

РОЛЬ МОРФОГЕННЫХ БЕЛКОВ WNT-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ (СКЛЕРОСТИНА И β -КАТЕНИНА) В АДИПОГЕНЕЗЕ

Кулакова А.С.¹, Снимщикова И.А.², Плотникова М.О.²

¹ ГАУЗ «Брянская областная больница № 1», г. Брянск, Россия

² ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

Резюме. Механизм адипогенеза является сложным и многообразным, так как на него оказывают влияние многочисленные факторы, в том числе компоненты WNT-сигнального пути. Поиск возможных маркеров развития метаболических заболеваний, связанных с ожирением, обусловил интерес к изучению морфогенных белков склеростина и β -катенина. Целью исследования явилась оценка активности WNT-сигнального пути у пациентов с ожирением путем определения уровня белков склеростина и β -катенина в сыворотке крови.

В исследование были включены 32 пациента с метаболическим синдромом, имеющие прогрессирующие формы ожирения I-III степени при отсутствии сахарного диабета. Концентрацию склеростина и β -катенина в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. Данные представлены в виде абсолютного и относительного (%) числа больных; среднего арифметического; медианы, 1-й и 3-й квартилей – Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$).

У пациентов, страдающих ожирением, в сыворотке крови выявлено повышение уровня склеростина (260 (230-308,75) пг/мл) на 13,5% по сравнению со здоровыми лицами (225 (220-230) пг/мл, ($p < 0,001$)); была отмечена тенденция к увеличению склеростина в зависимости от степени ожирения, чаще всего на фоне снижения β -катенина, что согласуется с данными литературы и может рассматриваться в качестве прогностического критерия течения патологического процесса при ожирении.

Ключевые слова: ожирение, склеростин, β -катенин, WNT-сигнальный путь

ROLE OF WNT SIGNALING MORPHOGENIC PROTEINS (SCLEROSTIN AND β -CATENIN) IN ADIPOGENESIS

Kulakova A.S.^a, Snimshchikova I.A.^b, Plotnikova M.O.^b

^a Bryansk Regional Hospital No. 1, Bryansk, Russian Federation

^b I. Turgenev Oryol State University, Oryol, Russian Federation

Abstract. Adipogenesis relies on complex and multi-faceted mechanism, as it is influenced by multiple cues, including the components from the WNT signaling pathway. The search for possible markers of developing metabolic

Адрес для переписки:

Кулакова Анастасия Сергеевна
ГАУЗ «Брянская областная больница № 1»
241033, Россия, г. Брянск, пр. Станке Димитрова, 86.
Тел.: 8 (980) 310-12-33.
E-mail: Kulakovaas@mail.ru

Address for correspondence:

Kulakova Anastasiia S.
Bryansk Regional Hospital No. 1
41033, Russian Federation, Bryansk,
Stanke Dimitrov ave., 86.
Phone: 7 (980) 310-12-33.
E-mail: Kulakovaas@mail.ru

Образец цитирования:

А.С. Кулакова, И.А. Снимщикова, М.О. Плотникова
«Роль морфогенных белков WNT-сигнального
пути (склеростина и β -катенина) в адипогенезе»
// Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23,
№ 2. С. 133-138.
doi: 10.46235/1028-7221-326-ROW
© Кулакова А.С. и соавт., 2020

For citation:

A.S. Kulakova, I.A. Snimshchikova, M.O. Plotnikova
“Role of WNT signaling morphogenic proteins (sclerostin and
 β -catenin) in adipogenesis”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 2,
pp. 133-138.
doi: 10.46235/1028-7221-326-ROW
DOI: 10.46235/1028-7221-326-ROW

diseases associated with obesity accounted for an interest to study the morphogenic proteins sclerostin and β -catenin. The aim of the study was to evaluate activity of the WNT signaling pathway in obese patients by measuring level of serum sclerostin and β -catenin proteins. Materials and Methods. There were enrolled 32 patients with metabolic syndrome featured with progressive forms of obesity (class I-III) lacking diabetes mellitus. Concentration of serum sclerostin and β -catenin was measured by using enzyme-linked immunosorbent assay. Data were presented as absolute and relative (%) number of patients; arithmetic mean; medians, 1 and 3 quartiles – Me ($Q_{0.25}$ - $Q_{0.75}$). In obese patients, serum sclerostin level (260 (230-308.75) pg/ml) was increased by 13.5% compared with healthy individuals (225 (220-230) pg/ml, ($p < 0.001$)); concentration of serum sclerostin tended to increase depending on obesity class, most in parallel with decreased β -catenin level, being in agreement with previous studies that might be considered as a prognostic criterion for assessing course of pathological process in obesity.

Keywords: obesity, sclerostin, β -catenin, WNT signaling pathway

Введение

В современном мире наблюдается резкое увеличение количества людей с избыточным весом. Лица, страдающие ожирением, имеют повышенный риск развития сахарного диабета 2 типа (СД 2), сердечно-сосудистых заболеваний, заболеваний опорно-двигательного аппарата, онкологических заболеваний и психологических расстройств.

Участие WNT-сигнального пути в физиологическом, эмбриональном и постнатальном развитии, поддержании клеточного гомеостаза, механизмах роста, пролиферативной активности и дифференцировки клеток, в процессах апоптоза указывает на его активную биологическую роль [2, 8, 9, 10, 11, 12, 14]. Передача сигналов WNT является важным регулятором развития и прогрессирования роста органов и клеток. Результаты экспериментов некоторых авторов [4, 6, 7, 10, 13] *in vivo* и *in vitro* показали, что компоненты пути WNT участвуют в пролиферации β -клеток поджелудочной железы, липидном метаболизме и индуцированной глюкозой секреции инсулина. Передача сигналов WNT/ β -catenin регулирует дифференцировку МСК (мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки). Активация передачи сигналов WNT способствует дифференцировке МСК в миобласты и остеобласты, но ингибирует дифференцировку в преадипоциты, поддерживая баланс между адипогенезом, миогенезом и остеогенезом [4, 7].

Известно, что к антагонистам WNT-сигнального пути относится склеростин. На сегодняшний день имеются сообщения о корреляционных связях склеростина с полом, возрастом, индексом массы тела (ИМТ) и наличием сахарного диабета 2 типа (СД 2) [1]. Роль склеростина достаточно хорошо изучена в патогенезе остеогенеза в качестве ингибитора пролиферации костной ткани [2, 3, 10, 12], однако представляется перспективным изучение склеростина как наиболее специфического антагониста WNT-сигнального пути и

при ожирении, т.к. учеными было обнаружено, что передача сигналов WNT блокирует адипогенез посредством подавления ССАТ/энхансер-связывающего белка- α (С/ЕВР α) и рецептор-активирующего пролифератора пероксисом- γ (PPAR γ). Следовательно, склеростин участвует в стимуляции адипогенеза. В исследованиях авторов [3, 4, 7, 11, 13] отмечалась положительная корреляция между циркулирующим склеростином и процентным содержанием жировой массы. Также было установлено, что склеростин может частично объяснить потерю костной массы и ухудшение структуры кости у пожилых людей с ожирением [1, 2, 6, 13].

Целью настоящего исследования явилась оценка активности WNT-сигнального пути путем определения уровня белков склеростина и β -катенина в сыворотке крови у пациентов с ожирением.

Материалы и методы

В исследование были включены 32 пациента с метаболическим синдромом, имеющие прогрессирующие формы ожирения I-III степени при отсутствии сахарного диабета. Возраст больных составил 40 ± 10 лет. Для определения показателей концентрации склеростина и β -катенина в сыворотке крови, условно принимаемых за физиологическую норму, были обследованы 20 здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с больными контрольной группы.

Индекс массы тела рассчитывался по формуле Кетле: ИМТ = масса тела (кг) / рост (m^2). В работе был применен комплекс иммунологических и общеклинических методов исследования. Концентрацию склеростина и β -катенина в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием наборов “Human beta catenin”, “SOST/Sclerostin” (Sunlongbiotech, Китай).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного комплекса

Microsoft Excel. Данные представлены в виде абсолютного и относительного (%) числа больных; среднего арифметического; медианы, 1-й и 3-й квартилей — Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Различия между группами по количественным признакам, рассчитанные с использованием U-критерия Манна-Уитни, считались значимыми при $p < 0,05$. Критериями исключения из проводимого исследования служили: возраст пациентов меньше 18 и старше 65 лет, сопутствующие соматические заболевания в стадии обострения или декомпенсации, наличие на момент исследования острых респираторных инфекций, беременности, сепсиса, иммуносупрессия вследствие новообразований или ВИЧ-инфекции, активный вирусный гепатит, отказ больного от проводимого исследования. Исследование после получения информированного согласия от каждого пациента проводилось в соответствии со стандартами клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации, протокол его проведения одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева».

Результаты и обсуждение

В результате обследования пациентов, страдающих ожирением, выявлено, что 18 из них (56,25%) имеют ожирение 1-й степени, 12 лиц (37,5%) — 2-й степени, 2 пациента (6,25%) — 3-й степени. При анализе антропометрических данных средние показатели роста составили 170 ± 15 см, веса — 95 ± 15 кг соответственно. По данным общеклинических, лабораторных и инструментальных исследований установлено, что в общем анализе крови у 2 (6,25%) пациентов выявлено ускорение СОЭ и эозинофилия, у одного человека (3,125%) — повышенное содержание лейкоцитов; у 2 (6,25%) — отклонения в общем анализе мочи в виде повышения количества лейкоцитов, наличия бактерий и солей; в биохимическом

анализе крови у 6 (18,75%) наблюдалось повышение уровня общего холестерина, у 4 пациентов (12,5%) — повышение уровня билирубина в крови, у троих пациентов (9,38%) выявлено повышение уровня трансаминаз (АЛТ, АСТ).

У пациентов с жалобами на боли в эпигастрии (14 человек) проводилась ФГДС, по результатам которой наличие хронического гастрита подтверждено у 14 (43,75%) обследуемых. При этом бактерия *Helicobacter pylori* была обнаружена у 6 (18,75%) пациентов (тест-система Хелпил для инвазивной экспресс-диагностики инфекции *Helicobacter pylori* по уреазной активности биоптата, полученного в ходе эндоскопического исследования слизистой оболочки желудка). По данным УЗИ органов брюшной полости, у 13 (40,625%) пациентов подтвержден жировой гепатоз, у 5 (15,625%) дискинезия желчевыводящих путей. Также по данным анамнеза, у части обследуемых имеет место наличие сопутствующих хронических заболеваний: хронический бронхит — у 2 (6,25%), желчнокаменная болезнь — у 1 (3,125%), остеохондроз — у 5 (15,625%); хронический аутоиммунный тиреоидит — у 3 (9,375%); хронический тонзиллит — у 2 (6,25%), артериальная гипертензия — у 2 (6,25%), пиелит и мочекаменная болезнь — у 2 (8,33%); аллергические реакции в анамнезе имелись у половины пациентов (16 человек; 50,0%).

Как обсуждалось выше, адипогенез зависит от активности и цикличности WNT-сигнального пути, который функционирует посредством белков, в том числе β -катенина и склеростина. Многофакторный анализ в исследованиях некоторых авторов [4, 6, 13] показал, что уровень склеростина в сыворотке крови значительно коррелировал с уровнями липопротеинов низкой плотности и гомоцистеина.

Нами было проведено сравнение уровня склеростина у пациентов с ожирением (32 человека) и у здоровых лиц с нормальной массой тела (20

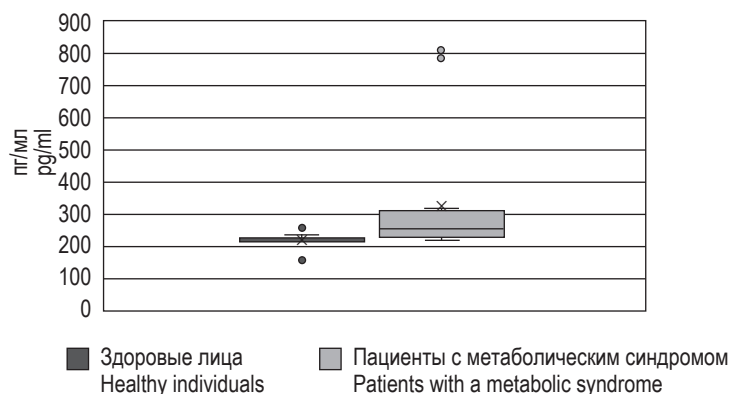


Рисунок 1. Концентрация склеростина в сыворотке крови (пг/мл)

Figure 1. Sclerostin concentration in blood serum (pg/ml)

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ СКЛЕРОСТИНА И β -КАТЕНИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ОЖИРЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ (пг/мл)

TABLE 1. SCLEROSTIN AND β -CATENIN CONCENTRATION IN BLOOD SERUM DEPENDING ON THE PATIENTS DEGREE OF OBESITY (pg/ml)

Белок Protein (m)		Исследуемые группы по степени ожирения Study groups by degree of obesity		p
		I степень I degree	II степень II degree	
Склеростин Sclerostin		249,06	366,0	0,003
β -катенин β -catenin		168,78	126,25	0,004
Кол-во пациентов Number of patients	n	18	12	
	%	56,25	37,5	
Белок Protein (m)		I степень I degree	III степень III degree	p
Склеростин Sclerostin		249,06	811,0	0,019
β -катенин β -catenin		168,78	130,0	0,205
Кол-во пациентов Number of patients	n	18	2	
	%	56,25	6,25	
Белок Protein (m)		II степень II degree	III степень III degree	p
Склеростин Sclerostin		366,0	811,0	0,026
β -катенин β -catenin		126,25	130,0	0,455
Кол-во пациентов Number of patients	n	12	2	
	%	37,5	6,25	

Примечание. p – достоверность различий между показателями рассчитана согласно непараметрическому U-критерию Манна–Уитни; различия считали достоверными и статистически значимыми при $p < 0,05$; m – среднее арифметическое концентрации склеростина и β -катенина (пг/мл).

Note. p, significance of differences between indicators is calculated according to the nonparametric Mann–Whitney U test; the differences are considered reliable and statistically significant when $p < 0.05$; m, a sclerostin and β -catenin concentration mean (pg/ml).

человек), условно принимаемых за физиологическую норму, сопоставимых по полу и возрасту с больными исследуемой группы. Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови у па-

циентов определяли концентрацию склеростина (рис. 1). Выявлены достоверные изменения: повышение уровня склеростина у лиц с метаболическим синдромом (260 (230–308,75) пг/мл) на

13,5% по сравнению со здоровыми лицами (225 (220-230) пг/мл, ($p < 0,001$)), что согласуется с источниками литературы [4, 6, 7, 13].

Учитывая важную роль β -катенина в регуляции адипогенеза, для нас также представляла интерес оценка его продукции у пациентов с ожирением. По результатам исследований у пациентов с метаболическим синдромом (141 (128,5-185) пг/мл) и у здоровых лиц (66,0 (59,5-125)) была установлена широкая вариабельность значений концентрации β -катенина в сыворотке крови, $p < 0,001$.

Согласно современным представлениям [1, 4, 6, 8, 13], передача сигналов WNT/ β -catenin ингибирует адипогенез. Нарушение передачи сигналов WNT/ β -catenin приводит к спонтанному адипогенезу, что указывает на то, что эндогенные WNT сдерживают дифференцировку преадипоцитов. В совокупности описанные ранее исследования [1, 3, 4, 6, 13] предоставляют убедительные доказательства того, что передача сигналов WNT/ β -catenin сдерживает мезенхимных предшественников от дифференцировки в адипоциты, одновременно стимулируя остеобластогенез и миогенез. В связи с этим представляло интерес оценить содержание белков склеростина и β -катенина в сыворотке крови у пациентов с разной степенью ожирения. В таблице 1 представлен уровень концентрации склеростина и β -катенина в зависимости от степени ожирения.

В ходе исследования установлено, что у пациентов с ожирением II степени наблюдалось повышение уровня склеростина ($p = 0,003$) одновременно со снижением концентрации β -катенина в зоне достоверных различий ($p = 0,004$). У лиц с ожирением III степени зарегистрировано значительное повышение уровня склеростина по сравнению с лицами I степени ($p = 0,019$), также отмечено снижение концентрации β -катенина ($p = 0,205$). У пациентов с ожирением III степени наблюдалось значительное повышение уровня склеростина ($p = 0,026$) по сравнению с больными II степени и незначительные изменения концентрации β -катенина ($p = 0,455$).

Выводы

Таким образом, у пациентов с метаболическим синдромом отмечалась широкая вариабельность уровня склеростина с выявленной тенденцией к увеличению, в зависимости от степени ожирения. Более того, у исследуемых больных повышение уровня склеростина в сыворотке крови происходило, чаще всего, на фоне снижения β -катенина, что согласуется с данными литературы и может рассматриваться в качестве прогностического критерия течения патологического процесса при ожирении.

Конфликт интересов отсутствует.

Список литературы / References

1. Amrein K., Amrein S., Drexler C., Dimai H. P., Dobnig H., Pfeifer K., Tomaschitz A., Pieber T.R., Astrid Fahrleitner-Pammer A. Sclerostin and its association with physical activity, age, gender, body composition, and bone mineral content in healthy adults. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012, Vol. 97, no. 1, pp. 148-154.
2. Bodine P.V., Stauffer B., Ponce-de-Leon H., Bhat R.A. A small molecule inhibitor of the WNT antagonist secreted frizzled-related protein-1 stimulates bone formation. *Bone*, 2009, Vol. 44, no. 6, pp. 1063-1068.
3. Burgers T.A., Williams B.O. Regulation of WNT/ β -catenin signaling within and from osteocytes. *Bone*, 2013, Vol. 54, no. 2, pp. 244-249.
4. Chen D., Xie R., Shu B., Landay A.L., Wei C. WNT signaling in bone, kidney, intestine, and adipose tissue and inter-organ interaction in aging. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2019, Vol. 1442, no. 1, pp. 48-60.
5. Christodoulides C., Lagathu C., Sethi J.K., Vidal-Puig A. Adipogenesis and WNT signaling. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2009, Vol. 20, no. 1, pp. 16-24.
6. Kim S.P., Frey J.L., Li Z., Kushwaha P., Zoch M.L., Tomlinson R.E., Da H., Aja S.M., Noh H.L., Kim J.K., Hussain M., Thorek D.L.J., Wolfgang M.J., Riddle R. Sclerostin influences body composition by regulating catabolic and anabolic metabolism in adipocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2017, Vol. 114, no. 52, pp. E11238-E11247.
7. Klangjareonchai T., Nimitphong H., Saetung S., Bhirommuang N., Samittarucksak R., Sudatip R., Ongphiphadhanakul B. Circulating sclerostin and irisin are related and interact with gender to influence adiposity in adults with prediabetes. *Int. J. Endocrinol.*, 2014, Vol. 2014, 261545. doi: 10.1155/2014/261545.
8. Krause C., Korchynskyi O., Rooij K., Weidauer S.E., Gorter D.J. Distinct modes of inhibition by sclerostin on bone morphogenetic protein and WNT signaling pathways. *Biol. Chem.*, 2010, Vol. 285, no. 53, pp. 41614-41626.
9. Malinauskas T., Aricescu R., Lu W., Siebold C., Jones E.Y. Modular mechanism of WNT signaling inhibition by WNT inhibitory factor 1. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2011, Vol. 18, no. 8, pp. 886-893.
10. Medeiros M.C., Rocha N., Bandeira E., Dantas I., Serum sclerostin, body composition, and sarcopenia in hemodialysis patients with diabetes. *Int. J. Nephrol.*, 2020, Vol. 2020, 4596920. doi: 10.1155/2020/4596920.
11. Ng L.F., Kaur P., Bunnag N., Suresh J., Sung I.C.H., Tan Q.H., Gruber J., Tolwinski N.S. WNT signaling in disease. *Cells*, 2019, Vol. 8, no. 8, pp. 826-857.

12. Saito-Diaz K, Chen T.W., Wang X., Thorne C.A., Wallace H.A. The way WNT works: components and mechanism. *Growth Factors*, 2013, Vol. 31, no. 1, pp. 1-31.

13. Urano T., Shiraki M., Ouchi Y., Inoue S. Association of circulating sclerostin levels with fat mass and metabolic disease: related markers in Japanese postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012, Vol. 97, pp. 1473-1477.

14. Witte F., Dokas J., Neuendorf F., Mundlos S., Stricker S. Comprehensive expression analysis of all WNT genes and their major secreted antagonists during mouse limb development and cartilage differentiation. *Gene Expr. Patterns*, 2009, Vol. 9, no. 4, pp. 215-223.

Авторы:

Кулакова А.С. — врач-гастроэнтеролог ГАУЗ «Брянская областная больница № 1», г. Брянск, Россия

Снимщикова И.А. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой иммунологии и специализированных клинических дисциплин, директор Медицинского института ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

Плотникова М.О. — старший преподаватель кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин Медицинского института ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия

Authors:

Kulakova A.S., Gastroenterologist, Bryansk Regional Hospital No. 1, Bryansk, Russian Federation

Snimshchikova I.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology and Specialized Clinical Disciplines, Director of Medical Institute, I. Turgenev Oryol State University, Oryol, Russian Federation

Plotnikova M.O., Senior Lecturer, Department of Immunology and Specialized Clinical Disciplines, I. Turgenev Oryol State University, Oryol, Russian Federation

Поступила 09.06.2020
Принята к печати 28.07.2020

Received 09.06.2020
Accepted 28.07.2020