



ДЕГЕНЕРАЦИЯ МЕЖПОЗВОНКОВОГО ДИСКА И ВОЗМОЖНОСТИ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В.А. Бывальцев^{1, 2, 3, 4}, И.А. Степанов¹, Л.А. Бардонова¹, Е.Г. Бельх¹

¹Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Россия

²Иркутский научный центр хирургии и травматологии, Иркутск, Россия

³Дорожная клиническая больница на ст. Иркутск-Пассажирский, Иркутск, Россия

⁴Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования, Иркутск, Россия

Цель исследования — изучение роли различных структур межпозвонкового диска в его дегенерации, а также возможностей тканевой инженерии в терапии данного заболевания. Наиболее частым клиническим проявлением дегенерации межпозвонкового диска является боль в спине, которая зачастую сопряжена с ранней утратой трудоспособности пациентов. Гистологическое исследование диска остается наиболее достоверным методом диагностики и изучения процессов его дегенерации. В обзоре рассматривается пусковой механизм данного процесса — нарушение метаболизма диска, которое обусловлено морфологическими изменениями его структурных компонентов. Показано, что нарушение микроциркуляции в диске приводит к изменению структуры пульпозного ядра (фибротизации) и внеклеточного матрикса ядра, следствием чего является деструкция диска. Использование аутологичных культивированных *in vitro* клеток диска и стволовых клеток с их последующей имплантацией может восполнить дефицит клеток и восстановить структуру матрикса.

Ключевые слова: межпозвонковый диск, замыкательная пластинка, матрикс, ангиогенез, прогениторные клетки.

INTERVERTEBRAL DISC DEGENERATION AND POSSIBILITIES OF TISSUE ENGINEERING: LITERATURE REVIEW

V.A. Byvaltsev^{1, 2, 3, 4}, I.A. Stepanov¹, L.A. Bardonova¹, E.G. Belykh¹

¹Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia; ²Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russia;

³Road Clinical Hospital at «Irkutsk-Passazhirskiy» station, Irkutsk, Russia; ⁴Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk, Russia

Objective — to study the role of different structures of the intervertebral disc in its degeneration, as well as the possibilities of tissue engineering in the treatment of this disease. The most common clinical manifestation of intervertebral disc degeneration is back pain, which is often associated with the early disability of patients. Histological examination of intervertebral disc remains the most reliable method for diagnosing and studying the processes of its degeneration. The review considers a violation of the disc metabolism due to morphological changes in its structural components as a trigger for this process. It is shown that disc microcirculation disorders cause a change in the structure of the nucleus pulposus (fibrotization) and its extracellular matrix, which results in the disc destruction. The use of autologous disc-derived cells cultured *in vitro* and stem cells with their subsequent implantation can replenish the cell deficit and restore the structure of the matrix. **Key Words:** intervertebral disc, endplate, matrix, angiogenesis, progenitor cells.

Please cite this paper as: Byvaltsev VA, Stepanov IA, Bardonova LA, Belykh EG. Intervertebral disc degeneration and possibilities of tissue engineering. *Hir. Pozvonoc.* 2017;14(1):60–67.

In Russian. DOI: <http://dx.doi.org/10.14531/ss2017.1.60-67>.

Для цитирования: Бывальцев В.А., Степанов И.А., Бардонова Л.А., Бельх Е.Г. Дегенерация межпозвонкового диска и возможности тканевой инженерии // Хирургия позвоночника. 2017. Т. 14. № 1. С. 60–67.

DOI: <http://dx.doi.org/10.14531/ss2017.1.60-67>.

В настоящее время дегенеративные процессы межпозвонкового диска (МПД) представляют собой глобальную медико-социальную проблему. Одно из клинических проявлений дегенерации МПД – боль в спине, которая зачастую сопряжена с ран-

ней утратой трудоспособности. При этом болевой синдром в спине испытывают более 85 % населения земного шара старше 35 лет [1]. Боль в спине, ассоциированная с дегенерацией МПД, является ведущей причиной выплат пособий по нетрудоспособ-

ности в системе социального обеспечения. В Великобритании в 2012 г. 37 % выплат по системе обязательной медико-страховой реабилитации было назначено в связи с дегенеративными процессами МПД. Даже в такой небольшой западноевропейской стра-

не, как Нидерланды, суммарные годовые затраты по поводу боли в спине были оценены в 4,4 млрд евро [2, 3]. В России распространенность хронической боли в спине среди взрослого населения составляет 26–33 %. При этом большую часть пациентов составляют люди трудоспособного возраста (25–55 лет) [4].

МПД – одно из наиболее сложных анатомических образований опорно-двигательного аппарата. Функционально он представляет собой форму непрерывных хрящевых соединений, занимающих промежуточное положение между синхондрозами (малоподвижными прочными сращениями костей) и истинными суставами [6]. Важнейшая функция МПД – нивелирование разности нагрузок и колебательных движений, приходящихся на позвоночный столб, что обусловлено особенностями его структурной организации. МПД человека относится к аваскулярным структурам, в связи с этим активным стимулятором поступления питательных веществ служит дозированная нагрузка, действие которой не проявляется в условиях статических поз и/или больших напряжений [7].

При естественных процессах старения структура МПД претерпевает значимые изменения со стороны

внеклеточного матрикса, состояния и плотности клеточных популяций. Частота спондилеза и остеохондроза, которые представляют собой последнюю стадию дегенеративного заболевания МПД, с возрастом неуклонно растет и к 80–90 годам достигает 100 % [8]. С раннего возраста питание МПД через замыкательные пластинки путем диффузии, о чем будет сказано далее, постепенно снижается, что приводит к уменьшению клеточной плотности и формированию структурных дефектов МПД [9]. Так как клетки МПД осуществляют синтез межклеточного вещества и поддержание постоянства внутренней среды, изучение их морфологии и клеточного поведения может иметь решающее значение в предотвращении дегенеративных процессов и активации регенерации МПД. Однако постоянство структуры и функции МПД определяется не только нормальным синтезом межклеточного матрикса, но и правильным расположением его белков, главным образом протеогликанов с гликозаминовыми цепями [10, 11]. При дегенерации МПД протеолиз белков межклеточного вещества приводит к нарушению цитоархитектоники и нормального расположения протеогликанов. Повышается соотношение кератинсульфатов и хондроитин-

сульфатов, снижается их связь с коллагеном, уменьшаются эластичность и сила натяжения МПД. Уменьшение агреганов в пульпозном ядре приводит к снижению гидратации с нарушением механической функции, являясь одним из ранних признаков его дегенерации [10].

Цель исследования – изучение роли различных структур МПД в его дегенерации, а также возможностей тканевой инженерии в терапии данного заболевания. Комплексный подход к изучению указанных вопросов позволит глубже изучить механизмы патогенеза дегенерации МПД и определить новые точки приложения в терапии дегенеративных заболеваний позвоночника.

Гистологическая структура МПД

Клеточный состав. На долю клеток приходится всего 1–2 % от объема ткани МПД. Несмотря на малочисленность, клетки выполняют множество регуляторных функций, обеспечивая нормальную структуру и работу диска. Пульпозное ядро и фиброзное кольцо различаются по клеточному составу. Клетки фиброзного кольца во внешней части фибробластоподобной структуры (рис. 1) расположены параллельно коллагеновым волокнам. Во внутренней части фиброзного кольца клетки более овальные. Клетки студенистого ядра имеют овальную форму, погружены в матрикс и располагаются единично – около 5000 в 1 мм³. Некоторые клетки МПД как в студенистом ядре, так и в фиброзном кольце имеют вытянутую форму длиной до 30 мкм. Предполагают, что они выполняют сенсорную, коммуникативную роль в МПД [14].

В пульпозном ядре (рис. 2) количество клеток в среднем вдвое меньше, чем в фиброзном кольце (плотность клеток составляет примерно 4 10⁶ клеток/см³). Клетки ядра имеют округлую и/или овальную форму и классифицируются как нотохордальные. Эти клетки продуцируют коллаген II типа, который формирует фибриллы, наиболее приспособленные к компрес-

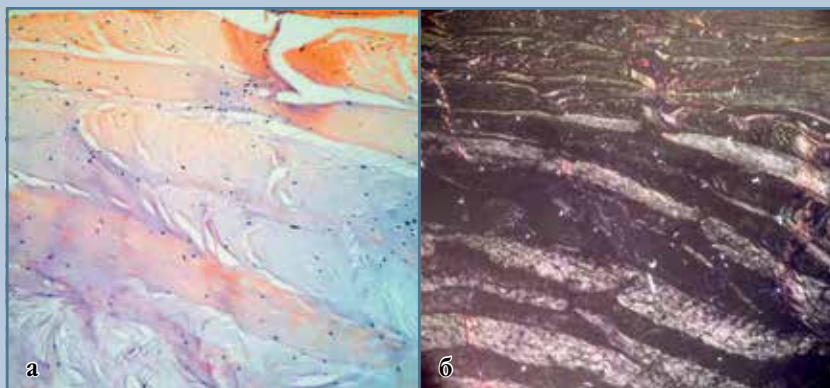


Рис. 1

Наружные отделы фиброзного кольца (собственное наблюдение пациента с грыжей межпозвонкового диска на уровне L₅–S₁): **а** – окраска гематоксилином и эозином; **б** – поляризационная микроскопия, ув. 100

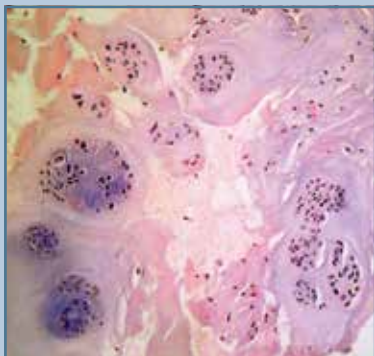


Рис. 2

Строение пульпозного ядра (собственное наблюдение пациента с грыжей межпозвонкового диска на уровне L₅–S₁): центральная часть ядра представлена множеством кластеров хондроцитов, расположенных в межклеточном веществе; окраска гематоксилином и эозином, ув. 200

сионным нагрузкам [15], и составляет единственный тип коллагена в интактном пульпозном ядре [16].

Полагают, что это остаточные клетки хорды, из которой и развивается МПД. У человека число нотохордальных клеток максимально у новорожденного, затем стремительно уменьшается в первые годы жизни. У взрослых нотохордальных клеток меньше. Эти клетки сменяются хондроцитоподобными, которые в результате естественного старения и дегенерации трансформируются в хондроциты. Также хордальные клетки вырабатывают протеогликаны и гиалуроновую кислоту; уменьшение их числа или полное исчезновение связано с дегенеративными изменениями в МПД [13].

На функцию клеток влияют механические и биохимические сигналы. Физиологическое механическое давление на МПД (до 3,5 МПа) оказывает стимулирующий эффект на синтез межклеточного вещества, а избыточное давление (7,5 МПа) – ингибирующий [16]. Например, в МПД активно двигающихся собак содержание коллагена на 37 % больше, чем у нахо-

дящихся в состоянии покоя. В то же время периодически повышающееся давление на МПД значительно стимулирует процессы его дегенерации [13]. Таким образом, механическое давление существенно влияет на пролиферацию, дифференцировку и функциональную активность клеток МПД.

Межклеточное вещество (матрикс) МПД. Основные компоненты межклеточного вещества МПД – коллаген, протеогликаны, гиалуроновая кислота и эластин. На долю коллагена приходится около 50 % сухого веса фиброзного кольца и 15–20 % веса пульпозного ядра. В МПД коллаген представлен несколькими типами (I, II, III, V, VI, IX, XI, XII и XIV), соотношение которых меняется с возрастом [12]. Коллагены I и II типов, преобладающие в МПД, составляют более 80 % от общего количества коллагена; коллаген VI типа составляет 10–20 % от общего количества коллагена [17]. Протеогликаны представляют собой сложные макромолекулы, состоящие из белка и ковалентно присоединенных к нему гликозаминогликанов, которые только в его составе приобретают высокую физиологическую активность. Протеогликаны составляют около 10 % сухого веса фиброзного кольца, их содержание увеличивается в центральных отделах кольца, а в пульпозном ядре достигает 50 %. Гиалуроновая кислота обнаруживается во всех областях МПД, но в ядре ее концентрация значительно выше [18]. В исследованиях, посвященных культуре ткани, и в экспериментах на животных показано, что гиалуроновая кислота способна активировать агрегацию отдельных молекул протеогликанов и биосинтез в хондроцитах [49].

Другой важный компонент МПД – эластические волокна, которые состоят в основном из белка эластина. Молекулы эластина способны к значительному растяжению. Содержание этого структурного белка в МПД составляет 1–10 %. В фиброзном кольце эластические волокна сопряжены с коллагеновыми фибриллами и стабилизируют с помощью специальных мостиков его ламеллы, а в ткани

ядра ориентированы беспорядочно [20]. Кроме того, МПД содержит много липидов, преимущественно в виде холестерина, триглицеридов и фосфолипидов. Липофусцин (пигмент липидного происхождения) и патологический белок амилоид выявляют преимущественно у людей пожилого и старческого возраста [44].

С помощью гиалуроновой кислоты формируются массивные макромолекулярные агрегаты с агреканами и аморфной сетью коллагена II типа. Данные агрегаты способны удерживать молекулы воды в МПД, в результате чего формируется внутреннее гидростатическое давление, обеспечивающее пульпозному ядру способность действовать подобно вязкоупругой подушке, противостоящей сжимающей осевой нагрузке в позвоночном столбе [21].

Молекулы воды проникают в пульпозное ядро путем диффузии, проходя из кровеносных сосудов прилежащих тел позвонков сквозь каналы замыкательных пластинок. При увеличении давления внутри МПД вода по градиенту давления выходит из диска в обратном направлении. Так, у человека при физических нагрузках в течение дня выходит примерно 25 % воды, такое же количество возвращается за ночь во время сна. За счет этого высота позвоночника утром больше, чем вечером, на 1,5–2 см [38]. С возрастом воды в МПД становится меньше из-за снижения содержания гидрофильных молекул (в частности, уменьшения соотношения протеогликанов и коллагеновых волокон). В процессе дегенерации МПД синтез протеогликанов снижается, что приводит к уменьшению гидростатического давления в диске и потере упругих свойств пульпозного ядра. Возникает механическая перегрузка пульпозного ядра и фиброзного кольца. В фиброзном кольце появляются трещины и разрывы. В дальнейшем в результате дегенеративных процессов МПД замещается соединительной тканью и уже не способен адекватно выполнять биомеханическую функцию [22, 23].

Деструкция матрикса МПД осуществляется преимущественно специфическими ферментами. К ним относятся агреканазы, различные виды матриксных металлопротеиназ (ММП) и другие деградирующие энзимы. Например, ММП-3 (стромелизин) приводит к разрушению коллагена III, IX и X типов, протеогликанов, фибронектина, ММП-2 (желатиназа) вызывает деградацию коллагена IV типа. Ряд других деградирующих ферментов объединяют в семейство ADAMTS (адамализины с тромбоспондиновым модулем) [5, 41].

Питание МПД. МПД получает питание путем диффузии веществ из сосудов прилежащих структур. В горизонтальной плоскости это сосуды передней и задней продольных связок, а в вертикальной – лакуны костного мозга, из которых питательные вещества поступают в МПД по особым каналам, пронизывающим замыкательные пластинки. Эти каналы присутствуют на всей протяженности костно-хрящевого соединения, но наибольшая их плотность отмечается в области пульпозного ядра. В центральной части МПД концентрация питательных веществ минимальна, а продуктов метаболизма – максимальна, что обеспечивает диффузию по градиенту концентрации [41].

А.М. Зайдман с соавт. [5] подробно изучили и описали микроциркуляторное русло МПД. Доказали, что каналы, выявленные в фиброзном кольце, соединены с каналами рыхловолокнистой части МПД и пульпозного ядра, что подтверждает наличие единой системы транспорта и дренажа в структурах МПД. Кроме того, каналы наружных отделов фиброзного кольца внедряются в тело позвонка. В средних зонах основания ламелл каналы в горизонтальном направлении пронизывают замыкательную пластинку. Таким образом, посредством системы микроканалов осуществляется обмен и транспорт синтезированных в хондроцитах протеогликанов, коллагена и других белков внеклеточного матрикса. В свою очередь лимфодренаж осуществляется в лимфа-

тические сосуды наружных отделов фиброзного кольца, которые принимают лимфу из тканевых канальцев, выполняющих дренаж из всех структурных компонентов МПД.

Поддержание градиента веществ между центром МПД и его периферией – важное условие нормального метаболизма диска. Любые факторы, которые могут изменять этот градиент концентрации, способны повлиять на жизнедеятельность клеток. Большую роль в питании МПД играет и состав матрикса, через который диффундируют растворы. Важным фактором нормального питания МПД служит и состояние замыкательных пластинок, от которого зависит их проницаемость [24]. Любой фактор, поражающий контактные области пластинок, приводит к нарушению их проницаемости. Например, кальцификация замыкательных пластинок или фиброзного кольца может ухудшить транспорт метаболитов.

Роль замыкательных пластинок в дегенеративных процессах МПД

Замыкательная пластинка представляет собой гиалиновую хрящевую ткань с типичной структурной организацией (рис. 3). В состав замыкательной пластинки входят хондроциты и межклеточный матрикс, содержащий преимущественно протеогликаны и коллаген II типа. Волокна коллагена расположены горизонтально. МПД отделен от костной ткани тел позвонков фибриллами внутренних пластин, которые вырастают в матрикс замыкательной пластинки [25, 27].

Как было отмечено, питание МПД происходит за счет процессов диффузии питательных веществ из замыкательной пластинки. Так осуществляют процессы синтеза веществ в клетках и происходит обратный отток метаболитов. Однако недавно проведенные исследования МПД показали, что в центральной части замыкательной пластинки расположена сеть мельчайших канальцев. Именно они имеют важнейшее значение в питании структур МПД. С возрастом, в процес-

се естественной дегенерации диска, который сопровождается кальцификацией и оссификацией замыкательной пластинки, ее структуры подвергаются редукции [30].

Замыкательная пластинка у детей намного толще, чем у взрослых. По данным Raj et al. [39], замыкательные пластинки новорожденных богаты множеством канальцев, проходящих сквозь пульпозное ядро и фиброзное кольцо. У взрослых замыкательные пластинки намного тоньше (в среднем до 1 мм), а количество перфорирующих сосудов незначительно или они вовсе отсутствуют. Дегенеративные процессы в замыкательной пластинке начинаются в области ее непосредственного контакта с пульпозным ядром, что приводит к нарушению равновесия между диффузией питательных веществ и оттоком метаболитов [47]. Следствием этого являются дистрофия, гибель клеток пульпозного ядра, а также накопление в нем продуктов обмена с последующей деструкцией.

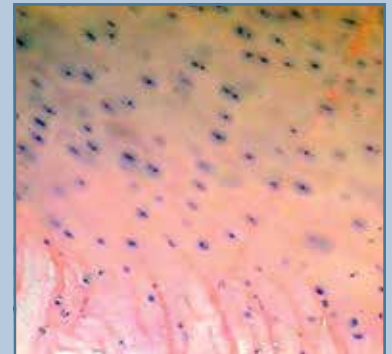


Рис. 3

Строение замыкательной пластинки (собственное наблюдение пациента с грыжей межпозвонкового диска на уровне L₅-S₁): пластинка представлена множеством слоев хондроцитов, расположенных среди большого количества эозинофильного межклеточного вещества; окраска гематоксилином и эозином, ув. 100

У детей 3–11 лет отмечается снижение количества микроканалцев в замыкательных пластинках, в них обнаруживаются единичные трещины [34]. Стоит отметить, что указанные изменения чаще всего начинаются в центральной части пластинки. В подростковом возрасте наблюдается резкое уменьшение количества каналцев, что отрицательно сказывается на структуре матрикса МПД. Уменьшение численности микроканалцев коррелирует со снижением клеточной плотности и значительным увеличением площади дезорганизации замыкательной пластинки [36]. Морфологические изменения замыкательной пластинки в возрастной группе 17–20 лет подобны таковым в группе детей. Rudert et al. [42] отмечают наличие питательных микроканалцев в замыкательной пластинке у людей до тридцатилетнего возраста. Редукция их числа сопровождается выраженным уменьшением толщины замыкательной пластинки и микроскопическими протрузиями в смежную костную ткань тел позвонков. С 20 до 30 лет структурные изменения в замыкательной пластинке практически идентичны изменениям, происходящим в более молодых группах, однако их количество увеличивается в несколько раз. Для возрастного периода 30–50 лет характерно значительное увеличение площади деструкций замыкательной пластинки. Дезорганизация замыкательной пластинки характеризуется многочисленными микротрещинами и щелями. В последующем замыкательная пластинка начинает замещаться волокнистой хрящевой тканью с очагами некрозов. В пожилом возрасте дегенеративные процессы в замыкательной пластинке обусловлены резким снижением количества каналцев и замещением хрящевой ткани костной, что приводит к резкому нарушению диффузии питательных веществ и дегенерации пульпозного ядра [28].

Дегенерация агрекана как пусковой фактор дегенерации МПД

Агрекан – это структурный протеогликан, один из важнейших компонентов матрикса МПД. Основными функциями агрекана являются обеспечение осмотического давления, необходимого для нормального функционирования МПД, и противодействие механическим нагрузкам. Агрекан благодаря связыванию с коллагеновыми волокнами и гиалуроновой кислотой обеспечивает нормальное взаимодействие между клетками и матриксом МПД [48].

При дегенерации МПД уменьшается количество протеогликанов за счет их фрагментации, потери гликозаминогликановых цепей, что снижает осмотическое давление и нарушает степень гидратации МПД [48]. Однако даже при дегенерации МПД его клетки способны к синтезу агреканов с нормальным строением. Исследованиями доказана ключевая роль агрекана в ингибировании роста сосудов и нервов в хрящевых тканях [50]. В норме в МПД нервные волокна обнаруживаются только в краевых отделах фиброзного кольца. Дегенеративные процессы МПД сопровождаются вращением нервов в краевые отделы фиброзного кольца и пульпозное ядро. На вращающихся нервных волокнах обнаружены рецепторы фактора роста нервов. Известно, что фактор роста нервов экспрессируется хондроцитами фиброзного кольца и пульпозного ядра. Отмечается и корреляционная связь между выраженностью степени дегенерации МПД и экспрессией фактора роста нервов [32]. Развитие дискогенного болевого синдрома связано с вращением нервных волокон в ткань МПД.

Доказано, что агрекан способен подавлять как рост нервов, так и миграцию эндотелиоцитов [43]. Утрата агрекана матриксом МПД сопровождается вращением сосудов и нервов и его прогрессирующей дегенерацией. Дегенерация агрекана осуществляется ферментами – матричными металлопротеиназами и агре-

каназой, что приводит к нарушению его структурной организации и функционирования. Данный процесс зависит, в частности, от гликозилирования кератансульфатов и хондроитинсульфатов на мономере агрекана [19, 31, 51].

Возможности тканевой инженерии в терапии дегенерации МПД

Недавние исследования МПД показали, что в его структурах имеются прогениторные клетки. Richardson et al. [40] доказали наличие популяции стволовых клеток в области наружного края фиброзного кольца, которые способны к активации при дегенерации МПД. Выявляли клетки-предшественники с помощью иммуногистохимических маркеров (STRO-1, Ki-67). В поддержку данного исследования Risbud и Blanco [32] выделили стволоподобные клетки из дегенерированного МПД человека. В обоих случаях выделенные клеточные популяции обладали способностью к дифференцировке в любую ткань мезодермального происхождения, что подтверждает их полипотентную природу. В другом исследовании Zhang et al. [52] выделили прогениторную популяцию клеток из фиброзного кольца недегенерированного МПД (возраст 13–15 лет) и с помощью метода иммунофенотипирования определили, что данная клеточная популяция имеет схожие клеточные CD-маркеры со стволовыми мезенхимальными клетками.

Достижения в области использования прогениторных клеток МПД позволяют рассматривать их как источник клеток для терапии с последующей имплантацией. Прогениторные клетки – некоммутированные полипотентные стволовые клетки, которые обнаруживаются в различных тканях и имеют высокую пластичность и способность к мультилинейной дифференцировке. В клетки-предшественники уже введено несколько векторных систем, показавших высокую активность экспрессии белков внеклеточного матрикса МПД [53]. Однако трансформация – не един-

ственная проблема, которую необходимо решить. Перед имплантацией прогениторные клетки необходимо дифференцировать в хондроцитоподобные клетки. Для этого использовали ростовые факторы семейства BMP [46]. Также изучается более специфичный фактор дифференцировки из семейства Sox. Так, семейство факторов транскрипции Brachyury способствует необходимой адгезии клеток [33]. Тем не менее в последнее время установлено, что для индукции дископодобного фенотипа достаточно культивирования мезенхимальных клеток с клетками МПД [35]. Культивирование в условиях трехмерной системы также способствует формированию хондроцитоподобного фенотипа. При имплантации в дегенерирующий МПД кроликов системы мезенхимальных клеток, заключенных в коллагеновый гель, отмечено сохранение структуры студенистого ядра и фиброзного кольца, предотвращение уменьшения синтеза протеогликанов, увеличение высоты МПД [26, 45]. Имплантированные клетки выживают и экспрессируют генетические маркеры студенистого ядра и фиброзного кольца. Аналогичные результаты получены при инъекции суспензии прогениторных клеток в МПД кроликов и суспензии прогениторных клеток, заключенной в гель, в МПД копчикового отдела крысы [26]. Использование прогениторных клеток дало новый импульс развитию методов аутотрансплантации при дегенеративных процессах в МПД.

В настоящее время активно развиваются методы клеточной терапии, основанные на применении стволовых клеток. В клеточной терапии дегенерации МПД описано несколько видов стволовых клеток взрослого организма: мезенхимальные, полученные из костного мозга; выделенные из жировой ткани; полученные

из мышечной ткани; гемопоэтические; обонятельных мембран; синовиальные. Так, в 2011 г. Ogozco et al. [37] провели пилотное исследование по имплантации мезенхимальных стволовых клеток в дегенерированные МПД пациентов. В заключении данного исследования отмечено, что уже через 3 мес. после введения мезенхимальных стволовых клеток пациенты отмечали значимое уменьшение выраженности болевого синдрома и сокращение сроков нетрудоспособности. Согласно данным МРТ, произошло увеличение степени гидратации МПД и их высоты. В исследовании Lu et al. [29] оценивались изменения экспрессии генов в стволовых клетках, полученных из подкожной жировой клетчатки кролика, при их сокультивировании с клетками фиброзного кольца и пульпозного ядра *in vitro*. Авторы доказали, что у жировых стволовых клеток увеличена экспрессия генов коллагена II типа и агрекана при их сокультивировании с клетками пульпозного ядра, но не с клетками фиброзного кольца. Терапия стволовыми клетками представляет собой современный и эффективный метод лечения дегенерации МПД.

Заключение

Дегенерация МПД – сложный стадийный процесс, в котором ключевое значение отводится морфологическим изменениям в структурах диска. В настоящее время гистологическое исследование МПД остается наиболее достоверным методом диагностики и изучения процессов его дегенерации. Указанные патологические изменения МПД действуют в строгой совокупности, приводя к дегенерации диска. Пусковым механизмом развития данного процесса является нарушение питания МПД, обусловленное

изменениями структуры замыкательной пластинки. Нарушение питания МПД приводит к снижению клеточных популяций и, как следствие, уменьшению синтеза белков межклеточного вещества. Неоангиогенез и клеточная пролиферация в виде кластеров лишь на начальных этапах препятствуют дегенерации МПД, а в последующем сосуды, врастающие в пульпозное ядро и пролиферирующие кластеры клеток, нарушают нормальное расположение белков матрикса, а соответственно, и структуру самого внеклеточного матрикса ядра, что в конечном итоге усугубляет деструкцию МПД. Современные методы терапии, применяемые в клинической практике, не способны восстановить структуру и биомеханическую функцию МПД. Перспективным представляется использование аутологичных культивированных *in vitro* клеток МПД с их последующей имплантацией, что потенциально может восполнить дефицит клеток, а следовательно, и матрикс. Но для реализации такого подхода необходимо изучить жизнеспособность и активность имплантированного материала под влиянием различных факторов на протяжении длительного периода времени.

Таким образом, комплексный подход к изучению морфологии дегенеративных процессов МПД позволит открыть новые методы биологической терапии, направленной на восстановление микроструктуры и биомеханической функции диска.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 15-15-30037).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. **Благодатский М.Д., Балашов Б.Б.** О морфологических изменениях в тканях позвоночного канала // Журнал невропатологии и психиатрии. 1987. № 4. С. 512–516. [Blagodatsky MD, Balashov BB. On the morphological changes in tissues of the spi-

nal canal. Zhurnal nevropatologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova. 1987;(4):512–516. In Russian].

2. **Бывальцев В.А., Белых Е.Г., Степанов И.А., Гиерс М., Прул М.С.** Цитокиновые механизмы дегенерации межпозвонкового диска // Сибирский медицинский журнал. 2015. № 6. С. 5–11. [Byvaltsev VA, Belykh EG, Stepanov IA, Giers M, Preul MC. Cytokine's mechanisms of intervertebral disc degeneration. Siberian Medical Journal (Irkutsk). 2015;137(6):5–11. In Russian].
3. **Бывальцев В.А., Панасенков С.Ю., Калинин А.А., Сороковиков В.А., Асанцев А.О.** Способ моделирования дегенеративных изменений позвоночника. Патент RU 2584136. Дата подачи заявки: 30.12.2014. Оpubл. 20.05.2016. Бюл. № 14. [Byvaltsev VA, Panasenkov SJ, Kalinin AA, Sorokovikov VA, Asantsev AO. Method for simulating degenerative changes of spine. Patent RU 2584136. Appl. 30.12.2014. Publ. 20.05.2016. Bul. 14. In Russian].
4. **Быков В.Л.** Цитология и общая гистология (функциональная морфология клеток и тканей). СПб., 2001. [Bykov VL. Cytology and General Histology (Functional Morphology of Human Cells and Tissues)]. Saint Petersburg, 2001. In Russian].
5. **Зайдман А.М., Бородин Ю.И.** Морфогенез межпозвонкового остеохондроза // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015. № 11. Ч. 4. С. 523–526. [Zaydman AM, Borodin YuI. Morphogenesis of intervertebral osteochondrosis. International Journal of Applied and Fundamental Research. 2015;(11-4):523–526. In Russian].
6. **Киселева А.В., Крылов Э.А., Старикова Е.П., Кузнецова С.А.** Фактор роста сосудистого эндотелия и иммунная система // Успехи соврем. биол. 2009. Т. 129. № 4. С. 1–12. [Kiselyova AV, Krylov EA, Starikova EP, Kuznetsova SA. Vascular endothelial growth factor and immune system. Advances in Current Biology. 2009;129(4):1–12. In Russian].
7. **Цивьян Я.Л.** Патология дегенерирующего межпозвонкового диска. Новосибирск, 1988. [Tsivyan YaL. Pathology of the Degenerative Intervertebral Disc. Novosibirsk, 1988. In Russian].
8. **Asaroglu ER, Iatridis JC, Setton LA, Foster RJ, Mow VC, Weidenbaum M.** Degeneration and aging affect the tensile behavior of human lumbar annulus fibrosus. Spine. 1995;20:2690–2701. DOI: 10.1097/00007632-199512150-00010.
9. **Akiyama H.** Control of chondrogenesis by the transcription factor Sox9. Mod Rheumatol. 2008;18:213–219. DOI: 10.1007/s10165-008-0048-x.
10. **Battie MC, Videman T.** Lumbar disc degeneration: epidemiology and genetics. J Bone Joint Surg Am. 2006;88 Suppl 2:3–9. DOI: 10.2106/JBJS.E.01313.
11. **Belykh E, Giers M, Bardonova L, Theodore N, Preul M, Byvaltsev V.** The role of bone morphogenetic proteins 2, 7, and 14 in approaches for intervertebral disk restoration. World Neurosurg. 2015;84:870–877. DOI: 10.1016/j.wneu.2015.08.011.
12. **Bogduk N.** The anatomy and pathology of lumbar back disability. Bull Post Grad Comm Med Univ Sidney. 1980;36:2–17.
13. **Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR, eds.** Orthopedic Basic Science: Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System. 2nd ed. Rosemont, IL: American Academy of Orthopedic Surgeons, 2000:548–555.
14. **Costi JJ, Stokes IA, Gardner-Morse MG, Iatridis JC.** Frequency-dependent behavior of the intervertebral disc in response to each of six degree of freedom dynamic loading: solid phase and fluid phase contributions. Spine. 2008;33:1731–1738. DOI: 10.1097/BRS.0b013e31817bb116.
15. **Crock HV, Yoshizawa H.** The blood supply of the lumbar vertebral column. Clin Orthop Relat Res. 1976;(115):6–21. DOI: 10.1097/00003086-197603000-00003.
16. **Djouad F, Plence P, Bony C, Tropel P, Apparailly F, Sany J, Noel D, Jorgensen C.** Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals. Blood. 2003;102:3837–3844. DOI: 10.1182/blood-2003-04-1193.
17. **Elliott DM, Yerramalli CS, Beckstein JC, Boxberger JL, Johannessen W, Vresilovic EJ.** The effect of relative needle diameter in puncture and sham injection animal models of degeneration. Spine. 2008;33:588–596. DOI:10.1097/brs.0b013e318166e0a2.
18. **Hutton WC, Elmer WA, Boden SD, Hyon S, Toribatake Y, Tomita K, Hair GA.** The effect of hydrostatic pressure on intervertebral disc metabolism. Spine. 1999;24:1507–1515. DOI: 10.1097/00007632-199908010-00002.
19. **Jackson JR, Minton JA, Ho HL, Wei N, Winkler JD.** Expression of vascular endothelial growth factor in synovial fibroblasts is induced by hypoxia and interleukin 1beta. J Rheumatol. 1997;24:1253–1259.
20. **Jayson MI, Barks JS.** Structural changes in the intervertebral disc. Ann Rheum Dis. 2009;32:10–15. DOI: 10.1136/ard.32.1.10.
21. **Jensen GM.** Biomechanics of the lumbar intervertebral disc: a review. Phys Ther. 1980;60:765–773.
22. **Johnson WE, Wootton A, El Haj A, Eisenstein SM, Curtis AS, Roberts S.** Topographical guidance of intervertebral disc cell growth in vitro: towards the development of tissue repair strategies for the annulus fibrosus. Eur Spine J. 2006;15(Suppl 3):389–396. DOI: 10.1007/s00586-006-0125-9.
23. **Jorgensen C.** Mesenchymal stem cells immunosuppressive properties: is it specific to bone marrow derived cells? Stem Cell Res Ther. 2010;1:15–16. DOI: 10.1186/scrt15.
24. **Kramer J, Hegert C, Guan K, Wobus AM, Muller PK, Rohwedel J.** Embryonic stem cell derived chondrogenic differentiation in vitro: activation by BMP-2 and BMP-4. Mech Dev. 2010;92:193–205. DOI: 10.1016/s0925-4773(99)00339-1.
25. **Kuhlcke K, Fehse B, Schilz A, Loges S, Lindemann C, Ayuk F, Lehmann F, Stute N, Fauser AA, Zander AR, Eckert HG.** Highly efficient retroviral gene transfer based on centrifugation-mediated vector preloading of tissue culture vessels. Mol Ther. 2002;5:473–478. DOI: 10.1006/mthe.2002.0566.
26. **Leckie SK, Sowa GA, Bechara BP, Hartman RA, Coelho JP, Witt WT, Dong QD, Bowman BW, Bell KM, Vo NV, Kramer BC, Kang JD.** Injection of human umbilical tissue-derived cells into the nucleus pulposus alters the course of intervertebral disc degeneration in vivo. Spine J. 2013;13:263–272. DOI: 10.1016/j.spinee.2012.12.004.
27. **Lee JP, Jeyakumar M, Gonzalez R, Takahashi H, Lee PJ, Baek RC, Clark D, Rose H, Fu G, Clarke J, McKercher S, Meerloo J, Muller FJ, Park KI, Butters TD, Dwek RA, Schwartz P, Tong G, Wenger D, Lipton SA, Seyfried TN, Platt FM, Snyder EY.** Stem cells act through multiple mechanisms to benefit mice with neurodegenerative metabolic disease. Nat Med. 2007;13:439–447. DOI: 10.1006/mthe.2002.0566.
28. **Li J, Ezzelarab MB, Cooper DK.** Do mesenchymal stem cells function across species barriers? Relevance for xenotransplantation. Xenotransplantation. 2012;19:273–285. DOI: 10.1111/xen.12000.
29. **Lu ZF, Zandieh Doulabi B, Wuisman PI, Bank RA, Helder MN.** Differentiation of adipose stem cells by nucleus pulposus cells: configuration effect. Biochem Biophys Res Commun. 2007;359:991–996. DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.06.002.
30. **Mason JM, Breitbart AS, Barcia M, Porti D, Pergolizzi RG, Grande DA.** Cartilage and bone regeneration using gene-enhanced tissue engineering. Clin Orthop Relat Res. 2000;(379 Suppl):S171–S178.
31. **Moldovan L, Moldovan NI.** Role of monocytes and macrophages in angiogenesis. In: Clauss M, Breier G, eds, Mechanisms of Angiogenesis. Birkh user Basel, 2005;94:127–146. DOI: 10.1007/3-7643-7311-3_9.
32. **Moore RJ.** The vertebral endplate: disc degeneration, disc regeneration. Eur Spine J. 2006;15(Suppl 3):333–337. DOI: 10.1007/s00586-006-0170-4.
33. **Murrell W, Sanford E, Anderberg L, Cavanagh B, Mackay-Sim A.** Olfactory stem cells can be induced to express chondrogenic phenotype in a rat intervertebral disc injury model. Spine J. 2009;9:585–594. DOI: 10.1016/j.spinee.2009.02.011.
34. **Nerurkar NL, Elliott DM, Mauck RL.** Mechanical design criteria for intervertebral disc tissue engineering. J Biomech. 2010;43:1017–1030. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2009.12.001.

35. **Nomura T, Mochida J, Okuma M, Nishimura K, Sakabe K.** Nucleus pulposus allograft retards intervertebral disc degeneration. *Clin Orthop Relat Res.* 2001;(389):94–101. DOI: 10.1097/00003086-200108000-00015.
36. **Oki S, Mastuda Y, Shibata T, Okumura H, Desaki J.** Morphologic differences of the vascular buds in the vertebral endplate: scanning electron microscopic study. *Spine.* 1996;21:174–177. DOI: 10.1097/00007632-199601150-00003.
37. **Orozco L, Soler R, Morera C, Alberca M, Sanchez A, Garcia-Sancho J.** Intervertebral disc repair by autologous mesenchymal bone marrow cells: a pilot study. *Transplantation.* 2011;92:822–828. DOI: 10.1097/TP.0b013e3182298a15.
38. **Pezowicz CA, Robertson PA, Broom ND.** Intralamellar relationships within the collagenous architecture of the annulus fibrosus imaged in its fully hydrated state. *J Anat.* 2005;207:299–312. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2005.00467.x.
39. **Raj PP.** Intervertebral disc: anatomy-physiology-pathophysiology-treatment. *Pain Pract.* 2008;8:18–44. DOI: 10.1111/j.1533-2500.2007.00171.x.
40. **Richardson SM, Walker RV, Parker S, Rhodes NP, Hunt JA, Freemont AJ, Hoyland JA.** Intervertebral disc cell-mediated mesenchymal stem cell differentiation. *Stem Cells.* 2006;24:707–716. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0205.
41. **Roughley PJ.** The structure and function of cartilage proteoglycans. *Eur Cell Mater.* 2006;12:92–101.
42. **Rudert M, Tillmann B.** Lymph and blood supply of the human intervertebral disc. Cadaver study of correlations to discitis. *Acta Orthop Scand.* 1993;64:37–40. DOI: 10.3109/17453679308994524.
43. **Sakai D, Mochida J, Iwashina T, Hiyama A, Omi H, Imai M, Nakai T, Ando K, Hotta T.** Regenerative effects of transplanting mesenchymal stem cells embedded in atelocollagen to the degenerated intervertebral disc. *Biomaterials.* 2006;27:335–345. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.06.038.
44. **Smith M, Ghosh P.** The synthesis of hyaluronic acid by human synovial fibroblasts is influenced by the nature of the hyaluronate in the extracellular environment. *Rheumatol Int.* 1987;7:113–122. DOI: 10.1007/BF00270463.
45. **Sobajima S, Vadala G, Shimer A, Kim JS, Gilbertson LG, Kang JD.** Feasibility of a stem cell therapy for intervertebral disc degeneration. *Spine J.* 2008;8:888–896. DOI: 10.1016/j.spinee.2007.09.011.
46. **Tam V, Rogers I, Chan D, Leung VY, Cheung KM.** A comparison of intravenous and intradiscal delivery of multipotential stem cells on the healing of injured intervertebral disk. *J Orthop Res.* 2014;32:819–825. DOI: 10.1002/jor.22605.
47. **Taylor JR.** Growth of human intervertebral discs and vertebral bodies. *J Anat.* 1975;120:49–68.
48. **Urban JG, Holm S, Maroudas A, Nachemson A.** Nutrition of the intervertebral disk. An in vivo study of solute transport. *Clin Orthop Relat Res.* 2007;129:101–114. DOI: 10.1097/00003086-197711000-00012.
49. **Urban JG, Holm S, Maroudas A.** Diffusion of small solutes into the intervertebral disc: an in vivo study. *Biorheology.* 2008;15:203–221.
50. **Urban JG, Roberts S, Ralphs JR.** The nucleus of the intervertebral disc from development to degeneration. *Am Zool.* 2000;40:53–61. DOI:10.1093/icb/40.1.53.
51. **Walsh AJ, Lotz JC.** Biological response of the intervertebral disc to dynamic loading. *J Biomech.* 2004;37:329–337. DOI: 10.1016/s0021-9290(03)00290-2.
52. **Zhang YG, Guo X, Xu P, Kang LL, Li J.** Bone mesenchymal stem cells transplanted into rabbit intervertebral discs can increase proteoglycans. *Clin Orthop Relat Res.* 2005;(430):219–226.
53. **Zhao CQ, Wang LM, Jiang LS, Dai LY.** The cell biology of intervertebral disc aging and degeneration. *Ageing Res Rev.* 2007;6:247–261. DOI: 10.1016/j.arr.2007.08.001.

Адрес для переписки:

Бывальцев Вадим Анатольевич
664082, Россия, Иркутск, а/я 62,
byval75vadim@yandex.ru

Address correspondence to:

Byvaltsev Vadim Anatolyevich
P.O.B. 62, Irkutsk, 664082, Russia,
byval75vadim@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 29.07.2016

Рецензирование пройдено 07.11.2016

Подписана в печать 10.11.2016

Received 29.07.2016

Review completed 07.11.2016

Passed for printing 10.11.2016

Вадим Анатольевич Бывальцев, д-р мед. наук, заведующий курсом нейрохирургии, Иркутский государственный медицинский университет, главный нейрохирург Департамента здравоохранения ОАО «РЖД», руководитель Центра нейрохирургии, Дорожная клиническая больница на ст. Иркутск-Пассажирский, руководитель научно-клинического отдела нейрохирургии, Иркутский научный центр хирургии и травматологии, профессор кафедры травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования, Иркутск, Россия, byval75vadim@yandex.ru;

Иван Андреевич Степанов, аспирант, Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Россия, edmoilers@mail.ru;

Людмила Андреевна Бардонова, аспирант, Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Россия, lyudmila15@inbox.ru;

Евгений Георгиевич Бельх, ассистент курса нейрохирургии, Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Россия, belykbevgenii@gmail.com.

Vadim Anatolyevich Byvaltsev, MD, DMSc, director of the course of neurosurgery, Irkutsk State Medical University, chief of neurosurgery in the JSC «Russian Railways», head of the Centre of Neurosurgery, Road Clinical Hospital at «Irkutsk-Passazhirskiy» station, head of scientific-clinical department of neurosurgery of the Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, Professor of the Department of Traumatology, Orthopaedics and Neurosurgery of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk, Russia, byval75vadim@yandex.ru;

Ivan Andreevich Stepanov, postgraduate student, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia, edmoilers@mail.ru;

Lyudmila Andreyevna Bardonova, postgraduate student, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia, lyudmila15@inbox.ru;

Evgeniy Georgyevich Belykh, teaching assistant for neurosurgery course, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia, belykbevgenii@gmail.com.