

ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ ТУБЕРКУЛЕЗНОГО СПОНДИЛИТА
ПУТЕМ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА В ОЧАГЕ
КОСТНОЙ ДЕСТРУКЦИИ

Скорняков С.Н., Дьячков И.А., Медвинский И.Д., Сабадаш Е.В.,

Мотус И.Я., Новиков Б.И.

ФГБУ «УНИИФ» Минздрава России, г. Екатеринбург

OPTIMIZING OF THERAPY OF TUBERCULOSIS SPONDYLITIS BY
STIMULATING THE REGENERATION POTENTIAL IN THE FOCUS OF
BONE DESTRUCTION

Skornyakov S.N., Dyachkov I.A., Medvinsky I.D., Sabadash E.V., Motus I.Ya.

Novikov B.I.

FSSO «Ural scientific research Institute of Phthisiopulmonology»,

Ekaterinburg

Автор, ответственный за переписку

Дьячков Илья Андреевич, врач-ординатор ФГБУ «УНИИФ» Минздрава

России

620039, г. Екатеринбург, 22 партсъезда, 50

ФГБУ Уральский научно-исследовательский институт
фтизиопульмонологии,

Тел.моб. +7 950 200 52 53

E-mail: ilia.dya4koff@yandex.ru

Резюме. В статье приведен обзор литературы, посвященный влиянию гена RUNX2 на процессы костной регенерации. Обсуждаются особенности костной регенерации на фоне туберкулезного поражения костной ткани. Предлагается возможный путь повышения качества хирургического лечения у пациентов с костно-суставным туберкулезом с использованием современных достижений трансгенной инженерии. Описывается вероятный патофизиологический механизм, позволяющий понять роль ММСК-RUNX2 трансфектантов в стимуляции костной регенерации в туберкулезном очаге костной деструкции.

Ключевые слова: туберкулез, спондилит, костная регенерация, RUNX2, ММСК, трансфекция

Summary. The article presents a literature review on the impact of the RUNX2 gene in the processes of bone regeneration. Discusses features of bone regeneration in the background tuberculous lesions of bone. Offers a possible way of improving the quality of surgical treatment in patients with osteo-articular tuberculosis using modern achievements of transgenic engineering. Describes the probable pathophysiological mechanism to understand the role MMSK-RUNX2 of transfectants in stimulating bone regeneration in tuberculous lesion of bone destruction.

Key words: tuberculosis, spondylitis, bone regeneration, RUNX2, MMSC, transfection

Введение. Проблема так называемых социально-значимых заболеваний по-прежнему актуальна. Данная проблема касается и заболеваний опорно-двигательного аппарата. Пациенты указанного профиля в подавляющем большинстве нуждаются в высокотехнологичной медицинской помощи, а в послеоперационном периоде - уходе и реабилитации. При этом сроки полного или частичного восстановления трудоспособности, а также качество жизни зависят не столько от адекватности и своевременности оказанного оперативного пособия, сколько от регенераторных возможностей костной ткани конкретного пациента [1, 9-11].

Клиницисты, занимающиеся коррекцией деструкции костной ткани различной этиологии, как то: остеопороз, саркома или метастазы, туберкулез, считают перспективным изучение вопроса индукции костной регенерации извне. На данном этапе представлений о костной регенерации и факторах, влияющих на нее, актуальной представляется задача разработки единой системы взглядов, которые будут отражать роль генов-индукторов в процессах пролиферации и дифференцировки остеобластов. В дальнейшем это может позволить улучшить качество оказания медицинской помощи данной группе пациентов [32, 33, 37, 39, 43- 45, 50].

По-прежнему одной из ведущих причин инвалидизирующего поражения костной ткани является туберкулез. Статистически заболеваемость населения костно-суставным туберкулезом выглядит следующим образом. За последние 20 лет общий показатель заболеваемости внелегочными формами туберкулеза стабилизировался на цифрах от 2,7 до 3,0 на 100000 населения, а на долю костно-суставного туберкулеза приходится от 22,2 - 25,9%. При этом туберкулезное поражение костных структур позвоночно-двигательных сегментов (ПДС) в общей структуре костно-суставного туберкулеза, по данным разных авторов, составляет от 45 до 90%. По нашим данным, в подавляющем большинстве случаев причиной спондилита является также туберкулез (рис.1) [1,9-11, 8, 12, 14-17, 19, 31].

К сожалению, на сегодняшний день туберкулезный спондилит (ТС) характеризуется большим количеством разнообразных осложнений: пара- и превертебральные абсцессы – 40,4%, эпидуральные абсцессы – 5,6% и свищи – 8,4%, глубокая нижняя спастическая параплегия - 15,7%, менингизм – 5,1%, нарушение функций тазовых органов – 18,5% [1, 23]. При этом результаты оперативного лечения часто отличаются от ожидаемых, даже несмотря на широкий спектр высокоточного навигационного оборудования, позволяющего осуществлять максимально эффективные оперативные приемы в соответствии с принципами хирургии, разработанными А.Ю. Созон-Ярошевичем(1954) [30]. Отягощающими факторы, усиливающими процессы резорбции костных компонентов ПДС, являются следующие [9, 10, 30, 8, 12, 14-17, 19, 31].

Во-первых, рост заболеваемости туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ ТБ). По оценке ВОЗ на 2008 г. доля всех случаев заболеваемости МЛУ ТБ на территории Российской Федерации составила 42,4 на 100 тыс. населения, среди новых случаев - 15,8, при этом общее число больных МЛУ ТБ – 38000 человек. По данным фтизиатрической службы России (ФСР) за 2010 г. заболеваемость МЛУ ТБ среди впервые выявленных больных, включая Федеральную службу исполнения наказаний, составило – 17,3 на 100 тыс. населения, а общее число больных – 39759

человек. При этом схем, адекватных для лечения МЛУ ТБ, не существует, а попытки создать такие по-прежнему безрезультатны [1, 2, 6, 13, 20, 23-25, 26-29].

Во-вторых, ассоциация ТС и инфицирования вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). По официальным данным в период с 2007 по 2010 год количество зарегистрированных случаев туберкулез-ВИЧ выросло с 14293 до 24963 случаев (рис.2) [10, 25].

В ходе нашего исследования по изучению патоморфологии и клинического течения ТС в группе ВИЧ-инфицированных пациентов выяснилось, что между сроками костной регенерации и общим количеством популяции CD4+ лимфоцитов корреляция отсутствует [11].

Анализируя собственный опыт ведения пациентов с сочетанной инфекцией ТС-ВИЧ, и литературные данные, мы сочли наиболее целесообразным сосредоточиться на изучении факторов, влияющих на процесс формирования костного блока [9, 10].

Для того чтобы решить стоящую перед нами задачу, необходимо понять, как можно регулировать работу системы «консолидация-резорбция» костной ткани *in vivo*. Одним из возможных решений может стать популяризация представлений о генах-индукторах. В зарубежной литературе встречаются отдельные работы, посвященные этому вопросу. По мнению ряда исследователей, непосредственный интерес представляет механизм действия гена runt-related transcription factor-2 (RUNX2) [32, 33, 37, 39, 43, 44, 45, 50].

Роль гена RUNX2 в регуляции процесса костной регенерации

RUNX2 представляет собой костно-специфический транскрипционный фактор, который играет важную роль в пренатальном формировании костной ткани и ее постнатальном развитии, поскольку способен регулировать остеогенную дифференцировку остеобластов, подавляя пролиферацию их предшественников. Замечено, что увеличение экспрессии гена RUNX2 наблюдается во время дифференцировки остеобластов. Данный факт может

свидетельствовать в пользу концепции «ген RUNX2 - проапоптотический фактор в жизненном цикле остеобластов»[33].

При рассмотрении указанного вопроса необходимо помнить о целом ряде критических событий в клеточном цикле остеобластов, например, об апоптозе, который на субклеточном и биохимическом уровнях будет выглядеть следующим образом. Ведущую роль играет цитокин TGF-beta, который действует как антипролиферативный фактор в нормальных эпителиальных клетках и на ранних стадиях онкогенеза. В соответствии с каноническим путем апоптоза, димер TGF-b путем ряда последовательных реакции при участии группы протеинов-рецепторов SMAD преобразуется в гетеродимерный комплекс (Рис.3) [38].

С другой стороны, белки SMAD, согласно литературным данным, принимают участие в убиквитинизации или Smurf1. Принципиальная схема указанного процесса такова: ФНО- α индуцирует экспрессию Smurf1, далее происходит активация сигнальных молекул NF- κ B и MAPKs, которые подавляют дифференцировку остеобластов. Другими участниками Smurf1 являются молекулы JNK и ERK, ингибирование которых стимулирует дифференцировку остеобластов. Напротив, ФНО- α -опосредованная активация ERK способна повышать экспрессию Smurf1 RUNX2-зависимым способом, а при сверхэкспрессии гена RUNX2 происходит доза-зависимая активация промотера Smurf1. Таким образом, восстанавливается ФНО- α -индуцированная экспрессия Smurf1. Но в RUNX2-нулевых клетках экспрессия Smurf1 не наступает [37,38].

Влияние ФНО- α на дифференцировку остеобластов можно продемонстрировать также на примере культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК). При трансфекции ММСК малыми интерферирующими РНК (siRNA) скорость пролиферации стволовых клеток замедляется. Причем в siRNA-трансфицированной популяции ММСК наблюдается увеличение экспрессии циклинов A1, B1, и E1 и уменьшение циклинов ингибитора p21. В

соответствии с механизмом описываемого процесса в дальнейшем будет происходить подавления активности каспазы-3 и экспрессии апоптического протеина bax, что обеспечит защиту ММСК от антипролиферативных и апоптических эффектов ФНО- α [44].

Вторым вариантом инициации транскрипции является ФНО- α /JNK/AP-1 сигнальный путь, работу которого активирует протеин активации-1 (AP-1). В интерфазу клеточного цикла под действием RUNX2 происходит транскрипция РНК-полимеразы-1 и -2 -зависимых генов рибосомных РНК, а также дублирование «неподвижной фракции» указанного гена. Следовательно, JNK/AP-1 и ERK/RUNX2 являются сигнальными путями медиации ФНО- α -зависимой транскрипции Smurf1. При этом в обоих случаях результат один - угнетение дифференцировки остеобластов. Вместе с тем необходимо отметить тот факт, что экспрессия RUNX2/p57 в остеобластах осуществляется с помощью P1-промоутера, в том числе и гомеодомена WNT- и BMP-сигнальных медиаторов. Регуляцию указанной экспрессии обеспечивает кодирующий транскрипционный фактор C/EBP β с помощью сайта транскрипции C/EBP-II. В результате RUNX2 взаимодействует с P1-промоутером как в ММСК, так и в пре- и остеобластах [32].

Взаимосвязь гена RUNX2 и ряда ключевых эндогенных факторов в процессах патофизиологических механизмов костной регенерации

В процессах ремоделирования костной ткани важную роль играют и такие белки как амфотерин (HMGB-1) и склеростин. Оба белка являются факторами резорбции костной ткани. Амфотерин или HMGB-1 представляет собой негистоновый острофазовый белок и относится к группе аларминов. В случае аутофагии или апоптоза остеобластов амфотерин и ряд других иммунностимуляторов высвобождается и активирует макрофаги. Последние продуцируют провоспалительные цитокины ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α , которые стимулируют остеокластогенез, стимулирующий интенсивность костной резорбции. При недостаточности регенераторного потенциала костной ткани формируется порочный круг (рис.5) [34, 47].

Склеростин - антагонист активности костных морфогенетических белков (BMP), его биосинтез кодируется геном SOST. Склеростин, связываясь с рецепторами липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП-5 и -6), подавляет работу Wnt-сигнальной системы. Поскольку продукты активации Wnt-сигнального пути инициируют BMP-опосредованную активацию костной щелочной фосфатазы, то блокирование Wnt-канала обеспечивает угнетение костной регенерации (рис.4). Соответственно избыток склеростина блокирует регенераторные стимулы и способствует резорбции костной ткани. Но при дефекте кодирующего гена SOST наблюдается избыточная пролиферация остеобластов, в том числе с формированием эктопических очагов остеогенеза (склеростеоз) [35, 40-42, 46, 48, 49].

За регуляцию угнетения дифференцировки остеобластов путем замедления процессов клеточного цикла ответственна система тирозинкиназа-Src/Yes. При этом функции медиации в данной системе выполняет Yes-обусловленный протеин (YAP). Последний связывает ген RUNX2, подавляя его экспрессию по доза-зависимому сценарию. При ингибировании Src/Yes-киназы за счет блокады фосфорилирования тирозина YAP блокируется диссоциация эндогенных RUNX2-YAP комплексов, что препятствует связыванию YAP с субъядерными доменами и тем самым повышает экспрессию гена эндогенного остеокальцина [45].

В литературе описано влияние гена RUNX2 на пролиферацию остеобластов в зависимости от степени оксигенации костной ткани, в частности от гипоксии. В *in vivo* указанная ситуация наблюдается на 7-8 неделе пренатального периода, а также может быть смоделирована в культуре ММСК. В условиях гипоксии, под действием химических и генетических стимулов происходит стабилизация гипоксия-индуцированного фактора (HIF-1 α). Последний увеличивает интенсивность ангиогенных сигналов, в особенности сосудистого фактора эндотелиального роста (VEGF). Результат - инициация костной регенерации [50].

При дефиците RUNX2 наблюдается угнетение экспрессии VEGF и, следовательно, ангиогенеза костной ткани в целом. Напротив, при сверхэкспрессии RUNX2 наблюдается стимуляция HIF-1 α и VEGF. При этом стимуляция HIF-1 α происходит вне зависимости от степени оксигенации ткани. Важно заметить, что в условиях нормальной оксигенации и при достаточном уровне RUNX2 существенно повышается уровень HIF-1 α [50].

Kwon T.G. and al. (2011) так же указывают на тот факт, что RUNX2-эффект может быть подавлен siRNA-обусловленной супрессией HIF-1 α и полностью заблокирован HIF-1 α ингибитором, эхиномицином. С другой стороны RUNX2-siRNA-трансфицированные преosteобласты подавляют действие VEGF вне зависимости от степени оксигенации. При этом даже в RUNX2-пустых клетках гипоксия стимулирует VEGF-эффекты. В используемой культуре ММСК RUNX2 и HIF-1 α были локализованы в ядрах клеток MC3T3E1 преosteобластов. В *in vivo* при иммуннопредципитации хроматина локализация RUNX2 и HIF-1 α обнаруживается также на промоторе VEGF. Следовательно, RUNX2 оказывает влияние на HIF-1 α , стимулируя тем самым ангиогенез костной ткани. Вероятно, в некоторой степени существует потребность остеобластов в RUNX2 при васкуляризации кости [50].

На нейро-гуморальном уровне в регенерации костной ткани принимает участие целый набор разнообразных гормонов, в частности прогормоны витамина Д₃. Последние даже при небольшом количестве рецепторов к витамину Д (РВД) могут моделировать RUNX2-связывание ДНК. Вместе с тем холекальцеферол и другие прогормоны витамина Д₃ являются селективными ингибиторами пролиферации RUNX2-положительных эндотелиоцитов и остеобластов (RUNX2-нулевые клетки будут интактны) и оказывают влияние на модуляцию деятельности RUNX2 в ангиогенной регуляции, обеспечивая ремоделирование костной ткани. Свой вклад в костную регенерацию вносит паратгормон (ПТГ), который, подавляя экспрессию гена SOST, угнетает резорбирующее действие склеростина. В условиях физиологической нормы ПТГ оказывает анаболический эффект на костную ткань, но на SOST-пустые

клетки не влияет. В опыте на мышах и в клинических испытаниях было продемонстрировано, что ни режим, ни доза введенного ПТГ на SOST-пустые клетки не оказывает влияния. Антагонистом ПТГ является пептидный гормон парафолликулярных С-клеток щитовидной железы - кальцитонин. Указанный гормон, обеспечивая минерализацию костной ткани, играет ключевую роль в ремоделировании костной ткани [39, 40, 46].

Ген RUNX2, наряду с рассмотренным выше, может регулировать созревание хондроцитов, каким-то (неизученным) образом воздействуя на гипертрофический хондроцит-специфичный тип X генов коллагена (Col10a1). В условиях *in vivo* было установлено наличие корреляции между RUNX2 и Col10a1-экспрессией. В гипертрофированных хондроцитах RUNX2 способен повышать регуляцию Col10a1-экспрессии и других маркеров генов, например Sox9, что позволяет влиять на минерализацию клеточного матрикса, замедлять созревание хондроцитов и интенсивность апоптоза, и, соответственно, снижать степень эндохондриальной оксификации [43].

Следовательно, современный взгляд на ген RUNX2 как на ДНК-связывающий транскрипционный фактор, который опосредованно, через различные системы регуляции, стимулирует процесс регенерации костной ткани, представляется обоснованным.

Из всего вышесказанного можно сделать следующий вывод. Наиболее перспективным способом решения рассматриваемой проблемы является создание RUNX2-трансфицированной культуры ММСК (ММСК-RUNX2). К тому же на сегодняшний день, как в зарубежной, так и в отечественной литературе присутствует множество публикаций, посвященных вопросам трансгенной инженерии [3-5, 18, 21, 22, 32, 44].

Возможности трансгенной инженерии в стимуляции костной регенерации
с применением гена RUNX2

В работах, посвященных клеточной терапии ММСК, присутствует ряд общих моментов. ММСК, являясь плюрипотентными клетками, способны осуществлять конституционную и эндодермальную дифференцировку клеток

соединительной ткани. Обе разновидности тканевой архитектоники осуществляются за счет действия специфических стимуляторов и экспрессии в мРНК стволовых клеток таких генов, которые специфичны для хондроцитов, остеобластов, кардиомиоцитов, адипоцитов, гепатоцитов, клеток эндотелия и др. При инфузии ММСК в поврежденные ткани происходит миграция этих клеток, в основе которой лежит экспрессия молекул CXCR4 и c-met рецепторов хемокиновstromalderivedfactor (SDF-1) и ростовой фактор гепатоцитов (HGF) соответственно. Градиент концентрации указанных хемокинов является регламентирующим при тканевом повреждении. Именно взаимодействие SDF-1-CXCR4 и HGF-c-met определяет направленность ММСК к месту необходимой репарации органа или ткани [21, 22, 26-29].

В настоящее время накоплен обширный материал, доказывающий системный ММСК-эффект, обусловленный секрецией таких растворимых факторов, как ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-14, ИЛ-15, макрофагальный колониестимулирующий фактор (КСФ), Flt-3 лиганды, фактор стволовой клетки и многие другие. Продукция таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α способствует направленной миграции нейтрофилов и макрофагов в место скопления патогенов, задержке апоптоза нейтрофилов и их активации. ИЛ-6 и ИЛ-12 усиливают пролиферацию Т-лимфоцитов и их дифференцировку, а ИЛ-15 обеспечивает активацию Т-лимфоцитов. Кроме того, ММСК имеют следующие свойства, делающие их наиболее перспективными для применения в цитотерапии: 1) легкость в получении; 2) высокий пролиферативный потенциал; 3) генетическая стабильность; 4) воспроизводимость основных характеристик (способность к дифференцировке, миграционная активность) от пассажа к пассажи [21, 22, 26-29].

Концепция клеточной терапии ММСК развивается уже давно. Многочисленные научно-исследовательские институты по всему миру, в том числе и в России, занимаются изучением этого вопроса. К сожалению,

приходится констатировать наличие ряда трудностей по внедрению результатов научных исследований в практическое здравоохранение. Несмотря на это есть отдельные примеры успешной реализации подобных достижений. Во фтизиатрии также существуют попытки использовать указанный опыт. Описаны немногочисленные случаи аутологичной трансплантации ММСК при МЛУ ТБ. На фоне внутривенного введения ММСК в сочетании со стандартной химиотерапией была отмечена положительная динамика: частичная клиническая реконвалесценция и стойкий регресс рентгено-томографической картины заболевания. В процессе изучения природы терапевтического эффекта от инъекций ММСК при МЛУ ТБ, у нас возникла гипотеза о стимуляции регенераторного потенциала костной ткани при туберкулезном спондилите культурой ММСК-RUNX2 [3-5, 18, 26-29].

В соответствии с классическими представлениями схему патогенеза туберкулезного поражения костной ткани можно представить следующим образом (рис.6.)[23]. При этом поначалу, под влиянием цитокинов, наблюдаются не только процессы, способствующие костной резорбции, но и компенсаторная ФНО-а-обусловленная стимуляция костной регенерации (рис.7). Вместе с тем регенераторная компенсация за счет быстрого истощения RUNX2 длится недолго, а в RUNX2-пустых клетках она отсутствует вовсе [37-39].

Обоснование терапевтического эффекта от использования ММСК (RUNX2)-трансфектантов при туберкулезном воспалении

На основании всего вышеизложенного применение культуры ММСК-RUNX2 позволит получить 2 основных терапевтических эффекта: иммуностимулирующий (за счет увеличения макрофагального пула) и стимулирующий костную регенерацию (за счет синтеза предшественников преостеобластов и восполнения дефицита гена RUNX2 в остеобластах).

Для того чтобы доказать гипотезу о вероятном клиническом эффекте от применения высокоостеоиндуктивного материала в лечении костно-

суставного туберкулеза, в частности ТС, надо создать экспериментальную культуру ММСК-RUNX2. Технические предпосылки для создания такой культуры представлены выше. Основная цель - создание "депо" гена RUNX2 в эндогенной популяции остеобластов тех тканей, которые подверглись туберкулезной деструкции. При этом в результате пассивного перемещения молекул данного гена через ядерный поровый комплекс мы получим ММСК-трансфектанты. Для оптимального клинического эффекта необходимо создать условия для интеграции гена в хромосомы ММСК, т.е. обеспечить их стабильную трансфекцию. Желаемый результат может быть достигнут методом электропорации [21,22].

Необходимо также помнить о качественном составе ММСК-трансфектантов. Поскольку ряд авторитетных авторов, занимающихся вопросами регенеративной медицины и созданием ММСК-трансфектантов в частности, указывают на нецелесообразность трансфекции с использованием менее чем 4-5 фрагментов генетической информации, очевидно, рассматриваемый нами ген является основным, но не единственным для создания культуры ММСК с высоким остеоиндуктивным потенциалом [21,22].

Таким образом, развивая представленную в данной статье идею о создании высокоостеоиндуктивного материала, в конечном итоге можно существенно повысить качество оказываемой хирургической помощи пациентам с ТС. А именно: на начальных стадиях заболевания - замещение казеозно-некротического очага с формированием костного блока, на поздних стадиях из-за разрушения костных балок - прекращение дальнейшего прогрессирования костной деструкции. Следовательно, указанный клинический эффект минимизирует количество операций, включающих более двух этапов. Важно помнить, что клеточная терапия не отменяет химиотерапию, поэтому желаемый терапевтический эффект возможно получить только на фоне использования существующих подходов к химиотерапии туберкулеза.

Литература

1. Заболеваемость туберкулезом внелегочных локализаций в России // Туберкулез в Российской Федерации, 2010 г. Аналитический обзор статистических показателей по туберкулезу, используемых в Российской Федерации. – М., 2011 г. – 280 с.
2. Инновации и традиции: единство взглядов и усилий в борьбе с туберкулезом // Медицина и Здоровье. – 2012 г. - №4. – С. 22-24
3. Белявская Т.М., Скридловская Е.А., Конопляников А.Г. и соавт. Аутологичные костномозговые стволовые клетки в хирургическом лечении больных ишемической болезнью сердца с хронической сердечной недостаточностью // Аутологичные стволовые клетки: экспериментальные и клинические исследования / Материалы Всероссийской научной школы-конференции для молодежи. – Москва, 21-26 сентября 2009 г. – С.12-13
4. Буравкова Л.Б., Капланский А.С., Андреева Е.Р. и соавт. Регенерация трубчатой кости при введении суспензии ММСК // Аутологичные стволовые клетки: экспериментальные и клинические исследования / Материалы Всероссийской научной школы-конференции для молодежи. – Москва, 21-26 сентября 2009г. – С.14-15
5. Бурганова Г.Р., Абдулхаков С.Р., Титова М.А. и соавт. Морфологические изменения в печени больных хроническим алкогольным гепатитом после трансплантации аутологичных стволовых кроветворных клеток // Аутологичные стволовые клетки: экспериментальные и клинические исследования / Материалы Всероссийской научной школы-конференции для молодежи. – Москва, 21-26 сентября 2009г. – С.13-14
6. Васильева И.А. и соавт. Лечебный эффект системной трансплантации культивируемых аутогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у больных с резистентными формами туберкулеза легких. // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. - Т.2, №1. – С.77-80.

7. Воронкова О.В. и соавт. Особенности иммунного дисбаланса при различных клинико-патогенетических вариантах остро прогрессирующего туберкулеза легких // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. - №3. – с.42-50

8. Голубев Д.Н., Чертков А.К., Климов М.Е. Внеочаговая транспедикулярная фиксация позвоночника при воспалительных заболеваниях позвоночника // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом (Материалы Всеросс. науч. конф. с международным участием. Под ред. профессора П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, профессора Ю.Н. Левашева) – СПб., 2010. – с.261

9. Дьячков И.А., Скорняков С.Н. и соавт. К вопросу о стандартизации ведения пациентов с туберкулезным спондилитом // Достижения, инновационные направления, перспективы развития и проблемы современной медицинской науки, генетики и биотехнологии: Материалы 3-й Международной научно-практической конференции. Екатеринбург: Изд-во "Буки-Веди", 2012. С. 130-131

10. Дьячков И.А., Екимова Д.Е. Стандартизация технологии выявления и лечения туберкулеза позвоночника // 67-ая Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения». – Екатеринбург: Изд-во «УГМА» 2012 г. – С.377-379

11. Екимова Д.Е., Дьячков И.А. Взаимосвязь количества субпопуляций Т-лимфоцитов CD4+ и сроков регенерации костной ткани при ВИЧ-ассоциированном туберкулезном спондилите // 68-ая Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения». – Екатеринбург: Изд-во: «УГМА», 2013 г. - С.427-429.

12. Иванов В.М., Гусева В.Н., Шендерова Р.И. и соавт. Клинико-Лабораторные особенности при туберкулезе и остеомиелите позвоночника // Проблемы туберкулеза. – 2003. - №10, с.34-37

13. Коровкин В.С. Молекулярные основы лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза. // Медицинские новости. – 2003. – №9. – С.8-13

14. Куклин Д.В. Автореферат на соискание ученой степени кандидата медицинский наук. – СПб., 2005. - с.3-22

15. Куклин Д.В., Мушкин А.Ю., Дорофеев Л.А. и соавт. Корректирующие реконструкции при распространенных спондилитах с полисегментарными дефектами // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом (Материалы Всеросс. науч. конф. с международным участием. Под ред. профессора П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, профессора Ю.Н. Левашева) – СПб., 2010. – с.277-278

16. Куклин Д.В., Мушкин А.Ю., Дорофеева Л.А. и соавт. Хирургическое лечение туберкулезного спондилита с полисегментарными разрушениями// Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом (Материалы Всерос. науч. конф. с международным участием. Под ред. профессора П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, профессора Ю.Н. Левашева) – СПб., 2010. с.278-279

17. Лавров В.Н. Диагностика и лечение больных туберкулезным спондилитом // Проблемы туберкулеза. – 2001. - №12, с.30-32

18. Макеев О.Г., Улыбин А.И., Зубанов П.С. и соавт. Разработка технологии лечения нейротрофических язв при сахарном диабете // Аутологичные стволовые клетки: экспериментальные и клинические исследования / Материалы Всероссийской научной школы-конференции для молодежи. – Москва, 21-26 сентября 2009г. – С.26-27

19. Митусова Г.М., Советова Н.А., Титов А.Г., Майстрович О.А. Компьютерная томография в диагностике туберкулезного спондилита, осложненного неврологическими расстройствами// Проблемы туберкулеза. – 2003. – №6, с.13-17

20. Мишин В.Ю. Лекарственно-устойчивый туберкулез легких: клиника, диагностика и лечение. // Consiliummedicum. – 2002. – Т4, №12 (Туберкулез).

21. Пальцев М.А. Молекулярная медицина и прогресс фундаментальных наук. / Молекулярно-биологические подходы в лечении туберкулеза. // Вестник Российской академии наук. – 2002. – Т.72, № 1. - С. 13-21.

22. Патрушев Л.И. Искусственные генетические системы. – М.: Наука, 2004. – Т.1.: Генная и белковая инженерия./ Под ред. А.И. Мирошникова. - М.: Наука, 2004. – 524с.

23. Перельман М.И., Корякин В.А., Богдельникова И.В. Фтизиатрия: учебник. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2004. – 520с.

24. Решетнева Е.В., Олейник В.В. Клинические особенности туберкулезного спондилита, сочетанного с ВИЧ-инфекцией// Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом (Материалы Всерос. науч. конф. с международным участием.Под ред. профессора П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, профессора Ю.Н. Левашева) – СПб., 2010. с.248-249

25. Решетнева Е.В., Олейник В.В. Лечение туберкулеза позвоночника ВИЧ-инфицированных пациентов// Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом (Материалы Всерос. науч. конф. с международным участием.Под ред. профессора П.К. Яблонского, член-корр. РАМН, профессора Ю.Н. Левашева) – СПб., 2010. с.249-250

26. Скрыгин А.Е., Исайкин Я.И. и соавт. Применение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в терапии туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью. Режим доступа: <http://www.bsmu.by/files/publikacii/anesteziologiya/osnovn.pdf>.

27. Скрыгин А.Е. и соавт. Адьювантная терапия туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками. // Лечебное дело. – 2010. - №6. Режим доступа: <http://lech-delo.by/archiv/zhurnal-lechebnoe-delo-6-za-2010-god.html>.

28. Скрягин Е.М. и соавт. Лечение пациентов с множественно лекарственно устойчивым туберкулезом с использованием аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток. Режим доступа: <http://www.bsmu.by/files/publikacii/anesteziologiya/lechenie2.pdf>.

29. Скрягин Е.М., Гуревич Г.Л. и соавт. Основные факторы риска, клиническая презентация и эмпирическая терапия туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью. Режим доступа: <http://www.bsmu.by/files/publikacii/anesteziologiya/osnovn.pdf>.

30. Созон-Ярошевич А.Ю. Анатомо-клинические обоснования хирургических доступов к внутренним органам [Текст] / А.Ю. Созон-Ярошевич. - Л. :Медгиз, 1954. - 179 с. : ил.

31. Чертков А.К., Климов М.Е. Минимально-инвазивные стабилизирующие операции у пациентов с туберкулезным спондилитом //Фтизиатрия и пульмонология. – 2011. - №1, с. 25-30.

32. Berta Henriquez, Hugo Sepulveda, Dr. Martin Montecino et al. C/EBP β binds the P1 promoter of the Runx2 gene and up-regulates Runx2 transcription in osteoblastic cells. J Cell Physiol. 2011; 226(11): 3043-56.

33. Claudia M.J. Lucero Oscar A. Vega, Mariana M. Osorio et al. The cancer-related transcription factor Runx2 modulates cell proliferation in human osteosarcoma cell line. J Cell Physiol. 2013 Apr; 228(4): 714–23.

34. David S. Pisetsky et al. High-mobility group box protein 1 (HGMB-1): an alarmin mediating the pathogenesis of rheumatic disease // Arthritis Res and Ther. – 2008; 10(3): 209

35. Garner P. Sclerostin – a specific biochemical marker of osteocyte function. TECOmedical group, Clinical and Technical Review. INSTREM Unit, 1033, Lyon, France. - 2011

36. Guiqian Chen, Chuxia Deng, Yi-Ping Li. TGF- β and BMP Signaling in Osteoblast Differentiation and Bone Formation. Int J of Biol Sci. 2012; 8(2): 272-88.

37. Hye-Lim Lee et al. Tumor necrosis factor- α enhances the transcription of smad ubiquitination regulatory factor 1 in an activating protein-1- and runx2-dependent manner. *J Cell Physiol.* 2013 May; 228(5): 1076-86
38. Jeffrey L. Wrana et al. TGF β signals through a heteromeric protein kinase receptor complex. *Cell.* 1992 Dec 11; 71(6): 1003-14
39. Karen F. Underwood, David R D'Souza, Maria Mochin-Peters et al. Regulation of RUNX2 transcription factor–DNA interactions and cell proliferation by vitamin D3 (cholecalciferol) prohormone activity. *J Bone Miner Res.* 2012 Apr; 27(4): 913-25
40. Kramer I., Loots G.G., Studer A. et al. Parathyroid Hormone (PTH)-induced bone gain is blunted in SOST overexpressing and deficient mice. *J Bone Miner Res.* 2010 Feb; 25(2): 178-89
41. Li X., Ominsky M.S. Qing-Tian Nui et al. Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength. *J Bone Miner Res.* 2008 Jun; 23(6): 860-68
42. Li X., Zhang, Kang H et al. Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J Biol Chem.* 2005 May 20; 280(20): 19883-7
43. Ming Ding, Yaojuan Lu, Sam Abbassi et al. Targeting Runx2 expression in hypertrophic chondrocytes impairs endochondral ossification during early skeletal development. *J Cell Physiol.* – 2012 Oct; 227(10): 3446-56.
44. Olfa Ghali, Christophe Chauveau, Pierre Hardouin et al. TNF- α 's effects on proliferation and apoptosis in human mesenchymal stem cells depend on RUNX2 expression. *J Bone and Miner Res.* 2010 Jul; 25(7): 1616-26
45. Sayyed K Zaidi, Andrew J Sullivan¹, Ricardo Medina et al. Tyrosine phosphorylation controls Runx2-mediated subnuclear targeting of YAP to repress transcription. *EMBO J.* 2004 Feb 25; 23(4): 790-9
46. Sims N.A. Building bone with a SOST-PTH partnership. *J Bone and Miner Res.* 2010 Feb; 25(2): 175-7
47. Toshihisa Komori. Functions of the osteocyte network in the regulation of bone mass. *Cell Tissue Res.* 2013 May; 352(2): 191-8

48. Van Bezooijen R.L., Roelen B.A., Visser A. et al. Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist. *J Exp Med.* 2004 Mar 15; 199(6): 805-14

49. Van Bezooijen R.L., Bronckers A.L., Gortzak R.A. et al. Sclerostin in mineralized matrices and van Buchem disease. *J Dent Res.* 2009 Jun; 88(6): 569-74

50. Kwon T.G., Zhao X., Yang Q. et al. Physical and functional interactions between Runx2 and HIF-1 α induce vascular endothelial growth factor gene expression. *JCellbiochem.* 2011 Dec; 112(12): 3582-93

Рис. 1. Структура нозологических форм деструктивных поражений ОДА по данным ОКСТ ФГУ «УНИИФ» 2005-2011 гг.[3]

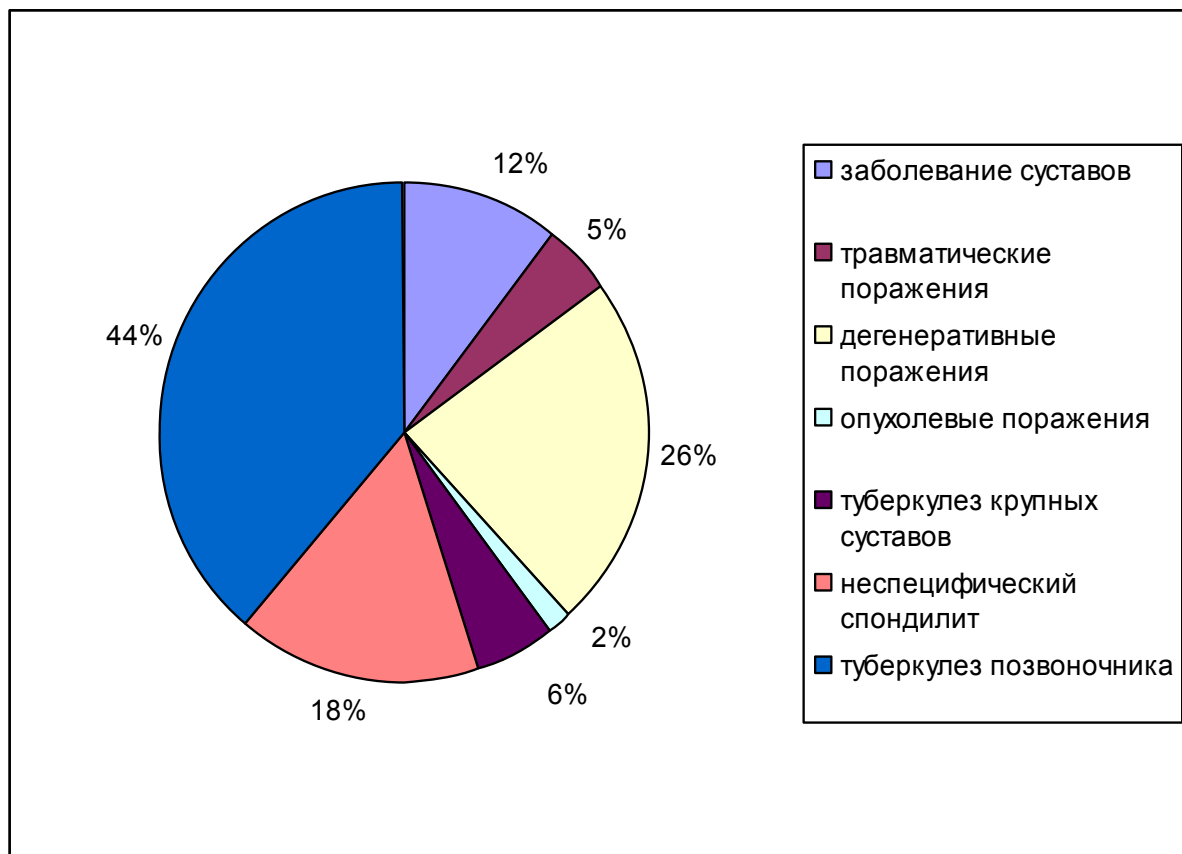


Рис. 2. Доля сочетанной инфекции (туберкулез и ВИЧ-инфекция) в структуре заболеваемости туберкулезом среди постоянного населения Российской Федерации [3]

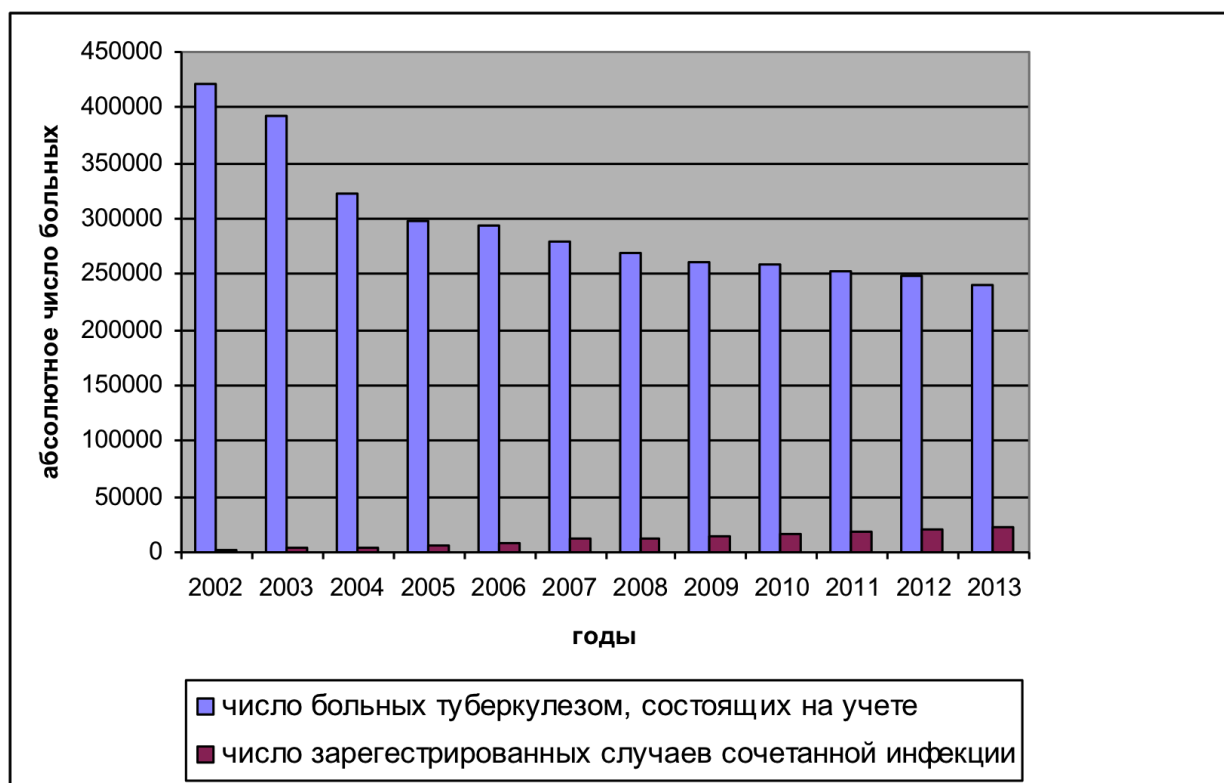


Рис.3. SMAD - зависимая транскрипция[38]

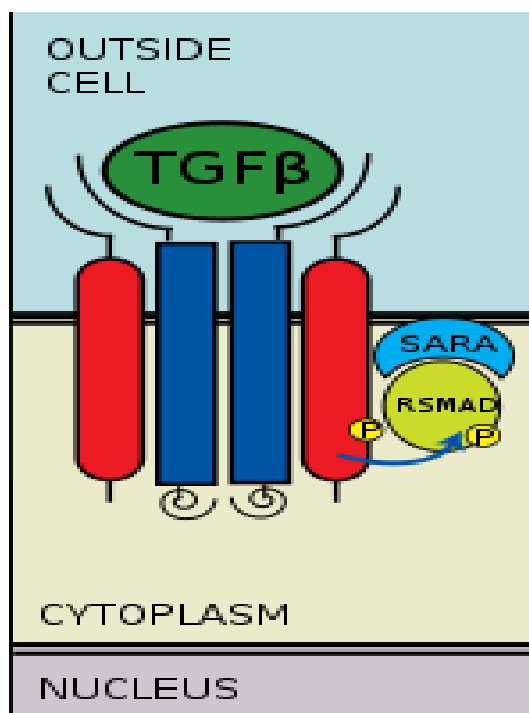


Рис.4. Общая схема регуляции остеогенеза [36]

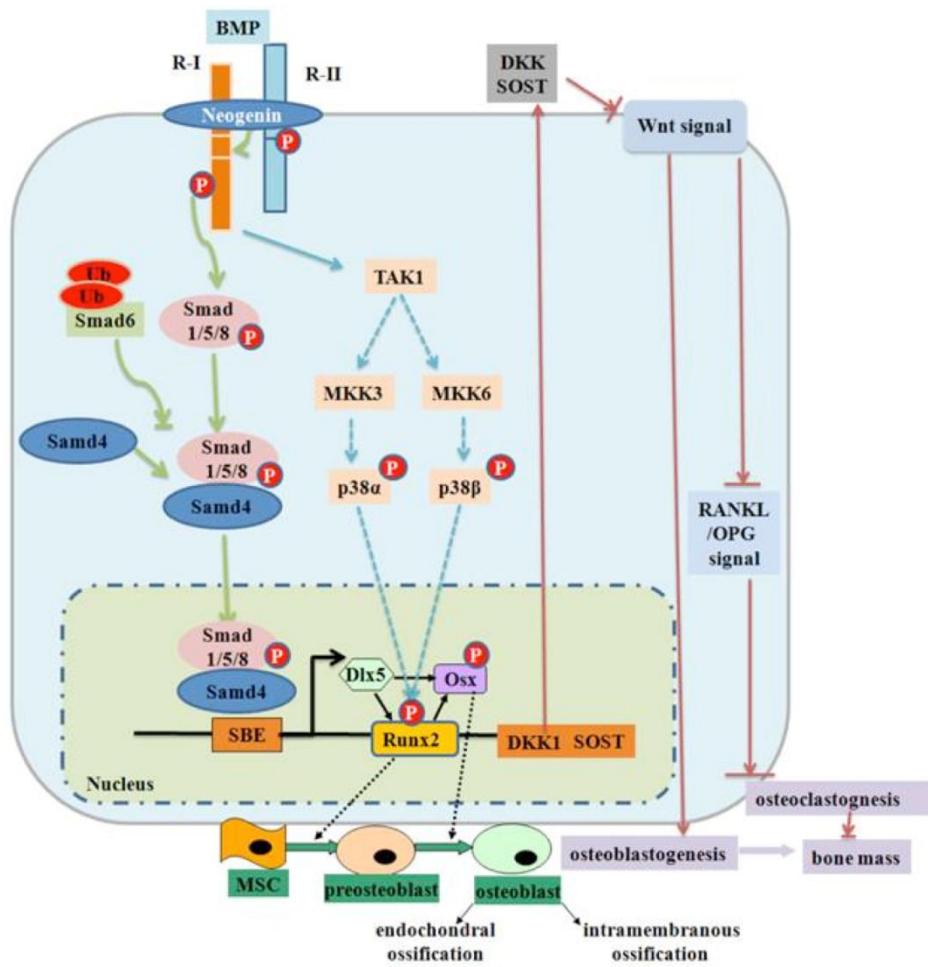


Рис. 5. Три возможных способа гибели остеоцита [47]

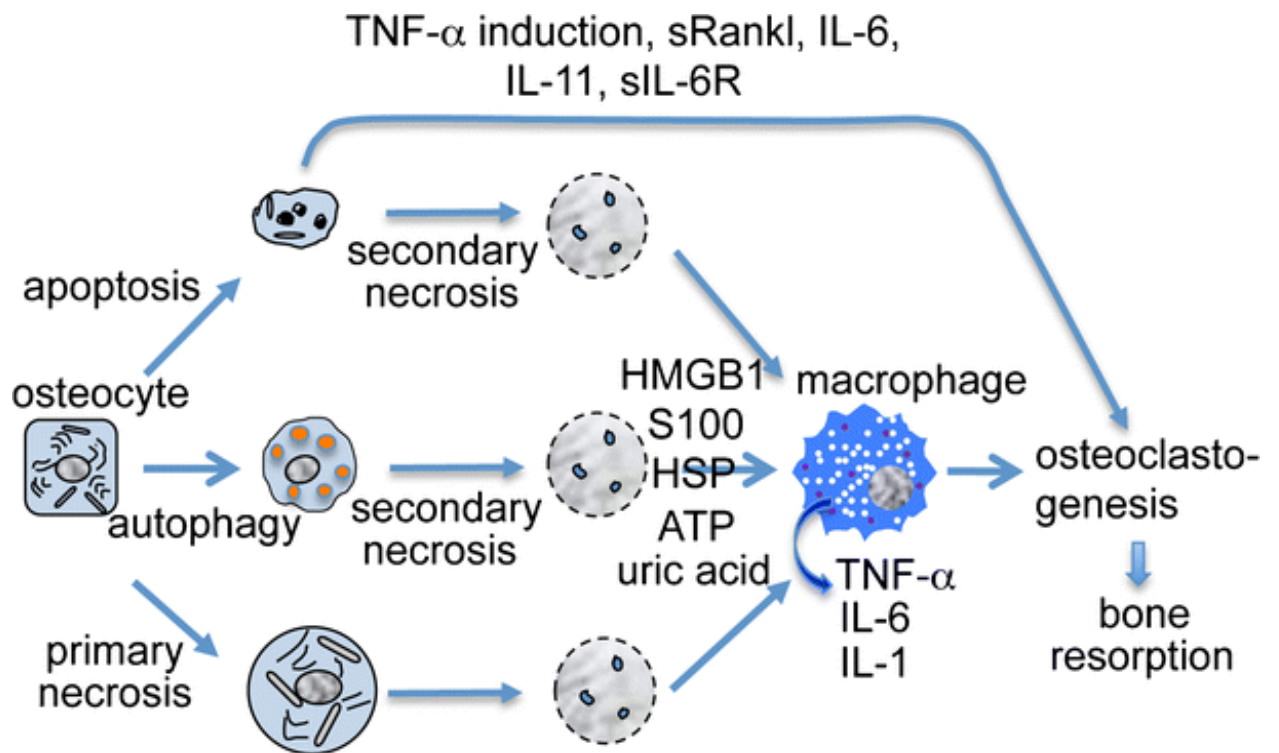
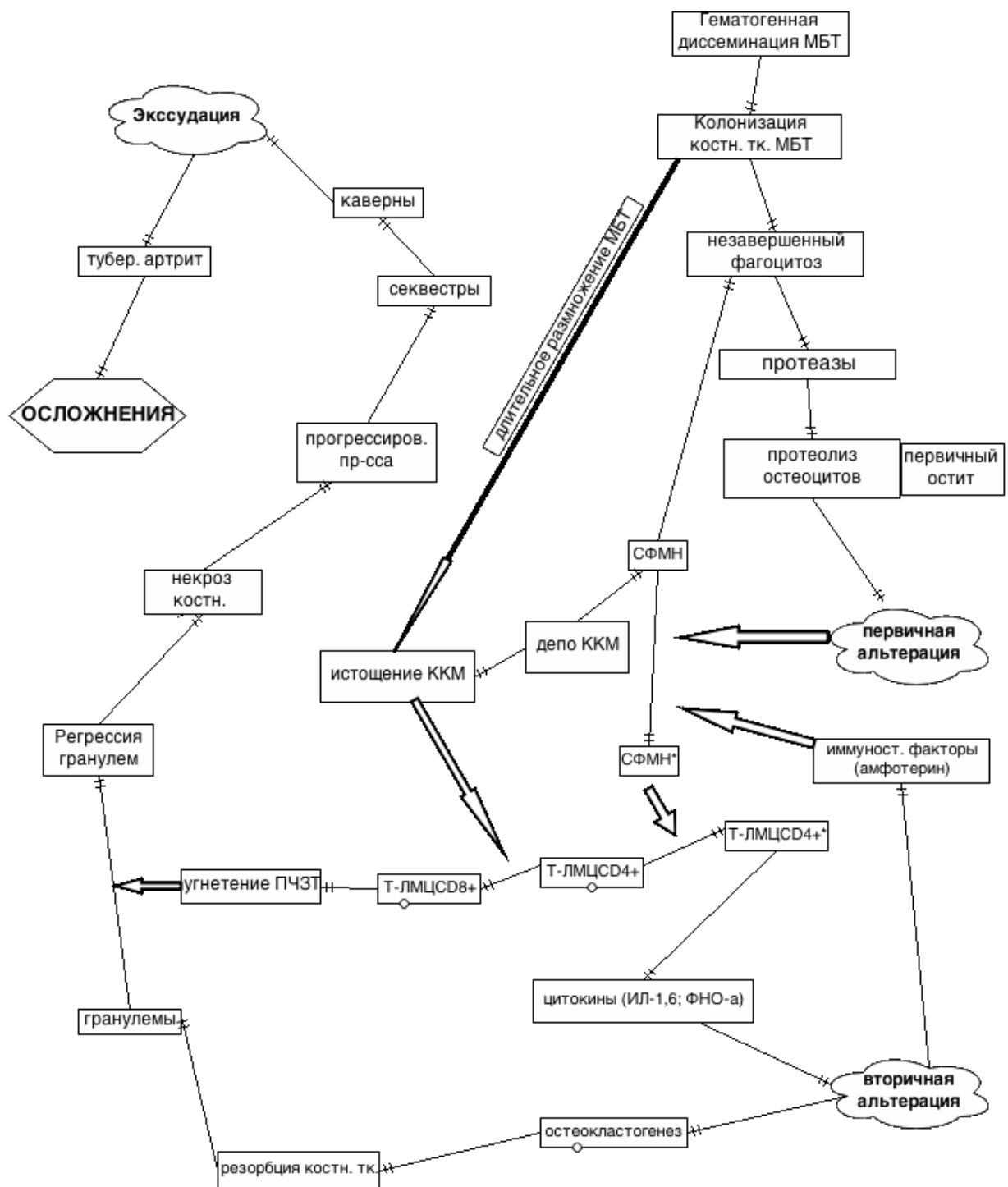


Рис. 6. Принципиальная схема патогенеза туберкулезного спондилита



Условные обозначения:

Т-ЛМЦCD4+ - Т-лимфоциты хелперы

Т-ЛМЦCD8+ - Т-лимфоциты киллеры

ИЛ-1(6) – интерлейкин-1(6)

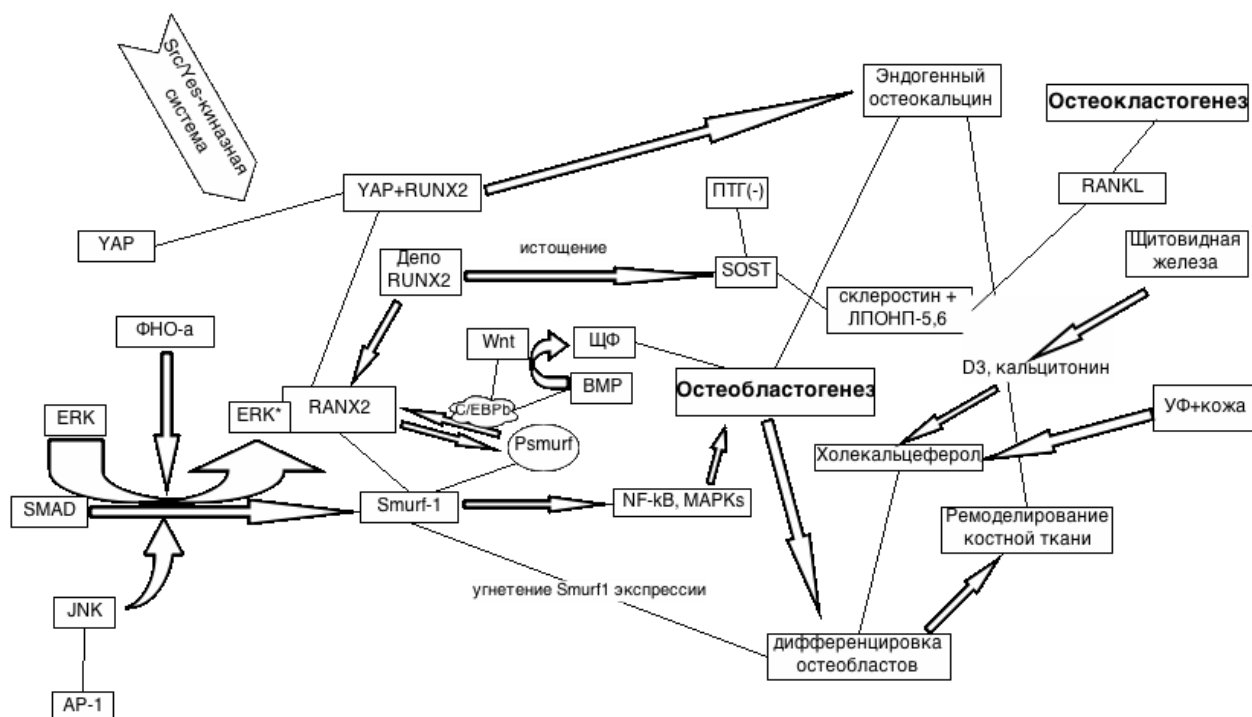
ФНО-а – фактор некроза опухолей-а

СФМН – система фагоцитирующих мононуклеаров

ПЧЗТ – повышенная чувствительность замедленного типа

ККМ – красный костный мозг

Рис.7. ФНО-а-зависимый RUNX2-обусловленный компенсаторный механизм остеобластогенеза при ТС



Условные обозначения:

ФНО-а – фактор некроза опухолей-а

УФ – ультрафиолетовое излучение

ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности

ПТГ - паратгормон

ERK - extracellular-signal-regulated kinase

ERK* -extracellular-signal-regulated kinase activate

SMAD –mothers against decapentaplegic homolog

JNK – Stress-activated protein kinase JNK

AP-1 – activation protein of TNF-α/JNK/AP-1 signaling pathway

Smurf-1 –SMAD-ubiquitinate

RUNX2 – Runt-related transcription factor 2

Wnt – Wg (wingless) + int

BMP –bone morphogenetic proteins

Src – oncogenes family of Rous sarcoma virus

Yes – kinase of oncogenes family of Rous sarcoma virus

YAP – yes-protein

D3 – cholecalciferol

RANKL –receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand

SOST– gene of sclerostin