

Revelando la presencia de vasos linfáticos en los discos intervertebrales: nuevos conocimientos sobre la degeneración discal

Fei Zou,^{1,5,*} Xiaolu,^{1,5} Shijun Wang,^{2,3,5} Zhidi Lin,^{1,5} Guangyu Xu,^{1,5} Dachuan Li,¹ Zhaoyang Gong,¹ Jian Wei Wu,¹ Hong Wei Wang,¹ Jiongdong Wu,¹ Yunzhi Guan,¹ Shuo Yang,¹ Yuxuan Zhang,¹ Chi Sun,¹ Canción Jian,¹ Hong Li Wang,¹ Wei Zhu,¹ Xinlei Xia,¹ Feizhou Lyu,¹ Jianyuan Jiang,¹ Kuang Liang,⁴ Lin Chen,^{4,*} y Xiaosheng Ma^{1,*}

¹Departamento de Ortopedia, Hospital Huashan, Universidad Fudan, No. 12, Middle Wulumuqi Road, Distrito Jing'an, Shanghai 200040, China

²Instituto de Enfermedades Cardiovasculares de Shanghai, Hospital Zhongshan e Institutos de Ciencias Biomédicas, Universidad de Fudan, Shanghai 200030, China

³Hospital Minhang, Universidad de Fudan, Shanghai 201199, China

⁴Centro de Metabolismo y Reparación Ósea, Hospital Daping, Universidad Médica del Ejército (Tercera Universidad Médica Militar), Chongqing 400000, China

⁵Estos autores contribuyeron igualmente

* Correspondencia: zoufei@huashan.org.cn (FZ); linchen70@tmmu.edu.cn (LC); mxshs893@126.com (XM)

Recibido: 21 de octubre de 2024; Aceptado: 27 de febrero de 2025; Publicado en línea: 3 de marzo de 2025; <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2025.100865>

^a2025 El/Los autor(es). Publicado por Elsevier Inc. en nombre de Youth Innovation Co., Ltd. Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>). Cita: Zou F., Lu X., Wang S., et al., (2025). Revelando la presencia de vasos linfáticos en los discos intervertebrales: Nuevos conocimientos sobre la degeneración discal. La innovación6(6), 100865.

Estimado Editor,

El disco intervertebral (DIV) es una estructura fibrocartilaginosa crucial que conecta las vértebras adyacentes. Desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la estabilidad espinal y la absorción de la tensión mecánica. Cada disco se compone de tres partes: el núcleo pulposo interno (NP), el anillo fibroso externo (AF) y las placas terminales cartilaginosas superior e inferior (PCI). La degeneración del DIV es una de las principales causas de diversos trastornos espinales, como la espondilosis cervical, la lumbalgia y la hernia discal lumbar, todos los cuales conllevan una reducción significativa de la calidad de vida de los pacientes y suponen una carga económica considerable. En China, la degeneración del DIV (DDIV) es la tercera enfermedad crónica más común, después de la hipertensión y la diabetes, lo que pone de relieve su amplio impacto en la salud pública.¹

Los IVD adultos no degenerados carecen de un sistema vascular dentro de su estructura interna, es decir, carecen de vasos sanguíneos y linfáticos.² El aporte de nutrientes a estos discos depende principalmente de la difusión desde los capilares hacia los CEP y las capas externas del AF. Este limitado intercambio de nutrientes restringe significativamente la capacidad de autorreparación y autorregeneración de los DIV, haciéndolos más vulnerables a la degeneración. La ausencia de sistemas vascular y linfático en los DIV se considera un factor importante que contribuye a la patogénesis de la DDIV.³

Un sello distintivo de la IVDD es la formación de microvasos dentro del tejido discal degenerado, particularmente en la FA.⁴ Aunque el crecimiento de microvasos puede proporcionar temporalmente un suministro compensatorio de nutrientes al disco, puede exacerbar la infiltración de células inflamatorias, intensificando la respuesta inflamatoria y acelerando la degeneración del disco.⁵ La razón del fracaso en la eliminación de estas células sigue siendo desconocida en el contexto de la IVDD.

Aunque se ha descrito ampliamente la presencia de vasos sanguíneos en discos degenerados, los estudios que investigan la presencia y la función de los vasos linfáticos en los discos intervertebrales son relativamente limitados. Como componentes integrales del sistema vascular, los vasos linfáticos son esenciales para mantener la homeostasis de los fluidos tisulares, eliminar los desechos metabólicos y regular la respuesta inmunitaria. En otros tejidos, se ha demostrado que la linfangiogénesis favorece la reparación tisular al facilitar la eliminación del exceso de líquido intersticial y células inmunitarias. Por lo tanto, los vasos linfáticos podrían desempeñar una función similar en el mantenimiento de la salud del disco y la mitigación de la degeneración.⁶

En este estudio, demostramos la presencia de vasos linfáticos en el AF de discos sanos, contradiciendo la creencia convencional de que los DIV adultos no degenerados carecen de sistema vascular. Utilizamos análisis transcriptómico espacial, inmunohistoquímica (IHQ) e inmunofluorescencia para evidenciar la presencia de vasos linfáticos en el AF. Además, observamos que un aumento en el número de vasos sanguíneos en discos degenerados disminuyó significativamente el número de vasos linfáticos. Estos hallazgos sugieren que los vasos linfáticos desempeñan un papel crucial en la regulación del metabolismo nutricional y el microambiente inmunitario de los DIV, lo que ofrece nuevas perspectivas sobre los mecanismos subyacentes a la progresión de la EDIV. En conjunto, los resultados de este estudio sugieren que la regulación del sistema linfático constituye una estrategia terapéutica prometedora para la EDIV.

CONSTRUCCIÓN DE UN MAPA TRANSCRIPTÓMICO ESPACIAL DEL DIV HUMANO

La resonancia magnética (RM) reveló una alta intensidad de señal en las imágenes ponderadas en T2 del disco cervical en pacientes con enfermedad de Hirayama, lo que indica que no hay degeneración del disco (Figura 1A). Posteriormente, la transcriptómica espacial

Se analizaron los perfiles de FA y la expresión de genes vasculares dentro de la FA utilizando el avanzado 103Plataforma Genomics Visium. Para este análisis, se obtuvieron muestras intraoperatorias de FA de pacientes con enfermedad de Hirayama.⁷ Tinción con hematoxilina y eosina (H&E) de muestras de AF de un paciente de 19 años con enfermedad de Hirayama (Figura 1B) y mapeo de características espaciales (Figura 1C) mostró que la región AF comprendía un total de 4991 puntos con una profundidad media de 481 583 lecturas, lo que corresponde a una mediana de 6 genes por punto. Además, el análisis de incrustación vecina estocástica con distribución t (tSNE) mostró que las células de la AF se categorizaban en 12 subgrupos. (Figura 1D) En consonancia con los hallazgos de estudios anteriores,⁸ Encontramos altos niveles de expresión de los marcadores AF Col1a1 (Figura 1E), Comp (Figura 1F) y Sparc (Figura 1G) en especímenes AF.

PRESENCIA DE VASOS LINFÁTICOS EN EL DIV

Los tejidos de DIV obtenidos de pacientes con enfermedad de Hirayama se incluyeron en el grupo control, mientras que los obtenidos de pacientes con espondilosis cervical se incluyeron en el grupo de DIV. Los genes marcadores linfáticos, la proteína homeobox 1 de Prospero (Prox1) (Figura 1H), desmoplaquina (DSP) (Figura 1I) y placoglobina de unión (JUP) (Figura 1J) se detectaron en muestras de AF sanas (grupo de control).⁹ La tinción con H&E mostró que los IVD del grupo de control tenían una estructura compacta (Figura 1K), mientras que los del grupo IVDD tenían una estructura suelta y tendían a dispersarse fácilmente cuando se seccionaban (Figura 1L). Además, se detectó la expresión de proteínas relacionadas con los vasos linfáticos mediante tinción IHQ. Los resultados confirmaron la expresión del receptor de hialuronano 1 endotelial de vasos linfáticos (LYVE1) y Prox1 en tejidos con AF. (Figura 1M). Prox1 es un factor de transcripción específico que participa en el desarrollo de las células endoteliales linfáticas (CLE). Induce la transformación de las células endoteliales sanguíneas a un fenotipo linfático, lo que inicia el desarrollo temprano de las CLE. La tinción IHC de tejidos degenerados del DIV (grupo DDIV) mostró una expresión significativamente reducida de Prox1 y LYVE1. (Figura 1N). La tinción IHC de los IVD caudales de ratas jóvenes (2 meses) y viejas (24 meses) mostró resultados consistentes (Figuras 1 En particular, los niveles de expresión de Prox1 y DSP fueron mayores en ratas jóvenes que en ratas viejas.

PRESENCIA DE VASOS SANGUÍNEOS EN EL DIV

El sistema vascular se comunica con el sistema linfático, formando una intrincada red. Por lo tanto, analizamos la expresión de genes vasculares en muestras de AF de los grupos control y IVDD. Los resultados mostraron que el ligando 1 de la quimiocina del motivo CXC (CXCL1) (Figura 1Q), receptor de quimiocina CXC 4 (CXCR4) (Figura 1R) y el factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGFA) (Figura 1S) se expresaron en gran medida en el AF. La tinción IHC mostró que los marcadores vasculares CD31 y endomucina (EMCN) se expresaron en el AF (Figura 1T). Como se muestra en Figura 1U, los niveles de expresión de CD31 y EMCN aumentaron significativamente en los IVD degenerados. Tinción IHC de IVD caudales de jóvenes (Figura 1V) y envejecido (Figura 1 Las ratas W mostraron resultados consistentes. En particular, los niveles de expresión de CXCL1 y VEGFA fueron mayores en ratas mayores que en ratas jóvenes.

DISMINUCIÓN DEL NÚMERO DE VASOS LINFÁTICOS EN DIV HUMANOS DEGENERADOS

Se utilizó tinción de inmunofluorescencia para examinar la estructura de los vasos linfáticos en los tejidos de IVD en los grupos control y IVDD. Como se muestra en Figura 1X, los marcadores de los vasos linfáticos se marcaron con fluorescencia en los tejidos IVD de los

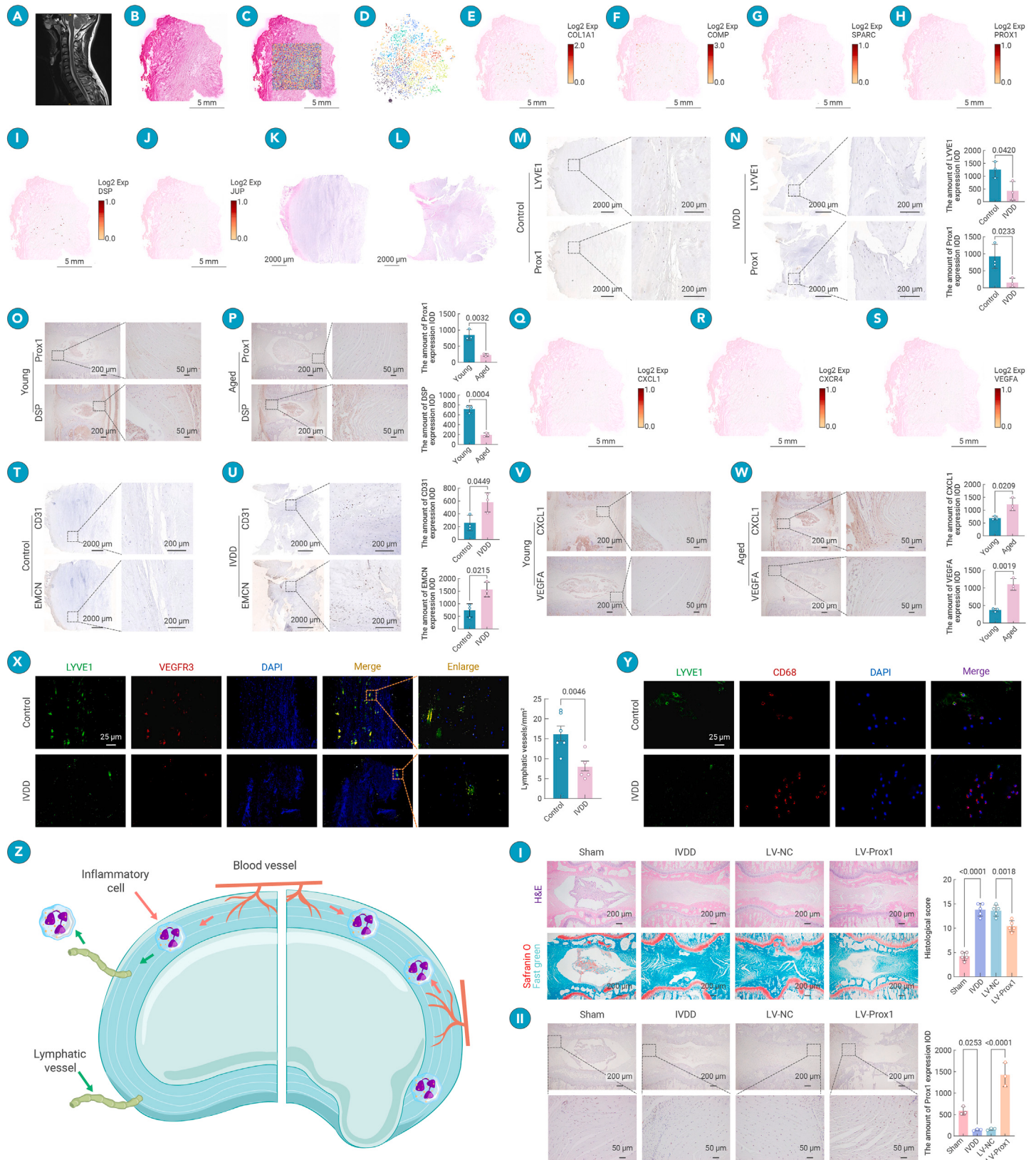


Figura 1. Los vasos linfáticos alivian la inflamación de los discos intervertebrales (A) Resonancia magnética cervical de un paciente con enfermedad de Hirayama. (B) Imagen de la laringe con tinción H&E. (C) Gráfica de características espaciales de la laringe. (D) Gráficas tSNE de todas las células obtenidas mediante transcriptómica espacial de la laringe. (E-G) Gráficas de características espaciales de los genes Col1a1 (E), Comp (F) y Sparc (G). (H-J) Gráficas de características espaciales de los genes Prox1 (H), DSP (I) y JUP (J). (K) Tinción H&E del IVD en pacientes con enfermedad de Hirayama. (L) Tinción H&E del IVD en pacientes con espondilosis cervical. (M) Imágenes IHC representativas de LYVE1 y Prox1 en una sección de laringe sana humana. (N) Imágenes IHC representativas de LYVE1 y Prox1 en una sección de laringe degenerada humana (izquierda). Análisis cuantitativo de los resultados IHC de LYVE1 y Prox1 para los dos grupos de IVD humanos (derecha). (O) Imágenes IHC representativas de Prox1 y DSP en el AF de ratas de 2 meses. (P) Imágenes IHC representativas de Prox1 y DSP en el AF de ratas de 24 meses (izquierda). Análisis cuantitativo de los resultados IHC de Prox1 y DSP para los dos grupos de IVD de rata. (Q-S) Gráficos de características espaciales de los genes CXCL1 (Q), CXCR4 (R) y VEGFA (S). (T) Imágenes IHC representativas de CD31 y EMCN en una sección de AF humana sana. (U) Imágenes IHC representativas de CD31 y EMCN en una sección de AF humana degenerada (izquierda). Análisis cuantitativo de los resultados IHC de CD31 y EMCN para los dos grupos de IVD (derecha). (V) Imágenes IHC representativas de CXCL1 y VEGFA en

(La leyenda continúa en la página siguiente)

Dos grupos presentaron estructuras tubulares en los tejidos. Sin embargo, en el grupo con IVD, los niveles de expresión de Lyve1 y VEGFR3 disminuyeron, lo que sugiere una reducción en el número de vasos linfáticos. Los resultados del análisis de inmunofluorescencia validaron la presencia de vasos linfáticos tanto en IVD sanos como degenerados.

CÉLULAS INFLAMATORIAS RECICLADAS POR LOS VASOS LINFÁTICOS EN EL DIV

La DDIV se caracteriza por el crecimiento de vasos sanguíneos en el DIV. Las células inflamatorias pueden migrar de los vasos sanguíneos al DIV, provocando una respuesta inflamatoria.¹⁰ Se especula que una de las funciones de los vasos linfáticos en el DIV es reciclar las células inflamatorias y atenuar la respuesta inflamatoria del DIV. Se utilizó fluorescencia verde para marcar el marcador de vasos linfáticos LYVE1 y fluorescencia roja para marcar el marcador de macrófagos CD68 para evaluar la distribución de células inflamatorias y vasos linfáticos en el DIV. Los tejidos sanos del DIV presentaron varios vasos linfáticos y menos células inflamatorias, distribuidas cerca de los vasos linfáticos (Figura 1Y), mientras que los tejidos degenerados del DIV presentaban menos vasos linfáticos y una mayor cantidad de células inflamatorias. Estas células podrían no haberse reciclado eficazmente, lo que provocó inflamación en los tejidos del DIV.

Los resultados mencionados sugieren que los DIV sanos tienen más vasos linfáticos y menos vasos sanguíneos. Las células inflamatorias en estos DIV se reciclan eficazmente; por lo tanto, el nivel de inflamación es bajo. Sin embargo, los DIV degenerados tienen más vasos sanguíneos, menos vasos linfáticos y una extensa infiltración de células inflamatorias, lo que provoca un aumento de la inflamación (Figura 1Z).

LA SOBREEXPRESIÓN DE PROX1 RETRASÓ LA PROGRESIÓN DE LA IVDD EN VIVO

Los resultados mencionados indican que los vasos linfáticos desempeñan un papel activo en la prevención y el tratamiento de la EDIV. Para validar la función de los vasos linfáticos in vivo, establecimos un modelo de rata de IVDD caudal mediante punción con aguja.³ Posteriormente, se administró a estas ratas lentivirus (LV)-Prox1 con una microjeringa para sobreexpresar el gen Prox1, abundante en los IVD sanos. La tinción con hematoxilina y eosina (H&E) y safranina O/verde rápido mostró que la disposición del AF estaba desordenada, y el área del NP disminuyó o incluso desapareció en los IVD degenerados (Figura 1I). El tratamiento con LV-Prox1 preservó parte del NP y restauró en cierta medida la disposición del AF, lo que disminuyó la puntuación histológica del DIV. Estos resultados sugieren que promover la linfangiogénesis en el DIV puede retrasar la progresión de la DDIV. La tinción IHQ mostró que la expresión de Prox1 disminuyó en el AF degenerado en ratas con DDIV caudal. Sin embargo, el tratamiento con LV-Prox1 revirtió esta disminución (Figura 1II).

Este estudio presenta algunas limitaciones que deben reconocerse. En primer lugar, realizamos la secuenciación transcriptómica espacial únicamente en DIV humanos sanos; sin embargo, aún quedan por investigar los perfiles transcriptómicos espaciales de los DIV degenerados. En segundo lugar, solo analizamos preliminarmente que los vasos linfáticos en los DIV pueden atenuar las respuestas inflamatorias. Los estudios futuros deberían centrarse en otras funciones de los vasos linfáticos, como el aporte de nutrientes. En tercer y último lugar, in vivo la validación en este estudio sigue siendo limitada y el papel de los vasos linfáticos in vivo justifica una mayor investigación.

En conclusión, los perfiles transcriptómicos espaciales de los IVD humanos analizados en este estudio proporcionan una referencia fundamental para investigar el sistema vascular y

Sistemas linfáticos en el disco intervertebral humano (DIV). Este estudio presenta evidencia novedosa de la presencia de vasos linfáticos en el AF y destaca su posible papel en la regulación de la salud y la degeneración discal. Los hallazgos de este estudio indican que el sistema vascular desempeña un papel crucial en el DIV, lo que sugiere que tanto los vasos sanguíneos como los linfáticos influyen en la salud discal y constituyen prometedoras dianas terapéuticas para el DIV.

FINANCIACIÓN Y AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Fundación Nacional de Ciencias Naturales de China, China (82472505, 82472498, 82272549, 82072488, 82102620 y 82170255); el Plan Nacional de Investigación y Desarrollo Clave, Ministerio de Ciencia y Tecnología de la República Popular China (2022YFC2407203); los Jóvenes Talentos en Salud de la Comisión Municipal de Salud de Shanghai, China (2022YQ011); la Asociación de Educación Médica de China (2023-020); y el Proyecto de Talentos Jóvenes del Hospital Huashan (30302164006). Expresamos nuestra gratitud a los profesores Xiaodong Zhu, Yu Chen, Chaojun Zheng, Fan Zhang, Haocheng Xu y Xingyu Guo del Departamento de Ortopedia del Hospital Huashan por su ayuda en la recolección de IVD para nosotros. Agradecemos sinceramente a los profesores Chenpei Xu y Chuxiang Chen, del Departamento de Cirugía de la Mano del Hospital Huashan, por su ayuda en la realización de los experimentos con animales. Agradecemos a Oebiotech la secuenciación del transcriptoma espacial. Agradecemos a Bullet Edits Limited la edición lingüística y la corrección del manuscrito.

DECLARACIÓN DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

REFERENCIAS

1. Comisión Nacional de Salud de la República Popular China (2024). Boletín estadístico sobre el desarrollo de la salud en China en 2023. https://www.gov.cn/lianbo/bumen/202408/content_6971241.htm.
2. Kashima, TG, Dongre, A. y Athanasou, NA (2011). Afectación linfática en patología vertebral y discal. *Columna vertebral* 36:899-904.
3. Lu, X., Li, D., Lin, Z. et al. (2024). La expresión inducida por HIF-1α del lector m6A YTHDF1 inhibe la ferroptosis de las células del núcleo pulposo al promover la traducción de SLC7A11. *Célula envejecida* 23:e14210. DOI: <https://doi.org/10.1111/accel.14210>.
4. Lama, P., Le Maitre, CL, Harding, JJ et al. (2018). Los nervios y vasos sanguíneos en los discos intervertebrales degenerados están confinados al tejido físicamente dañado. *J. Anat.* 233:86-97.
5. Cunha, C., Silva, AJ, Pereira, P. et al. (2018). La respuesta inflamatoria en la regresión de la hernia discal lumbar. *Arthritis Res. Ther.* 20:251.
6. Bai, Y., Chen, L., Guo, F. et al. (2024). La vía CDK5/ISL1 mediada por EphrinB2 mejora la linfangiogénesis cardíaca y alivia la lesión isquémica al resolver la inflamación posterior a un infarto de miocardio. *Transducción de señales. Objetivo. Termo.* 9:326.
7. Lu, X., Xu, GY, Nie, C. et al. (2021). Relación entre el equilibrio sagital cervical preoperatorio y el resultado clínico de pacientes con enfermedad de Hirayama tratados con discectomía cervical anterior y fusión. *Neuroespinia* 18:618-627.
8. Chen, Y., Zhang, L., Shi, X. et al. (2024). Caracterización de las células progenitoras del núcleo pulposo mediante transcriptómica espacial. *Ciencias Adv.* 11:e2303752. DOI: <https://doi.org/10.1002/adv.202303752>.
9. Yazdani, S., Navis, G., Hillebrands, JL et al. (2014). Linfangiogénesis en enfermedades renales: ¿observador pasivo o participante activo? *Experto Rev. Mol. Med.* 16:e15. DOI: <https://doi.org/10.1017/erm.2014.18>.
10. Heimann, MK, Thompson, K., Gunsch, G. et al. (2024). Caracterización y modulación de los efectos proinflamatorios de las células inmunitarias en el disco intervertebral canino. *JOR Spine* 7:e1333. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsp2.1333>.

el AF de ratas de 2 meses de edad. (W) Imágenes IHC representativas de CXCL1 y VEGFA en el AF de ratas de 24 meses de edad (izquierda). Análisis cuantitativo de los resultados IHC de CXCL1 y VEGFA para los dos grupos de IVD de rata (derecha). (X) Los vasos linfáticos en los IVD se detectaron por inmunofluorescencia. LYVE1 se marcó con fluorescencia verde, VEGFR3 se marcó con fluorescencia roja y los núcleos se tiñeron de azul (izquierda). El número de vasos linfáticos en IVD normales y degenerativos se analizó estadísticamente (derecha). (Y) Detectar la distribución de vasos linfáticos y macrófagos en los IVD mediante inmunofluorescencia. LYVE1 se marcó con fluorescencia verde, CD68 se marcó con fluorescencia roja y los núcleos se tiñeron de azul. (Z) En los IVD normales, los vasos linfáticos reciclan células inflamatorias y alivian la respuesta inflamatoria de los IVD. En los DIV degenerativos, se observa un aumento en el número de vasos sanguíneos y células inflamatorias infiltradas. (I) Tinción con hematoxilina y eosina (H&E) de los DIV caudales de ratas (arriba). Tinción con safranina O/verde rápido de los DIV caudales de ratas (abajo). (II) Imágenes representativas de IHQ de Prox1 en el labio leporino de ratas (izquierda). Análisis cuantitativo de los resultados de IHQ de Prox1 (derecha). (I y II) Grupo simulado: DIV sin tratamiento. Grupo IVDD: El DIV se puncionó con una aguja. Grupo Lentivirus-NC: acupuntura +5metroL LV-NC. Grupo Lentivirus-Prox1: acupuntura+5metroL LV-Prox1.