




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	IMBALANCE BETWEEN OSTEOSYNTHESIS AND ENDOGENOUS CHRONIC STRESS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES
AUTHOR(S)	Alla Kovalchuk, Olesia Zynych, Olha Prybyla, Natalia Kushnareva, Volodymyr Kovalchuk, Kateryna Shyshkan-Shyshova
ARTICLE INFO	Alla Kovalchuk, Olesia Zynych, Olha Prybyla, Natalia Kushnareva, Volodymyr Kovalchuk, Kateryna Shyshkan-Shyshova (2023) Imbalance Between Osteosynthesis and Endogenous Chronic Stress in Patients with Type 2 Diabetes. <i>World Science</i> . 3(81). doi: 10.31435/rsglobal_ws/30092023/8055
DOI	https://doi.org/10.31435/rsglobal_ws/30092023/8055
RECEIVED	27 August 2023
ACCEPTED	29 September 2023
PUBLISHED	30 September 2023
LICENSE	 This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License .

© The author(s) 2023. This publication is an open access article.

IMBALANCE BETWEEN OSTEOSYNTHESIS AND ENDOGENOUS CHRONIC STRESS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

Alla Kovalchuk

MD PhD, State Institution 'V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of NAMS of Ukraine'

ORCID ID: 0000-0001-6591-1460

Olesia Zynych

MD DrSci, State Institution 'V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of NAMS of Ukraine'

ORCID ID: 0000-0002-0516-0148

Olha Prybyla

MD, State Institution 'V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of NAMS of Ukraine'

ORCID ID: 0000-0003-2212-1172

Natalia Kushnareva

MD PhD, State Institution 'V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of NAMS of Ukraine'

ORCID ID: 0000-0002-5390-6784

Volodymyr Kovalchu

MD PhD, Shupyk National University of Postgraduate Education of Ukraine

ORCID ID: 0000-0003-0939-5902

Kateryna Shyshkan-Shyshova

State Institution 'V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of NAMS of Ukraine'

ORCID ID: 0000-0003-0939-5902

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_ws/30092023/8055

ARTICLE INFO

Received: 27 August 2023

Accepted: 29 September 2023

Published: 30 September 2023

KEYWORDS

Osteocalcin, Cortisol/DHEA-S, Visceral Fat, Phenotype, Type 2 Diabetes

ABSTRACT

Osteocalcin (OC) is a component of phenotypic characteristics, associated with carbohydrate and lipid metabolism. Of interest is the phenotype of type 2 diabetes mellitus (T2DM) without obesity, which may be associated with impaired levels of counter-insulin hormones.

87 patients with T2DM (age 40-78, females/males – 41/46) were examined. Anthropometric parameters and body composition were assessed by the bioelectrical impedance. OC, cortisol, dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) blood levels, and the ratio of cortisol/DHEA-S as indicator of the body stress resistance, were measured. Patients were divided into 4 quartiles, depending on the serum OC level, that were significantly different from each other.

Cortisol/DHEA-S ratio was significantly different between the first (lowest OC level) and the fourth quartiles (highest OC level) and between the second, third and fourth quartiles. Visceral fat level was the highest in the first OC quartile, and the lowest in the fourth quartile. When comparing the percentage of total fat between quartiles, no significant difference was found, which may indicate the importance of visceral fat in the formation of metabolic phenotypic changes in the presence of T2DM.

The lowest serum OC level was observed in patients with the greatest intensity of chronic endogenous stress, which is manifested by glucocorticoid function increase according to the cortisol/DHEA-S ratio.

It is assumed, that local hypercorticism is the cause of stem cell differentiation into adipocytes, which leads to the formation of a diabetes phenotype with the accumulation of visceral fat without general obesity and the slowing of osteosynthesis with a decrease of the OC level.

Citation: Alla Kovalchuk, Olesia Zynych, Olha Prybyla, Natalia Kushnareva, Volodymyr Kovalchuk, Kateryna Shyshkan-Shyshova. (2023) Imbalance Between Osteosynthesis and Endogenous Chronic Stress in Patients with Type 2 Diabetes. *World Science*. 3(81). doi: 10.31435/rsglobal_ws/30092023/8055

Copyright: © 2023 Alla Kovalchuk, Olesia Zynych, Olha Prybyla, Natalia Kushnareva, Volodymyr Kovalchuk, Kateryna Shyshkan-Shyshova. 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.

Значна увага в останні 15 років приділяється такому нейроендокринному маркеру, як остеокальцин (ОК). Він є складовою фенотипових характеристик, які пов'язані з вуглеводним та ліпідним обміном, а також проявами депресії [1]. Найбільш поширеним і характерним для багатьох хворих на ЦД 2 є один з варіантів патологічних фенотипів, який характеризується, як синдром інсулінорезистентності (ІР). Його підґрунтя є порушення рівноваги між поглинанням і витратенням енергії, що супроводжується відкладенням надлишку ліпідів у жирових депо, ожирінням, компенсаторною гіперінсулінемією [2]. Інший фенотип у хворих на ЦД 2 можна умовно назвати «діабетом без ожиріння», при якому ІР та порушення вуглеводного і ліпідного обміну можуть бути асоційовані не з ожирінням та гіперінсулінемією, а з порушенням кількості стресових / антистресових та контрінсулінових гормонів (кортикостероїдів, катехоламінів, глюкагону). За такого фенотипу локальний гіперкортицизм у жировій тканині може бути причиною посиленої диференціації адипоцитів та посиленої секреції вільних жирних кислот, збільшення маси вісцерального жиру, але без ознак загального ожиріння. Існують дані, що при ЦД 2 спостерігається підвищена активність 11 β – гідроксистероїддегідрогенази 1 типу (11 β -HSD1), яка забезпечує оборотне перетворення кортизону в кортизол на внутрішньоклітинному рівні, що впливає на транспорт і рецептор-залежне поглинання ліпопротеїнів, сприяє дисбалансу енергетичного обміну під дією кортизолу та порушенню циркадності метаболізму глюкокортикостероїдів [3,4]. В свою чергу, фермент контролює експресію ОК та його вплив на чутливість до інсуліну. Разом з тим, згідно сучасних наукових досліджень пригнічення активності ферменту 11 β -HSD1 сприяє кращому перебігу ЦД та диференціації остеобластів [5]. Разом з тим, вважається, що стероїди можуть змінювати баланс між диференціюванням стовбурових клітин в адипоцити чи в остеобласти, проте детальні молекулярні механізми невідомі. ОК діє, як гормон: посилює чутливість до інсуліну, стимулює секрецію інсуліну і витрату енергії. В свою чергу, його секреція регулюється інсуліном, симпатичною нервовою системою та глюкокортикоїдами [6]. Встановлено, що ризик вісцерального ожиріння значно збільшується при зниженні рівня ОК [7]. Ступінь зниження ОК корелює з активністю 11 β -HSD1 що, в свою чергу, індукована глюкокортикоїдами [8], ймовірно за рахунок субклінічного гіперкортицизму внаслідок хронічного стресу при ЦД 2 у певних фенотипових групах пацієнтів, які будуть досліджені. Також існують свідчення про незалежний (від наявного ЦД) вплив інсулінорезистентності на геометрію кісткової тканини [9]. Разом з тим, наявність зміненої мікроархітекtonіки кістки в поєднанні з низькими рівнями кісткових маркерів, статистично негативно корелюють з рівнем HbA1c [10].

Матеріали і методи.

Обстежено 87 пацієнтів з ЦД 2 типу, серед них 41 жінка і 46 чоловіків віком від 40 до 78 років. Визначали антропометричні параметри та композицію тіла методом біоелектричного імпедансу за допомогою аналізатора TANITA. Визначали загальну м'язову масу та кісткову масу (вміст неорганічної речовини в складі кісток), а також показники відсотку загального жиру, рівня вісцерального жиру (ВЖ), який оцінювали в інтервалі від 1 до 59 од.; кожна одиниця відповідає 10 см² на поверхні внутрішніх органів; нормальний рівень становить

від 1 до 12 од. ВЖ. Визначали вміст в крові остеокальцину, кортизолу, дегідроепіандростерону сульфату (ДГЕА-с), їх співвідношення кортизол/ДГЕА-с, як показника стресостійкості організму.

Гормональні показники (вміст кортизолу, дегідроепіандростерон-сульфату) визначали з використанням сертифікованих діагностичних наборів реактивів для кількісного твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА) виробництва LDN® Immunoassays (Німеччина). Оптичну густину розчинів в кожній лунці після кінцевої інкубації з субстратом визначали за допомогою автоматичного рідера мікропланшетів Stat Fax 3200 («Awareness Technology» США), при 450 нм. Розрахунок проводився автоматично з використанням стандартної кривої, побудованої для кожного набору з використанням відповідних стандартних розчинів. Для контролю якості та точності процедур лабораторних аналізів застосовувались ліофілізовані контрольні сироватки Lymphochek® Immunoassay Plus Control (BIO-RAD), виготовлені згідно з вимогами належної лабораторної практики. Референтні значення кортизолу вранці після пробудження становлять 5-23 мкг/дл; ДГЕА-с – 39-464 мкг/д.

Обстежених пацієнтів було розділено на 4 квартилі в залежності від величини остеокальцину, як основного досліджуваного показника: I квартиль (n= 22) 1,97 нг/мл [1,11-2,63], II квартиль (n= 21) 4,13 нг/мл [3,77-4,44], III квартиль (n= 22) 6,62 нг/мл [5,93-8,27], IV квартиль (n= 22) 11,8 нг/мл [9,85-16,47].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою статистичної програми MedStat v5.2. Нормальність розподілу рядів даних перевіряли за тестом Шапіро-Уїлка. Для порівняння абсолютних величин в досліджуваних групах з ненормальним розподілом використовувався метод множинних порівнянь за допомогою тесту Краскела-Уолліса (медіана [нижній – верхній квартиль]). Різницю показників вважали достовірними при $P < 0,05$.

Мета роботи полягала в встановленні можливих взаємозв'язків між вмістом остеокальцину і напруженням глюкокортикоїдної функції, як відображенням хронічного стресу, що має наслідком формування певного метаболічного фенотипу.

Результати та обговорення.

Отримані значення концентрації остеокальцину в сироватці крові хворих на цукровий діабет 2 типу співставлялись з показниками співвідношення кортизол/ДГЕА-с у відповідних квартилях.

Таблиця 1. – Співвідношення кортизол/ДГЕА-с в сироватці крові пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу в залежності від квартиля остеокальцину, медіана [нижній – верхній квартиль].

Групи пацієнтів	Остеокальцин, нг/мл	Кортизол/ДГЕА-с
I квартиль (n=22)	1,97 [1,11-2,63]	0,25 [0,16-0,47]
II квартиль (n=21)	4,13 [3,77-4,44] ¹	0,32 [0,23-0,54]
III квартиль (n=22)	6,62 [5,93-8,27] ^{1,2}	0,11 [0,06-0,27] ⁵
IV квартиль (n=22)	11,8 [9,85-16,47] ^{1,2,3}	0,1 [0,06-0,17] ^{4,5}

¹ – достовірність різниці показників між I і II ($p < 0,05$), I і III ($p < 0,01$), I і IV ($p < 0,01$) квартилями пацієнтів ($p < 0,01$);

² – достовірність різниці показників між II і III ($p < 0,05$), II і IV ($p < 0,01$) квартилями пацієнтів;

³ – достовірність різниці показників між I і IV ($p < 0,05$) квартилями пацієнтів;

⁴ – достовірність різниці показників між I і IV ($p < 0,05$) квартилями пацієнтів;

⁵ – достовірність різниці показників між II і III ($p < 0,05$), II і IV ($p < 0,01$) квартилями пацієнтів;

Як і слід очікувати, квартилі остеокальцину, визначені в сироватці крові достовірно відрізнялись між собою. Співвідношення кортизол/ДГЕА-с достовірно відрізнялось між першим і четвертим квартилями остеокальцину та між другим та третім і четвертим квартилями, що свідчить про найвищий показник хронічного стресу саме у пацієнтів з найменшим вмістом остеокальцину (табл. 1). Важливо, що підвищення співвідношення кортизол/ДГЕА-с може бути пов'язано і із зниженням ДГЕА-с, який суттєво корелює з наявною ішемічною хворобою серця у чоловіків середнього та літнього віку з цукровим діабетом 2 типу [11]. Крім того, літні пацієнти з цукровим діабетом 2 типу мають високу поширеність слабкості та/або саркопенії.

Вважається, що саркопенія пов'язана з неузгодженою секрецією гормонів надниркових залоз кортизолу та дегідроепіандростерону сульфату. Збільшення співвідношення кортизол/ ДГЕА-с у сироватці крові відображає вищі значення кортизолу та нижчі значення ДГЕА-с у пацієнтів із саркопенією порівняно з пацієнтами без саркопенії. Тобто, відносно підвищення рівня кортизолу може відображати наявність стресу та стимулювати катаболізм м'язів, тоді як відносно зниження рівня ДГЕА-с може спричинити зниження анаболічної дії ДГЕА на м'язи; поєднання цих факторів може призвести до саркопенії [12].

Варто очікувати, що гормональний дисбаланс може спричинити фенотипічні зміни пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, які ми намагались встановити, вимірюючи показники біоелектричного імпедансу. Встановлено, що відносна величина рівня вісцерального жиру послідовно зменшувалась між кuartилями, проте отримала достовірне підтвердження різниці тільки в крайніх значеннях, тобто між першим і другим кuartилями порівняно з четвертим (табл. 2). Разом з тим, при порівнянні % загального жиру між кuartилями достовірної різниці не знайдено, що може свідчити про значущість саме вісцерального жиру в формуванні метаболічних фенотипових змін за наявності ЦД 2 типу.

Таблиця 2. – Показники величини вісцерального жиру та % загального жиру, виміряних методом біоелектричного імпедансу в залежності від кuartиля остекальцину в сироватці крові хворих на ЦД 2 типу, $M \pm m$.

Групи пацієнтів	Вісцеральний жир, у.од.	% загального жиру
I кuartиль (n=22)	14,5 ± 0,52	35,03 ± 1,51
II кuartиль (n=21)	13,84 ± 1,13	33,24 ± 1,49
III кuartиль (n=22)	11,68 ± 0,68	32,52 ± 1,82
IV кuartиль (n=22)	10,32 ± 0,74 ^{1, 2}	31,4 ± 1,41 ³

¹ – достовірність різниці показників між I і IV ($p < 0,05$) кuartилями пацієнтів;

² – достовірність різниці показників між II і IV ($p < 0,05$) кuartилями пацієнтів;

³ – достовірність різниці показників між I і IV ($p < 0,1$) кuartилями пацієнтів.

Статеві відмінності в величинах кісткової і м'язової маси у чоловіків і жінок стали причиною роздільного обрахування статистичних показників. При цьому виявлено достовірну різницю кісткової та м'язової маси тіла між третім і четвертим кuartилями тільки у чоловіків. У жінок різниці в кістковій та м'язовій масах поміж кuartилями не встановлено, можливо внаслідок значної варіабельності показників (табл. 3).

Таблиця 3. – Показники кісткової та м'язової маси, виміряні методом біоелектричного імпедансу, в залежності від кuartиля остекальцину в сироватці крові хворих на ЦД 2 типу, медіана [нижній – верхній кuartиль].

Групи пацієнтів	Кісткова маса, кг		М'язова маса, кг	
	Чоловіки	Жінки	Чоловіки	Жінки
I кuartиль чоловіки(n=15) жінки (n=8)	3,3 [3,0-3,8]	2,75 [2,55-2,95]	63,3 [56,3-73,2]	51,2 [47,65-56,1]
II кuartиль чоловіки(n=9) жінки (n=12)	3,4 [3,2-3,7]	2,65 [2,3-2,8]	65,7 [60,4-72,3]	48,8 [42,95-52,5]
III кuartиль чоловіки(n=12) жінки (n=10)	3,6 [3,4-4,15]	2,7 [2,5-2,8]	69,2 [65,25-80,55]	50,6 [47,6-52,6]
IV кuartиль чоловіки(n=10) жінки (n=11)	3,2 [2,9-3,4] ¹	2,7 [2,5-3,0]	61,15 [54,8-64,8] ¹	48,9 [43,5-56,4]

¹ – достовірність різниці показників між III і IV ($p < 0,05$) кuartилями чоловіків;

Таким чином, отримані результати є свідченням наявного взаємозв'язку між вмістом остекальцину в сироватці крові та напруженістю ендogenous хронічного стресу, який

проявляється зростанням співвідношення кортизол/ДГЕА-с, що надалі провокує патологічне формування фенотипу хворих на ЦД 2 типу з накопиченням переважно вісцерального жиру в організмі. Знайдено достовірну різницю між III і IV квантилями остеокальцину у чоловіків в кістковій та м'язовій масі, що вказує на збільшення вмісту остеокальцину із зменшенням маси згадуваних параметрів, ймовірно компенсаторного характеру. Можна припустити, що посилення мінералізації кісткової тканини і, відповідно збільшення її маси, супроводжується зменшенням вмісту остеокальцину та гіршої якості кісток, які втрачають білкову складову. Разом з тим, паралельне зростання м'язової маси поряд із зменшенням вмісту остеокальцину може відбуватися внаслідок зростання в ній жирової складової й приводити до м'язової інсулінорезистентності. Серед жінок подібної закономірності виявлено не було, ймовірно внаслідок значної варіабельності показників.

Заключення.

Виявлено, що найнижчий вміст остеокальцину в сироватці крові спостерігається у пацієнтів з найбільшою напруженістю хронічного ендогенного стресу, який проявляється посиленням глюкокортикоїдної функції за співвідношенням кортизол/ДГЕА-с. Зниження вмісту остеокальцину спостерігається паралельно із зростанням накопичення вісцерального жиру в організмі хворих на цукровий діабет 2 типу.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

1. Nguyen, M., Anita N., Darwish L. et al. (2020), "Serum osteocalcin is associated with subjective stress in people with depression and type 2 diabetes," *Psychoneuroendocrinology*, 122, doi: [10.3389/fpsy.2022.893012](https://doi.org/10.3389/fpsy.2022.893012).
2. Корпачев, В., Корпачева-Зинович, О. (2011). Еволюція взглядов в диabetологии. Киев, Книга-плюс.
3. Gregory, S., Hill, D., Grey, B., Ketelbey, W. et al. (2020), "11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor use in human disease-a systematic review and narrative synthesis," *Metabolism Clinical and Experimental*, 108, 154246. doi: [10.1016/j.metabol.2020.154246](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2020.154246).
4. Jason, Bini, Shivani, Bhatt, Ansel T. Hillmer, Jean-Dominique Gallezot, Nabeel Nabulsi, Richard Pracitto, David Labaree, Michael Kapinos, Jim Ropchan, David Matuskey, Robert S. Sherwin, Ania M. Jastreboff, Richard E. Carson, Kelly Cosgrove & Yiyun Huang. (2020), "Body Mass Index and Age Effects on Brain 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1: a Positron Emission Tomography Study," *Mol Imaging Biol*, 22, 1124–1131. doi: [10.1007/s11307-020-01490-z](https://doi.org/10.1007/s11307-020-01490-z).
5. Mohd Azmi, N.A.S.; Juliana, N.; Azmani, S. et al. (2021), "Cortisol on Circadian Rhythm and Its Effect on Cardiovascular System," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 18, 676. doi: [10.3390/ijerph18020676](https://doi.org/10.3390/ijerph18020676).
6. Park, J. Bae, S., Choi, S., Son, Y., Park, S., Rhee, S., Kim, H., Jung, W., Kang, S., Ahn, J., Kim, S., and Kim, K. (2014), "A novel 11 β -HSD1 inhibitor improves diabetes and osteoblast differentiation," *Journal of Molecular Endocrinology*, 52, 191-202. doi: [10.1530/JME-13-0177](https://doi.org/10.1530/JME-13-0177).
7. Ferrona, M., Lacombe, J. (2014), "Regulation of energy metabolism by the skeleton: Osteocalcin and beyond," *Archives of biochemistry and biophysics*, 561, 137 – 146. doi: [10.1016/j.abb.2014.05.022](https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.05.022).
8. Yiting Xu, Xiaojing Ma, Xiaoping Pan, Xingxing He, Yunfeng Xiao, Yuqian Bao. (2018), "Correlations between serum concentration of three bone-derived factors and obesity and visceral fat accumulation in a cohort of middle aged men and women," *Cardiovasc Diabetol*, 17, 1, 143. doi: [10.1186/s12933-018-0786-9](https://doi.org/10.1186/s12933-018-0786-9)
9. Cooper, M., Blumsohn, A., Goddard, P., Bartlett, W. et al. (2003), "11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Activity Predicts the Effects of Glucocorticoids on Bone," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88, 3874–3877. doi: [10.1210/jc.2003-022025](https://doi.org/10.1210/jc.2003-022025).
10. Verroken, C., Zmierczak, H., Goemaere, S., Kaufman, J., Lapauw, B. (2017), "Insulin Resistance Is Associated With Smaller Cortical Bone Size in Nondiabetic Men at the Age of Peak Bone Mass," *J Clin Endocrinol Metab.*, 102, 1807 – 1815. doi: [10.1210/jc.2016-3609](https://doi.org/10.1210/jc.2016-3609).
11. Zhang, X., Xiao, J., Liu, T. et al. (2022), "Low Serum Dehydroepiandrosterone and Dehydroepiandrosterone Sulfate Are Associated With Coronary Heart Disease in Men With Type 2 Diabetes Mellitus," *Front Endocrinol (Lausanne)*, 27;13:890029. doi: [10.3389/fendo.2022.890029](https://doi.org/10.3389/fendo.2022.890029).
12. Yanagita, I., Fujihara, Y., Kitajima, Y. et al. (2019), "A High Serum Cortisol/DHEA-S Ratio Is a Risk Factor for Sarcopenia in Elderly Diabetic Patients," *J Endocr Soc.*, 5,3(4);:801-813. doi: [10.1210/js.2018-00271](https://doi.org/10.1210/js.2018-00271).