

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗА ВРОЖДЕННЫХ ДЕФОРМАЦИЙ ПОЗВОНОЧНИКА

Хальчицкий С.Е.¹, Согоян М.В.¹, Ли А.О.¹, Мульдьяров В.П.¹, Кокушин Д.Н.¹,
Виссарионов С.В.¹, Дмитриев А.В.²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии им. Г.И. Турнера» Минздрава России, Санкт-Петербург, Пушкин, e-mail: s_khalchitski@mail.ru;

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки России, Санкт-Петербург, e-mail: iem@iemspb.ru

Обзор посвящен обобщению данных современной научной литературы о роли генетических факторов в возникновении такой тяжелой инвалидизирующей патологии, как врожденные деформации позвоночника (ВДП). Рассматриваются наиболее важные моменты эмбрионального развития позвоночного столба и сомитов, когда организм (эмбрион) наиболее чувствителен к различным сбоям в генетической программе онтогенеза позвоночного столба и соседних органов. Показана роль точечных мутаций в генах-регуляторах, генах факторов транскрипции, а также роль хромосомных aberrаций в возникновении ВДП и связанных с ними врожденных дефектов других органов. Также причинными факторами являются наше исследование генов детоксикации и репарации ДНК и выявленное влияние мутаций в этих генах на возникновение врожденных деформаций позвоночника. Возможное применение информации, представленной в данном обзоре, – прогностическая лабораторная диагностика, связанная с выявлением генетических факторов прогрессирования врожденных деформаций позвоночника, позволяющая принимать своевременные решения о целесообразности консервативного или хирургического лечения для стабилизации состояния пациента. Модели, представленные в данном обзоре, также важны для расчета генетических сигнальных путей, необходимых для формирования паттерна тканей-предшественников позвонков (сомитов) в развивающемся эмбрионе. Важным моментом является попытка связать данные фундаментальных исследований с клинической картиной течения заболевания.

Ключевые слова: сомитогенез, гены сегментации, тератогенные факторы и мутации, патогенез врожденных деформаций позвоночника, методы предиктивной диагностики.

GENETICFACTORS OF THE ETIOLOGY AND PATHOGENESIS OF CONGENITAL SPINAL DEFORMITIES

Khalchitsky S.E.¹, Sogoyan M.V.¹, Li A.O.¹, Muldiyarov V.P.¹, Kokushin D.N.¹,
Vissarionov S.V.¹, Dmitriev A.V.²

¹FSBI «H. Turner National Medical Research Center for Children's Orthopedics and Trauma Surgery» of Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Pushkin, e-mail: s_khalchitski@mail.ru;

²FSBSI 'Institute of Experimental Medicine' of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Saint-Petersburg, e-mail: iem@iemspb.ru

The review is devoted to summarizing the data of modern scientific literature on the role of genetic factors in the emergence of such a severe disabling pathology as congenital scoliosis and congenital spinal deformities (CSD). The most important aspects of the embryonic development of the spinal column and somites are considered when the organism (embryo) is most sensitive to various failures in the genetic program of ontogenesis of the spinal column and adjacent organs. The role of point mutations in genes – regulators, genes of transcription factors is shown, as well as the role of chromosomal aberrations in the occurrence of CSD and associated congenital defects of other organs. Another causal factor is our study of genes for detoxification and DNA repair and the revealed effect of mutations in these genes on the occurrence of congenital spinal deformities. A possible application of the information presented in this review is prognostic laboratory diagnostics associated with the identification of genetic factors for the progression of congenital spinal deformities, which makes it possible to make timely decisions about the advisability of conservative or surgical treatment to stabilize the patient's condition. The models presented in this review are also important for calculating the genetic signaling pathways required for patterning of vertebral progenitor tissues (somites) in developing embryo. An attempt to link basic research data with clinical practice in orthopedics is important.

Keywords: somitogenesis, genes of segmentation, teratogenic factors and mutations, congenital spine deformities pathogenesis, predictive diagnostic methods.

Врожденные деформации позвоночника (ВДП) представляются одним из сложных и

актуальных разделов современной ортопедии. Причиной врожденных деформаций позвоночного столба являются аномалии развития тел позвонков [1]. Несмотря на то что частота встречаемости врожденных пороков развития позвоночного столба сравнительно невелика (0,5–1 на 1000 новорожденных), они могут приводить к тяжелым и ригидным искривлениям позвоночника уже в дошкольном возрасте, а также к необратимым нарушениям со стороны внутренних органов, прежде всего со стороны дыхательной и сердечно-сосудистой систем [2]. Отмечено, что врожденные деформации позвоночника чаще встречаются у девочек по сравнению с мальчиками с соотношением 2,5:1 [3].

Искривления позвоночного столба значительно влияют на физическое и психологическое состояние пациентов. Кроме того, врожденные деформации позвоночника являются одной из причин формирования инвалидности среди детского населения. Согласно литературным данным, установлено, что около 50% врожденных сколиозов может сочетаться с пороками и дисфункцией других органов [4], включая заболевания почек, сердца и интраспинальные пороки.

Тесная эмбриологическая связь между позвоночником и спинным мозгом может привести к сопутствующим интраспинальным аномалиям, таким как расщепление спинного мозга (SCM), фиксированный спинной мозг, низкорасположенный конус, сирингомиелия и интраспинальные новообразования. Врожденные деформации позвоночника относительно ригидны, могут быстро прогрессировать и, когда они связаны с аномалиями позвоночного канала, имеют более высокий риск неврологических осложнений. Будучи эмбриологической аномалией, ВДП часто сочетается с пороками развития мочеполовой, сердечно-сосудистой, скелетно-мышечной систем. Эти факторы играют важную роль при принятии решений о тактике лечения детей с ВДП [5].

Цель исследования

В связи с вышеизложенным целью нашего обзора явилось последовательное описание процессов формирования позвоночника в эмбриогенезе и в постнатальном периоде, а также акцентирование внимания на выявлении генетических и средовых факторах, которые могут привести к появлению врожденных деформаций позвоночника. Мы считаем чрезвычайно важным, особенно в отношении практикующих хирургов-ортопедов, выявить те генетические факторы, которые могут привести к быстрому прогрессированию ВДП и способны служить руководством для принятия решения о назначении хирургического лечения при выявлении такого набора прогностических факторов.

Этиология врожденных патологий позвоночника

Процесс сомитогенеза контролируется генами сигнальных путей Notch, WNT и FGF. Они координируют ключевые этапы сомитогенеза, включая сегментацию, двустороннюю

симметрию и формирование позвонков. Нарушение сигнальных путей и сбой регуляторов этих процессов имеют большое значение в патогенезе врожденных деформаций позвоночника. Развитие позвонков происходит за счет синхронной конвергенции нескольких проводящих путей и нескольких десятков генов. Выявлено, что гены сигнальных путей Notch, WNT и FGF могут мутировать, и эти мутации выявляются у пациентов с ВДП. Путем использования различных методологических подходов было идентифицировано несколько наиболее важных генов-кандидатов (рис. 1).

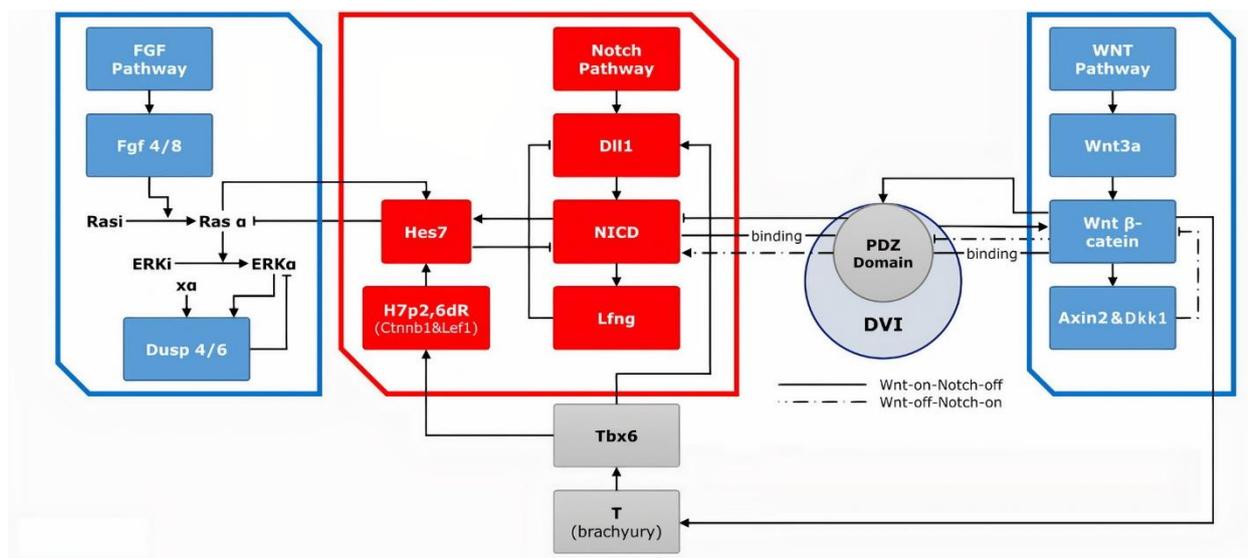


Рис. 1. На рисунке отражены три основных пути взаимодействующих генов и эффекторов в сомитогенезе. Показаны компоненты часов сегментации (красная рамка) и компоненты волнового фронта (синяя рамка). Часы сегментации в основном состоят из пути Notch и ряда генов и эффекторов. Dll1 и нисходящие NICD и Lfng периодически экспрессируются через цикл обратной связи, формируя модель «часов». Градиенты сигналов FGF и WNT составляют волновой фронт [6]

В сигнальном пути Wnt Wnt3a индуцирует экспрессию нижележащих R-cat и Axin2. Белки AXIN2 и DKK1 являются ингибиторами R-cat с отрицательной обратной связью, что способствует формированию регуляторного цикла. Wnt3a индуцирует экспрессию Tbx6, который дополнительно активирует экспрессию Dll1 и связан с NICD через Hes7, тем самым устанавливая коммуникативную связь сигнальных путей Notch и WNT. В сигнальном пути FGF гены Fgf4 и Ff8 индуцируют экспрессию pERK, что дополнительно вызывает экспрессию нижележащих Dusp4 и Dusp6. Сигнальная осциляция FGF также основана на механизме обратной связи [6].

Мутации в генах семейств транскрипционных факторов HES и MESP приводят к врожденному искривлению позвоночника [7], что указывает на их важность в развитии сомитов. Гены MESP кодируют факторы транскрипции семейства bHLH, а делеция MESP2 у

мышей нарушает сегментацию и рострокаудальную полярность сомитов [8]. У рыбок данио четыре гомолога MESP2 (*mespa*, *mespb*, *mespb* и *mespb*) динамически экспрессируются в передней пресомитной мезодерме (PSM) с пиками, которые совпадают со впадинами в паттернах экспрессии часовых генов *her1* и *her7* и гена *deltaC*, кодирующего лиганд сигнального пути Notch [9]. У рыбок данио репрессор транскрипции, кодируемый RIPPLY1, экспрессируется в отдельных участках в передней PSM и во вновь образованных сомитах [10]. Опосредованный морфолино-олигонуклеотидом нокдаун RIPPLY1 у рыбок данио или нокаут RIPPLY2 у мышей вызывают дефекты сегментации [10, 11]. Мутации в MESP2 и RIPPLY2 присутствуют у пациентов с врожденным сколиозом [12, 7] или синдромом Клиппеля–Фейля [13] соответственно. Мутации в генах *Delta*, *MESP* и *HES* приводят к сколиозу [14 15], а мутации их ортологичных генов в модели на мышах или рыбках данио полностью (частично) воспроизводят фенотип [15, 16]. Хотя функциональное значение этих генов было установлено на мышинной модели, динамические регуляторные отношения между этими генами еще не идентифицированы ни в одном модельном организме.

Помимо мутаций в отдельных генах, приводящих к врожденным деформациям позвоночника, было исследовано множество случаев, когда ген, непосредственно вызывающий врожденное искривление позвоночника в результате хромосомных мутаций (*de novo* – различных транслокаций, инверсий и т.д.), образовывал группу сцепления с другими генами, что дополнительно приводило к сопутствующим порокам развития других органов [17]. Таким образом, традиционный анализ сцепления имеет значительные ограничения для идентификации генов-кандидатов, поскольку ненаследственные типы врожденного сколиоза часто являются спорадическим случаем, который может зависеть от мутаций, вызванных различными тератогенными факторами во время беременности.

Другие гены-кандидаты врожденных деформаций позвоночника также были идентифицированы на животных моделях. В фенотипически однородной когорте пациентов с этой патологией для анализа были отобраны пять генов-кандидатов: *PAX1* и *T(Brachyury)* [18, 19], а также *WNT3A*, *DLL3* и *SLC35A3* [20–22], экстраполированных из мышинных моделей. Области локализации ВДП, представленные в этой когорте, охватывали всю длину позвоночника и были описаны более подробно в предыдущем сообщении [18]. У пациентов с врожденным сколиозом варианты последовательности *PAX1*, *DLL3*, *WNT3A* и *T (Brachyury)*, связанные со снижением пенетрантности, были идентифицированы и наблюдались с низкой частотой или не обнаруживались у здоровых людей [19]. Когорта из 79 случаев врожденного сколиоза была исследована на наличие вариантов в генах *DLL3*, *MESP2* и *HES7* (гены, связанные с ВДП и спондилококостальным дизостозом). Одна семья имела мутации в *MESP2*, другая – в *HES7*. В обеих семьях пенетрантность и выраженность мутаций были разными;

также было показано, что они нарушают *in vitro* функцию факторов транскрипции, кодируемых этими генами [23]. В другой когорте, состоящей из 154 пациентов с врожденным сколиозом, было обнаружено, что ген LMX1A связан с чувствительностью к этой патологии у этнических китайцев [24].

Биаллельные мутации гена CDK10 (циклин-зависимая киназа 10) зародышевой линии были идентифицированы в пяти родственных семьях Саудовской Аравии с задержкой роста, слиянием позвонков или образованием полупозвонков и задержкой в развитии. CDK10 – протеинкиназа, которая играет регуляторную роль в транскрипции [25]. Мыши с нокаутом CDK10 имели несколько костных дефектов, влияющих на осевой скелет, такие дефекты могут проявляться у людей с мутациями CDK10 [25]. Рецессивные миссенс-мутации были обнаружены в гене SLC35A3, который характеризуется комплексом врожденных дефектов [26]. К дефектам позвоночника относились бабочковидные позвонки и полупозвонки, распределенные по всему позвоночнику, а также «волчья пасть», дефекты сердечной перегородки и сосудов, укороченные конечности и лицевой дисморфизм [27]. Также был разработан метод хромосомного микроматричного анализа (СМА) для обнаружения изменений в ДНК по всему геному. Преимущество СМА заключается в возможности идентифицировать потенциальные области микроанеуплоидии, связанные с врожденным сколиозом (ВС) по всему геному, а не ограничиваться только одной небольшой областью. Поскольку этиология ВС неоднородна и может включать несколько генетических дефектов, многие из которых еще предстоит определить, этот подход обеспечивает эффективный инструмент скрининга для выявления дополнительных локусов, которые могут маскировать генетические дефекты, лежащие в основе этиологии ВДП. С помощью СМА успешно выявили некоторые потенциальные области, связанные с ВС, в частности с идентификацией области делеции гена TBX6, что определяет значительный прогресс в нашем понимании причин ВС [28].

В клинической практике у определенной части пациентов с ВС не наблюдается заметных дополнительных органических деформаций. Эти случаи вызывают большой интерес для геномных исследований, потому что они представляют собой фенотипически отличную группу для изучения патогенеза деформаций позвоночника. Варианты генов, участвующих в сомитогенезе, были изучены Ghebraniou et al. [19], когда группа пациентов с гетерогенными типами ВС была секвенирована с использованием панели генов, связанных с сигнальными путями в сомитогенезе, включая PAX1, DLL3, SLC35A3, WNT3A, TBX6 и T (Brachyury). Были просеквенированы весь T (Brachyury), а также кодирующие области, сайты сплайсинга и 500 п.н. промоторной области TBX6. У трех неродственных пациентов была такая же с.1013C>T транзигция в экзоне 8 гена T, но не было выявлено никаких полиморфных последовательностей

в гене TBX6. Fei et al. [29] генотипировали два известных SNP в гене TBX6 среди 254 этнических китайцев (127 пациентов с ВС и 127 в контроле). При анализе аллелей SNP rs2289292 (SNP1, chr16: 30005131, G/A, экзон 8) и rs3809624 (SNP2, chr16: 30010303, A/G, 5'-нетранслируемая область) частоты значительно различались между пациентами и контрольной группой ($P=0,017$ и $0,033$ соответственно). Анализ гаплотипов показал значительную взаимосвязь между SNP1/SNP2 при ВС ($P=0,017$) с гаплотипом G-A, который чаще наблюдается в контроле (отношение шансов 0,71; 95%-ный доверительный интервал 0,51–0,99).

Ген TBX6 известен как член T-box семейства и кодирует фактор транскрипции, который играет важную роль в регуляции процессов развития. TBX6 расположен на хромосоме 16p11.2, размер 6091 п.н. и содержит 9 экзонов. Сообщалось, что взаимодействия между TBX6 и генами, участвующими в модели волнового фронта, или самим TBX6 приводят к аномальному образованию сомитов, способствующих ВС [30]. Несколько исследований показали, что вариация числа копий (CNV) в области 16p11.2 может быть связана с фенотипом ВС. Shimojima et al. [31] сообщили о трехлетнем мальчике с задержкой в развитии: паховая грыжа; полупозвонок T10, T12 и L3; отсутствует правое 12-е ребро; гипоплазия левого 12-го ребра. У пациента была делеция 593 КБ в области 16p11.2, а у матери была такая же делеция, что было выявлено с помощью СМА-анализа. Al-Kateb et al. [32] проанализировали радиологические данные, полученные от 10 пациентов с CNV области 16p11.2 (9 с делециями и 1 с дупликацией). У 8 из них был ВС, а у остальных 2 – идиопатический сколиоз (ИС). Также были обследованы 5 пациентов с ранее выявленными изменениями в области 16p11.2. и сходными скелетными аномалиями, у 2 был ВС, у остальных – ИС.

Хотя во многих исследованиях сообщается о связи между 16p11.2 CNV и ВС, точный механизм здесь до сих пор не ясен. Впоследствии Wu et al. [28] обнаружили, что нулевые варианты TBX6 и Tbx6 общего гипоморфного аллеля вместе вносят вклад в развитие ВС, находясь в компаудном состоянии. В группе из 161 китайского пациента со спорадическим неродственным ВС анализ CNV выявил 17 гетерозиготных нулевых мутаций TBX6 у этих индивидуумов с ВС. Это включало 12 случаев рекуррентной делеции 16p11.2, затрагивающей TBX6, и 5 однонуклеотидных вариантов (1 нонсенс-мутация и 4 мутации со сдвигом рамки считывания). Мутаций TBX6 в контрольной группе не было обнаружено. Идентификация фенотипически нормальных индивидуумов с микроделециями 16p11.2 и дискордантными внутрисемейными фенотипами ВС у носителей микроделций 16p11.2 показала, что гетерозиготной нулевой мутации TBX6 недостаточно, чтобы вызвать ВС. Примечательно, что был идентифицирован другой распространенный (около 44% в азиатской и 33% в европейской популяциях) гаплотип, который, как было показано, является гипоморфным аллелем в

сочетании с нулевыми мутациями TBX6. Это компаудное наследование редких и распространенных (CIRC) паттернов составляло до 11% спорадических случаев ВС. Эти результаты были подтверждены в дополнительной когортной и многоцентровой серии исследований микроделений 16p11.2 и в дальнейшем подтверждены в исследованиях в японской когорте ВС [33] и французской когорте SDV (дефекты сегментации позвонков) [34].

Кроме того, недавно Feng et al. [35] обнаружили, что 2 пациента с полупозвонком в грудном отделе позвоночника и 1 пациент с полупозвонком в поясничном отделе позвоночника являлись носителями ранее идентифицированного гетерозиготного варианта патогенного компаунда TBX6. Кроме того, полноэкзомное секвенирование пациентов с ВС и их семей выявило миссенс-мутацию de novo (с.G47T: p.R16L) в другом гене семейства T-box – TBXT. Эта редкая мутация нарушает связывание TBXT с его последовательностью-мишенью, что приводит к снижению транскрипционной активности и оказывает доминирующее негативное влияние на TBXT дикого типа.

Liu J. et al. [36] определили новый подтип ВС, названный TACS, содержащий компаунд TBX6 LoF с гипоморфным аллелем. TACS – это нозологическая единица, определяемая последовательными клинически измеряемыми эндофенотипами, т.е. более молодой возраст в начале заболевания, полупозвонки/бабочковидные позвонки, затрагивающие нижнюю часть позвоночника, простая реберная аномалия и меньшее количество позвоночных и интраспинальных дефектов. TACScore может определять и направлять клиническое ведение, а также генетическое и клиническое геномное тестирование. Исследования на людях и мышах дополнительно подтверждают модель компаудного наследования и дозы генов, а также дают представление о потенциальных биологических последствиях нарушений дозы и экспрессии гена TBX6/Tbx6 для развития позвоночника. Такие генетические модели могут иметь значение и для других врожденных дефектов.

Взаимодействие генов сомитогенеза и тератогенных факторов окружающей среды

Помимо генетической этиологии, влияние вредных факторов окружающей среды на развивающийся эмбрион может вызывать определенные дефекты, в том числе и в позвоночнике. Например, имеется достаточно эпидемиологических данных о том, что факторы окружающей среды, такие как курение матери или диабет, увеличивают риск врожденных дефектов [37, 38]. Однако, поскольку образование сомитов у людей происходит между 3-й и 5-й неделями, трудно доказать, что дефекты позвоночника, выявляемые при рождении, являются результатом тератогенного воздействия окружающей среды в то время, когда мать, возможно, не знала о своей беременности.

Таким образом, анализ большинства факторов риска окружающей среды, способствующих возникновению дефектов позвоночника, был ограничен модельными

системами на животных. Действительно, подобные эксперименты на животных проводятся уже много лет. Эти эксперименты представили доказательства того, что токсически действуют такие разнообразные факторы, как ретиноевая кислота, вальпроевая кислота, диабет матери, гипоксия плода, окись углерода, мышьяк, этанол, гипертермия, дефицит цинка у матери, фосфорорганические пестициды, ингибирование выработки оксида азота и борной кислоты, и другие факторы, являющиеся потенциальными тератогенами окружающей среды [39, 40]. Конечно, ни генетические факторы, ни факторы окружающей среды, как правило, не действуют изолированно, а взаимодействие этих факторов (гена и окружающей среды) будет влиять на пенетрантность и выраженность причин, вызывающих дефекты позвоночника.

Эта гипотеза подтверждается использованием близнецового метода. Например, в большинстве описанных случаев монозиготных близнецов с врожденным сколиозом был болен только один близнец. Если поражены оба близнеца, локализация и тяжесть дефектов позвоночника различаются. Таким образом, Sparrow et al. предоставили первое экспериментальное свидетельство в поддержку этой гипотезы [23]. Были обследованы две семьи, в которых наблюдался небольшой дефект позвоночника. В родословных этих двух семей с врожденным сколиозом были выявлены мутации в генах *MESP2* и *HES7*. Секвенирование генов-кандидатов показало, что эти семьи действительно несут мутантные аллели *MESP2* и *HES7* соответственно. В обеих семьях все пациенты с ВС были гетерозиготны по мутантному аллелю, и наоборот, не все гетерозиготы имели дефекты позвоночника. Также были исследованы нарушения скелета линий мышей, несущих нулевые аллели *MESP2* и *HES7*.

Приблизительно 50% гетерозиготных эмбрионов мышей *HES7* и 10% гетерозиготных эмбрионов *MESP2* имели дефекты позвонков. Таким образом, как у людей, так и у мышей индивидуумы, гетерозиготные по делеционным мутациям в генах *MESP2* и *HES7* пути Notch, имеют врожденный сколиоз с низкой пенетрантностью. Предполагалось, что на пенетрантность и выраженность врожденного сколиоза влияет окружающая среда, и в качестве потенциального фактора окружающей среды была выбрана острая гестационная эмбриональная гипоксия. Исследования, начатые еще в XIX в., показали, что снижение уровня кислорода, необходимого для эмбрионов позвоночных, может вызывать грубые структурные аномалии, включая дефекты позвонков, очень похожие на те, которые наблюдаются у гетерозиготных мышей *HES7*. Это относится и к беременности у человека, поскольку внутриутробная гипоксия может быть вызвана многими факторами окружающей среды. Было продемонстрировано, что воздействие экстремальной гипоксии матери (5,5% кислорода) в течение 8 ч во время формирования тканей-предшественников позвоночника (сомитов) вызывает серьезные дефекты позвоночника примерно у 90% эмбрионов.

Однако, когда матери подвергались умеренной гипоксии (8% кислорода) в течение 8 ч,

только около 15% эмбрионов имели дефекты позвоночника, которые были очень легкими. Затем были объединены генетические и экологические модели, чтобы продемонстрировать, что эмбрионы мыши, гетерозиготные по нулевым мутантам генов сигнального пути Notch *MESP2*, *HES7*, *DLL1* и *Notch1* (исключая *DLL3*), показали повышенную восприимчивость и тяжесть дефектов позвоночника при комбинированном воздействии по сравнению с воздействием одного генетического фактора или фактора окружающей среды. Наконец, был исследован основной молекулярный механизм эмбриональной гипоксии, вызывающей дефекты позвоночника. Здесь было обнаружено, что гипоксия, по-видимому, прерывает передачу сигналов FGF в PSM. Это приводит к потере циклической активации передачи сигналов Notch, необходимой для образования сомитов, и, следовательно, к невозможности сегментации сомитов (рис. 2).

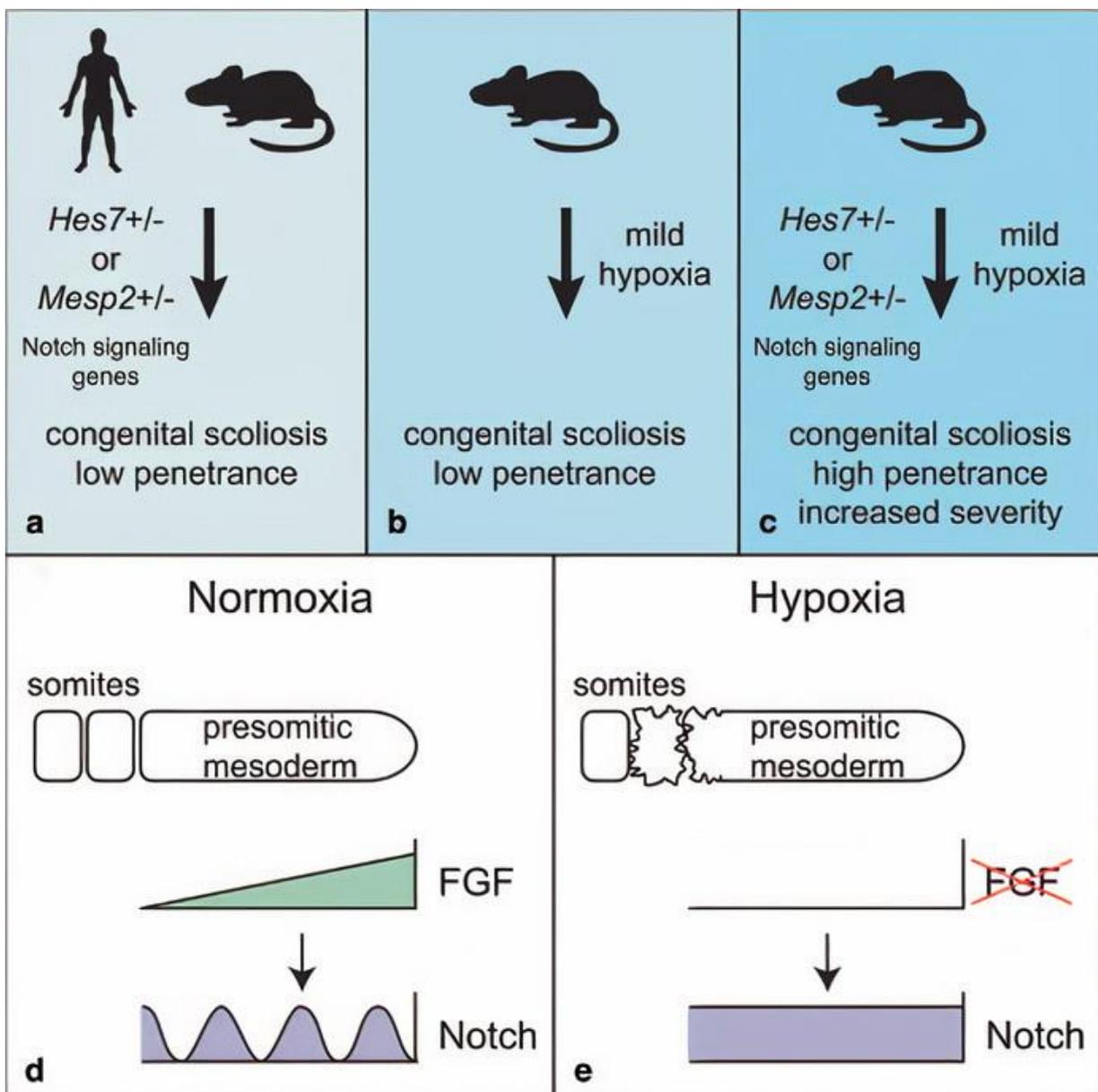


Рис. 2. а) Гетерозиготные мутации в генах *Hes7* и *Mesp2* пути Notch могут вызывать

*небольшие дефекты позвоночника у людей и мышей; б) Внутриутробное воздействие на эмбрионы мыши умеренными уровнями гипоксии может вызвать легкие дефекты позвоночника; с) Комбинация гетерозиготной мутации *Hes7* или *Mesp2* и внутриутробное воздействие на эмбрионы мыши умеренной гипоксии вызывают дефекты позвонков с повышенной пенетрантностью и степенью тяжести; d) В нормоксических условиях передача сигналов *FGF* присутствует в градиенте в *PSM*, и происходит циклическая активация передачи сигналов *Notch*. Правильная сегментация сомитов требует циклической активации передачи сигналов *Notch*; e) Гипоксия снижает общие уровни передачи сигналов *FGF* в *PSM*, и циклическая активация передачи сигналов *Notch* прекращается. Это приводит к аномальной сегментации сомитов [23]*

Другие гены, влияющие на возникновение врожденных деформаций позвоночника

Помимо мутаций в генах, непосредственно участвующих в образовании сомитов, мутации в неспецифических генах, защищающих растущий эмбрион от воздействия тератогенных факторов, могут влиять на возникновение врожденных пороков развития и, следовательно, на возникновение ВДП. Такие генетические системы представляют собой барьерные системы детоксикации или биотрансформации ксенобиотиков, а также гены, которые непосредственно устраняют «сбои» в ДНК, – гены репарации ДНК. Такие гены, как *CYP1A1*, *CYP1A2*, *GSTT1*, *GSTM1*, *NAT2*, контролируют активность ферментов детоксикации, которые превращают мутагенные и тератогенные факторы окружающей среды в безвредные соединения. Мутации в этой группе генов могут препятствовать нейтрализации тератогенных факторов и приводить к мутагенезу *de novo* и, как следствие, к различным нарушениям эмбриогенеза, включая развитие врожденных аномалий позвоночника.

Важные гены репарации ДНК, такие как *XRCC1* и *XRCC3*, также играют большую роль в устранении воздействия тератогенных факторов. Определение полиморфизма этих генов у пациентов с врожденными деформациями позвоночника может выявить первичные этиологические факторы данного патологического процесса и предопределить характер деформаций позвоночника в раннем возрасте.

Исследования генов детоксикации и репарации ранее проводились при различных наследственных и экзогенных заболеваниях. В частности, такие исследования чаще всего проводились у онкологических больных с опухолями различной этиологии, и была показана связь с предрасположенностью к заболеванию [41, 42]. Фактически изменение активности генов детоксикации и репарации приводит к тому, что в организме накапливается больше тератогенных факторов, которые могут токсически влиять на обмен веществ, вызывая

повреждение органов и тканей. Это может также серьезно повлиять на организм беременной женщины и эмбриона. На эту тему есть публикации, в которых обсуждается взаимосвязь активности генов детоксикации и репарации с появлением врожденных пороков развития [43]. Мутации в генах репарации ДНК могут напрямую приводить к хромосомным и генным аномалиям. Поэтому изучение этиологии врожденных деформаций позвоночника неизбежно приводит к необходимости изучения генов детоксикации и репарации.

Наши результаты [44] указывают на корреляцию между мутационными изменениями в этих генах и возникновением врожденных деформаций позвоночника. В частности, значительные изменения в генах CYP1A2, GSTM1, GSTT1, NAT2, XRCC3 показали, что эти гены (а следовательно, и сама система детоксикации и репарации ДНК) участвуют в процессе защиты сомитогенеза от тератогенных нарушений. Если эта защитная система имеет бреши, то с большой долей вероятности могут возникнуть врожденные деформации позвоночника.

Это исследование подтверждает тот факт, что мутации в генах репарации ДНК могут приводить к хромосомным и генным аномалиям. Эти данные подтверждаются данными литературы [4, 45], в которых подчеркивается, что у большинства пациентов с врожденными деформациями позвоночника наблюдается сочетание пороков развития других внутренних органов и систем, что связано с хромосомными абберациями в группе сцепления с другими генами данной группы.

Заключение

В последние годы исследователи добились значительного прогресса в понимании генетических факторов, лежащих в основе врожденных деформаций позвоночника, с наиболее важными мутациями, по крайней мере, в восьми генах, которые были идентифицированы на сегодняшний день. Этому прогрессу в значительной степени способствовали параллельные исследования на животных моделях, в частности на мышах. Такие модели важны для расчета генетических и сигнальных путей, необходимых для формирования паттерна тканей-предшественников позвонков (сомитов) в развивающемся эмбрионе. С помощью этих исследований был идентифицирован ряд генов-кандидатов для определения дефектов позвоночника у людей с использованием классических и новых генетических методов исследования. Наиболее важно то, что большинство генов, которые были обнаружены к настоящему времени и вызывают врожденные деформации позвоночника у людей, связаны с сигнальным путем Notch: DLL3 является ингибирующим лигандом; LFNG гликозилирует рецептор Notch; гены LFNG, MESP2, HES7 и TBX6 являются прямыми транскрипционными мишенями пути активации. Кроме того, белок HES7 подавляет передачу сигналов Notch, создавая петлю отрицательной обратной связи.

Появление полноэкзомного секвенирования с возможностью доступного

полногеномного секвенирования в ближайшем будущем расширяет кругозор, но также создает новую проблему: будет происходить выявление многих потенциально повреждающих гетерозиготных генов и регуляторных вариантов у каждого человека, хотя только один или два из них могут вызвать деформацию позвоночника. Это потребует секвенирования нескольких больных и здоровых членов каждой семьи, что еще больше повысит важность функциональных исследований на животных моделях и системах *in vitro* для проверки патогенности вариантов. Недавние открытия, касающиеся влияния окружающей среды на формирование позвонков, добавляют еще один уровень сложности и в долгосрочной перспективе могут служить основой для терапевтического вмешательства, направленного на минимизацию тяжести и/или пенетрантности позвоночных дефектов в семьях с обнаруженными генетическими аномалиями. Тем не менее создание надежных генетических диагностических платформ для прогнозирования вариантов развития ВДП позволит назначать адекватное лечение этого тяжелого заболевания в раннем возрасте. Это дает реальную перспективу эффективных методов клинической генетики и надежду на излечение людей с врожденными пороками развития.

Список литературы

1. Согоян М.В., Хальчицкий С.Е., Виссарионов С.В., Кокушин Д.Н., Филиппова А.Н. Молекулярно-генетический анализ генов детоксикации и репарации ДНК у детей с врожденными деформациями грудного и поясничного отделов позвоночника // Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста. 2018.т. 6. № 3. С. 40-46. DOI: 10.17816/PTORS6340-46.
2. Stücker R. Congenital spine deformities during growth: Modern concepts of treatment. *Orthopade*. 2019. no. 48(6). P. 486-493. DOI: 10.1007/s00132-019-03744-3.
3. Jaskwhich D. Ali R.M. Patel T.C. Green D.W. Congenital scoliosis. *Curr. Opin. Pediatr*. 2000. no. 12. P. 61-66. DOI: 10.1097/00008480-200002000-00012.
4. Shen J., Wang Z., Liu J., Xue X., Qiu G. Abnormalities associated with congenital scoliosis, a retrospective study of 226 chinese surgical cases. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2013. no. 38(10). P. 814-818. DOI: 10.1097/BRS.0b013e31827ed125.
5. Mohanty S.P., Kanhangad M.P., Jayakrishnan K., Kurup J.K.N., Saiffudeen S. Vertebral, intraspinal and other organ anomalies in congenital scoliosis. *Eur. Spine J*. 2020. no. 29. P. 2449-2456. DOI: 10.1007/s00586-020-06450-3.
6. Chen W., Liu J., Yuan D., Zuo Y., Liu Z., Liu S., Zhu Q., Qiu G., Huang S., Giampietro P.F., Zhang F., Wu N., Wu Z. Progress and perspective of TBX6 gene in congenital vertebral

- malformations. *Oncotarget*. 2016. no. 7(35). P. 57430-57441. DOI: 10.18632/oncotarget.10619.
7. Turnpenny P.D., Alman B., Cornier A.S., Giampietro P.F., Offiah A., Tassy O., Pourquie O., Kusumi K., Dunwoodie S. Abnormal vertebral segmentation and the notch signaling pathway in man. *Dev. Dyn*. 2007. no. 236(6). P. 1456-1474. DOI: 10.1002/dvdy.21182.
 8. Saga Y., Hata N., Koseki H., Taketo M.M. *Mesp2*, a novel mouse gene expressed in the presegmented mesoderm and essential for segmentation initiation. *Genes Dev*. 1997. no. 11(14), P. 1827-1839. DOI: 10.1101/gad.11.14.1827.
 9. Cutty S.J., Fior R., Henriques P.M., Saude L., Wardle F.C. Identification and expression analysis of two novel members of the *Mesp* family in zebrafish. *Int. J. Dev. Biol*. 2012. no. 56(4). P. 285-294. DOI: 10.1387/ijdb.113447sc.
 10. Kawamura A., Koshida S., Hijikata H., Ohbayashi A., Kondoh H., Takada S. Groucho-associated transcriptional repressor *rippy1* is required for proper transition from the presomitic mesoderm to somites. *Dev. Cell*. 2005. no. 9. P. 735-744. DOI: 10.1016/j.devcel.2005.09.021.
 11. Morimoto M., Sasaki N., Oginuma M., Kiso M., Igarashi K., Aizaki K., Kanno J., Saga Y. The negative regulation of *Mesp2* by mouse *Rippy2* is required to establish the rostro-caudal patterning within a somite. *Development*. 2007. no. 134(8). P. 1561-1569. DOI: 10.1242/dev.000836.
 12. Medina-de la Cruz A.Y., Rodríguez-Balderrama I., Burciaga-Flores C.H., Martínez-de Villarreal L.E., Ibarra-Ramírez M., de la O-Cavazos M.E. Spondylothoracic dysostosis, Jarcho Levin syndrome. Case report. *Medicina Universitaria*. 2016. no. 18(70). P. 16-19. DOI: 10.1016/j.rmu.2015.10.005.
 13. Karaca E., Yuregir O.O., Bozdogan S.T., Aslan H., Pehlivan D., Jhangiani S.N., Akdemir Z.C., Gambin T., Bayram Y., Atik M.M., Erdin S., Muzny D., Gibbs R.A., Lupski J.R. & Baylor-Hopkins Center for Mendelian Genomics. Rare variants in the notch signaling pathway describe a novel type of autosomal recessive Klippel-Feil syndrome. *Am. J. Med. Genet. A*. 2015. no.167A(11). P. 2795-2799. DOI: 10.1002/ajmg.a.37263.
 14. Pourquie O. Vertebrate segmentation from cyclic gene networks to scoliosis. *Cell*. 2011. no. 145(5). P. 650-663. DOI: 10.1016/j.cell.2011.05.011.
 15. Lleras Forero L., Narayanan R., Huitema L.F., VanBergen M., Apschner A., Peterson-Maduro J., Logister I., Valentin G., Morelli L.G., Oates A.C., Schulte-Merker S. Segmentation of the zebrafish axial skeleton relies on notochord sheath cells and not on the segmentation clock. *Elife*. 2018. no. 7. P. 1-28. DOI: 10.7554/eLife.33843.
 16. Wopat S., Bagwell J., Sumigray K.D., Dickson A.L., Huitema L., Poss K.D., Schulte-Merker S., Bagnat M. Spine patterning is guided by segmentation of the notochord sheath. *Cell Rep*. 2018. no. 22(8). P. 2026-2038. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.01.084.
 17. Jackson M., Marks L., May G.H.W., Wilson J.B. The genetic basis of disease.

EssaysBiochem. 2018. no. 62(5). P. 643-723. DOI: 10.1042/EBC20170053.

18. Giampietro P.F., Raggio C.L., Reynolds C.E., Shukla S.K., McPherson E., Ghebranious N., Jacobsen F.S., Kumar V., Faciszewski T., Pauli R.M., Rasmussen K., Burmester J.K., Zaleski C., Merchant S., David D., Weber J.L., Glurich I., Blank R.D. An analysis of PAX1 in the development of vertebral malformations. *Clin. Genet.* 2005. no. 68(5). P. 448-453. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2005.00520.x.
19. Ghebranious N., Blank R.D., Raggio C.L., Staubli J., McPherson E., Ivacic L., Rasmussen K., Jacobsen F.S., Faciszewski T., Burmester J.K., Pauli R.M., Boachie-Adjei O., Glurich I., Giampietro P.F. A missense T (Brachyury) mutation contributes to vertebral malformations. *J. Bone Miner. Res.* 2008. no. 23(10). P. 1576-1583. DOI: 10.1359/jbmr.080503.
20. Ghebranious N., Raggio C.L., Blank R.D., McPherson E., Burmester J.K., Ivacic L., Rasmussen K., Kislow J., Glurich I., Jacobsen F.S., Faciszewski T., Pauli R.M., Boachie-Adjei O., Giampietro P.F. Lack of evidence of WNT3A as a candidate gene for congenital vertebral malformations. *Scoliosis.* 2007. no. 2. P. 13. DOI: 10.1186/1748-7161-2-13.
21. Giampietro P.F., Raggio C.L., Reynolds C., Ghebranious N., Burmester J.K., Glurich I., Rasmussen K., McPherson E., Pauli R.M., Shukla S.K., Merchant S., Jacobsen F.S., Faciszewski T., Blank R.D. DLL3 as a candidate gene for vertebral malformations. *Am. J. Med. Genet. A.* 2006.no. 140(22). P. 2447-2453. DOI: 10.1002/ajmg.a.31509.
22. Ghebranious N., Burmester J.K., Glurich I., McPherson E., Ivacic L., Kislow J., Rasmussen K., Kumar V., Raggio C.L., Blank R.D., Jacobsen F.S., Faciszewski T., Womack J., Giampietro P.F. Evaluation of SLC35A3 as a candidate gene for human vertebral malformations. *Am. J. Med. Genet. A.* 2006.no. 140(12). P. 1346-1348. DOI: 10.1002/ajmg.a.31307.
23. Sparrow D.B., Chapman G., Smith A.J., Mattar M.Z., Major J.A., O'Reilly V.C., Saga Y., Zackai E.H., Dormans J.P., Alman B.A., McGregor L., Kageyama R., Kusumi K., Dunwoodie S.L. A mechanism for gene-environment interaction in the etiology of congenital scoliosis. *Cell.* 2012. no. 149(2). P. 295-306. DOI: 10.1016/j.cell.2012.02.054.
24. Wu N., Yuan S., Liu J., Chen J., Fei Q., Liu S., Su X., Wang S., Zhang J., Li S., Wang Y., Qiu G., Wu Z. Association of LMX1A genetic polymorphisms with susceptibility to congenital scoliosis in Chinese Han population. *Spine (Phila Pa 1976).* 2014. no. 39(21). P. 1785-1791. DOI: 10.1097/BRS.0000000000000536.
25. Windpassinger C., Piard J., Bonnard C., Alfadhel M., Lim S., Bisteau X., Blouin S., Ali N.B., Ng A., Lu H., Tohari S., Talib S., van Hul N., Caldez M.J., van Maldergem L., Yigit G., Kayserili H., Youssef S.A., Coppola V., de Bruin A., Tessarollo L., Choi H., Rupp V., Roetzer K., Roschger P., Klaushofer K., Altmuller J., Roy S., Venkatesh B., Ganger R., Grill F., Chehida F.B., Wollnik B., Altunoglu U., Al Kaissi A., Reversade B., Kaldis P. CDK10 mutations in humans and mice cause

- severe growth retardation, spine malformations, and developmental delays. *Am. J. Hum. Genet.* 2017. no. 101(3). P. 391-403. DOI: 10.1016/j.ajhg.2017.08.003.
26. Marini C., Hardies K., Pisano T., May P., Weckhuysen S., Cellini E., Suls A., Mei D., Balling R., Jonghe P.D., Helbig I., Garozzo D., Guerrini R. Recessive mutations in SLC35A3 cause early onset epileptic encephalopathy with skeletal defects. *Am J Med Genet A.* 2017. no. 173(4). P. 1119-1123. DOI: 10.1002/ajmg.a.38112.
27. Edmondson A.C., Bedoukian E.C., Deardorff M.A., McDonald-McGinn D.M., Li X., He M., Zackai E.H. A human case of SLC35A3-related skeletal dysplasia. *Am. J. Med. Genet. A.* 2017. no. 173(10). P. 2758-2762. DOI: 10.1002/ajmg.a.38374.
28. Wu N., Ming X., Xiao J., Wu Z., Chen X., Shinawi M., Shen Y., Yu G., Liu J., Xie H., Gucev Z.S., Liu S., Yang N., Al-Kateb H., Chen J., Zhang J., Hauser N., Zhang T., Tasic V., Liu P., Su X., Pan X., Liu C., Wang L., Shen J., Shen J., Chen Y., Zhang T., Zhang J., Choy K.W., Wang J., Wang Q., Li S., Zhou W., Guo J., Wang Y., Zhang C., Zhao H., An Y., Zhao Y., Wang J., Liu Z., Zuo Y., Tian Y., Weng X., Sutton V.R., Wang H., Ming Y., Kulkarni S., Zhong T.P., Giampietro P.F., Dunwoodie S.L., Cheung S.W., Zhang X., Jin L., Lupski J.R., Qiu G., Zhang F. TBX6 null variants and a common hypomorphic allele in congenital scoliosis. *N. Engl. J. Med.* 2015. no. 372. P. 341-350. DOI: 10.1056/NEJMoa1406829.
29. Fei Q., Wu Z., Wang H., Zhou X., Wang N., Ding Y., Wang Y., Qiu G. The association analysis of TBX6 polymorphism with susceptibility to congenital scoliosis in a Chinese Han population. *Spine (Phila Pa 1976).* 2010. no. 35(9). P. 983-988. DOI: 10.1097/BRS.0b013e3181bc963c.
30. Hubaud A., Pourquie O. Signalling dynamics in vertebrate segmentation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014. no. 15(11). P. 709-21. DOI: 10.1038/nrm3891.
31. Shimojima K., Inoue T., Fujii Y., Ohno K., Yamamoto T. A familial 593-kb microdeletion of 16p11.2 associated with mental retardation and hemivertebrae. *Eur. J. Med. Genet.* 2009. no. 52(6). P. 433-435. DOI: 10.1016/j.ejmg.2009.09.007.
32. Al-Kateb H., Khanna G., Filges I., Hauser N., Grange D.K., Shen J., Smyser C.D., Kulkarni S., Shinawi M. Scoliosis and vertebral anomalies, additional abnormal phenotypes associated with chromosome 16p11.2 rearrangement. *Am. J. Med. Genet. A.* 2014. no. 164A(5). P. 1118-1126. DOI: 10.1002/ajmg.a.36401.
33. Takeda K., Kou I., Kawakami N., Iida A., Nakajima M., Ogura Y., Imagawa E., Miyake N., Matsumoto N., Yasuhiko Y., Sudo H., Kotani T., Nakamura M., Matsumoto M., Watanabe K., Ikegawa S. Compound heterozygosity for null mutations and a common hypomorphic risk haplotype in TBX6 causes congenital scoliosis. *Hum. Mutat.* 2017. no. 38(3). P. 317-323. DOI: 10.1002/humu.23168.

34. Lefebvre M., Duffourd Y., Jouan T., Poe C., Jean-Marjais N., Verloes A., St-Onge J., Riviere J.B., Petit F., Pierquin G., Demeer B., Callier P., Thauvin-Robinet C., Faivre L., Thevenon J. Autosomal recessive variations of TBX6, from congenital scoliosis to spondylocostal dysostosis. *Clin. Genet.* 2017. no. 91(6). P. 908-912. DOI: 10.1111/cge.12918.
35. Feng X., Cheung J., Je J.; Cheung, P., Chen S., Yue M., Wang N., Choi V., Yang X., Song Y. Q., Luk K., Gao B. Genetic variants of TBX6 and TBXT identified in patients with congenital scoliosis in Southern China. *J. Orthop. Res.* 2020.no. 39(5). P. 971-988. DOI: 10.1002/jor.24805.
36. Liu J., Wu N., Yang N., Takeda K., Chen W., Li W., Du R., Liu S., Zhou Y., Zhang L., Liu Z., Zuo Y., Zhao S., Blank R., Pehlivan D., Dong S., Zhang J., Shen J., Si N., Wang Y., Liu G., Li S., Zhao Y., Zhao H., Chen Y., Zhao Y., Song X., Hu J., Lin M., Tian Y., Yuan B., Yu K., Niu Y., Yu B., Li X., Chen J., Yan Z., Zhu Q., X., Chen X., Su J., Zhao X., Wang X., Ming Y., Li X., Raggio C.L., Zhang B., Weng X., Zhang S., Zhang X., Watanabe K., Matsumoto M., Jin L., Shen Y., Sobreira N.L., Posey J.E., Giampietro P.F., Valle D., Liu P., Wu Z., Ikegawa S., Lupski J.R., Zhang F., Qiu G. TBX6-associated congenital scoliosis (TACS) as a clinically distinguishable subtype of congenital scoliosis: further evidence supporting the compound inheritance and TBX6 gene dosage model. *Genet Med.* 2019. no. 21(7). P. 1548-1558. DOI: 10.1038/s41436-018-0377-x.
37. Tinker S.C., Gilboa S.M., Moore C.A., Kim Waller D., Simeone R.M., Kim S.Y., Jamieson D.J., Botto L.D., Reefhuis J., and National Birth Defects Prevention Study. Specific birth defects in pregnancies of women with diabetes: National Birth Defects Prevention Study, 1997-2011. *Am J Obstet Gynecol.* 2020. no. 222(2). P. 176.e1-176.e11. DOI: 10.1016/j.ajog.2019.08.028.
38. Hackshaw A., Rodeck C., Boniface S. Maternal smoking in pregnancy and birth defects, a systematic review based on 173 687 malformed cases and 11.7 million controls. *Hum. Reprod. Update.* 2011. no. 17. P. 589-604. DOI: 10.1093/humupd/dmr022.
39. Alexander P.G., Tuan R.S. Role of environmental factors in axial skeletal dysmorphogenesis. *Birth Defects Res. C. Embryo. Today.* 2010. no. 90. P. 118-132. DOI: 10.1002/bdrc.20179.
40. Hesemann J., Lauer E., Ziska S., Noonan K., Nemeth B., Scott-Schwoerer J., McCarty C., Rasmussen K., Goldberg J.M., Sund S., Eickhoff J., Raggio C.L., Giampietro P. F. Analysis of maternal risk factors associated with congenital vertebral malformations. *Spine (Phila Pa 1976).* 2013. no. 38(5). P. E293-E298. DOI: 10.1097/BRS.0b013e318283be6e.
41. Safarinejad M.R., Safarinejad S., Shafiei N., Safarinejad, S. Association of genetic polymorphism of glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1, GSTP1) with bladder cancer susceptibility. *Urol. Oncol.* 2013. no. 31(7). P. 1193-1203. DOI: 10.1016/j.urolonc.2011.11.027.
42. Bhardwaj A., Bahl C., Sharma S., Singh N., Behera D. Interactive potential of genetic polymorphism in Xenobiotic metabolising and DNA repair genes for predicting lung cancer predisposition and overall survival in North Indians. *Mutat. Res.* 2018. no. 826. P. 15-24. DOI:

10.1016/j.mrgentox.2017.12.006.

43. Tsepokina A.V., Ponasenko A.V., Shabaldin A.V. Analysis of the interconnection of the GSTP1, CYP1A2, CYP1A1 genes in children with congenital heart diseases. *Ros. Vestn. Perinatol. I. Pediatr.* 2020. no. 65(3). P. 39-43 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-3-39-43.

44. Khalchitsky S.E., Sogoyan M., Vissarionov S.V., Baidurashvili A.G., Kokushin, D.N., Filippova A.N. Analysis of xenobiotics biotransformation and DNA repair genes as factors of aetiology, pathogenesis and criteria of progression in children with congenital spine deformities. *J. Clin. Diag. Res.* 2018. no. 12(12). P. RC21-RC25. DOI: 10.7860/JCDR/2018/37702.12517.

45. Gao X., Gotway G., Rathjen K., Johnston C., Sparagana S., Wise C.A. Genomic analyses of patients with unexplained early onset scoliosis. *Spine Deform.* 2014. no. 2(5). P. 324-32. DOI: 10.1016/j.jspd.2014.04.014.