

# Экспрессия микроРНК, регулирующих костное ремоделирование, в плазме крови у пациентов с акромегалией

Гребенникова Т.А.<sup>1\*</sup>, Белая Ж.Е.<sup>1</sup>, Никитин А.Г.<sup>2</sup>, Бровкина О.И.<sup>2</sup>, Солодовников А.Г.<sup>3</sup>, Дзеранова Л.К.<sup>1</sup>, Мельниченко Г.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва

<sup>2</sup>ФГБУ Научно-клинический центр ФМБА РФ, Москва

<sup>3</sup>Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург

**Обоснование.** МикроРНК представляют собой малые некодирующие РНК, регулирующие биологические и патологические процессы, включая органогенез, апоптоз, пролиферацию и дифференцировку клеток. Акромегалия вызывает нарушение костного ремоделирования, приводящее к хрупкости скелета. Вместе с тем, патогенетические аспекты данных изменений неизвестны.

**Цель.** Изучить экспрессию микроРНК, регулирующих процессы костного ремоделирования, в плазме крови у пациентов с акромегалией.

**Методы.** Для проведения исследования взяты образцы плазмы тошачковой крови, замороженные при температуре  $\leq -80^\circ\text{C}$ , у лиц с клинически и лабораторно подтвержденной активностью акромегалии, а также у здоровых добровольцев, подобранных по возрасту, полу и индексу массы тела (ИМТ). Исследование проведено одномоментно на базе отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава РФ. Для определения экспрессии микроРНК были использованы диагностические наборы: miRNeasy Serum/Plasma Kit, TaqMan Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit, TaqMan Advanced miRNA Assays. Инсулиноподобный фактор роста 1 (ИРФ-1) определен иммунохемилюминесцентным методом (Liaison).

**Результаты.** В исследование включены 40 человек: 22 пациента с акромегалией и 18 здоровых добровольцев подобранных по полу и возрасту. Медиана возраста пациентов с акромегалией составила 42 года (Q25;Q75 – 37;43) и существенно не отличалась от группы контроля ( $p=0,205$ ), ИМТ – 28 кг/м<sup>2</sup> (24;32) ( $p=0,253$ ). Медиана ИРФ-1 у пациентов с акромегалией составила 622 нг/мл (515;1000) и была значимо выше, чем в группе контроля ( $p<0,001$ ). По результатам анализа экспрессии 27 костноспецифических мкРНК в плазме крови в группе пациентов с акромегалией выявлено значимое изменение экспрессии микроРНК-100-5p ( $p=0,051$ ), микроРНК-550a-5p ( $p=0,048$ ), микроРНК-7b-5p ( $p=0,005$ ) и микроРНК-96-5p ( $p=0,042$ ).

**Заключение.** Выявленные костноспецифические микроРНК могут быть потенциальными биомаркерами изменений состояния скелета у пациентов с акромегалией.

*Ключевые слова:* микроРНК, акромегалия, вторичный остеопороз.

## Expression of microRNA related to bone remodeling regulation in plasma in patients with acromegaly

Grebennikova T.A.<sup>1\*</sup>, Belaya Zh.E.<sup>1</sup>, Nikitin A.G.<sup>2</sup>, Brovkina O.I.<sup>2</sup>, Solodovnikov A.G.<sup>3</sup>, Dzeranova L.K.<sup>1</sup>, Melnichenko G.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Laboratory of Genetics Federal Research and Clinical Center FMBA, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Ural State Medical Academy, Ekaterinburg, Russia

**Background.** MicroRNA are small regulatory factors that regulate gene expression by post-transcriptional regulation of mRNA, playing an important role in numerous cellular processes including organogenesis, apoptosis, cell proliferation and differentiation. Acromegaly causes bone fragility, but the pathogenetic mechanism is generally unknown.

**Aim.** To evaluate levels of microRNA related to bone remodeling regulation in plasma samples from patients with acromegaly

**Materials and methods.** Fasting plasma samples were taken and stored in aliquot at  $\leq -80^\circ\text{C}$  from consecutive subjects with clinically evident and biochemically confirmed active acromegaly and healthy volunteers matched by age, sex and body mass index (BMI). miRNeasy Serum/Plasma Kit, TaqMan Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit, TaqMan Advanced miRNA Assays were used to assay plasma miRNA expression. Insulin-like growth factor 1 (IGF1) was measured by immunochemiluminescence assay (Liaison).

**Results.** We enrolled 40 subjects (22 patients suffered from acromegaly and 18 matched healthy controls) matched by sex, age and BMI. The median age of patients with acromegaly was 42 years (Q25;Q75 – 37;43) with no difference among the groups,  $p=0.205$ ; BMI – 28 (24;32) kg/m<sup>2</sup>,  $p=0.253$ . The median IGF1 in subjects with acromegaly – 622 (514;1000) ng/ml was significantly higher as compared to the control group ( $p<0.001$ ). Patients with acromegaly had significantly higher expression of microRNA-100-5p ( $p=0.051$ ), microRNA-550a-5p ( $p=0.048$ ), microRNA-7b-5p ( $p=0.005$ ) and microRNA-96-5p ( $p=0.042$ ) among 27 bone-specific microRNA tested in plasma

DOI: 10.14341/OMET2017332-37

**Conclusions.** This study reveals that several microRNAs, known to regulate bone remodeling can be detected in plasma samples of patients with acromegaly and may be suggested as biomarkers for skeletal involvement in patients with acromegaly.

**Keywords:** *microRNA, acromegaly, secondary osteoporosis.*

\*Автор для переписки/Correspondence author – grebennikova@hotmail.com

DOI: 10.14341/OMET2017332-37

## Введение

Акромегалия представляет собой редкое эндокринное заболевание, обусловленное избыточной секрецией соматотропного гормона (СТГ) в большинстве случаев аденомой гипофиза. Действие СТГ в основном опосредовано через инсулиноподобный фактор роста 1 (ИРФ-1), который синтезируется в печени и периферических тканях. СТГ и ИРФ-1 оказывают плейотропное влияние на костное ремоделирование на протяжении всей жизни [1]. СТГ стимулирует рост и развитие скелета у детей и способствует поддержанию костной массы у взрослых. По результатам экспериментальных исследований предполагалось, что СТГ оказывает анаболический эффект на костную ткань, но это не было подтверждено в клинических исследованиях у пожилых пациентов [1]. Известно, что СТГ и ИРФ-1 непосредственно регулируют функционирование зрелого остеобласта. СТГ также стимулирует карбоксилирование остеокальцина и синтез остеопротегерина и его накопление в костном матриксе [1].

Как дефицит СТГ, так и его избыточная секреция нарушают процесс костного ремоделирования. Дефицит СТГ приводит к снижению формирования кости, что в детском возрасте проявляется в виде замедления продольного роста костей и набора костной массы, а во взрослом – повышенного риска переломов [2]. Заместительная терапия СТГ оптимизирует набор пика костной массы при взрослении пациентов с дефицитом СТГ и предотвращает развитие вторичного остеопороза [2].

При акромегалии в условиях избытка СТГ и ИРФ-1 происходит ускорение процессов костного ремоделирования, что подтверждается повышенным уровнем маркеров образования и резорбции костной ткани, уровень которых коррелирует с биохимической активностью заболевания [3]. Известно, что пациенты с акромегалией имеют повышенный риск переломов тел позвонков по сравнению с общей популяцией (39–59% против 14% соответственно) [4]. При этом результаты исследований минеральной плотности кости (МПК) достаточно противоречивы: в одних работах показано повышение МПК [5], в других – снижение [6], а некоторые исследования не выявили значимой разницы между МПК у пациентов с акромегалией и группой контроля [7]. Такая гетерогенность результатов может быть связана с активностью акромегалии, наличием гипогонадизма и сахарного диабета. Повышенный риск переломов может быть обусловлен снижением качества костной ткани, а не потерей МПК. Работы с использованием периферической количественной компьютерной томографии с высокой разрешающей способностью выявили повышенную

плотность кортикальной ткани, но при этом микроархитектоника костной ткани была нарушена и плотность трабекул снижена у пациентов с акромегалией по сравнению с контрольной группой [1].

Патогенетические аспекты повышения хрупкости костей и нарушения регуляции костного ремоделирования при акромегалии в настоящее время мало изучены [8]. Современный взгляд на процессы костеобразования и костной резорбции затрагивает эпигенетические механизмы регуляции [9]. Участие микроРНК (мкРНК) в костном обмене является ключевым в эпигенетическом контроле экспрессии генов. мкРНК представляют собой группу некодирующих молекул РНК, состоящих из 20–24 нуклеотидов, которые негативно регулируют экспрессию генов. мкРНК связываются с комплементарными последовательностями в 3'-нетранслируемом участке матричной РНК (мРНК) и блокируют трансляцию белка [9]. мкРНК устойчивы к внешнему воздействию и выделяются клетками в составе микровезикул или в комплексе с липопротеидами в циркулирующую кровь.

**Целью работы** стало изучение экспрессии мкРНК, регулирующих процессы костного ремоделирования, в плазме крови у пациентов с акромегалией.

## Материалы и методы

### Пациенты

В исследование по типу случай-контроль были включены 22 пациента с клинически выраженной и биохимически доказанной активностью акромегалии и 18 здоровых добровольцев в качестве контрольной группы, которые подписали официальную форму информированного согласия. У пациентов с акромегалией были типичные клинические проявления, в том числе изменение внешности за счет укрупнения черт лица, кистей и стоп, повышенный ИРФ-1 (возрастной референсный интервал уровней ИРФ-1 определялся следующим образом: 18–20 лет: 127–584 нг/мл; 21–25 лет: 116–358 нг/мл; 26–30 лет: 117–329 нг/мл; 31–35 лет: 115–307 нг/мл; 36–40 лет: 109–284 нг/мл; 41–45 лет: 101–267 нг/мл; 46–50 лет: 94–252 нг/мл; 51–55 лет: 87–238 нг/мл; 56–60 лет: 81–225 нг/мл и 61–65 лет: 75–212 нг/мл) и отсутствие подавления СТГ менее 1 нг/мл после зафиксированной гипергликемии во время проведения перорального глюкозотолерантного теста (ПГТТ) с 82,5 мг моногидрата глюкозы согласно клиническим рекомендациям [9]. Пациентам с акромегалией проводилась магнитно-резонансная томография головного мозга, по результатам которой подтверждено наличие аденомы гипофиза. Среди пациентов с акромегалией аменорея была зарегистрирована в 6 случаях, все остальные женщины

сообщили об отсутствии нарушений менструальной функции. У трех пациентов акромегалия была осложнена сахарным диабетом с соответствующим контролем гликемии и у одного пациента выявлено нарушение гликемии натощак.

У здоровых добровольцев, составивших контрольную группу, не было никаких клинических симптомов акромегалии. Отсутствие патологической гормональной секреции гипофиза было подтверждено лабораторными методами исследования.

Критериями исключения являлись: беременность, использование глюкокортикоидов, злоупотребление алкоголем, обострение хронических заболеваний, тяжелые угрожающие жизни состояния (например, почечная и печеночная недостаточность, инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения), терминальные состояния, длительная общая иммобилизация (более 1 недели), клинически выраженный перелом в течение предыдущих 6 месяцев, любая другая причина вторичного остеопороза в момент проведения исследования или в течение 5-летней истории болезни или любое длительное лечение препаратами, имеющими доказанное влияние на ремоделирование костной ткани у людей, в течение предыдущих 12 месяцев [10], включая лечение антирезорбтивными или анаболическими препаратами, аналогами соматостатина.

### Методы

У всех обследуемых были взяты образцы плазмы тощаковой крови, которые подвергнуты двукратному центрифугированию (лабораторная центрифуга Eppendorf 5810R с комплектом роторов (A-4-81, Ф-4-81-МТР/Flex, FA-45-30-11 и F-45-48-PCR)) в течение 15 минут после забора крови из вены при температуре +50°C при скорости вращения 3000 оборотов/мин в течение 20 минут. Образцы плазмы были заморожены и хранились при температуре -80°C.

Выделение мкРНК из 200 мкл плазмы проводили с помощью miRNeasy Serum/Plasma Kit («Qiagen», Германия) согласно инструкции компании-производителя на автоматической станции QIAcube («Qiagen», Германия). Для предотвращения деградации в выделенную РНК добавляли 1 ед. RiboLock RNase Inhibitor («Thermo Fisher Scientific», США) на 1 мкл раствора нуклеиновых кислот. Концентрацию суммарной РНК в водном растворе оценивали на спектрофотометре NanoVue Plus («GE Healthcare», Великобритания). Обратная транскрипция для мкРНК осуществлялась с помощью TaqMan Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit («Applied Biosystems», США).

Анализ экспрессии мкРНК, участвующих в костном ремоделировании, проводили с помощью ПЦР «в реальном времени». Для ПЦР «в реальном времени» использовали термоциклер StepOnePlus (Applied Biosystems, USA). В смесь для ПЦР добавляли Fast Advanced Master Mix (Applied Biosystems, USA), раскапывали в 96-луночную плашку с праймерами и флуоресцентными зондами наборов TaqMan Advanced miRNA Assays (Applied Biosystems, USA). Общий объем ПЦР составлял 20 мкл. Условия амплификации

фрагментов ДНК: 95°C/20 сек – 1 цикл; 95°C/1 сек, 95°C/20 сек – 40 циклов. В качестве контроля выделения и обратной транскрипции использовались мкРНК miR-191 и искусственный экзогенный контроль cel-39.

У всех обследуемых были взяты образцы сыворотки тощаковой крови для проведения рутинной биохимии, гормонального анализа и определения маркеров костного ремоделирования (остеокальцин, С-концевой телопептид коллагена I типа (СТх)).

Анализ крови на остеокальцин, СТх, тиреотропный гормон, пролактин, адренкортикотропный гормон и вечерней слюны (в 23:00) на свободный кортизол проводился электрохемилюминесцентным методом (ECLIA) на аппарате Cobas 6000 Module e601 Roche. Уровни ИРФ-1 и СТГ измеряли с помощью иммунохемилюминесценции (Liaison). Рутинная биохимия (кальций общий и ионизированный, фосфор, щелочная фосфатаза, креатинин, глюкоза) была выполнена на Architect 8000 (Abbott, USA).

Все участники исследования анкетированы относительно недавних низкотравматичных переломов, наличия боли в спине и изменения роста. Рост измерялся стадиометром, а индекс массы тела (ИМТ) рассчитывался как отношение массы тела (кг) к росту (м<sup>2</sup>).

Пациентам с акромегалией проведено рентгенографическое исследование грудного и поясничного отделов позвоночника (Th4-L4) в боковой проекции (Axiom Icons R200 «Siemens»). Компрессионный перелом тела позвонка фиксировался, если визуальный осмотр предполагал уменьшение высоты тела позвонка (переднего, заднего или среднего отделов) на 20% и более.

МПК измеряли с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (iDXA, GE) в поясничном отделе позвоночника (L1-L4) и шейке бедренной кости в соответствии со стандартным протоколом.

### Статистический анализ данных

Данные представлены с использованием медианы (Me) и квартилей 25% и 75% (Q25;Q75). Сравнение между описательными параметрами пациентов с акромегалией и группой контроля проводили с использованием непарных 2-сторонних t-тестов. Точный критерий Фишера был использован для сравнения двух независимых групп для качественных параметров. Значение  $p < 0,05$  считалось статистически значимым. Вся аналитическая статистика выполнена только с использованием базового пакета «stats».

Статистическая обработка экспрессии мкРНК осуществлялась с помощью программного обеспечения StepOne Software v2.3. Применялся метод  $\Delta\Delta Ct$  с учетом референсных образцов. Данные всех экспериментов объединены в одно исследование с помощью пакета программ StepOne Software v2.3. При статистической обработке средние показатели ОК транскриптов группы «норма» принимались за референсные.

### Этическая экспертиза

Этическим Комитетом ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава РФ, согласно протоколу №17 Заседания Комитета от 26.10.2016 г., было постановлено, что «планируемая научная работа

Таблица 1

Параметры	Общая характеристика участников исследования*		
	Акромегалия, Ме (Q25;Q75)	Контроль, Ме (Q25;Q75)	p
Количество пациентов	22	18	
Возраст, годы	42 (37;43)	33 (30;41)	0,205
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	28 (24,4;32)	25 (21;32)	0,253
Пол, Ж, %: М, %	17 (77) : 5 (23)	17 (94) : 1 (6)	0,135
Кальций общий, ммоль/л	2,36 (2,31;2,4)	2,35 (2,29;2,39)	0,131
Креатинин, мкмоль/л	59 (55;67)	65 (62;71)	0,112
Остеокальцин, нг/мл	44,4 (32,6;61,1)	17,4 (13,4;21,9)	<0,001
СТх, нг/мл	0,97 (0,73;1,13)	0,36 (0,25;0,41)	<0,001
ИРФ-1	622 (515;1000)	225 (145;245)	<0,001
L1-L4 Z-критерий	0,2 (-0,5;1,5)	0 (-0,95;0,4)	0,189
Femur Neck Z-критерий	0,6 (-0,1;1,5)	0,4 (-1,15;0,9)	0,345
Низкотравматичные переломы, Количество, %, Тип	4 (18%). В 3 случаях компрессионный перелом тел позвонков и в одном внепозвоночный перелом (лучевая кость)	0	0,06

\* Данные представлены в виде медианы (Ме) и квартилей (25% и 75%)

«Эпигенетические аспекты нарушений костного ремоделирования при гиперкортицизме и акромегалии» соответствует этическим стандартам добросовестной клинической практики».

## Результаты

Клиническая характеристика участников исследования и биохимические параметры приведены в таблице 1. Пациенты с акромегалией имели повышенный уровень ИРФ-1 – 622 (Q25;Q75 – 515;1000) нг/мл и отсутствие подавления СТГ в ходе проведения ПГТТ – 3 (1,6;19,8) нг/мл. Средняя расчетная продолжительность акромегалии составила приблизительно 4 (3;8) года. У лиц контрольной группы уровень ИРФ-1 был в пределах возрастных референсных значений и составил 225 (145;245) нг/мл, остальные гормоны гипофиза также находились в референсном интервале. Как и ожидалось, уровни остеокальцина и СТх в сыворотке были увеличены у пациентов с акромегалией по сравнению с группой контроля ( $p < 0,001$ ). У 4 пациентов с акромегалией наблюдались низкотравматические переломы, главным образом компрессионные переломы тел позвонков, однако разница по сравнению с группой контроля была статистически незначимой ( $p = 0,06$ ) (табл. 1).

Проведен анализ экспрессии 27 костноспецифических мкРНК в плазме крови у пациентов с акромегалией и здоровых добровольцев, составивших группу контроля (таблица 2). При акромегалии выявлено значимое изменение экспрессии 4 мкРНК: мкРНК100-5р, мкРНК550а-5р, мкРНК7b-5р и мкРНК96-5р из 27 исследованных

## Обсуждение

Костное ремоделирование позволяет поддерживать прочность и адаптивность скелета человека в течение всей жизни, однако при изменении гормонального фона возникает нарушение процессов образования и резорбции костной ткани, что приводит к нарушению микроархитектоники кости и повышению риска переломов. В условиях избытка СТГ и ИРФ-1 усиление формирования и разрушения костной ткани осуществляется в разной степени, при этом патоген-

етические аспекты данных изменений не раскрыты, что требует более глубокого изучения на молекулярном уровне. Эпигенетика представляет собой изучение изменения активности генов, при которых структура ДНК остается прежней [20]. Одним из основных эпигенетических механизмов является изменение экспрессии мкРНК. В исследованиях доказана тканеспецифичность мкРНК [11], а некоторые из них уже используются в качестве маркеров заболеваний [12]. В исследованиях последних лет выявлен спектр костноспецифических мкРНК, регулирующих остеобластогенез, остеокластогенез и процессы минерализации костной ткани [9].

В соответствии с данными мета-анализа [13] в образцах сыворотки пациентов с акромегалией выявлены повышенные показатели маркеров костеобразования и костной резорбции (табл. 1). Вместе с тем, при исследовании экспрессии мкРНК в плазме крови было выявлено повышение мкРНК550а, ингибирующей остеобластогенез через угнетение трансляции RUNX2. В норме RUNX2, являясь ключевым транскрипционным фактором, направляет дифференцировку мезенхимальной стволовой клетки по линии остеобластогенеза [14, 15]. Кроме того, мкРНК550а-5р негативно влияет на синтез щелочной фосфатазы, нарушая минерализацию костной ткани, что может объяснить низкое качество новообразованной кости, обуславливая ее хрупкость [33]. МкРНК550а-5р также является мощным супрессором адипогенеза за счет отрицательного эффекта на экспрессию основного регулятора адипогенеза – PPAR- $\gamma$  [15].

Известно, что трансляция RUNX2 регулируется целым рядом мкРНК [14], в том числе мкРНК211-5р и мкРНК135-5р. мкРНК211-5р прямо ингибирует RUNX2 [16], а мкРНК135-5р через уменьшение фосфорилирования SMAD5 (внутриклеточный корецептор морфогенетического белка 2 (BMP2)) опосредованно снижает как трансляцию, так и функциональную активность RUNX2 [17]. Однако в сыворотке крови экспрессия мкРНК211-5р и мкРНК135-5р значимо не отличались от группы контроля. Другим медиатором передачи сигнала при остеобластогенезе является SMAD1, который положительно коррелирует с уров-

Таблица 2

Результаты всех измеренных уровней мкРНК в образцах плазмы пациентов с акромегалией по сравнению с группой контроля\*

МикроРНК (мкРНК)	Акромегалия, Ме (Q25;Q75)	Контроль, Ме (Q25;Q75)	p
мкРНК100-5p	0,43 (0,15;2,39)	0,11 (0,03;0,62)	0,051
мкРНК10b-5p	1,06 (0,21;4,31)	0,63 (0,3;1,99)	0,366
мкРНК122-5p	0,59 (0,21;2,38)	1,1 (0,4;4,33)	0,568
мкРНК125b-5p	1,2 (0,56;8,07)	1,32 (0,59;5,36)	0,900
мкРНК133a-5p	2,57 (0,84;4,78)	1,07 (0,21;6,9)	0,174
мкРНК135a-5p	3,46 (1,3;6,2)	2,86 (1,3;12,5)	0,989
мкРНК148a-3p	17,63 (1,96;53,2)	3,36 (1,05;145,43)	0,186
мкРНК155-5p	822,42 (1,12;4634)	413,23 (0,84;11372)	0,321
мкРНК188-3p	1,87 (0,89;7,14)	1,14 (0,9;4,28)	0,638
мкРНК191-5p	0,39 (0,26;1,1)	0,29 (0,11;1,05)	0,512
мкРНК199a-5p	1,09 (0,43;2,35)	1,21 (0,95;1,57)	0,967
мкРНК203a-5p	5,27 (2,88;7,59)	2,94 (1,69;10,88)	0,106
мкРНК21-3p	1,11 (0,33;1,94)	0,49 (0,32;1,59)	0,313
мкРНК21-5p	0,36 (0,19;1,47)	0,64 (1,16;1,02)	0,954
мкРНК211-5p	1,85 (0,96;4,27)	2,98 (0,99;7,54)	0,298
мкРНК22-3p	0,25 (0,14;1,09)	0,34 (0,15;0,71)	0,512
мкРНК26a-5p	1,03 (0,27;2,09)	0,49 (1,18;1,19)	0,234
мкРНК27a-3p	0,39 (0,09;1,71)	0,21 (0,1;1)	0,394
мкРНК27a-5p	18,92 (6,8;78,1)	36,71 (7,13;64;38)	0,338
мкРНК31-5p	3,32 (1,78;6,44)	4,47 (1,35;6,53)	0,563
мкРНК320a	0,5 (0,22;2,63)	0,48 (0,24;1,03)	0,165
мкРНК328-3p	1,01 (0,16;10,39)	1,68 (0,13;7,37)	0,626
мкРНК34a-5p	1,42 (0,45;4,08)	1,28 (0,19;10,23)	0,563
мкРНК550a-5p	2,82 (0,42;10,83)	1,36 (0,59;2,89)	0,048
мкРНК550b-2-5p	4,62 (2,07;9,95)	3,21 (1,32;2,45)	0,199
мкРНК7b-5p	1,17 (0,84;3,2)	0,35 (0,09;1,07)	0,005
мкРНК9-5p	3,65 (2,16;6,28)	5,83 (1,76;10,71)	0,411
мкРНК96-5p	2,3 (1,29;6,48)	1,22 (0,86;2,74)	0,042

\* Данные представлены в виде медианы (Ме) и квартилей (25% и 75%)

нем RUNX2. При акромегалии за счет значимого повышения экспрессии мкРНК100-5p происходит ингибирование SMAD1 и, соответственно, RUNX2 [18]. мкРНК100-5p также нарушает минерализацию костного матрикса за счет угнетения гена щелочной фосфатазы [18].

С другой стороны в сыворотке крови, отмечено повышение экспрессии мкРНК96-5p, которая отрицательно влияет на Hb-EGF (гепарин-связывающий фактор роста эпидермального фактора роста), что спо-

собствует дифференцировке мезенхимальной стволовой клетки по линии остеобластогенеза [19].

Кроме того, мы выявили изменения регуляторных механизмов, направленных на снижение остеокластогенеза при акромегалии, что также может быть объяснено включением компенсаторных механизмов, направленных на снижение костного ремоделирования. Так, мкРНК7b-5p, экспрессия которой значительно меняется при акромегалии, способствует ингибированию ключевой регулирующей молекулы остеокластогенеза DC-STAMP (дендритного клеточноспецифического трансмембранного белка) [20], она опосредует слияние моноядерных остеокластов в гигантские многоядерные клетки. При этом многоядерность остеокластов обуславливает их резорбтивную активность.

Данное исследование экспрессии костноспецифических мкРНК в плазме крови при акромегалии является первым и имеет некоторые ограничения в связи с новизной метода. Часто одна мкРНК может влиять на экспрессию нескольких генов, поэтому данные о функции мкРНК могут быть противоречивы, требуют дальнейшего изучения и в данной работе приведены исходя из литературных источников.

### Заключение

Таким образом, в данной работе впервые удалось зарегистрировать в периферической крови изменения экспрессии мкРНК, вовлеченных в регуляцию метаболизма костной ткани, у пациентов с акромегалией. Выявленные изменения мкРНК могут оказывать эффекты на остеобласто- и остеокластогенез. Однако их роль как биомаркеров изменений скелета при акромегалии требует дальнейшего изучения.

### Дополнительная информация

#### Источник финансирования.

Грант Российского научного фонда (проект № 15-15-30032).

#### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### Литература

1. Потешкин Ю., Пронин В.С., Мельниченко Г.А., и др. Влияние избытка гормона роста и ИРФ-1 на костно-суставную систему при акромегалии. //Актуальная эндокринология. – 2015. – №. 10. – С. 2. [Poteshkin Yu, Pronin VS, Mel'nichenko GA, et al. Growth hormone and IGF-1 effects on articular and skeletal system in acromegaly. *Aktual'naya endokrinologiya*. 2015;(10):2. (In Russ)]
2. Tritos NA, Klibanski A. Effects of Growth Hormone on Bone. 2016;138:193-211. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.10.008.
3. Tamada D, Kitamura T, Onodera T, et al. Rapid decline in bone turnover markers but not bone mineral density in acromegalic patients after transsphenoidal surgery. *Endocr J*. 2014;61(3):231-237. doi: 10.1507/endocrj.EJ13-0387.
4. Samelson EJ, Hannan MT, Zhang Y, et al. Incidence and Risk Factors for Vertebral Fracture in Women and Men: 25-Year Follow-Up Results From the Population-Based Framingham Study. *J Bone Miner Res*. 2006;21(8):1207-1214. doi: 10.1359/jbmr.060513.
5. Kaji H, Sugimoto T, Nakaoka D, et al. Bone metabolism and body composition in Japanese patients with active acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;55(2):175-181. doi: 10.1046/j.1365-2265.2001.01280.x.
6. Ezzat S, Melmed S, Endres D, et al. Biochemical assessment of bone formation and resorption in acromegaly. *J Clin Endocr Metab*. 1993;76(6):1452-1457. doi: 10.1210/jcem.76.6.8501150.
7. Kayath MJ, Vieira JGH. Osteopenia occurs in a minority of patients with acromegaly and is predominant in the spine. *Osteoporos Int*. 1997;7(3):226-230. doi: 10.1007/bf01622293.
8. Бровкина О.И., Беляя 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 ZheE, Grebennikova TA, et al. Osteogenesis Regulating Genes Expression in Bone Tissue of Patients with Acromegaly and Endogenous Hypercorticism. *Genetika*. 2017;53(8):981-987 (In Russ)]

DOI: 10.14341/OMET2017332-37

9. Grebennikova TA, Belaya ZE, Rozhinskaya LY, et al. Epigenetic Aspects of Osteoporosis. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2015;70(5):541. doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1440.
10. Дедов И.И., Молитвословова Н.Н., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А. Федеральные клинические рекомендации по клинике, диагностике, дифференциальной диагностике и методам лечения акромегалии // Проблемы Эндокринологии. – 2013. – Т. 59. – №6. – С. 4-18. [Dedov II, Molitvoslova NN, Rozhinskaya LI, Mel'nichenko GA. Russian association of endocrinologists national practice guidelines (clinical signs, diagnosis, differential diagnosis, treatment). *Acromegaly. Problems of Endocrinology*. 2013;59(6):4-18. (In Russ.)] doi: 10.14341/probl20135964-18]
11. Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS, et al. Bench to bedside: elucidation of the OPG-RANK-RANKL pathway and the development of denosumab. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2012;11(5):401-419. doi: 10.1038/nrd3705.
12. Semenova EV, Filatov MV. Genetic and epigenetic markers of gliomas. *Cell and Tissue Biology*. 2013;7(4):303-313. doi: 10.1134/s1990519x13040123.
13. Chen J-F, Mandel EM, Thomson JM, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet*. 2005;38(2):228-233. doi: 10.1038/ng1725.
14. Zhang Y, Xie R-I, Gordon J, et al. Control of Mesenchymal Lineage Progression by MicroRNAs Targeting Skeletal Gene Regulators Trps1 and Runx2. *J Biol Chem*. 2012;287(26):21926-21935. doi: 10.1074/jbc.M112.340398.
15. Heilmeier U, Hackl M, Skalicky S, et al. Serum miRNA Signatures Are Indicative of Skeletal Fractures in Postmenopausal Women With and Without Type 2 Diabetes and Influence Osteogenic and Adipogenic Differentiation of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells In Vitro. *J Bone Miner Res*. 2016;31(12):2173-2192. doi: 10.1002/jbmr.2897.
16. Shi X-M, Chen Q, Liu W, et al. Identification and Characterization of MicroRNAs Controlled by the Osteoblast-Specific Transcription Factor Osterix. *PLoS One*. 2013;8(3):e58104. doi: 10.1371/journal.pone.0058104.
17. Li Z, Hassan MQ, Volinia S, et al. A microRNA signature for a BMP2-induced osteoblast lineage commitment program. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105(37):13906-13911. doi: 10.1073/pnas.0804438105.
18. Fu HL, Pan HX, Zhao B, et al. MicroRNA-100 inhibits bone morphogenetic protein-induced osteoblast differentiation by targeting Smad1. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(18):3911-3919.
19. Yang M, Pan Y, Zhou Y. miR-96 promotes osteogenic differentiation by suppressing HBEGF-EGFR signaling in osteoblastic cells. *FEBS Lett*. 2014;588(24):4761-4768. doi: 10.1016/j.febslet.2014.11.008.
20. Dou C, Zhang C, Kang F, et al. MiR-7b directly targets DC-STAMP causing suppression of NFATc1 and c-Fos signaling during osteoclast fusion and differentiation. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1839(11):1084-1096. doi: 10.1016/j.bbagr.2014.08.002.

### Информация об авторах [Authors Info]

Гребенникова Татьяна Алексеевна, врач [Tatiana A. Grebennikova, MD]; адрес: 117036, г. Москва, ул. Дм. Ульянова, д.11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; <http://orcid.org/0000-0003-1413-1549>; eLibrary SPIN: 4380-5447; e-mail: grebennikova@hotmail.com

Белая Жанна Евгеньвна, д.,м.,н. [Zhanna E. Belaya, Sc.D.]; <http://orcid.org/0000-0002-6674-6441>; eLibrary SPIN: 4746-7173; e-mail: jannabelaya@gmail.com. Никитин Алексей Георгиевич, к.б.н. [Alexey G. Nikitin, Ph.D.]; <http://orcid.org/0000-0001-9762-3383>; eLibrary SPIN: 3367-0680; e-mail: avialn@gmail.com. Бровкина Ольга Игоревна, [Olga I. Brovkina]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0946-7331>; eLibrary SPIN: 3631-1397; e-mail: brov.olia@gmail.com. Солодовников Александр Геннадьевич, к.м.н. [Alexander G. Solodovnikov, Ph.D.]; e-mail: dr.alexander.solodovnikov@gmail.com. Дзеранова Лариса Константиновна, д.м.н. [Larisa K. Dzeranova, Sc.D.]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0327-4619>; eLibrary SPIN: 2958-5555; e-mail: dzeranova.lk@yandex.ru. Мельниченко Галина Афанасьевна, д.м.н., профессор, академик РАН [Galina A. Melnichenko, Sc.D., prof., academician of Russian Academy of Sciences]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5634-7877>; eLibrary SPIN: 8615-0038; email: teofrast2000@mail.ru.

### Цитировать:

Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Никитин А.Г., Бровкина О.И., Солодовников А.Г., Дзеранова Л.К., Мельниченко Г.А. Экспрессия микроРНК, регулирующих костное ремоделирование, в плазме крови у пациентов с акромегалией // Ожирение и метаболизм. — 2017. — Т.14. — №. 3 — С.32-37. doi: 10.14341/OMET2017332-37

### To cite this article:

Grebennikova TA, Belaya ZhE, Nikitin AG, Brovkina OI, Solodovnikov AG, Dzeranova LK, Melnichenko GA. Expression of microRNA related to bone remodeling regulation in plasma in patients with acromegaly. *Obesity and metabolism*. 2017;14(3):32-37. doi: 10.14341/OMET2017332-37