–
ESR1	–	2–3	–	–	2–3	–
ESR2	1–2	–	1–3	1–2	–	1–3
FGFR1	–	2–3	1–3	–	–	1–3
FGFR3	1–2	–	1–3	–	2–3	1–3
GDF5	–	2–3	1–3	–	2–3	1–3
NAA20	–	–	–	–	–	–
NAT1	–	–	–	–	–	–
NAT2	–	–	–	–	2–3	1–3
PDGFA	–	–	–	1–3	2–3	–
PDGFB	1–2	2–3	1–3	–	–	–
PTH1R	1–2	2–3	1–3	1–2	2–3	1–3
PTH2R	1–2	2–3	1–3	1–2	2–3	1–3
GADP	–	–	–	–	2–3	1–3
RPLP13A	–	–	–	–	–	–

Примечание. Цифрами обозначено, между какими группами есть статистически значимые различия по данному гену.

поскольку при таком делении получилось много статистически подтверждённых различий по большому количеству генов. Вполне может быть, что именно рецепторы к ПТГ являются особенно значимыми для метаболизма тканей жёлтой связки, поскольку многие гены работают совместно и скоординировано с ними (см. табл. 3, рис. 7).

### ВЫВОДЫ

1. В ткани *Ligamentum flavum* всех пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне позвоночника экспрессируются гены, кодирующие рецепторы к паратиреоидному гормону PTH1R и PTH2R.

2. Общими особенностями экспрессии генов PTH1R и PTH2R были сопряжённость и однонаправленность изменений с экспрессией рецепторов к эстрадиолу (ESR1 и ESR2), а также с экспрессией фактора роста фибробластов FGFR3.

3. Отличительными чертами между транскрипцией генов PTH1R и PTH2R являются: для PTH1R – корреляция с весом тела пациента и объёмом бёдер; для PTH2R – параллельное однонаправленное изменение с экспрессией рецепторов к кальцитонину и PDGFB.

4. Интенсивность экспрессии рецепторов к паратиреоидному гормону в интраоперационных биоптатах *Ligamentum flavum* не зависит от возраста, половой принадлежности и наличия костно-хрящевых узлов по результатам МРТ.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого исследования в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне позвоночника впервые обнаружена и оценена экспрессия генов, кодирующих рецепторы к паратиреоидному гормону PTH1R и PTH2R, и выявлена их взаимосвязь с активностью генов, кодирующих рецепторы к эстрадиолу (ESR1 и ESR2) и FGFR3. Таким образом, выявлены паттерны экспрессии генов, кодирующих важные параметры рецепторного аппарата жёлтой связки, факторы роста и гены ацетилтрансфераз в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum*.

Обнаружены общие особенности экспрессии генов PTH1R и PTH2R, выражающиеся в сопряжённости и однонаправленности изменений с экспрессией рецепторов к эстрадиолу ESR1 и ESR2, а также с экспрессией фактора роста фибробластов FGFR3.

Впервые найдены отличительные черты между транскрипцией генов PTH1R и PTH2R, каковыми являются: для PTH1R – корреляция с весом тела пациента и объёмом бёдер; для PTH2R – параллельное однонаправленное изменение с экспрессией рецепторов к кальцитонину и PDGFB.

Доказано отсутствие зависимости интенсивности экспрессии рецепторов к паратиреоидному гормону в интраоперационных биоптатах *Ligamentum flavum*

от возраста пациента, его половой принадлежности, а также от наличия костно-хрящевых узлов, выявленных по результатам МРТ.

Изучение и оценка экспрессии ключевых генов, определяющих метаболизм соединительной ткани, даёт новые данные о патогенезе дегенеративно-дистрофических заболеваний позвоночника.

Определены новые значимые параметры рецепторного аппарата *Ligamentum flavum*, выявлена взаимообусловленность дифференциальных изменений экспрессии генов, принимающих участие в метаболизме тканей *Ligamentum flavum*.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. 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
2. Ye S, Kwon WK, Bae T, Kim S, Lee JB, Cho TH, et al. CCN5 reduces Ligamentum flavum hypertrophy by modulating the TG-F-β pathway. *J Orthop Res*. 2019; 37(12): 2634-2644. doi: 10.1002/jor.24425
3. 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.
4. 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
5. Mori T, Sakai Y, Kayano M, Matsuda A, Oboki K, Matsmoto K. MicroRNA transcriptome analysis on hypertrophy of Ligamentum flavum in patients with lumbar spinal stenosis. *Spine Surg Relat Res*. 2017; 1(4): 211-217. doi: 10.22603/ssr.1.2017-0023
6. Qu X, Chen Z, Fan D, Sun C, Zeng Y, Hou X, et al. Notch signaling pathways in human thoracic ossification of the Ligamentum flavum. *J Orthop Res*. 2016; 34(8): 1481-1491. doi: 10.1002/jor.23303
7. Le Maitre CL, Richardson SM, Baird P, Freemont AJ, Hoyland JA. Expression of receptors for putative anabolic growth factors in human intervertebral disc: implications for repair and regeneration of the disc. *J Pathol*. 2005; 207(4): 445-452. doi: 10.1002/path.1862
8. Guo W, Zhang B, Li Y, Duan HQ, Sun C, Xu YQ, et al. Gene expression profile identifies potential biomarkers for human intervertebral disc degeneration. *Mol Med Rep*. 2017; 16(6): 8665-8672. doi: 10.3892/mmr.2017.7741
9. Hong J, Yan J, Chen J, Li S, Huang Y, Huang Z, et al. Identification of key potential targets for TNF-α/TNFR1-related intervertebral disc degeneration by bioinformatics analysis. *Connect Tissue Res*. 2020; 26: 1-11. doi: 10.1080/03008207.2020.1797709
10. Северин Е.С. (ред.). Биохимия: учебник. М.: ГЭОТАР-МЕД; 2003.
11. Bringhurst FR. PTH receptors and apoptosis in osteocytes. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2002; 2(3): 245-251.
12. Åkesson K, Tenne M, Gerdhem P, Luthman H, McGuigan FE. Variation in the PTH2R gene is associated with age-related degenerative changes in the lumbar spine. *J Bone Miner Metab*. 2015; 33(1): 9-15. doi: 10.1007/s00774-013-0550-x
13. Galloway TS, Fletcher T, Thomas OJ, Lee BP, Pilling LC, Harries LW. PFOA and PFOS are associated with reduced expression of the parathyroid hormone 2 receptor (PTH2R) gene in women. *Chemosphere*. 2015; 120: 555-562. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.09.066
14. Bisello A, Manen D, Pierroz DD, Usdin TB, Rizzoli R, Ferrari SL. Agonist-specific regulation of parathyroid hormone (PTH) receptor type 2 activity: structural and functional analysis of PTH- and tuberoinfundibular peptide (TIP) 39-stimulated desensitization and internalization. *Mol Endocrinol*. 2004; 18(6): 1486-1498. doi: 10.1210/me.2003-0487

15. Sato E, Zhang LJ, Dorschner RA, Adase CA, Choudhury BP, Gallo RL. Activation of parathyroid hormone 2 receptor induces decorin expression and promotes wound repair. *J Invest Dermatol*. 2017; 137(8): 1774-1783. doi: 10.1016/j.jid.2017.03.034
16. Dimitrov EL, Petrus E, Usdin TB. Tuberoinfundibular peptide of 39 residues (TIP39) signaling modulates acute and tonic nociception. *Exp Neurol*. 2010; 226(1): 68-83. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.08.004
17. Tsuda MC, Yeung HM, Kuo J, Usdin TB. Incubation of fear is regulated by TIP39 peptide signaling in the medial nucleus of the amygdala. *J Neurosci*. 2015; 35(35): 12152-12161. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1736-15.2015
18. Dobolyi A, Palkovits M, Usdin TB. The TIP39-PTH2 receptor system: unique peptidergic cell groups in the brainstem and their interactions with central regulatory mechanisms. *Prog Neurobiol*. 2010; 90(1): 29-59. doi: 10.1016/j.pneurobio.2009.10.017
19. Panda D, Goltzman D, Jüppner H, Karaplis AC. TIP39/parathyroid hormone type 2 receptor signaling is a potent inhibitor of chondrocyte proliferation and differentiation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009; 297(5): E1125-E1136. doi: 10.1152/ajpendo.00254.2009
20. Bagó AG, Dimitrov E, Saunders R, Seress L, Palkovits M, Usdin TB, et al. Parathyroid hormone 2 receptor and its endogenous ligand tuberoinfundibular peptide of 39 residues are concentrated in endocrine, viscerosensory and auditory brain regions in macaque and human. *Neuroscience*. 2009; 162(1): 128-147. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.04.054
21. Dimitrov EL, Kuo J, Kohno K, Usdin TB. Neuropathic and inflammatory pain are modulated by tuberoinfundibular peptide of 39 residues. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013; 110(32): 13156-13161. doi: 10.1073/pnas.1306342110
22. 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
23. Bai M, Yin H, Zhao J, Li Y, Wu Y. miR-182-5p overexpression inhibits chondrogenesis by down-regulating PTHLH. *Cell Biol Int*. 2019; 43(3): 222-232. doi: 10.1002/cbin.11047

**REFERENCES**

1. 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
2. Ye S, Kwon WK, Bae T, Kim S, Lee JB, Cho TH, et al. CCN5 reduces Ligamentum flavum hypertrophy by modulating the TG-F-β pathway. *J Orthop Res*. 2019; 37(12): 2634-2644. doi: 10.1002/jor.24425
3. 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.
4. 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
5. Mori T, Sakai Y, Kayano M, Matsuda A, Oboki K, Matsmoto K. MicroRNA transcriptome analysis on hypertrophy of Ligamentum flavum in patients with lumbar spinal stenosis. *Spine Surg Relat Res*. 2017; 1(4): 211-217. doi: 10.22603/ssr.1.2017-0023
6. Qu X, Chen Z, Fan D, Sun C, Zeng Y, Hou X, et al. Notch signaling pathways in human thoracic ossification of the Ligamentum flavum. *J Orthop Res*. 2016; 34(8): 1481-1491. doi: 10.1002/jor.23303
7. Le Maitre CL, Richardson SM, Baird P, Freemont AJ, Hoyland JA. Expression of receptors for putative anabolic growth factors in human intervertebral disc: implications for repair and

regeneration of the disc. *J Pathol.* 2005; 207(4): 445-452. doi: 10.1002/path.1862

8. Guo W, Zhang B, Li Y, Duan HQ, Sun C, Xu YQ, et al. Gene expression profile identifies potential biomarkers for human intervertebral disc degeneration. *Mol Med Rep.* 2017; 16(6): 8665-8672. doi: 10.3892/mmr.2017.7741

9. Hong J, Yan J, Chen J, Li S, Huang Y, Huang Z, et al. Identification of key potential targets for TNF- $\alpha$ /TNFR1-related intervertebral disc degeneration by bioinformatics analysis. *Connect Tissue Res.* 2020; 26: 1-11. doi: 10.1080/03008207.2020.1797709

10. Severin ES (ed.). *Biochemistry: textbook.* Moscow: GEOTAR-MED; 2003. (In Russ.)

11. Bringham FR. PTH receptors and apoptosis in osteocytes. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2002; 2(3): 245-251.

12. Åkesson K, Tenne M, Gerdhem P, Luthman H, McGuigan FE. Variation in the PTH2R gene is associated with age-related degenerative changes in the lumbar spine. *J Bone Miner Metab.* 2015; 33(1): 9-15. doi: 10.1007/s00774-013-0550-x

13. Galloway TS, Fletcher T, Thomas OJ, Lee BP, Pilling LC, Harries LW. PFOA and PFOS are associated with reduced expression of the parathyroid hormone 2 receptor (PTH2R) gene in women. *Chemosphere.* 2015; 120: 555-562. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.09.066

14. Bisello A, Manen D, Pierroz DD, Usdin TB, Rizzoli R, Ferrari SL. Agonist-specific regulation of parathyroid hormone (PTH) receptor type 2 activity: structural and functional analysis of PTH- and tuberoinfundibular peptide (TIP) 39-stimulated desensitization and internalization. *Mol Endocrinol.* 2004; 18(6): 1486-1498. doi: 10.1210/me.2003-0487

15. Sato E, Zhang LJ, Dorschner RA, Adase CA, Choudhury BP, Gallo RL. Activation of parathyroid hormone 2 receptor induces decorin expression and promotes wound repair. *J Invest Dermatol.* 2017; 137(8): 1774-1783. doi: 10.1016/j.jid.2017.03.034

16. Dimitrov EL, Petrus E, Usdin TB. Tuberoinfundibular peptide of 39 residues (TIP39) signaling modulates acute and tonic nociception. *Exp Neurol.* 2010; 226(1): 68-83. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.08.004

17. Tsuda MC, Yeung HM, Kuo J, Usdin TB. Incubation of fear is regulated by TIP39 peptide signaling in the medial nucleus of the amygdala. *J Neurosci.* 2015; 35(35): 12152-12161. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1736-15.2015

18. Dobolyi A, Palkovits M, Usdin TB. The TIP39-PTH2 receptor system: unique peptidergic cell groups in the brainstem and their interactions with central regulatory mechanisms. *Prog Neurobiol.* 2010; 90(1): 29-59. doi: 10.1016/j.pneurobio.2009.10.017

19. Panda D, Goltzman D, Jüppner H, Karaplis AC. TIP39/parathyroid hormone type 2 receptor signaling is a potent inhibitor of chondrocyte proliferation and differentiation. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009; 297(5): E1125-E1136. doi: 10.1152/ajpendo.00254.2009

20. Bagó AG, Dimitrov E, Saunders R, Seress L, Palkovits M, Usdin TB, et al. Parathyroid hormone 2 receptor and its endogenous ligand tuberoinfundibular peptide of 39 residues are concentrated in endocrine, viscerosensory and auditory brain regions in macaque and human. *Neuroscience.* 2009; 162(1): 128-147. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.04.054

21. Dimitrov EL, Kuo J, Kohno K, Usdin TB. Neuropathic and inflammatory pain are modulated by tuberoinfundibular peptide of 39 residues. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(32): 13156-13161. doi: 10.1073/pnas.1306342110

22. Rodionova LV, SamoiloVA LG, Shurygina IA, Sklyarenko OV, Zhivotenko A., Koshkareva ZV, et al. Peculiarities of acetylation reactions in patients with stenosis of 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.)

23. Bai M, Yin H, Zhao J, Li Y, Wu Y. miR-182-5p overexpression inhibits chondrogenesis by down-regulating PTHLH. *Cell Biol Int.* 2019; 43(3): 222-232. doi: 10.1002/cbin.11047

#### 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

**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

**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: 18.11.2020. Статья принята: 30.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 18.11.2020. Accepted: 30.11.2020. Published: 26.12.2020.