



УДК 616.12-008

<http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-4-88-94>

ESTIMATION OF INDICATORS OF MORPHOGENIC PROTEINS OF WNT-SIGNAL WAY (SCLEROSTIN AND β -CATENIN) IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE.

Plotnikova¹ M.O., Snimshchikova¹ I. A., Afonina¹ I.A., Samoylova¹ A.V., Kulakova² A.S.

¹"Oryol State University named after I.S. Turgenev", Oryol, Russian Federation

²«Bryansk Regional Hospital №1» Bryansk, Russian Federation

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОРФОГЕННЫХ БЕЛКОВ WNT-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ (СКЛЕРОСТИНА И β -КАТЕНИНА) У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА.

Плотникова¹ М. О., Снимщикова¹ И.А., Афонина¹ И.А., Самойлова¹ А.В., Кулакова² А.С.

¹ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева»,

г. Орёл, Российская Федерация

²ГАОУЗ «Брянская областная больница №1», г. Брянск, Российская Федерация

Abstract To date, cardiovascular diseases remain one of the most pressing problems of modern medicine, due to their prevalence and high mortality, including among young and middle-aged people. The search for possible early markers of the development of cardiovascular complications led to an interest in studying the main WNT proteins - the signaling pathway (one of the intracellular signaling pathways that control the phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells in cardiometabolic diseases) of sclerostin and β -catenin among patients with coronary heart disease. The article presents data on the quantitative blood serum content of patients with coronary heart disease, β -catenin and sclerostin, describes the relationship of changes in the level of morphogenic proteins of the WNT signaling pathway with clinical and laboratory data, as well as indicators of the structural and functional state of the heart and intracardiac hemodynamics. Understanding the new aspects of the pathogenesis of cardiovascular diseases leading to arterial calcification and cardiac muscle hypertrophy is extremely important for developing new therapeutic strategies aimed at reducing the frequency of cardiovascular complications, as well as reducing the economic costs of treatment and, in general, increasing the life expectancy of patients.

Аннотация. Одна из наиболее актуальных проблем современной медицины – заболевания сердечно-сосудистой системы. Это связано с широкой распространенностью данной патологии и высоким уровнем летальности пациентов с патологией сердца и сосудов, в том числе, у лиц молодого и среднего возраста. Поиск возможных ранних маркеров развития сердечно-сосудистых осложнений обусловил интерес к изучению основных морфогенных белков WNT-сигнального пути (одного из внутриклеточных сигнальных путей, контролирующих фенотипическую модуляцию гладкомышечных клеток сосудов при кардиометаболических заболеваниях) склеростина и β -катенина среди пациентов с ишемической болезнью сердца. В статье приведены данные о количественном содержании в сыворотке крови пациентов с ишемической болезнью сердца β -катенина и склеростина, описана взаимосвязь изменений уровня морфогенных белков WNT-сигнального пути с клинико-лабораторными показателями, а также данными структурно-функционального состояния сердца и внутрисердечной гемодинамики. Установление при ишемической болезни сердца прогностической роли морфогенных белков WNT-сигнального пути позволит не только совершенствовать стратификацию риска неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов у пациентов, но и устанавливать персональный риск прогрессирования заболевания и определять подходы к таргетной терапии.

Keywords: coronary heart disease, sclerostin, beta-catenin, WNT signaling pathway, predictors of coronary heart disease

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, склеростин, бета-катенин, WNT-сигнальный путь, предикторы ИБС



REFERENCES / БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- [1]. Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control (WHO, 2011) / Mendis, S., Puska, P., Norrving, B.
- [2]. Cardiac regeneration: current therapies—future concepts / Doppler SA, Deutsch M, Lange R, Krane M. // J Thorac Dis. 2013; 5(5):683–697.
- [3]. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 / Prof. Rafael Lozano, M D Mohsen Naghavi, Ph D Kyle Foreman et.al. // The Lancet, Volume 380, Issue 9859, 15 December 2012–4 January 2013, Pages 2095–2128
- [4]. Cardiac regeneration: current therapies—future concepts / SA.Doppler, M.Deutsch, R. Lange, M. Krane // Journal of Thoracic Disease. 2013;5(5):683–697.
- [5]. Enhanced engraftment, proliferation, and therapeutic potential in heart using optimized human iPSC-derived cardiomyocytes / S. Funakoshi, K. Miki, T. Takaki, C. Okubo, T. Hatani, K. Chonabayashi, M. Nishikawa, I. Takei, A. Oishi, M. Narita, M. Hoshijima, T. Kimura, S. Yamanaka, Y. Yoshida // Scientific Reports. 2016 01/08/online.
- [6]. Increased β -catenin accumulation and nuclear translocation are associated with concentric hypertrophy in cardiomyocytes / CY Lee, WW Kuo, R Baskaran, CH Day, PY Pai, CH Lai, YF Chen, RJ Chen, VV Padma, CY Huang // Cardiovascular Pathology. 2017 Nov - Dec; 31:9–16.
- [7]. Quijada P, Sussman MA. Making it stick: chasing the optimal stem cells for cardiac regeneration // Expert Review of Cardiovascular Therapy. 2014;12(11):1275–1288.
- [8]. Performance on management strategies with Class I Recommendation and A Level of Evidence among hospitalized patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome in China: Findings from the Improving Care for Cardiovascular Disease in China-Acute Coronary Syndrome (CCC-ACS) project / Yang N, Liu J, Liu J, Hao Y et al // Am Heart J. 2019 Jun;212:80–90
- [9]. New insights into the location and form of sclerostin / P. Hernandez, C. Whitty, R. John Wardale, Frances M.D. Henson // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2014 Apr 22; 446(4):1108–13.
- [10]. Arterial-ventricular coupling: mechanistic insights into cardiovascular performance at rest and during exercise / P.D. Chantler, Edward G. Lakatta, Samer S. Najjar // Journal of applied physiology (1985). 2008 Oct; 105(4): 1342–1351.
- [11]. Sclerostin and Dickkopf-1 as therapeutic targets in bone diseases / Ke HZ, Richards WG, Li X, Ominsky MS. // Endocr Rev. 2012;33(5):747–783.
- [12]. Vascular calcification: from pathophysiology to biomarkers / Evrard S, Delanaye P, Kamel S, Cristol JP, Cavalier E. // Clin Chim Acta. 2015;438:401–414.
- [13]. Sclerostin: another vascular calcification inhibitor? / Claes KJ, Viaene L, Heye S, Meijers B, d'Haese P, Evenepoel P. // J Clin Endocrinol Metab. 2013;98(8):3221–3228.
- [14]. Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial stiffness / Durham AL, Speer MY, Scatena M, Giachelli CM, Shanahan CM. // Cardiovasc Res. 2018 Mar 15;114(4):590–600
- [15]. Longitudinal trajectories of arterial stiffness and the role of blood pressure: the Baltimore longitudinal study of aging / AlGhatrif M., Strait J. B., Morrell C. H., Canepa M., Wright J., Elango P., et al. // Hypertension, 2013, 62, 934–941.

Author Contributions. Plotnikova M.O. - writing a text; statistical data processing; Snimshchikova I. A. - research concept and design; Afonina I.A. - collection and processing of materials; Samoylova A.V. - collection and processing of materials; Kulakova A.S. - literature review.

Conflict of Interest Statement. The authors declare no conflict of interest.

Plotnikova M.O. SPIN: 4921-7530, ORCID ID: 0000-0003-1593-5290; Research interests: study of immunity features of frequently ill children, WNT-signaling pathology, more than 20 works were published, 3 in the Higher Attestation Commission.

Snimshchikova I.A. SPIN: 2728-3520, ORCID ID: 0000-0002-4258-963X; Research interests: study of immunity features of frequently ill children, immune mechanisms in the development of various pathological conditions, WNT-signaling pathology, more than 120 works were published, 5 of them in WoS, 69 in the Higher Attestation Commission.

Afonina I.A. SPIN: 9649-7787, ORCID ID: 0000-0001-9147-169X; Research interests: immune mechanisms in the development of various pathological conditions, published more than 50 works, of which 27 are in the Higher Attestation Commission.

Samoylova A.V. ORCID ID: 0000-0001-8695-040X; Research interests: number of main publications: researching WNT signaling, education WNT/ β -Catenin Pathways, 1 work was published.

Kulakova A.S. SPIN: 2312-1500, ORCID ID: 0000-0002-5828-8620; Research interests: study of the problems of immunometabolism, WNT-signaling pathology, more than 6 works were published, 2 in the Higher Attestation Commission.



Заявление о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. Плотникова М.О. — написание текст, статистическая обработка данных, Снимщикова И.А. — концепция и дизайн исследования, Афонина И.А. — сбор и обработка материалов, Самойлова А.В. — сбор и обработка материалов, Кулакова А.С. — обзор литературы.

Плотникова М.О. SPIN-код: 4921-7530, ORCID ID: 0000-0003-1593-5290; **Сфера научных интересов:** особенности иммунитета часто болеющих детей, WNT-сигнальный путь при патологических состояниях, опубликовано более 20 работ, из них 3 в ВАК.

Снимщикова И.А. SPIN: 2728-3520, ORCID ID: 0000-0002-4258-963X; **Сфера научных интересов:** особенности иммунитета часто болеющих детей, иммунные механизмы в развитии различных патологических состояний, WNT-сигнальный путь при патологических состояниях, опубликовано более 120 работ, из них 5 в WoS, 69 в ВАК.

Афонина И.А. SPIN: 9649-7787, ORCID ID: 0000-0001-9147-169X; **Сфера научных интересов:** иммунные механизмы в развитии различных патологических состояний, опубликовано более 50 работ, из них 27 в ВАК.

Самойлова А.В. ORCID ID: 0000-0001-8695-040X; **Сфера научных интересов:** исследование WNT сигналинга, изучение WNT/ β -катенин пути, опубликована 1 работа.

Кулакова А.С. SPIN-код: 2312-1500, ORCID ID: 0000-0002-5828-8620; **Сфера научных интересов:** особенности иммунитета, WNT-сигнальный путь при патологических состояниях, опубликовано более 6 работ, из них 2 в ВАК.

Введение. Сердечно-сосудистые заболевания до настоящего времени остаются одной из наиболее актуальных проблем современной медицины, что обусловлено их широкой распространенностью и высокой смертностью, в том числе, у лиц молодого и среднего возраста [1]. Это негативно сказывается на демографической ситуации, социальном и экономическом развитии страны [2].

В настоящее время исследования ведущих ученых направлены на поиск способов восстановления нормальной функции сердца после перенесенной острой ишемической атаки [3; 4], а так же скрининговых методов ранней диагностики ишемической болезни и оценки прогрессирования заболевания.

Работами ряда авторов (Bergmann O., 2009; Ozhan G, Weidinger G, 2014) показано, что одним из ведущих внутриклеточных сигнальных путей, контролирующих фенотипическую модуляцию клеток гладких мышц сосудов при кардиометаболических заболеваниях является WNT-сигнальный путь. Несмотря на то, что способы передачи сигналов WNT на эмбриональных стадиях развития сердца достаточно хорошо изучены и данные экспериментальных исследований определяют каноническую передачу сигналов WNT/ β -catenin как «ключевой фактор» в регуляции сердечной функции и дисфункции, тем не менее, в различных исследованиях были получены противоречивые сведения об участии морфогенных белков WNT-сигнального пути в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Так описана постинфарктная гипертрофия сердца, опосредованная избыточной экспрессией β -катенина [6]. Вместе с тем, согласно другим исследованиям, активация канонической передачи сигналов WNT и

повышение уровня бета-катенина, участвующего в контроле пролиферативной способности кардиомиоцитов, способствует активации стволовых клеток, необходимых для восстановления миокарда после повреждения [7].

Известно, что ремоделирование миокарда и кальцификация сосудов лежат в основе патогенеза сердечно-сосудистых осложнений при ишемической болезни сердца (ИБС), являясь мощными независимыми факторами риска смерти больных [8]. Несмотря на то, что описаны многочисленные факторы, способные модулировать кальцификацию сосудов, патофизиологические аспекты развития сосудистой кальцификации до настоящего время изучены недостаточно. Одним из факторов, влияющих на дифференцировку остеобластов и способствующих развитию кальцификации, является морфогенный белок WNT/ β -catenin сигнального пути - склеростин. Поиск возможных ранних маркеров развития сердечно-сосудистых осложнений обусловил интерес к изучению склеростина, с одной стороны, как основного ингибитора WNT-сигнального пути, с другой, как потенциально возможного участника внескостной кальцификации [9].

Вместе с тем клиническое значение сыровоточных концентраций склеростина и β -катенина остается дискуссионным и нуждается в уточнении для определения их в качестве потенциальных предикторов при патологии системы кровообращения и разработки новых подходов к таргетной терапии.

Цель исследования. Изучить взаимосвязь изменений уровня морфогенных белков WNT-сигнального пути (склеростина и β -катенина) с клинико-лабораторными данными, а также показателями структурно-



функционального состояния сердца и внутрисердечной гемодинамики.

Материалы и методы. В проводимое исследование были включены 47 пациентов (37 мужчин и 10 женщин) с клинически установленным, документированным диагнозом ИБС, находившихся на лечении в профильном кардиологическом отделении БУЗ ОО «Орловская областная клиническая больница». Средний возраст больных составил $47,7 \pm 7,54$ года.

Среди пациентов, включенных в исследование, у 23 был диагностирован инфаркт миокарда, у 24 – стенокардия, что составило 49% и 51%, соответственно. По данным анамнеза ранее перенесенный инфаркт миокарда (ИМ)

наблюдался у 13 (27,7%) обследуемых, повторный ИМ - у 3 (6,38%). Артериальная гипертония выявлена у 40 (85%) пациентов, недостаточность кровообращения у 41 (87,2%), сахарный диабет II типа диагностирован у 7 (14,9%) больных. Нарушения липидного обмена в анамнезе регистрировалась у 55,3% больных, при этом у каждого третьего пациента (31,9%) было диагностировано ожирение.

Инфаркт миокарда с элевацией сегмента ST наблюдался у 18 пациентов (38,3%), для 7 больных (14,9%) был характерен Q-образующий инфаркт. Локализация инфаркта миокарда на основании изменений на ЭКГ представлена в таблице 1.

Table 1

Localization of myocardial infarction based on changes in the ECG (% of the number of MI)

Anterolateral localization	34,9%
Anterior septal localization	8,7%
Front localization	13%,
Back localization	13%
Posterolateral localization	8,7%
Lower diaphragmatic localization	13%,
Lower lateral localization	8,7%

Таблица 1

Локализация инфаркта миокарда на основании изменений на ЭКГ (% от количества ИМ)

Переднебоковая локализация	34,9%
Передне-перегородочная локализация	8,7%
Передняя локализация	13%,
Задняя локализация	13%
Заднебоковая локализация	8,7%
Нижне-диафрагмальная локализация	13%,
Нижнебоковая локализация	8,7%

Наличие стенозирующего атеросклеротического поражения аорты было выявлено у 6,4% пациентов. С одинаковой частотой (14,9%) у обследованных больных регистрировался атеросклероз брахиоцефальных и коронарных артерий.

Диагностику ИБС проводили в соответствии с Национальными рекомендациями в актуальной на момент исследования редакции. Длительность анамнеза ИБС варьировала от 0 до 12 лет.

Критерием включения в исследование было наличие у лиц молодого и среднего трудоспособного возраста ИБС.

Критериями исключения пациентов из проводимого исследования являлись: возраст моложе 25 лет и старше 60 лет, наличие тяжелой сопутствующей патологии (онкологические, инфекционные, психические заболевания, хроническая обструктивная болезнь легких, болезни соединительной ткани, почечная и гепатоцеллюлярная недостаточность), наличие патологии, влияющей на липидный обмен, беременность, лактация, отказ больного от проводимого исследования.

Всем пациентам было проведено комплексное обследование, включавшее определение и оценку клинических и биохимических показателей периферической крови (общий анализ крови,



липидный спектр, уровень тропонинов, С-реактивный белок, коагулограмма, креатинин, концентрацию ионов K^+ , Na^+ , уровень глюкозы), электрокардиографию (ЭКГ) в динамике, эхокардиографию (ЭХО-КГ), при наличии показаний – коронароангиографию (КАГ). В соответствии с задачами исследования у всех больных определяли в сыворотке крови уровень бета-катенина и склеростина методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием наборов Human beta catenin, Sunlongbiotech, Китай; SOST/Sclerostin, Sunlongbiotech, Китай.

Для определения показателей бета-катенина и склеростина, условно принимаемых за физиологическую норму, были обследованы 20 здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с больными контрольной группы.

Для оценки состояния артериальной и миокардиальной жесткости было проведено вычисление сердечно-сосудистого сопряжения (ССС), по данным ЭХО-КГ с использованием формулы: $ССС = E_a/E_s$, где E_s – конечно-систолическая жесткость желудочков, E_a – эффективная артериальная жесткость, [Chantler P.D.; 2008]. Показатели конечно-систолической желудочковой и артериальной жесткости (E_s и E_a) рассчитывались следующим образом: $E_s = KCD/KCO$, $E_a = KCD/УО$, где КСД – конечно-систолическое давление, УО – ударный объем, КСО – конечно-систолический объем [10].

Пациенты, включенные в исследование, получали стандартную терапию: дезагреганты, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, β -блокаторы, антагонисты кальция, гиполипидемические средства и др. У 35 (74,4%) больных была выполнена хирургическая реваскуляризация миокарда с помощью баллонной ангиопластики со стентированием коронарных артерий.

Перед включением в исследование у пациентов было получено информированное согласие об использовании результатов их обследования в научных целях.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного комплекса

Microsoft Excel XP, исследования корреляционной взаимосвязи между показателями выполнялись по Pearson, различия между группами по количественным признакам рассчитаны с использованием Mann-Whitney U-test. Данные представлены в виде абсолютного числа (%) больных или медианы, 1 и 3 квартилей [Me; Q1, Q3].

Исследование выполнено в соответствии со стандартами клинической практики (Gold Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации, протокол его проведения одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С.Тургенева».

Результаты исследования. Учитывая важную роль β -катенина в регуляции сердечной функции и дисфункции, представляло интерес оценить его продукцию у больных молодого и среднего возраста с ишемической болезнью сердца. Как показали результаты исследований, у пациентов с ИБС была установлена широкая вариабельность значений концентрации β -катенина в сыворотке крови, уровень которого у пациентов с ИМ и стенокардией составил 418,5 [293,25; 579] пг/мл и 462 [384; 587,5] пг/мл, соответственно, что, как видно из рис. 1, в несколько раз превышало аналогичные показатели, полученные у здоровых лиц 63,5 [57,25; 86] пг/мл, $p < 0,05$. При этом были выявлены существенные различия уровня β -катенина среди здоровых лиц женского и мужского пола ($67,5 \pm 14,7$ пг/мл и $105 \pm 29,4$ пг/мл, соответственно).

На наш взгляд, заслуживают внимание данные о максимально низких значениях β -катенина у пациентов с инфарктом миокарда и гипертрофией левого желудочка по данным ЭХО-КГ, а также его достоверном повышении у больных ИБС с сопутствующей дислипидемией (у больных с острым инфарктом миокарда и стенокардией, в равной степени), что согласуется с данными литературы, указывающими на связь между нарушением метаболизма холестерина и подавлением передачи сигналов WNT/ β -catenin (Blassberg R, Macrae J I. et al., 2015; Kevin R. Francis, et al., 2016).

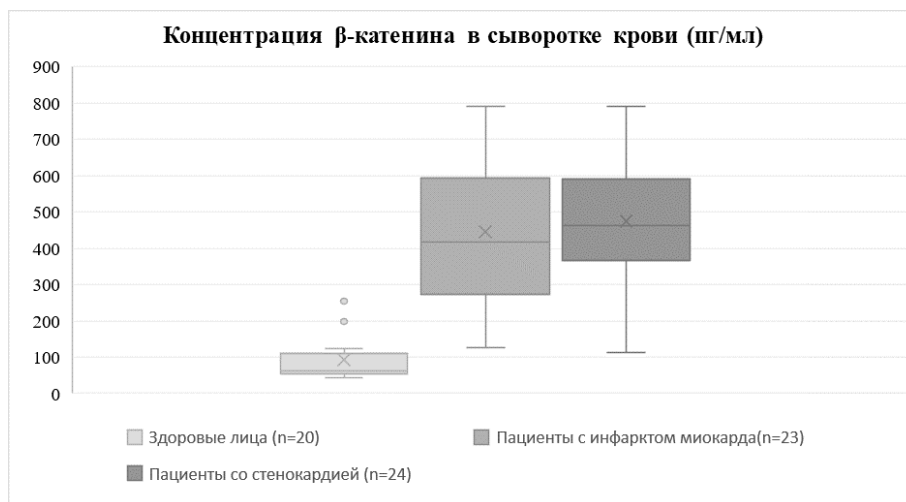


Рис.1 Концентрация β -катенина в сыворотке крови, пг/мл

Fig.1 The concentration of β -catenin in blood serum, pg / ml

Как отмечалось выше, склеростин, являющийся ингибитором WNT сигнального пути, способствует уменьшению костного обмена и активизирует сосудистую кальцификацию [11-14]. Вместе с тем современное понимание регуляции продукции склеростина и его метаболизма пока еще неполное. В настоящее время остается дискуссионным вопрос о роли сывороточного склеростина в снижении стабильности β -катенина в клетках и подавлении пролиферации и дифференцировки остеопрогениторных клеток [11, 12, 15]. Учитывая это, нами проведено определение уровня склеростина в сыворотке крови пациентов с ИБС молодого и среднего возраста и у здоровых лиц.

Согласно результатам проведенного исследования, уровень склеростина у пациентов с инфарктом миокарда составил 186 [148; 257,5] пг/мл, а у больных с диагнозом стенокардия -

230,5 [156,25; 265] пг/мл (рисунок 2), что не имело достоверных отличий с аналогичными показателями здоровых лиц ($p>0,05$).

При этом у 40,4% больных с ИБС регистрировались значения склеростина в сыворотке крови на уровне нижней границы (140-160 пг/мл), что может быть связано с его чрезмерной востребованностью и расходом для осуществления патофизиологического процесса. Кроме того, анализ полученных данных показал, что максимально высокие концентрации склеростина были выявлены у пациентов с имеющимся кальцинозом створок аортального клапана и стенок аорты по данным ЭХО-КГ, что согласуется с работами Hernandez P., Whitty C. et al., 2014, и может свидетельствовать о неблагоприятном течении заболевания. При этом, нами не было выявлено достоверных различий уровней сывороточного склеростина у пациентов с инфарктом миокарда и стенокардией ($p>0,05$).

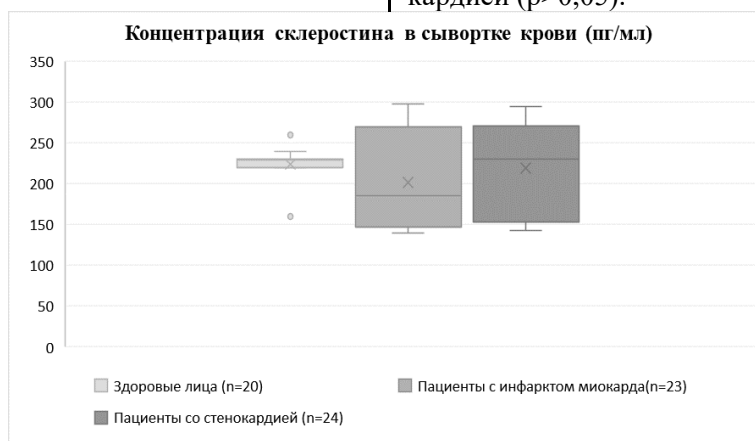


Рис.2 Концентрация склеростина в сыворотке крови, пг/мл

Fig.2 The concentration of sclerostin in serum, pg / ml



Как известно, ССС описывает состояние насосной функции левого желудочка с анализом потери артериальной эластичности и повышения жесткости левого желудочка, в связи с чем представляло интерес изучить взаимосвязь данных показателей с уровнем склеростина в сыворотке крови пациентов с ИБС.

У 45 % обследованных было установлено значимое увеличение показателя ССС до $1,03 \pm 0,15$ у.е., что, согласно данным литературы, является прогностически неблагоприятным показателем повышения жесткостных свойств миокарда и максимального износа левого желудочка. Найдена прямая сильная корреляционная связь между уровнем склеростина и ССС у обследуемой группы больных ($r=0.7$ $p \leq 0,01$), вероятно, свидетельствующая о снижении эластичности миокарда вследствие его фиброза или кальцификации, обусловленных нарушением WNT-сигналинга.

Таким образом, патогенез ишемической болезни сердца представляет собой сложную, до сих пор до конца не изученную проблему, в которой задействовано множество взаимосвязанных факторов, среди которых основные белки WNT-сигнального пути - β -катенин и склеростин, могут играть важную роль в развитии патологического ремоделирования миокарда и процессах внекостной кальцификации сосудов и клапанов сердца, как на ранних этапах развития патологических процессов, так и по мере прогрессирования заболеваний. Установление при ИБС прогностической роли морфогенных белков WNT-сигнального пути позволит не только совершенствовать стратификацию риска неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов у пациентов, но и устанавливать персональный риск прогрессирования заболевания и определять подходы к таргетной терапии.

Ответственный за переписку: Плотникова Мария Олеговна – старший преподаватель кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева», Орёл, Россия; e-mail: revyakina_masha@mail.ru

Corresponding Author: Plotnikova Maria Olegovna - Senior Lecturer, Department of Immunology and Specialized Clinical Disciplines, Orel State University named after I. S. Turgenev, Oryol, Russia; e-mail: revyakina_masha@mail.ru