

УДК 616.711.6-007.271-071:612.75:575.13

Особенности реакций ацетилирования у больных со стенозирующим процессом позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника в зависимости от выраженности оссификации *Ligamentum flavum*

Родионова Л.В.^{1,2}, Самойлова Л.Г.¹, Шурыгина И.А.¹, Складенко О.В.¹, Животенко А.П.¹, Кошкарёва З.В.¹, Сороковиков В.А.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии». 664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, д. 1

² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 664049, Иркутск, микрорайон Юбилейный, д. 100

Актуальность. В настоящее время совершенно не изучена экспрессия генов ацетилтрансфераз в структурах, участвующих в формировании патологического очага при развитии дегенеративно-дистрофических процессов в позвоночно-двигательном сегменте. Ведущая роль гипертрофии и оссификации жёлтой связки (*Ligamentum flavum*) в развитии и прогрессировании стенозирующих процессов позвоночного канала и дурального мешка, а также участие ацетилтрансфераз в метаболизме соединительной ткани определило **цель исследования:** выявить генетические особенности реакций ацетилирования у больных со стенозами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном отделе позвоночника в зависимости от выраженности процессов оссификации *Ligamentum flavum*.

Методы. В исследование включен 31 пациент (15 мужчин, 16 женщин, средний возраст $45,7 \pm 2,0$ лет) со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне. У всех пациентов во время оперативного вмешательства были забраны образцы *Ligamentum flavum*, в которых затем общепринятыми методами патоморфологии определяли признаки наличия или отсутствия гипертрофии и / или оссификации, а также методом количественной ПЦР (кПЦР) определяли экспрессию генов *NAT1* и *NAT2*.

Результаты. В биоптатах *Ligamentum flavum* обнаружена экспрессия генов *NAT1* и *NAT2*, что свидетельствует о ранее неизвестной роли процессов ацетилирования в метаболизме соединительной ткани. Варианты «медленно» ацетилирования достоверно чаще встречались у пациентов с выявленной оссификацией *Ligamentum flavum*. Обнаружены различные паттерны экспрессии генов *NAT1* и *NAT2*, что свидетельствует о полиморфности клинических вариантов патологии. Часть выявленных вариантов экспрессии изоферментов ацетилтрансфераз характеризуют склонность к развитию оссификации *Ligamentum flavum*. Женщины чаще страдают от оссификации *Ligamentum flavum* по сравнению с мужчинами ($\chi^2 = 39,1, p < 0,01$), при этом, повторные оперативные вмешательства, как и избыточная масса тела, не увеличивали риск её оссификации. Активность экспрессии гена *NAT2* можно отнести к информативным маркерам, свидетельствующим о повышенном риске развития процессов эктопической оссификации *Ligamentum flavum*.

Заключение. Выявленные особенности реакций ацетилирования у больных со стенозами позвоночного канала и дурального мешка могут помочь клиницистам прогнозировать развитие гипертрофии и оссификации жёлтой связки при оперативном вмешательстве на позвоночнике, а полученные новые фундаментальные знания лягут в основу разработки способов профилактики развития эпидурального фиброза на дооперационном этапе.

Ключевые слова: позвоночник; стеноз позвоночного канала; гипертрофия; оссификация; жёлтая связка; гистология; морфология; ацетилтрансфераза; гены *NAT1* и *NAT2*.

Для цитирования: Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Шурыгина И.А., Складенко О.В., Животенко А.П., Кошкарёва З.В., Сороковиков В.А. Особенности реакций ацетилирования у больных со стенозирующим процессом позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника в зависимости от выраженности оссификации *Ligamentum flavum*. Патогенез. 2020; 18(3): 45-52.

DOI: 10.25557/2310-0435.2020.03.45-52

Для корреспонденции: Родионова Любовь Викторовна, e-mail: greidmacho@yandex.ru

Финансирование. Исследование выполнено в рамках бюджетной НИР ФГБНУ «ИНЦХТ».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 15.07.2019. **После доработки:** 14.04.2020.

Characteristics of acetylation reactions in patients with stenosing process of the lumbar spinal canal and dural sac depending on severity of Ligamentum flavum ossification

Rodionova L.V.^{1,2}, Samoilo L.G.¹, Shurygina I.A.¹, Sklyarenko O.V.¹, Zhivotenko A.P.¹, Sorokovikov V.A.^{1,2}, Koshkareva Z.V.¹

¹ Irkutsk Scientific Center for Surgery and Traumatology, Bortsov Revolutsii Str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation

² Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, Microdistrict Yubileyny 100, Irkutsk 664049, Russian Federation

Background. Expression of acetyltransferase genes in structures participating in formation of a pathological focus in development of degenerative spine conditions is presently unstudied. Hypertrophy and ossification of Ligamentum flavum play a leading role in the development and progression of stenosing processes in the spinal canal and dural sac whereas acetyltransferases are involved in metabolism of connective tissue. The aim of this study was to identify genetic characteristics of acetylation reactions in patients with stenosis of the lumbar spinal canal and dural sac depending on severity of ossification of Ligamentum flavum.

Methods. This study included 31 patients (15 men and 16 women aged 45.7 ± 2.0 years) with stenosing processes of the spinal canal and dural sac at the lumbar level. Samples of Ligamentum flavum were taken from all patients at the time of surgical intervention. Signs of hypertrophy and/or ossification were detected in these samples with standard pathomorphological methods. Real time PCR was used to determine the expression of NAT1 and NAT2 genes.

Results. Expression of NAT1 and NAT2 genes was found in biopsy samples of Ligamentum flavum. This indicated a previously unknown role of acetylation processes in connective tissue metabolism. Variants of «slow» acetylation were significantly more common in patients with documented ossification of Ligamentum flavum. Different patterns of NAT1 and NAT2 gene expression were identified, which suggested polymorphism of clinical variants of the disease. Some of the identified variants of acetyltransferase isoenzyme expression characterize a tendency towards development of Ligamentum flavum ossification. Women were more likely to have ossification of Ligamentum flavum than men ($\chi^2 = 39.1, p < 0.01$). Repeated surgery and overweight did not increase the risk for ossification of Ligamentum flavum. The activity of NAT2 gene expression can be classified as an informative marker for increased risk of ectopic ossification of Ligamentum flavum.

Conclusion. The identified patterns of acetylation reactions in patients with spinal canal and dural sac stenosis may help clinicians to predict the development of hypertrophy and ossification of Ligamentum flavum during spine surgery and to find ways for prevention of epidural fibrosis at the preoperative stage.

Key words: spine; spinal stenosis; hypertrophy; ossification; Ligamentum flavum; histology; morphology; acetyltransferase; NAT1 and NAT2 genes.

For citation: Rodionova L.V., Samoilo L.G., Shurygina I.A., Sklyarenko O.V., Zhivotenko A.P., Sorokovikov V.A., Koshkareva Z.V. [Characteristics of acetylation reactions in patients with stenosing process of the lumbar spinal canal and dural sac depending on severity of Ligamentum flavum ossification]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2020; 18(3): 45-52. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2020.03.45-52

For correspondence: Rodionova Lubov Viktorovna, e-mail: greidmacho@yandex.ru

Funding. The study was performed as a part of the research supported by the budget of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 15.07.2019. After revision: 14.04.2020

Введение

Стенозирующие процессы позвоночного канала и дурального мешка — одна из ведущих проблем неврологии, нейрохирургии и ортопедии [1, 2]. Жёлтая связка (*Ligamentum flavum*) играет немаловажную роль в развитии стенозирующего процесса позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне [3]. Некоторые авторы определяют ведущую роль гипертрофии и оссификации жёлтой связки в развитии и прогрессировании стенозирующих процессов позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне [4]. Жёлтая связка, как и другие анатомические структуры позвоночного канала, с возрастом претерпевает дегенеративно-дистрофические изменения. Патогенез гипертрофии и оссификации жёлтой связки обсуждается на страницах как отечественной, так и зарубежной литературы [5-8]. Несмотря на несомненную социальную, научную и практическую значимость проблемы,

молекулярные механизмы, лежащие в основе дегенеративно-дистрофических поражений позвоночника, до сих пор остаются недостаточно изученными.

Кроме того, генетически детерминированные или эпигенетически опосредованные возможности развития нарушений метаболизма соединительной ткани, несомненно, являются одним из ключевых событий в развитии дегенеративно-дистрофических заболеваний опорно-двигательного аппарата.

Ацетилирование, катализируемое N-ацетилтрансферазой — одна из ключевых метаболических реакций, очень важных для функционирования соединительной ткани. Информация о генотипе конкретного пациента, отражающаяся на индивидуальном статусе ферментных систем ацетилирования, несомненно, окажется полезной для лечения и профилактики данной патологии. Расшифровка специфического «кода» развития стеноза позвоночного канала и дурального мешка на уровне ДНК и РНК имеет огромное прак-

тическое значение для диагностики и разработки мер профилактики.

У человека имеется два функциональных локуса, кодирующих ферменты N-ацетилтрансферазы – *NAT1* и *NAT2*. Аллельные варианты *NAT2* связаны главным образом с точечными мутациями, большинство из которых нарушают каталитическую функцию и/или стабильность фермента [9, 10]. Полиморфизм *NAT2* фенотипически проявляется наличием в популяции «быстрых» и «медленных» ацетиляторов. Известно, что у представителей европеоидной расы частота «медленных» ацетиляторов составляет 40-60% [11]. Показано, что «быстрые» и «медленные» ацетиляторы имеют разную степень риска развития рака мочевого пузыря и молочной железы, диабета, системной красной волчанки и других заболеваний [10]. Однако подобных исследований при изучении дегенеративно-дистрофических заболеваний позвоночника не проводилось. В соответствии с вышперечисленным была поставлена цель: выявить генетические особенности реакций ацетилирования у больных со стенозами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном отделе позвоночника в зависимости от выраженности процессов оссификации *Ligamentum flavum*.

Материалы и методы исследования

Критерием включения пациентов в исследование было наличие клинко-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). Всем пациентам был разъяснён характер и объём оперативного вмешательства, связанный с ним ожидаемый положительный эффект, с последующим подписанием добровольного информированного согласия на участие в исследовании и одобренного локальным этическим комитетом Иркутского научного центра хирургии и травматологии (ИНЦХТ). Критериями невключения в исследование являлись: возраст моложе 18 лет, отсутствие подписанного информированного согласия, беременность, тяжёлая сопутствующая патология, инфекционные и гнойные заболевания.

Обследовали группу пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне позвоночника по единому алгоритму, верификация диагноза включала: клинко-неврологическое обследование; спондилографию поясничного отдела позвоночника в двух проекциях; функциональную спондилографию в положении максимального сгибания и разгибания; функциональную спондилографию с отягощением; мультиспиральную компьютерную томографию; магниторезонансную томографию; электронейромиографию; денситометрию. В исследуемую группу включен 31 человек, из них – 15 мужчин и 16 женщин. Средний возраст пациен-

тов составил $45,7 \pm 2,0$ лет. Распределение пациентов по длительности заболевания: до 1 года – 7 человек (22,5%); от 1 года до 5 лет – 9 больных (29%); более 5 лет – 15 пациентов (48,5%). Длительность последнего обострения перед хирургическим лечением составила: до 1 месяца – 1 человек (3,3%); от 1 до 4 месяцев – 10 больных (32,3%) и более 4 месяцев – 20 человек (64,5%). Абсолютный стеноз позвоночного канала и дурального мешка выявлен у 10 человек (32,3%) и относительный стеноз у 21 пациента (67,8%). По локализации стенозирующего процесса больные распределены на:

– одноуровневые (18 человек): L_{II} / L_{III} – 1 пациент, L_{III} / L_{IV} – 1 человек, L_{IV} / L_V – 12 больных, L_V / S_1 – 4 пациента;

– и двухуровневые (13 пациентов): $L_{II} / L_{III} / L_{IV}$ – 1 человек, $L_{III} / L_{IV} / L_V$ – 6 пациентов, $L_{IV} / L_V / S_1$ – 6 больных.

Сочетание стенозирующего процесса позвоночного канала и дурального мешка с грыжами межпозвонковых дисков выявлено у 2 пациентов; с послеоперационными рубцово-спаечными эпидуритами – у 7 больных, с костно-хрящевыми узлами – у 21 человека. Нестабильность в позвоночно-двигательных сегментах определена у 29 пациентов (93,5%). При клинко-неврологическом обследовании синдром каудально-перемежающейся хромоты выявлен у 12 больных (38,7%), односторонний синдром люмбаго отмечен у 19 заболевших (61,2%) и двусторонний – у 12 (38,8%). Среди обследованных жителей города Иркутска было 5 человек и 26 пациентов – жителей Иркутской области. Из 31 наблюдаемых больных 7 человек ранее оперированы, с последующим формированием у них послеоперационного рубцово-спаечного эпидурита.

Обследуемый контингент больных включался в исследование методом сплошной выборки. Интраоперационно забирали биоптаты *Ligamentum flavum* пациентов для гистологического и молекулярно-биологического исследования.

Определение экспрессии генов NAT1 и NAT2. Замороженные, с помощью жидкого азота образцы, деградировали и гомогенизировали с последующим выделением общей РНК реагентами фирмы Promega. Затем проводили обратную транскрипцию (Promega) и с кДНК проводили количественную ПЦР (Promega; CFX96, Biorad) со специфичными праймерами (RealTimePrimers.com). Контроль специфичности проводили по кривым плавления ампликонов. В качестве генов домашнего хозяйства использовали *ACTB* (Actin beta), *GADP* (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), *RPL13A* (Ribosomal protein L13a), *B2M* (Beta-2-microglobulin). С помощью встроенного программного обеспечения BioRad рассчитывали «пороговый» цикл и другие параметры, необходимые для интерпретации полученных данных. Для стандартизации применен *ACTB*, оказавшийся наименее вариабельным для этих образцов. Значения, отражающие экспрессию генов, выра-

жали в виде частного пороговых циклов исследуемого гена и гена домашнего хозяйства ($\frac{Ct_{\text{ген}}}{Ct_{\text{АСТВ}}}$) для стандартизации и сопоставимости данных. Таким образом, возможно сравнивать величину экспрессии одного и того же гена не только между группами, но также и внутри группы – разных генов. При этом чем меньше частное $\frac{Ct_{\text{ген}}}{Ct_{\text{АСТВ}}}$, тем более активна экспрессия этого гена.

Патогистологическое исследование. Полученные во время оперативного вмешательства образцы *Ligamentum flavum* фиксировали раствором Finefix (Италия), декальцинировали 5% водным раствором ЭДТА (рН = 6,5) и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. В качестве контрольных служили 6 образцов жёлтых связок, полученных от кадаверного материала (все лица мужского пола в возрасте от 25 до 45 лет, не страдающие дегенеративными заболеваниями позвоночника).

Статистическую обработку результатов производили с помощью программы Statistica 10 (№ лицензии AXAR402G263414FA-V), различия считали значимыми при $p < 0,05$. Для обработки категориальных данных использовали критерий согласия Пирсона (χ^2), предназначенный для проверки значимости расхождения эмпирических и теоретических частот. Значимость различий между группами по количественным показателям рассчитывали с помощью однофакторного дисперсионного анализа.

Результаты исследования

По результатам исследования у всех обследованных пациентов выявлена гипертрофия *Ligamentum flavum*, подтвержденная данными МРТ исследования – толщина жёлтой связки превышала 3,5 мм. Однако по признакам оссификации когорты была гетерогенной. По критерию наличия или отсутствия признаков оссификации

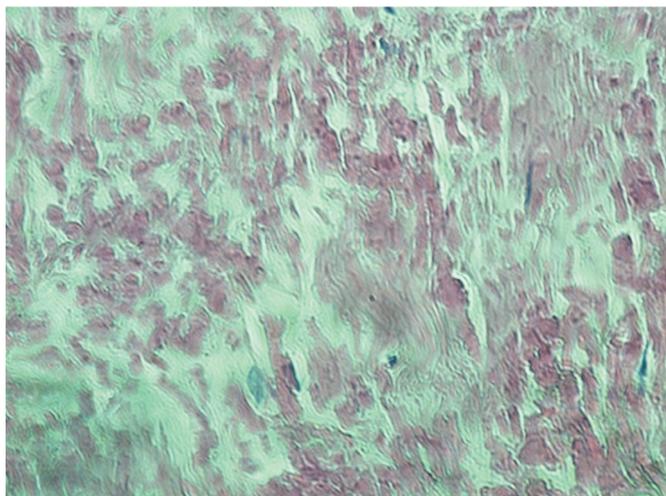


Рис. 1. Микрофотография жёлтой связки пациента без признаков оссификации (группа I), интраоперационный материал, окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$.

в образцах *Ligamentum flavum* пациенты были разделены на 2 группы. В первую группу (I) были включены 15 человек без признаков оссификации (**рис. 1**), из них мужчин – 9 человек и женщин – 6 человек, средний возраст $44,5 \pm 3,3$ лет. Во вторую группу (II) вошли 16 человек с признаками наличия хрящевой и / или костной ткани (**рис. 2**), из них мужчин – 6 человек и женщин – 10 человек, средний возраст $46,6 \pm 3,3$ лет. Образец жёлтой связки контрольной группы представлен на **рис. 3**. Таким образом, когорты обследованных больных разделилась практически пополам по признаку наличия / отсутствия оссификации. Больные для общей группы выбирались методом сплошной выборки, поэтому можно заключить, что примерно у половины контингента имеются признаки оссификации *Ligamentum flavum*.

Полученные данные по гендерному распределению пациентов в группах свидетельствуют о том, что среди обследованного контингента, женщины чаще страдают от оссификации жёлтой связки по сравнению с мужчинами ($\chi^2 = 39,1, p < 0,01$).

При анализе клинических данных выявлено, что в I группе было больше повторно оперированных пациентов (66,7% в сравнении со II группой – 40%). Группа пациентов без оссификации жёлтой связки (I) включала также больше больных с избыточной массой тела (средняя масса тела пациентов I группы составил $87,5 \pm 3,3$ кг, а II группы – $75,6 \pm 3,1$ кг, различия статистически значимы – **табл. 1**).

При последующем анализе получены маркерные показатели, существенно различающиеся для каждой группы: масса тела, минеральная плотность костной ткани (МПКТ) и экспрессия гена *NAT2* в *Ligamentum flavum* (**табл. 1**).

Экспрессия генов представлена в виде обратной величины частному $\frac{Ct_{\text{ген}}}{Ct_{\text{АСТВ}}}$. Деление на пороговый цикл гена «домашнего хозяйства» (например, $Ct_{\text{NAT2}}/Ct_{\text{АСТВ}}$)

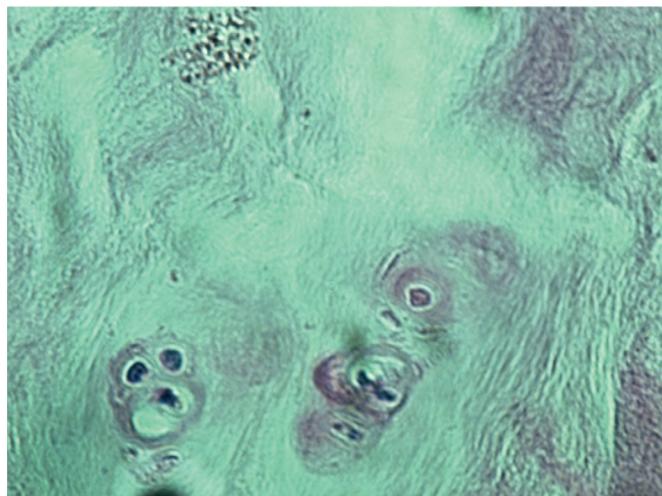


Рис. 2. Микрофотография жёлтой связки пациента с очагами хондрогенеза (группа II), интраоперационный материал, окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$.

необходимо для стандартизации и сопоставимости данных. Поскольку при активной экспрессии гена при проведении полимеразной цепной реакции флуоресцентный сигнал возрастает раньше, то цифровое выражение порогового цикла C_t будет меньше у более активных генов. Чем «длиннее» время до выхода флуоресцентного сигнала, тем меньше экспрессия гена, то есть имеется обратная зависимость между концентрацией матричной РНК и «пороговым» циклом этого гена (C_t).

При анализе полученных данных (табл. 1) обнаружено, что во II группе с гистологическими признаками оссификации жёлтой связки увеличена частота снижения минеральной плотности костной ткани по резуль-

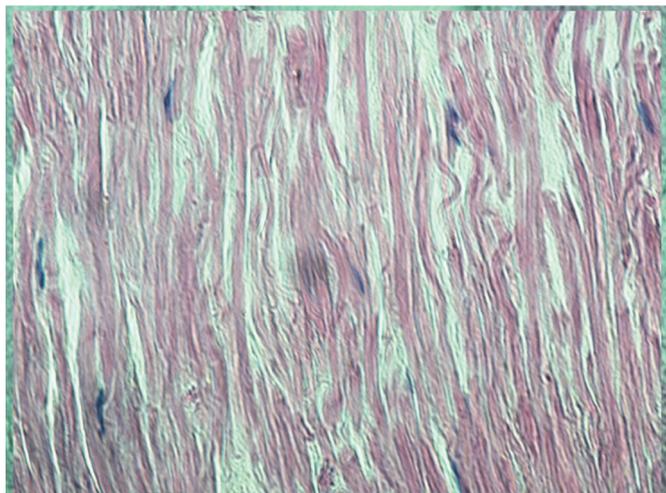


Рис. 3. Микрофотография жёлтой связки без признаков гипертрофии (контрольная группа), кадаверный материал, окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$.

татам денситометрии. Несмотря на снижение МПКТ, всё же именно в этой группе наблюдалось наличие признаков оссификации жёлтой связки. Возможно, что именно гетеротопическая оссификация в данном случае способствовала расходу минеральных ресурсов, забирая их из костной ткани, что может быть еще одним звеном патогенеза.

Анализ уровня экспрессии генов $NAT1$ и $NAT2$ показал (табл. 2), что в I группе у 9 человек из 15 наблюдалась крайне низкая экспрессия $NAT1$, и только у 6 человек этот ген экспрессировался всего в $2,4 \pm 0,29$ раз меньше, чем высоко активный ген «домашнего хозяйства» $ACTB$ (значение рассчитано для $n = 6$). Активность гена $NAT1$ была также ниже, чем активность $NAT2$ в 1,5 раза ($3,02 / 1,96, p < 0,001$).

Во II группе активность $NAT1$ находилась на таком же низком уровне, однако не отличалась от $NAT2$. «Маркерным» геном для I группы был ген $NAT2$, отличающийся более высокой активностью по сравнению с показателями II группы (табл. 3).

В интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* большинства лиц обеих групп выявлена отчетливая экспрессия генов либо $NAT1$, либо $NAT2$, или обеих генов вместе (табл. 4). Активная экспрессия обоих изоферментов NAT выявлена в 22,6% случаев (всего 7 человек: 4 человека из I группы, 3 человека – из II группы). У пациентов I группы у всех 15 человек (100% от численности группы) выявлена экспрессия либо $NAT1$, либо $NAT2$: 6 случаев экспрессии $NAT1$ (40%), 13 случаев экспрессии $NAT2$ (86,7%) и 4 случая экспрессии обоих генов (26,7%). Во II группе $NAT1$ экспрессировалась в *Ligamentum flavum* у 4 человек (25%), $NAT2$ – у 8 человек (50%), оба гена были активны у 3 человек (18,8%) и абсолютное их «молчание» зарегистрировано

Таблица 1

Показатели, имеющие значимые различия в группах, сформированных по признаку наличия / отсутствия признаков оссификации *Ligamentum flavum*

	I группа (n = 15)	II группа (n = 16)	Значимость различий
Масса тела, кг	$87,5 \pm 3,3$	$75,6 \pm 3,1$	$p = 0,013$
МПКТ (денситометрия)	Снижение у 1 чел. (6,7%)	Снижение у 6 чел. (40,0%)	$\chi^2 = 5,026, p < 0,05$
Экспрессия гена $NAT2, \frac{C_{NAT2}}{C_{ACTB}}$	$1,960 \pm 0,220$	$2,720 \pm 0,249$	$p = 0,030$

Таблица 2

Уровень экспрессии генов $NAT1$ и $NAT2$ в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне позвоночника

	I группа (n = 15)	II группа (n = 16)
Экспрессия $NAT1, \frac{C_{NAT1}}{C_{ACTB}}$	$3,02 \pm 0,191$ (n = 15)* $2,36 \pm 0,289$ (n = 6)**	$2,93 \pm 0,212$ (n = 16)* $1,68 \pm 0,231$ (n = 4)**
Экспрессия $NAT2, \frac{C_{NAT2}}{C_{ACTB}}$	$1,96 \pm 0,220$ (n = 15)***	$2,72 \pm 0,249$ (n = 16)***

Примечания: * – расчёт в общей численности группы, куда вошли «большие» C_t низкой экспрессии, которые непропорционально меняют результат; ** – расчёт по показателям только активной экспрессии; *** – статистически значимые различия между группами ($p < 0,05$).

у 7 человек (43,8% от численности группы). При изучении профилей экспрессии генов *NAT1* и *NAT2* (табл. 4) выявлено, что экспрессировалось по одному изоферменту *NAT* в I группе у 73,3% пациентов, во II группе – у 37,5%. Кроме того, у 43,8% лиц с подтвержденной оссификацией *Ligamentum flavum* (II группа) не было обнаружено экспрессии ни *NAT1*, ни *NAT2*. Таким образом, абсолютное «молчание» генов *NAT1* и *NAT2* в образцах жёлтой связки встречается только исключительно у пациентов с выявленной оссификацией (II группа).

Обсуждение

Гены *NAT1* и *NAT2* относятся к семейству ферментов биотрансформации ксенобитотиков, схожи по структуре, имеют на 79-95% гомологичные аминокислотные последовательности, располагаются на одной хромосоме, но регулируются независимо друг от друга [9-12]. Описана экспрессия генов *NAT1* и *NAT2* в множестве различных органов и тканей, наибольшая активность отмечена в печени и бронхиальных эпителиальных клетках [13]. Ферменты катализируют перенос ацетильной группы от ацетил-коэнзима к различным ариламиновым и гидразиновым субстратам, метаболизируя лекарства и другие ксенобиотики, а также действуют в катаболизме фолата. Ацетилирование, осуществляемое *NAT1* и *NAT2*, считают смежным с метаболическим путем цитохрома P450.

В результате проведенного исследования мы впервые выявили экспрессию генов ацетилтрансфераз в образцах жёлтой связки. В литературе, и в том числе на ресурсе www.ncbi.nlm, мы не нашли данных об экспрессии *NAT1* и *NAT2* в ткани *Ligamentum flavum*. Очевидно, что процессы ацетилирования необходимы для метаболизма соединительной ткани и могут играть неизвестную в настоящее время роль в развитии сте-

нозирующих процессов при патологии позвоночника. Предрасположенность к стенозу и восприимчивость к лечению генетически детерминирована и выражается в индивидуальных различиях в метаболическом статусе. В настоящее время наиболее перспективными в этом плане представляются работы по пептидгергической эпигенетической регуляции экспрессии генов и синтеза белков с помощью препаратов эпифиза [14]. Процессы ацетилирования, вне всяких сомнений, играют важную роль в патобиохимии соединительной ткани, возможно, регулируя экспрессию необходимых генов, что отражается на всех внутриклеточных процессах и, особенно, на фиброгенезе [9, 10]. Нарушение равновесия процессов ацетилирования может приводить к избыточному синтезу коллагена, ускоренному росту соединительной ткани, нарушению перекисного гомеостаза. Учитывая вышесказанное можно предположить, что целенаправленное воздействие на процессы ацетилирования может способствовать саногенезу.

Заключение

Варианты снижения активности процессов ацетилирования достоверно чаще встречаются у пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном отделе позвоночника с выявленной оссификацией *Ligamentum flavum*. В интраоперационных образцах жёлтой связки больных наблюдаются различные паттерны экспрессии генов *NAT1* и *NAT2*, от различных сочетаний активности генов ацетилтрансфераз до их полного «молчания». Определенные варианты экспрессии изоферментов ацетилтрансфераз могут характеризовать склонность к развитию оссификации жёлтой связки.

При совокупной оценке проведенных исследований выявлено, что женщины чаще страдают от осси-

Таблица 3

Особенности активности генов *NAT1* и *NAT2* в интраоперационных биоптатах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне позвоночника

Особенности активности гена	I группа (n = 15)	II группа (n = 16)	различия между группами
Выраженная экспрессия <i>NAT1</i>	40,0% (6 чел.)	25,0% (4 чел.)	$p < 0,05$
Низкая экспрессия <i>NAT1</i> или ее полное отсутствие	60,0% (9 чел.)	75,0% (12 чел.)	$p < 0,05$
Выраженная экспрессия <i>NAT2</i>	86,7% (13 чел.)	50% (8 чел.)	$p < 0,05$
Низкая экспрессия <i>NAT2</i> или ее полное отсутствие	13,3% (2 чел.)	50% (8 чел.)	$p < 0,05$

Таблица 4

Распределение паттернов экспрессии генов ацетилтрансфераз в *Ligamentum flavum* у пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном отделе позвоночника

Группа	<i>NAT1</i> ⁺ / <i>NAT2</i> ⁺	<i>NAT1</i> ⁺ / <i>NAT2</i> ⁻ либо <i>NAT1</i> ⁻ / <i>NAT2</i> ⁺	<i>NAT1</i> ⁻ / <i>NAT2</i> ⁻	Значимость различий
I группа (n = 15)	4 чел. (26,7%)	2 + 9 чел. (73,3%)	0	$\chi^2 = 7,086, p < 0,05$
II группа (n = 16)	3 чел. (18,8%)	1 + 5 чел. (37,5%)	7 чел. (43,8%)	-

фикации жёлтой связки по сравнению с мужчинами. При этом повторные оперативные вмешательства, как и избыточная масса тела, не увеличивают риск оссификации жёлтой связки.

Активность экспрессии гена *NAT2* может быть информативным маркером, свидетельствующим о повышенном риске развития процессов эктопической оссификации *Ligamentum flavum*.

Определение паттернов экспрессии генов ацетилтрансфераз в *Ligamentum flavum* у больных со стенозом позвоночного канала и дурального мешка могут помочь клиницистам прогнозировать развитие гипертрофии и оссификации жёлтой связки при оперативном вмешательстве на позвоночнике, а полученные новые фундаментальные знания могут послужить основой для разработки способов профилактики развития эпидурального фиброза на дооперационном этапе.

Список литературы

1. Кошкарёва З.В., Сороковиков В.А., Горбунов А.В., Брюханов В.Г., Родионова Л.В., Скляренко О.В. Взаимосвязь и взаимозависимость клинических синдромов от степени стенозирующего процесса позвоночного канала на поясничном уровне. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2013; 2-2(90): 29-33.
2. Античко Л.Э. *Стеноз позвоночного канала*. Воронеж: ИПФ «Воронеж», 2001. 272 с.
3. Lan X., Gao J., Xu J.Z., Liu X.M. [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 (in Chinese)
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. Родионова Л.В., Негреева М.Б., Скляренко О.В., Сороковиков В.А., Неvejeва А.В. Однонуклеотидные замены в структурной области гена *NAT2* у больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями позвоночника. Фундаментальные и прикладные аспекты поражений и повреждений позвоночника. Материалы VII съезда Межрегиональной Ассоциации хирургов-вертебрологов России с международным участием и IV съезда дорожных нейрохирургов. Иркутск, 25-26 мая 2017 г.
6. Родионова Л.В., Сороковиков В.А., Кошкарёва З.В. Активность ферментных систем и метаболизм соединительной ткани в патогенезе стенозирующего процесса позвоночного канала (обзор литературы). *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2015; 1(101): 77-83.
7. Родионова Л.В., Неvejeва А.В., Скляренко О.В., Негреева М.Б., Сороковиков В.А. Полиморфизм *NAT2* и экспрессия генов *N*-ацетилтрансфераз в *Ligamentum flavum* у больных со стенозами позвоночного канала дегенеративно-дистрофического генеза. *Лабораторная служба*. 2017; 6(3): 132-133.
8. Haig A.J., Adewole A., Yamakawa K.S.J., Kelemen B., Aagesen A.L. The Ligamentum Flavum at L4-5: Relationship With Anthropomorphic Factors and Clinical Findings in Older Persons With and Without Spinal Disorders. *PM&R* 2012; 4(1): 23-29. DOI: 10.1016/j.pmrj.2011.07.023
9. Никишина М.В., Вавилин В.А., Макарова С.И., Ляхович В.В. Анализ ассоциаций полиморфизмов гена *NAT2* с риском возникновения рака лёгкого. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2007; 143(1): 89-92.
10. Шевченко О.В., Бычков Е.Н., Свистунов А.А., Бородулин В.Б., Саратцев А.В., Лосев О.Э., Киселев А.Р., Посненкова О.М. Влияние полиморфизмов гена *NAT2* на метаболизм холестерина у больных артериальной гипертензией. *Фундаментальные исследования*. 2012; 7-1: 219-223.
11. Vatsis K.P., Weber W.W., Bell D.A., Dupret J.M., Evans D.A., Grant D.M., Hein D.W., Lin H.J., Meyer U.A., Relling M.V. Nomenclature for *N*-acetyltransferases. *Pharmacogenetics*. 1995; 5(1): 1-17. DOI: 10.1097/00008571-199502000-00001

12. Hein D.W., Doll M.A., Fretland A.J., Leff M.A., Webb S.J., Xiao G.H., Devanaboyina U.S., Nangju N.A., Feng Y. Molecular genetics and epidemiology of the *NAT1* and *NAT2* acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. 2000; 9(1): 29-42.
13. *Reference SNP (rs) Report*. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1208> Дата обращения 03.07.2019.
14. Хавинсон В.Х., Попович И.Г. Роль пептидов эпифиза в процессах старения. *Патогенез*. 2017; 15(3): 12-19.

References

1. Koshkaryova Z. V., Sorokovikov V. A., Gorbunov A. V., Bryukhanov V. G., Rodionova L. V., Sklyarenko O. V. [The relationship and interdependence of clinical syndromes on the degree of stenotic process of the spinal canal at the lumbar level]. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk [Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2013; 2-2(90): 29-33. (in Russian)
2. Antipko L.E. [Spinal stenosis]. *Voronezh: IAP Voronezh*, 2001. 272 p. (in Russian)
3. Lan X., Gao J., Xu J.Z., Liu X.M. [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 (in Chinese)
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. Rodionova LV, Negreyeva MB, Sklyarenko OV, Sorokovikov VA, Nevezhina AV. [Single nucleotide substitutions in the structural region of the *NAT2* gene in patients with degenerative-dystrophic diseases of the spine]. *Fundamental and Applied Aspects of Lesions and Injuries of the Spine. Materials of the VII Congress of the Interregional Association of Vertebrological Surgeons of Russia with international participation and the IV Congress of Road Neurosurgeons*. Irkutsk, May 25-26, 2017. (in Russian)
6. Rodionova L.V., Sorokovikov V.A., Koshkareva Z.V. [The activity of enzyme systems and the metabolism of connective tissue in the pathogenesis of the stenotic process of the spinal canal (literature review)]. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk [Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2015; 1(101): 77-83. (in Russian)
7. Rodionova L.V., Nevezhina A.V., Sklyarenko O.V., Negreeva M.B., Sorokovikov V.A. [*NAT2* polymorphism and expression of *N*-acetyltransferase genes in *Ligamentum flavum* in patients with spinal canal stenosis of degenerative-dystrophic origin]. *Laboratornaya sluzhba [Laboratory service]*. 2017; 6(3): 132-133. (in Russian)
8. Haig A.J., Adewole A., Yamakawa K.S.J., Kelemen B., Aagesen A.L. The Ligamentum Flavum at L4-5: Relationship With Anthropomorphic Factors and Clinical Findings in Older Persons With and Without Spinal Disorders. *PM&R* 2012; 4(1): 23-29. DOI: 10.1016/j.pmrj.2011.07.023
9. Nikishina M.V., Vavilin V.A., Makarova S.I., Lyakhovich V.V. Analysis of associations of *NAT2* gene polymorphisms with the risk of lung cancer. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of experimental biology and medicine]*. 2007; 143(1): 89-92. (in Russian)
10. Shevchenko O.V., Bychkov E.N., Svistunov A.A., Borodulin V.B., Sarattsev A.V., Losev O.E., Kiselev A.R., Posnenkova O.M. [The effect of *NAT2* gene polymorphisms on cholesterol metabolism in patients with arterial hypertension]. *Fundamental'nyye issledovaniya [Basic research]*. 2012; 7-1: 219-223. (in Russian)
11. Vatsis K.P., Weber W.W., Bell D.A., Dupret J.M., Evans D.A., Grant D.M., Hein D.W., Lin H.J., Meyer U.A., Relling M.V. Nomenclature for *N*-acetyltransferases. *Pharmacogenetics*. 1995; 5(1): 1-17. DOI: 10.1097/00008571-199502000-00001
12. Hein D.W., Doll M.A., Fretland A.J., Leff M.A., Webb S.J., Xiao G.H., Devanaboyina U.S., Nangju N.A., Feng Y. Molecular genetics and epidemiology of the *NAT1* and *NAT2* acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. 2000; 9(1): 29-42.
13. *Reference SNP (rs) Report*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1208> Retrieved: 03.07.2019.
14. Havinson V.Kh., Popovich I.G. [The role of pineal gland peptides in aging processes]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2017; 15 (3): 12-19. (in Russian)

Сведения об авторах

Родионова Любовь Викторовна — кандидат биологических наук, заведующая лабораторией клеточной патофизиологии и биохимии научно-лабораторного отдела Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; доцент кафедры лучевой и клинической лабораторной диагностики Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования — филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-5080-9225>

Самойлова Лилия Григорьевна — младший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии научно-лабораторного отдела Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; <https://orcid.org/0000-0003-4482-6130>

Шурыгина Ирина Александровна — доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; <https://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Склярченко Оксана Васильевна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник нейрохирургического отделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; <https://orcid.org/0000-0003-1077-7369>

Животенко Александр Петрович — научный сотрудник нейрохирургического отделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; <https://orcid.org/0000-0002-4032-8575>

Кошкарева Зинаида Васильевна — заведующая нейрохирургического отделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; <https://orcid.org/0000-0002-4387-5048>

Сороковиков Владимир Алексеевич — доктор медицинских наук, профессор, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и нейрохирургии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования — филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-9008-6383>