

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВРОЖДЕННЫХ ДЕФОРМАЦИЙ ПОЗВОНОЧНИКА

Белецкий А. В., Алейникова О. В., Конопля Н. Е., Жукова Т. В.,
Макаревич С. В., Тесаков Д. К., Бобрик П. А., Мазуренко А. Н.,
Сацкевич Д. Г., Залепугин С. Д., Тесакова Д. Д., Филипович Т. В.,
Шевчук Л. М., Зайцев В. А., Дребенкова И. В.

Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии,
Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,
научно-практический центр гигиены

MOLECULAR GENETIC AND BIOCHEMICAL MARKERS OF CONGENITAL SPINAL DEFORMITIES

Belecky A. V., Aleynikova O. A., Konoplya N. E., Makarevich S. V., Zhukava T. V., Tesakov D. K.,
Bobrik P. A., Mazurenko A. N., Sackevich D. G., Zalepugin C. D., Tesakova D. D., Filipovich T. V.,
Shevchuk L. M., Zaycev V. A., Drebenkova I. V.

Republican Scientific and Practical Centre for Traumatology and Orthopedics,
Republican Scientific and Practical Centre for pediatric oncology, hematology and immunology,
Scientific and Practical Centre for hygiene

УДК 616.711–053.1–074/0–74

РЕЗЮМЕ.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ — обоснование молекулярно-генетических маркеров исследования для определения тяжести течения врожденных деформаций позвоночника и решения вопросов, связанных с выбором тактики лечения данной категории пациентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. На основе анализа особенностей клинико-рентгенологической картины различных видов врожденных пороков у 50 пациентов проведено молекулярно-генетическое исследование по определению полиморфизмов генов детоксикации GSTT1, GSTM, GSTP1 (Ile105Val), GSTP1 (Ala114Val) и мутаций генов, отвечающих за темпы роста и структуру позвонков и межпозвонковых дисков — генов NOXD, RUNX2, CHST3, DLL3, MESP2, LFNG, HES7, а также изучены биохимические показатели крови: Zn, P, Ca, Cu, Se, Ag и тяжелых металлов (Pb, Cd) в биологических субстратах (сыворотке крови).

РЕЗУЛЬТАТЫ. Врожденные формы аномалий развития позвоночника являются наследуемыми. При своей сложности, эмбриональное развитие — очень чувствительный механизм, который реагирует на множество факторов окружающей среды, которые могут воздействовать на работу генов, не изменяя при этом работу самих генов.

У 23 прооперированных детей при проведении генетического исследования было выявлено отсутствие гена детоксикации в 20 случаях, что совпадало с изменениями биохимического состава крови минимально в двух референсных значениях элементов. Проводя клинические сопоставления генетических и биохимических маркеров оперированных и не оперированных пациентов можно сделать вывод о том, что при наличии в каждом из проведенных биохимических исследований хотя бы двух значений, находящихся на границе либо за пределами референсных, а при проведении генетического исследования наличие «мутантных» аллелей в одном из генов детоксикации в этих же случаях, либо их полное отсутствие мы можем расценить течение заболевания, как агрессивное, требующее хирургического лечения. Вопрос о необходимости проведении оперативного лечения необходимо ставить с учетом клинических данных. При наличии мутаций генов, отвечающих за темпы роста и структуру позвонков и межпозвонковых дисков — генов RUNX2, CHST3, DLL3, MESP2, LFNG, HES7, HOXA11, HOXD13 отношение к показаниям экстренной операции такому пациенту должно быть максимально осторожным, так как вышеперечисленные гены отвечают за развитие соединительной ткани, что может повлечь за собой наличие другой врожденной патологии, не демонстративной, однако резко повышающей операционные риски.

ВЫВОДЫ. 1. Основными молекулярно-генетическими маркерами при врожденной деформации позвоночника стали полиморфизмы генов детоксикации, а также их связь с биохимическими показателями крови и тяжелыми металлами в биологических субстратах. 2. Точность метода составляет 86,9%. Он может быть использован при решении вопроса о выборе метода лечения при врожденных деформациях позвоночника.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: врожденные деформации, молекулярно-генетические маркеры, биохимические маркеры.

ABSTRACT.

AIM OF THE STUDY — substantiation of molecular genetic markers of the study to determine the severity of the course of congenital spinal deformities and address issues related to the choice of treatment tactics for this category of patients.

MATERIALS AND METHODS. Based on the analysis of the clinical and radiological features of various types of congenital malformations in 50 patients, a molecular genetic study was conducted to determine the detoxification gene polymorphisms GSTT1, GSTM, GSTP1 (Ile105Val), GSTP1 (Ala114Val) and gene mutations responsible for the growth rate and structure of the vertebrae and intervertebral discs — genes NOXD, RUNX2, CHST3, DLL3, MESP2, LFNG, HES7, and also studied the biochemical parameters of blood: Zn, P, Ca, Cu, Se, Ag and heavy metals (Pb, Cd) in biological substrates (blood serum).

RESULTS. In 23 operated children, a genetic study revealed the absence of a detoxification gene in 20 cases, which coincided with changes in the biochemical composition of blood in at least two reference values of the elements. If in each biochemical study there are at least two values located at the border or outside the reference, and when conducting a genetic study, the presence of “mutant” alleles in one of the detoxification genes in the same cases, or their complete absence, we can evaluate the course of the disease as aggressive, requiring surgical treatment. The question of the need for surgical treatment should be posed taking into account clinical data. In the presence of mutations in the genes responsible for the growth rate and structure of the vertebrae and intervertebral discs — the RUNX2, CHST3, DLL3, MESP2, LFNG, HES7, HOXA11, HOXD13 genes, the attitude to the indications of emergency surgery for such a patient should be as careful as possible, since the above genes are responsible for the development of connective tissue, which may entail the presence of another congenital pathology, not demonstrative, but sharply increasing operational risks.

CONCLUSION. 1. The main molecular genetic markers for congenital spinal deformity are detoxification gene polymorphisms, as well as their relationship with blood biochemical parameters and heavy metals in biological substrates. 2. The accuracy of the method is 86.9%. It can be used in deciding on the choice of treatment for congenital spinal deformities.

KEY WORDS: congenital deformations, molecular genetic markers, biochemical markers.

ВВЕДЕНИЕ.

Врожденные деформации позвоночника у детей являются актуальной проблемой здравоохранения Республики Беларусь и Российской Федерации.

Доля выявляемых врожденных пороков развития позвоночника согласно статистическим данным в Российской Федерации составляет 2–11% среди всех деформаций позвоночного столба у детей. При этом в половине случаев отмечается прогрессирующее развитие позвоночного искривления, где необходимо проведение активного корригирующего лечения, включающего специальное хирургическое вмешательство, которое в ряде случаев является единственной возможностью адекватно помочь пациенту. Проводимые ранее исследования в Республике Беларусь по распространенности ортопедических деформаций позвоночника у детей показывают, что на долю врожденных деформаций различного генеза приходится 2,5–7% от всех выявленных случаев [1, 2].

В настоящее время основной оценкой варианта врожденного порока развития позвоночника и величины основной дуги деформации является лучевой метод исследования. Наблюдение за состоянием позвоночника в динамике при помощи этого метода в процессе роста и развития ребенка с целью предсказания характера течения врожденной деформации позвоночника требует длительного времени, что приводит порой к необратимым негативным последствиям. Последние проявляются тяжелыми и ригидными искривлениями позвоночного столба у детей, а также неврологическими спинальными нарушениями со стороны конечностей и функции тазовых органов в результате вертебро-медуллярного конфликта на фоне прогрессирования деформации позвоночника. Другие объективные критерии оценки характера течения врожденной деформации позвоночника и выявление пациентов группы риска с прогрессирую-

щим течением искривления в настоящее время в доступном информационном поле не найдены или отсутствуют вообще [3, 4]. Важным диагностическим моментом является возможность оценить характер врожденной деформации позвоночника, факторы на нее повлиявшие, а также предсказать ее течение в раннем возрасте ребенка (до 3 лет) при первичном обращении к ортопеду. В этот возрастной период времени деформация позвоночника может быть еще незначительна по величине основной дуги искривления, по протяженности позвоночно-двигательных сегментов, вовлеченных в нее, и являться мобильной для коррекции. Благодаря таким особенностям врожденной деформации позвоночника у детей раннего возраста посредством одного хирургического вмешательства возможно радикально исправить искривление позвоночного столба и стабилизировать (фиксировать) при этом минимальное количество позвоночно-двигательных сегментов, создав при этом более выгодные условия для физиологического развития позвоночника в процессе роста ребенка [5, 6].

Цели и задачи

Целью нашего исследования стало обоснование молекулярно-генетических маркеров исследования для определения тяжести течения врожденных деформаций позвоночника и решения вопросов, связанных с выбором тактики лечения данной категории пациентов.

Материалы и методы

На основе анализа особенностей клинико-рентгенологической картины различных видов врожденных пороков у 50 пациентов проведено молекулярно-генетическое исследование по определению полиморфизмов генов детоксикации GSTT1, GSTM, GSTP1 (Ile105Val), GSTP1 (Ala114Val) и мутаций генов, отвечающих за темпы роста и структуру позвонков и межпозвонковых дисков — генов NOXD, RUNX2,

CHST3, DLL3, MESP2, LFNG, HES7, а также изучены биохимические показатели крови: Zn, P, Ca, Cu, Se, Ag и тяжелых металлов (Pb, Cd) в биологических субстратах (сыворотке крови). Отправной точкой для создания базы данных этих пациентов стала гипотеза о взаимосвязи молекулярно-генетических и биохимических параметров при определении прогноза течения врожденных деформаций позвоночника.

Обсуждение.

Особенностью человеческого организма является наличие молекулярно-генетической и биохимической систем, в которых заложена особая информация о перспективе развития всех органов, систем и структур, что, несомненно, присутствует и у пациентов с врожденными деформациями позвоночника различного характера. Исследование, которое уже проведено и идентифицирует гены, играющие важную роль в возникновении сколиоза, может способствовать дальнейшему развитию диагностики заболевания и внедрения в клиническую практику предиктивного генетического теста для выявления также врожденных деформаций позвоночника до появления симптомов [7]. Стоит отметить, что врожденные пороки развития позвоночника является полигенным заболеванием, связанным с мутацией в нескольких генах. На развитие патологии влияют различные факторы, в том числе экологические. Научному сообществу уже известен один набор молекул, который получил название сигнальный путь Wnt/PCP. Он частично отвечает за искривление позвоночника при сколиозе. Новые результаты показывают, как сигнальный путь Wnt/PCP становится проблемой, и дают представление о том, как восстановить нормальную жизнь пациентам. Слишком малая активность гена LBX1 не оказывает влияния на процесс развития заболевания. Однако исследовательская группа предполагает, что большая активность LBX1 может являться проблемой. Проведенные генетические эксперименты на небольших пресноводных рыбах в условиях научно-исследовательских лабораторий для моделирования сколиоза доказали роль гена LBX1 в формировании позвоночника. Исследовались генетически модифицированные рыбы, которые имели большое количество гена LBX1. Выяснено, что именно количество LBX1 играло роль в развитии тела рыбы. У эмбрионов рыб, которым вводили дополнительный ген LBX1, клетки, ответственные за развитие позвоночника и мышц спины, были шире, чем у здоровых рыб. У генномодифицированной рыбы, которая выживала, развивалась деформация костей в позвоночнике, вызывающая сколиоз. Исследователи полагают, что данная модель представляет собой версию врожденного сколиоза у людей, как и любой другой врожденной патологии развития позвоночника. Другая группа рыб была генетически модифицирована для экспрессии дополнительных генов LBX1 в течение всей жизни, но только в некоторых клетках, что делало из них то, что исследователи называют генетической мозаикой. У некоторых из таких рыб разви-

вались кости правильной формы, но затем они изгибались во время взросления. Эта модель характерна для большинства случаев сколиоза у человека, когда в детском возрасте нет никаких признаков проблемы, пока не начнется активный рост в предпубертальном и подростковом возрасте.

Подростковый идиопатический сколиоз поражает 2–4% детей в возрасте 10–16 лет. Чаще подростковый сколиоз встречается у девочек. Интересно, что среди женских особей рыбы также сколиоз встречался чаще, чем у особей мужского пола. Почему женщины более восприимчивы к заболеванию остается загадкой. Однако то, что есть связь между полом и восприимчивостью к сколиозу на генетическом уровне, подтверждается в данном исследовании на генетически модифицированных рыбах [8]. Часть ДНК, которая регулирует ген LBX1, мутирует, поэтому ген LBX1 становится гиперактивным. Избыток LBX1 препятствует активности промотора wnt5b. Неактивность промотора означает, что ген wnt5b менее активен. Недостаточная активность wnt5b, в свою очередь, означает и неактивность гена RhoA. Этот каскад или сигнальный путь и есть связующее звено между геном LBX1 и сколиозом. Роль сигнального пути Wnt / PCP очень хорошо изучена и уже известна в развитии сколиоза, однако ранее никто не находил взаимосвязи LBX1 с Wnt / PCP.

Команда исследователей провела дополнительные эксперименты, чтобы увидеть, как эти гены могут взаимодействовать. Ген wnt5b участвует в контроле многих аспектов клеточного роста, в том числе регулирования процесса, при котором клетки становятся костями и мышцами на ранних стадиях развития. Позвоночник — это целый комплекс костей, нервов и мышц, образование и рост которых зависит от ряда сложных генетических правил. Неправильное управление геном wnt5b может частично объяснить развитие скелетных нарушений, вызывающих искривление позвоночника — сколиоз. Авторы считают, что глубокое понимание генетических механизмов, приводящих к развитию врожденных аномалий развития позвоночника, поможет разработать новые эффективные методы генетического лечения данной патологии. С клинических позиций данные системы могут рассматриваться как носители прогностической информации о перспективе развития любого патологического процесса врожденного характера. По мнению различных авторов, к врожденным деформациям позвоночника могут приводить мутации в генах, отвечающих за процесс эмбрионального развития в целом. Известен ряд генов, работающих на разных стадиях этого развития. Они могут частично включаться и выключаются, управляя механизмами закладки и развития органов. К ним относятся, например, FGF, Wnt, Notch и другие. В этих генных каскадах могут возникать поломки, т.е. мутации в генах, которые приводят к нарушениям процессов развития, в данном случае костной ткани, и, как следствие, к аномалии позвоночника [9].

Однако не все врожденные формы врожденных аномалий развития позвоночника являются наследуемыми. При своей сложности, эмбриональное развитие — очень чувствительный механизм, который реагирует на множество факторов окружающей среды, которые могут воздействовать на работу генов, не изменяя при этом работу самих генов. Хорошо известны эффекты воздействия алкоголя, некоторых лекарств и химикатов, заболеваний, физических факторов на материнский организм во время беременности, которые часто приводят к нарушениям развития плода во время беременности, выражающихся в деформациях позвоночника [10].

Все вышесказанное дает представление о целесообразности разработки тестовых систем для анализа причин врожденных деформаций позвоночника. Из анализа литературных источников видно, что большее количество исследований, направленных на поиск генетических маркеров сколиоза проводилось на выборках стран Юго-Восточной Азии (Китая, Кореи, Японии). Меньше исследований популяций Западной Европы. На территории России и Белоруссии подобных исследований не проводили. Специфические маркеры врожденных деформаций позвоночника для наших территорий не описаны.

При различных патологиях имеет место изменение содержания микроэлементов в организме. Повышенное относительно ПДК содержание в биологических жидкостях отдельных тяжелых металлов может свидетельствовать о хроническом воздействии токсикантов на организм и перенапряжении работы не только системы выделения, но и ферментных систем организма, тесно взаимодействующих с молекулярно-генетической системой. Это требует мер по очистке организма от избытка тяжелых металлов. Повышенное содержание в крови и моче наиболее токсичных тяжелых металлов требует энергичных мер по их выведению, поскольку их избыток разрушает не только нервную, сердечно-сосудистую и иммунную системы, но оказывает самое непосредственное влияние на формирование опорно-двигательной системы [11].

Повышенное содержание в крови и моче селена может пролить свет на причины несовершенного остеогенеза.

Повышенное содержание в организме тяжелых металлов оказывает синергистское (усиливающее) влияние на их токсические свойства.

Немногочисленные данные литературы позволяют говорить, что не изученными являются влияния микроэлементов на формирование систем и органов, что тесно взаимодействует с молекулярно-генетической системой организма. Примером того служит заметно различающееся распространение врожденных деформаций позвоночника в различных регионах планеты [12].

В химико-токсикологическом анализе применяется метод минерализации при исследовании биологического материала (органов трупов, биологических

жидкостей, растений, пищевых продуктов и др.) на наличие так называемых «металлических ядов».

Важнейшим и «металлическими ядами» являются соединения бария, висмута, кадмия, марганца, меди, ртути, свинца, серебра, таллия, хрома, цинка и соединения некоторых неметаллов (мышьяка, сурьмы). Ряд перечисленных выше химических элементов, соединения которых являются токсичными, оказывает неблагоприятное воздействие на формирование опорно-двигательной системы. В небольших количествах содержатся в тканях организма как нормальная их составная часть. В виду незначительных количеств этих химических элементов, содержащихся в организме, их называют микроэлементами [13].

Этиологическими факторами развития врожденных деформаций позвоночника могут являться воздействия неблагоприятных факторов и тератогенов в период эмбрионального развития (вальпроевая кислота, алкоголь, гипертермия, инсулин-зависимый диабет у матери и др.). Также есть наследственные формы, обусловленные наличием мутаций в генах, участвующих в закладке и развитии позвонков и других костей.

На восприимчивость к тем или иным воздействиям окружающей среды (химическим, физическим и биологическим факторам, действующим извне и образующимся в процессе жизнедеятельности организма) влияет генотип человека. Полиморфизмы и мутации генов изменяют структуру, функциональную активность белков, а также влияют на их синтез и количество в клетке. Особую роль в организме играют белки-ферменты детоксикации, которые отвечают за метаболизм и выведение опасных соединений (ксенобиотиков, естественных метаболитов, лекарственных веществ) из организма. Полиморфизмы генов детоксикации могут приводить к изменению активности ферментов (однонуклеотидные полиморфизмы, *single nucleotide polymorphism* — SNP) или их количества вплоть до полного отсутствия в клетке (нулевые аллели, *null-alleles*). Следствием может явиться увеличение риска развития и тяжестью протекания широкого спектра заболеваний, таких как пневмония, бронхиальная астма, онкологические заболевания и других, а также развитие органотоксических нарушений в условиях профессиональной вредности, например гемотоксичности при воздействии бензола у рабочих [14].

При врожденных деформациях позвоночника влияние полиморфизмов генов детоксикации на предрасположенность к данным заболеваниям не изучено и является объектом исследования данной работы.

Процесса детоксикации протекает в три фазы при участии сложной ферментативной системы.

Фаза I обуславливает присоединение к ксенобиотикам полярных функциональных групп (—ОН, —SH, —NH₃) с приданием токсическим соединениям гидрофильных свойств, которые облегчают их растворение. К ферментам I фазы биотрансформации относят цитохромы P450 и некоторые другие ферменты классов оксидаз, редуктаз и дегидрогеназ, которые

участвуют в реакциях окисления и восстановления, а также гидролиза молекул ксенобиотика.

Фаза II — ковалентная конъюгация, ведущая к образованию транспортных форм ксенобиотиков и способствующая их выведению из организма. Сюда относятся ферменты конъюгации: глутатион S-трансферазы (GST), УДФ-глюкуронозилтрансферазы (UDPGT), N-ацетил- (NAT) и сульфо- (ST)-трансферазы, эпоксид гидролазы (EPHX), метилтрансферазы и др.

Фаза III — биотрансформации — фаза эвакуации при помощи специфических переносчиков экзогенных соединений — Р-гликопротеинов происходит перемещение ксенобиотиков в организме.

В настоящее время известно более 300 генов, ответственных за биотрансформацию ксенобиотиков. Мы сосредоточили свое внимание на 3 хорошо изученных генах (GSTM1, GSTT1, GSTP1), роль которых доказана в развитии ряда других заболеваний.

Ключевыми ферментами второй фазы детоксикации является глутатион S трансферазы (GST), которые присоединяют глутатион к различным алифатическим, ароматическим и гетероциклическим соединениям с образованием тиоэфиров и меркаптуровой кислоты. Эти ферменты обезвреживают продукты перекисного окисления липидов, свободные радикалы, тяжелые металлы и цитостатики. У человека выделяют несколько классов глутатион-S-трансфераз: alpha (A), kappa (K), mu (M), omega (O), pi (P), theta (T) и zeta (Z).

Ген GSTM1 кодирует аминокислотную последовательность фермента тета-1 глутатион S-трансферазы, которая участвует в инактивации электрофильных органических веществ, включая канцерогены, лекарственные препараты, токсины и продукты оксидативного стресса, путем конъюгации с глутатионом. Наибольшая экспрессия гена GSTM1 наблюдается в печени, почках, надпочечниках и желудке. При делеции (отсутствии) гена GSTM1, так называемом «нулевом» варианте, фермент тета-1 глутатион S-трансфераза не образуется, в результате чего способность организма выводить некоторые токсичные соединения значительно снижается. Наличие нулевого аллеля в гомозиготном состоянии было связано с увеличением риска развития онкологических, вероятно, из-за повышенной восприимчивости к токсинам и канцерогенам.

Ген GSTT1 кодирует фермент тета-1 глутатион S-трансферазы, который содержится в эритроцитах и участвует в очистке организма от многих ксенобиотиков (в частности, хлорметанов и других промышленных канцерогенов). При «нулевом» варианте, т.е. отсутствии белка способность организма избавляться от ряда вредных соединений значительно снижается. Это приводит к повышению риска развития различных форм рака, а также ишемической болезни сердца. Во всех случаях риск развития заболеваний многократно увеличивается при курении, а также воздействии некоторых химических канцерогенов.

Ген GSTP1 кодирует фермент пи-1 глутатион S-трансферазу, которая содержится в эритроцитах

и участвует в метаболизме ксенобиотиков посредством присоединения глутатиона к субстратам. Однонуклеотидные полиморфизмы rs1695 (с. 313 A>G, p.Ile105Val) и rs1138272 (с.341C>T, p.Ala114Val) приводят к заменам аминокислот и снижению активности фермента, что в свою очередь может способствовать накоплению в организме токсичных веществ [15].

Наследственные формы пороков развития позвоночника обусловлены мутациями генов, которые участвуют в закладке и формировании позвонков. В основе сегментной структуры позвоночного столба лежит образование сомитов — структур эпителиальных блоков, расположенных по обе стороны эмбриональной средней линии, которые образуются в результате сегментации пресомитной мезодермы.

Формирование сомитов регулируется молекулярным осциллятором, часами сегментации. Этот часовый механизм основан на включении (экспрессии) генов, которые работают в течение точного периода, равного времени, которое требуется для образования одной сомитной пары. Многие гены, связанные с Notch, Fgf и Wnt путями: LFNG, HES7, DLL3 и Mesp2 необходимы для формирования соматической границы.

Ген MESP2 (mesoderm posterior 2 homolog) кодирует белок, который участвует в сегментации сомитов (отделении позвонков и ребер друг от друга). Этот белок связывается с определенными областями ДНК и включает гены сигнального пути Notch, который играет решающую роль в развитии позвонков (в частности в отделении будущих позвонков друг от друга — сегментации сомитов).

Notch-сигнальный путь представляет собой эволюционно консервативный механизм взаимодействия между клетками, участвующий в формировании границ и сомитной сегментации у позвоночных. Сомиты станут позвоночником, ребрами и дермой.

DLL3 является геном DSL-семейства лигандов Notch-сигналинга. Продукт гена DLL3 является одним из лигандов Notch-сигнального пути.

В процессе сомитогенеза колебательная (oscillatory) экспрессия гена HES7 регулирует периодическую сегментацию пресоматической мезодермы.

Ген LFNG (LUNATIC FRINGE) кодирует фукозоспецифическую β -1,3-N-ацетил глюкозаминилтрансферазу, которая модифицирует Notch-рецепторы и изменяет сигнальную активность Notch-пути. Предполагается, что активность гена LFNG зависит от функции гена DLL3.

Ген MESP2 относится к семейству helix-loop-helix (bHLH) белков регуляторов транскрипции. Включает гены сигнального пути Notch.

Мутации в гене MESP2 приводит к образованию нефункционального белка, при этом белок NOTCH1 остается высокоактивным, а граница, разделяющая будущие позвонки друг от друга, не образуется. Это приводит к мальформации и слиянию костей позвоночника и ребер, наблюдаемых при спондилоторокальном дизостозе.

Ген CHST3 (carbohydrate sulfotransferase 3) кодирует фермент 6-О-сульфотрансфераза хондроитина 1 (C6ST-1), который переносит сульфат на хондроитин. Мутации в гене уменьшают или исключают активность C6ST-1, предотвращая перенос сульфатных групп и образование хондроитинсульфата. Дефектное сульфатирование этих молекул нарушает нормальное развитие хряща и кости, что приводит к короткому росту, вывихам суставов и другим особенностям скелетной дисплазии, связанной с CHST3 [16].

Белок RUNX2 формирует комплекс с core-binding factor β (CBF β), который регулирует экспрессию коллагена 1, остеопонтина, сиалопротеина и остеокальцина и др. RUNX2 регулирует дифференцировку мезенхимальных-клеток предшественников в остеобласты, дифференцировку остеобластов и созревание хондроцитов; влияет на эндохондральную и внутримембранную оссификацию.

Около 90 различных мутаций в гене RUNX2 (от точечных до делеции всего гена) было описано при ключично-черепном дизостозе.

Искривление позвоночника может формироваться на фоне аномалии позвонков и проявляться в процессе роста и развития ребенка на фоне анатомически нормального строения последних. В первом варианте выявляемые в постнатальном периоде деформации являются врожденными, во втором — идиопатическими.

Показания к оперативному вмешательству следует рассматривать в аспекте выраженности уже имеющейся деформации и перспектив ее дальнейшего прогрессирования.

Существует ряд признаков, по которым определяют степень злокачественности течения врожденных деформаций позвоночника. Аномалии грудного отдела, обычно, прогрессируют чаще, чем аномалии поясничного. Присутствие нескольких аномальных позвонков на одной стороне тоже является неблагоприятным признаком. Поскольку быстрый рост наблюдается у детей до 5 лет и в подростковом возрасте, следует в эти периоды обратить наибольшее внимание на ребенка. При подозрении на врожденную патологию необходимо выполнить стандартные рентгенограммы позвоночника в боковой и прямой проекциях, а также использовать возможности молекулярно-генетического исследования [17].

У 23 прооперированных детей при проведении генетического исследования было выявлено отсут-

ствие гена детоксикации в 20 случаях, что совпадало с изменениями биохимического состава крови минимально в двух референсных значениях элементов. Проводя клинические сопоставления генетических и биохимических маркеров оперированных и не оперированных пациентов можно сделать вывод о том, что при наличии в каждом из проведенных биохимических исследований хотя бы двух значений, находящихся на границе либо за пределами референсных, а при проведении генетического исследования наличие «мутантных» аллелей в одном из генов детоксикации в этих же случаях, либо их полное отсутствие мы можем расценить течение заболевания, как агрессивное, требующее хирургического лечения. Вопрос о необходимости проведения оперативного лечения необходимо ставить с учетом клинических данных. При наличии мутаций генов, отвечающих за темпы роста и структуру позвонков и межпозвонковых дисков — генов RUNX2, CHST3, DLL3, MESP2, LFNG, HES7, HOXA11, HOXD13 отношение к показаниям экстренной операции такому пациенту должно быть максимально осторожным, так как вышеперечисленные гены отвечают за развитие соединительной ткани, что может повлечь за собой наличие другой врожденной патологии, не демонстративной, однако резко повышающей операционные риски.

Изучив проблему в целом, считаем ее актуальной и своевременной, так как впервые в Республики Беларусь изучены биохимические и молекулярно-генетические показатели с учетом клинической картины при врожденной деформации позвоночника. Уникальность программы состоит в том, что хирургические технологии лечения детей с тяжелыми врожденными деформациями позвоночника будут планироваться с использованием технологий 3D-прототипирования с учетом анализа результатов молекулярно-генетического и биохимического исследования, а также методов лучевой диагностики.

Выводы

1. Основными молекулярно-генетическими маркерами при врожденной деформации позвоночника стали полиморфизмы генов детоксикации, их связь с биохимическими показателями крови, а также тяжелыми металлами в биологических субстратах.

2. Точность метода составляет 86,9%. Он может быть использован при решении вопроса о выборе метода лечения при врожденных деформациях позвоночника.

Список литературы

1. Виссарионов, С. В. Исследование полиморфизмов генов COL1A1 и BDR у детей со сколиозом / С. В. Виссарионов, В. И. Ларионова, И. В. Казарян, А. Н. Филиппова, М. М. Костик, А. Н. Войтович, Е. В. Ротчева // Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста. — 2017. — Т. V. — Вып. 1. — С. 5–12.
2. Тесаков Д. К. Изменения в пластической анатомии туловища у пациентов с тяжелыми прогрессирующими сколиотическими деформациями позвоночника / Д. К. Тесаков, Д. Д. Тесакова // Хирургия позвоночника — 2008, № 4. — С. 13–19.
3. Cotrel, Y. Traction in the treatment of vertebral deformity. // J. Bone Jt. Surg. — 1975. — № 57B. — P. 260–266.

4. Голдырев, А. Ю. Анализ клинико-рентгенологических признаков сколиоза у детей (дифференциальная диагностика прогнозирования течения): Дисс. канд. мед. наук. — Тула, 2004. — С. 138.
5. Казьмин А. И. Патогенетическое обоснование для раннего профилактического лечения сколиозов / А. И. Казьмин // Материалы II съезда травматологов-ортопедов Белоруссии. — Минск, 1972. — С. 264–270.
6. Корж Н. А. Современные технологии консервативного и хирургического лечения сколиоза / Н. А. Корж, А. А. Мезенцев // Здоров'я України. — 2011. — № 7. — С. 54–55.
7. Кузнецов С. В. Генетические маркеры идиопатического и врожденного сколиозов и диагноз предрасположенности к заболеванию: обзор литературы / С. В. Кузнецов, М. В. Михайловский, М. А. Садовой, А. В. Корель, Е. В. Мамонова // Хирургия позвоночника. — 2015. — Т. 12, № 1. — С. 27–35.
8. Gregor, M. C. Common polymorphisms in human lysyl oxidase genes are not associated with the adolescent idiopathic scoliosis phenotype / M. C. Gurnett, C. Ayo Dobbs, et al. // BMC Med Genet. — 2011. — Vol. 12, № 2, — P. 1186–1191.
9. Miller N. H. Linkage analysis of genetic loci for kyphoscoliosis on chromosomes 5p13, 13q13.3, and 13q32 / N. H. Miller, B. C., C. M. Justice, et al. // Am J Med Genet A, — 2006. — № 1 — P. 1059–1068.
10. Марукович, Е. И. Эмиссионный спектральный анализ / Е. И. Марукович, А. Г. Непокойчицкий. — Минск: Беларуская навука, 2013. — 307 с.
11. Чегринцев, С. Н. Атомно-абсорбционный анализ / С. Н. Чегринцев. — Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2014. — 44 с.
12. Risser J. C. The iliac apophysis: an invaluable sign in the management of scoliosis / J. C. Risser // J Orthop Res. — 1988. — № 11. — P. 181–188.
13. Бейзель, Н. Ф. Атомно-абсорбционная спектрометрия: Учебное пособие / Н. Ф. Бейзель. — Новосибирск: Новосиб. гос. ун-т, 2008. — 72 с.
14. Дудин М. Г. Использование современных достижений молекулярной генетики в ортопедической практике / М. Г. Дудин, М. В. Асеев, О. Л. Белоног // Оптимизированные технологии диагностики и лечения в детской травматологии и ортопедии. Ошибки и осложнения: материалы симпозиума детских травматологов и ортопедов. Ошибки и осложнения: материалы симпозиума детских травматологов-ортопедов России. — Волгоград, 2003. — С. 194–196.
15. Хальчицкий, С. Е. Молекулярно-генетический анализ и выявление прогрессирующего течения врожденной деформации позвоночника у детей раннего возраста (предварительные результаты) / С. Е. Хальчицкий, М. В. Согоян, С. В. Виссарионов, А. Г. Баиндуршвили, Д. Н. Кокушин, А. Н. Филиппова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2017. — № 12. — С. 292–296.
16. Виссарионов, С. В. Полиморфизм генов костного метаболизма и остеогенеза у детей с деформациями позвоночника / С. В. Виссарионов, Д. Н. Кокушин, А. Н. Филиппова, М. М. Костик, В. И. Ларионова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2017. — № 4. — С. 342–345.