



УДК 576.5

DOI 10.17802/2306-1278-2021-10-4-122-130

УЧАСТИЕ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА ZBTB16 В ПРОЦЕССАХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ И ПРИ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ КАЛЬЦИФИКАЦИИ АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА

Д.С. Семенова, А.Б. Малашичева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская наб., 7–9, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 199034; Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук, Тихорецкий проспект, 4, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 194064; Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Аккуратова, 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341

Основные положения

• Единственный на сегодняшний день метод лечения тяжелой кальцификации аортального клапана – хирургическое вмешательство. Фармакологические подходы до сих пор не смогли изменить течение заболевания, поэтому актуальность представляет разработка новых стратегий лечения, замедляющих развитие стеноза клапана. В обзоре обобщены последние сведения в области патофизиологии кальцинированного стеноза аортального клапана и предложена новая мишень для дальнейших исследований. Как следствие, изучение динамической варибельности экспрессии ZBTB16 в кальцификации клапана аорты является новым и актуальным направлением.

Резюме

Дегенеративный кальцинированный стеноз аортального клапана – наиболее распространенная в мире патология клапанов сердца. При развитии кальцинированного стеноза аортального клапана прогноз двухлетней выживаемости без хирургического вмешательства составляет 50%. Единственным на сегодняшний день методом лечения тяжелой кальцификации клапана выступает хирургическое вмешательство. Фармакологические подходы до сих пор не смогли изменить течение заболевания, поэтому разработка новых стратегий лечения, замедляющих развитие стеноза аортального клапана, представляет актуальную клиническую потребность. Белок ZBTB16 является транскрипционным фактором с N-концевым ВТВ/POZ-доменом для белок-белкового взаимодействия и девятью С-концевыми доменами типа цинковый палец для связывания ДНК. В литературе представлены данные об участии ZBTB16 в развитии скелета. Показано, что ZBTB16 играет роль в спецификации паттернов аксиального скелета и конечностей. Кроме того, экспрессия ZBTB16 повышена в клетках пациентов, страдающих эктопическим формированием костной ткани. На сегодняшний день мы имеем множество подтверждений тому, что ключевые механизмы формирования костной ткани в норме сходны с процессами при эктопической оссификации тканей аортального клапана. Таким образом, можно сделать предположение о значительном участии ZBTB16 и в остеогенной трансформации клеток клапана аорты. Понимание сходств и различий механизмов, опосредующих остеогенную дифференцировку клеток во время физиологического формирования кости и патологической оссификации тканей, может дать предпосылки для возможности управления процессами остеогенной дифференцировки в организме человека. Целью данного обзора стало обобщение сведений о роли ZBTB16 и его продуктов в регулировании дифференцировки и пролиферации клеток, участвующих в процессах физиологического остеогенеза и при эктопической кальцификации тканей, в том числе аортального клапана. Изучение динамической варибельности экспрессии ZBTB16 в клетках аортального клапана при кальцификации ткани является новым и актуальным направлением.

Ключевые слова

Аортальный стеноз • Кальцификация • Остеогенная дифференцировка • ZBTB16

Поступила в редакцию: 09.07.2021; поступила после доработки: 24.08.2021; принята к печати: 07.10.2021

Для корреспонденции: Дарья Сергеевна Семенова, daria.semenova1994@gmail.com; адрес: Университетская наб., 7–9, Санкт-Петербург, Россия, 199034

Corresponding author: Daria S. Semenova, daria.semenova1994@gmail.com; address: 7–9, Universitetskaya nab., Saint Petersburg, Russia, 199034

PARTICIPATION OF TRANSCRIPTIONAL FACTOR ZBTB16 IN THE PROCESSES OF PHYSIOLOGICAL BONE TISSUE FORMATION AND IN PATHOLOGICAL CALCIFICATION OF THE AORTIC VALVE

D.S. Semenova, A.B. Malashicheva

Federal State Educational Institution of Higher Professional Training "Saint Petersburg State University", 7–9, Universitetskaya nab., Saint Petersburg, Russian Federation, 199034; Federal State Budgetary Institution of Science "Institute of Cytology" of the Russian Academy of Sciences, 4, Tikhoretskiy Ave., Saint Petersburg, Russian Federation, 194064; Federal State Budgetary Institution "V.A. Almazov National Medical Research Center" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Akkuratova St., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341

Highlights

- To date, surgical interventions are the only method of treating severe calcification of the aortic valve. Pharmacological approaches have not yet been able to affect the course of the disease, thus the development of novel treatment strategies that slow down the development of valve stenosis seems relevant. The review summarizes the latest data on the calcific aortic valve stenosis pathophysiology and establishes a new target for further research. The study of the dynamic changes of ZBTB16 expression in aortic valve calcification is a new and relevant study field.

Abstract

Degenerative calcific aortic valve stenosis is the most common type of heart valve disease in the Western world. Patients with severe stenosis are associated with 50 percent chance of mortality within two years in the absence of intervention. Surgical interventions are the only treatment method for severe calcific aortic valve stenosis to date. Pharmacological approaches have so far failed to affect the course of the disease. Thus, there is an urgent need to develop novel treatment strategies that could slow down the progression of the stenosis. ZBTB16 is a zinc finger protein with N-term BTB/POZ domain (protein-protein interaction motif) and 9 zinc finger domains (DNA binding motif) in C-term. There is growing evidence proving the participation of ZBTB16 in skeletal development. ZBTB16 has been shown to play a role in the specification of limb and axial skeleton patterning. Moreover, the expression of *ZBTB16* is increased in patients with ectopic bone formation. Nowadays, the evidence supports that the mechanisms that play key roles in the formation of bone tissue are similar to the processes occurring during the development of ectopic ossification of the aortic valve. Thus, it can be assumed that ZBTB16 is heavily involved in osteogenic transformation in the aortic valve. Understanding similarities and differences in the mechanisms that mediate osteogenic differentiation of stem cells during bone formation and pathological ossification of tissues can help to find the ways to control the osteogenic differentiation in the human body. The aim of this review is to summarize data on the role of ZBTB16 and its products in the regulation of differentiation and proliferation of cells involved in osteogenesis and in the development of ectopic calcification of the aortic valve. The study of the dynamic changes of *ZBTB16* expression in aortic valve calcification is a new and relevant study field.

Keywords

Aortic stenosis • Calcification • Osteogenic differentiation • ZBTB16

Received: 09.07.2021; received in revised form: 24.08.2021; accepted: 07.10.2021

Список сокращений

миРНК – малая интерферирующая РНК МСК – мезенхимальные стволовые клетки

Введение

Дегенеративный кальцинированный стеноз аортального клапана является наиболее распространенной в мире патологией клапанов сердца. Риск возникновения кальцификации сердечного клапана увеличивается с возрастом [1]. Уже при легкой обструкции просвета клапана заболевание неизбежно

прогрессирует с увеличением степени нарушения гемодинамики. При развитии кальцинированного стеноза клапана прогноз двухлетней выживаемости без хирургического вмешательства составляет 50%. Несмотря на растущие знания, опыт и технологические разработки, единственным методом лечения (симптоматическим) тяжелой кальцификации аортального

клапана служат операция на «открытом» сердце или транскатетерная замена аортального клапана. Однако данный подход применим не ко всем пациентам [1]. Фармакологическое вмешательство пока не смогло изменить течение кальцификации аортального клапана, поэтому актуальность представляет разработка новых стратегий лечения, замедляющих развитие тяжелых форм стеноза. Именно поэтому необходимо активное исследование молекулярных участников остеогенной дифференцировки клеток.

До сих пор не до конца изучены молекулярно-патологические основы и причины развития кальцинированного стеноза аортального клапана, хотя хорошо известно, что именно кальцификация играет фундаментальную роль в прогрессирующем сужении клапана и потери им функциональных особенностей. Сегодня кальцификацию больше не считают пассивным следствием старения – напротив, это активный процесс, затрагивающий множество клеточных и молекулярных путей. Накапливается все больше свидетельств о сходствах молекулярных процессов, протекающих при патологической оссификации тканей клапана и физиологическом образовании кости. Тем не менее точные процессы, лежащие в основе инициирования и прогрессии остеогенной дифференцировки в клетках в норме и при патологии, остаются неисследованными [2]. Понимание биомолекулярных механизмов, связанных с генезом кальцификации в аортальном клапане, выведет наши знания на новый уровень и откроет возможности для диагностики и лечения.

Целью данного обзора стало обобщение сведений о роли ZBTB16 и его продуктов в регулировании дифференцировки и пролиферации клеток, участвующих в процессах физиологического остеогенеза и при развитии эктопической кальцификации тканей, в том числе аортального клапана. Для решения поставленной цели проведен поиск литературы в международной базе данных PubMed. Для поиска использованы следующие ключевые слова: «аортальный стеноз», «кальцификация», «остеогенная дифференцировка», ZBTB16 (aortic stenosis, calcification, osteogenic differentiation, ZBTB16). Исследования, проанализированные в данном обзоре, опубликованы в высокорейтинговых журналах со значительным индексом цитирования, что свидетельствует о надежности и достоверности приведенной информации. В обзор вошли новейшие данные, представленные сегодня в мировом научном сообществе по описываемой тематике. Из анализа исключены работы, являющиеся нерелевантными по причине содержания устаревших результатов или опубликованные в изданиях с низким импакт-фактором.

Функции аортального клапана. Створки (или листки) аортального клапана должны быть одновременно прочными и гибкими, чтобы выдерживать значительные механические нагрузки и напряжение, связанные с закрытием клапана. В поддержании нормаль-

ного функционирования створок клапана решающее значение имеет специализированная микроархитектура, состоящая из трех слоев: фиброзного, спонгиозного и желудочкового [3]. Эндотелиальные клетки клапана расположены на контактирующих с кровью поверхностях, образуя барьер, который регулирует проницаемость ткани клапана, адгезию воспалительных клеток и паракринную передачу сигналов. Интерстициальные клетки клапана являются основным типом клеток, присутствующим во всех трех слоях клапана, и играют ключевую роль в ремоделировании клапана, регулируя как синтез, так и деградацию компонентов внеклеточного матрикса. В физиологических условиях интерстициальные клетки клапана находятся в состоянии покоя, обладая характеристиками, аналогичными фибробластам [4]. Стимуляция эндотелиальных и интерстициальных клеток молекулярными и механическими триггерами, такими как высокое артериальное давление, измененное напряжение сдвига, цитокины и факторы роста, меняет местную среду клапана и делает его склонным к развитию кальцификации, внося свой вклад в патофизиологию стеноза.

Молекулярные механизмы кальцификации аортального клапана. Кальцификация клапанов сердца возникает в результате повреждения эндотелия, отложений холестерина и воспаления, которое приводит к дистрофической кальцификации [5]. Принципы, обуславливающие патологические процессы, которые опосредуют развитие кальцификации аортального клапана человека, во многом схожи с формированием костной ткани скелета во время эмбрионального развития, а также в постнатальном периоде при регенерации [6]. Кальцифицирующиеся клетки клапана иницируют образование ткани, подобной кости, посредством внутримембранной оссификации. Эндохондральная оссификация также способствует этому, хотя и в меньшей степени [7]. По-видимому, данный процесс опосредуется продукцией BMP2 (bone morphogenetic protein 2) и BMP4 (bone morphogenetic protein 4) наравне с остеопонтином, остеокальцином и остеонектином. Макрофаги и Т-клетки присутствуют в оссифицированных клапанах даже на ранних стадиях поражения [8]. Количество тучных клеток также велико, и, как считается, они обеспечивают процессы неангиогенеза, продуцируя VEGF (vascular endothelial growth factor) [9].

Формирование ткани, подобной костной, на месте листков аортального клапана также зависит от неоваскуляризации. Как и при развитии костей у эмбриона, процессы ангио- и остеогенеза тесно связаны. Образование эндохондральной кости и ангиогенез зависят от экспрессии *RUNX2*, который функционирует в тандеме с *SOX9* (*SRY-box transcription factor 9*) [10]. В процессе раннего скелетообразования фактор HIF1 α (hypoxia-inducible factor 1 α) поддерживает дифференцировку прехондрогенных клеток путем регулирования *SOX9*. Стабилизация белка HIF1 α

в конечном счете приводит к увеличению экспрессии *VEGF*, что способствует ангиогенезу [11]. HIF1 α также активирует BMP2 в остеобластах [13].

Весьма вероятно, что сигнальный путь BMP играет важную роль в патогенезе кальцифицированного аортального клапана. Показано, что в экспериментальных моделях активированные эндотелиальные клетки секретируют BMP2 и BMP4 в ответ на изменение паттерна ламинарного потока крови; также BMP2 обнаружен в интерстициальных клетках, полученных из аортального клапана пожилых крыс [12]. Белки BMP стимулируют кальцификацию посредством активации Smad- и Wnt/ β -катенин-сигнальных путей, а также повышая экспрессию остеондрогенного транскрипционного фактора *MSX2* (*msh homeobox 2*). Эти сигнальные пути конвергируют, чтобы индуцировать экспрессию транскрипционного фактора *RUNX2*, одного из важнейших медиаторов остеогенеза [13]. Когда экспрессируется *RUNX2*, клетки вступают на путь дифференцировки в остеобласты: повышается экспрессия связанных с кальцификацией белков, включая остеоопонтин, костный сиалопротеин II и остеокальцин [14].

BMP также активирует сигнальный путь Wnt/ β -катенин, что усиливает экспрессию щелочной фосфатазы, которая необходима для кальцификации [15]. Белки Wnt принадлежат семейству секреторируемых липид-модифицированных полипептидных лигандов, которые связываются с рецепторными комплексами *FRIZZLED* белок/липопротеиновый рецептор-ассоциированный белок (*Lrp*) 5 или 6, что приводит к накоплению β -катенина в ядре. Активация этого сигнального пути в экспериментальных моделях кальцифицированного аортального клапана и эксплантационных клапанах человека подтверждена наблюдаемой экспрессией Wnt-лиганда *Wnt3a*, корцептора липопротеиновый рецептор-связанного белка 5 и ядерного β -катенина в кальцифицированной ткани клапана [16].

В местах оссификации также установлено наличие резорбирующих кость клеток, подобных остеокластам [17]. В мышечных моделях оксидативный стресс индуцирует экспрессию гена *RANKL* (*TNF superfamily member 11*) в гладкомышечных клетках сосудов посредством *RUNX2* (*RUNX family transcription factor 2*) [18]. Окисленные липиды также вызывают повышение активности *RANKL* в клетках человека [19]. Аналогично ортотопическому формированию кости оссификация сосудов, вероятно, является активным процессом, который включает непрерывное ремоделирование тканей.

По всей видимости, в организме прокальцифицирующие процессы уравниваются локальными и циркулирующими ингибиторами кальцификации. Также снижение экспрессии или активности этих медиаторов может способствовать развитию патологической кальцификации в сердечно-сосудистой системе.

Механизмы патологической оссификации тканей сходны с процессами физиологического формирования кости. Существует два типа формирования кости: образование эндохондральной кости, которое включает хондрогенез и развитие хрящевого промежуточного продукта, и внутримембранное формирование кости, которое прогрессирует от прямой дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в остеобласты, формирующие кость. Кальцификация клапанов, вероятно, включает как внутримембранные, так и эндохондральные процессы [20].

Остеобласты, полученные из МСК костного мозга, являются клетками, которые в первую очередь ответственны за образование кости путем кальцификации внеклеточного матрикса [21]. Дифференцировку МСК в остеобласты контролируют многочисленные факторы транскрипции и сигнальные белки [21]. *RUNX2* и *Osterix* (*OSX*) являются важными транскрипционными факторами, активация которых требуется для процессов остеогенной дифференцировки клеток [22]. Хотя *RUNX2* и *OSX* позиционируют как ключевые регуляторы остеогенеза, в дифференцировке остеобластов также участвуют такие транскрипционные факторы, как *DLX5* (*distal-less homeobox 5*), *DLX3* (*distal-less homeobox 3*), *FRA1* (*FOS like 1, AP-1 transcription factor subunit*), *Twist1* (*twist family bHLH transcription factor 1*), *ZBTB16* и *ATF4* (*activating transcription factor 4*) [22]. Существуют данные, указывающие на то, что *ZBTB16* – нижестоящий транскрипционный фактор, который участвует в дифференцировке остеобластов. Кроме того, показано, что *ZBTB16* оказывает положительное регулирующее влияние на дифференцировку остеобластов за счет их близкого взаимодействия с ключевыми регуляторами остеогенеза *OSX* и *RUNX2* [22].

Участие транскрипционного фактора *ZBTB16* в протекании базовых метаболических процессов в организме человека. *ZBTB16/PLZF* является высококонсервативным геном: от нематоды *Caenorhabditis elegans* до человека. У человека ген *ZBTB16* содержит шесть экзонов и пять интронов. Размеры его экзонов варьируют от 87 до 1 358 п. н. Экзоны распределяются по области примерно в 120 т. п. н. *ZBTB16* демонстрирует сложные паттерны сплайсинга в зависимости от ткани, в которой происходит экспрессия гена. Белок *ZBTB16* включает девять мотивов Kruppel-подобных C2H2 (*Cys2/His2*) цинковых пальцев на C-конце, а также один менее известный домен RD2 и VTB/POZ (поксвирус, цинковый палец) на N-конце. Девять Kruppel-подобных C2H2 цинковых пальцев способствуют последовательному связыванию ДНК с генами-мишенями, что позволяет *ZBTB16* функционировать как фактору транскрипции. Домен VTB/POZ – эволюционно консервативный мотив, который обеспечивает межбелковые взаимодействия и позволяет белкам POZ домена участвовать за счет репрессии

транскрипции в различных процессах, включая гематопоз, ангио-, нейро-, адипо-, остеокластогенез и дифференцировку мышц [23].

Белки цинковых пальцев представляют собой наиболее распространенное надсемейство белков с чрезвычайно разнообразными функциями. Цинковый палец C2H2 является вторым по численности мотивом в геноме человека и обладает наиболее высоким содержанием ДНК-связывающих факторов транскрипции. ZBTB16 впервые идентифицирован как белок-партнер слияния рецептора ретиноевой кислоты альфа (RAR α) в хромосомной транслокации t(11; 17)(q23; q21), связанной с острым промиелоцитарным лейкозом (APL). С-конец последовательности ZBTB16 удален в PLZF-RARA, а N-конец последовательности PLZF – в RARA-PLZF. PLZF-RARA подавляет функции как RARA, так и PLZF, а RARA-PLZF действует, модулируя функцию ZBTB16 таким образом, что оба продукта слияния способствуют индукции острого промиелоцитарного лейкоза. Более поздние исследования показали, что помимо миелоидных клеток ZBTB16 экспрессируется тканеспецифично и в зависимости от стадии в процессах спермато-, нейрогенеза, формирования паттерна эмбриональных зачатков конечностей и развития Т-клеток. ZBTB16 также усиливает остео- и хондрогенез МСК. ZBTB16 контролирует экспрессию тканеспецифичных генов-мишеней, тем самым инструктируя стволовые клетки / клетки-предшественники вовлекаться в определенные программы клеточной судьбы для самообновления или дифференцировки [23].

Исследования показали важность функциональной активности ZBTB16 в дифференцировке стволовых клеток в остеобласты [24, 25]. Можно предположить, что ZBTB16 выступает важным маркером на более поздних стадиях остеобластической дифференцировки стволовых клеток [26].

В литературе не раз описаны гены и сигнальные пути, связанные с процессами остеогенеза, такие как RUNX2, BMP2, BMP4, ALP (*alkaline phosphatase*), BGLAP (*bone gamma-carboxyglutamate protein*), COL1A1 (*collagen type I alpha 1 chain*), IBSP (*integrin binding sialoprotein*), OPN (*secreted phosphoprotein 1*), OPG (*TNF receptor superfamily member 11b*), SPRY1 (*sprouty RTK signaling antagonist 1*), а также многие другие известные маркеры остеогенной дифференцировки. Кроме того, гены, связанные с сигнальными путями Notch, Wnt/ β -catenin, известны тем, что выполняют регуляторные функции в межклеточных сообщениях, необходимых при индукции и прогрессии остеогенной дифференцировки в клетках. Тем не менее конкретная роль гена ZBTB16 в процессах остеогенной трансформации клеток остается невыясненной [27].

Преыдушие исследования показали, что ZBTB16 в зависимости от ткани, в которой он экспрессируется и то, на каком этапе это происходит, может осуществлять важные репрессорные и активи-

рующие эффекты на транскрипцию [28]. ZBTB16 принимает участие в различных онтогенетических и биологических процессах, таких как миелопоэз [29], сперматогенез [30], формирование скелета задних конечностей [31], клеточный апоптоз [32], противоопухолевый эффект [33]. ZBTB16 также играет роль в регулировании судьбы и гомеостаза гемопоэтических стволовых клеток [34]. Кроме того, на основе сравнительных эпигеномных и транскриптомных исследований делают предположения о том, что ген ZBTB16 является модулятором адипогенеза, регулирующим развитие жира [35]. ZBTB16 обнаружен в буром жире и мышцах, где он принимает участие в регуляции термогенной программы [36]. ZBTB16, выступая транскрипционным фактором, обеспечивает потенциальный механизм, с помощью которого может влиять на термогенез, модулируя экспрессию других генов. Индукция экспрессии ZBTB16 в адипоцитах бурого жира приводит к усилению экспрессии многих генов термогенной программы, участвующих в окислении жирных кислот и митохондриальном дыхании. Этот эффект сопровождался увеличением содержания митохондрий и максимизацией дыхательной способности. Когда дифференцированные адипоциты или мышечные трубки активируются агонистами адренорецепторов, ZBTB16 приводит к повышению митохондриального разобщения. Другой аспект роли ZBTB16 – его функция в метаболизме глюкозы. Экспрессия ZBTB16 управляет экспрессией генов, связанных с гликолизом (HEXKN2, PKM2), и способна увеличивать гликолитическую способность. В соответствии с этой ролью экспрессия ZBTB16 увеличивает утилизацию углеводов *in vitro*. Утилизация глюкозы, по-видимому, направлена на окисление митохондрий, что наблюдается в снижении экспрессии PDK4 и уровнем ECAR. В целом эти результаты показывают, что ZBTB16 принимает участие и способствует протеканию процессов окислительного метаболизма [36]. Описываемые данные свидетельствуют о важности участия ZBTB16 в базовых метаболических процессах организма человека.

В литературе существуют свидетельства об участии ZBTB16 в развитии скелета [37]. Показано, что ZBTB16 играет роль в спецификации паттернов аксиального скелета и конечности. Кроме того, экспрессия ZBTB16 повышена в клетках пациентов, страдающих эктопическим формированием костной ткани [38]. Мутации в гене ZBTB16 вызывают серьезные дефекты развития скелета. Делеции на обоих аллелях ZBTB16 на хромосоме 11 привели к подавлению нормального развития скелета и гипоплазии гениталий у 10-летнего мальчика [37]. Серьезные дефекты скелета у пациента напоминают те, что наблюдаются у мышей с дефицитом ZBTB16. Первые мутантные мыши были описаны в 1955 г. и имели тяжелые патологические дефекты конечностей и аксиального скелета. В 2000 г. создана нокаутная модель ZBTB16 (Zfp145^{-/-}, Zbtb16tm1Ppp),

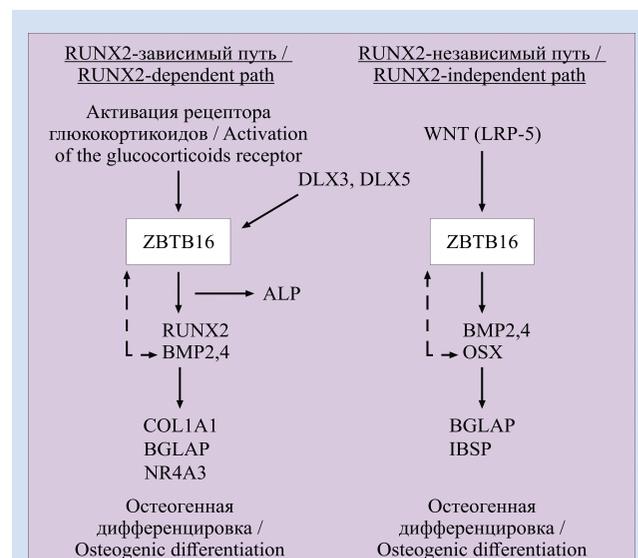
которая отображает дефекты всех структур скелета конечностей: стило-, зигподы и сегментов аутоподы, включая олигодактилию и гомеотическую трансформацию пальцев. Гомеотическая трансформация, вероятно, также лежит в основе некоторых дефектов скелета, описанных у данного больного (отсутствующие или дополнительные кости позвонков и аппендикулярный скелет). *ZBTB16* является вышестоящим регулятором *RUNX2/CBFA1*, потеря его функции приводит к снижению экспрессии генов, специфичных для остеобластов, таких как *COL1A1*, ген щелочной фосфатазы и остеокальцина (*BGLAP*), поэтому окостенение хрящевых структур и созревание костей задерживаются или происходят в меньшей степени [39].

Также продемонстрировано, что *ZBTB16* функционально участвует в образовании хряща. *ZBTB16* экспрессируется в дифференцирующихся МСК во время хондрогенеза. Нокдаун *ZBTB16* замедляет хондрогенез, тогда как сверхэкспрессия его усиливает. Исследования, проведенные на послеоперационном материале, показали, что МСК с избыточной экспрессией *ZBTB16* приводят к восстановлению дефектов хряща намного эффективнее и быстрее, что указывает на потенциальную роль *ZBTB16* в развитии и регенерации хрящевой ткани. Отмечено, что *ZBTB16* приводит к активации главного хондрогенного фактора *SOX9*, который напрямую связывается с нижележащими генами, такими как коллаген – *COL2A1*, агрекан (*AGC1*), гиалуронан, протеогликановый связывающий белок 1 (*HAPLN1*), коллаген – *COL11A2*. Все они необходимы для регулирования процессов хондрогенеза [23].

Известно, что *ZBTB16* модулирует экспрессию *RUNX2*, *COL1A1*, *BGLAP* и *ALP* [38]. Результаты ряда исследований, проведенных на разных типах клеточных культур, указывают на неоднозначное влияние *ZBTB16* на экспрессию *RUNX2*. Работа, проведенная на МСК, полученных из костного мозга, свидетельствует о том, что экспрессия *ZBTB16* имеет решающее значение для индукции *RUNX2* и прохождения остеогенной дифференцировки [40]. Однако одновременно с этим в исследованиях, проведенных на клетках дентальных фолликулов, показаны независимые от *RUNX2* процессы остеогенеза с вовлечением индукции *ZBTB16* [27, 41]. По всей видимости, *ZBTB16* необходим для последующей активации более поздних маркеров остеогенной дифференцировки в клетках, таких как *BGLAP* и *NR4A3* [42].

Чтобы изучить функциональную роль *ZBTB16* в дифференцировке остеобластов, МСК подвергали остеобластической дифференцировке. Экспрессия *ZBTB16* была значительно повышена в случае добавления к клеткам остеогенной среды или только дексаметазона. Дексаметазон приводит к усилению экспрессии маркеров остеобластов в культурах стромальных клеток костного мозга животных и человека, однако не вызывает полноценной дифференцировки остеобластов. Следовательно, экспрессия *ZBTB16*,

по-видимому, является маркером первоначального этапа дифференцировки остеобластов. Подавление гена *ZBTB16* при помощи малой интерферирующей РНК (миРНК) приводит к ингибированию остеобластной дифференцировки МСК. миРНК, которую использовали в данном исследовании, состояла из 21-нуклеотидной смысловой цепи и 21-нуклеотидной антисмысловой цепи с двухнуклеотидным выступом на 3'-конце. При этом сверхэкспрессия *ZBTB16* в клетках *C2C12* (линия клеток миобластов) приводила к повышению уровней экспрессии *RUNX2* и других маркеров костной ткани. миРНК-опосредованное подавление гена *RUNX2* также блокирует индукцию маркерных генов. Эти результаты доказывают, что *ZBTB16* служит ключевым регулятором дифференцировки остеобластов и действует как вышестоящий активатор *RUNX2*, поскольку сверхэкспрессия *RUNX2*, в свою очередь, не влияла на экспрессию *ZBTB16* [43]. Во время остеогенеза с участием мезенхимальных предшественников различные внешние факторы, такие как дексаметазон и цитокины, регулируют дифференцировку остеобластов. Различают два основных пути остеогенеза: *RUNX2*-зависимый и *RUNX2*-независимый (рисунки). *RUNX2*-независимый путь включает работу сигнального пути Wnt через белок LRP-5 [44]. Передача сигналов LRP-5, по-видимому, важна для пролиферации остеобластов, но не для самой дифференцировки, кроме того, он регулирует образование костей. В целом считается, что *RUNX2*-зависимый путь тесно связан с передачей сигналов BMP [45]. Поскольку *ZBTB16* усиливает индукцию остеогенеза через *RUNX2*, а подавление экспрессии *ZBTB16* приводило к снижению экспрессии генов BMP, можно говорить о том, что этот путь тесно связан с сигналингом BMP. Кроме того, подавление гена *ZBTB16* в МСК при помощи миРНК может



Роль и место *ZBTB16* в двух основных путях остеогенеза: *RUNX2*-зависимом и *RUNX2*-независимом
The role and place of *ZBTB16* in two main signaling pathways of osteogenesis: *RUNX2*-dependent and *RUNX2*-independent pathway

ингибировать активность щелочной фосфатазы и ключевых генов, участвующих в дифференцировке остеобластов *BGLAP* и костного сиалопротеина (*BSP*) [25]. Более того, подавление экспрессии гена *OSX* с использованием мiРНК вызвало существенное снижение экспрессии *ZBTB16*, что указывает на фундаментальную роль гена *OSX* в регуляции экспрессии *ZBTB16*. Также *ZBTB16* может индуцировать остеогенез и минерализацию в клетках дентальных фолликулов при помощи механизмов, основанных на активации сигнальных белков BMP и *OSX*, но независимо от *RUNX2*. Временная трансфекция клеток дентальных фолликулов для индукции сверхэкспрессии *ZBTB16* показала, что все гены, активируемые во время опосредованного дексаметазоном остеогенеза, также активируются сверхэкспрессией *ZBTB16* [46].

Существуют данные о том, что происходит значительный скачок уровня мРНК гена *ZBTB16* в особенности на более поздних стадиях дифференцировки МСК в остеобласты. Также отмечено значительное снижение уровня метилирования промоторной области в тесной корреляции с уровнем экспрессии гена. Эти результаты указывают на ключевую роль процессов метилирования в регуляции экспрессии гена *ZBTB16* во время остеобластогенеза [46].

Известно, что механизмы, опосредующие остеогенную дифференцировку, будь то процессы физиологического образования костного материала или патологическая оссификация тканей, сходны по своим молекулярным участникам. Множество компонентов сигнальных путей и их роли в остеогенезе хорошо изучены. Однако с учетом того, какое значимое участие принимает транскрипционный фактор *ZBTB16* в остеогенной дифференцировке клеток при формировании костной ткани, мы предполагаем, что *ZBTB16* может также играть ключевую роль в процессах, опосредующих кальцификацию аортального клапана. Тем не менее на сегодняшний день подобных исследований еще не проводили. *ZBTB16* может выступать как транскрипционный репрессор, связывающий ДНК

за счет С-концевого домена цинкового пальца [47], в то время как N-концевой ВТВ/POZ домен важен для гомодимеризации [48]. Существуют свидетельства, указывающие на возможное участие *ZBTB16* в патогенезе гипертонии, гипертрофии сердца и развитии фиброза сердечной мышцы [49]. *ZBTB16*, высокоэкспрессируемый в сердце, является критическим фактором транскрипции, который регулирует гипертрофию сердца через рецептор AT2 в ответ на AngII. AngII-активированный рецептор AT2 связывает *ZBTB16* и способствует его ядерной транслокации. *ZBTB16* все чаще признается ключевым регулятором процесса дифференцировки, роста или самообновления клеток. Кроме того, показано, что он активирует экспрессию *GATA4* (*GATA binding protein 4*), важного кардиального морфогенного регулятора, регулятора гипертрофии и ремоделирования сердца. *GATA4* напрямую стимулирует многочисленные кардиоспецифические гены, включая гены тяжелых цепей α - и β -миозина, которые являются значимыми показателями гипертрофии кардиомиоцитов [49].

Таким образом, понимание сходств и различий механизмов, опосредующих остеогенную дифференцировку клеток во время физиологического формирования кости и патологической оссификации тканей, может дать предпосылки для возможности управления процессами остеогенной дифференцировки в организме человека. Как следствие, изучение динамической варибельности и изменений экспрессии *ZBTB16* в кальцификации клапана аорты является новым и актуальным направлением.

Конфликт интересов

Д.С. Семенова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Б. Малашичева заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 19-315-90051.

Информация об авторах

Семенова Дарья Сергеевна, инженер-исследователь федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация; младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация; лаборант-исследователь лаборатории молекулярной кардиологии и генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; ORCID 0000-0001-6123-8096

Малашичева Анна Борисовна, доцент федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

Author Information Form

Semenova Daria S., Research Engineer at the Federal State Educational Institution of Higher Professional Training “Saint Petersburg State University”, Saint Petersburg, Russian Federation; Junior Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Federal State Budgetary Institution of Science “Institute of Cytology” of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation; Laboratory assistant at the Laboratory of Molecular Cardiology and Genetics, Federal State Budgetary Institution “V.A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; ORCID 0000-0001-6123-8096

Malashicheva Anna B., Associate Professor at the Federal State Educational Institution of Higher Professional Training “Saint Petersburg State University”, Saint Petersburg, Russian Federation; Head of the Laboratory of Regenerative Biomedicine,

заведующая лабораторией регенеративной биомедицины федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация; заведующая лабораторией молекулярной кардиологии и генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0820-2913

Federal State Budgetary Institution of Science “Institute of Cytology” of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation; Head of the Laboratory of Molecular Cardiology and Genetics, Federal State Budgetary Institution “V.A. Almazov National Medical Research Center” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0820-2913

Вклад авторов в статью

СДС – вклад в концепцию и дизайн исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

МАБ – интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

SDS – contribution to the concept and design of the study, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

MAB – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Lung B., Baron G., Butchart E.G., Delahaye F., Gohlke-Bärwolf C., Levang O.W., Tornos P., Vanoverschelde J.L., Vermeer F., Boersma E., Ravaut P., Vahanian A. A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: The Euro Heart Survey on Valvular Heart Disease. *Eur Heart J.* 2003;24(13):1231-43. doi: 10.1016/s0195-668x(03)00201-x
2. Baumgartner H., Falk V., Bax J.J., De Bonis M., Hamm C., Holm P.J., Jung B., Lancellotti P., Lansac E., Rodriguez Muñoz D., Rosenhek R., Sjögren J., Tornos Mas P., Vahanian A., Walther T., Wendler O., Windecker S., Zamorano J.L.; ESC Scientific Document Group. 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *Eur Heart J.* 2017;38(36):2739-2791. doi: 10.1093/eurheartj/ehx391.
3. Dweck M.R., Khaw H.J., Sng G.K., Luo E.L., Baird A., Williams M.C., Makiello P., Mirsadraee S., Joshi N.V., van Beek E.J., Boon N.A., Rudd J.H., Newby D.E. Aortic stenosis, atherosclerosis, and skeletal bone: is there a common link with calcification and inflammation? *Eur Heart J.* 2013;34(21):1567-74. doi: 10.1093/eurheartj/ehx034.
4. Aikawa E., Libby P. A Rock and a Hard Place: Chiseling Away at the Multiple Mechanisms of Aortic Stenosis. *Circulation.* 2017;135(20):1951-1955. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027776.
5. Hutcheson J.D., Aikawa E., Merryman W.D. Potential drug targets for calcific aortic valve disease. *Nat Rev Cardiol.* 2014;11(4):218-31. doi: 10.1038/nrcardio.2014.1.
6. Leopold J.A. Cellular mechanisms of aortic valve calcification. *Circ Cardiovasc Interv.* 2012;5(4):605-14. doi: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.112.971028.
7. Mathieu P., Boulanger M.C. Basic mechanisms of calcific aortic valve disease. *Can J Cardiol.* 2014;30(9):982-93. doi: 10.1016/j.cjca.2014.03.029.
8. Egan K.P., Kim J.H., Mohler E.R. 3rd, Pignolo R.J. Role for circulating osteogenic precursor cells in aortic valvular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(12):2965-71. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.234724.
9. Hruska K.A., Mathew S., Saab G. Bone morphogenetic proteins in vascular calcification. *Circ Res.* 2005;97(2):105-14. doi: 10.1161/01.RES.00000175571.53833.6c.
10. Wallby L., Janerot-Sjöberg B., Steffensen T., Broqvist M. T lymphocyte infiltration in non-rheumatic aortic stenosis: a comparative descriptive study between tricuspid and bicuspid aortic valves. *Heart.* 2002;88(4):348-51. doi: 10.1136/heart.88.4.348.
11. Vattikuti R., Towler D.A. Osteogenic regulation of vascular calcification: an early perspective. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;286(5):E686-96. doi: 10.1152/ajpendo.00552.2003.
12. Syväntä S., Helske S., Laine M., Lappalainen J., Kupari M., Mäyränpää M.I., Lindstedt K.A., Kovanen P.T. Vascular endothelial growth factor-secreting mast cells and myofibroblasts: a novel self-perpetuating angiogenic pathway in aortic valve stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(6):1220-7. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.198267
13. Schipani E., Maes C., Carmeliet G., Semenza G.L. Regulation of osteogenesis-angiogenesis coupling by HIFs and VEGF. *J Bone Miner Res.* 2009;24(8):1347-53. doi: 10.1359/jbmr.090602.
14. Seya K., Yu Z., Kanemaru K., Daitoku K., Akemoto Y., Shibuya H., Fukuda I., Okumura K., Motomura S., Furukawa K. Contribution of bone morphogenetic protein-2 to aortic valve calcification in aged rat. *J Pharmacol Sci.* 2011;115(1):8-14. doi: 10.1254/jphs.10198fp.
15. Boström K.I., Rajamannan N.M., Towler D.A. The regulation of valvular and vascular sclerosis by osteogenic morphogens. *Circ Res.* 2011;109(5):564-77. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.234278.
16. Butcher J.T., Tressell S., Johnson T., Turner D., Sorescu G., Jo H., Nerem R.M. Transcriptional profiles of valvular and vascular endothelial cells reveal phenotypic differences: influence of shear stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(1):69-77. doi: 10.1161/01.ATV.0000196624.70507.0d.
17. Boström K.I., Rajamannan N.M., Towler D.A. The regulation of valvular and vascular sclerosis by osteogenic morphogens. *Circ Res.* 2011;109(5):564-77. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.234278.
18. Rajamannan N.M. Mechanisms of aortic valve calcification: the LDL-density-radius theory: a translation from cell signaling to physiology. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;298(1):H5-15. doi: 10.1152/ajpheart.00824.2009.
19. Mikhaylova L., Malmquist J., Nurminskaya M. Regulation of in vitro vascular calcification by BMP4, VEGF and Wnt3a. *Calcif Tissue Int.* 2007;81(5):372-81. doi: 10.1007/s00223-007-9073-6.
20. Massy Z.A., Mentaverri R., Mozar A., Brazier M., Kamel S. The pathophysiology of vascular calcification: are osteoclast-like cells the missing link? *Diabetes Metab.* 2008;34(S1):S16-20. doi: 10.1016/S1262-3636(08)70098-3.
21. Byon C.H., Sun Y., Chen J., Yuan K., Mao X., Heath J.M., Anderson P.G., Tintut Y., Demer L.L., Wang D., Chen Y. Runx2-upregulated receptor activator of nuclear factor κB ligand in calcifying smooth muscle cells promotes migration and osteoclastic differentiation of macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(6):1387-96. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.222547.
22. Mohler E.R. 3rd, Gannon F., Reynolds C., Zimmerman R., Keane M.G., Kaplan F.S. Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation.* 2001;103(11):1522-8. doi: 10.1161/01.cir.103.11.1522.
23. Ortuño M.J., Ruiz-Gaspà S., Rodríguez-Carballo E., Susperregui A.R., Bartrons R., Rosa J.L., Ventura F. p38 regulates expression of osteoblast-specific genes by phosphorylation of osterix. *J Biol Chem.* 2010;285(42):31985-94. doi: 10.1074/jbc.M110.123612.

24. Yang X., Matsuda K., Bialek P., Jacquot S., Masuoka H.C., Schinke T., Li L., Brancorsini S., Sassone-Corsi P., Townes T.M., Hanauer A., Karsenty G. ATF4 is a substrate of RSK2 and an essential regulator of osteoblast biology; implication for Coffin-Lowry Syndrome. *Cell*. 2004;117(3):387-98. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00344-7.
25. Liu T.M., Lee E.H., Lim B., Shyh-Chang N. Concise Review: Balancing Stem Cell Self-Renewal and Differentiation with PLZF. *Stem Cells*. 2016;34(2):277-87. doi: 10.1002/stem.2270.
26. Hemming S., Cakouros D., Vandyke K., Davis M.J., Zannettino A.C., Gronthos S. Identification of Novel EZH2 Targets Regulating Osteogenic Differentiation in Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells Dev*. 2016;25(12):909-21. doi: 10.1089/scd.2015.0384.
27. Onizuka S., Iwata T., Park S.J., Nakai K., Yamato M., Okano T., Izumi Y. ZBTB16 as a Downstream Target Gene of Osterix Regulates Osteoblastogenesis of Human Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. *J Cell Biochem*. 2016;117(10):2423-34. doi: 10.1002/jcb.25634.
28. Saugspier M., Felthaus O., Viale-Bouroncle S., Driemel O., Reichert T.E., Schmalz G., Morszeck C. The differentiation and gene expression profile of human dental follicle cells. *Stem Cells Dev*. 2010;19(5):707-17. doi: 10.1089/scd.2010.0027.
29. Felthaus O., Gosau M., Morszeck C. ZBTB16 induces osteogenic differentiation marker genes in dental follicle cells independent from RUNX2. *J Periodontol*. 2014;85(5):e144-51. doi: 10.1902/jop.2013.130445
30. Kolesnichenko M., Vogt P.K. Understanding PLZF: two transcriptional targets, REDD1 and smooth muscle α -actin, define new questions in growth control, senescence, self-renewal and tumor suppression. *Cell Cycle*. 2011;10(5):771-5. doi: 10.4161/cc.10.5.14829.
31. Dick J.E., Doulatov S. The role of PLZF in human myeloid development. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1176:150-3. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04965.x.
32. Buaas F.W., Kirsh A.L., Sharma M., McLean D.J., Morris J.L., Griswold M.D., de Rooij D.G., Braun R.E. Plzf is required in adult male germ cells for stem cell self-renewal. *Nat Genet*. 2004;36(6):647-52. doi: 10.1038/ng1366
33. Barna M., Hawe N., Niswander L., Pandolfi P.P. Plzf regulates limb and axial skeletal patterning. *Nat Genet*. 2000;25(2):166-72. doi: 10.1038/76014.
34. Cheung M., Pei J., Pei Y., Jhanwar S.C., Pass H.I., Testa J.R. The promyelocytic leukemia zinc-finger gene, PLZF, is frequently downregulated in malignant mesothelioma cells and contributes to cell survival. *Oncogene*. 2010;29(11):1633-40. doi: 10.1038/nc.2009.455.
35. Felicetti F., Bottero L., Felli N., Mattia G., Labbaye C., Alvino E., Peschle C., Colombo M.P., Carè A. Role of PLZF in melanoma progression. *Oncogene*. 2004;23(26):4567-76. doi: 10.1038/sj.onc.1207597.
36. Vincent-Fabert C., Platet N., Vandeveld A., Poplineau M., Koubi M., Finetti P., Tiberi G., Imbert A.M., Bertucci F., Duprez E. PLZF mutation alters mouse hematopoietic stem cell function and cell cycle progression. *Blood*. 2016;127(15):1881-5. doi: 10.1182/blood-2015-09-666974
37. Ambele M.A., Dessels C., Durandt C., Pepper M.S. Genome-wide analysis of gene expression during adipogenesis in human adipose-derived stromal cells reveals novel patterns of gene expression during adipocyte differentiation. *Stem Cell Res*. 2016;16(3):725-34. doi: 10.1016/j.scr.2016.04.011.
38. Plaisier C.L., Bennett B.J., He A., Guan B., Lusic A.J., Reue K., Vergnes L. Zbtb16 has a role in brown adipocyte bioenergetics. *Nutr Diabetes*. 2012;2(9):e46. doi: 10.1038/nutd.2012.21.
39. Fischer S., Kohlhase J., Böhm D., Schweiger B., Hoffmann D., Heitmann M., Horsthemke B., Wieczorek D. Biallelic loss of function of the promyelocytic leukaemia zinc finger (PLZF) gene causes severe skeletal defects and genital hypoplasia. *J Med Genet*. 2008;45(11):731-7. doi: 10.1136/jmg.2008.059451.
40. Inoue I., Ikeda R., Tsukahara S. Current topics in pharmacological research on bone metabolism: Promyelocytic leukemia zinc finger (PLZF) and tumor necrosis factor- α -stimulated gene 6 (TSG-6) identified by gene expression analysis play roles in the pathogenesis of ossification of the posterior longitudinal ligament. *J Pharmacol Sci*. 2006;100(3):205-10. doi: 10.1254/jphs.fmj05004x5.
41. Morszeck C. Gene expression of runx2, Osterix, c-fos, DLX-3, DLX-5, and MSX-2 in dental follicle cells during osteogenic differentiation in vitro. *Calcif Tissue Int*. 2006;78(2):98-102. doi: 10.1007/s00223-005-0146-0.
42. Kato M., Patel M.S., Levasseur R., Lobov I., Chang B.H., Glass D.A. 2nd, Hartmann C., Li L., Hwang T.H., Brayton C.F., Lang R.A., Karsenty G., Chan L. Cbfa1-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia, and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor. *J Cell Biol*. 2002;157(2):303-14. doi: 10.1083/jcb.200201089.
43. Morszeck C., Schmalz G., Reichert T.E., Völlner F., Saugspier M., Viale-Bouroncle S., Driemel O. Gene expression profiles of dental follicle cells before and after osteogenic differentiation in vitro. *Clin Oral Investig*. 2009;13(4):383-91. doi: 10.1007/s00784-009-0260-x.
44. Ikeda R., Yoshida K., Tsukahara S., Sakamoto Y., Tanaka H., Furukawa K., Inoue I. The promyelocytic leukemia zinc finger promotes osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells as an upstream regulator of CBFA1. *J Biol Chem*. 2005;280(9):8523-30. doi: 10.1074/jbc.M409442200.
45. Little R.D., Carulli J.P., Del Mastro R.G., Dupuis J., Osborne M., Folz C., Manning S.P., Swain P.M. et al. A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am J Hum Genet*. 2002;70(1):11-9. doi: 10.1086/338450.
46. Lee K.S., Kim H.J., Li Q.L., Chi X.Z., Ueta C., Komori T., Wozney J.M., Kim E.G., Choi J.Y., Ryoo H.M., Bae S.C. Runx2 is a common target of transforming growth factor beta1 and bone morphogenetic protein 2, and cooperation between Runx2 and Smad5 induces osteoblast-specific gene expression in the pluripotent mesenchymal precursor cell line C2C12. *Mol Cell Biol*. 2000;20(23):8783-92. doi: 10.1128/MCB.20.23.8783-8792.2000.
47. Marofi F., Vahedi G., Solali S., Alivand M., Salarinasab S., Zadi Heydarabad M., Farshdousti Hagh M. Gene expression of TWIST1 and ZBTB16 is regulated by methylation modifications during the osteoblastic differentiation of mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol*. 2019;234(5):6230-6243. doi: 10.1002/jcp.27352
48. Li J.Y., English M.A., Ball H.J., Yeyati P.L., Waxman S., Licht J.D. Sequence-specific DNA binding and transcriptional regulation by the promyelocytic leukemia zinc finger protein. *J Biol Chem*. 1997;272(36):22447-55. doi: 10.1074/jbc.272.36.22447.
49. Melnick A., Ahmad K.F., Arai S., Polinger A., Ball H., Borden K.L., Carlisle G.W., Prive G.G., Licht J.D. In-depth mutational analysis of the promyelocytic leukemia zinc finger BTB/POZ domain reveals motifs and residues required for biological and transcriptional functions. *Mol Cell Biol*. 2000;20(17):6550-67. doi: 10.1128/MCB.20.17.6550-6567.2000.
50. Wang N., Frank G.D., Ding R., Tan Z., Rachakonda A., Pandolfi P.P., Senbonmatsu T., Landon E.J., Inagami T. Promyelocytic leukemia zinc finger protein activates GATA4 transcription and mediates cardiac hypertrophic signaling from angiotensin II receptor 2. *PLoS One*. 2012;7(4):e35632. doi: 10.1371/journal.pone.0035632.

Для цитирования: Семенова Д.С., Малашичева А.Б. Участие транскрипционного фактора ZBTB16 в процессах физиологического образования костной ткани и при патологической кальцификации аортального клапана. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2021;10(4): 122-130. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-4-122-130

To cite: Semenova D.S., Malashicheva A.B. Participation of transcriptional factor ZBTB16 in the processes of physiological bone tissue formation and in pathological calcification of the aortic valve. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2021;10(4): 122-130. DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-4-122-130