

УДК 616.721.1-002 -085.276:612.017.1:577.21

РОЛЬ МАТРИЧНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В РЕГЕНЕРАЦИИ МЕЖПОЗВОНКОВОГО ДИСКА

Л.А. Бардонова¹, Е.Г. Бельх², И.А. Степанов¹, В.А. Бывальцев¹⁻³

¹ Иркутский государственный медицинский университет (664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1),

² Иркутский научный центр хирургии и травматологии (664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1),

³ Дорожная клиническая больница на ст. Иркутск-Пассажи́рский (664082, г. Иркутск, ул. Боткина, 10)

Ключевые слова: дегенерация межпозвоночного диска, биологическая терапия, генная инженерия, стволовые клетки.

ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES AND PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN REGENERATION OF THE INTERVERTEBRAL DISC

L.A. Bardonova¹, E.G. Belykh², I.A. Stepanov¹, V.A. Byval'tsev¹⁻³

¹ Irkutsk State Medical University (1 Krasnoe Vosstanie St. Irkutsk 664003 Russian Federation), ² Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (1 Bortsov Revolutsii St. Irkutsk 664003 Russian Federation), ³ Railway Clinical Hospital on the station Irkutsk-Passazhirskiy (10 Botkina St. Irkutsk 664082 Russian Federation)

Summary. Intervertebral disc degeneration is an urgent problem of modern medicine. The most frequent symptom associated with intervertebral disc degeneration is back pain with leads to early disability of patients. Cell death, reduction of synthesis of extracellular matrix proteins and destruction of the basic substance due to activation of matrix metalloproteinases are one of the main chain link of intervertebral degeneration which is progressed with the contribution from the proinflammatory cytokines. Modern therapy of intervertebral disc degeneration is aimed not only in reducing the pain, but also in restoration of the functions of the disc through a variety of methods of biological therapy. Different approaches currently under development are targeted at activation of the regenerative processes in the intervertebral disc using injections of bioactive proteins, different types of cells or cell populations, and the stimulators of extracellular matrix production, as well as methods of gene engineering. These methods of biological treatment of degenerated intervertebral discs are promising and could be translated into clinical practice.

Key words: intervertebral disc degeneration, biological therapy, gene engineering, stem cells.

Pacific Medical Journal, 2015, No. 4, p. 21–26.

Дегенеративные процессы межпозвоночного диска (МПД) – предельно актуальная проблема современной медицины. Их наиболее частое клиническое проявление – боль в спине, которая обычно сопряжена с ранней утратой трудоспособности [1, 3]. Стоит отметить, что подобный болевой синдром встречается у 85 % людей старше 35 лет [2, 6]. Несмотря на то, что в настоящее время достигнуты значительные успехи в изучении молекулярно-генетических механизмов дегенеративных изменений, многие вопросы патогенеза повреждения МПД до сих пор остаются открытыми [10]. Сегодня разрабатываются различные методы биологической терапии дегенерирующего МПД, которые направлены не только на устранение болевого синдрома, но и на активацию регенераторных процессов в самом диске.

Цель настоящего обзора – анализ литературных данных о роли молекулярных и генетических факторов в развитии дегенеративных процессов МПД, а также

современного подхода к лечению дегенеративных заболеваний позвоночника.

Строение и метаболизм МПД

МПД – это высокоспециализированное образование, состоящее из трех основных структурных компонентов: фиброзного кольца, студенистого ядра и концевых пластинок [45]. Фиброзное кольцо ограничивает студенистое ядро – желатиноподобную сердцевину, состоящую из беспорядочно расположенных коллагеновых и радиально пролегающих эластиновых волокон, погруженных в высокогидратированный агрегансодержащий гель. Фиброзное кольцо состоит из 25 концентрических колец, или ламелл, образованных параллельными коллагеновыми фибриллами, окруженными эластиновыми волокнами [24, 37]. Высокогидратированный гель студенистого ядра поддерживает осмотическое давление, обеспечивая формирование свойств МПД. Ядро и фиброзное кольцо различаются по клеточному составу. Фибробластоподобные клетки внешней части фиброзного кольца помещаются параллельно коллагеновым волокнам. Во внутренней его части клетки более овальные, хондроцитоподобные. Погруженные в матрикс клетки студенистого ядра имеют хондроцитоподобную структуру, располагаются по отдельности (около 5000 в 1 мм³), иногда заключены в капсулу. Некоторые клетки, как в студенистом ядре, так и в фиброзном кольце, обладают удлинённой формой, достигая в длину 30 мкм. Предполагают, что они выполняют сенсорную и коммуникативную роли [15, 25]. Две концевые пластинки, состоящие из гиалинового хряща, замыкают диск аксиально и прилежат к соседним позвонкам. Толщина этих пластинок не превышает 1 мм [49]. МПД здорового взрослого человека практически лишен кровеносных сосудов и нервных волокон – последние обнаруживаются только во внешних ламеллах фиброзного кольца. Часть из них представляет собой окончания проприорецепторов [45]. С возрастом, вследствие естественных дегенеративных процессов, морфология диска изменяется. Уже в первые десятилетия жизни он утрачивает большую часть источников кровоснабжения, что обуславливает дефицит питательных веществ. Вторичной по отношению к этому процессу является кальцификация концевых пластинок, ведущая к снижению диффузия пластических веществ. Без необходимых нутриентов и клетки гибнут, угнетается синтез белков

Бывальцев Вадим Анатольевич – д-р мед. наук, профессор курса нейрохирургии ИГМУ, руководитель центра нейрохирургии ДКБ, e-mail: byval75vadim@yandex.ru

межклеточного вещества [9]. У взрослого человека количество клеток в МПД в 2 раза меньше, чем у ребенка [6, 45]. Дегенеративные изменения студенистого ядра характеризуются прогрессирующим уменьшением толщины диска. Граница между студенистым ядром и фиброзным кольцом становится более четкой. В ткани МПД появляется и усиливается пигментация, она становится более хрупкой. Дегенеративные изменения в фиброзном кольце выражаются дезорганизацией ламелей и увеличением доли фиброзно-хрящевой ткани. У большинства людей течение процесса старения структур медленное, постепенное, однако, в определенных ситуациях оно может значительно ускориться, что обуславливает возникновение хронического болевого синдрома [48].

Деструкция матрикса МПД осуществляется преимущественно специфическими ферментами. К ним относят агреканазы, различные виды матричных металлопротеиназ (matrix metalloproteinase – ММР) и другие деградирующие ферменты. Например ММР-3, или стромелизин, приводит к разрушению коллагена III, IX и X типов, протеогликанов, фибронектина, ММР-2, или желатиназа, вызывает деградацию коллагена IV типа. Ряд других деградирующих ферментов объединяют в семейство ADAMTS [11, 28].

Металлопротеиназы внеклеточного вещества при дегенерации МПД

Одним из основных признаков дегенерации МПД является разрушение структуры внеклеточного матрикса. Клетки диска синтезируют ферменты, которые специфически разрушают белковые компоненты внеклеточного матрикса (коллагены, протеогликаны, фибронектин). Наиболее изучены матричные металлопротеиназы – группа протеаз, которая разрушает различные типы коллагена [11]. Доказано, что в дегенерирующем МПД активируется экспрессия практически всех типов ММР – 1, 2, 3, 9 [11, 18, 42]. С использованием клеток диска, выделенных от различных животных, а также от человека, показано, что они синтезируют ММР *in vitro* спонтанно, под действием гидростатического давления или при стимуляции интерлейкином-1 [14, 16]. Кроме регулирования экспрессии, активность ММР также управляется на посттрансляционном этапе, в частности, они связываются с тканевым ингибитором ММР [23]. Результаты многих исследований подтверждают, что экспрессия ММР сопровождается повышением уровня их ингибиторов. При дегенеративных процессах в МПД возрастает экспрессия ингибиторов ММР-1 и ММР-2, а уровень синтеза ингибитора ММР-3 практически не изменяется. В некоторых исследованиях обнаружен дисбаланс между ингибиторами ММР-1 и ММР-3 [17, 29, 30]. Кроме коллагеновых волокон, при повреждении МПД также деградирует агрекан – основной протеогликан межклеточного вещества. К настоящему моменту протеиназы, разрушающие агрекан, изучены недостаточно. Достоверно известно, что в этом процессе участвует фермент – агреканазы-1 [28]. Кроме ММР, расщеплять

различные типы коллагена и протеогликаны способна другая немаловажная группа ферментов, именуемых катепсинами. Доказано, что активность катепсинов D, L, K и G в дегенерирующем МПД значительно повышена. Это связано с сепарированием замыкательной пластинки и дезорганизацией фиброзного кольца. Определенную роль в регуляции активности катепсинов играют факторы роста (нервов и головного мозга) и провоспалительные цитокины – интерлейкины (ИЛ) 1 α , 2, 6 и 12, фактор некроза опухоли- α , интерферон- γ) [7]. Хотя субстраты ММР и катепсинов в значительной мере схожи, отмечено, что ММР активны только при нейтральной реакции, в то время как катепсины максимално активны в кислой среде [42]. Это свойство катепсинов может иметь важное значение на поздних стадиях дегенерации МПД, когда накопление лактата вызывает образование кислой среды.

Провоспалительные цитокины при дегенерации МПД

При исследовании ткани МПД установлено, что его клетки синтезируют большое количество сигнальных молекул, участвующих в провоспалительных и сопряженных с ними метаболических реакциях. Среди них сигнальные молекулы семейства ИЛ (1 α , 2, 6, 12), фактор некроза опухоли- α , интерферон- γ , а также гранулоцитарный колониестимулирующий фактор [8, 43, 47]. Помимо воспалительных сигнальных молекул, в ткани диска синтезируются медиаторы воспаления: лейкотриены C₄ и D₄, тромбоксан B₂, простагландин E₂ и, соответственно, ферменты, участвующие в данных сигнальных реакциях (фосфолипаза A₂ и циклооксигеназа-2) [41]. Экспрессия рецепторов цитокинов на клетках МПД свидетельствует о том, что эти клетки не только иницируют проведение сигнала, но и имеют механизмы адекватного реагирования на провоспалительные медиаторы. Многие авторы утверждают, что хондроцитоподобные клетки студенистого ядра служат источником провоспалительных цитокинов в дегенерирующем диске [38, 43]. Установлена связь между уровнем провоспалительных цитокинов – ИЛ 6 и 8 – и выраженностью болевого синдрома [38, 41, 47].

Исследования последних лет показывают, что развитие дискогенного болевого синдрома связано с вращением нервных волокон в ткань МПД. Именно взаимодействие провоспалительных цитокинов и нейротрофических факторов, продуцируемых клетками диска и иммунными клетками, активно поддерживает рост нервных волокон [4]. В здоровом МПД этому препятствует высокая концентрация хондроитинсульфата в агрекане и других молекул матрикса, обеспечивающих барьерную функцию фиброзного кольца [4, 8]. Важно отметить, что инвазии нервных стволов способствуют расщеплению агрекана ферментной системой ADAMTS, которая активируется провоспалительными цитокинами (фактором некроза опухоли- α , ИЛ 1 α , 1 β и 6) [11]. Не менее важный механизм, порождающий вращение нервов, связан с низкой экспрессией белка 3-го класса семейства Semaphorin. В норме этот белок

ингибирует ангио- и нейрогенез, однако у пациентов с дискогенным болевым синдромом отмечается низкий уровень его содержания [10]. А. J. Freemont в своих исследованиях доказал, что для роста и развития нейрональной ткани в МПД необходим фактор роста нервов, секретлируемый эндотелиоцитами капилляров [10]. Позже выяснилось, что клетки пульпозного ядра и фиброзного кольца в норме также экспрессируют низкие уровни нейротрофических факторов и рецепторов к ним. Но при воздействии ИЛ-1 β и фактора некроза опухоли- α уровень экспрессии повышается в несколько раз, что активирует процессы ангио- и нейрогенеза в ткани МПД [47]. Получены данные о том, что фактор роста нервов способен не только активировать развитие нервов и сосудов, но и напрямую участвовать в формировании болевого синдрома [41]. Механизм боли связан здесь с воздействием фактора роста нервов на спинальный ганглий и открытием рН-чувствительных ноцицептивных каналов [6]. В совокупности цитокины оказывают повреждающее влияние на дорзальный спинальный ганглий и способствуют открытию ноцицептивных каналов, облегчая деполяризацию болевых нейронов.

Методы биологической терапии дегенеративных процессов МПД

В настоящее время терапия дегенеративных процессов МПД направлена не только на устранение болевого синдрома, но и на восстановление его функций. Современные технологии часто предусматривают использование различных биологических материалов. Для активации регенерации диска применяют разнообразные способы доставки лечебных агентов, белков-активаторов, других типов клеток или клеточных популяций, влияющие на биосинтез и деградацию компонентов внеклеточного матрикса, а также методы генной инженерии.

Прямое введение биологически активных веществ

Разовые или повторяющиеся прямые инъекции трансформирующего ростового фактора- β в ткань дегенерирующего МПД человека *in vitro* способствуют увеличению синтеза протеогликана и снижению резорбции ткани вследствие уменьшения секреции ММР-2, также регистрируется периодический пролиферативный эффект [32]. Аналогично трансформирующему ростовому фактору- β инсулиноподобный фактор роста-1 также способствует увеличению синтеза протеогликана и замедлению резорбции МПД посредством снижения уровня активной ММР-2 [13, 32]. Этот фактор роста также повышает жизнеспособность клеток за счет антиапоптотического эффекта [31]. Интересно, что уровень инсулиноподобного фактора роста-1 с возрастом снижается. К настоящему времени опубликованы результаты исследования, в котором у кроликов моделировали дегенерацию МПД поясничного отдела позвоночника. Прямые инъекции остеогенного

протеина-1, принадлежащего семейству трансформирующего ростового фактора- β , содействовали значительному увеличению синтеза протеогликанов и восстановлению высоты диска. Полученный результат был стабильным в течение 8 недель [32, 44]. После прямых инъекций остеогенного протеина-1 крысам, у которых моделировали дегенерацию МПД, наблюдали ингибирование боль-определяемого поведения [44]. Недостатком метода прямых инъекций является невозможность длительного введения препаратов.

Методы генно-инженерной терапии

Доставка биологически-активных веществ в дегенерирующий МПД возможна при использовании его генетически модифицированных клеток, экспрессирующих необходимый генный продукт. Благодаря достижениям молекулярной генетики возможно введение соответствующего генетического элемента практически в любую клетку. Так, клетки, изолированные из МПД быка или крысы, трансформировали с помощью ретровирусного вектора, содержащего ген-кодирующий антагонист-рецептора ИЛ-1 [46]. Эти генные конструкции использовали для инъекций *in vivo* в экспериментах на кроликах, у которых моделировали дегенерацию МПД, а также трансфекции клеток МПД человека *in vitro* [33]. Было показано, что вектор на основе ретровируса способен эффективно трансфектировать клетки различных видов млекопитающих. В последующем, для преодоления опасности возникновения иммунной реакции при использовании этого вектора был разработан аденовирусоассоциированный вектор и продемонстрировано, что он эффективно трансфектирует клетки МПД человека и кролика *in vivo* генерируя гуморальный, но не клеточный иммунный ответ, а также приводит к активной трансгенной экспрессии [20, 22].

Несмотря на достаточное число исследований, доказывающих гибкость метода прямой доставки генов с приложением векторов на основе вирусов в клетки МПД, вопрос о том, какой ген необходимо доставлять, остается открытым. Среди них гены анаболического трансформирующего ростового фактора- β , латентного мембранного белка-1, фактора генетической детерминации пола SOX-9, а также антикатаболического фактора – ингибитора ММР-1.

Первые исследования по экзогенной доставке гена *in vivo* на кроликах провели Т. Nishida [et al.] [29], которые использовали аденовирусный вектор, несший ген трансформирующего ростового фактора- β 1. Авторы констатировали значительное увеличение экспрессии трансформирующего ростового фактора- β 1, а также протеогликана в МПД. При введении в ткань диска кроликов латентного мембранного белка-1 *in vivo* наблюдали повышение экспрессии анаболических цитокинов – костного морфогенетического белка и агреккана, – что подтверждает целесообразность применения этого фактора в качестве терапевтического средства [36]. Фактор генетической детерминации пола

не оказывал влияния на синтез протеогликана, но в то же время отмечено, что при переносе его гена в клетки дегенерирующего МПД человека увеличивался синтез коллагена II типа. Трансфекция SOX-9 в составе аденовирусного вектора в дегенерирующий диск кролика обеспечивала сохранение структуры, свойственной непораженному диску, в то время как в контрольной группе животных наблюдали типичные дегенеративные изменения [40].

Таким образом, увеличение синтеза не только протеогликана, но и коллагена II типа способно предотвратить дегенерацию МПД. Можно также предположить, что сочетанное использование различных факторов будет еще более эффективным и физиологичным. В последних исследованиях установлено, что применение одновременно трансформирующего ростового фактора- β 1, инсулиноподобного фактора роста-1 и костного морфогенетического белка-2 оказывает синергичное действие на синтез полезных межклеточных белков [27].

Альтернативой этим анаболическим средствам могут стать антикатаболические препараты, позволяющие замедлить процесс дегенерации без необходимости увеличивать синтез в клетках МПД. Например, с помощью аденовирусного вектора в дегенерирующий диск человека был доставлен ингибитор MMP-1, что способствовало увеличению содержания протеогликана в культуре [40, 46].

Несмотря на положительные результаты инъекционных методов в отношении дегенерирующего диска человека, где формируется токсичное микроокружение, уменьшается поступление нутриентов (главным образом глюкозы и кислорода), а также происходит закисление среды, остается открытым вопрос: как долго в этих условиях возможна экспрессия генно-инженерной конструкции? Неизвестно также, смогут ли клетки в условиях недостаточного поступления нутриентов адекватно реагировать на трофические факторы.

Использование стволовых клеток

Последние достижения в области эмбриологии, а именно в исследовании свойств мезенхимальных стволовых клеток (МСК), позволяют рассматривать их в качестве источника клеток для генной терапии и имплантации. МСК – некоммитированные полипотентные стволовые клетки, которые обнаруживают в различных тканях. Они обладают высокой пластичностью и способностью к мультилинейной дифференцировке. Эти клетки доступны, и ими легко манипулировать. В МСК уже введено несколько векторных систем, которые показали высокую активность экспрессии [12, 26, 39].

Однако трансформация – не единственная проблема, которую здесь необходимо решить. МСК не дифференцированы, и перед имплантацией их необходимо дифференцировать в хондроцитоподобные клетки. Для этого применяли ростовые факторы

семейства костных морфогенетических белков [21]. В настоящее время изучается более специфичный фактор дифференцировки из семейства факторов генетической детерминации пола. Члены семейства факторов транскрипции *Brachyury* способствуют адгезии клеток [5]. В последнее время обнаружено, что для индукции дископодобного фенотипа достаточно культивирование МСК с клетками МПД [19]. Культивирование в условиях трехмерной системы также помогает формированию хондроцитоподобного фенотипа. При имплантации МСК, заключенных в коллагеновый гель, в дегенерирующий МПД кроликов, отмечено сохранение структуры студенистого ядра и фиброзного кольца, предотвращение уменьшения синтеза протеогликанов, увеличение высоты диска [34]. Имплантированные клетки выживают и экспрессируют генетические маркеры студенистого ядра и фиброзного кольца. Аналогичные результаты были получены при инъекции суспензии МСК в МПД кроликов и суспензии МСК, заключенной в гель, в МПД копчикового отдела крысы [35].

Использование МСК дало новый импульс развитию методов аутотрансплантации при дегенеративных процессах в МПД. Их применение позволяет преодолеть основное ограничение – доступность клеточного матрикса в необходимом количестве. Предстоит ответить еще на многие вопросы, например: являются ли хондроциты, происшедшие из МСК, идентичными или похожими на клетки студенистого ядра? Хотя результаты последних исследований доказывают соответствие клеток, неизвестно, как долго они будут сохранять фенотип в условиях микроокружения в дегенерирующем МПД, и не будут ли новые клетки также подвергаться дегенерации. Неизученным остается и вопрос о биомеханических свойствах вновь синтезированного матрикса.

Заключение

МПД – единая высокоспециализированная структура. По причине отсутствия кровеносных сосудов поступление питательных веществ обеспечивается посредством диффузии, что делает его зависимым от структуры матрикса. Повреждение матрикса обуславливает изменение диффузии, в последующем – уменьшение числа клеток, обеспечивающих достаточное количество матриксных белков. Блокирование сигналов проведения болевых импульсов в клинической практике при дегенерации МПД, а также провоспалительных сигналов содействует восстановлению диска и улучшению качества жизни пациентов. Перспективным представляется применение аутологичных культивированных *in vitro* клеток МПД с последующей их имплантацией, что потенциально может восполнить дефицит клеток, а, следовательно, и матрикса. Однако данный метод, вероятно, неприменим при генетических аномалиях матриксных белков, и более эффективными в таких ситуациях будут генно-инженерные аутологичные или аллогенные МСК. Очевидно также, что метод

лечения следует подбирать в зависимости от степени выраженности дегенерации МПД на основе четко отработанных критериев.

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

Литература

1. Благодатский М.Д., Балашов Б.Б. О морфологических изменениях в тканях позвоночного канала // Журнал невропатологии и психиатрии. 1987. Т. 87, № 4. С. 512–516.
2. Благодатский М.Д., Солодун Ю.В. Об аутоиммунном компоненте воспалительных реакций при корешковых синдромах // Журнал невропат. и психиатр. 1988. Т. 88, № 4. С. 46–51.
3. Бывальцев В.А., Панасенков С.Ю. Наноструктурный анализ поясничных межпозвоночных дисков на разных стадиях дегенеративного процесса // Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. 2013. № 3. С. 36–41.
4. Abe Y., Akeda K., An H.S. [et al.] Proinflammatory cytokines stimulate the expression of nerve growth factor by human intervertebral disc cells // Spine. 2007. Vol. 32. P. 635–642.
5. Akiyama H. Control of chondrogenesis by the transcription factor Sox9 // Modern Rheumatol. 2008. Vol. 18, No. 3. P. 213–219.
6. An H.S., Masuda K., Inoue N. Intervertebral disc degeneration: biological and biomechanical factors // J. Orthop. Sci. 2010. Vol. 11, No. 5. P. 541–552.
7. Ariga K., Yonenobu K., Nakase T. [et al.] Localization of cathepsins D, K, and L in degenerated human intervertebral discs // Spine. 2011. Vol. 26. P. 2666–2672.
8. Burke J.G., Watson R.W., Mc Cormack D. [et al.] Intervertebral discs which cause low back pain secrete high levels of proinflammatory mediators // J. Bone Joint Surg. Br. 2012. Vol. 84. P. 196–201.
9. Crock H.V., Goldwasser M., Yoshizawa H. Vascular anatomy related to the intervertebral disc // The biology of the intervertebral disc. 2008. Vol. 4. P. 109–133.
10. Freemont A.J. The cellular pathobiology of the degenerate intervertebral disc and discogenic back pain // Rheumatology. 2009. Vol. 48, No. 1. P. 5–10.
11. Goupille P., Jayson M.I., Valat J.P. [et al.] Matrix metalloproteinases: the clue to intervertebral disc degeneration? // Spine. 2008. Vol. 23. P. 1612–1626.
12. Gruber H.E., Hoelscher G.L., Leslie K. [et al.] Threedimensional culture of human disc cells within agarose or a collagen sponge: assessment of proteoglycan production // Biomaterials. 2006. Vol. 27, No. 3. P. 371–376.
13. Gruber H.E., Norton H.J., Hanley E.N. Anti-apoptotic effects of IGF-1 and PDGF on human intervertebral disc cells *in vitro* // Spine. 2010. Vol. 25. P. 2153–2157.
14. Handa T., Ishihara H., Ohshima H. [et al.] Effects of hydrostatic pressure on matrix synthesis and matrix metalloproteinase production in the human lumbar intervertebral disc // Spine. 2007. Vol. 22. P. 1085–1091.
15. Inoue H. Three-dimensional architecture of lumbar intervertebral discs // Spine. 2008. Vol. 6. P. 139–146.
16. Jimbo K., Park J.S., Yokosuka K. [et al.] Positive feedback loop of interleukin-1beta upregulating production of inflammatory mediators in human intervertebral disc cells *in vitro* // J. Neurosurg. Spine. 2005. Vol. 2. P. 589–595.
17. Kanemoto M., Hukuda S., Komiya Y. [et al.] Immunohistochemical study of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 human intervertebral discs // Spine. 2004. Vol. 21. P. 1–8.
18. Kang J.D., Georgescu H.I., McIntyre-Larkin L. [et al.] Herniated lumbar intervertebral discs spontaneously produce matrix metalloproteinases, nitric oxide, interleukin-6, and prostaglandin E2 // Spine. 2006. Vol. 21. P. 271–277.
19. Kramer J., Hegert C., Guan K. [et al.] Embryonic stem cell derived chondrogenic differentiation *in vitro*: activation by BMP-2 and BMP-4 // Mech. Dev. 2010. Vol. 92. P. 193–205.
20. Kroeber M.W., Unglaub F., Wang H. [et al.] New *in vivo* animal model to create intervertebral disc degeneration and to investigate the effects of therapeutic strategies to stimulate disc regeneration // Spine. 2002. Vol. 27. P. 2684–2690.
21. Kuhlcke K., Fehse B., Schilz A. [et al.] Highly efficient retroviral gene transfer based on centrifugation-mediated vector preloading of tissue culture vessels // Mol. Ther. 2009. Vol. 5. P. 473–478.
22. Lattermann C., Oxner W.M., Xiao X. [et al.] The adenoassociated viral vector as a strategy for intradiscal gene transfer in immune competent and pre-exposed rabbits // Spine. 2012. Vol. 30. P. 497–504.
23. Liu P., Kalajzic I., Stover M.L. [et al.] Human bone marrow stromal cells are efficiently transduced by vesicular stomatitis virus-pseudotyped retrovectors without affecting subsequent osteoblastic differentiation // Bone. 2011. Vol. 29. P. 331–335.
24. Lyons G., Eisenstein S.M., Sweet M.B. Biochemical changes in intervertebral disc degeneration // Biochim. Biophys. Acta. 2009. Vol. 673. P. 443–453.
25. Marchand F., Ahmed A.M. Investigation of the laminate structure of lumbar disc anulus fibrosus // Spine. 2011. Vol. 15. P. 402–410.
26. Mason J.M., Breitbart A.S., Barcia M. [et al.] Cartilage and bone regeneration using gene-enhanced tissue engineering // Clin. Orthop. Relat. Res. 2008. Vol. 379, No. 1. P. 171–178.
27. Moon S.H., Nishida K., Gilbertson L.G. [et al.] Biologic response of human intervertebral disc cells to gene therapy cocktail // Spine. 2008. Vol. 17. P. 1850–1855.
28. Nagase H., Fushimi K. Elucidating the function of non catalytic domains of collagenases and aggrecanases // Connect. Tissue Res. 2008. Vol. 49, No. 3. P. 169–174.
29. Nishida K., Kang J.D., Gilbertson L.G. [et al.] Modulation of the biologic activity of the rabbit intervertebral disc by gene therapy: an *in vivo* study of adenovirus-mediated transfer of the human transforming growth factor beta 1 encoding gene // Spine. 2009. Vol. 24. P. 2419–2425.
30. Nishida T. Kinetics of tissue and serum matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in intervertebral disc degeneration and disc herniation // Kurume Med. J. 2010. Vol. 46. P. 39–50.
31. Okuda S., Myoui A., Ariga K. [et al.] Mechanisms of age-related decline in insulin-like growth factor-I dependent proteoglycan synthesis in rat intervertebral disc cells // Spine. 2003. Vol. 26. P. 2421–2426.
32. Pattison S.T., Melrose J., Ghosh P. [et al.] Regulation of gelatinase-A (MMP-2) production by ovine intervertebral disc nucleus pulposus cells grown in alginate bead culture by transforming growth factor-beta(1) and insulin like growth factor-I // Cell. Biol. Int. 2011. Vol. 25. P. 679–689.
33. Reinecke J.A., Wehling P., Robbins P. [et al.] *In vitro* transfer of genes in spinal tissue // Z. Orthop. Ihre Grenzgeb. 2007. Vol. 135. P. 412–416.
34. Richardson S.M., Walker R.V., Parker S. [et al.] Intervertebral disc cell mediated mesenchymal stem cell differentiation // Stem. Cells. 2005. Vol. 24. P. 707–716.
35. Risbud M.V., Anderson D.G., Shapiro I.M. [et al.] Cell-based therapy for disc repair // Spine J. 2006. Vol. 5, No. 6. P. 297–303.
36. Ritter T., Lehmann M., Volk H.D. Improvements in gene therapy: averting the immune response to adenoviral vectors // Biodrugs. 2009. Vol. 16. P. 3–10.
37. Roberts S., Menage J., Duance V. [et al.] Collagen types around the cells of the intervertebral disc and cartilage end plate: an immunolocalization study // Spine. 2011. Vol. 16. P. 1030–1038.
38. Saal J.S., Franson R.C., Dobrow R. [et al.] High levels of inflammatory pholipase A2 activity in lumbar disc herniations // Spine. 2008. Vol. 15. P. 674–678.
39. Sakai D., Mochida J., Iwashina T. [et al.] Regenerative effects of transplanting mesenchymal stem cells embedded in atelocollagen to the degenerated intervertebral disc // Biomaterials. 2006. Vol. 27. P. 335–345.

40. Somia N., Verma I.M. Gene therapy: trials and tribulations // Nat. Rev. Genet. 2006. Vol. 1. P. 91–99.
41. Specchia N., Pagnotta A., Toesca A., Greco F. Cytokines and growth factors in the protruded intervertebral disc of the lumbar spine // Eur. Spine. J. 2012. Vol. 11. P. 145–151.
42. Stamenkovic I. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases // J. Pathol. 2013. Vol. 200, No. 4. P. 448–464.
43. Takahashi H., Suguro T., Okazima Y. [et al.] Inflammatory cytokines in the herniated disc of the lumbar spine // Spine. 2006. Vol. 21. P. 218–224.
44. Takegami K., An H.S., Kumano F. [et al.] Osteogenic protein-1 is most effective in stimulating nucleus pulposus and annulus fibrosus cells to repair their matrix after chondroitinase ABC-induced *in vitro* chemonucleolysis // Spine J. 2005. Vol. 5, No. 3. P. 231–238.
45. Trout J.J., Buckwalter J.A., Moore K.C. Ultrastructure of the human intervertebral disc: II. Cells of the nucleus pulposus // Anat. Rec. 2010. Vol. 204. P. 307–314.
46. Wehling P., Schulitz K.P., Robbins P.D. [et al.] Transfer of genes to chondrocytic cells of the lumbar spine. Proposal for a treatment strategy of spinal disorders by local gene therapy // Spine. 1997. Vol. 22. P. 1092–1097.
47. Weiler C., Nerlich A.G., Bachmeier B.E., Boos N. Expression and distribution of tumor necrosis factor alpha in human lumbar intervertebral discs: a study in surgical specimen and autopsy controls // Spine. 2012. Vol. 30. P. 44–53.
48. Yu J., Fairbank J.C., Roberts S., Urban J.P. The elastic fiber network of the annulus fibrosus of the normal and scoliotic human intervertebral disc // Spine. 2012. Vol. 30, No. 16. P. 1815–1820.
49. Yu J., Tirlapur U., Fairbank J. [et al.] Microfibrils, elastin fibres and collagen fibres in the human intervertebral disc and bovine tail disc // J. Anat. 2009. Vol. 210, No. 4. P. 460–471.

Поступила в редакцию 11.09.2015.

Роль матричных металлопротеиназ и провоспалительных цитокинов в регенерации межпозвонкового диска

Л.А. Бардонова¹, Е.Г. Бельх², И.А. Степанов¹, В.А. Бывальцев¹⁻³

¹ Иркутский государственный медицинский университет (664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1), ² Иркутский НЦ хирургии и травматологии (664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1), ³ Дорожная клиническая больница на ст. Иркутск-Пассажирский (664082, г. Иркутск, ул. Боткина, 10)

Резюме. В настоящее время дегенеративные процессы межпозвонкового диска – предельно актуальная проблема современной медицины. Наиболее частым проявлением дегенерации межпозвонкового диска считается боль спине, которая сопряжена с ранней утратой трудоспособности пациентов. Гибель клеток межпозвонкового диска, уменьшение синтеза белков и деградация основного вещества межклеточного матрикса диска за счет активации матричных металлопротеиназ являются одним из важных звеньев патогенеза дегенерирующего диска, происходящего при участии провоспалительных цитокинов. Современная терапия дегенеративных процессов межпозвонкового диска направлена не только на устранение болевого синдрома, но и на восстановление функций диска с помощью различных методов биологического воздействия. Для активации регенераторных процессов межпозвонкового диска разрабатываются различные подходы, включающие инъекции белков-активаторов различных типов клеток или клеточных популяций и стимуляторы секреции внеклеточного матрикса, а также методы генной инженерии. Именно молекулярные методы биологической терапии дегенерации межпозвонкового диска представляются наиболее перспективными и в будущем могут быть транслированы в клиническую практику.

Ключевые слова: дегенерация межпозвонкового диска, биологическая терапия, генная инженерия, стволовые клетки.

УДК 159.9:616.89-008.434.3-053.4

КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ СТАРШЕГО ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА, СТРАДАЮЩИХ ДИЗАРТРИЕЙ ЛЕГКОЙ ФОРМЫ

А.В. Катасонова, А.С. Савостикова

Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

Ключевые слова: нейропсихологическая диагностика, артикуляционный праксис, обстановка в семье, программы коррекции дизартрии.

COGNITIVE FUNCTIONS IN CHILDREN OF PRESCHOOL AGE SUFFERING FROM MILD DYSPHARTHRIA

A.V. Katasonova, A.S. Savostikova

Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950 Russian Federation)

Background. The study of the state of higher mental functions in children suffering from dysarthria allows developing a program of remedy, contributing to the harmonious personality development.

Methods. 30 children, aged 5–7, having suffered from mild dysarthria, were examined. Clinical and psychological and neuropsychological methods of diagnostics were used.

Results. Most children had higher mental functions that were formed within the age norm, however it was detected the aborted articulation praxis, which were followed by slurring. Unfavourable climate in a family caused internal stress in a child, physical signs of it were muscle tension of the upper limb and strengthened the dysarthria.

Conclusions. Early diagnosis will allow building the neuropsychological rehabilitative management program for preschool children suffering from mild dysarthria.

Keywords: neuropsychological diagnostics, articulation praxis, climate in a family, rehabilitative management program.

Pacific Medical Journal, 2015, No. 4, p. 26–28.

Логопеды, нейропсихологи и педагоги отмечают увеличение числа детей, страдающих дизартрией. Уровень развития речи в старшем дошкольном возрасте очень значим для успешного овладения учебным материалом в начальных классах. В соответствии с закономерностями психического развития, период старшего дошкольного возраста является кризисным, что связано с переходом на следующую ступень развития: ребенок осваивает свою первую социальную роль – роль ученика, его деятельность начинают оценивать [1, 3, 4].

Необходимо отметить, что речь – одна из самых сложных форм высших психических функций. Ее характеризуют подвижность, многозначность и связь со всеми другими психическими функциями. Речь служит главным фактором опосредствования, т.е. ни одна