

DOI: 10.15690/vramn904

Т.А. Гребенникова¹, Ж.Е. Белая¹, А.Г. Солодовников², А.В. Ильин³,
Л.В. Никанкина¹, Г.А. Мельниченко¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии,
Москва, Российская Федерация

² Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург, Российская Федерация

³ Медицинский центр «Фертилаб», Москва, Российская Федерация

Wnt10b и Wnt3a как биомаркеры изменений регуляции костного обмена у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга

Обоснование. Эндогенный гиперкортицизм вследствие болезни Иценко–Кушинга осложняется низкотравматичными переломами в 50% случаев. Современные технологии позволяют более глубоко изучить патогенетические изменения регуляции костного ремоделирования при гиперкортицизме и предложить новые биомаркеры поражения скелета в сыворотке крови. **Цель исследования** — изучить содержание Wnt-белков — регуляторов костного ремоделирования в сыворотке крови пациентов с болезнью Иценко–Кушинга. **Методы.** Образцы крови натощак были взяты между 8–10 часами утра у 42 пациентов с болезнью Иценко–Кушинга и 42 человек группы контроля, подобранных по полу и возрасту. Образцы сыворотки были заморожены при температуре ≤ -80 °C. Оценка уровней Wnt-белков (Wnt3a, Wnt10b) проводилась иммуноферментным методом с использованием наборов WNT3a SEL818Hu (USCN) и WNT10b SEP553Hu (USCN). Свободный кортизол в суточной моче и маркеры костного обмена исследовались электрохемиллюминесцентным методом на анализаторе Cobas 6000 Module e601 (Roche). Все пациенты были опрошены по поводу низкотравматичных переломов за период болезни; выполнена боковая рентгенография позвоночника в грудном и поясничном отделах (Axiot Icons R200 Siemens). **Результаты.** Медиана (Ме Q25; Q75) возраста пациентов с болезнью Иценко–Кушинга составила 33 (21; 43) года и существенно не отличалась от группы контроля ($p=0,936$), индекс массы тела — 29 (23; 34) кг/м² ($p=0,094$). Распределение по полу между группами также было сопоставимо — 32 женщины и 10 мужчин с болезнью Иценко–Кушинга против 37 женщин и 5 мужчин, включенных в группу контроля ($p=0,254$). Медиана свободного кортизола в суточной моче у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга составила 825 (301; 2077) нмоль/сут. Оба исследуемых Wnt-белка были статистически выше у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга по сравнению со здоровым контролем: соответственно 0,15 (0,04; 0,23) против 0,04 (0,01; 0,13) нг/мл ($p=0,017$) для Wnt3a и 2621 (2226; 3688) против 1917 (1721; 2549) нг/мл ($p=0,008$) для Wnt10b. **Заключение.** Сывороточный уровень Wnt3a и Wnt10b отражает интенсивность дисрегуляции Wnt-сигнального пути, в связи с чем оба исследуемых Wnt-белка целесообразно рассматривать в качестве биомаркеров нарушения костного ремоделирования при гиперкортицизме.

Ключевые слова: Wnt-сигнальный путь, болезнь Иценко–Кушинга, глюкокортикостероидный остеопороз, Wnt10b, Wnt3a.

(Для цитирования: Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Солодовников А.Г., Ильин А.В., Никанкина Л.В., Мельниченко Г.А. Wnt10b и Wnt3a как биомаркеры изменений регуляции костного обмена у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга. Вестник РАМН. 2018;73 (2):115–121. doi: 10.15690/vramn904)

Обоснование

Глюкокортикостероидный остеопороз (ГКО) представляет собой наиболее распространенную и тяжелую форму вторичного остеопороза и приводит к развитию низкотравматичных переломов в 30–50% случаев [1, 2]. ГКО характеризуется быстрой потерей губчатой костной ткани и повышением риска низкотравматичных переломов уже в первые 3–6 мес терапии глюкокортикостероидами [3]. Ввиду недостаточной эффективности доступных методов диагностики и лечения ГКО патофизиология воздействия глюкокортикостероидов на костную ткань остается предметом исследований. Наиболее часто изучение ГКО производится на модели грызунов, которая, однако, имеет некоторые ограничения, основным из которых является отсутствие изменения губчатой костной ткани у мышей [4], когда именно ее потеря обуславливает наиболее частые переломы тел позвонков у людей в условиях гиперкортицизма [5]. При болезни Иценко–Кушинга из-за постоянного повышенного уровня эндогенного кортизола возникают аналогичные изменения в костной ткани, как и при длительном введении супрафизиологических доз глюкокортикостероидов [5, 6].

Главной особенностью патогенеза ГКО является подавление формирования костной ткани [7, 8]. Глюко-

кортикостероиды негативно влияют на остеобластогенез [5], преимущественно за счет угнетения канонического Wnt/ β -катенин-сигнального пути (далее Wnt-сигнального пути) [5, 9]. Накопление β -катенина в ядре клетки зависит от влияния различных клеточных факторов на передачу Wnt-сигнала. Активация Wnt-сигнального пути осуществляется за счет связывания Wnt (винглесс) белка с двойным рецепторным комплексом, состоящим из фризельды и белка 5/6, родственного лиганда липопротеида (LRP5/LRP6) [10]. Всего известно 19 Wnt-белков, из которых Wnt3a и Wnt10b являются наиболее специфичными регуляторами костного ремоделирования [11, 12]. Wnt3a и Wnt10b способствуют дифференцировке мезенхимальной стволовой клетки по линии остеобластогенеза за счет подавления адипогенеза и улучшения пролиферации, а также вследствие выживаемости остеобластов [13]. Среди антагонистов Wnt-сигнального пути наиболее специфичными для остеобластогенеза являются склеростин (SOST) и диккопф 1 (DKK1) [3]. Ранее этим же коллективом авторов было показано увеличение экспрессии генов *SOST* и *DKK1*, а также компенсаторное увеличение *WNT10b*, но не *WNT3a* в образцах костной ткани пациентов с болезнью Иценко–Кушинга [14]. На моделях ГКО у мышей дополнительно было выявлено повышение экспрессии гена секретируемого белка, связывающего

фризельд 1 (*SFRP1*) [15], чего не было выявлено у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга [14]. При оценке уровня антагонистов Wnt-сигнального пути в сыворотке крови удалось выявить различие только по уровню SOST, который был статистически значимо выше у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга по сравнению с контролем, а *DKK1* и *SFRP1* не отличались.

Целью настоящей работы стало изучение уровней агонистов Wnt-сигнального пути, а именно *Wnt10b* и *Wnt3a*, в сыворотке пациентов с болезнью Иценко–Кушинга.

Методы

Дизайн исследования

Проведено обсервационное одноцентровое одномоментное исследование по типу случай-контроль.

Критерии соответствия

Критерии включения

Всего было включено 42 пациента с болезнью Иценко–Кушинга, находившихся на обследовании в отделении нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «НИИЦ эндокринологии» Минздрава России, и 42 здоровых добровольца в качестве контрольной группы, сопоставимых по полу, возрасту и индексу массы тела.

Наличие эндогенного гиперкортицизма было подтверждено по крайней мере двумя из следующих тестов: определением свободного кортизола в суточной моче (референсный интервал 60–413 нмоль/сут), свободного кортизола в слюне, собранной в 23:00 (референсный интервал 0,5–9,4 нмоль/л), и/или подавлением кортизола в сыворотке крови менее 50 нмоль/л после приема 1 мг дексаметазона (малая дексаметазоновая проба) [6]. Болезнь Иценко–Кушинга была установлена на основании нормальных или повышенных уровней

адренкортикотропного гормона утром, наличия аденомы гипофиза по результатам магнитно-резонансной томографии и/или показателей селективного забора из нижних каменных синусов [16]. Результаты гистологического исследования послеоперационного материала также подтвердили наличие болезни Иценко–Кушинга у включенных пациентов. У здоровых добровольцев, составивших контрольную группу, не было никаких клинических симптомов эндогенного гиперкортицизма. Отсутствие патологической гормональной секреции гормонов гипофиза было подтверждено лабораторными методами исследования.

Критерии исключения

Из протокола исследования были исключены пациенты, находящиеся в состоянии ремиссии на фоне проведенного хирургического лечения или получаемой медикаментозной терапии, а также лица, принимающие глюкокортикостероиды (в т.ч. вследствие надпочечниковой недостаточности), находящиеся в терминальных состояниях; с тяжелыми, угрожающими жизни состояниями (такими как острая почечная и печеночная недостаточность, инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения), острыми инфекциями; обострением хронических заболеваний, тяжелыми психиатрическими заболеваниями; длительной (>1 нед) общей иммобилизацией; беременные; с клинически выраженным переломом в течение предыдущих 6 мес; с любой другой причиной вторичного остеопороза на момент проведения исследования или в течение 5-летней истории болезни или любым длительным лечением препаратами, имеющими доказанное влияние на ремоделирование костной ткани у людей в течение предыдущих 12 мес, включая лечение антирезорбтивными или анаболическими препаратами и патогенетическую терапию гиперкортицизма.

T.A. Grebennikova¹, Z.E. Belaya¹, A.G. Solodovnikov², A.V. Ilyin³, L.V. Nikankina¹, G.A. Melnichenko¹

¹ Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

² Ural State Medical Academy, Ekaterinburg, Russian Federation

³ Medical Center 'FertiLab', Moscow, Russian Federation

Wnt10b and Wnt3a as Biomarkers of Changes in the Regulation of Bone Metabolism in Patients with Cushing's Disease

Background: Endogenous hypercortisolism due to Cushing's disease (CD) is complicated by low-traumatic fractures in 50% of cases. Modern technologies allow to study pathogenetic changes in the regulation of bone remodeling in hypercortisolism and to offer new serum biomarkers.

Aims: To evaluate levels of Wnt proteins related to bone remodeling regulation in serum samples from patients with CD. **Materials and methods:**

Fasting serum samples were taken and stored in aliquot at $\leq -80^\circ\text{C}$ from 42 consecutive subjects with clinically evident and biochemically confirmed active CD and 42 healthy volunteers matched by age, sex and body mass index (BMI). Evaluation of the levels of Wnt proteins (*Wnt3a*, *Wnt10b*) was measured by immunochemiluminescence assay using the *WNT3a SEL818Hu (USCN)* and the *WNT10b SEP553Hu (USCN)*.

Twenty-four hours urine free cortisol (24hUFC) (60–413 nmol/24h) and bone turnover markers was measured by electrochemiluminescence assay on a Cobas 6000 Module e601 (Roche). At the time of enrollment all participants were questioned regarding any low traumatic fractures for the period of the disease. Patients underwent standard spinal radiographs in anterior-posterior and lateral positions of the vertebrae Th4–L4 (Axiom Icons R200 Siemens). **Results:** The median (Me Q25; Q75) age of patients with CD was 33 (21; 43) years with no difference among the groups, $p=0.936$; BMI — 29 (23; 34) kg/m², $p=0.094$ and without differences by sex, $p=0.254$. The median 24hUFC in subjects with CD — 825 (301; 2077) nmol/24h was significantly higher as compared to the control group ($p<0.001$). We report increased levels of *Wnt3a* and *Wnt10b* in patients with CD: *Wnt3a* 0.15 (0.04; 0.23) ng/ml in patients with CD vs 0.04 (0.01; 0.13) ng/ml in control group ($p=0.017$) and *Wnt10b* 2621 (2226; 3688) pg/ml vs 1917 (1721; 2549) pg/ml ($p=0.008$). **Conclusions:** The serum level of *Wnt3a* and *Wnt10b* reflects the intensity of Wnt-signaling dysregulation, and therefore they may be considered as biomarkers of bone remodeling deterioration in hypercortisolism.

Key words: Wnt/ β -catenin pathway, Cushing's disease, glucocorticoid induced osteoporosis, *Wnt10b*, *Wnt3a*.

(**For citation:** Grebennikova TA, Belaya ZE, Solodovnikov AG, Ilyin AV, Nikankina LV, Melnichenko GA. Wnt10b and Wnt3a as Biomarkers of Changes in the Regulation of Bone Metabolism in Patients with Cushing's Disease. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2018;73 (2):115–121. doi: 10.15690/vramn904)

Условия проведения

Все клинические, лабораторные и инструментальные манипуляции, выполненные в рамках данного исследования, были проведены на базе одного учреждения (ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва).

Продолжительность исследования

Набор материала продолжался в течение одного года (с октября 2016 по октябрь 2017 г.). Образцы сыворотки исследовались одномоментно после сбора всего биологического материала.

Исходы исследования

Основной исход исследования

Определены сывороточные уровни агонистов Wnt-сигнального пути — Wnt3a и Wnt10b — у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга и группы здорового контроля.

Дополнительные исходы исследования

Определены уровни свободного кортизола в суточной моче и вечерней слюне, используемые для подтверждения болезни Иценко–Кушинга, а также биохимические показатели фосфорно-кальциевого обмена и почечной функции (кальций общий и креатинин) для исключения метаболических нарушений, способных повлиять на костное ремоделирование.

Методы регистрации исходов

У всех участников исследования были взяты образцы крови натощак (8–10 часов утра), которые подвергались центрифугированию (лабораторная центрифуга Eppendorf 5810R, Германия, с комплектом роторов: A-4-81, Ф-4-81-МТР/Flex, FA-45-30-11 и F-45-48-PCR) в течение 15 мин после забора крови из вены при температуре +5 °С при скорости вращения 3000 об./мин в течение 20 мин. Образцы сыворотки были заморожены и хранились при температуре -80 °С.

Оценка уровней Wnt-белков проводилась иммуноферментным методом (ELISA) с использованием наборов WNT3 SEL818Hu (USCN, США) и WNT10b SEP553Hu (USCN, США).

Анализ крови на адренокортикотропный гормон, определение свободного кортизола в вечерней слюне и суточной моче проводились электрохемилюминесцентным методом (ECLIA) на анализаторе Cobas 6000 Module e601 (Roche, Швейцария). Уровни инсулиноподобного фактора роста-1 измеряли с помощью иммунохемилюминесценции (Liaison, Германия).

Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (протокол заседания ЛЭК № 17 от 26.10.2016).

Все участники добровольно подписали официальную форму информированного согласия до включения в исследование.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Ввиду отсутствия пилотных исследований мощность выборки оценена эмпирически с учетом редкости данных заболеваний.

Методы статистического анализа данных

Данные представлены с использованием медианы (Me) и квартилей 25% и 75% (Q25; Q75). Сравнение между количественными параметрами производилось с помощью критерия Манна–Уитни. Точный критерий Фишера был использован при сравнении двух независимых групп для качественных параметров. Для выявления зависимости между переменными использовался корреляционный анализ Спирмена.

Значение *p* менее 0,05 считалось статистически значимым. Статистическая обработка производилась в пакете SPSS 16.0 Inc SoftWare.

Результаты

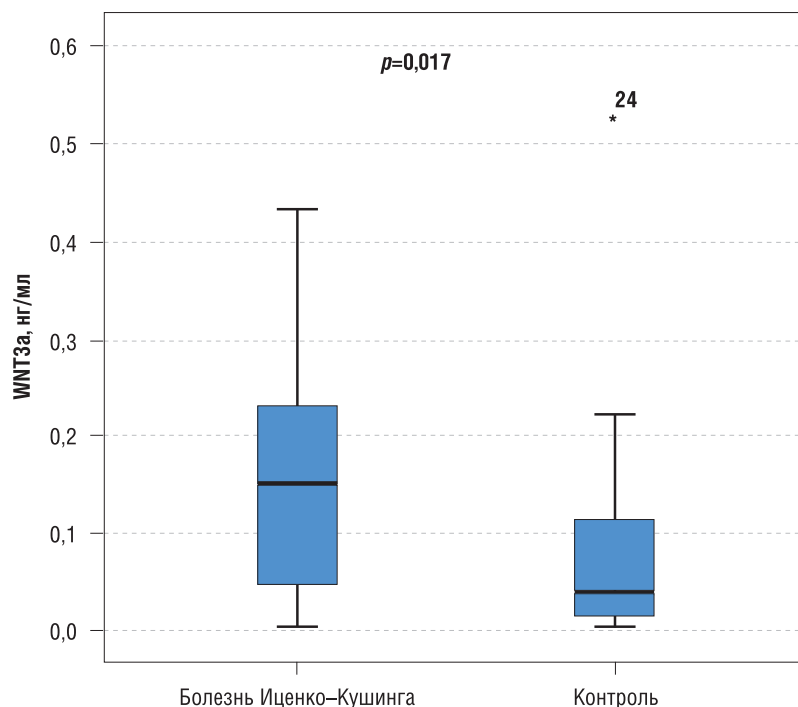
Участники исследования

Клиническая характеристика участников исследования и биохимические параметры приведены в табл.

Таблица. Общая характеристика участников исследования

Параметры	Болезнь Иценко–Кушинга Me (Q25; Q75)*	Контроль Me (Q25; Q75)*	<i>p</i>
Количество пациентов	42	42	-
Возраст, лет	33 (21; 43)	30 (28; 39)	0,936
Индекс массы тела, кг/м ²	29 (23; 34)	25 (23; 28)	0,094
Пол, Ж (%) / М (%)	32 (76) / 10 (24)	37 (88) / 5 (12)	0,254
Кальций общий, ммоль/л	2,38 (2,33; 2,46)	2,35 (2,28; 2,41)	0,078
Креатинин, мкмоль/л	70 (63; 81)	65 (60; 70)	0,157
Остеокальцин, нг/мл	9,4 (6,8; 13,3)	19,3 (16,1; 24,3)	<0,001
С-концевой телопептид коллагена 1-го типа, нг/мл	0,329 (0,27; 0,46)	0,365 (0,278; 0,412)	0,147
ИРФ-1	201 (162; 293)	201 (151; 245)	0,179
L1–L4, Z-критерий	-0,9 (-2; -0,3)	0,2 (-0,47; 0,95)	<0,001
Femur neck, Z-критерий	-0,6 (-1,6; 0,1)	0,35 (-0,6; 0,9)	0,001
Низкотравматичные переломы			
<ul style="list-style-type: none"> • количество (%) • тип 	13 (31) В 9 случаях — компрессионный перелом тел позвонков, в 7 — внепозвоночные переломы (в 4 случаях — ребер, в 2 — лодыжки, в 1 — плюсневой кости)	1 (2) Низкотравматичный перелом лодыжки	0,001

Примечание. * — данные представлены в виде медианы (Me) и квартилей (25% и 75%). ИРФ-1 — инсулиноподобный фактор роста-1, L1–L4 — поясничные позвонки, Femur neck — проксимальный отдел бедренных костей.



118 **Рис. 1.** Wnt3a в периферической крови у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга по сравнению с группой контроля*

Пациенты с болезнью Иценко–Кушинга имели повышенный уровень свободного кортизола в суточной моче — 825 (301; 2077) нмоль/сут, в слюне в 23:00 — 11,4 (6,7; 24) нмоль/л ($p < 0,001$ по сравнению с контролем) и отсутствие подавления кортизола в сыворотке крови на фоне приема 1 мг дексаметазона. Средняя расчетная продолжительность болезни Иценко–Кушинга составила приблизительно 4 (2; 10) года. Как и ожидалось, уровень остеокальцина в сыворотке был значимо снижен у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$). У пациентов с болезнью Иценко–Кушинга наблюдались низкотравматические

переломы, главным образом компрессионные переломы тел позвонков, при этом разница по сравнению с группой контроля была статистически значимой ($p = 0,001$) (см. табл.).

Основные результаты исследования

У пациентов с болезнью Иценко–Кушинга по сравнению с группой контроля, составленной из здоровых добровольцев, впервые обнаружено выраженное повышение Wnt3a — 0,15 (0,04; 0,23) нг/мл ($p = 0,017$) (рис. 1) и Wnt10b — 2621 (2226; 3688) пг/мл ($p = 0,008$) (рис. 2) в сыворотке крови. Вместе с тем уровень остеокальцина

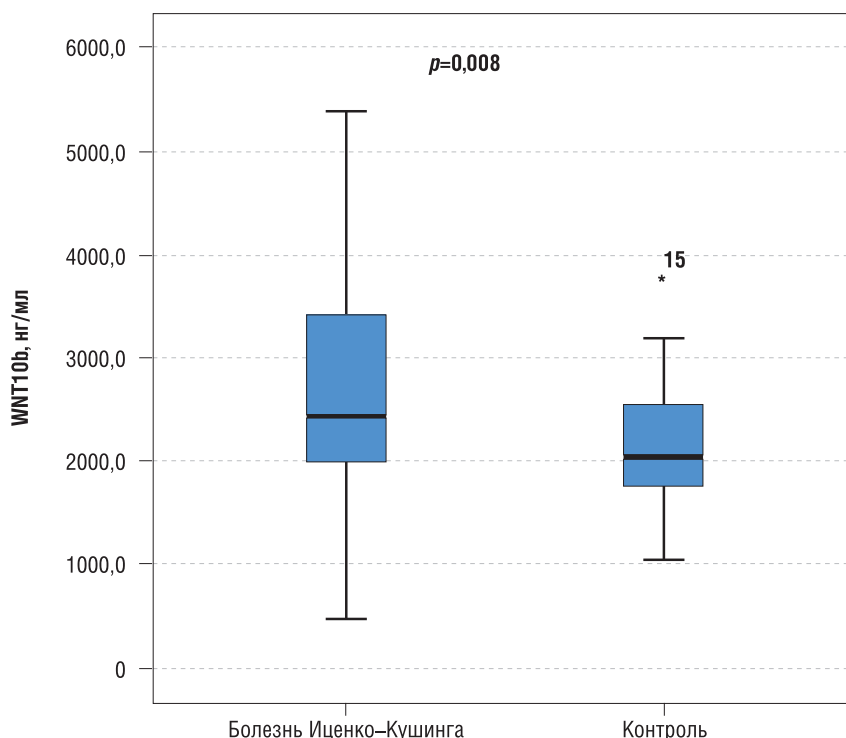


Рис. 2. Wnt10b в периферической крови у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга по сравнению с группой контроля*

обратно коррелировал с кортизолом в суточной моче ($p=-0,562$ и $p<0,001$) и одновременно с Wnt10b в сыворотке крови ($p=-0,334$ и $p=0,002$). При этом непосредственной зависимости между Wnt10b и кортизолом в суточной моче выявлено не было ($p=0,202$ и $p=0,071$). Кроме того, обнаружена корреляция Wnt3a с уровнем свободного кортизола в суточной моче ($p=0,367$ и $p=0,007$).

Дополнительные результаты исследования

Уровни общего кальция и креатинина были сопоставимы в группах пациентов с болезнью Иценко–Кушинга и здорового контроля, что свидетельствует об отсутствии метаболических изменений, способных повлиять на физиологическую регуляцию костного ремоделирования.

Нежелательные явления

Нежелательных явлений в ходе исследования не отмечено ни в одной из двух групп.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

В настоящем исследовании впервые были изучены уровни внеклеточных агонистов Wnt-сигнального пути в сыворотке крови пациентов с болезнью Иценко–Кушинга в сравнении со здоровым контролем. Несмотря на известное подавление костеобразования у больных гиперкортицизмом, в данной работе было выявлено повышение обоих исследованных агонистов Wnt-сигнального пути (Wnt10b и Wnt3a), которое, по всей видимости, носит компенсаторный характер.

Обсуждение основного результата исследования

Увеличение экспрессии генов *WNT10b*, но не *WNT3a*, было ранее обнаружено в образцах костной ткани пациентов с болезнью Иценко–Кушинга [14]. Ранее активно изучалось содержание внеклеточных антагонистов Wnt-сигнального пути в сыворотке крови при различных заболеваниях и состояниях [17–20]. Уровень SOST был статистически значимо повышен в сыворотке крови у пациентов с эндогенным [21] и экзогенным гиперкортицизмом [3]. Хотя надежность и воспроизводимость исследования антагонистов Wnt-сигнального пути в сыворотке крови в ряде случаев ставится под сомнение, эти молекулы рассматриваются как новые биомаркеры костного ремоделирования [22]. Выявленное в настоящей работе повышение агонистов Wnt-сигнального пути в сыворотке крови у пациентов с эндогенным гиперкортицизмом свидетельствует не об активации этого сигнального пути, а, скорее, о дисрегуляции по аналогии с традиционными маркерами костного ремоделирования.

В костной ткани непрерывно протекают процессы формирования и резорбции, баланс между которыми определяет прочность скелета. В регулировании костного обмена Wnt-сигнальный путь играет центральную роль за счет контроля над синтезом и дифференцировкой мезенхимальных стволовых клеток, стимуляции репликации преостеобластов, индукции остеобластогенеза и подавления апоптоза остеобластов и остеоцитов [23].

Маркеры костеобразования у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга, как и ожидалось, были подавлены, и это сочеталось с увеличением содержания агонистов Wnt-сигнального пути и ранее продемонстрированного повышения антагонистов Wnt-сигнала в сыворотке крови

[21, 24]. Эти же результаты — подавление экспрессии генов активности остеобластов и повышение как агонистов, так и антагонистов Wnt-сигнального пути — были получены в костной ткани пациентов [14]. Интересно, что в костной ткани пациентов с болезнью Иценко–Кушинга экспрессия *WNT3a* не изменялась, однако уровень белка в периферической крови был значимо выше по сравнению с контрольной группой. Данный феномен может быть объяснен увеличением свободной фракции Wnt3a в циркулирующей крови ввиду снижения образования комплекса Wnt3a с антагонистом SFRP4 (белком, связывающим фризельд 4) [25] за счет подавления синтеза последнего в костной ткани [14]. Представленную гипотезу также подтверждает корреляция уровня Wnt3a в сыворотке крови с уровнем свободного кортизола в суточной моче.

Ограничения исследования

Продолжительность эндогенного гиперкортицизма может оказывать влияние на параметры костного ремоделирования. При болезни Иценко–Кушинга длительность эндогенного гиперкортицизма точно оценить не представляется возможным, т.к. данное заболевание является редким и часто неправильно диагностируется при первичной медико-санитарной помощи, поэтому между первыми признаками эндогенного гиперкортицизма и установлением диагноза может пройти много времени.

Заключение

При ГКО вследствие эндогенного гиперкортицизма нарушение прочности скелета связано прежде всего с подавлением формирования костной ткани ввиду угнетения Wnt-сигнального пути. В предшествующих работах активно изучались сывороточные уровни антагонистов проведения Wnt-сигнала, однако физиологические механизмы поддержания остеобластогенеза оставались неясными. Опираясь на результаты исследования экспрессии генов, регулирующих костный метаболизм непосредственно в образцах костной ткани, мы изучили компенсаторные возможности клеток остеобластического ряда в условиях эндогенного гиперкортицизма. Было выявлено повышение сывороточных уровней основных костноспецифических Wnt-белков — Wnt3a и Wnt10b, что свидетельствует о наличии биологически предусмотренных механизмов восстановления баланса костеобразования, которые, однако, являются недостаточными при выраженном эндогенном гиперкортицизме вследствие болезни Иценко–Кушинга, что демонстрирует подавленный уровень маркера костеобразования — остеокальцина. Вместе с тем мы полагаем, что при ГКО вследствие приема лекарственных препаратов по поводу аутоиммунных заболеваний компенсаторные реакции организма в виде повышения белков Wnt3a и Wnt10b могут оказаться более эффективными. Таким образом, сывороточные уровни белков Wnt3a и Wnt10b демонстрируют дисрегуляцию Wnt-сигнального пути и могут использоваться в качестве биомаркеров нарушения костного обмена при ГКО.

Источник финансирования

Грант Президента для молодых докторов медицинских наук МД-3204.2017.7.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов

Гребенникова Т.А. — сбор клинического материала, анализ полученных результатов, написание текста рукописи; Белая Ж.Е. — разработка дизайна исследования, анализ полученных результатов, редактирование текста

рукописи; Солодовников А.Г. — статистическая обработка результатов исследования, создание графиков, редактирование текста рукописи; Ильин А.В. — проведение иммуноферментных методов исследования, редактирование текста рукописи; Никанкина Л.В. — проведение электрохемилюминесцентных и иммунохемилюминесцентных методов исследования, редактирование текста рукописи; Мельниченко Г.А. — одобрение дизайна исследования, анализ полученных результатов, редактирование текста рукописи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи.

ЛИТЕРАТУРА

- Kanis JA, Johansson H, Oden A, et al. A meta-analysis of prior corticosteroid use and fracture risk. *J Bone Miner Res.* 2004;19(6):893–899. doi: 10.1359/JBMR.040134.
- Belaya ZE, Hans D, Rozhinskaya LY, et al. The risk factors for fractures and trabecular bone-score value in patients with endogenous Cushing's syndrome. *Arch Osteoporos.* 2015;10:44. doi: 10.1007/s11657-015-0244-1.
- Guanabens N, Gifre L, Peris P. The role of Wnt signaling and sclerostin in the pathogenesis of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep.* 2014;12(1):90–97. doi: 10.1007/s11914-014-0197-0.
- Zhang Z, Ren H, Shen G, et al. Animal models for glucocorticoid-induced postmenopausal osteoporosis: an updated review. *Biomed Pharmacother.* 2016;84:438–446. doi: 10.1016/j.biopha.2016.09.045.
- Canalis E, Mazziotti G, Giustina A, Bilezikian JP. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int.* 2007;18(10):1319–1328. doi: 10.1007/s00198-007-0394-0.
- Nieman LK, Biller BM, Findling JW, et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(5):1526–1540. doi: 10.1210/jc.2008-0125.
- Belaya ZE, Ilijin AV, Melnichenko GA, et al. Diagnostic performance of osteocalcin measurements in patients with endogenous Cushing's syndrome. *Bonekey Rep.* 2016;5:815. doi: 10.1038/bonekey.2016.42.
- Бровкина О.И., Белая Ж.Е., Гребенникова Т.А., и др. Экспрессия генов, регулирующих остеогенез в костной ткани пациентов с акромегалией и эндогенным гиперкортицизмом // *Генетика.* — 2017. — Т.53. — №8 — С. 981–987. [Brovkina OI, Belaya ZhE, Grebennikova TA, et al. Expression of osteogenesis regulatory genes in the bone tissue of patients with acromegaly and endogenous hypercorticism. *Genetika.* 2017;53(8):981–987. (In Russ.)] doi: 10.7868/S0016675817070025.
- Compston J. Management of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6(2):82–88. doi: 10.1038/nrrheum.2009.259.
- Kahn M. Can we safely target the WNT pathway? *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13(7):513–532. doi: 10.1038/nrd4233.
- van Amerongen R, Mikels A, Nusse R. Alternative Wnt signaling is initiated by distinct receptors. *Sci Signal.* 2008;1(35):re9. doi: 10.1126/scisignal.135re9.
- Mikels AJ, Nusse R. Purified Wnt5a protein activates or inhibits beta-catenin-TCF signaling depending on receptor context. *PLoS Biol.* 2006;4(4):e115. doi: 10.1371/journal.pbio.0040115.
- Almeida M, Han L, Bellido T, et al. Wnt proteins prevent apoptosis of both uncommitted osteoblast progenitors and differentiated osteoblasts by beta-catenin-dependent and -independent signaling cascades involving Src/ERK and phosphatidylinositol 3-kinase/AKT. *J Biol Chem.* 2005;280(50):41342–41351. doi: 10.1074/jbc.M502168200.
- Belaya ZE, Grebennikova TA, Melnichenko GA, et al. Effects of endogenous hypercortisolism on bone mRNA and microRNA expression in humans. *Osteoporos Int.* 2018;29(1):211–221. doi: 10.1007/s00198-017-4241-7.
- Yao W, Cheng Z, Busse C, et al. Glucocorticoid excess in mice results in early activation of osteoclastogenesis and adipogenesis and prolonged suppression of osteogenesis: a longitudinal study of gene expression in bone tissue from glucocorticoid-treated mice. *Arthritis Rheum.* 2008;58(6):1674–1686. doi: 10.1002/art.23454.
- Мельниченко Г.А., Дедов И.И., Белая Ж.Е., и др. Болезнь Иценко-Кушинга: клиника, диагностика, дифференциальная диагностика, методы лечения // *Проблемы эндокринологии.* — 2015. — Т.61. — №2 — С. 55–77. [Melnichenko GA, Dedov II, Belaya ZhE. Cushing's disease: the clinical features, diagnostics, differential diagnostics, and methods of treatment. *Problems of Endocrinology.* 2015;61(2):55–77. (In Russ.)] doi: 10.14341/probl201561255-77.
- Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res.* 2009;8(9):1137–1148. doi: 10.1002/jbmr.5650080915.
- Gennari L, Merlotti D, Valenti R, et al. Circulating sclerostin levels and bone turnover in type 1 and type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(5):1737–1744. doi: 10.1210/jc.2011-2958.
- Polyzos SA, Anastasilakis AD, Bratengeier C, et al. Serum sclerostin levels positively correlate with lumbar spinal bone mineral density in postmenopausal women — the six-month effect of risedronate and teriparatide. *Osteoporos Int.* 2012;23(3):1171–1176. doi: 10.1007/s00198-010-1525-6.
- Ardawi MS, Al-Sibiany AM, Bakhsh TM, et al. Decreased serum sclerostin levels in patients with primary hyperparathyroidism: a cross-sectional and a longitudinal study. *Osteoporos Int.* 2012;23(6):1789–1797. doi: 10.1007/s00198-011-1806-8.
- Belaya ZE, Rozhinskaya LY, Melnichenko GA, et al. Serum extracellular secreted antagonists of the canonical Wnt/beta-catenin signaling pathway in patients with Cushing's syndrome. *Osteoporos Int.* 2013;24(8):2191–2199. doi: 10.1007/s00198-013-2268-y.
- Chapurlat RD, Confavreux CB. Novel biological markers of bone: from bone metabolism to bone physiology. *Rheumatology (Oxford).* 2016;55(10):1714–1725. doi: 10.1093/rheumatology/kev410.
- Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А. Канонический Wnt/ β -катенин сигнальный путь: от истории открытия до путей клинического применения // *Терапевтический архив.* — 2016. — Т.88. — №10 — С. 74–81. [Grebennikova TA, Belaya ZE, Rozhinskaya LYa, Melnichenko GA. The canonical Wnt/ β -catenin pathway: from the history of the discovery to clinical application. *Ter Arkh.* 2016;88(10):74–81. (In Russ.)] doi: 10.17116/terarkh201688674-81.
- Brabnikova Maresova K, Pavelka K, Stepan JJ. Acute effects of glucocorticoids on serum markers of osteoclasts, osteoblasts, and osteocytes. *Calcif Tissue Int.* 2013;92(4):354–361. doi: 10.1007/s00223-012-9684-4.

25. Constantinou T, Baumann F, Lacher MD, et al. SFRP-4 abrogates Wnt-3a-induced beta-catenin and Akt/PKB signalling and reverses a Wnt-3a-imposed inhibition of in vitro mammary differentiation. *J Mol Signal.* 2008;3:10. doi: 10.1186/1750-2187-3-10.
26. Spencer GJ. Wnt signalling in osteoblasts regulates expression of the receptor activator of NF B ligand and inhibits osteoclastogenesis in vitro. *J Cell Sci.* 2006;119(7):1283–1296. doi: 10.1242/jcs.02883.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Гребенникова Татьяна Алексеевна (Tatiana A. Grebennikova, MD), научный сотрудник отделения нейроэндокринологии и остеопатий Национального медицинского исследовательского центра эндокринологии
Адрес: 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11, **e-mail:** grebennikova@hotmail.com, **SPIN-код:** 4380-5447,
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1413-1549>

Белая Жанна Евгеньевна (Zhanna E. Belaya, MD, PhD), доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, заведующая отделением нейроэндокринологии и остеопатий Национального медицинского исследовательского центра эндокринологии
Адрес: 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (495) 500-00-90, **e-mail:** jannabelaya@gmail.com,
SPIN-код: 4746-7173, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-6674-6441>

Солодовников Александр Геннадьевич (Alexander G. Solodovnikov), кандидат медицинских наук, доцент кафедры профилактической и семейной медицины Уральской государственной медицинской академии
Адрес: 620028, Екатеринбург, ул. Репина, д. 3, **e-mail:** dr.alexander.solodovnikov@gmail.com,
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4564-2168>

Ильин Александр Викторович (Alexander V. Ilyin, MD), заведующий клинико-диагностической лаборатории Медицинского центра «Фертилаб»
Адрес: 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (495) 500-00-90, **e-mail:** biochem@endocrincentr.ru,
SPIN-код: 3182-5396, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3259-4443>

Никанкина Лариса Вячеславовна (Larisa V. Nikankina, MD), кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией клинической биохимии Национального медицинского исследовательского центра эндокринологии
Адрес: 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (495) 500-00-90, **e-mail:** larisarikan@rambler.ru,
SPIN-код: 2794-0008, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8303-3825>

Мельниченко Галина Афанасьевна (Galina A. Melnichenko, MD, PhD, Professor), доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор Института клинической эндокринологии Национального медицинского исследовательского центра эндокринологии
Адрес: 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (495) 500-00-90, **e-mail:** teofrast2000@mail.ru,
SPIN-код: 8615-0038, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-5634-7877>