



RS Global
Journals

Scholarly Publisher
RS Global Sp. z O.O.
ISNI: 0000 0004 8495 2390

Dolna 17, Warsaw, Poland 00-773
Tel: +48 226 0 227 03
Email: editorial_office@rsglobal.pl

JOURNAL	World Science
p-ISSN	2413-1032
e-ISSN	2414-6404
PUBLISHER	RS Global Sp. z O.O., Poland
ARTICLE TITLE	РОЛЬ ОСТЕОКАЛЬЦИНУ В РЕГУЛЯЦІЇ СЕКРЕЦІЇ ІНСУЛІНУ ТА ОСТЕОТРОПНИХ ЕФЕКТІВ РІЗНИХ КЛАСІВ ПРОТИДІАБЕТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ (огляд літератури і власні дослідження)
AUTHOR(S)	Ковальчук А.В., Зінич О.В., Прибила О.В., Кушнарева Н.М., Ковальчук В.М., Шишкань-Шишова К.О. Kovalchuk A.V., Zinich O.V., Prybyla O.V., Kushnareva N.M., Kovalchuk V.M., Shyshkan-Shyshova K.O. (2022)
ARTICLE INFO	Osteocalcin Role in the Regulation of Insulin Secretion and Osteotropic Effects of Different Classes of Anti-Diabetic Drugs (Literature Review and Own Research). World Science. 3(75). doi: 10.31435/rsglobal_ws/30042022/7803
DOI	https://doi.org/10.31435/rsglobal_ws/30042022/7803
RECEIVED	20 February 2022
ACCEPTED	04 April 2022
PUBLISHED	08 April 2022
LICENSE	 This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License .

© The author(s) 2022. This publication is an open access article.

РОЛЬ ОСТЕОКАЛЬЦИНУ В РЕГУЛЯЦІЇ СЕКРЕЦІЇ ІНСУЛІНУ ТА ОСТЕОТРОПНИХ ЕФЕКТІВ РІЗНИХ КЛАСІВ ПРОТИДІАБЕТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ (огляд літератури і власні дослідження)

к.мед.н. **Ковальчук А. В.**, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, Україна, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6591-1460>

д.мед.н. **Зінич О. В.**, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, Україна, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0516-0148>

Прыбыла О. В., ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, Україна, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2212-1172>

к.мед.н. **Кушнарєва Н. М.**, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, Україна, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5390-6784>

к.мед.н. **Ковальчук В. М.**, Національний університет охорони здоров'я України ім. П.Л. Шупика, м. Київ, Україна, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2363-7365>

Шышкань-Шышова К. О., ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, Україна, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0939-5902>

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_ws/30042022/7803

ARTICLE INFO

Received: 20 February 2022

Accepted: 04 April 2022

Published: 08 April 2022

KEYWORDS

type 2 diabetes mellitus, osteocalcin, aGLP-1, SGLT2 inhibitors, obesity.

ABSTRACT

Background. Current data suggest that bone tissue produces hormonally active factors - modulators of metabolic processes throughout the body. The most significant osteoproteins is osteocalcin, the non-collagen structural protein of the bone matrix, which is synthesized by osteoblasts and enters the bloodstream during the resorption of bone tissue. Osteocalcin is involved in the regulation of energy balance, insulin secretion, peripheral insulin sensitivity, and adipocyte's function, while being an important marker of bone remodeling. The aim of this study was to investigate the relationship between osteocalcin levels and metabolic parameters in 97 patients with type 2 diabetes over 50 years of age, in the course of pharmacotherapy using different classes of antidiabetic drugs, namely human insulin, glucagon-like peptide-1 agonists (aGLP), and sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors, depending on presence of obesity. Results. There was found the highest serum osteocalcin level in patients without obese who received a metabolically active therapy with insulin or aGLP-1, comparing to non-obese subjects of SGLT2 inhibitors therapy group. The lowest level of HbA1c and triglycerides observed in non-obese patients on the background of taking aGLP-1. Conclusion. It can be assumed that the factor determining the hypoglycemic efficacy of investigated drugs may be the pathogenesis of type 2 diabetes which depends on the degree of obesity, while the type of antidiabetic therapy has a corrective effect, probably mediated by changes in body weight and fat distribution.

Citation: Kovalchuk A. V., Zinich O. V., Prybyla O. V., Kushnareva N. M., Kovalchuk V. M., Shyshkan-Shyshova K. O. (2022) Osteocalcin Role in the Regulation of Insulin Secretion and Osteotropic Effects of Different Classes of Anti-Diabetic Drugs (Literature Review and Own Research). *World Science*. 3(75). doi: 10.31435/rsglobal_ws/30042022/7803

Copyright: © 2022 Kovalchuk A. V., Zinich O. V., Prybyla O. V., Kushnareva N. M., Kovalchuk V. M., Shyshkan-Shyshova K. O. This is an open-access article distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License (CC BY)**. The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Вступ.

Метаболічні ефекти кісткових гормонів. Дослідження останнього часу довели, що кісткова тканина проявляє ознаки ендокринного органу, оскільки вона продукує та виділяє в

кровоток біологічно активні фактори, що беруть участь у як регулюванні місцевого кісткового метаболізму, так і справляють вплив на метаболічні функції у всьому організмі. При цьому ендокринна функція кісткової тканини підлягає регуляції з боку інших циркулюючих гормонів, до яких належать адипонектин, лептин та інсулін [1-4]. Встановлено, що клітини кісток, включаючи остеобласти, остеокласти, мезенхімальні ствовові клітини кісткового мозку та адипоцити, можуть синтезувати та виділяти різноманітні біоактивні речовини, такі як білки, поліпептиди, цитокіни, запальні фактори, адіпокіни та утворювати екзосоми. Ці гуморальні фактори потрапляють в кровообіг і діють на дистальні органи, впливаючи тим самим на енергетичний обмін усього тіла [5-8]. Крім того, вони здатні регулювати енергетичний гомеостаз шляхом зміни чутливості різних тканин до інсуліну, харчової поведінки та функції адипоцитів [2]. Ці дані відображують новий патофізіологічний механізм розвитку дисметаболических захворювань, таких як остеопороз, ожиріння та цукровий діабет [9-11].

Протягом циклу кісткового ремоделювання активні клітини синтезують білки або вивільняють продукти деградації, рівні яких в крові або сечі відображують стан кісткового обміну та застосовуються як маркери кісткового утворення або руйнування. Біохімічні маркери ремоделювання кісток включають маркери резорбції: С-телопептид (СТХ), N-телопептид (NTX), стійку до тартрату кислу фосфатазу 5b (СТКФ 5b); маркери формування кісток: специфічну для кістки лужну фосфатазу (СКЛФ), остеокальцин, N-кінцевий пропептид проколагену типу 1 (P1NP) [2, 11, 12].

Одним з найважливіших біомаркерів кісткового метаболізму є остеокальцин – неколагеновий структурний білок кісткового матриксу, який синтезується остеобlastами і надходить до кровотоку в процесі резорбції кісткової тканини.

Остеокальцин є першим остеопротейном, для якого встановлена функція регулювання енергетичного обміну. Виявлення асоціації остеокальцину з регуляторними впливами на метаболізм глюкози та ліпідів дало підстави розглядати кісткову тканину як ендокринний орган, який бере участь в координації вуглеводного та ліпідного обміну, гуморальній регуляції гомеостатичних процесів, у тому числі енергетичного балансу та інсуліночутливості клітин. Було встановлено, що остеокальцин стимулює проліферацію β-клітин підшлункової залози та сприяє секреції інсуліну, надалі було виявлено, що регуляція енергетичних процесів здійснюється через вплив на епітеліальні клітини кишечника, адипоцити та гепатоцити. У свою чергу, інсулін та лептин, впливаючи на остеобласти через відповідні рецептори, модулюють секрецію остеокальцину за механізмом зворотного зв'язку [11-14].

Дослідження показали, що основні гормональні ефекти остеокальцину включають підвищення продукції інсуліну підшлунковою залозою та корекцію рівня глюкози в крові; стимулювання утворення тестостерону; збільшення м'язової сили; покращення роботи мозку [10,12].

Остеокальцин проявляє метаболічну активність в декарбоксілованій формі. Після того, як інсулін подає сигнал на інсулінові рецептори остеобlastів, відбувається декарбоксілювання остеокальцину, внаслідок чого остеокласти руйнують належну порцію кісткової тканини, при цьому остеокальцин в активній формі надходить в кров і стимулює секрецію інсуліну, через що рівень глюкози приходить в норму [15-17].

Вплив деяких протидіабетичних препаратів на кістковий метаболізм. Антидіабетичні препарати необхідні для контролю рівня глікемії у пацієнтів з ЦД 2 типу. Кожен клас протидіабетичних препаратів має свою патофізіологічну мішень, пов'язану з регуляцією енергетичного обміну та/або секреції інсуліну. Однак як глікемічний, так і кістковий гомеостаз знаходяться під контролем загальних регуляторних факторів, що передбачає можливість впливу протидіабетичної терапії на якість кісток, опосередкованого через зміни диференціації кісткових клітин та процесів ремоделювання кістки. Тому надзвичайно важливо враховувати можливі наслідки дії фармакологічних засобів на здоров'я кісток та ризик переломів [4, 18].

Метформін сьогодні рекомендується як антигіперглікемічний засіб першої лінії, який застосовують у вигляді монотерапії або в поєднанні з іншими пероральними антигіперглікемічними препаратами та інсуліном [19]. Метформін впливає на інсуліночутливі органи або тканини, такі як печінка, скелетні м'язи та жирова тканина, зменшує печінковий гліюконеогенез та чинить інсулін-сенситизуючий ефект [20].

Останнім часом встановлено, що метформін впливає також на метаболізм кісток через декілька механізмів. Шляхом пригнічення комплексу I дихального ланцюга мітохондрій,

метформін в остеоцитах активує датчик клітинної енергії AMPK (5'AMP-активована протеїнкіназа), також він сприяє зменшенню утворення активних форм кисню (АФК), кінцевих продуктів глікування, активації синтаз оксиду азоту (e/iNOS), зниженню рівня інсуліноподібних факторів росту (IGF-1), що разом посилює процеси проліферації та остеогенної диференціації остеобластів [21, 22].

Клінічні дослідження показали, що лікування метформіном може зменшувати рівень маркерів резорбції кістки в пацієнтів з діабетом, знижувати частоту переломів, справляти довгостроковий захисний ефект щодо кісткового метаболізму в пацієнтів з предіабетом та діабетом [23-26].

Показано, що через активацію AMPK метформін проявляє прямі остеогенні ефекти, стимулював диференціацію остеобластів, сприяв підтримці мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ), що протидіяло втраті кісткової маси та зберігало мікроархітектуру кісток [23, 25]. Диференціація остеобластів корелювала зі змінами клітинного метаболізму та активності мітохондрій.

Таким чином, основним механізмом метаболічної дії метформіну є активація сигнального шляху AMPK, у тому числі в кісткових клітинах, що сприяє диференціації остеобластів, утворенню остеокальцину та зростанню кісткової маси. Виходячи з цих даних, метформін можна розглядати як нейтральний або, можливо, корисний чинник щодо впливу на кістковий метаболізм.

Аналоги глюкагоноподібного пептиду-1 (аГПП-1) та агоністи рецепторів глюкагоноподібних пептидів (арГПП) знижують рівень глюкози в крові, сприяючи секреції інсуліну та зменшуючи секрецію глюкагону глюкозозалежним чином, а також сприяють зниженню маси тіла та артеріального тиску, мають сприятливий профіль серцево-судинної безпеки, при цьому володіють мінімальним ризиком гіпоглікемії [27, 28].

На додаток до цих ефектів, встановлено, що інкретинові гормони відіграють важливу роль у гомеостазі кісток [29]. Виявлено, що рецептори ГПП-1 експресуються на остеобластах, індукуючи анаболічний ефект щодо ремоделювання кісток, тоді як рецептори ГПП-2 виявляються в остеокластах, діючи в напрямку зменшення деградації кістки [30]. Продемонстровано, що вплив ГПП-1 на метаболізм кісток включає як активацію функції остеобластів, так і пригнічення остеокластів. Значна кількість досліджень *in vitro* та на тваринах підтверджує потенційну роль кишкових гормонів у модуляції кісткового метаболізму.

С-клітини щитовидної залози експресують рецептори ГПП-1, активація яких індукує вивільнення кальцитоніну і, отже, опосередковано пригнічує резорбцію кістки. В цілому інкретинові гормони, за рахунок збільшення внутрішньоклітинного рівня кальцію, підвищення активності лужної фосфатази та експресії колагену 1 типу, в кінцевому рахунку сприяють збільшенню кісткової маси [31].

Препарати групи арГПП-1, імітуючи фізіологічні ефекти природного ГПП-1, можуть модулювати метаболізм кісток шляхом впливу на жирowo-кісткову вісь, що сприяє остеогенній диференціації та інгібує адипогенну диференціацію кісткових стовбурових клітин. Це може змінювати баланс між остеокластами та остеобластами, сприяючи посиленню процесів формування кісток та зниженню резорбції [32].

Оскільки аналоги ГПП-1 вже використовуються для лікування ЦД 2 типу, існують мета-аналізи, які вивчають кореляцію між лікуванням арГПП-1 та ризиком переломів. Дослідження за участі пацієнтів із ЦД 2 типу, які отримували лікування арГПП-1, показали, що воно не пов'язано з будь-якими змінами МЩКТ, а загальний ризик переломів кісток не змінювався [33]. Проте в іншому мета-аналізі, за даними 16 РКД (11 206 пацієнтів), було виявлено зниження ризику переломів при застосуванні ліраглутиду, але підвищений ризик при лікуванні екзенатидом [34].

Отже, клінічні та експериментальні дослідження показали, що інкретинові гормони відіграють важливу роль у регуляції кісткового обміну, при цьому їх вплив на метаболізм кісток включає активацію функції остеобластів і пригнічення остеокластів. Хоча дані щодо клінічної безпеки наразі обмежені, однак мета-аналізи досліджень, що вивчали ефекти арГПП-1, не виявили негативного впливу терапії на основі інкретинів на ризик переломів.

Інгібітори натрій-залежних котранспортерів глюкози-2 (іНЗКТГ-2) є ще одним новим класом пероральних антигіперглікемічних препаратів. Вони діють незалежно від інсуліну та сприяють негативному енергетичному балансу через посилену глюкозурию, шляхом

блокування натрій-залежних котранспортерів глюкози-2 (НЗКТГ-2), які відповідають за 90% ниркової реабсорбції глюкози в проксимальних канальцях нирок. Застосування іНЗКТГ-2 сприяє зниженню маси тіла [19].

На сьогоднішній день немає даних про експресію НЗКТГ-2 у кістці, проте результати фізіологічних та доклінічних досліджень вказують на те, що інгібування НЗКТГ-2 може опосередковано впливати на метаболізм кісток шляхом модуляції гомеостазу кальцію / фосфату, викликаючи збільшення канальцевої реабсорбції фосфату, а гіперфосфатемія в свою чергу здатна стимулювати секрецію паратиреоїдного гормону, що в кінцевому підсумку посилює резорбцію кісток і ризик переломів [35]. Так, повідомлялося, що іНЗКТГ можуть збільшувати вміст фосфору в проксимальних звивистих канальцях та сприяти помірному збільшенню рівня фосфату в сироватці крові в пацієнтів із хронічною хворобою нирок. Було виявлено, що канагліфлозин підвищував рівні плазматичного фактору росту фібробластів 23 (FGF23), з подальшим зниженням рівня активного вітаміну D [1,25(OH)2D] та збільшенням паратгормону. Всі ці зміни можуть призводити до втрати кісткової маси [36]. Крім того, іНЗКТГ-2 індукує натрійурез із подальшим зниженням натрію в сироватці крові, що може активувати остеокласти, посилюючи резорбцію кісток.

Перше повідомлення про підвищений ризик переломів при застосуванні іНЗКТГ-2 було отримано в результаті 104-тижневого дослідження наслідків прийому дапагліфлозину в 252 пацієнтів з ЦД 2 типу та хронічною нирковою недостатністю (ХНН) [37]. У цьому рандомізованому клінічному дослідженні (РКД) виявлено 13 випадків переломів (9,4%) у пацієнтів, які отримували дапагліфлозин, і жодного – в групі плацебо. Інші дослідження на хворих на ЦД 2 типу без ХНН не підтвердили цей ефект. Наприклад, в популяційному обсерваційному дослідженні за участі 4548 пацієнтів з ЦД2, які розпочали лікування дапагліфлозином, та 18 070 пацієнтів, яким було призначено інші препарати, через 3 роки спостереження не виявлено достовірної різниці у ризику будь-яких переломів [38].

До широкомасштабної програми CANVAS було включено 10 142 пацієнтів з ЦД 2 типу та високим ризиком розвитку серцево-судинних захворювань, (медіана строку спостереження 126 тижнів. Було зафіксовано підвищений на 26% ризик усіх переломів у пацієнтів, які отримували канагліфлозин, порівняно з групою плацебо [39]. На відміну від цього результату, в дослідженні EMPA-REG (7020 хворих на ЦД 2 типу із встановленим ССЗ, медіана 3,1 р.) ризик переломів був подібним для груп емплагліфлозину та плацебо (3,9% проти 3,8%) [40, 41].

Безпека іНЗКТГ-2 щодо ризику переломів була підтверджена комбінованим мета-аналізом за даними 20 РКД фази I – III, з прямим порівнянням з глімепіридом. Аналіз включав понад 12 000 пацієнтів, з них 8286 осіб приймали іНЗКТГ2. Результати не показали підвищеної частоти переломів в групі емплагліфлозину, а також окремо для канагліфлозину, дапагліфлозину та емплагліфлозину [42].

Одне з можливих пояснень асоціації між терапією інгібітором іНЗКТГ-2 канагліфлозином та підвищеним ризиком переломів полягає у тому, що посилення натрійурезу може спричинити ортостатичну гіпотензію з підвищеним ризиком падінь через зменшення об'єму крові, спричинене препаратом. Симптоми, пов'язані з діабетичною нейропатією або ортостатичною гіпотензією, також можуть бути викликані зменшенням об'єму крові [36].

Отже, останні дані щодо інгібіторів іНЗКТГ-2 свідчать про те, що завдяки способу дії вони здатні впливати на мінеральний гомеостаз, і тим самим потенційно вплинути на кісткову масу та ризик переломів. Зокрема, підвищена реабсорбція фосфатів може викликати вторинний гіперпаратиреоз, що стимулює резорбцію кісток. До підвищеного ризику падінь може призводити ортостатична гіпотензія, пов'язана з посиленням натрійурезом та гіповолемією. Незважаючи на кілька фізіологічних даних щодо можливого шкідливого впливу іНЗКТГ-2 на кістку, клінічні докази на підтвердження цієї гіпотези обмежуються даними, отриманими в програмі CANVAS для канагліфлозину.

Тому іНЗКТГ-2 слід застосовувати з обережністю пацієнтам з високим ризиком переломів, що особливо стосується одночасного застосування тіазолідиндіонів [43].

Інсулін. Інсулін – найстаріший препарат для лікування діабету, який досі є найефективнішим цукрознижувальним засобом, з практично необмеженими гіпоглікемічними можливостями. У той же час інсулін є потужним анаболічним гормоном, що має великий вплив на метаболізм кісток.

Інсулін виявляє анаболічні кісткові ефекти, зв'язуючись з рецептором інсуліну, експресованим на остеобластах, далі через субстрати рецепторів інсуліну (IRS-1 та IRS-2) стимулює формування кісток шляхом збільшення проліферації. З інсулінодефіцитом пов'язують вікове зменшення щільності кісток, підвищений ризик переломів та уповільнену регенерацію кісток. Часте виявлення остеопенії та остеопорозу серед хворих на ЦД 1 типу також підтримує концепцію про те, що інсулін має анаболічну дію на кістки [44, 45].

Разом з тим, встановлено, що пацієнти з ЦД 2 типу та/або серцево-судинними захворюваннями та гіперінсулінемією мають нижчі рівні остеокальцину та ремоделювання кісток, а також підвищену крихкість кісток. На відміну від остеопорозу зі зниженою МЩКТ, діабетичний фенотип крихкості кісток («гіперінсулінемія-остеофрагілітас») проявляється нормальною або підвищеною МЩКТ, яка асоційована з гіперінсулінемією / інсулінорезистентністю та позитивно корелює зі збільшенням ризику переломів [46, 47].

Вважається, що резистентність до інсуліну в кістках може впливати на гомеостаз глюкози у всьому тілі через знижену активність остеокальцину [12]. Так, у хворих на ЦД 2 типу виявлено зворотну асоціацію глікемії з рівнем остеокальцину [48]; в мета-аналізі показана пряма кореляція з НОМА- β і обернена – з рівнями HbA_{1c}, глюкози натще, НОМА-IR, з центральним ожирінням та метаболічним синдромом [49].

ЦД 2 типу, гіперінсулінемія та резистентність до інсуліну можуть супроводжуватись збільшенням щільності кісток, але зниженням їх міцності, що сприяє збільшенню ризику переломів. Однак клінічні дані з цього питання суперечливі. Хоча деякі автори повідомили про відсутність негативного впливу інсуліну на мікроархітектуру кісток у людей [50], в іншому дослідженні виявлено, що лікування інсуліном людей старшого віку негативно впливало на МЩКТ, мікроархітектуру та міцність кісток дистального відділу променевої кістки [51].

Незважаючи на те, що більшість доклінічних досліджень повідомляють про позитивний анаболічний ефект інсуліну на метаболізм кісток, клінічні дані найчастіше фіксують підвищений ризик переломів у пацієнтів, які отримували інсулін. Але слід враховувати, що інсулін зазвичай використовують у запущеній фазі ЦД 2 типу, а вищий ризик переломів може зумовлюватись ризиком падіння, пов'язаним з гіпоглікемією.

Про існування ендокринної осі між кісткою, де виробляється остеокальцин, і β -клітинами підшлункової залози свідчать результати дослідження *in vitro* з використанням моделі культивованих остеобластоподібних інсулінорезистентних клітин людини MG-63 [52]. У той час як інсулін і низький рівень глюкози збільшували експресію гена остеокальцину в нормальних клітинах, порушення передачі сигналів інсуліну в остеобластах MG-63 і висока концентрація глюкози гальмували транскрипцію гена остеокальцину та зменшували остеогенну диференціацію. Додавання культурального розчину від інсулінорезистентних клітин MG-63 до культури β -клітин щурів призводило до значного порушення секреції інсуліну цими клітинами. Це засвідчило, що інсулінорезистентність клітин кістки може гальмувати продукцію та секрецію інсуліну β -клітинами. Виявлено також, що концентрації остеокальцину в сироватці крові людей, хворих на ЦД 2 типу, проявляли зворотну кореляцію з рівнем глікемії, тоді як між резистентністю до інсуліну та остеокальцином кореляції не знайдено.

Однак на даний момент не можна зробити однозначного висновку щодо того, що ризик переломів є прямим ефектом лікування інсуліном або, швидше, непрямою асоціацією, що пояснюється підвищеним ризиком гіпоглікемії у цих осіб.

Таким чином, дані літератури показують, що терапія метформіном та аналогами інкретинів (арГПП-1) є безпечною щодо ризику переломів; тіазолідиндіони та представник ІНЗКТГ-2 канагліфлозин негативно впливають на кістковий метаболізм, і їх слід уникати пацієнтам із підвищеним ризиком переломів. Для інших препаратів групи ІНЗКТГ-2 клінічними дослідженнями не встановлено негативного впливу на міцність кісток та ризик переломів. Інсулін та похідні сульфонілсечовини, як правило, безпечні, але можуть збільшити ризик гіпоглікемії та падінь з подальшими травматичними переломами, тому слід уникати їх поєднання, особливо у людей похилого віку [53].

Результати власних досліджень. Враховуючи встановлений багатьма дослідженнями взаємозв'язок між рівнем важливого маркера кісткового метаболізму – остеокальцину, інсуліночутливістю периферичних тканин, секрецією інсуліну, нами було поставлено за мету дослідити особливості порушень кісткового ремоделювання у хворих на цукровий діабет 2

типу на тлі інволютивних змін в процесі фармакотерапії з використанням різних класів протидіабетичних засобів, в залежності від конституційно-метаболичного фенотипу.

Матеріали та методи. До дослідження залучено 94 пацієнта, хворих на цукровий діабет 2 типу, віком більше за 50 років. З них 58 чоловіків та 36 жінок, що знаходились в стані постменопаузи. Відповідно до Міжнародного Кодексу медичної етики, клінічні дослідження проводились за усною згодою пацієнтів після відповідного роз'яснення.

Вміст остеокальцину (ОК) визначали методом хемілюмінесцентного імунологічного аналізу з використанням парамагнітних часток за допомогою імуноаналізатора "Immulite" (Siemens, Німеччина) (референсні показники 2,0-22,0 нг/мл). Порушення вуглеводного обміну визначали за вмістом в крові показників інсуліну (3-25 мОд/л), глюкози натще (4,1-6,0 ммоль/л) та глікованого гемоглобіну (4,8-5,9%). Ступінь інсулінорезистентності оцінювали за допомогою моделі оцінки гомеостазу (НОМА-IR) [8].

Індекс маси тіла (ІМТ, кг/м²) визначали за загальноприйнятими методиками.

Статистичне опрацювання матеріалу проведено за допомогою статистичної програми MedStat. Для порівняння абсолютних величин в досліджуваних групах використовувався метод множинних порівнянь за допомогою тесту Краскела-Уолліса. Результати представлені як (медіана [нижній – верхній кuartиль]). Для порівняння даних двох незалежних вибірок застосовували двовибірковий тест Вілкоксона. Різниця вважалась достовірною за умови величини показника $p < 0,05$.

Завданням роботи було встановлення залежності вмісту остеокальцину в сироватці крові від виду цукрознижувальної терапії на тлі інволютивних змін у хворих на цукровий діабет 2 типу.

Результати. Обстежені пацієнти розподілені на 3 групи в залежності від виду антигіперглікемічної терапії: 1) інсулінотерапія (40 осіб), 2) інгібітори натрій-глюкозного котранспортера 2 типу (іНЗКТГ-2) (32 особи), 3) аналог глюкагоноподібного пептиду 1 (аГПП-1) (22 особи). Всі пацієнти на момент обстеження знаходились на відповідній терапії впродовж не менше ніж 2 роки. Окрім зазначених препаратів, всі пацієнти приймали базальну терапію у вигляді метформіну.

До загальної групи обстежених увійшли 51 особа з ожирінням (ІМТ ≥ 30 кг/м², середній вік 60,33 \pm 1,48 років, з них 29 чоловіків і 14 жінок) та 43 особи без ожиріння або з помірно підвищеною масою тіла (ІМТ < 30 кг/м², середній вік 57,7 \pm 1,15 років, з них 30 чоловіків та 21 жінка).

Пацієнти кожної групи, які знаходились на різній терапії, були розділені на 2 підгрупи з різним фенотипом (без ожиріння або з ожирінням), що визначався за значенням ІМТ. Результати визначення концентрації остеокальцину в сироватці крові та метаболічних показників у хворих на ЦД 2 типу в залежності від ступеня ожиріння представлені в таблиці 1.

У пацієнтів з різними ступенями ожиріння не знайдено достовірної різниці у вмісті остеокальцину між групами з різною цукрознижувальною терапією. Лише спостерігалась тенденція до різниці між групами інсулінотерапії та аГПП-1 (табл. 1).

За результатами множинного порівняння між групами з різною терапією встановлено, що серед хворих з відсутністю ожиріння (ІМТ < 30 кг/м²) у пацієнтів на тлі інсулінотерапії та прийому аГПП-1 показники остеокальцину в крові були достовірно вищими у порівнянні з пацієнтами без ожиріння, які приймали іНЗКТГ-2 ($p < 0,05$) (табл. 1).

Загалом, при порівнянні показників остеокальцину, незалежно від наявності чи відсутності ожиріння, виявлено його вірогідно вищий рівень у пацієнтів, які приймали аГПП-1, порівняно з хворими, що застосовували іНЗКТГ-2 ($p < 0,05$) і відсутність різниці з особами на тлі інсулінотерапії ($p > 0,05$).

При порівнянні між собою значень остеокальцину в пацієнтів, які приймали однаковий вид цукрознижувальної терапії, проте мали різний ступінь ожиріння, ми виявили наступне. Достовірна різниця спостерігалась тільки між підгрупами пацієнтів на інсулінотерапії, а саме, у хворих без ожиріння виявлено вищі значення остеокальцину порівняно з пацієнтами з ожирінням ($p < 0,01$). При порівнянні рівня остеокальцину в пацієнтів, які приймали іНЗКТГ-2 або аГПП-1, не було різниці між групами з ожирінням і без такого.

У пацієнтів, які приймали іНЗКТГ-2, визначали ступінь інсулінорезистентності. При цьому не було знайдено різниці індексу НОМА-IR між пацієнтами з ожирінням різного ступеня та без нього ($p > 0,05$). Останнє пояснюється високими показниками глікемії натще, що привело до підвищення індексу НОМА-IR при розрахунках.

Таблиця 1. Рівні глікованого гемоглобіну, концентрації остеокальцину в сироватці крові та показники ліпідної панелі у хворих на ЦД 2 типу в залежності від наявності чи відсутності ожиріння і виду цукрознижувальної терапії

Показники	Вид цукрознижувальної терапії					
	Інсулінотерапія		іНЗКТГ-2		арГПП-1	
	Без ожиріння (n=26)	З ожирінням (n=14)	Без ожиріння (n=15)	З ожирінням (n=17)	Без ожиріння (n=10)	З ожирінням (n=12)
Остеокальцин, нг/мл	4,1 [3,1-5,0]	2,6 [2,1-3,7] ⁴	2,9 [2,4-3,5] ¹	2,8 [2,1-3,6] ²	4,1 [3,0-5,6] ¹	4,0 [3,2-4,9] ³
HbA1c, %	8,15 [7,05-9,55]	10,2 [8,7-10,7] ⁷	8,0 [7,0-10,2]	8,3 [7,0-8,7] ⁵	6,95 [6,8-7,2]	7,8 [7,7-7,9] ^{6,8}
Тригліцериди, ммоль/л	1,52 [1,04-1,84]	2,39 [1,9-3,2] ¹	1,8 [1,5-,12]	1,96 [1,41-3,33]	1,75 [1,4-1,7]	1,5 [1,4-1,7] ²
ХС-ЛПВЩ, ммоль/л	1,28 [0,92-1,4]	1,2 [1,08-1,27]	1,23 [0,96-1,47]	1,07 [0,97-1,4]	1,2 [1,06-1,2]	1,2 [1,1-1,25]
ХС-ЛПНЩ, ммоль/л	3,21 [2,7-3,26]	2,81 [2,45-3,9]	2,46 [2,09-3,17]	2,92 [2,01-3,88]	2,5 [2,5-2,66]	2,9 [2,8-2,9]

¹ – вірогідність різниці показників ($p < 0,05$) у пацієнтів без ожиріння на тлі прийому інсулінотерапії, аГПП-1 та іНЗКТГ-2;

² – вірогідність різниці показників ($p < 0,05$) у пацієнтів без ожиріння на тлі прийому інсулінотерапії та з ожирінням і прийомом іНЗКТГ-2;

³ – вірогідність різниці показників ($0,05 > p < 0,1$) у пацієнтів з ожирінням на тлі прийому інсулінотерапії та аГПП-1;

⁴ – вірогідність різниці показників ($p < 0,01$) у пацієнтів з ожирінням та без нього на тлі інсулінотерапії;

⁵ – вірогідність різниці показників ($p < 0,01$) у пацієнтів з ожирінням на тлі прийому інсулінотерапії та іНЗКТГ-2;

⁶ – вірогідність різниці показників ($p < 0,01$) у пацієнтів з ожирінням на тлі прийому інсулінотерапії та аГПП-1;

⁷ – вірогідність різниці показників ($p < 0,05$) у пацієнтів з ожирінням та без нього на тлі інсулінотерапії;

⁸ – вірогідність різниці показників ($p < 0,01$) у пацієнтів з ожирінням та без нього на тлі прийому аГПП-1.

Подібно до остеокальцину, рівень глікованого гемоглобіну вірогідно відрізнявся в залежності від наявності чи відсутності ожиріння на тлі застосування аГПП-1 або інсуліну. На відміну від зазначених груп, у хворих групи із застосуванням іНЗКТГ-2 показники глікованого гемоглобіну не мали різниці в залежності від ожиріння. Слід зазначити, що при визначенні ступеня порушення вуглеводного обміну серед пацієнтів без ожиріння з прийомом арГПП-1, рівень глікованого гемоглобіну був найнижчим. Подібна картина спостерігалась у пацієнтів з групи інсулінотерапії, де вміст глікованого гемоглобіну був нижчим в підгрупі без ожиріння.

Враховуючи залежність рівня остеокальцину від метаболізму, нами визначались відмінності в концентрації основних показників ліпідної панелі. Проте, попри прийом різних груп цукрознижувальної терапії, концентрації тригліцеридів, холестерину ліпопротеїдів високої щільності та холестерину ліпопротеїдів низької щільності не мали суттєвої відмінності в залежності від виду цукрознижувальної терапії. Виключенням став менший вміст тригліцеридів у пацієнтів без ожиріння, що приймали інсулін, порівняно з такою ж групою хворих з ожирінням, що також є проявом різного патогенезу в структурі цукрового діабету 2 типу (табл. 1).

Таким чином, саме різниця у суті порушень вуглеводного обміну може бути першопричиною фенотипічних змін пацієнтів, з наступним розвитком ускладнень і перспективі цукрознижувальної терапії.

Обговорення. З огляду на сучасні дані літератури про ендокринні властивості клітин кісткової тканини, які продукують біологічно активні гуморальні фактори – модулятори метаболічних процесів у всьому організмі, для діабетологів представляє значний інтерес вивчення ролі остеокальцину як одного з остеопротейнів, що бере участь в регуляції енергетичного балансу, секреції інсуліну та інсуліночутливості клітин, при цьому будучи важливим маркером кісткового ремоделювання [10, 12-14]. В рамках даної роботи досліджувались взаємозв'язки між рівнями остеокальцину та метаболічними показниками у хворих на цукровий діабет 2 типу в інволютивному періоді, у процесі фармакотерапії з використанням різних класів протидіабетичних засобів, в залежності від ступеня ожиріння.

Той факт, що вміст остеокальцину був найвищим у пацієнтів без ожиріння, які отримували лікування метаболічно активними препаратами (інсуліном або арГПП-1), свідчить про кращий метаболічний стан у цих пацієнтів, що, можливо, пов'язано саме з впливом

остеокальцину. Це узгоджується з даними літератури про те, що у хворих на діабет знижений рівень остеокальцину корелює з більш вираженими метаболічними порушеннями, що супроводжуються вищим ступенем ожиріння [9, 13, 19]. Разом з тим, на тлі ожиріння вищий рівень остеокальцину спостерігався при застосуванні аГПП-1, як препарату, що прямо впливає на ступінь ожиріння і зокрема абдомінального ожиріння, сприяючи зменшенню накопичення загального і вісцерального жиру [16, 28, 31, 45]

Як і для рівня остеокальцину, ступень декомпенсації вуглеводного обміну (за рівнем глікованого гемоглобіну) вірогідно відрізнявся в залежності від наявності чи відсутності ожиріння на тлі застосування аГПП-1 або інсуліну, на відміну від пацієнтів підгрупи із застосуванням іНЗКТГ-2, в яких показники глікованого гемоглобіну не мали різниці в залежності від ожиріння. Можливо, це пояснюється різницею механізмів дії метаболічно активних засобів (інсуліну, інкретиноміметиків) та інгібітора ниркової реабсорбції глюкози [28, 37, 42].

Оскільки серед підгруп хворих без ожиріння (ІМТ <30 кг/м²) показники остеокальцину в крові були достовірно вищими у пацієнтів, які отримували інсулінотерапію або аГПП-1, ніж у осіб під іНЗКТГ-2 ($p < 0,05$), це дозволяє говорити про подібність анаболічного ефекту обох груп препаратів щодо функції остеобластів [44, 45].

Для пацієнтів, які мали різний ступінь ожиріння та отримували однаковий вид цукрознижувальної терапії, вищі значення остеокальцину спостерігалась в підгрупі інсулінотерапії без ожиріння порівняно з пацієнтами з ожирінням ($p < 0,01$), на відміну від відповідних підгруп пацієнтів, які приймали іНЗКТГ-2 або аГПП-1. Це може вказувати на виразніший взаємний вплив секреції інсуліну та остеокальцину [12, 14].

Отримані дані дозволяють припустити, що саме відмінності патогенезу порушень вуглеводного обміну за наявності ожиріння та без ожиріння можуть бути першопричиною фенотипічних змін пацієнтів, з наступним розвитком ускладнень, а також особливостей ефектів різних видів цукрознижувальної терапії.

Висновки. Встановлено, що вміст остеокальцину в сироватці крові хворих на цукровий діабет 2 типу був найвищим у пацієнтів без ожиріння на тлі інсулінотерапії або прийому агоністів рецепторів аГПП-1 порівняно з тими, що не мали ожиріння і застосовували іНЗКТГ-2. Разом з тим, найнижчий рівень глікованого гемоглобіну спостерігався у пацієнтів без ожиріння на тлі прийому аГПП-1, що свідчить про найбільш виражений метаболічний вплив аГПП-1 саме у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу без ожиріння. Найнижчий рівень тригліцеридів спостерігався у хворих без ожиріння на тлі інсулінотерапії. Можна припустити, що чинником, який визначає цукрознижувальну ефективність різних препаратів, можуть бути особливості патогенезу цукрового діабету 2 типу в залежності від ступеня ожиріння, тоді як вид цукрознижувальної терапії має коригуючий ефект, можливо, опосередкований змінами маси тіла та вмісту жиру в організмі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Zhou, R., Guo, Q., Xiao, Y., Qi Guo, Huang, Y., Li, Ch., & Luo, X. (2021). Endocrine role of bone in the regulation of energy metabolism. *Bone Research*, 9, 25. doi: 10.1038/s41413-021-00142-4
2. Riddle R.C., & Clemens T.L. (2017). Bone cell bioenergetics and skeletal energy homeostasis. *Physiological Reviews*, 97, 667–698. doi: 10.1152/physrev.00022.2016
3. Abarrategi, A., Mian, S., Passaro, D., Rouault-Pierre, K., Grey, W., & Bonnet, D. (2018). Modeling the human bone marrow niche in mice: from host bone marrow engraftment to bioengineering approaches. *Journal of Experimental Medicine*, 215, 729-743. doi: 10.1084/jem.20172139
4. Cipriani, C., Colangelo, L., Santori, R., Renella, M., Mastrantonio, M., Minisola, S., & Pepe, J. (2020). The interplay between bone and glucose. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 24 March. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00122>.
5. Erben, R.G. (2018). Physiological Actions of Fibroblast Growth Factor-23. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 28 May | <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00267>.
6. Cai, X., Xing, J., Long, C., Peng, Q., & Humphrey, M. (2017). DOK3 modulates bone remodeling by negatively regulating osteoclastogenesis and positively regulating osteoblastogenesis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 32, 2207-2218. doi: 10.1002/jbmr.3205.
7. Matsuoka, K., Park, K., Ito, M., Ikeda, K., & Takeshita, S. (2014). Osteoclast -derived complement component 3a stimulates osteoblast differentiation. *Journal of Bone and Mineral Research*, 29, 1522-1530. doi: 10.1002/jbmr.2187.
8. Zhang, H., Wang, L., Liu, Sh., Li, J., Xiao, L., & Yang, G. (2019). Adiponectin regulates bone mass in AIS osteopenia via RANKL/OPG and IL6 pathway. *Journal of Translational Medicine*, 17, 64. doi.org/10.1186/s12967-019-1805-7

9. Lecka-Czernik, B. Diabetes, bone and glucose-lowering agents: basic biology. (2017). *Diabetologia*, 60 (7), 1163-1169. doi: 10.1007/s00125-017-4269-4.
10. Seppä S., Tenhola, S., & Voutilainen, R. (2019). Association of serum total osteocalcin concentrations with endogenous glucocorticoids and insulin sensitivity markers in 12-year-old children: a cross-sectional study. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 19 Nov | doi.org/10.3389/fendo.2019.00798
11. Donat, A., Knapstein, P.-R., Jiang, S., Baranowsky, A., Ballhause, T.-M., Frosch K.-H., & Keller, J. (2021). Glucose metabolism in osteoblasts in healthy and pathophysiological conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (8), 4120. doi: 10.3390/ijms22084120
12. Wei, J., & Karsenty, G. An overview of the metabolic functions of osteocalcin. (2015). *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 16, 93–98. doi: 10.1007/s11154-014-9307-7.
13. Lin, X., Onda, D.-A., Yang, C.-H., Lewis, J. R., Levinger, I., & Loh, K. (2020). Roles of bone-derived hormones in type 2 diabetes and cardiovascular pathophysiology. *Molecular Metabolism*, 40, 101040. doi: 10.1016/j.molmet.2020.101040.
14. Rubert, M., & De la Piedra, C. (2020). Osteocalcin: from marker of bone formation to hormone; and bone, an endocrine organ. *Journal of Osteoporosis and Mineral Metabolism*, 12 (4), 146-151. DOI: 10.4321/S1889-836X2020000400007
15. Yeap, B. B., Alfonso, H., Chubb, S. A., Gauci, R., Byrnes, E., Beilby, J. P., ... & Flicker, L. (2015). Yeap, B.B., Alfonso, H., Chubb, S.A, et al. Higher serum undercarboxylated osteocalcin and other bone turnover markers are associated with reduced diabetes risk and lower estradiol concentrations in older men. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100, 63–71. doi: 10.1210/jc.2014-3019
16. Kheniser, K.G., Polanco, S., Kashyap, S.R. (2018) The effects of diabetes therapy on bone: a clinical perspective. *Journal of Diabetes Complications*, 32, 713–719. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2018.04.005
17. Liu, Y., Liu, X., Lewis, J., &. (2019). Relationship between serum osteocalcin / undercarboxylated osteocalcin and type 2 diabetes: a systematic review /meta-analysis study protocol. *BMJ Open; London*, 9 (3). <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.
18. Vianna, A., Sanches, C., & Barreto, F. (2017). Review article: effects of type 2 diabetes therapies on bone metabolism. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 9, 75. doi: 10.1186/s13098-017-0274-5
19. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. (2020). American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 43 (1), S98-S110. <https://doi.org/10.2337/dc20-S009>
20. Rena, G., Hardie, D.G., & Pearson, E.R. The mechanisms of action of metformin. (2017). *Diabetologia*, 60 (9), 1577-1585. doi: 10.1007/s00125-017-4342-z
21. McCarthy, A.D., Cortizo, A.M., & Sedlinsky, C. (2016). Metformin revisited: Does this regulator of AMP-activated protein kinase secondarily affect bone metabolism and prevent diabetic osteopathy. *World Journal of Diabetes*, 7 (6), 122-133. doi: 10.4239/wjd.v7.i6.122
22. Jiating, L., Buyun, J., & Yinchang, Z. (2019). Role of metformin on osteoblast differentiation in type 2 diabetes. *BioMed Research International*, 2019, 9203934. doi: 10.1155/2019/9203934
23. Stage, T. B., Christensen, M. H., Jørgensen, N. R., Beck-Nielsen, H., Brøsen, K., Gram, J., & Frost, M. (2018). Effects of metformin, rosiglitazone and insulin on bone metabolism in patients with type 2 diabetes. *Bone*, 112, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2018.04.004>
24. Ma, J., Zhang, Z., Hu, X., Wang, X., & Chen, A. (2018). Metformin promotes differentiation of human bone marrow derived mesenchymal stem cells into osteoblast via GSK3β inhibition. *European review for medical and pharmacological sciences*, 22 (22), 7962–7968. DOI: 10.26355/eurrev_201811_16424
25. Wang, P., Ma, T., Guo, D., Hu, K., Shu, Y., Xu, H., & Schneider, A. (2018). Metformin induces osteoblastic differentiation of human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 12(2), 437–446. <https://doi.org/10.1002/term.2470>
26. Losada, E., Soldevila, B., Ali, M. S., Martínez-Laguna, D., Nogués, X., Puig-Domingo, M., Díez-Pérez, A., Mauricio, D., & Prieto-Alhambra, D. (2018). Real-world antidiabetic drug use and fracture risk in 12,277 patients with type 2 diabetes mellitus: a nested case-control study. *Osteoporosis international*, 29(9), 2079–2086. <https://doi.org/10.1007/s00198-018-4581-y>
27. Röder, P., Wu, B., Liu, Y., & Han, W. (2016). Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Experimental & Molecular Medicine*, 48, e219. <https://doi.org/10.1038/emm.2016.6>
28. Htike, Z. Z., Zaccardi, F., Papamargaritis, D., Webb, D. R., Khunti, K., & Davies, M. J. (2017). Efficacy and safety of glucagon-like peptide-1 receptor agonists in type 2 diabetes: A systematic review and mixed-treatment comparison analysis. *Diabetes, obesity & metabolism*, 19(4), 524–536. <https://doi.org/10.1111/dom.12849>
29. Schiellerup, S.P., Skov-Jepesen, K., Windeløv, J.A, Svane, M. S, Holst, J. J., Hartmann, B., & Rosenkilde, M. (2019). Gut hormones and their effect on bone metabolism. potential drug therapies in future osteoporosis treatment. *Frontiers in Endocrinology*, 10,75. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00075>
30. Oh, D.Y., & Olefsky, J.M. (2016). G protein-coupled receptors as targets for anti-diabetic therapeutics. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 15, 161–172. DOI: 10.1038/nrd.2015.4
31. Luo, G., Liu, H., & Lu, H. (2016). Glucagon-like peptide-1(GLP-1) receptor agonists: potential to reduce fracture risk in diabetic patients? *British journal of clinical pharmacology*, 81 (1), 78–88. DOI: 10.1111/bcp.12777
32. Lu, N., Sun, H., Yu, J., Wang, X., Liu, D., Zhao, L., ... & Liu, J. (2015). Glucagon-like peptide-1 receptor agonist Liraglutide has anabolic bone effects in ovariectomized rats without diabetes. *PloS one*, 10(7), e0132744. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132744>

33. Mabileau, G., Mieczkowska, A., & Chappard, D. (2014). Use of glucagon-like peptide-1 receptor agonists and bone fractures: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Diabetes*, 6, 260–266. doi: 10.1111/1753-0407.12102.
34. Su, B., Sheng, H., Zhang, M., Bu, L., Yang, P., Li, ... & Wang, J. (2015). Risk of bone fractures associated with glucagon-like peptide-1 receptor agonists' treatment: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Endocrine*, 48(1), 107–115. <https://doi.org/10.1007/s12020-014-0361-4>
35. Mannucci, E., & Monami, M. (2017). Bone fractures with sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors: how real is the risk? *Drug Safety*, 40 (2), 115–119. doi: 10.1007/s40264-016-0470-5.
36. Blau, J.E., & Taylor, S.I. (2018). Adverse effects of SGLT2 inhibitors on bone health. *Nature reviews. Nephrology*, 14 (8), 473-474. doi: 10.1038/s41581-018-0028-0.
37. Kohan, D.E., Fioretto, P., Tang, W., & List, J.F. (2014). Long-term study of patients with type 2 diabetes and moderate renal impairment shows that dapagliflozin reduces weight and blood pressure but does not improve glycemic control. *Kidney international*, 85(4), 962–971. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.356>
38. Toulis, K. A., Bilezikian, J. P., Thomas, G. N., Hanif, W., Kotsa, K., Thayakaran, R., ... & Nirantharakumar, K. (2018). Initiation of dapagliflozin and treatment-emergent fractures. *Diabetes, obesity & metabolism*, 20(4), 1070–1074. <https://doi.org/10.1111/dom.13176>
39. Neal, B., Perkovic, V., Mahaffey, K.W., de Zeeuw, D., Fulcher, G., Erond, N., ... & Matthews, D. R. (2017). Canagliflozin and cardiovascular and renal events in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 377, 644–657. DOI: 10.1056/NEJMoa1611925
40. Kohler, S., Kaspers, S., Salsali, A., Zeller, C., & Woerle, H.J. (2018). Analysis of fractures in patients with type 2 diabetes treated with empagliflozin in pooled data from placebo-controlled trials and a head-to-head study versus glimepiride. *Diabetes Care*, 41 (8), 1809-1816. doi: 10.2337/dc17-1525.
41. Watts, N. B., Bilezikian, J. P., Usiskin, K., Edwards, R., Desai, M., Law, G., & Meininger, G. (2016). Effects of canagliflozin on fracture risk in patients with type 2 diabetes mellitus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 101(1), 157–166. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3167>
42. Ruanpeng, D., Ungprasert, P., Sangtian, J., & Harindhanavudhi, T. (2017). Sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitors and fracture risk in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 33 (6). doi: 10.1002/dmrr.2903
43. Meier, C., Schwartz, A.V., Egger, A., & Lecka-Czernik, B. (2016). Effects of diabetes drugs on the skeleton. *Bone*, 82, 93–100. doi: 10.1016/j.bone.2015.04.026
44. Xi, G., Rosen, C.J., & Clemmons, D.R. (2016). IGF-I and IGFBP-2 stimulate AMPK activation and autophagy, which are required for osteoblast differentiation. *Endocrinology*, 157 (1), 268-281. doi: 10.1210/en.2015-1690
45. Bortolin, R.H., Neto, Arcaro, C.A., F.P., Bezerra, J. F., da Silva, F. S., Ururahy, M. A., & de Rezende, A. A. (2017). Anabolic Effect of Insulin Therapy on the Bone: Osteoprotegerin and Osteocalcin Up-Regulation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 120, 227–234. doi: 10.1111/bcpt.12672
46. Cooper, I., Brookler, K., & Crofts, C. (2021). Rethinking fragility fractures in type 2 diabetes: the link between hyperinsulinaemia and osteoporosis. *Biomedicine*, 9(9), 1165. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9091165>
47. Rathinavelu, S., Guidry-Elizondo, H., & Banu, J. (2018). Molecular Modulation of Osteoblasts and Osteoclasts in Type 2 Diabetes. *Journal of diabetes research*, 2018, 6354787. DOI: 10.1155/2018/6354787
48. Gonzalez-Garcia, Z.M., Kullo, I.J., Coletta, D.K., Mandarino, L.J., & Shaibi, G.Q. (2015). Osteocalcin and type 2 diabetes risk in Latinos: a life course approach. *American journal of human biology*, 27, 859–861. <https://doi.org/10.1002/ajhb.22745>
49. Kunutsor, S.K., Apekey, T.A., & Laukkanen, J.A. (2015). Association of serum total osteocalcin with type 2 diabetes and intermediate metabolic phenotypes: systematic review and meta-analysis of observational evidence. *European journal of epidemiology*, 30, 599–614. doi: 10.1007/s10654-015-0058-x.
50. Kheniser, K.G., Polanco, C.M, Kashyap, S.R., Henry, R. M., van Onzenoort, H., Schram, M.T., ... & van den Bergh J.P. (2018). The effects of diabetes therapy on bone: A clinical perspective. *Journal of diabetes and its complications*, 32(7), 713–719. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2018.04.005>
51. de Waard, E., Driessen, J., & de Jong, J., &. (2017). The association between insulin use and volumetric bone mineral density, bone micro-architecture and bone strength of the distal radius in patients with type 2 diabetes - The Maastricht study. *Bone*, 101, 156-161. doi: 10.1016/j.bone.2017.05.004
52. Bilotta, F.L., Arcidiacono, B., Messineo, S., &. (2018). Insulin and osteocalcin: further evidence for a mutual cross-talk. *Endocrine*, 59 (3), 622-632. doi: 10.1007/s12020-017-1396-0
53. Guja, C., Guja, L., & Miulescu, R. D. (2019). Effect of type 2 diabetes medications on fracture risk. *Annals of translational medicine*, 7(20), 580. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.09.51>