

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный  
медицинский университет имени академика И. П. Павлова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

Тимкина Наталья Владимировна

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ ИНГИБИТОРАМИ НГЛТ-2  
И АГОНИСТАМИ РЕЦЕПТОРОВ ГПП-1 НА ПАРАМЕТРЫ КОСТНОГО  
РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА:  
КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

3.1.19. Эндокринология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
Каронова Татьяна Леонидовна  
доктор медицинских наук,  
доцент

Санкт-Петербург – 2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. КОСТНОЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ В НОРМЕ И ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....	15
1.1. Анатомия и физиология костной ткани в норме .....	16
1.2. Механизмы нарушения метаболизма костной ткани при сахарном диабете.....	22
1.3. Влияние сахароснижающих препаратов на костное remodelирование ...	26
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	40
2.1. Экспериментальная часть исследования .....	40
2.1.1. Дизайн исследования .....	40
2.1.2. Описание эксперимента.....	42
2.2. Клиническая часть исследования .....	46
2.2.1. Характеристика популяции пациентов и дизайн исследования .....	46
2.2.2. Клинические методы исследования .....	50
2.2.3. Лабораторные методы исследования .....	50
2.2.4. Инструментальные методы исследования.....	52
2.3. Статистический анализ.....	52
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	54
3.1. Параметры кальций-фосфорного обмена и маркеры костного ремоделирования в условиях экспериментальной модели сахарного диабета 2 типа и сочетания сахарного диабета 2 типа с менопаузой .....	54
3.1.1. Параметры кальций-фосфорного обмена и маркеры костного ремоделирования у самцов крыс стока Wistar .....	57
3.1.2. Параметры кальций-фосфорного обмена и маркеры костного ремоделирования у самок крыс стока Wistar .....	60
3.1.3. Параметры гистоморфометрии костной ткани у крыс стока Wistar на фоне терапии ингибиторами НГЛТ-2 и агонистами рецепторов ГПП-1 .....	64
3.2. Параметры кальций-фосфорного обмена и маркеры костного ремоделирования у больных сахарным диабетом 2 типа .....	69

3.3. Динамика параметров кальций-фосфорного обмена, костного ремоделирования и минеральной плотности костной ткани у больных сахарным диабетом 2 типа на фоне сахароснижающей терапии .....	78
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	88
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	97
ВЫВОДЫ.....	99
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	101
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	105

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность темы исследования**

Число больных сахарным диабетом (СД) стремительно растет во всем мире, приобретая масштабы пандемии. Согласно данным Международной федерации диабета, приблизительно 540 миллионов человек страдает СД, а к 2045 году каждый восьмой житель планеты будет иметь это заболевание. Абсолютное большинство пациентов с нарушениями углеводного обмена составляют больные СД 2 типа. В Российской Федерации число пациентов с СД с 2000 года выросло более чем в два раза и в настоящее время приближается к 5 миллионам человек [2].

В «Алгоритмах специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» основное внимание уделено профилактике и лечению осложнений диабета со стороны сердечно-сосудистой системы, почек и нервной системы [2]. Тем не менее СД оказывает негативное воздействие и на костно-мышечную систему – через различные клеточные, сосудистые и иммунные механизмы. Известно, что СД как 1 типа, так и 2 типа является фактором риска низкотравматичных переломов, которые могут быть причиной длительной нетрудоспособности, инвалидности и смерти. При СД 1 типа наблюдается снижение минеральной плотности костной ткани (МПК), что ассоциировано с повышением риска переломов в пять раз, включая перелом бедра[54]. Абсолютный риск переломов при СД 2 типа несколько меньше, однако отличительной особенностью таких переломов является то, что они случаются при нормальной МПК и низкой скорости костного обмена. Кроме того, имеются данные о положительной ассоциации между количеством жировой ткани и МПК при СД 2 типа и менопаузе [11] и о повышении костной резорбции при снижении массы тела. Такие метаболические изменения костной ткани часто затрудняют диагностику и лечение остеопороза у больных СД 2 типа. Важно отметить, что лекарственная терапия также может влиять на

костное ремоделирование, что подчеркивает необходимость изучения костных эффектов современных сахароснижающих препаратов. Результаты проведенных исследований показали, что препараты группы агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида 1 типа (арГПП-1) могут обладать остеонабolicким эффектом за счет усиления экспрессии генов, ответственных за остеогенез [116]. Однако прямых доказательств такого эффекта до настоящего времени не получено [158]. Напротив, считается, что препараты из группы ингибиторов натрий-глюкозного ко-транспортера 2 типа (иНГЛТ-2) могут негативно влиять на костный обмен за счет нарушения кальций-фосфорного баланса и увеличения частоты падений вследствие гипотензии [150]. Так, отрицательное влияние на костную ткань было отмечено у низкоселективного представителя данной группы – канаглифлозина [69]. В то же время, несмотря на обнаруженное увеличение частоты переломов при использовании канаглифлозина в исследовании CANVAS (Canagliflozin cardiovascular assessment study), последующие клинические исследования не выявили ухудшения костного обмена и повышения риска переломов при лечении различными по селективности иНГЛТ-2 [108].

Частое использование иНГЛТ-2 и арГПП-1 у больных СД 2 типа, их плеiotропные эффекты [17; 8] и приоритетное место в схемах лечения у больных с патологией сердечно-сосудистой системы и почек делают актуальным изучение эффектов этих препаратов и в отношении костного ремоделирования.

### **Степень разработанности темы исследования**

В настоящее время не вызывает сомнений, что СД как 1 типа, так и 2 типа приводит к повышению риска переломов [150]. Однако механизмы и факторы риска остеопороза при СД требуют уточнения. В настоящее время среди экспертов нет единого мнения относительно влияния сахароснижающих

препаратов на костный метаболизм и риск низкотравматичных переломов. Результаты некоторых исследований указывают на отрицательное воздействие производных сульфонилмочевины на риск переломов, что, вероятно, связано с повышенным риском падений вследствие гипогликемических эпизодов. Более того, у пациентов с СД 2 типа использование тиазолидиндионов, таких как росиглитазон и пиоглитазон, было связано с увеличением вероятности переломов [179]. Особый интерес представляют данные о влиянии современных антигипергликемических препаратов, которые имеют кардио- и нефропротективный эффект.

Экспериментальные исследования о влиянии современных сахароснижающих препаратов на костное ремоделирование крайне немногочисленны. Так в системе PubMed с 2014 по 2024 год найдено 13 статей, описывающих результаты экспериментальных исследований о влиянии лираглутида и эксенатида на костное ремоделирование (*in vivo* и *in vitro*, в основном с использованием клеточных линий и грызунов). Подобных экспериментальных работ о семаглутиде и дулаглутиде не было.

Экспериментальные исследования по изучению остеотропных эффектов иНГЛТ-2 крайне немногочисленны и описывают в основном результаты токсикологических исследований с использованием высоких доз препаратов [124]. Найдено семь экспериментальных работ, в которых исследовалось влияние иНГЛТ-2 на костную ткань. Прямых сравнительных экспериментальных исследований иНГЛТ-2 и арГПП-1 в литературе не встречается.

Клинические данные о влиянии сахароснижающих препаратов на костную ткань в основном представлены ретроспективными исследованиями и метаанализами, суммирующими результаты этих исследований. Найдено 15 клинических исследований, изучающих влияние иНГЛТ-2 и арГПП-1 на костную ткань, из них пять рандомизированных. Прямых сравнительных проспективных исследований по изучению иНГЛТ-2 и арГПП-1 в отношении костной ткани и риска переломов не проводилось.

Таким образом, результаты как экспериментальных, так и клинических исследований по оценке влияния сахароснижающих препаратов на костную ткань остаются весьма малочисленными и противоречивыми, а данная узкая область эндокринологии остается изученной не до конца.

### **Цель исследования**

Установить влияние терапии агонистами рецепторов ГПП-1, ингибиторами НГЛТ-2 на костный обмен при сахарном диабете 2 типа в условиях эксперимента и в клинической практике с целью уточнения выбора данных групп препаратов для лечения сахарного диабета 2 типа с учетом их действия на костное ремоделирование.

### **Задачи исследования**

1. Оценить маркеры ремоделирования и гистоморфометрические характеристики костной ткани на фоне терапии ингибиторами НГЛТ-2 разной степени селективности, агонистами рецепторов ГПП-1 у крыс в условиях экспериментального сахарного диабета 2 типа и при сочетании сахарного диабета 2 типа и менопаузы.
2. Оценить лабораторные маркеры костного ремоделирования, риск переломов, показатели минеральной плотности и качества костной ткани у больных сахарным диабетом 2 типа.
3. Изучить влияние терапии ингибиторами НГЛТ-2 разной степени селективности и агонистами рецепторов ГПП-1 на маркеры костного ремоделирования и минеральную плотность костной ткани у больных сахарным диабетом 2 типа.
4. Обосновать выбор препаратов из группы ингибиторов НГЛТ-2 или агонистов рецепторов ГПП-1 для лечения сахарного диабета 2 типа с учетом их влияния на костное ремоделирование.

## **Научная новизна**

В ходе экспериментального исследования были уточнены особенности костного обмена при сахарном диабете 2 типа и при его сочетании с менопаузой, а именно, подтверждено снижение скорости костного обмена. В прямом сравнительном исследовании у крыс стока Wistar получены новые данные: установлено, что применение ингибиторов НГЛТ-2 разной степени селективности в условиях сахарного диабета 2 типа ассоциировано с активацией костной резорбции, тогда как при сочетании сахарного диабета и менопаузы применение как ингибиторов НГЛТ-2, так и агонистов рецепторов ГПП-1 не приводит к значимому изменению маркеров костного ремоделирования.

В клиническом исследовании были получены новые данные о том, что у больных сахарным диабетом 2 типа снижение качества костной ткани ассоциировано с нецелевым уровнем гликированного гемоглобина. Подтверждена гипотеза о нейтральном эффекте агонистов рецепторов ГПП-1 и ингибиторов НГЛТ-2 на костную ткань.

## **Теоретическая и практическая значимость**

В экспериментальном исследовании продемонстрировано, что в условиях сахарного диабета 2 типа происходит угнетение костного ремоделирования. Кроме того, применение ингибиторов НГЛТ-2, независимо от степени селективности, у самцов с сахарным диабетом 2 типа ассоциировано с активацией костной резорбции. В то же время, применение низкоселективного ингибитора НГЛТ-2 канаглифлозина и агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида у самок с сахарным диабетом 2 типа в сочетании с менопаузой не приводит к значимым биохимическим и гистоморфометрическим изменениям костной ткани.



В клиническом исследовании продемонстрировано, что использование трабекулярного костного индекса у больных сахарным диабетом 2 типа позволяет в 11,0 раз (отношение шансов 11,0, 95% доверительный интервал 3,57 – 31,1,  $p < 0,001$ ) повысить выявляемость нарушений костной ткани по сравнению с использованием в диагностике только оценки минеральной плотности костной ткани. Дополнительно подтверждено, что снижение качества костной ткани у больных сахарным диабетом 2 типа пропорционально выраженности гипергликемии.

Маркеры костного ремоделирования, параметры кальций-фосфорного обмена, также как показатели минеральной плотности и качества костной ткани у больных сахарным диабетом 2 типа не претерпевают значимых изменений на фоне терапии ингибиторами НГЛТ-2 и агонистами рецепторов ГПП-1 через 12 месяцев лечения. Таким образом, полученные данные позволяют рекомендовать данные препараты согласно действующим показаниям.

### **Методология и методы исследования**

Исследование включало экспериментальную и клиническую части. Экспериментальное исследование проведено на базе Центра доклинических и трансляционных исследований Института экспериментальной медицины (директор – чл.-корр. Российской академии наук М. М. Галагудза) федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России). После моделирования сахарного диабета 2 типа крысы стока Wistar получали препараты из групп агонистов рецепторов ГПП-1 и ингибиторов НГЛТ-2 в течение 8 недель. В конце эксперимента исследовались маркеры костного ремоделирования и кальций-фосфорного обмена, также проведено гистологическое исследование костной ткани.

Клиническое открытое сравнительное проспективное исследование проведено на базе кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии с клиникой имени академика Г. Ф. Ланга федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. академика И. П. Павлова Минздрава России) и на базе Института эндокринологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России в период с сентября 2021 по март 2024 года. В исследование включены амбулаторные больные сахарным диабетом 2 типа с уровнем гликированного гемоглобина, превышающим целевой уровень на 1,0 – 2,5 %, получающие монотерапию метформином. В исследование не были включены пациенты с тяжелыми заболеваниями сердца, печени и почек, а также пациенты с остеопорозом. В начале исследования, через 6 и 12 месяцев проводилось лабораторное исследование маркеров костного ремоделирования. Двухэнергетическая абсорбционная рентгеновская денситометрия (DXA) проводилась в начале исследования и через 12 месяцев терапии.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Костное ремоделирование при экспериментальном сахарном диабете 2 типа характеризуется более низким уровнем фактора роста фибробластов-23, остеокальцина и склеростина по сравнению с контрольными животными, что свидетельствует о супрессии костного ремоделирования. Наличие менопаузы у животных ассоциировано с более высокой скоростью костного ремоделирования в виде повышения соотношения лиганда рецептора активатора ядерного фактора каппа бета к остеопротегерину, а комбинация менопаузы и сахарного диабета 2 типа нивелирует данные изменения. Применение ингибиторов НГЛТ-2 у самцов ассоциировано с активацией

костной резорбции, что выражается в повышении уровня лиганда рецептора активатора ядерного фактора каппа бета, снижении остеопротегерина и уменьшении плотности костных трабекул эпифизарной части бедра. Применение канаглифлозина и лираглутида у самок крыс стока Wistar с сахарным диабетом 2 типа и менопаузой приводит к снижению только остеопротегерина и не ассоциировано со значимыми изменениями в архитектонике костной ткани.

2. Нарушение качества костной ткани встречается у 35 % больных сахарным диабетом 2 типа с нормальной минеральной плотностью костной ткани. Снижение значения трабекулярного костного индекса у больных сахарным диабетом 2 типа ассоциировано с повышением уровня гликированного гемоглобина и не зависит от уровня обеспеченности витамином D. Больных сахарным диабетом 2 типа с нецелевым уровнем гликированного гемоглобина отличает более высокий уровень лиганда рецептора активатора ядерного фактора каппа бета при отсутствии изменений других лабораторных маркеров костного обмена.

3. Маркеры костного ремоделирования и параметры кальций-фосфорного обмена, также как показатели качества костной ткани, у больных сахарным диабетом 2 типа не претерпевают изменений на фоне терапии ингибиторами НГЛТ-2 и агонистами рецепторов ГПП-1 через 12 месяцев лечения, что позволяет назначать данные классы сахароснижающих препаратов без учета риска остеопоротических переломов.

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Достоверность результатов исследования обеспечена с помощью актуальных клинических, лабораторных, инструментальных методов, применения современных методов статистического анализа. Апробация диссертационного исследования проведена 17 апреля 2024 года на заседании Проблемной комиссии № 2 «Ангиология и кардиология» (секция кардиологии

и эндокринологии) ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. академика И. П. Павлова Минздрава России и 10 июня 2024 года на заседании кафедры эндокринологии с клиникой Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России. Промежуточные и окончательные результаты исследования были представлены в виде устных докладов и постеров на различных конференциях и конгрессах: European Congress of Endocrinology (2021), Ежегодная школа эндокринологов (2021), World Congress on osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases (2021, 2022), Инновационный Петербургский медицинский форум (2021, 2022), Алмазовский молодежный медицинский форум (2022), Национальный диабетологический конгресс с международным участием «Сахарный диабет и ожирение – неинфекционные междисциплинарные пандемии XXI века» (2022), Трансляционная медицина: возможное и реальное (2022, 2023), VIII Российский конгресс по остеопорозу, остеоартриту и другим метаболическим заболеваниям скелета с международным участием (2022), III Конференция по лечению и диагностике СД «Фундаментальная и клиническая диабетология в 21 веке: от теории к практике» (2023), X (XXIX) Национальный конгресс эндокринологов с международным участием «Персонализированная медицина и практическое здравоохранение» (2023), шестая ежегодная Школа ЮНЕСКО «Трансляционная медицина в контексте глобальных социальных трансформаций», секция «Эндокринология» (2024), Национальный конгресс эндокринологов с международным участием «Инновационные технологии в эндокринологии» (2024), VII Инновационный петербургский медицинский форум (2024), IX Российский конгресс по остеопорозу, остеоартриту и другим метаболическим заболеваниям скелета с международным участием (2024)

Диссертационная работа выполнена в рамках государственного задания «Персонифицированный подход в выборе сахароснижающей терапии у пациентов с СД 2 типа, основанный на нейропротективных и остеопротективных свойствах препаратов» (регистрационный номер НИОКТР 222031100091-9), осуществляемого в ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»

Минздрава России в период с сентября 2021 по март 2023 года. Исследование соответствовало принципам Хельсинкской декларации и стандартам надлежащей клинической практики (ICH Good clinical practice). Протокол исследования, форма информированного согласия версия 1.1 № 11/2021 от 22 ноября 2021 года были утверждены этическим комитетом. Пациентам объясняли цели и процедуры исследования перед включением в исследование, после чего они подписывали добровольное информированное согласие.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность эндокринологического отделения ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. академика И. П. Павлова Минздрава России, а также в научный процесс кафедры факультетской терапии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. академика И. П. Павлова Минздрава России и в учебный процесс кафедры эндокринологии института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

### **Личный вклад автора**

Автор самостоятельно разработал дизайн исследования, форму информированного согласия. Лично участвовал в подборе пациентов, соответствующих критериям включения; получал согласие пациентов на участие в исследовании; проводил координацию пациентов при прохождении обследований. Автором была создана и постоянно обновлялась база данных.

В экспериментальной части исследования автор участвовал в моделировании СД с использованием стрептозотоцина и никотинамида, верифицировал наличие СД с помощью перорального глюкозотолерантного теста (ПГТТ) у животных, проводил измерение массы и гликемии у животных, а также лечение животных (введение исследуемых препаратов per os и

подкожно) на протяжении всего эксперимента. Кроме того, автором производился забор крови и подготовка гистологического материала.

Автором был проведен статистический анализ данных экспериментального и клинического исследования; описаны результаты и сформулированы выводы исследования, а также подготовлены публикации результатов в рецензируемых журналах.

### **Публикации**

Результаты диссертационного исследования представлены в 6 статьях, опубликованных в журналах, включенных в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий» Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации; получен один патент.

### **Объем и структура**

Диссертационное исследование изложено на 127 страницах. Представленная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, полученных результатов, их обсуждения и выводов по ним, а также списка сокращений и списка литературы. Диссертация содержит 12 таблиц и 17 рисунков. Список литературы включает 190 источников, в том числе 23 отечественных.

## **ГЛАВА 1. КОСТНОЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ В НОРМЕ И ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

Сахарный диабет – тяжелое хроническое заболевание, распространенность которого неуклонно увеличивается и в настоящее время имеет характер пандемии. По данным Международной Федерации диабета, общее число пациентов с СД составляет 537 миллионов человек, из которых 90 % имеют СД 2 типа. Хронические осложнения СД включают не только поражение сердечно-сосудистой и нервной систем, почек, но и негативное влияние на опорно-двигательный аппарат. Так, многочисленные рандомизированные клинические исследования (РКИ) и метаанализы суммируют данные о повышении риска переломов при СД [135]. Например, Х. Ванг (H. Wang) и соавторами было показано, что СД 1 типа ассоциирован с повышением риска переломов на 41 %, а СД 2 типа – на 24 % [55]. Следует отметить тот факт, что МПК при СД 2 типа нормальна или даже повышена, тогда как у больных СД 1 типа наблюдается снижение МПК. В то же время причиной 4 % всех остеопоротических переломов в популяции может быть СД 2 типа [57]. Однако остеопороз при СД 2 типа зачастую бывает не диагностирован [18].

В развитии повышенной хрупкости костей при СД 2 типа участвуют различные факторы: хроническая гипергликемия, накопление конечных продуктов гликирования (AGEs), инсулинорезистентность, инсулиновая недостаточность, повышение уровня провоспалительных цитокинов и дисбаланс адипокинов, а также нарушение инкретинового эффекта и минерального обмена [33]. Значимый вклад в риск переломов вносят и хронические осложнения СД. Так, диабетическая нефропатия способствует нарушению кальций-фосфорного обмена и приводит к вторичному гиперпаратиреозу, а диабетическая полинейропатия и ретинопатия повышают частоту падений [131].

Остеопороз считается социально значимым заболеванием из-за длительной утраты трудоспособности, инвалидности, снижения качества жизни и значительных экономических затрат [175]. Кроме того, в отечественных клинических рекомендациях СД отмечен как заболевание, приводящее ко вторичному остеопорозу [21], что диктует необходимость персонификации в диагностике, профилактике и лечении остеопороза у больных СД.

Необходимо отметить, что сахароснижающая терапия позиционируется не только как средство достижения целевого уровня гликемии, но и как важный компонент индивидуального подхода в лечении СД 2 типа [2]. В настоящее время активно изучается влияние препаратов для лечения СД 2 типа не только с позиции их кардио- и нейропротективных свойств, но и с точки зрения их действия на костную и мышечную ткани [33].

Таким образом, изучение костного ремоделирования у больных СД 2 типа, а также остеотропных свойств современных классов сахароснижающих препаратов представляется чрезвычайно актуальным для дальнейшего совершенствования алгоритмов оказания медицинской помощи.

### **1.1. Анатомия и физиология костной ткани в норме**

Скелет имеет множество жизненно важных функций. Кроме опоры и механической защиты мягких тканей, костная ткань обеспечивает гемопоэз, кислотно-щелочной и энергетический обмен, депонирование минералов и дифференцировку иммунных клеток [176]. Уникальные механические свойства костной ткани, ее высокая метаболическая активность и структурная динамичность обеспечиваются сложной системой регуляции, включающей клетки костной ткани, минералы, костный матрикс, хемоаттрактанты, факторы роста, транскрипционные факторы, ферменты и гормоны [30].

Макроскопически существуют два разных вида кости: трабекулярная (20 % костной массы) и кортикальная (80 % костной массы). Губчатая, или



трабекулярная, кость представлена в эпифизах и диафизах длинных трубчатых костей, позвонках, костях кисти, стопы и таза. Решетчатая трехмерная структура трабекул организована в направлении внешней механической нагрузки и содержит красный костный мозг. Кортикальная (компактная) кость тонким слоем окружает все кости и состоит из минерализованных костных пластинок и органической матрицы [47].

Кость – это соединительная ткань с органическим (одна треть массы и две трети объема) и неорганическим (две трети массы и одна треть объема) компонентами. Главным органическим компонентом кости является коллаген I типа. Он представляет собой фибриллярный белок, состоящий из двух цепей альфа и одной цепи бета, которые связаны ковалентными пиридиновыми и деоксипиридиновыми связями. Кроме того, в костном матриксе представлены другие типы коллагена, остеокальцин, фибронектин, остеопонтин, костный сиалопротеин, костный морфогенетический белок, факторы роста, а также протеогликаны (декорин, бигликан, люмикан, остеоадерин). Органические вещества обеспечивают гибкость и защиту кости при растяжении и скручивании. Неорганический компонент кости представлен кристаллами гидроксиапатита, а также ионами натрия, калия, стронция и карбонатами. Минеральный состав костной ткани обеспечивает прочность и жесткость, то есть защиту кости при сжатии [30].

Существуют четыре основных типа костных клеток. Остеобласты – кубовидные клетки, развивающиеся из мезенхимальной ткани. Они составляют 4–6 % от всех клеток костной ткани и расположены на поверхности кости. Основная функция остеобластов – синтез костного матрикса путем синтеза и кальцификации коллагена. Остеобласты имеют характеристики протеин-синтезирующих клеток: развитый аппарат Гольджи, шероховатый эндоплазматический ретикулум и секреторные везикулы, благодаря чему они способны синтезировать и секретировать остеоид в костный матрикс [30]. В ходе минерализации часть остеобластов оказывается заблокированной в костных лакунах и становится остеоцитами. Другая часть клеток подвергается

апоптозу или становятся остеогенными клетками (покоящимися остеобластами) [22]. Дифференцированные остеобласты синтезируют остеокальцин – наиболее распространенный неколлагеновый белок кости. Экспрессия остеокальцина регулируется транскрипционным фактором Runx2 (Runt-related transcription factor-2, субъединица фактора связывания ядра альфа 1). До секреции из остеобластов предшественник остеокальцина подвергается  $\gamma$ -карбоксилированию с помощью фермента  $\gamma$ -глутамилкарбоксилазы и восстановленного витамина К. После этой модификации повышается сродство остеокальцина к гидроксиапатиту. В плазме крови циркулируют некарбоксилированный, частично  $\gamma$ -карбоксилированный и карбоксилированный остеокальцин. Что касается влияния данного белка на костную ткань, установлено, что он является хемоаттрактантом для предшественников остеокластов [111].

Остеогенные клетки выстилают поверхность кости, которая не участвует в процессе ремоделирования. Длинные отростки соединяют остеогенные клетки друг с другом, а также с остеоцитами. Предположительно, данные клетки препятствуют прямому взаимодействию между костным матриксом и остеокластами, а также участвуют в дифференцировке остеокластов. При воздействии таких анаболических агентов, как паратиреоидный гормон (ПТГ) и антитела к склеростину, остеогенные клетки снова становятся активными остеобластами [182].

Остеоциты составляют самую большую часть (90 %) клеток костной ткани. Данные клетки имеют длинные многочисленные отростки (до 50 на клетку), которые соединяют остеоциты с другими костными клетками, таким образом обеспечивая транспортировку сигнальных молекул и питание клеток. Остеоциты обладают свойством механотрансдукции, то есть их отростки воспринимают механические импульсы и микроразрывы и преобразовывают их в биохимические сигналы: в ответ на механическое воздействие данные клетки вырабатывают оксид азота, фактор роста

фибробластов-23 (ФРФ-23), простагландины, а также склеростин, который замедляет костеобразование [47].

Остеокласты – многоядерные клетки, развивающиеся из гемопоэтических стволовых клеток, основной функцией которой является резорбция кости [47]. Зрелый остеокласт представляет собой многоядерную клетку, которая имеет прочную связь с поверхностью кости. Остеокласты вырабатывают протеолитические ферменты, тем самым способствуя растворению костного матрикса и освобождению пространства для синтеза новой кости [186].

В процессе костного ремоделирования происходит замена поврежденной ткани на новую кость, благодаря чему сохраняются уникальные механические свойства кости. Так, у взрослого человека около 10 % костной ткани находится в процессе ремоделирования [30]. Процесс ремоделирования запускается после привлечения предшественников остеокластов хемоаттрактантами, выделяющимися при микроповреждениях кости. Остеокласты активируются посредством связи рецептора-активатора ядерного фактора каппа бета (RANK) и его лиганда (RANKL), который продуцируется остеоцитами, остеобластами, клетками костного мозга и активированными Т-клетками. Связь RANK со своим лигандом ингибируется остеопротегерином (OPG), который представляет собой «ловушку» для RANKL [171]. После окончательной дифференцировки и активации зрелые остеокласты прикрепляются к поверхности кости и выделяют соляную кислоту и протеолитические ферменты (например, катепсин В), принимающие участие в протеолизе коллагена. Далее остеокласты подвергаются апоптозу, а их место занимают предшественники остеобластов, которые развиваются по остеогенному каноническому пути Wnt/бета-катенин (один из ключевых внутриклеточных сигнальных путей, регулирующих эмбриогенез и дифференцировку клеток) [6]. Формирование костного матрикса остеобластами происходит в два этапа: сначала в составе кальций- и фосфорсодержащих везикул остеобласты синтезируют протеины и

протеогликаны, а далее под действием щелочной фосфатазы (ЩФ) остеобластов происходит высвобождение ионов кальция и фосфора и образование кристаллов гидроксиапатита. Таким образом, происходит минерализация органических компонентов [32].

Основными гормонами, регулирующими минеральный состав костной ткани, являются ПТГ, кальцитриол ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ), кальцитонин и ФРФ-23 [32].

Паратиреоидный гормон представляет собой полипептидный гормон, синтезирующийся в паратироцитах околощитовидных желез [110]. Синтез и секреция ПТГ контролируется связанным с G-белком кальций-чувствительным рецептором, основным лигандом которого является кальций. Эффекты ПТГ опосредованы его взаимодействием с рецептором, который в основном экспрессируется в почечных канальцах и остеобластах. ПТГ стимулирует активную реабсорбцию кальция против электрохимического градиента, независимо от кальций-чувствительного рецептора и кальцитонина. Кроме того, ПТГ ингибирует экспрессию натрий-фосфорных ко-транспортёров подтипов 2a и 2c ( $\text{NaPi2a}$  и  $\text{NaPi2c}$ ), что усиливает почечную экскрецию фосфора [112]. Также ПТГ повышает почечную экскрецию бикарбоната через ингибирование натрий-водородного антипортёра, активирует  $1\alpha$ -гидроксилазу (фермент, который превращает кальцитиол ( $25(\text{OH})\text{D}$ ) в кальцитриол) и ингибирует 24-гидроксилазу (фермент, катаболизирующий кальцитриол) [110]. В костной ткани физиологическая пульсаторная секреция ПТГ способствует ускорению дифференцировки остеобластов и замедляет их апоптоз. Однако длительное воздействие ПТГ способствует повышению экспрессии RANKL на поверхности остеобластов, что приводит к повышению дифференцировки и активности остеокластов и активации костной резорбции [129].

Кальцитриол относится к стероидным гормонам, представляет собой активную форму витамина D и образуется путем двухэтапного гидроксилирования из предшественников. Колекальциферол, который представляет собой предшественник кальцитриола, может синтезироваться в

эпидермисе под действием солнечных лучей или поступает с пищей [177]. В печени реализуется первый этап гидроксилирования витамина D, при котором под действием фермента 25-гидроксилазы образуется транспортная промежуточная (неактивная) форма витамина D, кальцидиол ( $25(\text{OH})\text{D}$ ). Далее в митохондриях почек под влиянием  $1\alpha$ -гидроксилазы синтезируется кальцитриол ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ) [13], многие эффекты которого опосредованы связью гормона с рецептором витамина D (VDR) и его транскрипционной активностью [13].

В кишечнике кальцитриол стимулирует образование кальмодулина, который является кальций-связывающим протеином и способствует всасыванию кальция в кишечнике. В дистальных почечных канальцах кальцитриол стимулирует реабсорбцию кальция. В то же время при активации VDR усиливается экспрессия остеокальцина и последующая минерализация костной ткани. Кроме того, кальцитриол повышает синтез некоторых факторов организации костного матрикса: интерлейкинов, сосудистого эндотелиального фактора роста и инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) [189].

Кальцитонин представляет собой гормон пептидной природы, который вырабатывается С-клетками щитовидной железы и действует в костной ткани, где ингибирует высвобождение резорбирующих факторов везикулами остеокластов [123]. Таким образом, кальцитонин способствует снижению уровня кальция в крови и относится к гормонам, функционально противоположным ПТГ [157].

Фактор роста фибробластов-23, известный как фосфатонин, или фосфатурический гормон, синтезируется остеобластами и остеоцитами [107], относится к большому семейству факторов роста фибробластов и наряду с ФРФ-19 и ФРФ-21 обладает эндокринным действием за счет слабой аффинности к гепарансульфату, что позволяет молекуле свободно циркулировать в плазме, тогда как остальные оказывают паракринные эффекты [101]. Основная функция ФРФ-23 состоит в регуляции метаболизма фосфатов в проксимальных канальцах нефронов, где связь ФРФ-23,  $\alpha$ -klotho и

рецептора 1 к ФРФ приводит к ингибированию экспрессии генов  $\text{NaPi2a}$  и  $\text{NaPi2c}$ , уменьшению реабсорбции фосфатов и снижению концентрации фосфатов в системной циркуляции. Дополнительно ФРФ-23 участвует во втором этапе гидроксилирования витамина D, приводя к снижению синтеза кальцитриола в почках посредством ингибирования активности фермента 1- $\alpha$  гидроксилазы и повышения активности 24-гидроксилазы. В то же время под действием ФРФ-23 через активацию митоген-активированной протеинкиназы (МАРК) в клетках околощитовидных желез подавляется синтез ПТГ [101].

Гормональная регуляция костного ремоделирования и минерального состава костной ткани осуществляется и другими молекулами. Установлено, что гормон роста и ИФР-1, а также эстрогены, андрогены и грелин оказывают позитивный эффект на формирование костной ткани, в то время как лептин способствует угнетению костеобразования. В то же время гормоны щитовидной железы и глюкокортикостероиды обеспечивают гомеостатический эффект, то есть в физиологических концентрациях стимулируют костеобразование, а при избытке – оказывают резорбтивный эффект [30].

## **1.2. Механизмы нарушения метаболизма костной ткани при сахарном диабете**

Существует несколько факторов, ухудшающих костный обмен у больных СД 2 типа. К ним относятся гипергликемия и оксидативный стресс с накоплением AGEs, дисбаланс адипокинов, провоспалительные цитокины, дефицит витамина D, а также хронические осложнения СД.

Длительное повышение уровня глюкозы является одним из ключевых факторов ухудшения качества кости при СД 1 и 2 типа. Высокий уровень глюкозы негативно влияет на рост и дифференцировку клеток костной ткани, что продемонстрировано в экспериментальных исследованиях. В экспериментальном исследовании в условиях хронической гипергликемии в

культуре остеобластов мышей отмечено снижение экспрессии ЩФ, остеокальцина и PPAR- $\gamma$  (рецептор, активируемый пероксисомными пролифераторами гамма), что свидетельствовало об угнетении экспрессии генов остеобластогенеза [36]. Одним из механизмов считается повышение экспрессии белка Dkkorf-1, который представляет собой ингибитор остеогенного пути Wnt, и склеростина. С другой стороны, в условиях хронической гипергликемии снижается способность остеобластов и остеокластов к аутофагии [33]. В подтверждение этого факта можно привести более раннее исследование, где подавление аутофагии остеокластов супрессировало дифференцировку данных клеток [100]. Гипергликемия оказывает негативное влияние и на остеоциты. В экспериментальных моделях СД продемонстрированы увеличение скорости апоптоза остеоцитов, накопления микротрещин в отростках данных клетках и снижение качества костной ткани [156].

При хронической гипергликемии образуются AGEs – соединения карбонильной группы восстановленного сахара или альдегида с лизином, аргинином или аминоконцевыми остатками белков и липидов. Данные молекулы при соединении со своими рецепторами (RAGE) угнетают остеогенные сигнальные пути и нарушают рост и дифференцировку остеобластов. С другой стороны, RAGE при соединении со своими лигандами усиливают остеокластогенез [143].

В настоящее время изучается роль гипергликемии в эпигенетических нарушениях. Выдвинуто предположение, что снижение экспрессии микроРНК-155 при СД приводит к повышению ядерного фактора каппа бета (NF- $\kappa$ B), что играет важную роль в патогенезе осложнений СД. В частности, в результате дисрегуляции микроРНК-155 и NF- $\kappa$ B происходит апоптоз клеток костной ткани [24].

Таким образом, гипергликемия оказывает разностороннее негативное влияние на костную ткань, что подтверждается результатами проведенных

клинических исследований, и приводит к увеличению риска переломов, ассоциированных с ухудшением гликемического контроля [33].

Патогенез СД включает в себя не только хроническую гипергликемию, но и множество гормональных и иммунных звеньев. СД 2 типа, в отличие от СД 1 типа, характеризуется гиперинсулинемией, инсулинорезистентностью на фоне ожирения, что может вносить дополнительный вклад в процессы костного ремоделирования. Установлено, что PPAR $\gamma$ , принимающий участие в регуляции чувствительности тканей к инсулину, может оказывать влияние и на костный метаболизм. Результаты проведенных исследований продемонстрировали супрессию дифференцировки остеобластов под действием PPAR $\gamma$ , что приводило к направлению развития клеток костного мозга по пути адипоцитов [133]. Экспансия костного мозга жировой тканью ассоциирована с повышением секреции провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкины 1 $\beta$  и 18, которые негативно влияют на кость [113]. В то же время гиперлептинемия, свойственная больным ожирением и СД 2 типа, оказывает неоднозначный эффект на костную ткань. Так, наблюдается как супрессия остеокластогенеза посредством снижения продукции RANKL, так и одновременное стимулирование остеобластогенеза. В противоположность лептину, снижение концентрации адипонектина ассоциировано с подавлением остеобластогенеза и активацией остеокластогенеза [128].

Известно, что дефицит витамина D является фактором риска остеопороза и низкоэнергетических переломов [13]. Исследования, проведенные в популяции больных СД 2 типа, показали высокую частоту дефицита витамина D и его возможную роль в нарушении секреции инсулина и формировании инсулинорезистентности, в связи с чем его относят к дополнительным факторам, оказывающим влияние как на параметры костного обмена, так на и гликемический статус [184].

Дополнительно следует отметить тот факт, что осложнения СД ассоциированы с повышением риска переломов [135]. Так, наличие хронических осложнений у больных СД 1 типа ассоциировано с 17-кратным



повышением риска перелома бедра [90], а наличие диабетической ретинопатии и нейропатии – с повышением риска падений [140]. Также известно о нарушении обмена коллагена при диабетической нефропатии [3].

Кроме того, И. Голдштейн (I. Goldshtein) и соавторами показано, что при индексе DCSI (diabetes complication severity index – индекс тяжести осложнений диабета) более 3 баллов значительно повышается риск переломов бедра [77]. При развитии тяжелых форм нейропатии, таких как нейроишемическая форма диабетической стопы, стоит уделять внимание диагностике минерально-плотных нарушений [7].

Хорошо известно, что значимый вклад в костное ремоделирование у женщин не только в случае СД вносит наличие менопаузы. Среди женщин в возрасте 50 –54 лет около 16 % страдают СД 2 типа, тогда как к 75 годам распространенность этого заболевания достигает 24 %. С другой стороны, постменопаузальный остеопороз занимает 80 % в структуре причин остеопороза у женщин [21]. Снижение уровня эстрогенов в период менопаузы может повлечь за собой повышение активности остеокластов, уменьшение абсорбции кальция в кишечнике, а также повышение кальциурии [120]. Истончение и разрежение костных трабекул, особенно в кортикальном слое, является причиной потери костной массы за первые 5 лет постменопаузы, что соответствует одной трети от всех потерь костной ткани в течение жизни. Кроме того, среди пациентов с остеопорозом наблюдается низкая приверженность к лечению (до 60 % пациентов отменяют терапию в течение первого года лечения) [23]. Стоит отметить, что терапия пероральными формами бисфосфонатов может быть ограничена вследствие гастроинтестинальной формы диабетической полинейропатии [9].

Таким образом, женщины с СД 2 типа в период менопаузы особенно уязвимы в отношении нарушений костного обмена, что требует дальнейшего изучения.

Принимая во внимание вышесказанное, результаты проведенных исследований у больных СД 2 типа позволяют констатировать тот факт, что и

сам диабет, и ассоциированные с ним факторы оказывают в большей степени негативное влияние на костное ремоделирование и риск остеопоротических переломов. Для лучшего понимания патогенетических механизмов, а также для персонификации терапии больных СД 2 типа с учетом параметром костного ремоделирования требуется проведение дальнейших исследований.

### **1.3. Влияние сахароснижающих препаратов на костное ремоделирование**

Помимо вышеописанных механизмов нарушения костного ремоделирования при СД, прием некоторых сахароснижающих препаратов может быть причиной нарушения структуры костной ткани и увеличения риска переломов. В связи с этим необходимо остановиться на некоторых аспектах костного обмена при приеме различных классов сахароснижающих препаратов.

В настоящее время в качестве базисного сахароснижающего препарата широко применяется метформин, действие которого заключается в снижении глюконеогенеза в печени, усилении чувствительности тканей к инсулину, снижении синтеза жирных кислот [85].

Доклинические исследования показали остеанаболический эффект препарата. В культурах клеток костной ткани этот эффект был реализован за счет снижения AGEs и уменьшения рецепторного ответа на AGEs [139], повышения экспрессии генов костно-морфогенетического белка, транскрипционного фактора Runx2, гена ИФР-1, транскрипционного фактора Osterix, OPG, коллагена I типа и остеокальцина [136]. Обработка культуры остеобластов метформином приводила к усилению дифференцировки клеток и появлению очагов минерализации [109]. В то же время описаны и противоположные результаты исследований, в которых метформин ингибировал экспрессию генов Runx2, остеокальцина, остеопонтина в

культуре остеобластов мышей [127] и замедлял минерализацию в культуре человеческих остеобластов [70].

В исследованиях на лабораторных животных было установлено, что метформин улучшает площадь трабекулярной костной ткани в области метаэпифиза у крыс, увеличивает плотность остеобластов и остеоцитов, а также повышает активность тартрат-резистентной кислой фосфатазы, что ассоциировано с расширением эпифизарных зон роста кости [122], а в похожем исследовании – нивелирует негативное действие гипергликемии [104].

В клинических исследованиях получены противоречивые данные о влиянии метформина на костную ткань. В субанализе исследования ADOPT (A diabetes outcome progression trial) было установлено, что при лечении метформином в дозе до 2000 мг в сут. в течение года у женщин наблюдалось небольшое повышение уровня маркера резорбции С-концевого телопептида коллагена I типа (СТХ), у мужчин и женщин отмечалось снижение уровня маркеров костеобразования (N-концевого пропептида проколлагена I типа (P1NP) и ЩФ). При этом риск переломов не увеличивался [67]. В другом исследовании было показано, что лечение метформином в дозе 1000 мг в сут. на протяжении 12 недель не оказывало значительного влияния на маркеры костеобразования у постменопаузальных женщин с СД 2 типа [99]. Таким образом, обобщая воздействие метформина на метаболизм костной ткани и риск переломов, на сегодняшний день можно говорить о его нейтральном или даже умеренно положительном [144] эффекте.

Механизм действия ингибиторов дипептидилпептидазы 4 типа (иДПП-4) основан на ингибировании фермента дипептидилпептидазы 4 типа, что приводит к увеличению срока циркуляции ГПП-1 [61]. Экспериментальные исследования о влиянии иДПП-4 на костную ткань неоднозначны. Так, в культуре мезенхимальных стволовых клеток и остеобластов у мышей обработка саксаглиптином приводила к снижению экспрессии гена Runx2, остеокальцина, коллагена I типа, а также темпа минерализации, в то время как

экспрессия PPAR $\gamma$  была повышенной, а в продолжении данного экспериментального исследования *in vivo* на фоне терапии отмечалось ухудшение микроархитектоники длинных костей [149]. В то же время при лечении крыс без СД ситаглиптином наблюдалась незначительная потеря МПК после овариэктомии (ОЭ) и прирост МПК у животных без ОЭ [58]. Дополнительно имеются данные о снижении концентрации СТХ и улучшении структуры трабекулярной кости у крыс стока Wistar с СД при применении ситаглиптина [63].

Результаты клинических исследований иДПП-4 остаются противоречивыми и демонстрируют как снижение ЩФ и деоксипиридолина мочи у женщин с СД [99] на фоне приема ситаглиптина, так и отсутствие изменений уровня СТХ, ЩФ, кальция и фосфора на фоне терапии вилдаглиптином [56]. Что касается риска переломов, то прием иДПП-4 не был ассоциирован с его увеличением [60], если только не шла речь об отсутствии комплаентности и плохом гликемическом контроле больных [155]. Схожие результаты были получены и в отношении саксаглиптина, где при оценке его безопасности в 20 РКИ с участием более 9000 больных СД 2 типа, с одной стороны, частота переломов составила 1,1 на 100 человеко-лет и была несколько выше по сравнению с группой контроля (0,6) [147], а с другой стороны, в исследовании сердечно-сосудистой безопасности саксаглиптина, SAVOR-TIMI 53, прием препарата на протяжении двух лет не был связан с повышением риска переломов [102].

В то же время результаты метаанализа 28 РКИ показали, что терапия препаратами иДПП-4 ассоциирована со снижением риска низкотравматичных переломов у больных СД 2 типа, по сравнению как с плацебо, так и с другими видами сахароснижающей терапии (ОШ 0,60; 95 % ДИ 0,37–0,99) [59].

Таким образом, в настоящее время действие иДПП-4 на костное ремоделирование также расценено как нейтральное, несмотря на имеющиеся потенциально благоприятные для костной ткани патофизиологические точки приложения [56].

Препараты из группы производных сульфонилмочевины обладают стимулирующим эффектом на секрецию инсулина посредством связи с аденозинтрифосфатно-зависимым (АТФ-зависимым) калиевым каналом на поверхности бета-клеток поджелудочной железы [132]. При анализе литературы обнаружены ранние исследования по изучению влияния данной группы препаратов на костную ткань. Так, в случае с культурой остеобластов в экспериментальном исследовании у крыс глимепирид оказывал стимулирующий эффект на дифференцировку клеток, за счет модулирования сигнального пути PI3K/Akt/mTOR [93]. Этой же группой авторов выдвинуто предположение о наличии остеопротективного эффекта глимепирида, связанного с возможностью усиления экспрессии гена остеокальцина и активности ЩФ в условиях гипергликемии [84]. Дополнительно в исследовании с лабораторными животными было установлено, что применение глимепирида предотвращает костную резорбцию у крыс после ОЭ [91].

В клиническом исследовании ADOPT было обнаружено, что прием глибурида приводил к снижению уровня СТХ, при этом практически не влияя на уровни N-концевой пропептид проколлагена I типа и ЩФ. Риск переломов при использовании глибурида был аналогичен риску при применении метформина [67]. В то же время результаты других исследований указывают на снижение риска переломов бедра на фоне приема производных сульфонилмочевины по сравнению с этими показателями у лиц без лечения (относительный риск (ОР) 0,74) [187]. Однако, авторы объяснили такой эффект в основном сахароснижающим действием этих препаратов, а не самостоятельным его протективным эффектом. В целом в большинстве исследований влияние производных сульфонилмочевины на риск переломов расценивается как нейтральное. Однако в некоторых группах, в частности у пожилых мужчин с СД, на фоне лечения препаратами данной группы может наблюдаться повышенный риск невертебральных переломов [87]. Важно отметить, что прием производных сульфонилмочевины ассоциирован

с гипогликемическими состояниями, частота которых напрямую коррелирует с увеличением риска падений и, соответственно, переломов [28]. Таким образом, производные сульфонилмочевины напрямую не оказывают влияние на костный обмен, однако, учитывая возможность развития гипогликемических состояний на фоне их приема, в настоящее время рекомендуется назначать данные препараты с осторожностью у лиц с остеопорозом [144].

Влияние инсулинотерапии на костную ткань и риск переломов неоднозначно. Рецепторы к инсулину экспрессированы на поверхности остеобластов и остеокластов. Инсулин является анаболическим гормоном, поэтому была выдвинута теория о его остеонаболическом эффекте. К. Фулзел (K. Fulzele) и соавторы выяснили, что связь инсулинового рецептора с его лигандом важна для нормальной дифференцировки и функционирования остеобластов [103]. Кроме того, в исследовании *in vitro* инсулин в физиологической концентрации повышал скорость пролиферации остеобластов и угнетал активность остеокластов [106]. Экспериментальные исследования показали важную роль инсулина в остеогенезе: у животных с абсолютной недостаточностью инсулина наблюдалось уменьшение площади минерализованной поверхности остеоида, снижение скорости минерализации кости и количества остеобластов [106]. Снижение пиковой костной массы и МПК, а также увеличенный риск переломов у пациентов с СД 1 типа указывают на остеонаболический потенциал инсулина [88]. Однако этот эффект не подтвержден у пациентов с СД 2 типа. Некоторые исследователи отмечают, что инсулинотерапия при СД 2 типа может быть связана с повышенным риском переломов, что обусловлено падениями из-за гипогликемий, неудовлетворительным контролем гликемии и длительным стажем заболевания у этих пациентов [137]. В настоящее время отсутствуют данные о прямом негативном влиянии инсулина на МПК [121]. Так, применение инсулина длительного действия не было ассоциировано с повышенным риском переломов (ОР 0,78; 95 % ДИ 0,65–0,95 для инсулина

гларгин) [89]. Однако связь инсулинотерапии с повышенным риском переломов продемонстрирована в нескольких работах, где применение инсулина приводило к повышению риска переломов всех локализаций [184; 137], увеличению риска невертебральных переломов у мужчин (ОР 1,74; 95 % ДИ 1,13–2,69) [87], повышению риска переломов стопы у пожилых женщин (ОР 2,66; 95 % ДИ 1,18–6,08) [125]. Таким образом, инсулин не влияет негативно на костную ткань, но факт применения инсулина повышает риск низкотравматичных переломов при СД 2 типа.

Препараты из группы тиазолидиндионов активируют PPAR- $\gamma$ , что приводит к улучшению чувствительности тканей к инсулину [46]. PPAR- $\gamma$  экспрессированы преимущественно в адипоцитах, но также обнаружены в кишечнике, макрофагах костного мозга, а также в остеобластах и остеокластах. Активация PPAR- $\gamma$  изменяет направление дифференцировки мезенхимальных клеток-предшественников с увеличением образования адипоцитов и уменьшению количества остеобластов [134]. В экспериментальных исследованиях введение тиазолидиндионов вызывало ингибирование экспрессии основных генов-модуляторов остеогенеза: Runx2 [134], Osterix [145], а также коллагена I типа и остеокальцина [164], снижало активность ЩФ [180]. Данные препараты снижали скорость костеобразования у животных как с СД, так и без нарушений углеводного обмена [66], что сопровождалось ухудшением качества трабекулярной кости и МПК [130].

В клинических исследованиях подтверждено негативное влияние данной группы препаратов на костную ткань. У здоровых женщин в постменопаузе с СД при применении пиоглитазона наблюдалось снижение уровней P1NP, остеокальцина и ЩФ, а также повышение уровня СТХ [146; 29]. Однако имеются и противоположные данные, свидетельствующие об отсутствии изменения концентрации P1NP и OPG на фоне терапии росиглитазоном [170]. Такие противоположные результаты в отношении тиазолидиндионов дают основание говорить об их нейтральном эффекте [178]. Однако при оценке МПК многими исследователями продемонстрировано

снижение МПК на фоне приема тиазолидиндионов как у женщин [29], так и у мужчин [172]. Анализ результатов исследования ADOPT позволяет говорить о том, что применение данных препаратов ассоциировано с практически полуторным повышением риска переломов у постменопаузальных женщин [118], однако такие выводы возможно делать только в отношении росиглитазона [181]. Таким образом, учитывая вышесказанное, использование тиазолидиндионов может быть ограничено у лиц с остеопорозом или с повышенным риском переломов.

Сахароснижающее действие препаратов группы арГПП-1 обусловлено стимуляцией секреции инсулина в зависимости от уровня глюкозы, подавлением секреции глюкагона и замедлением опорожнения желудка в ранней постпрандиальной фазе [190]. Рецепторы ГПП-1 экспрессированы во многих органах и тканях, в том числе в костной. В первую очередь исследователи обнаружили рецепторы ГПП-1 в линии предшественников остеобластов [65], а также в мышечных остеобластах, остеоцитах и остеокластах [83; 42; 81]. Кроме того, экспрессия рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 обнаружена в наиболее зрелых остеобластах человека (клеточные линии MG63 и TE-85, но не в Saos-2), а также в мезенхимальных стволовых клетках [138].

Первые экспериментальные исследования с участием препаратов арГПП-1 были проведены с использованием эксенатида и обозначили вероятное положительное действие группы препаратов арГПП-1 на костное ремоделирование. Повышение уровня остеокальцина на фоне лечения эксенатидом подтверждено на моделях лабораторных животных с СД и метаболическим синдромом [80]. Так, на фоне использования эксенатида в экспериментальной модели остеопороза, вызванного ОЭ, получены данные о повышении концентрации маркеров костеобразования (ЩФ, остеокальцин, P1NP) и повышении экспрессии генов Runx2 и коллагена I типа [82]. Кроме того, введение эксенатида увеличивало количество остеокластов *in vitro* с одновременным снижением их резорбтивной активности [42].



В модели Л. Чжан (L. Zhang) и соавторов с использованием мышей с гиперхолестеринемией (ApoE<sup>-/-</sup>), которым интраперитонеально вводился препарат с AGEs (AGEs-бычий сывороточный альбумин) изучалось влияние лираглутида и вилдаглиптина на костный метаболизм в условиях эугликемии и негативного влияния AGEs. Применение лираглутида было ассоциировано не только со значительным снижением уровня AGEs, но и СТХ. Как лираглутид, так и вилдаглиптин не оказали влияния на показатели структуры костей и экспрессию RAGE в бедренных костях мышей ApoE<sup>-/-</sup> [74]. С другой стороны, Сюн-Ке Ху (Xiong-Ke Hu) и соавторами показано, что применение лираглутида ассоциировано с ослаблением дифференцировки остеобластов мышей (клеточная линия MC3T3-E), вероятно, через путь АМФ-зависимой протеинкиназы/mTOR [114].

Наиболее актуально изучение влияния лираглутида на костную ткань в условиях СД. Так, в исследовании с использованием крыс линии Zucker (модель с генетически обусловленным СД и ожирением) лечение препаратом способствовало сохранению нормальной микроархитектоники костной ткани, повышению ЩФ, P1NP, остеокальцина и, напротив, снижению СТХ. В этом же исследовании *in vitro* в культуре клеток остеобластов мышей, обработанных AGEs-бычьим сывороточным альбумином, лираглутид способствовал сохранению нормальной дифференцировки остеобластов и снижению экспрессии RAGE, что иллюстрирует возможное положительное влияние арГПП-1 на кость через нивелирование действия AGEs [95]. В другом исследовании в модели стрептозотоцин-индуцированного СД у крыс при применении лираглутида уровень остеокальцина был выше, а соотношение RANKL/OPG значительно ниже по сравнению с животными без лечения [152].

В экспериментальном исследовании у крыс Goto-Kakizaki (линия крыс, у которых в раннем возрасте спонтанно развивается СД 2 типа) при применении лираглутида показатели микрокомпьютерной томографии костной ткани были сопоставимы с результатами здоровых крыс Wistar. Кроме того, экспрессия мРНК Runx, коллагена I типа, OPG, остеокальцина была

выше в группе лираглутида по сравнению с крысами Goto-Kakizaki без лечения [117].

Механизмы, по помощи которых арГПП-1 оказывают стимулирующее действие на остеогенез, активно изучаются. В частности, в эксперименте с клеточной линией остеобластов лираглутид взаимодействовал с рецептором ГПП-1, тем самым повышая остеогенную дифференцировку остеобластов через регуляцию сигнальных путей PI3K/AKT/mTOR и Wnt [92]. Кроме того, есть данные о влиянии арГПП-1 на внеклеточный МАРК сигнальный путь посредством рецептора ГПП-1 [166].

Зачастую риск переломов в РКИ по эффективности и безопасности препаратов изучался ретроспективно как дополнительный фактор, что могло повлиять на достоверность полученных результатов. Однако на основании имеющихся данных можно сделать заключение, что арГПП-1 могут положительно или нейтрально влиять на маркеры костного ремоделирования у людей: после введения эксенатида не было изменений в уровне ЩФ, остеокальцина, P1NP у женщин в постменопаузе, а уровень СТХ снижался [62]. В другом сравнительном исследовании с участием 60 человек (группы лираглутид и плацебо) в течение 26 недель не наблюдалось существенного изменения уровней маркеров костного обмена PINP и СТХ. Использование лираглутида не было связано с уменьшением МПК бедра, несмотря на снижение массы тела [34]. Оригинальное исследование, позволяющее обойти факт влияния массы тела, проведено Е. Йепсен (E. Iepsen) и соавторами. В данном исследовании с участием 37 женщин после предварительного снижения веса на 12 % одна часть испытуемых в течение года поддерживала вес с помощью низкокалорийной диеты, другая – путем введения лираглутида в дозе 3,0 мг. Общая потеря костной массы была значительно больше в группе контроля (27 против 3 г), кроме того, в группе лираглутида зафиксировано значительное повышение P1NP [94].

Дополнительно, в исследовании с участием 61 пациента лечение лираглутидом в дозах 1,2 и 1,8 мг не повлияло на МПК в течение 108 недель

(в сравнении с глимепиридом) [45]. В мировой литературе накоплено немного рандомизированных исследований по изучению длительнодействующих арГПП-1 на параметры костного ремоделирования. Например, в исследовании с участием 64 пациентов без СД с избытком массы тела и остеопенией лечение семаглутидом в течение 55 недель не способствовало повышению P1NP. Напротив, зафиксировано повышение СТХ и снижение МПК бедра и поясничного отдела позвоночника на фоне снижения массы тела [126]. Однако в исследовании с участием 62 пациентов изучалось влияние эксенатида, дулаглутида и инсулина гларгина на МПК по сравнению с плацебо на протяжении 52 недель, ни один из изучаемых арГПП-1 значимо не повлияли на МПК [73].

Дальнейшие выводы сделаны на основании мета-анализов. В метаанализе Цинь-Син Конг (Qing-Xin Kong) и соавторов применение инкретинов не было связано с повышенным риском переломов: ОШ 0,97 (95 % ДИ 0,88-1,08). В анализе подгрупп применение лираглутида в дозе 1,8 мг в день (ОШ 0,62; 95 % ДИ 0,41-0,93) и ситаглиптина в дозе 100 мг в день (ОШ 0,5; 95 % ДИ 0,30-0,80) снижало риск переломов. Данный метаанализ показал, что применение инкретинов безопасно при повышенном риске низкотравматичных переломов. Кроме того, назначение ситаглиптина в дозе 100 мг или лираглутида в дозе 1,8 мг в день может оказывать защитное действие на костную ткань [79].

Дополнительно в анализе, объединявшем данные из 16 исследований с участием более 11 тысяч пациентов, применение лираглутида было связано со значительным уменьшением риска случайных переломов костей (ОШ 0,38), в то время как лечение эксенатидом демонстрировало повышение аналогичного показателя (ОШ 2,09) [141]. В другом метаанализе, включающем результаты 54 РКИ с участием 50 тысяч пациентов, применение эксенатида было связано с наименьшим риском переломов (ОШ 0,17). Таким образом, в данном метаанализе эксенатид продемонстрировал самый высокий профиль безопасности в отношении риска переломов (0,07 %), тогда как

дулаглутид – 1,04 %, лираглутид – 1,39 %, альбиглутид – 5,61 %, ликсисенатид – 8,07 % и семаглутид – 18,72 % соответственно. Недостатками исследования была высокая гетерогенность метаанализа, трудности с обработкой данных из-за разных доз препаратов и крайне низкая частота переломов [97].

Таким образом, несмотря на патофизиологические предпосылки, позитивное влияние арГПП-1 на костную ткань пока не доказано, но по крайней мере является нейтральным.

Препараты иНГЛТ-2 ингибируют реабсорбцию глюкозы в проксимальных извитых канальцах нефрона и вызывают глюкозурию [76]. Известно, что существуют несколько натрий-глюкозных ко-транспортеров (НГЛТ). НГЛТ-1 экспрессирован в почках и кишечнике, НГЛТ-2 – только в почках, и ни один из НГЛТ не представлен в костной ткани. Однако данные препараты могут воздействовать на костную ткань косвенным путем. В первую очередь препараты этой группы могут повышать кальцийурез без значимого изменения уровня кальция в сыворотке крови [153] и приводить к повышению концентрации ПТГ [25]. Кроме того, лечение иНГЛТ-2 ассоциировано с более высоким уровнем фосфора, независимо от скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и альбуминурии, так как препараты данной группы ингибируют реабсорбцию натрия и глюкозы с сохранением натриевого градиента для NaPi-2a и 2c. Таким образом, увеличивается реабсорбция фосфора в проксимальных канальцах почек [188], повышая уровень ПТГ и ФРФ-23 и снижая уровень кальцитриола. В исследовании с участием 25 здоровых добровольцев однократное введение канаглифлозина приводило к повышению фосфора, ПТГ, ФРФ-23 и снижению уровня  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  [38]. В свою очередь, устойчивое повышение ПТГ усиливает костную резорбцию, а снижение кальцитриола нарушает всасывание кальция в кишечнике [162]. Кроме того, у мышей с мутацией гена НГЛТ на 25 неделе зафиксировано повышение кальциурии, а также отмечено снижение МПК и снижение общей

длины бедренной кости по сравнению с группой контроля. Однако уровни кальция, фосфора, 25(OH)D остались без изменений [119].

Однако полученные в экспериментальных исследованиях данные об остеотропном влиянии иНГЛТ-2 на кость противоречивы. Например, дапаглифлозин, первый представитель класса, является селективным иНГЛТ-2. В исследованиях *in vivo* препарат показал нейтральное или положительное влияние на костное ремоделирование. В токсикологическом исследовании (с расчетной дозой препарата, в 5000 раз превышающей максимально рекомендованную для людей), препарат способствовал повышению минерализации и росту трабекулярной кости [124]. С другой стороны, в токсикологическом исследовании канаглифлозина на крысах был отмечен дозозависимый гиперостоз при применении препарата, но только у молодых животных (возраст 6–8 недель), причем костная ткань была нормально минерализована. Кроме того, применение канаглифлозина было ассоциировано с гиперкальциурией, повышением уровня ПТГ и снижением уровня 25(OH)D [41]. В другом исследовании у крыс при применении канаглифлозина зафиксировано усиление абсорбции кальция в кишечнике, но нарастание кальциурии [160]. В исследовании К. Трэйлкилл (K. Thrailkill) и соавторов изучалось влияние этого же препарата на костный обмен у мышей при стрептозотоцин-индуцированном СД. Само по себе развитие СД повлекло за собой ухудшение ударной прочности костей и ухудшение микроархитектоники костной ткани, но при лечении канаглифлозином данные показатели не улучшились. Напротив, было отмечено разрежение метаэпифизарной области и еще большее повышение СТХ [153]. Однако в следующем эксперименте этой группы авторов препарат совместно с применением инсулина предотвращал повреждение костной ткани, вероятно за счет аддитивного действия препаратов [167]. При изучении костного ремоделирования у мышей с генетически обусловленным СД 2 типа у животных, пролеченных канаглифлозином, зафиксирована более высокая толщина и плотность кортикальной кости, чем у животных без лечения,

однако показатели механической прочности значимо не отличались, что говорит о частичном эффекте препарата [39]. В модели стрептозотоцин-индуцированного СД 2 типа у мышей применение дапаглифлозина способствовало улучшению прочности костной ткани [49].

Поскольку иНГЛТ-2 патофизиологически могут негативно влиять на фосфорно-кальцевый обмен, клинические исследования в данной области продолжаются. Было показано, что комбинированная терапия метформином и дапаглифлозином в течение 2 лет не была ассоциирована с ухудшением биохимических маркеров костного ремоделирования (СТХ и P1NP), показателей МПК и не приводила к увеличению частоты низкотравматичных переломов [51]. В то же время лечение канаглифлозином в течение 12 недель приводило к нарастанию СТХ при отсутствии значимых изменений в уровнях кальция, фосфора, ПТГ, 25(ОН)D и PINP-1 [40]. Схожие результаты, демонстрирующие повышение маркеров костной резорбции на фоне приема различных доз канаглифлозина были продемонстрированы в 52-недельном наблюдении, однако, несмотря на увеличение скорости резорбции, микроархитектоника костной ткани и показатели МПК оставались без изменений [78]. В других исследованиях с использованием иНГЛТ-2 применение ипраглифлозина на протяжении 24 недель также показало увеличение тартратрезистентной кислой фосфатазы [75], а терапия эртуглифлозином вызвала дозозависимое повышение СТХ, но не уровней P1NP и показателей МПК [64].

Однако, в исследовании по изучении кардиоваскулярной безопасности эмпаглифлозина (EMPAREG OUTCOME), включавшем 7020 пациентов с СД 2 типа и кардиоваскулярными заболеваниями) не было отмечено повышения риска переломов при сравнении с группой плацебо [76]. Подобные результаты были получены и в исследовании сердечно-сосудистой безопасности дапаглифлозина (DECLARE-TIMI, более 17 тыс. пациентов) [48].

Канаглифлозин, низкоселективный иНГЛТ-2, является самым компрометированным представителем класса в отношении костной ткани. В

исследовании кардиоваскулярной безопасности канаглифлозина (CANVAS) было показано повышение риска переломов верхних и нижних конечностей, которые чаще встречались у пациентов, получающих канаглифлозин (ОШ 1,26; 95 % ДИ 1,04 – 1,52). Тем не менее в случае пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) данные, показывающие ассоциацию переломов с приемом препарата, не были получены. Однако в исследовании CREDENCE, которое включало 4401 пациента с ХБП, частота переломов в группе больных, получавших канаглифлозин, не отличалась от группы плацебо (11,8 и 12,1 переломов на 1000 человеко-лет соответственно; ОШ 0,98; 95 % ДИ 0,70 – 1,37) [69]. Дополнительно метаанализ 38 РКИ не показал ассоциацию между применением иНГЛТ-2 и повышением риска переломов. Несмотря на это, некоторые эксперты при выборе сахароснижающей терапии у больных с высоким риском остеопоротических переломов предлагают относиться к препаратам из группы иНГЛТ-2 с осторожностью [165]. Однако для подтверждения класс-эффекта или специфических свойств отдельных препаратов этой группы необходимо проведение прямых сравнительных исследований.

В настоящее время продолжается накопление как экспериментальных, так и клинических данных, оценивающих воздействие сахароснижающих препаратов на костное ремоделирование и риск переломов. На данный момент ни у одного антигипергликемического препарата не доказано наличие положительного эффекта на костное ремоделирование. Однако такой потенциал имеют препараты из класса инкретинов, в то время как к препаратам из класса сульфонилмочевины, глитазонам и иНГЛТ-2 следует относиться с осторожностью при повышенном риске низкотравматичных переломов.

## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследование было проведено в два этапа: экспериментальное исследование и открытое сравнительное проспективное исследование. Экспериментальное исследование было выполнено в Центре доклинических и трансляционных исследований Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, клиническое исследование – на базе кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой имени академика Г. Ф. Ланга ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. академика И. П. Павлова Минздрава России и Института эндокринологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

### **2.1. Экспериментальная часть исследования**

#### **2.1.1. Дизайн исследования**

Исследование было выполнено на крысах стока Wistar (25 самцов и 25 самок, 150–350 г), полученных из питомника лабораторных животных «Пушино». В течение 14-дневного периода акклиматизации животные ежедневно осматривались на наличие отклонений в окраске кожи и видимых слизистых оболочек, а также оценивалась их двигательная активность. Взвешивание производилось при поступлении животных и затем не реже одного раза в неделю.

Крысы содержались в клетках по 3–5 особей, при установленном световом режиме 12 часов света и 12 часов темноты, в условиях потребления корма и воды *ad libitum*. Температура поддерживалась в пределах 22–25° С, относительная влажность воздуха составляла 50–70 %. Животные получали стандартный корм (Комбикорм ЛВК-120\_10 6002, ЗАО «Тосненский комбикормовый завод»).



За 4 недели до индукции СД 2 типа часть животных (для которых предполагалось моделирование СД) была переведена на корм с повышенным содержанием жиров («Про Корм», БиоПро, г. Новосибирск, Россия: обменная энергия 2690 ккал/кг, сырой протеин 20 %, сырой жир 22 %).

Через 4 недели после назначения высокожировой диеты моделировали СД. Сначала внутривентриально был введен раствор никотинамида (Nicotinamide, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, США) в дозе 230 мг/кг, через 15 минут – раствор стрептозотоцина (Streptozocin, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, США) в дозе 60 мг/кг. Этот метод индукции СД путем поддержания животных на диете, богатой насыщенными жирами, и последующего введения никотинамида и стрептозотоцина широко используется в экспериментальных исследованиях и доказал свою эффективность как модель СД 2 типа [16].

Через 48 и 72 часа после введения никотинамида и стрептозотоцина проводили измерение уровня глюкозы крови из хвостовой вены с использованием глюкометра Accu-Check Active (Roche Diagnostics, Швейцария). Нормальными считались значения глюкозы от 3,3 до 7,8 ммоль/л, так как измерение проводилось натощак. Если в двух измерениях, проведенных в разные дни, уровень глюкозы превышал 11,1 ммоль/л, устанавливался диагноз СД.

Через двое суток после внутривентриального введения никотинамида+стрептозотоцина почти у всех крыс отмечалось повышение гликемии более 11,1 ммоль/л, что соответствовало критериям СД. У четырех животных после моделирования СД были выявлены признаки абсолютной инсулиновой недостаточности: уровень гликемии составил более 15 ммоль/л, также наблюдалось снижение массы тела, полиурия, полидипсия, что послужило причиной исключения данных животных из дальнейшего эксперимента.

У шести самцов и четырех самок через 48 и 72 часа после моделирования СД уровень гликемии был менее 11,1 ммоль/л, в связи с чем данным животным был проведен ПГТТ. Глюкоза определялась натощак и через 15, 30

и 60 минут после зондового введения 40 % раствора глюкозы в дозе 3 г/кг массы тела животного. Если уровень глюкозы в любой из точек ПГТТ превышал 11,1 ммоль/л, устанавливался диагноз СД. Если уровень глюкозы был ниже указанных значений, животные исключались из эксперимента.

Животные, у которых уровень глюкозы соответствовал СД, еще 4 недели находились под наблюдением на фоне высокожировой диеты без лечения сахароснижающими препаратами. Измерение уровня глюкозы проводилось не реже одного раза в неделю, не натошак. Также еженедельно проводилось взвешивание и измерение остатков корма для определения его потребления.

Самкам крыс стока Wistar дополнительно перед моделированием сахарного диабета воспроизводили менопаузу путем двусторонней овариэктомии, которая проводилась за две недели до индукции СД.

Оперативное вмешательство проводили под анестезией золетиллом (тилетамина гидрохлорид в дозе 30 мг/кг и золазепам гидрохлорид 30 мг/кг) и ксилазина гидрохлоридом в дозе 6 мг/кг массы тела животного. Моделирование СД 2 типа самкам осуществлялось по протоколу, описанному выше.

### 2.1.2. Описание эксперимента

Среди 50 животных (25 самцов и 25 самок крыс стока Wistar), включенных в исследование, в ходе моделирования СД две крысы погибли (1 самка и 1 самец), а у четырех самок сформировалась абсолютная инсулиновая недостаточность и они были исключены из эксперимента.

Таким образом, в исследование было включено 44 крысы стока Wistar: 24 самца и 20 самок.

Через 4 недели после моделирования СД 2 типа были сформированы следующие группы животных:

1. СД – самцы с СД 2 типа без лечения,  $n = 7$ .

2. ЭМПА – самцы с СД 2 типа на терапии эмпаглифлозином (Джардинс, Берингер Ингельхайм Интернешнл ГмбХ, Германия) per os через зонд 2 мг/кг 1 раз в сут., n = 5.

3. КАНА – самцы с СД 2 типа на терапии канаглифлозином (Инвокана, Janssen-Cilag S.p.A, Италия) per os через зонд 25 мг/кг 1 раз в сут., n = 5.

4. Контроль – самцы без СД и лечения, получающие обычный корм, n = 7.

После получения предварительных результатов у самцов крыс стока Wistar были сформированы следующие группы самок крыс стока Wistar:

1. ОЭ + СД – самки после ОЭ с СД 2 типа без лечения, n = 5.

2. ЛИРА – самки после ОЭ с СД 2 типа на терапии лираглутидом (Виктоза, NovoNordisk, Дания) 0,06 мг/кг подкожно 1 раз в сут., n = 5.

3. КАНА – самки после ОЭ с СД 2 типа на терапии канаглифлозином (Инвокана, Janssen-Cilag S.p.A, Италия) per os через зонд 25 мг/кг 1 раз в сут., n = 5.

4. ОЭ – самки после ОЭ без СД, n = 5.

На фоне лечения сахароснижающими препаратами в течение 8 недель продолжено еженедельное взвешивание животных и потребляемого корма, а также регулярное измерение уровня глюкозы крови. Дизайн исследования продемонстрирован на Рисунке 1.

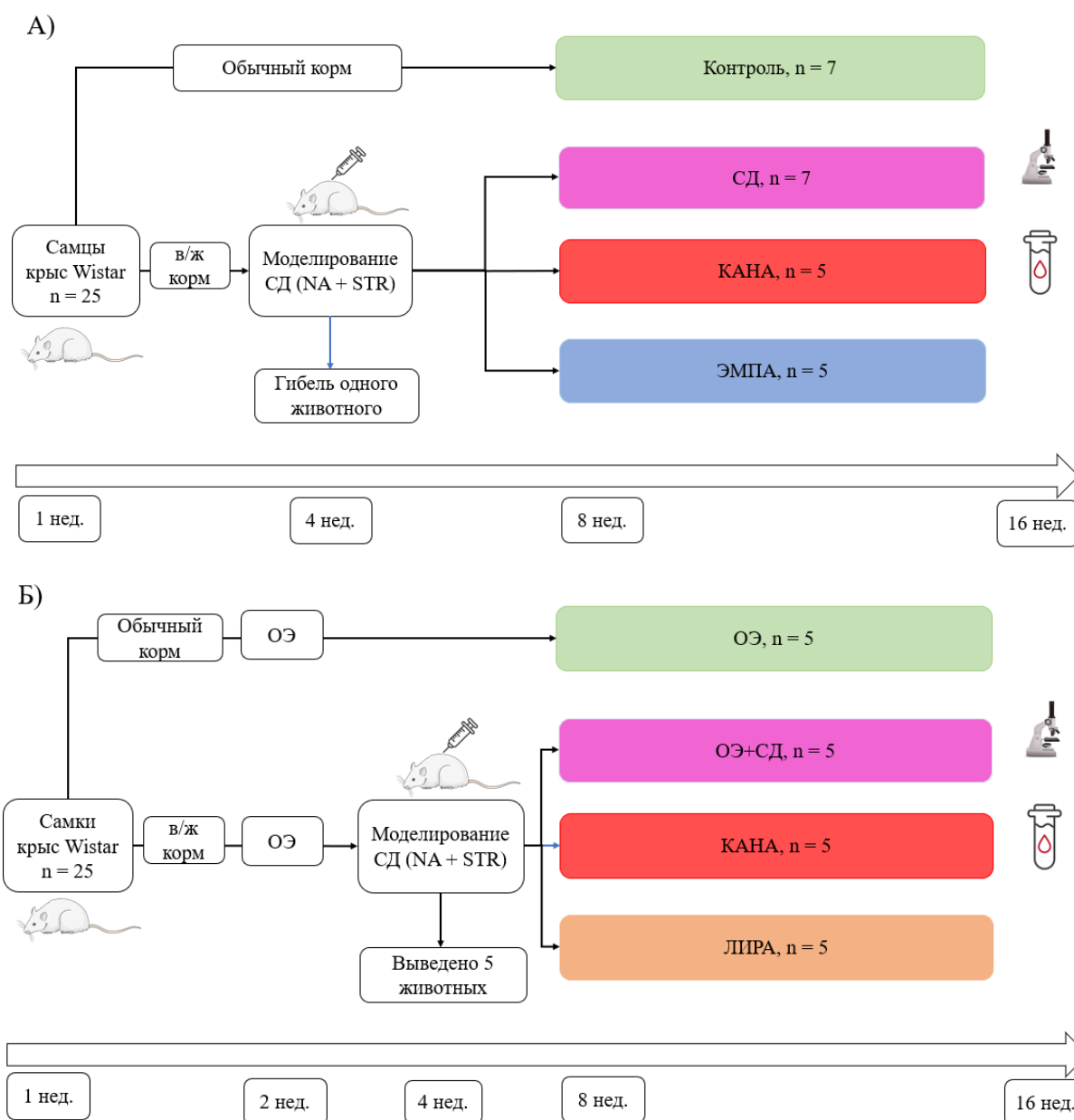


Рисунок 1 – Дизайн экспериментального исследования

Примечание: А) Моделирование сахарного диабета 2 типа у самцов крыс стока Wistar: СД – самцы с сахарным диабетом 2 типа без лечения; КАНА – самцы с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; ЭМПА – самцы с сахарным диабетом 2 типа на терапии эмпаглифлозином;

Б) Моделирование сахарного диабета 2 типа и менопаузы у самок крыс стока Wistar: ОЭ – самки после овариэктомии без сахарного диабета и лечения; ОЭ + СД – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа без лечения; КАНА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; ЛИРА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии лираглутидом. В/ж – высокожировой корм; NA – никотинамид; STR – стрептозотоцин

Через 16 недель от начала эксперимента животные были выведены из исследования. Анестезию выполняли с использованием золетила (тилетамина гидрохлорид в дозе 30 мг/кг и золазепам гидрохлорид в дозе 30 мг/кг) внутримышечно и ксилазина гидрохлорида в дозе 6 мг/кг внутримышечно. После достижения состояния глубокого наркоза выполнялась лапаротомия, выделялась нижняя полая (каудальная) вена, и производился забор венозной крови для анализа показателей кальций-фосфорного обмена и маркеров костного ремоделирования. Венозную кровь центрифугировали 15 минут при оборотах 3000/мин, сыворотку замораживали при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$ . Концентрация общего кальция (нормальное значение 2,15–2,5 ммоль/л) и неорганического фосфора (нормальное значение 0,81–1,45 ммоль/л) определена при помощи набора реагентов для биохимических анализаторов серии AU (набор реагентов Beckman Coulter, США). Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли концентрацию ФРФ-23 (FGF23 C-terminal Biomedica, Австрия, референсный интервал 0–20 пмоль/л), остеокальцина (набор реагентов для количественного определения остеокальцина крысы, Immunodiagnostic Systems, Великобритания, нормальное значение 14–46 нг/мл), склеростина (Sclerostin ELISA, Biomedica, Австрия, нормальное значение 0–320 пмоль/л), остеопротегерина (набор реагентов для количественного определения остеопротегерина, Biomedica, Австрия, нормальное значение 0–20 пмоль/л), RANKL (ProcartaPlex Rat RANKL Simplex, Thermo Fisher Scientific, США, нормальное значение 0–400 пг/мл).

Кроме того, после эвтаназии были забраны образцы бедренных костей, которые фиксировали в растворе 10 % формалина (pH 7,4) в течение 72 часов. Декальцинацию осуществляли в специальном декальцинирующем растворе с добавлением Трилона Б в течение 14 дней. Обезвоживание и пропитывание парафином проводили с использованием автоматического гистопроцессора Exelsior (Thermo Fischer Scientific, США) с применением коммерческого раствора IsoPREP (Biovitrum, Россия). Далее образцы заливали парафином

HISTOMIX (Biovitrum, Россия), после чего на ротационном микротоме HM325 (Thermo Fisher Scientific, США) изготавливали срезы толщиной 3 мкм. Подготовленные срезы окрашивали гематоксилином-эозином в соответствии с протоколом производителя (Biovitrum, Россия) и исследовали при помощи микроскопа Nikon Ni-E (Nikon, Япония) с программным обеспечением NIS-Elements для анализа изображений. Морфологическая характеристика исследуемых образцов включала определение процента костной ткани в диафизе и площадь костных трабекул в эпифизарной части. Анализ проводился в 5 полях зрения при увеличении  $\times 100$ .

### **Этическая экспертиза**

Экспериментальное исследование проведено в соответствии с «Правилами работы с лабораторными животными в ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России» и одобрено Комиссией по контролю содержания и использования лабораторных животных (IACUC, протокол №22-2-ПЗ от 16.02.2022).

## **2.2. Клиническая часть исследования**

### **2.2.1. Характеристика популяции пациентов и дизайн исследования**

Открытое сравнительное проспективное исследование проведено на базе кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии с клиникой имени академика Г. Ф. Ланга ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. академика И. П. Павлова Минздрава России и Института эндокринологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России. Скринировано 500 амбулаторных больных СД 2 типа, из них в исследование включено 209 человек (81 мужчина и 124 женщины) в возрасте 45–75 лет с уровнем

HbA1c, не превышающим целевой на 1,0–2,5 % на фоне монотерапии метформином.

Размер выборки рассчитан при помощи ресурса Sample size calculator. За первичную конечную точку в рамках данного исследования принимался новый случай низкотравматичного перелома, а также снижение МПК более чем 2 %, повышение маркеров костной резорбции на 15 % и более. При мощности 80 % и  $p < 0,05$  величина выборки должна была составлять не менее 117 пациентов. С учетом планируемого досрочного выбывания 20 % больных величина выборки определена как 130 пациентов.

Критерии включения в исследование:

1. Мужчины и женщины в менопаузе от 45 до 75 лет с СД 2 типа.
2. Уровень HbA1c не превышает целевое значение более чем на 1,0–2,5 % на фоне монотерапии метформином.
3. Подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

В исследование не включались больные с СД 1 типа; а также пациенты с диабетической стопой, ХБП выше 3б стадии и выше; а также те больные, которые перенесли острый инфаркт миокарда (ОИМ) или острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) в течение трех месяцев до включения в исследование; хроническая сердечная недостаточность III–IV функционального класса по NYHA; тяжелая патология печени (уровень АЛТ, АСТ в крови в 3 и более раз выше верхней границы нормы; уровень билирубина в 2 и более раз выше верхней границы нормы); явления печеночно-клеточной недостаточности; ХБП стадии С3а и выше любой этиологии; заболевания, сопровождающиеся синдромом мальабсорбции (парез желудка, острый панкреатит в анамнезе, воспалительные заболевания кишечника, бариатрические операции в анамнезе и другие); прием препаратов витамина D в дозах, превышающих профилактические (более 1000 МЕ/сут.); менопаузальная гормональная терапия; наличие в анамнезе остеопороза и его терапии (прием бисфосфонатов, терипаратида, деносумаба);

некомпенсированные заболевания щитовидной железы; первичный гиперпаратиреоз; уровень гемоглобина менее 110 г/л; тяжелая дыхательная недостаточность; прием глюкокортикостероидов; аутоиммунные заболевания (кроме аутоиммунного тиреоидита), требующие специфической терапии; злокачественные новообразования не в ремиссии; перенесенные в течение трех месяцев до включения в исследование тяжелые инфекции, травмы, операции, обострения хронических заболеваний; беременность и период грудного вскармливания; наркотическая/алкогольная зависимость.

При нецелевом уровне HbA1c сахароснижающая терапия была усилена препаратами из группы иНГЛТ-2 (эмпаглифлозин 10 мг/сут., канаглифлозин 100 мг/сут. или дапаглифлозин 10 мг/сут.) или арГПП-1 (лираглутид 0,6 мг/сут. подкожно, семаглутид 0,25 мг/нед. подкожно или дулаглутид 1,5 мг/нед. подкожно). Увеличение дозы эмпаглифлозина и канаглифлозина производилось при недостижении целевых значений гликемии, также в соответствии с инструкцией к препаратам, а титрация дозы лираглутида и семаглутида производилась в соответствии с инструкцией к препаратам. Коррекция сахароснижающей терапии проводилась каждые 3 месяца на основании уровня HbA1c и показателей самоконтроля глюкозы. Дополнительно всем пациентам рекомендована терапия колекальциферолом в профилактической дозе 800 МЕ/сут.

Дизайн клинической части исследования представлен на Рисунке 2.



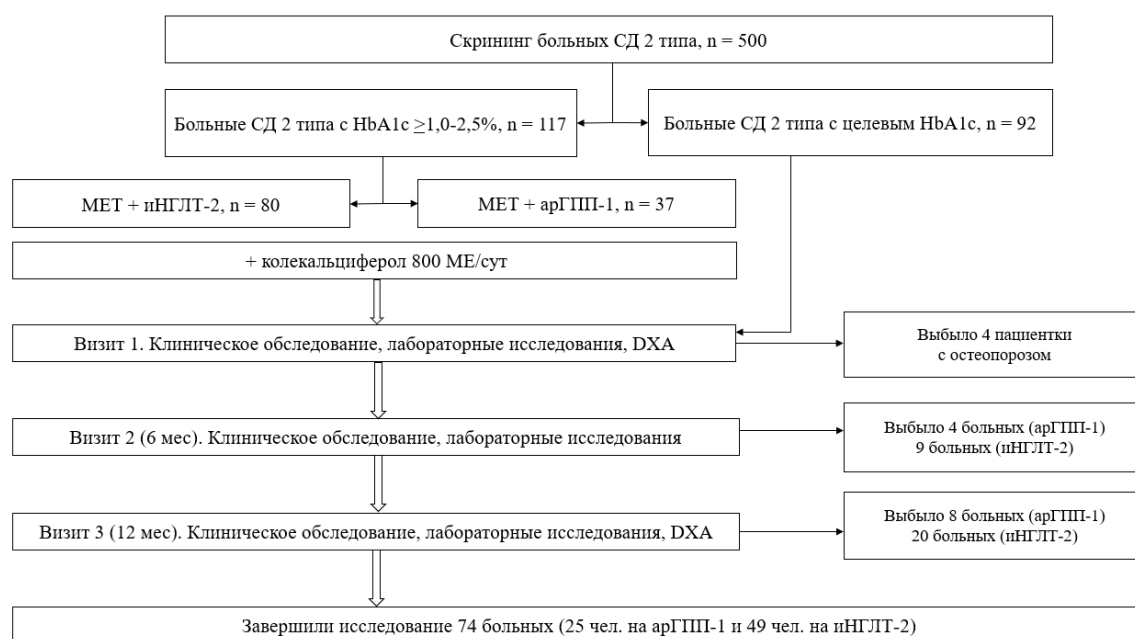


Рисунок 2 – Дизайн клинического исследования

Примечание: HbA1c – гликированный гемоглобин; MET – метформин; арГПП-1 – агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида 1 типа; иНГЛТ-2 – ингибиторы натрий-глюкозного ко-транспортера 2 типа; DXA – двухэнергетическая абсорбционная рентгеновская денситометрия

Таким образом, в ходе исследования были сформированы следующие группы больных СД 2 типа:

1. MET – монотерапия метформином у больных СД 2 типа с целевым уровнем HbA1c.
2. MET + иНГЛТ-2 – комбинированная терапия метформином и иНГЛТ-2 эмпаглифлозином/дапаглифлозином/канаглифлозином у больных СД 2 типа с нецелевым уровнем HbA1c.
3. MET + арГПП-1 – комбинированная терапия метформином и арГПП-1 (лираглутид, семаглутид или дулаглутид) у больных СД 2 типа с нецелевым уровнем HbA1c.

Исходно через 6 и 12 месяцев проспективного наблюдения проводилась оценка антропометрических данных, уровня HbA1c, маркеров костного ремоделирования. Дополнительно контроль HbA1c для коррекции терапии проводился каждые 3 месяца в соответствии с «Алгоритмами специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» [2].

Рентгеновская денситометрия (DXA) с оценкой МПК в поясничном отделе позвоночника и проксимальном отделе бедра, а также определением ТКИ проведена исходно и через 12 месяцев.

При сохранении уровня HbA1c, превышающего индивидуальный целевой на 2,5 % и более через 3, 6 или 9 месяцев, больной досрочно выбывал из исследования в связи с необходимостью дополнительного усиления сахароснижающей терапии.

### **2.2.2. Клинические методы исследования**

В начале исследования были собраны данные о стаже СД, наличии осложнений СД, переломах в анамнезе, курении, употреблении алкоголя, приеме препаратов витамина D, сопутствующих заболеваниях и их терапии, а также информация об отягощенной наследственности.

Для оценки антропометрических данных применялись стандартизированные методики, включающие измерение роста в сантиметрах и массы тела в килограммах с использованием калиброванных измерительных инструментов. На основе полученных данных рассчитывался ИМТ по формуле Quetelet ( $\text{кг}/\text{м}^2$ ). Для определения наличия ожирения и избыточной массы тела использовались критерии, в соответствии с которыми ИМТ 18,5–24,9  $\text{кг}/\text{м}^2$  являлся нормальным, 25–29,9  $\text{кг}/\text{м}^2$  соответствовал избыточной массе тела, 30–34,9  $\text{кг}/\text{м}^2$  – ожирению I степени, 35–39,9  $\text{кг}/\text{м}^2$  – ожирению II степени, более 40  $\text{кг}/\text{м}^2$  – ожирению III степени [15].

### **2.2.3. Лабораторные методы исследования**

Лабораторные исследования выполнены в клинико-диагностических лабораториях ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. академика И. П. Павлова Минздрава России и ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России (заведующая центральной клинико-диагностической лабораторией, канд. мед. наук

Е. Ю. Васильева). У каждого участника исследования были взяты образцы крови натощак после 8–14 часов голодания. Для получения образцов крови использовались пластиковые вакуумные наборы Vacutest для взятия крови из периферических вен.

Оценка уровня HbA1c проводилась непосредственно после взятия образцов крови. Для определения биомаркеров костного ремоделирования образцы плазмы и сыворотки были центрифугированы при 3000 оборотах в минуту в течение 15 минут и заморожены при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  до дальнейшего анализа в лаборатории. Для определения уровня HbA1c использовался автоматический анализатор BIORAD D-10 (Chemistry analyzer) с применением метода ионообменной хроматографии. Целевой HbA1c рассчитывался индивидуально и в соответствии с «Алгоритмами специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» [2].

Концентрация общего кальция (референтный интервал 2,15–2,50 ммоль/л) и неорганического фосфора (референтный интервал 0,81–1,45 ммоль/л) крови определена при помощи набора реагентов для биохимических анализаторов серии AU (Beckman Coulter, США). Концентрацию ФРФ-23 определяли с использованием ИФА (FGF23 C-terminal Biomedica, референсный интервал 0–20 пмоль/л).

С применением иммунохемилюминесцентного анализа (анализатор Architect i2000, Abbott, США) проводилось определение уровня 25(OH)D в сыворотке крови. Оценка обеспеченности витамином D в сыворотке крови проводилась в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D (нормальный уровень 25(OH)D в сыворотке крови равен 30,0 нг/мл и более) [13]. Концентрацию 1,25(OH)<sub>2</sub>D и ПТГ определяли с использованием ИФА (ELISA Kit for 1,25-Dihydroxyvitamin D, Cloud Clone, США, референсный интервал 24,69–3000 пг/мл, и DIA source hPTH Elisa Kit, Бельгия, референсный интервал 16–65 пг/мл).

Концентрацию RANKL и остеопротегерина определяли с использованием метода ИФА (free soluble RANKL ELISA, референсный интервал 0–2,0 пмоль/л, osteoprotegerin ELISA, референсный интервал 0–20 пмоль/л). Оценку остеокальцина проводили методом иммунохемилюминисцентного анализа (CalSet N-MID Osteocalcin for Roche Cobas 6000). Согласно инструкции к набору, нормальные значения для женщин в постменопаузе составляли 15–46 нг/мл, для мужчин от 30 до 50 лет – 14–42 нг/мл, старше 50 лет – 14–46 нг/мл. Для пациентов с остеопорозом нормальное значение остеокальцина составляло 13–48 нг/мл.

#### **2.2.4. Инструментальные методы исследования**

Оценка МПК в поясничном отделе позвоночника и проксимальном отделе бедра методом рентгеновской денситометрии и оценка ТКИ в поясничном отделе позвоночника проводилась на аппарате Lunar Prodigy (США).

Наличие остеопороза подтверждали на основании показателя МПК  $\leq -2,5$  SD по Т-критерию.

Деградированная микроархитектоника костной ткани определялась как снижение ТКИ  $\leq 1,23$ ; частично деградированная микроархитектоника – как ТКИ  $> 1,23$ , но  $< 1,31$ ; нормальная микроархитектоника – как ТКИ  $\geq 1,31$  [21].

### **2.3. Статистический анализ**

Статистический анализ данных был проведен при использовании программного комплекта IBM SPSS Statistics for Windows версии 26 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA) и при помощи программного обеспечения RStudio. Нормальность распределения выборки определялась при помощи критерия Шапиро-Уилка. Данные были распределены ненормально, поэтому количественные переменные описаны с использованием медианы и квартилей.

Критерий Манна Уитни применялся для сравнения двух групп, Краскела-Уоллисса с поправкой на множественные сравнения – для сравнения трех и более групп. Корреляционный анализ выполнен с применением коэффициента корреляции Спирмена;  $\chi^2$ -квадрат Пирсона использован для анализа количественных данных. Для оценки динамики проведен дисперсионный анализ ANOVA с повторными измерениями. Дополнительно с помощью программного обеспечения RStudio рассчитаны групповые и индивидуальные поправки к среднему времени, которые позволили сбалансировать ошибки недиагональных ковариационных матриц и выяснить роль отдельных факторов в случае неполных данных (при выбывании пациентов из исследования) [26]. При построении модели учитывался пол, возраст, ИМТ, HbA1c, длительность СД (так как данные показатели могли повлиять на плотность и качество костной ткани). Статистическая обработка данных производилась по принципу intention to treat, что позволило учитывать данные пациентов вплоть до выхода из исследования и максимально приблизить результаты исследования к клинической практике. Клинически значимыми считались показатели при  $p < 0,05$ .

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### **3.1. Параметры кальций-фосфорного обмена и маркеры костного ремоделирования в условиях экспериментальной модели сахарного диабета 2 типа и сочетания сахарного диабета 2 типа с менопаузой**

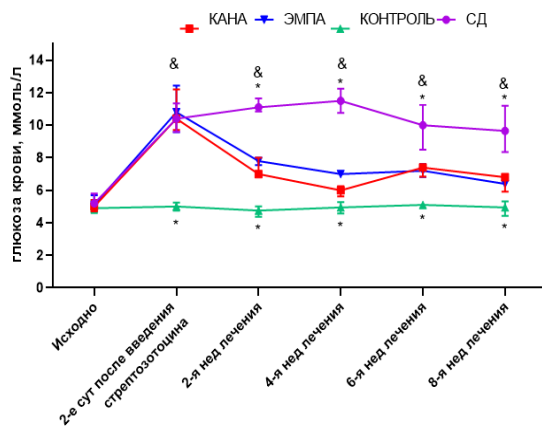
В рамках экспериментального исследования были оценены параметры кальций-фосфорного обмена, костного ремоделирования и гистоморфометрические характеристики проксимального отдела бедренной кости на фоне терапии иНГЛТ-2 различной степени селективности и арГПП-1 у самцов крыс стока Wistar с СД 2 типа и самок крыс стока Wistar с СД 2 типа и овариэктомией.

Животные группы Контроль содержались на обычном корме и не отличались по уровню гликемии от крыс, которые получали высокожировой корм. Так, медиана уровня глюкозы венозной крови на протяжении всего эксперимента у крыс контрольных групп (самцы Контроль + самки ОЭ) составила 4,95 [4,5; 5,07] ммоль/л по сравнению с данным показателем у крыс, которые получали высокожировой корм (5,0 [4,94; 5,3] ммоль/л,  $p = 0,32$ ). Таким образом, высокожировая диета не была ассоциирована с нарушениями углеводного обмена.

Показатели уровня гликемии у животных без лечения и на фоне терапии изучаемыми классами сахароснижающих препаратов представлены на Рисунке 3.

Как показано на Рисунке 3, на фоне лечения сахароснижающими препаратами отмечалось значимое и стойкое снижение уровня глюкозы по сравнению с данными показателями у крыс без лечения. Введение как иНГЛТ-2 различной селективности, так и лираглутида не приводило к гипогликемическим состояниям.

А)



Б)

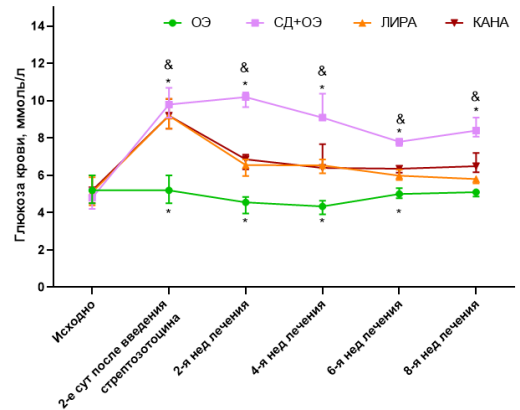
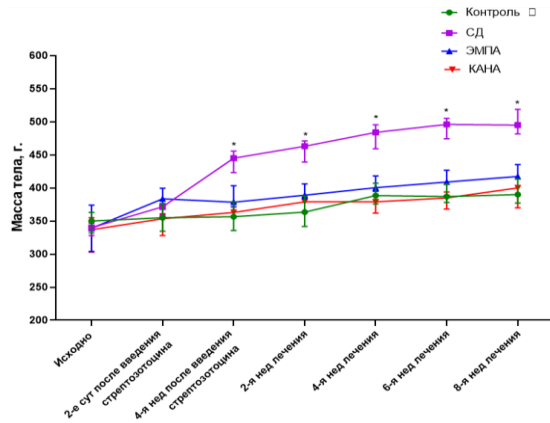


Рисунок 3 – Уровень гликемии в эксперименте

Примечание: А) Уровень гликемии при моделировании сахарного диабета 2 типа у самцов крыс стока Wistar: КАНА – самцы с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; ЭМПА – самцы с сахарным диабетом 2 типа на терапии эмпаглифлозином; СД – самцы с сахарным диабетом 2 типа без лечения; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группами ЭМПА, КАНА, Контроль; & –  $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль. Б) Уровень гликемии при моделировании сахарного диабета 2 типа и менопаузы у самок крыс стока Wistar: ОЭ – самки после овариэктомии; ОЭ + СД – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа без лечения; ЛИРА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии лираглутидом; КАНА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группами ЛИРА, КАНА; & –  $p < 0,05$  по сравнению с группой ОЭ

При анализе показателей массы тела установлены гендерные различия. Так, масса тела самок была ниже, чем масса тела самцов: 282 [270; 292] г vs 345 [323; 351] г в начале эксперимента и 309,2 [304,6; 323,5] г vs 408,7 [390,0; 436,8] г в конце исследования соответственно. У всех крыс в ходе эксперимента отмечалась закономерная прибавка массы тела, которая была более выражена у крыс с СД на фоне высокожирового корма без лечения (Рисунок 4).

А)



Б)

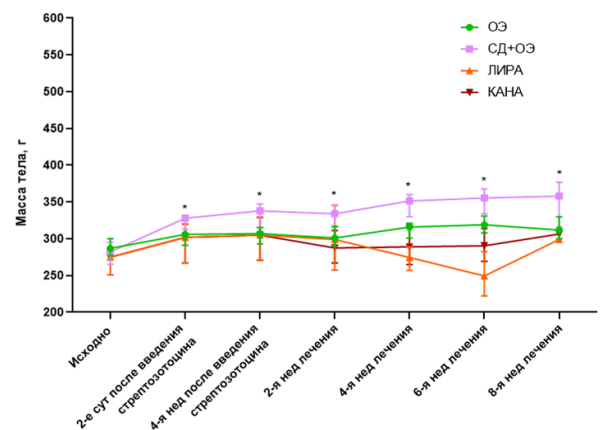


Рисунок 4 – Масса тела в эксперименте

Примечание: А) Масса тела при моделировании сахарного диабета 2 типа у самцов крыс стока Wistar: СД – самцы с сахарным диабетом 2 типа без лечения; ЭМПА – самцы с сахарным диабетом 2 типа на терапии эмпаглифлозином; КАНА – самцы с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группами ЭМПА, КАНА, Контроль; Б) Масса тела при моделировании сахарного диабета 2 типа и менопаузы у самок крыс стока Wistar: ОЭ – самки после овариэктомии; ОЭ + СД – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа без лечения; ЛИРА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии лираглутидом; КАНА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группами ОЭ, ЛИРА, КАНА

Как продемонстрировано на Рисунке 4, наибольшая прибавка массы тела была характерна для самцов с СД 2 типа без лечения, которая составила 150 г (43,5 % от исходной массы тела). Увеличение массы тела животных с СД 2 типа на фоне терапии иНГЛТ-2 было значительно меньше: 55 г (15,9 %) в группе КАНА и 67 г (19,4 %) в группе ЭМПА соответственно, и не отличалось от данного показателя в группе Контроль: 50 г (14,7 %). У самок отмечена аналогичная динамика. Так, у животных в группе ОЭ + СД прирост массы тела составил 76 г (26,9 % от исходной массы тела) и был больше, чем в группах КАНА – 31 г (11,6 %), ЛИРА – 24 г (8,7 %) и в группе ОЭ – 25 г (8,7 %). Таким образом, терапия изучаемыми сахароснижающими препаратами приводила к



нормализации уровня гликемии без гипогликемических состояний и была ассоциирована с наименьшей прибавкой массы тела за время наблюдения.

### 3.1.1. Параметры кальций-фосфорного обмена и маркеры костного ремоделирования у самцов крыс стока Wistar

У самцов крыс стока Wistar с СД уровень кальция, фосфора, ФРФ-23, остеокальцина, склеростина, OPG и RANKL оценивались в сыворотке венозной крови однократно при выведении животного из исследования. Показатели маркеров костного обмена представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Маркеры кальций-фосфорного обмена и костного ремоделирования у самцов крыс стока Wistar

Параметры	Контроль n = 7	СД n = 7	КАНА n = 5	ЭМПА n = 5	p
Фосфор, ммоль/л	3,98 [3,42;4,07]	3,10 [2,35; 3,95]	3,61 [3,24; 4,09]	4,71 <sup>#</sup> [4,33; 4,8]	p <sub>1</sub> = 0,038 p <sub>2</sub> = 0,01 p <sub>3</sub> = 0,002
Кальций, ммоль/л	2,65 [2,53;2,70]	2,73 [2,63; 2,74]	2,76 [2,55; 3,11]	2,82 [2,69; 2,83]	p <sub>1</sub> = 0,171 p <sub>2</sub> = 0,662
Кальций × фосфор	10,5 [8,7; 11,0]	8,5 [6,2; 10,8]	10,0 [8,3; 12,7]	13,3 [11,6; 13,6]	p <sub>1</sub> = 0,005 p <sub>2</sub> = 0,22
ФРФ-23, пмоль/л	1,1 [0,8; 2,3]	0,2 [0,1; 0,3]	0,3 [0,2; 0,6]	0,6 <sup>#</sup> [0,4; 1,1]	p <sub>1</sub> = 0,001 p <sub>2</sub> = 0,142 p <sub>3</sub> = 0,002
Остеокальцин, нг/мл	49,1 [47,9;54,6]	10,7 [8,9; 11,0]	9,1 [6,2; 16,9]	16,0 [15,7; 17,0]	p <sub>1</sub> = 0,01 p <sub>2</sub> = 0,142
Склеростин, пмоль/л	24,3 [5,9; 48,3]	2,7 [2,3; 7,1]	4,6 [2,9; 7,5]	11,9 [9,7; 11,9]	p <sub>1</sub> = 0,01 p <sub>2</sub> = 0,001
OPG, пмоль/л	12,5 [11,1;13,7]	14,6 [6,1; 15,7]	1,8 <sup>#</sup> [1,2; 1,9]	1,3 <sup>#</sup> [1,04; 1,9]	p <sub>1</sub> = 0,476 p <sub>2</sub> = 0,345 p <sub>3</sub> < 0,01
RANKL, пг/мл	247,8 [205,4; 289,7]	296,6 [249,9; 325,3]	342,9 [280,0; 355,3]	254,1 [231,6; 284,0]	p <sub>1</sub> = 0,114 p <sub>2</sub> = 0,008 p <sub>3</sub> = 0,043
RANKL/OPG	19,8 [18,5; 21,4]	20,8 [20,3; 40,8]	186,9 <sup>#</sup> [185,3; 235,3]	201,7 <sup>#</sup> [151,0; 222,0]	p <sub>1</sub> = 0,114 p <sub>2</sub> = 0,22 p <sub>3</sub> < 0,01
Примечание: ФРФ-23 – фактор роста фибробластов-23; OPG – остеопротегерин; RANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа бета; RANKL/OPG – соотношение RANKL к OPG; p <sub>1</sub> – p для значений групп Контроль и СД; p <sub>2</sub> – p для значений групп КАНА и ЭМПА, p <sub>3</sub> – p для групп КАНА или ЭМПА по сравнению с группой СД; # – p < 0,05 для показателей в группе лечения по сравнению с группой СД					

При оценке показателей кальций-фосфорного обмена выявлено, что для самцов крыс стока Wistar с СД 2 типа характерно более низкое значение уровня фосфора, кальций-фосфорного произведения и ФРФ-23 по сравнению с данными показателями группы Контроль.

При лечении животных иНГЛТ-2 установлено, что терапия эмпаглифлозином ассоциирована с более высоким уровнем фосфора по сравнению с терапией канаглифлозином при отсутствии отличий в других показателях (Таблица 1, Рисунок 5).

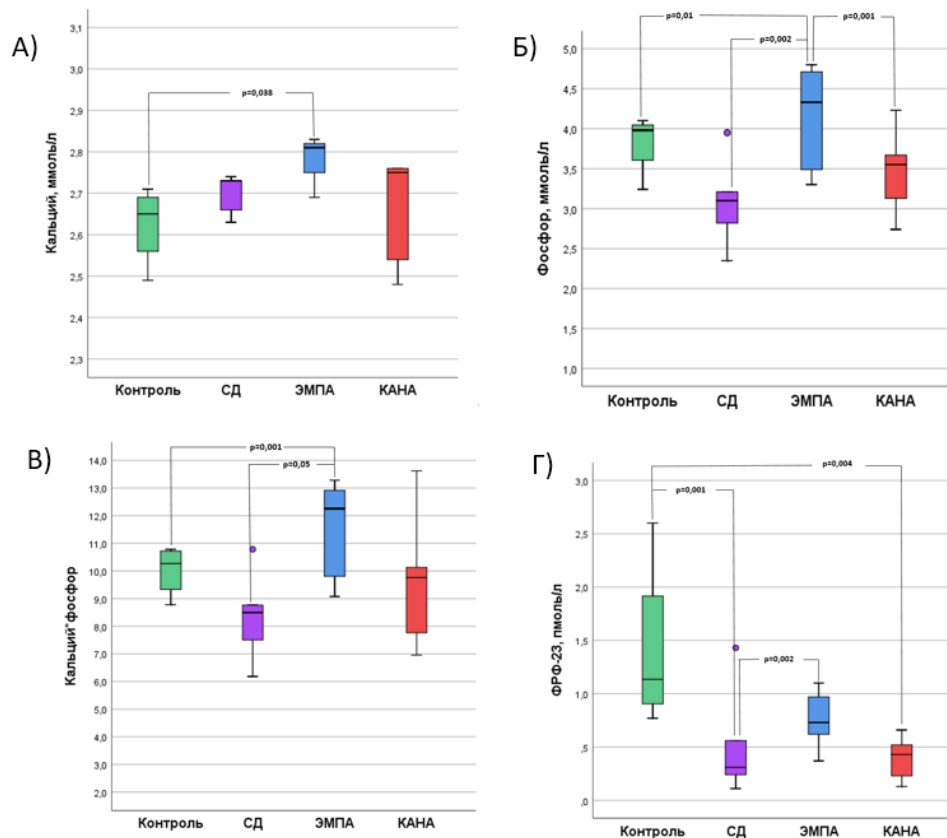


Рисунок 5 – Концентрация кальция (А), фосфора (Б), кальций-фосфорное произведение (В) и фактор роста фибробластов-23 (Г) у самцов крыс стока Wistar

Примечание: СД – самцы с сахарным диабетом 2 типа без лечения; ЭМПА – самцы крыс с сахарным диабетом 2 типа на терапии эмпаглифлозином; КАНА – самцы крыс с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; ФРФ-23 – фактор роста фибробластов-23

Дополнительно выявлено, что для самцов с СД 2 типа характерен более низкий уровень остеокальцина и склеростина по сравнению с данными показателями в группе Контроль, а терапия эмпаглифлозином ассоциирована с более высоким уровнем склеростина по сравнению с канаглифлозином (Таблица 1, Рисунок 6).

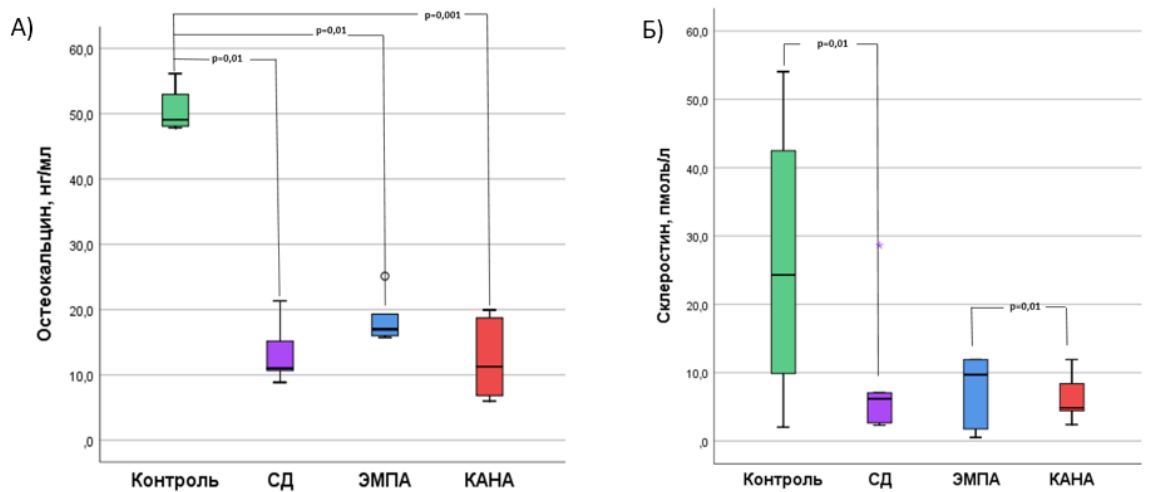


Рисунок 6 – Концентрация остеокальцина (А) и склеростина (Б) у самцов крыс стока Wistar

Примечание: СД – самцы с сахарным диабетом 2 типа без лечения; ЭМПА – самцы крыс с сахарным диабетом 2 типа на терапии эмпаглифлозином; КАНА – самцы крыс с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином

У животных с СД не выявлено значимых отличий в уровне RANKL, OPG и значении соотношения RANKL/OPG по сравнению с группой Контроль. В то же время для животных на фоне терапии канаглифлозином было характерно более высокое значение уровня RANKL и отсутствие различий в показателях OPG и соотношения RANKL/OPG, чем у животных на терапии эмпаглифлозином (Таблица 1, Рисунок 7).

Таким образом, результаты проведенного анализа показали, что параметры кальций-фосфорного обмена и костного ремоделирования у самцов крыс стока Wistar с СД 2 типа характеризуются более низким уровнем фосфора, ФРФ-23, остеокальцина и склеростина по сравнению с контрольными животными без СД.

В то же время для терапии как эмпаглифлозином, так и канаглифлозином характерны сопоставимые значения OPG и соотношения RANKL/OPG, что свидетельствует в пользу активации резорбции на фоне терапии ИГЛТ-2, независимо от селективности препарата.

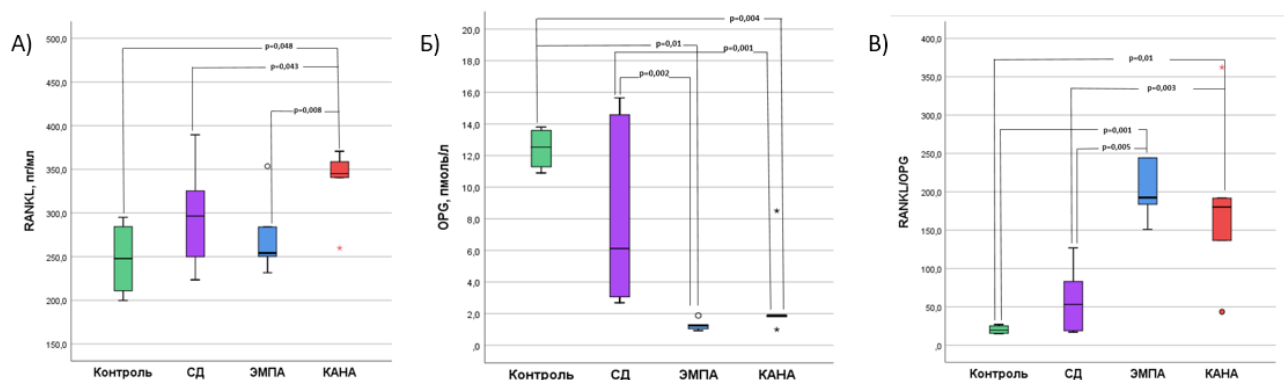


Рисунок 7 – Концентрация OPG (А), RANKL (Б), соотношение RANKL/OPG (В) у самцов крыс стока Wistar

Примечание: СД – самцы с сахарным диабетом 2 типа без лечения; ЭМПА – самцы крыс с сахарным диабетом 2 типа на терапии эмпаглифлозином; КАНА – самцы крыс с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; OPG – остеопротегерин; RANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа бета; RANKL/OPG – соотношение RANKL к OPG

### 3.1.2. Параметры кальций-фосфорного обмена и маркеры костного ремоделирования у самок крыс стока Wistar

В модели СД 2 типа в сочетании с менопаузой у самок крыс стока Wistar уровень кальция, фосфора, ФРФ-23, остеокальцина, склеростина, OPG и RANKL оценивались в сыворотке венозной крови однократно при выведении животного из исследования. Показатели маркеров костного обмена представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Маркеры кальций-фосфорного обмена и костного ремоделирования у самок крыс стока Wistar

Параметры	ОЭ n = 5	ОЭ + СД n = 5	СД + ЛИРА n = 5	СД + КАНА n = 5	p
Фосфор, ммоль/л	1,63 [1,57; 1,78]	2,79 [2,14; 2,81]	3,43 [2,63; 3,56]	2,81 [2,36; 3,07]	p <sub>1</sub> = 0,003 p <sub>2</sub> = 0,5
Кальций, ммоль/л	2,57 [2,48; 23,72]	2,73 [2,69; 2,89]	2,64 [2,6; 2,73]	2,82 [2,69; 2,97]	p <sub>1</sub> = 0,06 p <sub>2</sub> = 0,009
Кальций × фосфор	4,2 [3,9; 4,8]	7,6 [5,8; 8,1]	9,1 [6,8; 9,7]	7,9 [6,3; 9,1]	p <sub>1</sub> = 0,001 p <sub>2</sub> = 0,2
ФРФ-23, пмоль/л	0,5 [0,4; 0,7]	0,6 [0,5; 0,6]	1,2 [0,4; 1,8]	0,6 [0,5; 0,6]	p <sub>1</sub> = 0,9 p <sub>2</sub> = 0,3
Склеростин, пмоль/л	1,2 [0,9; 13,4]	20,7 [3,9; 29,2]	14,1 [9,5; 22,5]	9,7 [7,9; 17,3]	p <sub>1</sub> = 0,02 p <sub>2</sub> = 0,5
Остеокальцин нг/мл	14,2 [12,5; 15,7]	12,9 [9,3; 14,8]	12,0 [10,1; 14,2]	10,2 [9,5; 14,0]	p <sub>1</sub> = 0,1 p <sub>2</sub> = 0,3
RANKL, пг/мл	400,6 [391,9; 419,5]	278,1 [269,1; 301,3]	307,8 [268,7; 344,8]	289,9 [280,3; 317,4]	p <sub>1</sub> < 0,0001 p <sub>2</sub> = 0,7
OPG, пмоль/л	5,0 [1,4; 6,1]	9,1 [6,5; 10,9]	1,7 <sup>#</sup> [1,2; 1,9]	1,9 <sup>#</sup> [1,7; 3,8]	p <sub>1</sub> = 0,003 p <sub>2</sub> = 0,023 p <sub>1</sub> < 0,01
RANKL/OPG	80,0 [68,8; 279,0]	30,6 [27,4; 41,2]	184,4 [181,0; 233,7]	154,0 [83,5; 162,0]	p <sub>1</sub> = 0,001 p <sub>2</sub> = 0,3
Примечание: ФРФ-23 – фактор роста фибробластов-23; RANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа бета; OPG – остеопротегерин; RANKL/OPG – соотношение RANKL к OPG; p <sub>1</sub> – p для значений групп ОЭ и ОЭ + СД; p <sub>2</sub> – p для значений групп ЛИРА и КАНА; p <sub>3</sub> – p для групп ЛИРА или КАНА по сравнению с группой СД; # – p < 0,05 для показателей в группе лечения по сравнению с группой СД					

Установлено, что кальций-фосфорный обмен при сочетании СД 2 типа и менопаузы характеризуется более высоким уровнем фосфора и кальций-фосфорного производства по сравнению с животными без СД. При сравнении показателей в группах лечения показано, что при лечении канаглифлозином уровень кальция был выше, чем при терапии лираглутидом (Таблица 2, Рисунок 8).

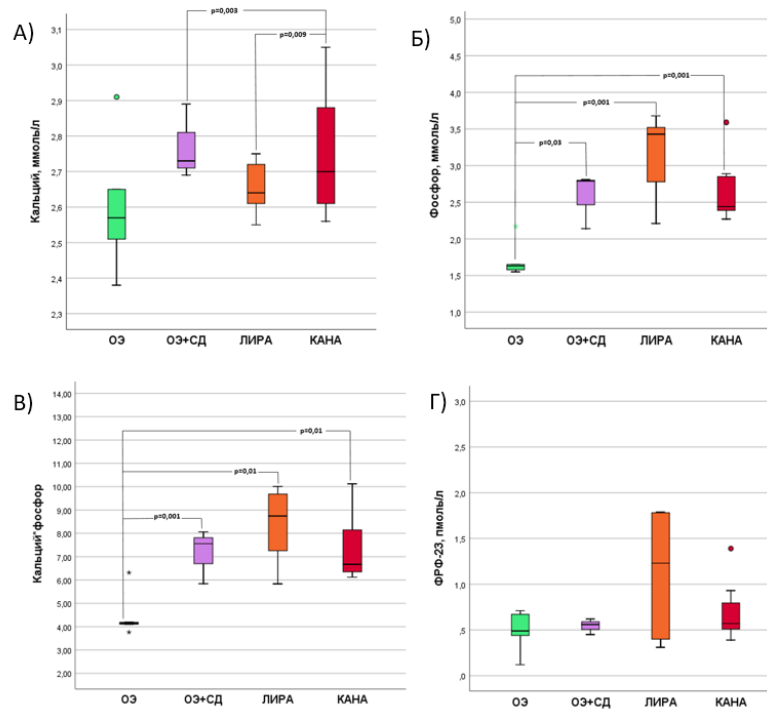


Рисунок 8 – Концентрация кальция (А), фосфора (Б), кальций-фосфорное произведение (В) и фактор роста фибробластов-23 (Г) у самок крыс стока Wistar

Примечание: ОЭ – самки после овариэктомии; ОЭ + СД – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа без лечения; ЛИРА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии лираглутидом; КАНА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином

Кроме того, уровень склеростина у самок крыс стока Wistar при сочетании СД 2 типа и менопаузы был значимо выше, чем у самок без СД. Однако уровень остеокальцина был сопоставим в данных группах. При лечении как канаглифлозином, так и лираглутидом отличий в уровнях остеокальцина и склеростина выявлено не было (Таблица 2, Рисунок 9).

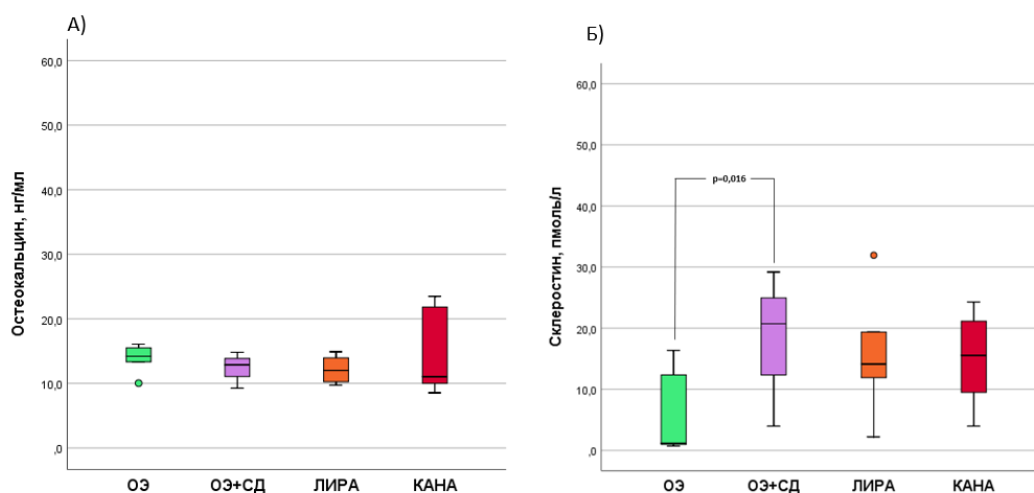


Рисунок 9 – Концентрация остеокальцина (А) и склеростина (Б) у самок крыс стока Wistar

Примечание: ОЭ – самки после овариэктомии; ОЭ + СД – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа без лечения; ЛИРА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии лираглутидом; КАНА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином

Наибольший уровень RANKL и наименьший уровень OPG был характерен для самок с ОЭ без СД. Дополнительно было установлено, что при лечении лираглутидом уровень OPG был выше, чем при лечении канаглифлозином. Однако значимых различий в уровне RANKL и значении соотношения RANKL/OPG в группах лечения выявлено не было (Таблица 2, Рисунок 10).

Таким образом, при сочетании СД 2 типа и менопаузы отмечается более высокий уровень склеростина и более низкий уровень RANKL по сравнению с животными с ОЭ без СД, что говорит об активации костной резорбции при наличии менопаузы и о нивелировании данного эффекта при наличии СД 2 типа. С другой стороны, при сравнении эффекта изучаемых препаратов на костное ремоделирование значимых отличий между канаглифлозином и лираглутидом выявлено не было.

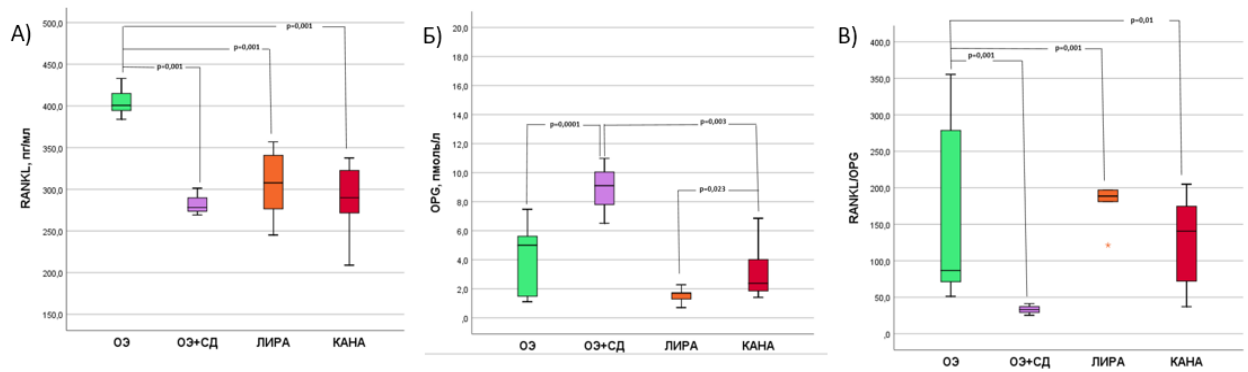


Рисунок 10 – Концентрация RANKL (А), OPG (Б) и соотношение RANKL/OPG (В) у самок крыс стока Wistar

Примечание: ОЭ – самки после овариэктомии; ОЭ + СД – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа без лечения; ЛИРА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии лираглутидом; КАНА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; RANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа бета; OPG – остеопротегерин; RANKL/OPG – соотношение RANKL к OPG

### 3.1.3. Параметры гистоморфометрии костной ткани у крыс стока Wistar на фоне терапии ингибиторами НГЛТ-2 и агонистами рецепторов ГПП-1

Гистологическое исследование бедренных костей проводилось у всех животных после эвтаназии. Результаты гистологического исследования бедренных костей самцов представлены в Таблице 3 и на Рисунке 11.

Как продемонстрировано на Рисунке 11, у самцов из контрольной группы (Рисунок 11А) компактная костная ткань диафиза выглядела стандартно, с равномерно распределенными остеоцитами, овальными каналами остеонов и крупнопетливой сетью костных трабекул. Края трабекул были ровными, с четко выраженными линиями цементации. У животных с СД 2 типа (Рисунок 11Б) наблюдалось уменьшение количества остеоцитов, а также расширение каналов остеонов в диафизарной части. В эпифизарной зоне у животных с СД 2 типа также было меньше костных трабекул, их связь между собой была нарушена, что может указывать на



начальные изменения костной ткани при СД 2 типа. У крыс на терапии иНГЛТ-2 наблюдалось еще большее снижение площади костных трабекул в эпифизарной части, особенно у самцов на терапии КАНА (Рисунок 11Г). У животных, получавших оба препарата, также отмечалась более выраженная неровность поверхности костных трабекул и неровные края, что свидетельствует об усилении процессов костной резорбции. Количество и площадь костных балок в диафизарной и эпифизарной части бедренной кости самцов стока Wistar представлены в Таблице 3.

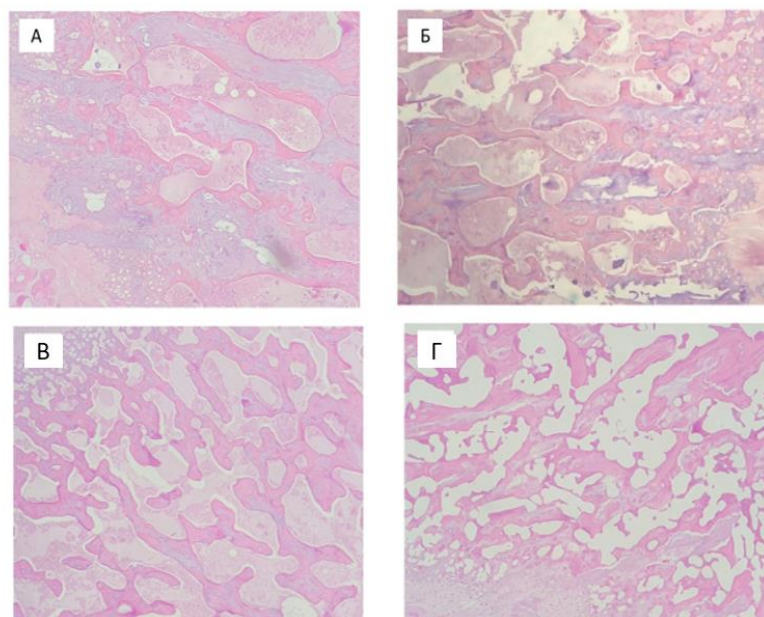


Рисунок 11 – Эпифизарная область кости с костными балками у самцов крыс стока Wistar

Примечание: А) Контроль; Б) СД – самцы с сахарным диабетом 2 типа без лечения; В) ЭМПА – самцы с сахарным диабетом 2 типа на терапии эмпаглифлозином; Г) КАНА – самцы с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; Окраска гематоксилином-эозином, увеличение  $\times 100$

Таблица 3 – Количество и площадь костных балок в диафизарной и эпифизарной части бедренной кости самцов стока Wistar

Параметры	Контроль n = 7	СД n = 7	ЭМПА n = 5	КАНА n = 5
Костная ткань в диафизе, % толщины диафиза	42,40 [41,35; 43,75]	41,20 [38,70; 44,95]	42,30 [40,85; 43,90]	39,50 [37,85; 42,90]
Площадь костных трабекул в эпифизарной части, %	62,30 [61,30; 64,20]	60,30 [59,85; 61,15]*	56,70 [53,80; 58,05]*§	52,30 [50,50; 54,85]*§
Примечание: КАНА –самцы крыс Wistar с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; ЭМПА – самцы крыс Wistar с сахарным диабетом 2 типа на терапии эмпаглифлозином; СД – самцы крыс Wistar с сахарным диабетом 2 типа без лечения; Контроль – самцы крыс Wistar. Данные представлены в виде медианы, 2 и 3 квартилей;* – $p < 0,05$ , по сравнению с группой Контроль; § – $p < 0,05$ , по сравнению с группой СД				

Результаты гистоморфометрического исследования у самок с СД 2 типа в условиях менопаузы позволили выявить некоторые закономерности (Рисунок 12).

Из представленных на Рисунке 12 данных видно, что у самок в группе ОЭ (Рисунок 12А) в эпифизарной зоне бедренной кости наблюдалось сохранение трабекулярной структуры с формированием крупнопетливой сети костных балок, заполняющих всю эпифизарную зону. Метаэпифизарная пластинка была выражена, с представленными зрелыми и растущими костными балками, в основном с ровными краями. В группе ОЭ + СД (Рисунок 12Б) в эпифизарной зоне бедренной кости сохранялась трабекулярная структура, однако в метаэпифизарной пластинке встречались балки с неровными краями и трещинами в костном матриксе, а растущие балки практически отсутствовали.

В группе ЛИРА (Рисунок 12В) метаэпифизарная пластинка была выражена, однако растущие балки почти не встречались. В метаэпифизарной зоне преобладали зрелые костные балки с неровными краями. В группе КАНА (Рисунок 12Г) метаэпифизарная пластинка была истончена, также

наблюдались балки с неровными краями и трещинами в костном матриксе при практическом отсутствии растущих балок.

При статистическом анализе установлено, что применение канаглифлозина ассоциировано с уменьшением количества костных балок в эпифизарной зоне бедра по сравнению с животными без лечения ( $p = 0,04$ ). Различий в количестве и толщине костных балок между группами лечения выявлено не было (Таблица 4).

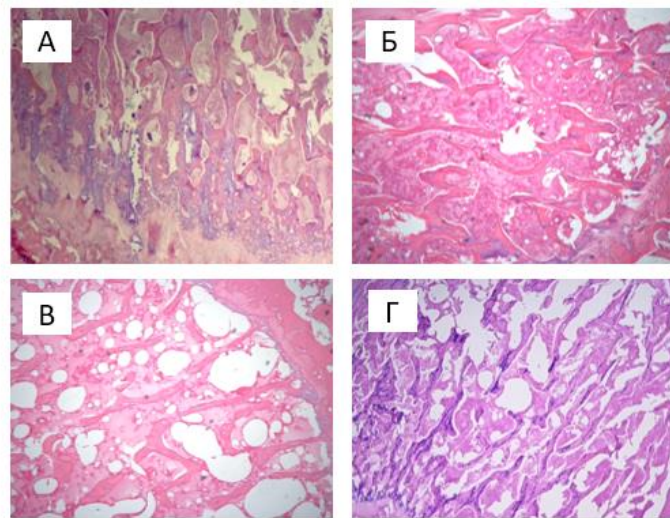


Рисунок 12 – Эпифизарная область кости с костными балками у самок стока Wistar

Примечание: А) ОЭ – самки после овариэктомии; Б) ОЭ + СД – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа без лечения; В) ЛИРА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии лираглутидом; Г) КАНА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином. Окраска гематоксилином-эозином, увеличение  $\times 100$

Таким образом, в результате гистоморфометрического исследования подтверждено негативное влияние как СД 2 типа, так и его сочетания с менопаузой на гистоморфометрические параметры костной ткани. Установлено, что применение иНГЛТ-2 разной степени селективности может способствовать повышению костной резорбции у самцов крыс стока Wistar с

СД. Однако, при сравнении лираглутида и канаглифлозина у самок значимых отличий выявлено не было.

Таблица 4 – Количество и толщина костных балок в метаэпифизарной и эпифизарной части бедренной кости самок стока Wistar

Параметр	ОЭ n = 5	ОЭ + СД n = 5	ЛИРА n = 5	КАНА n = 5
Костная ткань в диафизе, % толщины диафиза	35,1 [32,4; 35,4]	34,1 [33,85; 36,3]	32,4 [28,3; 33,1]	25,0 [22,7; 29,3]
Площадь костных трабекул в эпифизарной части, %	29,2 [28,4; 32,6]	34,1 [33,8; 36,3]	28,7 [26,4; 29,4]	25,0 [22,65; 29,3]*
Примечание: ОЭ – самки после овариэктомии; ОЭ + СД – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа без лечения; ЛИРА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии лираглутидом; КАНА – самки после овариэктомии с сахарным диабетом 2 типа на терапии канаглифлозином; * – $p < 0,05$ по сравнению с группой ОЭ + СД				

Таким образом, результаты экспериментального исследования подтвердили негативное влияние СД 2 типа и сочетания СД 2 типа и менопаузы на лабораторные и гистологические параметры костного обмена. Анализ костных маркеров при использовании препаратов из группы иНГЛТ-2 у самцов крыс с СД 2 типа показал, что как высокоселективный эмпаглифлозин, так и низкоселективный канаглифлозин усиливают процессы костной резорбции, что подтверждается как одинаковым значением соотношения RANKL/OPG при применении обоих иНГЛТ-2, так и данными гистоморфометрического исследования. Отсутствие различий в маркерах костного ремоделирования при терапии канаглифлозином и лираглутидом и незначительный негативный эффект канаглифлозина по результатам гистоморфометрии в условиях СД 2 типа и менопаузы также могут подтверждать возможный отрицательный эффект иНГЛТ-2 на кость.

### 3.2. Параметры кальций-фосфорного обмена и маркеры костного ремоделирования у больных сахарным диабетом 2 типа

По результатам скрининга 500 амбулаторных больных СД 2 типа критериям включения соответствовало 209 пациентов (81 мужчина и 128 женщин). Характеристика включенных в исследование больных представлена в Таблице 5.

Таблица 5 – Характеристика больных, включенных в исследование

Параметр	Мужчины n = 81	Женщины n = 128	p
Возраст, лет	55 [48; 61]	61 [55; 65]	0,002
HbA1c, %	7,6 [7,0; 8,5]	7,3 [6,6; 8,3]	0,2
ГБ, n (%)	72 (89)	111 (87)	0,7
Длительность ГБ, лет	10 [5; 12]	10 [8; 15]	0,2
ИБС, n (%)	21 (25)	17 (13)	0,07
Стенокардия напряжения, n (%)	19 (23)	13 (10)	
ИМ в анамнезе, n (%)	1 (1)	4 (3)	
Безболевая ишемия, n (%)	1 (1)	–	
ОНМК в анамнезе, n (%)	9 (11)	8 (6)	0,3
Длительность СД, лет	5 [2; 8]	7 [2; 12]	0,05
ДПНП, n (%)	46 (57)	83 (65)	0,7
ДПНП сенсорная, n (%)	37 (46)	64 (50)	
ДПНП смешанная, n (%)	8 (10)	18 (14)	
Автономная нейропатия, n (%)	1 (1)	1 (1)	
Диабетическая ретинопатия, n (%)	32 (39)	57 (45)	0,5
Непролиферативная, n (%)	17 (21)	36 (28)	
Препролиферативная, n (%)	14 (17)	16 (13)	
Пролиферативная, n (%)	1 (1)	5 (4)	
Хроническая болезнь почек, n (%)	27 (33)	36 (28)	0,4
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	33,9 [30,4; 37,0]	33,1 [30,1; 36,9]	0,5
Нормальная масса тела, n (%)	5 (6)	4 (3)	0,4
Избыточная масса тела, n (%)	14 (17)	27 (21)	
Ожирение I степени, n (%)	32 (40)	53 (41)	
Ожирение II степени, n (%)	21 (26)	23 (18)	
Ожирение III степени, n (%)	15 (19)	21 (16)	
10-летний риск переломов, %	5,0 [4,4; 6,0]	9,6 [7,2; 12,0]	< 0,01
10-летний риск переломов бедра, %	0,2 [0,1; 0,4]	0,8 [0,3; 1,3]	< 0,01
Примечание: HbA1c – гликированный гемоглобин; ГБ – гипертоническая болезнь; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМ – инфаркт миокарда; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; СД – сахарный диабет; ДПНП – диабетическая полинейропатия; ИМТ – индекс массы тела			

Как видно из представленных данных, средний возраст мужчин был меньше, чем у женщин, и составил 55,0 [48,0; 61,0] лет и 61,0 [55,0; 65,0] год соответственно,  $p = 0,002$ . В то же время мужчины и женщины значительно не отличались по показателям HbA1c, ИМТ, длительности СД и наличию хронических осложнений, а также встречаемости сердечно-сосудистых заболеваний.

При оценке сопутствующей терапии установлено, что 90 из 128 женщин (71 %) и 73 из 81 мужчины (90 %) никогда ранее не принимали колекальциферол, так как это не было рекомендовано лечащим врачом. Остальные пациенты принимали колекальциферол в дозе 600-1000 МЕ/сут. При включении в исследование всем пациентам был рекомендован профилактический прием колекальциферола в дозе 800 МЕ/сут.

Дополнительно большинство больных получали препараты из группы ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (88 человек, 42 %) или блокаторов рецепторов ангиотензина (85 человек, 40 %), часть пациентов – бета-блокаторы (101 человек, 48 %), блокаторы кальциевых каналов (57 человек, 27 %), а также тиазидовые диуретики (59 человек, 28 %), петлевые диуретики (7 человек, 3 %), комбинированную диуретическую терапию (5 человек, 2 %). Большинство больных СД 2 типа получали статины (142 человека, 68 %).

Расчет риска низкотравматичных переломов с использованием калькулятора FRAX® показал, что риск переломов у больных СД 2 типа достаточно низкий, и выше у женщин, чем у мужчин. Так, 10-летний риск основных переломов у женщин составил 9,6 [7,2; 12,0] %, а у мужчин – 5,0 [4,4; 6,0] % ( $p < 0,01$ ). Аналогично 10-летний риск переломов бедра у женщин составил 0,8 [0,3; 1,3] %, а у мужчин – 0,2 [0,1; 0,4] % ( $p < 0,01$ ).

Рентгеновская денситометрия (DXA) с оценкой трабекулярного костного индекса была проведена 106 из 209 включенных в исследование больным СД 2 типа. При анализе показателей DXA установлено, что у 72 больных (68 %) МПК соответствовала норме. Однако среди этих пациентов у

10 человек (14 %) микроархитектоника костной ткани была частично деградированной, а у 15 больных (21 %) – деградированной, что свидетельствовало о нарушении качества костной ткани при нормальной МПК у 35 % больных СД 2 типа. У 30 пациентов (28 %) по результатам DXA выявлена остеопения. Среди них у 13 человек (43 %) микроархитектоника костной ткани соответствовала норме, у 4 больных (14 %) была частично деградированной, у 13 человек (43 %) – деградированной. Результаты DXA позволили выявить остеопороз у 4 женщин с СД 2 типа (Рисунок 13).

Данные больные с остеопорозом не были включены в проспективный анализ, им была проведена коррекция сахароснижающей терапии и назначены антирезорбтивные препараты. За данными пациентками продолжено наблюдение и лечение вне исследования.

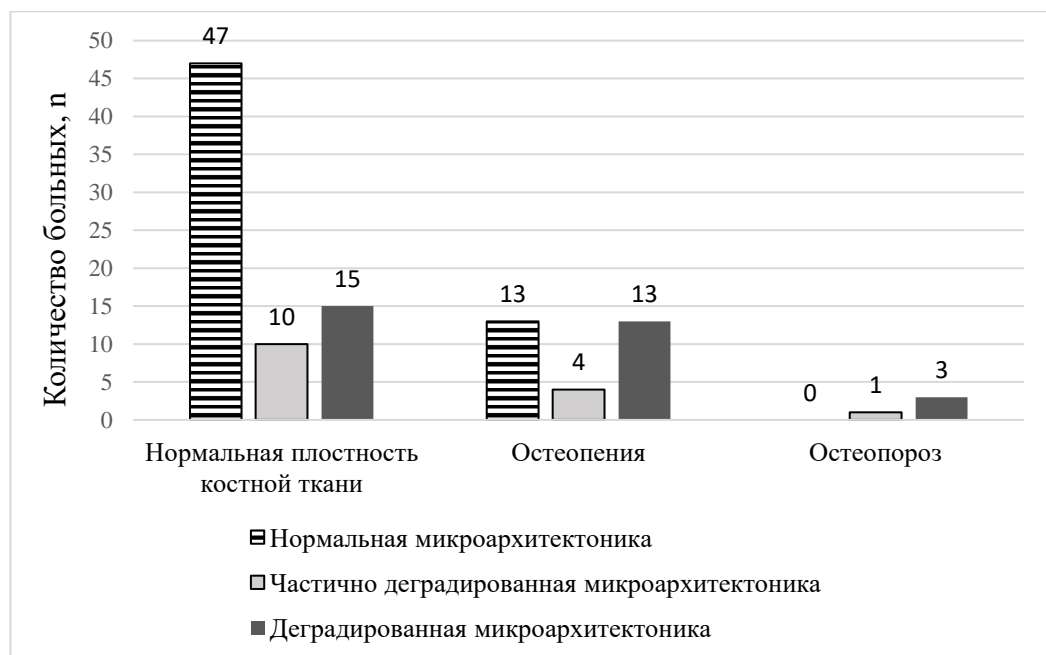


Рисунок 13 – Распределение больных сахарным диабетом 2 типа в зависимости от степени снижения минеральной плотности костной ткани

Суммируя вышесказанное, можно заключить, что деградированная микроархитектоника костной ткани диагностирована практически у каждого третьего больного СД 2 типа (у 31 из 106) при использовании ТКИ, в то время как остеопороз диагностирован всего лишь у 4 из 106 пациентов при оценке МПК методом DXA. Таким образом, выявляемость изменений качества

костной ткани в 11,0 раз выше (95 % ДИ 3,57–31,10;  $p < 0,001$ ) при использовании ТКИ, чем при оценке показателей МПК стандартной DXA.

После получения результатов DXA был повторно оценен риск низкотравматичных переломов с учетом показателей МПК. Расчет 10-летнего риска низкотравматичных переломов с учетом МПК и ТКИ показал более низкие значения по сравнению с предыдущими результатами и соответственно составил для женщин и мужчин для основных переломов 9,0 % и 5,1 %, а для перелома бедра – 0,4 % и 0,2 %. При сравнении риска переломов как при учете МПК, так и с учетом ТКИ значимых отличий выявлено не было ( $p = 0,25$  для 10-летнего риска переломов и  $p = 0,44$  для 10-летнего риска переломов бедра). Результаты МПК, ТКИ и 10-летнего риска переломов с исключением данных пациентов с остеопорозом представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Показатели 10-летнего риска переломов, минеральной плотности костной ткани и трабекулярного костного индекса у больных сахарным диабетом 2 типа

Параметр	Мужчины n = 37	Женщины n = 65	p
10-летний риск переломов, %	5,30 [4,40; 5,90]	8,50 [6,60; 11,00]	p < 0,01
10-летний риск переломов бедра, %	0,20 [0,10; 0,50]	0,30 [0,10; 0,80]	
10-летний риск переломов, корректированный по ТКИ, %	5,10 [4,10; 6,60]	9,00 [6,60; 12,00]	
10-летний риск переломов бедра, корректированный по ТКИ, %	0,20 [0,10; 0,45]	0,40 [0,10; 0,70]	
МПК L1–L4, г/см <sup>2</sup>	1,30 [1,20; 1,40]	1,20 [1,10; 1,30]	
МПК бедра, г/см <sup>2</sup>	1,15 [1,10; 1,20]	1,06 [0,99; 1,15]	
МПК шейки бедра, г/см <sup>2</sup>	1,00 [0,94; 1,15]	0,96 [0,89; 1,03]	
ТКИ	1,37 [1,27; 1,45]	1,32 [1,20; 1,40]	
Примечание: ТКИ – трабекулярный костный индекс; МПК – минеральная плотность костной ткани; L1–L4 – поясничный отдел позвоночника			

Таким образом, включение значений МПК при расчете 10-летнего риска переломов с использованием калькулятора FRAX® у больных СД 2 типа показывает более низкий риск переломов, чем без его использования. Кроме того, добавление значения ТКИ не влияет на риск низкотравматичных



переломов у больных СД 2 типа. Далее был выполнен анализ показателей МПК и ТКИ в зависимости от уровня HbA1c в группах больных с целевым и нецелевым показателем (Таблица 7).

Таблица 7 – Показатели минеральной плотности костной ткани и трабекулярного костного индекса в зависимости от уровня HbA1c у мужчин и женщин с сахарным диабетом 2 типа

Параметр	Мужчины n = 37		Женщины n = 65	
	HbA1c целевой n = 7	HbA1c превышает целевой n = 30	HbA1c целевой n = 25	HbA1c превышает целевой n = 40
МПК L1–L4, г/см <sup>2</sup>	1,26 [1,17; 1,34]	1,29 [1,20; 1,38]	1,17 [1,10; 1,27]	1,21 [1,10; 1,31]
МПК бедра, г/см <sup>2</sup>	1,20 [1,05; 1,26]	1,15 [1,06; 1,19]	1,03 [0,97; 1,08]	1,08 [1,00; 1,15]
МПК шейки бедра, г/см <sup>2</sup>	1,12 [0,98; 1,17]	0,99 [0,94; 1,11]	0,96 [0,89; 1,03]	0,95 [0,87; 1,00]
ТКИ	1,45 [1,37; 1,41]	1,35 [1,23; 1,43]	1,33 [1,31; 1,35]	1,25 [1,18; 1,40]
Примечание: МПК – минеральная плотность костной ткани; ТКИ – трабекулярный костный индекс; $p > 0,05$ в группах целевого и нецелевого HbA1c				

Как видно из представленных в Таблице 7 данных, показатели МПК и ТКИ в группе с нецелевым HbA1c были несколько ниже, чем у больных с целевым уровнем HbA1c, однако эти различия были недостоверны. В то же время проведенный корреляционный анализ подтвердил наличие обратной корреляционной связи между возрастом и МПК поясничного отдела позвоночника ( $r = -0,3$ ,  $p = 0,001$ ), бедра ( $r = -0,3$ ,  $p = 0,0001$ ), шейки бедра ( $r = -0,43$ ,  $p = 0,0001$ ), а также ТКИ ( $r = -0,24$ ,  $p = 0,01$ ). Дополнительно была установлена прямая положительная связь между значением МПК бедра и ИМТ ( $r = 0,29$ ,  $p = 0,004$ ) и обратная корреляционная связь между ТКИ и уровнем HbA1c ( $r = -0,27$ ,  $p = 0,006$ ) (Рисунок 14).

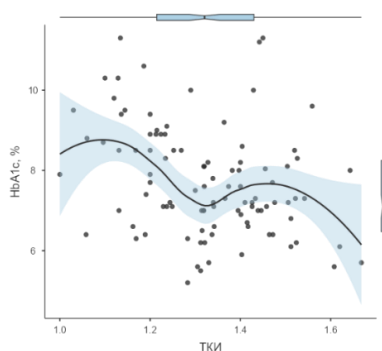


Рисунок 14 – Корреляционная связь между уровнем гликированного гемоглобина и значением трабекулярного костного индекса

Примечание: HbA1c – гликированный гемоглобин; ТКИ – трабекулярный костный индекс

Таким образом, у больных СД 2 типа снижение ТКИ было ассоциировано с повышением уровня HbA1c. Исходные результаты лабораторных данных больных СД 2 типа представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Параметры кальций-фосфорного обмена и костного ремоделирования у мужчин и женщин с сахарным диабетом 2 типа

Параметр	Мужчины n = 81	Женщины n = 124	Референс	p
Кальций, ммоль/л	2,3 [2,2; 2,4]	2,4 [2,3; 2,5]	2,2–2,5	0,18
Фосфор, ммоль/л	1,2 [1,0; 1,3]	1,2 [1,1; 1,3]	0,8–1,5	0,63
Кальций × фосфор	2,8 [2,2; 3,1]	2,9 [2,3; 3,1]	–	0,34
ПТГ, пг/мл	49,3 [33,8; 67,0]	58,6 [41,2; 80,0]	16,0–65,0	0,10
Креатинин, мкмоль/л	80,0 [70,0; 90,0]	64,0 [56,0; 73,00]	М: 62,0–106,0 Ж: 44,0–80,0	< 0,01
СКФ, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	96,7 [83,2; 105,0]	95,1 [80,8; 102,0]	> 90	0,20
ФРФ-23, пмоль/л	0,8 [0,3; 1,1]	0,9 [0,4; 1,4]	0,1–20,0	0,17
25(ОН)D, нг/мл	19,7 [13,7; 25,8]	24,4 [17,4; 32,7]	30,0–100,0	0,04
1,25(ОН) <sub>2</sub> D, пг/мл	2393,0 [1790,0; 2587,0]	2339,0 [1902,0; 2667,0]	25,0–3000,0	0,79
ПТГ, пг/мл	49,3 [33,8; 67,0]	58,6 [41,2; 80,0]	16,0–46,0	0,10
OPG, пмоль/л	4,1 [2,9; 5,5]	4,8 [3,2; 6,0]	0,1–20,0	0,34
RANKL, пмоль/л	0,2 [0,1; 0,3]	0,2 [0,1; 0,4]	0,1–2,0	0,77
RANKL/OPG	0,06 [0,02; 0,11]	0,05 [0,03; 0,08]	–	0,59
Остеокальцин, нг/мл	10,3 [6,4; 14,0]	10,3 [7,2; 13,6]	15–46	0,96
Примечание: СКФ – скорость клубочковой фильтрации по СКД-EPI; ФРФ-23 – фактор роста фибробластов-23; ПТГ – паратиреоидный гормон; OPG – остеопротегерин; RANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа бета; RANKL/OPG – соотношение RANKL к OPG; М – для мужчин; Ж – для женщин				

Результаты лабораторного исследования продемонстрировали нормальные показатели кальция и фосфора крови у всех больных СД 2 типа. Уровень креатинина у мужчин был достоверно выше, однако это не было связано с наличием ХБП. Так, ХБП стадии С2–С3а была выявлена у 35 женщин (28 %) и 21 мужчины (26 %),  $p = 0,8$ .

Уровень ПТГ крови находился в диапазоне от 25 до 136 пг/мл и в среднем составил 54,0 [39,0; 78,0] пг/мл (49,3 [33,8; 67,0] пг/мл у мужчин и 58,6 [41,2; 80,0] пг/мл у женщин). Необходимо отметить, что у 35 пациентов уровень ПТГ был выше верхней границы нормы (у 27 женщин и у 8 мужчин) и находился в прямой зависимости с уровнем кальция крови ( $r = 0,20$ ,  $p = 0,05$ ).

Уровень обеспеченности витамином D определен у 110 пациентов. Дефицит витамина D был зарегистрирован у 50 пациентов (46 %), недостаточность – у 29 пациентов (26 %). Нормальный уровень 25(OH)D в сыворотке крови был выявлен у 31 пациента (28 %). Следует отметить тот факт, что дефицит витамина D чаще встречался у мужчин, чем у женщин. Так, нормальный уровень обеспеченности витамином D был выявлен у 18 % мужчин ( $n = 7$ ) и 34 % женщин ( $n = 24$ ), а дефицит – у 56 % мужчин ( $n = 22$ ) и 39 % женщин ( $n = 28$ ) (Рисунок 15).

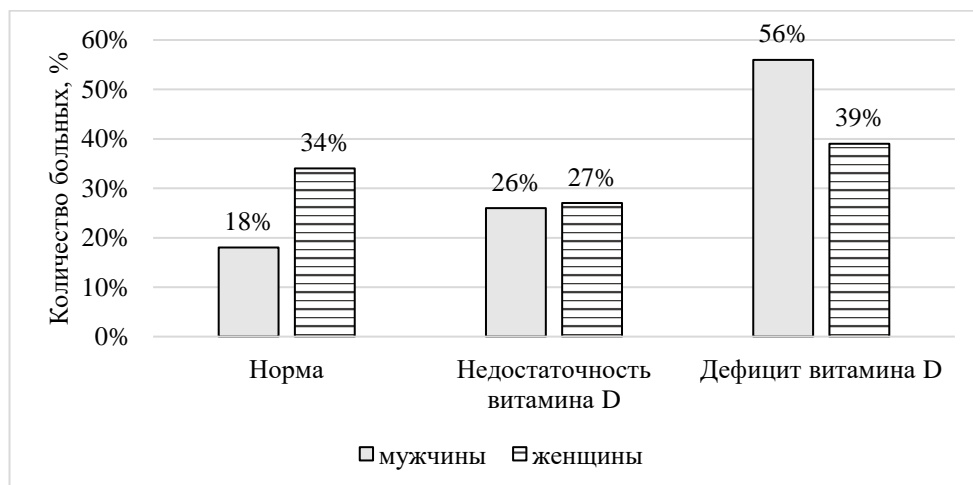


Рисунок 15 – Обеспеченность витамином D среди мужчин и женщин с сахарным диабетом 2 типа

Результаты корреляционного анализа подтвердили наличие отрицательной корреляционной связи между уровнем ПТГ и концентрацией 25(OH)D ( $r = -0,21$ ,  $p = 0,05$ ), а также значением МПК поясничного отдела позвоночника ( $r = -0,27$ ,  $p = 0,04$ ). При анализе маркеров костного ремоделирования – остеокальцина, остеопротегерина, ФРФ-23, кальцитриола и RANKL – существенных отклонений от референсных значений выявлено не было (Таблица 8).

Результаты корреляционного анализа выявили связи между уровнем кальция крови и концентрацией OPG ( $r = 0,32$ ,  $p = 0,003$ ), остеокальцином ( $r = 0,25$ ,  $p = 0,021$ ), а также RANKL ( $r = -0,30$ ,  $p = 0,03$ ) и соотношением RANKL/OPG ( $r = -0,40$ ,  $p < 0,01$ ).

В то же время концентрация RANKL была обратно пропорциональна уровню фосфора ( $r = -0,33$ ,  $p = 0,003$ ). Дополнительно была установлена положительная корреляционная связь между уровнем OPG и ПТГ ( $r = 0,27$ ,  $p = 0,013$ ).

Уровень 1,25(OH)<sub>2</sub>D крови отрицательно коррелировал с уровнем фосфора ( $r = -0,56$ ,  $p = 0,0001$ ) и кальций-фосфорным произведением ( $r = -0,64$ ,  $p = 0,001$ ), а уровень ФРФ-23 был ассоциирован с уровнем HbA1c ( $r = 0,20$ ,  $p = 0,03$ ).

Значения маркеров костного ремоделирования были сопоставлены у больных с различным уровнем HbA1c. Установлено, что уровень кальция крови при целевом уровне HbA1c выше, чем при нецелевом уровне, однако и в том и в другом случаях не выходит за рамки референсных значений.

Следует отметить, что у больных СД 2 типа с нецелевым HbA1c также выявлен более высокий уровень RANKL, чем у больных с удовлетворительным контролем гликемии (Таблица 9).

Таблица 9 – Маркеры кальций-фосфорного обмена и костного ремоделирования у больных сахарным диабетом 2 типа в зависимости от уровня гликированного гемоглобина

Параметр	HbA1c целевой n = 90	HbA1c превышает целевой n = 115	Референс	p
Кальций, ммоль/л	2,38 [2,38; 2,51]	2,30 [2,20; 2,40]	2,15–2,5	< 0,01
Фосфор, ммоль/л	1,20 [0,98; 1,28]	1,21 [1,00; 1,32]	0,81–1,45	0,50
Кальций× фосфор	2,96 [2,40; 3,20]	2,82 [2,20; 3,08]		0,30
ФРФ-23, пмоль/л	0,57 [0,26; 1,07]	0,99 [0,37; 1,14]	0–20	0,10
25(ОН)D, нг/мл	23,40 [18,50; 34,80]	20,00 [14,10; 30,10]	30–100	0,10
1,25(ОН) <sub>2</sub> D, пг/мл	2049,00 [1415,00; 2530,00]	2339,00 [2000,00; 2721,00]	25–3000	1,26
ПТГ, пг/мл	53,00 [37,30; 79,70]	55,70 [40,20; 77,90]	16–65	0,90
Креатинин, мкмоль/л	67,00 [62,00; 77,00]	72,00 [60,00; 85,00]	М: 62,0– 106,0; Ж: 44,0–80,0	0,37
СКФ, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	94,70 [85,50; 102,00]	95,90 [79,80; 104,00]	> 90	0,96
OPG, пмоль/л	4,81 [3,08; 5,88]	4,35 [2,80; 5,80]	0–20	0,50
RANKL, пмоль/л	0,18 [0,08; 0,30]	0,23 [0,15; 0,38]	0–2	0,05
RANKL/OPG	0,04 [0,02; 0,07]	0,06 [0,03; 0,10]		0,06
Остеокальцин, нг/мл	11,40 [9,03; 16,00]	10,00 [6,70; 13,50]	15–46	0,10
Примечание: ФРФ-23 – фактор роста фибробластов-23; ПТГ – паратиреоидный гормон; СКФ – скорость клубочковой фильтрации по СКД-EPI; OPG – остеопротегерин; RANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа бета; RANKL/OPG – соотношение RANKL к OPG				

Таким образом, анализ маркеров костного ремоделирования у больных СД 2 типа выявил частый дефицит витамина D, особенно у мужчин, и ассоциацию маркеров костной резорбции – ФРФ-23 и RANKL – с плохим гликемическим контролем.

### **3.3. Динамика параметров кальций-фосфорного обмена, костного ремоделирования и минеральной плотности костной ткани у больных сахарным диабетом 2 типа на фоне сахароснижающей терапии**

Среди 115 пациентов с нецелевым индивидуальным уровнем HbA1c 78 пациентам к терапии метформином были добавлены препараты группы иНГЛТ-2, а 37 больным – препараты группы арГПП-1. Пациенты на терапии иНГЛТ-2 были разделены в зависимости от селективности препаратов: на группу селективных иНГЛТ-2 (МЕТ + ЭМПА/ДАПА, n = 48) и неселективных иНГЛТ-2 (МЕТ + КАНА, n = 30). Пациенты на терапии арГПП-1 (лираглутид, дулаглутид, семаглутид) были объединены в одну группу (МЕТ + арГПП-1, n = 37). Назначение и титрация дозы препаратов проводились согласно клиническим рекомендациям. Среди больных, получавших иНГЛТ-2, у 9 пациентов в ходе лечения возникли побочные эффекты со стороны мочевыводящих путей, потребовавшие замену терапии. Данные пациенты досрочно прекратили участие в исследовании. Дополнительно при проспективном наблюдении досрочно завершили исследование 20 больных, которым в связи с недостижением удовлетворительного контроля гликемии потребовалась интенсификация сахароснижающей терапии. Таким образом, исследование в группе МЕТ + ЭМПА/ДАПА завершили 30 пациентов (27 больных на терапии эмпаглифлозином, 3 пациента на терапии дапаглифлозином) и 19 больных в группе МЕТ + КАНА. Процент выбывания в группе иНГЛТ-2 составил 37 %. Из 37 больных, получавших в ходе наблюдения терапию арГПП-1 у 4 пациентов развились побочные эффекты со стороны ЖКТ, в связи с чем была произведена смена группы сахароснижающих препаратов. Дополнительно в этой группе в связи с недостижением удовлетворительного контроля гликемии в ходе исследования досрочно выбыли еще 8 пациентов. Таким образом, завершили исследование 25 больных, получавших терапию арГПП-1 (10 пациентов на семаглутиде, 14 пациентов на дулаглутиде и 1 пациентка на лираглутиде). Процент выбывания

в группе арГПП-1 составил 32 %. Исходные клинические, лабораторные и инструментальные данные были сопоставлены у больных из групп МЕТ + ЭМПА/ДАПА, МЕТ + КАНА и МЕТ + арГПП-1 с использованием однофакторного дисперсионного анализа (Таблица 10).

Таблица 10 – Исходные клинико-anamнестические, лабораторные и инструментальные данные у больных сахарным диабетом 2 типа на различной сахароснижающей терапии

Параметр	МЕТ + ЭМПА/ДАПА n = 48	МЕТ + КАНА n = 30	МЕТ + арГПП-1 n = 37	p
Мужчины, n (%)	22 (46)	11 (37)	20 (54)	0,7
Возраст, лет	59 [52; 63]	54 [47; 63]	55 [49; 62]	0,5
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	33,3 [30,5; 35,7]	32,2 [29,5; 37,2]	34,8 [31,3; 42,2]	0,12
Длительность СД	8 [6; 13]	4 [2; 11]	12* [7; 15]	0,02
HbA1c, %	8,5 [7,8; 9,3]	7,9 [7,3; 8,8]	8,0 [7,4; 9,3]	0,27
СКФ, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	97,7 [82,6; 103,0]	98,8 [82,9; 108,0]	96,7 [80,7; 104,0]	0,7
Кальций, ммоль/л	2,3* [2,2; 2,4]	2,2 [2,0; 2,3]	2,4* [2,3; 2,5]	< 0,01
Фосфор, ммоль/л	1,3 [1,1; 1,4]	1,2 [0,9; 1,3]	1,2 [1,0; 1,2]	0,2
Кальций × фосфор	2,9 [2,5; 3,3]	2,6 [1,9; 2,9]	2,8 [2,2; 3,1]	0,2
25(ОН)D, нг/мл	21,3 [15,0; 30,1]	27,2 [18,3; 34,1]	19,9 [15,7; 30,1]	0,1
1,25(ОН) <sub>2</sub> D, пг/мл	2284,0 [1902,0; 2492,0]	2699,0 [2519,0; 2787,0]	2338,0 [1661,0; 2705,0]	0,4
ПТГ, пг/мл	39,4* ** [31,2; 58,8]	60,2 [39,4; 79,2]	58,6 [44,7; 80,1]	0,01
ФРФ-23, пмоль/л	1,1 [1,0; 1,3]	0,5 [0,3; 1,0]	0,8 [0,3; 1,1]	0,6
OPG, пмоль/л	4,4 [2,6; 5,9]	3,0 [2,1; 4,8]	5,2* [3,4; 6,4]	0,03
RANKL, пмоль/л	0,2 [0,1; 0,3]	0,3 [0,2; 0,4]	0,2 [0,1; 0,4]	0,6
RANKL/OPG	0,06 [0,03; 0,08]	0,11 [0,05; 0,16]	0,04* [0,02; 0,08]	0,05
Остеокальцин, нг/мл	10,0 [8,71; 13,5]	10,3 [9,5; 11,2]	8,7 [3,6; 12,8]	0,2
МПК L1–L4, г/см <sup>2</sup>	1,25 [1,13; 1,36]	1,29 [1,20; 1,36]	1,25 [1,16; 1,51]	0,5

Продолжение Таблицы 10 – Исходные клинико-анамнестические, лабораторные и инструментальные данные у больных сахарным диабетом 2 типа на различной сахароснижающей терапии

МПК бедра, г/см <sup>2</sup>	1,05** [0,97; 1,08]	1,12 [1,04; 1,20]	1,13 [1,04; 1,18]	0,01
МПК шейки бедра, г/см <sup>2</sup>	0,89 [0,86; 1,03]	1,02 [0,95; 1,08]	0,99 [0,93; 1,12]	0,3
ТКИ	1,20 [1,10; 1,26]* **	1,36 [1,25; 1,40]	1,32 [1,24; 1,42]	0,06
Примечание: МЕТ + ЭМПА/ДАПА – больные сахарным диабетом 2 типа на терапии метформином и эмпаглифлозином/дапаглифлозином; МЕТ + КАНА – больные сахарным диабетом 2 типа на терапии метформином и канаглифлозином; МЕТ + арГПП-1 – больные сахарным диабетом 2 типа на терапии метформином и препаратами группы агонистов рецепторов ГПП-1; ИМТ – индекс массы тела; HbA1c – гликированный гемоглобин; СКФ – скорость клубочковой фильтрации по СКД-ЕРІ; ПТГ – паратиреоидный гормон; ФРФ-23 – фактор роста фибробластов-23; OPG – остеопротегерин; RANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа бета; RANKL/OPG – соотношение RANKL к OPG; МПК – минеральная плотность костной ткани; ТКИ – трабекулярный костный индекс; * – $p < 0,01$ по сравнению с группой МЕТ + КАНА; ** – $p < 0,01$ по сравнению с группой МЕТ + арГПП-1				

Исходно пациенты в группах ИНГЛТ-2 и арГПП-1 не отличались по возрасту, полу, HbA1c, наличию ГБ, ИБС, ОНМК в анамнезе, частоте хронических осложнений СД, а также по характеру получаемой антигипертензивной терапии ( $p > 0,05$ ). В то же время длительность СД 2 типа была больше в группе МЕТ + арГПП-1 (12 [7; 15] лет), чем в группе МЕТ + ЭМПА/ДАПА (8 [6; 13] лет) и МЕТ + КАНА (4 [2; 11] лет),  $p = 0,02$ .

При оценке динамики ИМТ установлено, что исходное значение показателя в группе МЕТ + арГПП-1 составило 34,8 [31,3; 42,2] кг/м<sup>2</sup>, в группе МЕТ + ЭМПА/ДАПА – 33,3 [30,5; 35,7] кг/м<sup>2</sup> и в группе МЕТ + КАНА – 32,2 [29,5; 37,2] кг/м<sup>2</sup>,  $p = 0,12$ . Через 6 месяцев лечения ИМТ в группе МЕТ + арГПП-1 составил 33,3 [30,8; 41,3] кг/м<sup>2</sup>, в группе МЕТ + ЭМПА/ДАПА – 31,6 [27,1; 34,9] кг/м<sup>2</sup>, в группе МЕТ + КАНА – 30,3 [27,9; 34,5] кг/м<sup>2</sup>,  $p = 0,037$ .

Через 12 месяцев лечения ИМТ в каждой группе был достоверно ниже, чем исходно, и составил в группе МЕТ + арГПП-1 32,1 [30,8; 40,1] кг/м<sup>2</sup>, в группе МЕТ + ЭМПА/ДАПА – 31,0 [27,8; 34,0] кг/м<sup>2</sup>, в группе МЕТ + КАНА –



30,3 [27,1; 34,3] кг/м<sup>2</sup>. Вместе с тем различий ИМТ между группами через 12 месяцев лечения не обнаружено,  $p = 0,31$  (Рисунок 16).

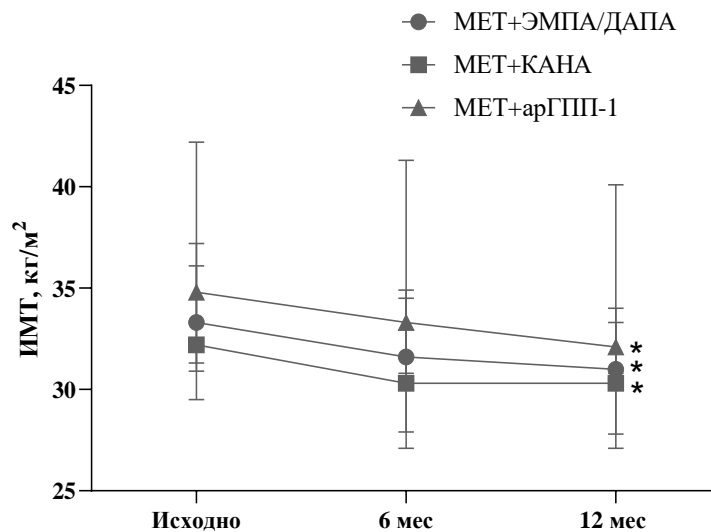


Рисунок 16 – Динамика индекса массы тела на фоне терапии у больных сахарным диабетом 2 типа

Примечание: MET + ЭМПА/ДАПА – больные сахарным диабетом 2 типа на терапии метформином и эмпаглифлозином/дапаглифлозином; MET + КАНА – больные сахарным диабетом 2 типа на терапии метформином и канаглифлозином; MET + арГПП-1 – больные сахарным диабетом 2 типа на терапии метформином и препаратами группы агонистов рецепторов ГПП-1; ИМТ – индекс массы тела; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходным значением

Исходно в группе MET + арГПП-1 уровень HbA1c составил 8,0 [7,4; 9,3] %, в группе MET + ЭМПА/ДАПА – 8,5 [7,8; 9,3] %, в группе MET + КАНА – 7,9 [7,3; 8,8] %,  $p = 0,27$ .

Через 6 месяцев лечения уровень HbA1c в группе MET + арГПП-1 составил 7,0 [6,6; 8,0] %, в группе MET + ЭМПА/ДАПА – 7,8 [7,2; 8,2] %, в группе MET + КАНА – 6,9 [6,7; 7,4] %,  $p = 0,055$ .

Через 12 месяцев лечения уровень HbA1c в каждой группе был достоверно ниже, чем исходно, и составил в группе MET + арГПП-1 6,5 [6,0; 7,5] %, в группе MET + ЭМПА/ДАПА – 7,0 [6,9; 7,3] %, в группе MET + КАНА – 6,7 [6,3; 7,0] %,  $p = 0,3$  (Рисунок 17).

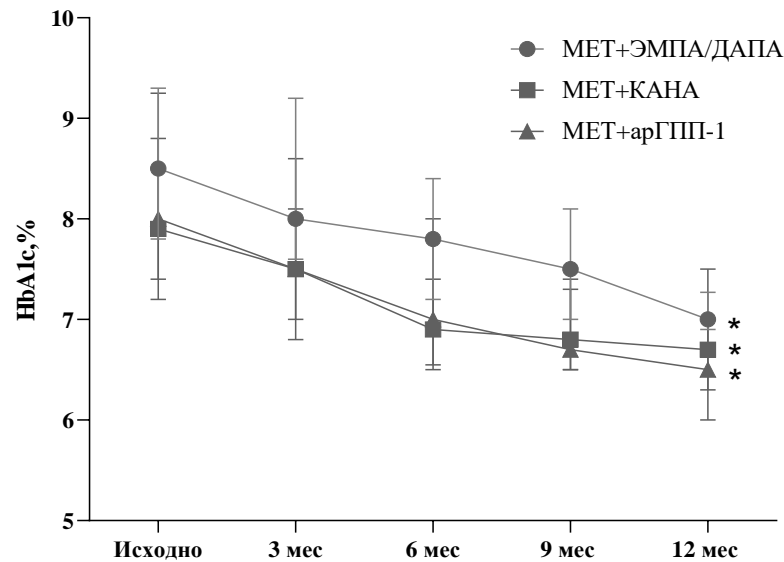


Рисунок 17 – Динамика уровня гликированного гемоглобина на фоне терапии у больных сахарным диабетом 2 типа

Примечание: MET + ЭМПА/ДАПА – больные сахарным диабетом 2 типа на терапии метформином и эмпаглифлозином/дапаглифлозином; MET + КАНА – больные сахарным диабетом 2 типа на терапии метформином и канаглифлозином; MET + арГПП-1 – больные сахарным диабетом 2 типа на терапии метформином и препаратами группы агонистов рецепторов ГПП-1; HbA1c – гликированный гемоглобин; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходным значением

Таким образом, на фоне лечения иНГЛТ-2 различной селективности и арГПП-1 установлено сопоставимое снижение массы тела и уровня HbA1c. Отсутствие значимых различий между динамикой гликемии и ИМТ в разных группах терапии было подтверждено при проведении многофакторного дисперсионного анализа повторных измерений.

В ходе проведения статистического анализа была построена модель, в которой оценивались изменения маркеров костного обмена и показателей DXA в течение года в зависимости от группы лечения. При оценке параметров DXA предполагалось 2 уровня (исходно и 12 месяцев), при изучении лабораторных данных – 3 уровня (исходно, 6 месяцев, 12 месяцев).

Дополнительно, при оценке динамики показателей учтены такие параметры, как возраст, пол, ИМТ, HbA1c, длительность СД, так как данные

показатели могли повлиять на плотность и качество костной ткани. Кроме того, в качестве ковариат были приняты переменные кальция, ПТГ, OPG и соотношения RANKL/OPG, так как данные показатели исходно отличались в группах. Оценивался уровень значимости при сочетании временного и группового факторов, дополнительно – при сочетании временного и гендерного факторов. Апостериорные тесты проводились с целью определения различий между отдельными уровнями внутри группы терапии.

Следует отметить, что две пациентки достигли первичной конечной точки в виде низкотравматического перелома лучевой кости (по одному человеку в группе арГПП-1 и иНГЛТ-2).

Показатели МПК и качества костной ткани, полученные в ходе исследования у больных СД 2 типа на различной сахароснижающей терапии, представлены в Таблице 11. По результатам многофакторного дисперсионного анализа повторных измерений исходные значения МПК поясничного отдела позвоночника не отличались между группами. Через 12 месяцев лечения показатель значимо не изменился как в целом ( $p = 0,98$ ), так и в различных группах ( $p = 0,48$ ).

В то же время МПК бедра исходно была несколько ниже в группе MET + ЭМПА/ДАПА ( $1,05 [0,97; 1,08]$  г/см<sup>2</sup>) по сравнению с группой MET + арГПП-1 ( $1,13 [1,04; 1,18]$  г/см<sup>2</sup>,  $p = 0,045$ ), а через 12 месяцев лечения различий в показателях МПК зафиксировано не было,  $p > 0,05$ .

Следует отметить, что в ходе проведенного анализа не было отмечено отрицательной динамики показателя как в целом ( $p = 0,65$ ), так и между группами ( $p = 0,75$ ). Дополнительно через 12 месяцев терапии МПК шейки бедра была наибольшей в группе MET + арГПП-1 по сравнению с группой больных, получавших иНГЛТ-2 (MET + ЭМПА/ДАПА,  $p = 0,02$ ), но отрицательная динамика показателя МПК бедра в группах терапии иНГЛТ-2 отсутствовала ( $p > 0,05$ ).

Результаты статистического анализа не выявили динамики ТКИ как в целом ( $p = 0,43$ ), так и в зависимости от группы лечения ( $p = 0,52$ ).

Таким образом, значения минеральной плотности и качества костной ткани у больных СД 2 типа оставались стабильны на фоне 12 месяцев лечения как иНГЛТ-2, так и арГПП-1.

Таблица 11 – Динамика показателей минеральной плотности костной ткани и трабекулярного костного индекса у больных сахарным диабетом 2 типа на фоне терапии ингибиторами НГЛТ-2 и агонистами рецепторов ГПП-1

[illegible]

Показатели костного ремоделирования больных СД 2 типа на фоне лечения различными классами сахароснижающих препаратов представлены в Таблице 12.

По результатам многофакторного дисперсионного анализа повторных измерений значения маркеров костного ремоделирования не изменились за 12 месяцев терапии (с учетом фактора группы и изменения во времени).

При проведении апостериорного анализа в группах МЕТ + ЭМПА/ДАПА и МЕТ + КАНА не было установлено изменений в параметрах кальций-фосфорного обмена и маркеров костного ремоделирования за 12 месяцев терапии.

В группе МЕТ + арГПП-1 изменения уровня кальция и фосфора крови не зафиксированы. Отмечено нарастание уровней  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  и ПТГ через 6 месяцев лечения ( $p < 0,05$ ), однако через 12 месяцев наблюдения уровень  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  оказался ниже исходного ( $p < 0,05$ ), а уровень ПТГ не отличался от исходного показателя ( $p > 0,05$ ). В то же время было установлено нарастание уровня остеокальцина крови с 8,71 [3,62; 12,8] до 13,00 [7,00; 15,00] нг/мл (прирост на 49 %,  $p = 0,04$ ).

Таким образом, в ходе клинического исследования установлено, что для больных СД 2 типа характерны нарушение качества костной ткани при нормальной МПК и дефицит витамина D. Также полученные результаты подтвердили взаимосвязь между повышенным уровнем HbA1c и снижением ТКИ. При изучении влияния иНГЛТ-2 и арГПП-1 на параметры костного ремоделирования не установлено клинических и статистических изменений в минеральной плотности, качестве костной ткани и лабораторных показателях

Таблица 12 – Динамика лабораторных маркеров кальций-фосфорного обмена и костного ремоделирования у больных сахарным диабетом 2 типа на фоне терапии ингибиторами НГЛТ-2 и агонистами рецепторов ГПП-1

[illegible]

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Остеопороз – это хроническое заболевание костной ткани, при котором отмечается высокая вероятность возникновения переломов при незначительных травмах, развитие которых обусловлено как уменьшением плотности костной ткани, так и изменением ее структуры [21]. По данным Всемирной организации здравоохранения, количество людей, страдающих остеопорозом, может достигать 500 миллионов по всему миру, что составляет 6,3 % мужчин старше 50 лет и 21,2 % женщин того же возраста [151]. Переломы бедра и позвоночника, возникающие в результате остеопороза, приводят к продолжительной нетрудоспособности, инвалидности, появлению хронического болевого синдрома и снижению качества жизни. Кроме того, факт наличия низкотравматичных переломов ассоциирован с повышением смертности на 20 % [159]. Основная причина первичного остеопороза – возрастное снижение половых гормонов, что на клеточном уровне приводит к активации остеокластов и повышению костной резорбции с одновременным снижением функции остеобластов и костеобразования. Другим важным звеном патогенеза является «старение» костного мозга, в результате чего мезенхимальные стволовые клетки дифференцируются в адипоциты, а не в остеобласты [77].

В тоже время другие хронические заболевания, в том числе ожирение, метаболический синдром и СД 2 типа, которые чаще встречаются в среднем и пожилом возрасте, дополнительно могут оказывать негативное влияние на кость. Так, С. Хансен (S. Hansen) и соавторы показали, что при ожирении и метаболическом синдроме мезенхимальные стволовые клетки костного мозга характеризуются гиперметаболическим состоянием [72], при котором усиленная передача сигналов инсулина приводит к ускорению адипогенеза, увеличению концентрации внутриклеточных активных форм кислорода, что влечет старение микросреды костной ткани и в конечном итоге – нарастание кортикальной порозности и увеличение риска низкотравматичных переломов



[169]. Дополнительно в прогрессировании хронических осложнений СД может играть роль и хроническое воспаление низкой интенсивности (микровоспаление) [12]. Так, при СД 2 типа отмечается увеличение риска любых переломов на 22 %, переломов бедра на 33 % и переломов верхних конечностей на 54 % [173].

Кроме того, женщины в постменопаузе с СД 2 типа, ожирением и метаболическим синдромом заслуживают дополнительного внимания в отношении профилактики остеопороза. Например, в возрасте от 50 до 54 лет примерно 16 % женщин страдают СД 2 типа, а к 75 годам это число возрастает до 24 % [105]; в то же время у 21 % женщин после 50 лет развивается остеопороз [151]. С учетом роста динамики заболеваемости СД [19] и старения населения сочетание СД 2 типа и остеопороза является особенно значимой проблемой для женщин в период менопаузы.

В рамках настоящего исследования была поставлена задача изучить костное ремоделирование при СД 2 типа, в том числе в сочетании с менопаузой. Важным этапом исследования было изучение влияния современных сахароснижающих препаратов на костное ремоделирование в экспериментальной модели, то есть без влияния дополнительных внешних факторов. Кроме того, было запланировано исследование по изучению влияния препаратов из группы арГПП-1 и иНГЛТ-2 на костное ремоделирование в клинической практике.

Экспериментальные исследования о влиянии сахароснижающих препаратов на костную ткань достаточно разрозненны и проведены с использованием животных и с разнообразными моделями СД, но в большинстве случаев без сочетания с моделью менопаузы [71; 183]. Это определило необходимость разработки экспериментальной модели, которая бы сочетала в себе как СД 2 типа, так и менопаузу [161]. В качестве прототипа использованного метода было взято исследование отечественных ученых, где была разработана модель, наиболее схожая с СД 2 типа. Авторы использовали низкие дозы стрептозотоцина (65 мг/кг) и предварительно вводили

панкреатопротектор никотинамид в дозе 230 мг/кг. Кроме того, перед началом исследования крысы получали высокожировой корм [165; 16]. Для изучения костного ремоделирования в условиях менопаузы нами была создана и запатентована модель «Способ экспериментального моделирования СД 2 типа в сочетании с менопаузой у самок крыс стока Wistar» (№ 2808010 от 21.11.2023). Способ предполагает моделирование менопаузы путем двусторонней ОЭ перед индукцией СД 2 типа и позволяет создать модель СД 2 типа при менопаузе, что отличает данный метод от существующих аналогов и делает его более приближенным к клинической практике [14; 5].

Б. Вен (B. Wen) и соавторы продемонстрировали более низкую скорость костеобразования при сочетании СД 2 типа и менопаузы, чем при менопаузе без нарушений углеводного обмена [115]. В то же время Р. Эймлапа (R. Aeimlapa) и соавторы получили экспериментальные данные о парадоксальных изменениях в виде низкого трабекулярного объема, снижения количества остеобластов, остеокластов и уровня СТХ при СД и менопаузе по сравнению с крысами без дефицита эстрогенов [27]. При сопоставлении вышеописанных данных с результатами нашего исследования мы установили, что менопауза вносит больший вклад в костное ремоделирование, чем СД. Данные выводы были сделаны на основании снижения уровня ФРФ-23, остеокальцина и склеростина, свидетельствующих о замедлении костного ремоделирования, у самцов крыс с СД, а также повышения уровня фосфора и RANKL в сочетании со снижением концентрации остеокальцина и большим разрежением костных трабекул у самок крыс с СД и менопаузой.

Экспериментальные исследования по влиянию иНГЛТ-2 на кость немногочисленны, и некоторые результаты получены при изучении дозолимитирующей токсичности препаратов с использованием грызунов. Так, при изучении вторичной фармакодинамики канаглифлозина выявлено повышение МПК по данным микро-КТ и усиление дифференцировки остеобластов при применении данного иНГЛТ-2 [37]. В то же время исследование по изучению дапаглифлозина показало, что крысы с СД 2 типа

(Zucker diabetic fatty) имели более высокий уровень кальцитонина, кальция и фосфора в моче, а лечение дапаглифлозином нивелировало данный эффект. Кроме того, применение дапаглифлозина приводило к снижению плотности кортикальной кости голени, но к повышению МПК в целом [50]. В проведенном нами сравнительном исследовании эмпаглифлозина и канаглифлозина продемонстрировано, что препараты в равной степени приводят к активации костной резорбции [20].

Дополнительно результаты ранее проведенных экспериментальных исследований свидетельствуют об анаболическом эффекте арГПП-1, связанном с повышением активности генов остеогенеза Runx и Osterix [42]. Так, в исследовании на самках крыс с СД и менопаузой применение лираглутида было ассоциировано с более низким уровнем СТХ, RANKL, RANKL/OPG и количества остеокластов, что подтверждало теорию о подавлении остеокластогенеза на фоне терапии арГПП-1 [115]. Дополнительно в исследовании С. Пал (S. Pal) и соавторов при изучении влияния лираглутида на модели крыс с остеопенией, вызванной овариэктомией, было установлено, что при применении арГПП-1 костная масса и концентрация P1NP сопоставимы с таковыми при применении ПТГ 1-34 [168]. In vitro лираглутид стимулировал фосфорилирование АМФ-зависимой протеинкиназы остеобластов, а также повышал в этих клетках количество митохондрий [168]. В более раннем исследовании Нан Лу (Nan Lu) и соавторов у крыс после ОЭ лираглутид также нивелировал негативное действие овариэктомии: в группе лечения авторами было отмечено повышение трабекулярного объема, трабекулярного числа и толщины трабекулярной кости, а также значительное повышение экспрессии мРНК Runx, уровня ЩФ и коллагена I типа, а также, что важно, снижение уровня PPAR- $\gamma$  [96].

Преимуществом проведенного нами исследования является изучение биохимических маркеров кальций-фосфорного обмена, костного ремоделирования и гистоморфометрии костной ткани на фоне терапии

лираглутидом (представитель арГПП-1) в сравнении иНГЛТ-2 разной степени селективности; причем как у самцов с экспериментальным СД 2 типа, так и у самок с СД 2 типа на фоне дефицита эстрогенов.

В ходе проведенного исследования установлено, что в группе животных, получавших эмпаглифлозин, наблюдался повышенный уровень фосфора, ФРФ-23 и значения кальций-фосфорного произведения по сравнению с другими группами животных, что согласуется с результатами ранее проведенных исследований [35]. В то же время результаты исследования продемонстрировали, что оба представителя класса иНГЛТ-2 способствуют ускорению скорости костной резорбции. Однако для канаглифлозина, вероятно, этот эффект более выражен, чем для эмпаглифлозина, что проявляется не только в снижении уровня кальция, но и в повышенном значении RANKL. Полученные различия могут быть объяснены низкой селективностью канаглифлозина и ингибированием рецепторов НГЛТ 1 типа по сравнению с эмпаглифлозином, который представляет собой высокоселективный иНГЛТ-2. Однако одинаковое увеличение коэффициента RANKL/OPG и признаки усиления костной резорбции в большей степени подтверждают класс-эффект иНГЛТ-2, чем наличие различий между препаратами этой группы в отношении костного ремоделирования.

Сравнение эффекта канаглифлозина и лираглутида у самок крыс с СД и дефицитом эстрогенов показало снижение уровня склеростина на фоне терапии арГПП-1, но не иНГЛТ-2. В тоже время оба препарата показали сопоставимую по значению концентрацию RANKL и соотношение RANKL/OPG. Результаты гистологического исследования препаратов костей также не выявили существенных различий при терапии канаглифлозином и лираглутидом, хотя уменьшение числа костных балок в зоне эпифиза бедра было более характерно для терапии иНГЛТ-2. Полученные нами данные подтверждают ингибирование костного ремоделирования при сочетании СД и дефицита эстрогенов и отсутствие значимых изменений при применении как лираглутида, так и канаглифлозина.

Таким образом, в ходе сравнительного анализа мы выявили отрицательное воздействие как высокоселективного эмпаглифлозина, так и низкоселективного канаглифлозина на показатели костной резорбции у самцов с экспериментальным СД 2 типа и отсутствие отрицательного влияния на костную ткань канаглифлозина в сравнении с лираглутидом у самок при сочетании экспериментального СД и менопаузы.

В рамках клинического исследования одной из целей было изучение особенностей костного ремоделирования при СД 2 типа. Известно, что СД 2 типа представляет собой независимый фактор риска для низкотравматических переломов, а длительное течение СД, наличие хронических осложнений и неудовлетворительный контроль гликемии могут ухудшать состояние костного ремоделирования. Доказано, что особенностью остеопороза при СД 2 типа является повышенная или нормальная МПК, что зачастую затрудняет диагностику. Повышение МПК при СД 2 типа также может быть объяснено несколькими механизмами, включая усиление роста и дифференцировки остеобластов через активацию рецепторов ИФР-1 в условиях гиперинсулинемии [53]. В то же время результаты исследования, проведенного В. Лесли (W. Leslie) и соавторами, продемонстрировали, что при СД 2 типа повышенная во всех участках МПК сочеталась со снижением показателя ТКИ, который напрямую коррелировал с повышением уровня гликемии [163].

Ранее полученные результаты оказались сопоставимы с нашими, позволившими подтвердить нарушения микроструктуры костной ткани в виде снижения ТКИ у трети пациентов с СД 2 типа с нормальной МПК и обратную корреляционную связь с уровнем HbA1c.

Российские исследователи показали, что при включении ТКИ в калькулятор FRAX® риск переломов становился выше [10]. В другом российском исследовании у женщин с СД 2 типа и переломами в анамнезе МПК была выше, а отличий по ТКИ не было по сравнению с пациентами без переломов в анамнезе [1].

В нашем исследовании использование значения МПК и ТКИ при расчете 10-летнего риска переломов с использованием программы FRAX® существенно не влияло на полученные результаты, что сопоставимо с результатами других исследователей [52] и доказывает необходимость поиска новых методик для диагностики остеопении и остеопороза среди больных СД 2 типа.

В ранее проведенном исследовании при изучении взаимосвязи маркеров костной резорбции с МПК и ТКИ у женщин в постменопаузе с СД и разной степенью нарушения МПК продемонстрировано более низкое значение OPG у больных СД 2 типа по сравнению с контрольной группой. В то же время значимой взаимосвязи между маркерами костного ремоделирования и степенью контроля гликемии и длительностью СД получено не было [4]. В нашем исследовании получены данные, свидетельствующие о том, что больных СД 2 типа с нецелевым уровнем HbA1c отличает более низкий уровень общего кальция крови и более высокий уровень RANKL при отсутствии изменений других лабораторных маркеров костного обмена.

Изучение маркеров костного ремоделирования (RANKL, OPG, остеокальцин, ФРФ-23) в дополнение к оценке уровня кальция и фосфора, ПТГ и 25(ОН)D в сыворотке крови в динамике на фоне терапии сахароснижающими препаратами позволило не только подтвердить высокую распространенность дефицита и недостаточности витамина D среди больных СД 2 типа, но и выявить некоторые закономерности. Так, нами были обнаружены изменения в концентрации маркеров ремоделирования у пациентов с СД, у которых наблюдался нецелевой уровень HbA1c. Также была выявлена зависимость качества костной ткани от степени гипергликемии. Однако при оценке изучаемых костных маркеров и показателей DXA через год терапии арГПП-1 и иНГЛТ-2 значимых изменений выявлено не было.

Результаты ранее проведенных клинических исследований в отношении влияния иНГЛТ-2 и арГПП-1 весьма противоречивы. Так, в крупном мета-анализе (более 12 тыс. пациентов, 20 РКИ) показано, что применение иНГЛТ-

2 не было ассоциировано с повышенным риском переломов (OR = 1,21; 95% CI [0,95; 1,54]; I<sup>2</sup> = 22 %). Кроме того, препараты данного класса не оказывали существенного влияния МПК и маркеры костного обмена: СТХ, P1NP, ПТГ, кальций и фосфор [68]. Похожие данные можно видеть и в метаанализе, объединившем данные по эмпаглифлозину, канаглифлозину, дапаглифлозину и ипраглифлозину, который не выявил повышения риска переломов при применении иНГЛТ-2 [44]. Отсутствие негативного эффекта данного класса сахароснижающих препаратов можно видеть и у пациентов старшей возрастной группы. Так, результаты метаанализа 6 РКИ с участием больных старше 65 лет (более 19 000 пациентов) не продемонстрировали повышение риска низкотравматичных переломов при использовании иНГЛТ-2 [148]. Схожие результаты получены и в других работах [86; 31; 154; 43; 185]. Однако все же стоит отметить возможность повышения риска переломов на фоне терапии отдельными иНГЛТ-2. Так, канаглифлозин в исследовании CANVAS показал повышение риска переломов по сравнению с общей популяцией (2,7 % против 1,9 %) [69].

Что касается другого современного класса сахароснижающих препаратов, арГПП-1, то, несмотря на их позитивное влияние на костное ремоделирование в экспериментальных исследованиях, препараты, по всей видимости, нейтральны в отношении костного ремоделирования при их использовании в клинической практике [174].

В нашем исследовании были получены данные о нарастании остеокальцина при применении препаратов группы арГПП-1, что может быть объяснено тем, что рецепторы ГПП-1 представлены на остеобластах, и при их активации может повышаться уровень остеокальцина. Вместе с тем повышение остеокальцина может оказывать не прямой стимулирующий эффект на секрецию ПТГ [65], что и было продемонстрировано в нашем исследовании. Однако повышение ПТГ отмечено лишь на 6 месяцев лечения препаратами арГПП-1. Вероятно, синхронное с ПТГ повышение 1,25(OH)<sub>2</sub>D в

нашем исследовании было результатом того, что повышение уровня ПТГ может стимулировать синтез  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  в почках [177].

Вместе с тем результаты некоторых исследований демонстрируют снижение риска переломов на фоне терапии арГПП-1. Так, в исследовании Л. Чень (L. Cheng) и соавторов применение лираглутида и ликсисенатида приводило к снижению риска переломов (ОР 0,56; 95 % ДИ, 0,38–0,81 и ОР 0,55; 95 % ДИ, 0,31–0,97 соответственно). Необходимо подчеркнуть тот факт, что в данный метаанализ были включены практически все арГПП-1, в том числе дулаглутид и семаглутид [98]. Наконец, в крупном метаанализе, суммирующем 177 РКИ изучалось влияние арГПП-1, иДПП-4 и иНГЛТ-2. По результатам анализа данного исследования был сделан вывод о том, что все препараты из группы инкретинов являются нейтральными в отношении костного ремоделирования при наблюдении в течение 26 недель [142].

Таким образом, на основании ранее опубликованных данных и полученных нами результатов можно сделать следующий вывод: иНГЛТ-2 и арГПП-1 могут быть рекомендованы для лечения СД 2 типа без учета исходного риска остеопоротических переломов и параметров костного ремоделирования, а назначение сахароснижающей терапии у больных СД 2 типа при лечении остеопороза должно проводиться по действующим клиническим рекомендациям с учетом кардио- и нефропротективного профиля эффективности и безопасности препаратов. Кроме того, как и в общей популяции, больные СД 2 типа нуждаются в коррекции недостаточности и дефицита витамина D.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, растущая заболеваемость сахарным диабетом 2 типа в мире значительно увеличивает нагрузку на систему здравоохранения за счет как хронических макро- и микрососудистых осложнений, коморбидных заболеваний, так и увеличения риска остеопоротических переломов. Следует отметить, что выбор современных сахароснижающих препаратов, включая ингибиторы НГЛТ-2 и агонисты рецепторов ГПП-1, на сегодняшний день основан на их кардио- и нефропротективном эффекте без особого учета их влияния на другие органы и системы, включая костную ткань, что диктует необходимость проведения исследований в этой области

Результаты проведенного экспериментального исследования позволили напрямую сопоставить костные эффекты ингибиторов НГЛТ-2 различной селективности (эмпаглифлозина и канаглифлозина), а также агониста рецепторов ГПП-1 (лираглутида), включая биохимические маркеры и гистоморфометрические данные. Установлено, что применение ингибиторов НГЛТ-2 в условиях экспериментального сахарного диабета 2 типа сопровождается активацией костной резорбции в виде повышения уровня лиганда рецептора активатора ядерного фактора каппа бета, снижения остеопротегерина и уменьшения плотности костных трабекул эпифизарной части бедра. С другой стороны, применение канаглифлозина и лираглутида при сахарном диабете 2 типа в условиях менопаузы приводит лишь к снижению уровня остеопротегерина и отсутствию значимых изменений в архитектонике костной ткани.

В условиях клинического исследования подтверждено, что использование оценки трабекулярного костного индекса у больных сахарным диабетом 2 типа позволяет улучшить диагностику нарушений микроархитектоники костной ткани. Дополнительно подтверждена гипотеза о нейтральном эффекте ингибиторов НГЛТ-2 различной селективности на параметры костного ремоделирования по сравнению с агонистами рецепторов

ГПП-1. Таким образом, выбор сахароснижающей терапии у больных сахарным диабетом 2 типа без остеопороза может проводиться согласно действующим алгоритмам и клиническим рекомендациям без учета риска остеопоротических переломов.

## ВЫВОДЫ

1. В экспериментальной модели сахарного диабета костное ремоделирование характеризуется снижением концентрации фактора роста фибробластов-23, остеокальцина и склеростина, при этом, дефицит эстрогенов посредством повышения соотношения лиганда рецептора активатора ядерного фактора каппа бета к остеопротегерину вносит больший вклад в увеличение скорости костного обмена, чем гипергликемия

2. Применение ингибиторов НГЛТ-2 в условиях экспериментального сахарного диабета сопровождается активацией костной резорбции: повышением уровня лиганда рецептора активатора ядерного фактора каппа бета, снижением остеопротегерина и уменьшением плотности костных трабекул эпифизарной части бедра. Применение канаглифлозина и лираглутида при сахарном диабете и менопаузе приводит к снижению уровня остеопротегерина и отсутствию значимых изменений в архитектонике костной

3. Маркеры костного ремоделирования и риск переломов, оцененный по шкале FRAX®, у больных сахарным диабетом 2 типа не изменены; только концентрация маркера резорбции, лиганда рецептора активатора ядерного фактора каппа бета, положительно ассоциирована с уровнем гликированного гемоглобина. У 35 % больных сахарным диабетом 2 типа и нормальной минеральной плотностью костной ткани при оценке трабекулярного костного индекса выявляется нарушение микроархитектоники костной ткани, которое ассоциировано с повышенным уровнем гликированного гемоглобина. Использование оценки трабекулярного костного индекса у больных сахарным диабетом позволяет улучшить диагностику нарушений микроархитектоники костной ткани в 11,0 раз по сравнению с оценкой минеральной плотности костной ткани при помощи рентгеновской денситометрии.

4. Терапия агонистами рецепторов ГПП-1 и ингибиторами НГЛТ-2 у больных сахарным диабетом в течение 12 месяцев сопровождается

улучшением гликемического профиля и снижением массы тела, при этом маркеры костного ремоделирования не претерпевают значимых изменений при терапии обоими классами сахароснижающих препаратов.

5. Отсутствие изменений маркеров костного ремоделирования и показателей минеральной плотности костной ткани при терапии ингибиторами НГЛТ-2 и агонистами рецепторов ГПП-1 у больных сахарным диабетом 2 типа в течение 12 месяцев подтверждает возможность применения этих классов сахароснижающих препаратов без учета риска остеопоротических переломов.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для выявления больных сахарным диабетом 2 типа с низким качеством костной ткани необходимо выполнение рентгеновской денситометрии, совмещенной с оценкой трабекулярного костного индекса.

2. Следует учитывать, что снижение трабекулярного костного индекса у больных сахарным диабетом 2 типа ассоциировано не только с возрастом и длительностью основного заболевания, но и с нецелевым уровнем гликированного гемоглобина, что требует своевременной интенсификации сахароснижающей терапии для достижения нормогликемии.

3. Выбор сахароснижающей терапии в виде ингибиторов НГЛТ-2 и агонистов рецепторов ГПП-1 у больных сахарным диабетом 2 типа без остеопороза должен проводиться согласно действующим алгоритмам без учета риска остеопоротических переломов.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

На основании проведенного клинико-экспериментального исследования и выявленных на данный момент закономерностей можно обосновать направление для дальнейших разработок в виде продолжения изучения костного ремоделирования у больных сахарным диабетом 2 типа в зависимости не только от степени компенсации углеводного обмена, но и от приема современных сахароснижающих препаратов (агонистов рецепторов ГПП-1 и ингибиторов НГЛТ-2). С этой целью необходимо продолжение как экспериментальных исследований с использованием иммуногистохимического исследования костной ткани, так и длительных проспективных наблюдений за пациентами, в том числе с сочетанием остеопороза и сахарного диабета для внедрения персонифицированного подхода в профилактике и в лечении заболеваний костной ткани в условиях гипергликемии.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

арГПП-1	– агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида 1 типа
АТФ	– аденозинтрифосфат
ГБ	– гипертоническая болезнь
ГПП-1	– глюкагоноподобный пептид-1
ДАПА	– дапаглифлозин
ДИ	– доверительный интервал
ДПНП	– диабетическая полинейропатия
иДПП-4	– ингибиторы дипептидилпептидазы 4 типа
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
ИМ	– инфаркт миокарда
ИМТ	– индекс массы тела
иНГЛТ-2	– ингибиторы натрий-глюкозного ко-транспортера 2 типа
ИФА	– иммуноферментный анализ
ИФР-1	– инсулиноподобный фактор роста 1
КАНА	– канаглифлозин
ЛИРА	– лираглутид
МПК	– минеральная плотность костной ткани
НГЛТ	– натрий-глюкозный ко-транспортер
ОНМК	– острое нарушение мозгового кровообращения
ОР	– относительный риск
ОШ	– отношение шансов
ОЭ	– овариэктомия
ПГТТ	– пероральный глюкозотолерантный тест
ПТГ	– паратиреоидный гормон
РКИ	– рандомизированные клинические исследования
СД	– сахарный диабет

СКФ	– скорость клубочковой фильтрации
ТКИ	– трабекулярный костный индекс
ФРФ-23	– фактор роста фибробластов-23
ХБП	– хроническая болезнь почек
ЩФ	– щелочная фосфатаза
ЭМПА	– эмпаглифлозин
25(OH)D	– кальцитриол
1,25(OH) <sub>2</sub> D	– кальцитриол
AGEs	– конечные продукты гликирования
DXA	– двухэнергетическая абсорбционная рентгеновская денситометрия
HbA1c	– гликированный гемоглобин
MAPK	– митоген-активируемая протеинкиназа
NaPi2a и NaPi2c	– натрий-фосфорные ко-транспортеры подтипов 2a и 2c
NF-κB	– ядерный фактор каппа бета
OPG	– остеопротегерин
P1NP	– N-концевой пропептид проколлагена I типа
PI3K	– фосфоинозитид-3-киназа
PPAR-γ	– рецептор, активируемый пероксисомными пролифераторами гамма
RAGE	– рецептор конечных продуктов гликирования
RANK	– рецептор-активатор ядерного фактора каппа бета
RANKL	– лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа бета
RANKL/OPG	– соотношение RANKL к OPG
VDR	– рецептор витамина D
CTX	– C-концевой телопептид коллагена I типа



**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. 10-летний риск переломов (FRAX®), минеральная плотность кости и трабекулярный костный индекс у женщин с сахарным диабетом 2 типа / Е. С. Мазуренко, О. Д. Рымар, Л. В. Щербакова [и др.] // Медицинский совет. – 2019. – № 4. – С. 62-68.
2. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / под ред. И. И. Дедова, М. В. Шестаковой, А. Ю. Майорова. – Вып. 11. – М., 2023. – 231 с.
3. Бондарь И. А. Изменения метаболизма коллагена при диабетической нефропатии / И. А. Бондарь, В. В. Климонтов // Проблемы эндокринологии. – 2005. – Т. 51, № 2. – С. 23-28.
4. Взаимосвязь маркеров ремоделирования костной ткани с минеральной плотностью костей у женщин с сахарным диабетом 2 типа, находящихся в постменопаузе / О. Н. Фазулина, В. В. Климонтов, А. П. Лыков [и др.] // Сахарный диабет. – 2016. – Т. 19, № 5. – С. 375-382.
5. Влияние терапии современными сахароснижающими препаратами на показатели костного обмена в условиях экспериментальной модели сахарного диабета и овариэктомии / Н. В. Тимкина, Н. Ю. Семенова, А. В. Симаненкова [и др.] // Сахарный диабет. – 2023. – Т. 26, № 2. – С. 145-156.
6. Гребенникова Т. А. Канонический сигнальный путь wnt/ $\beta$ -катенин: от истории открытия до клинического применения / Т. А. Гребенникова, Ж. Е. Белая, Л. Я. Рожинская // Терапевтический архив. – 2016. – Т. 88, № 10. – С. 74-81.
7. Гребенникова Т. А. Трабекулярный костный индекс для диагностики остеопороза при сахарном диабете 2 типа: клинический случай / Т. А. Гребенникова, Ж. Е. Белая // Остеопороз и остеопатии. – 2017. – Т. 20, № 1. – С. 22-27.

8. Гусенбекова Д. Г. Влияние дулаглутида на метаболическую адаптацию у больных сахарным диабетом 2 типа и ожирением / Д. Г. Гусенбекова, А. С. Аметов, Т. Н. Короткова // Доктор.Ру. – 2024. – Т. 23, № 4. – С. 54-58.
9. Доскина Е. В. Лечение пациенток с сахарным диабетом и постменопаузальным остеопорозом – трудности выбора / Е. В. Доскина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2020. – Т. 20, № 6. – С. 107-112.
10. Использование трабекулярного костного индекса для повышения чувствительности оценки вероятности переломов (FRAX) у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / Т. О. Ялочкина, Ж. Е. Белая, Т. О. Чернова [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2017. – Т. 14, № 4. – С. 67-72.
11. Климонтов В. В. Взаимосвязь композитного состава тела с минеральной плотностью костной ткани у женщин с сахарным диабетом 2 типа в постменопаузе / В. В. Климонтов, О. Н. Фазуллина // Сахарный диабет. – 2015. – Т. 18, № 1. – С. 66-69.
12. Клинические и метаболические факторы, ассоциированные с хроническим воспалением низкой интенсивности, у больных сахарным диабетом 2 типа / В. В. Климонтов, Н. В. Тян, О. Н. Фазуллина [и др.] // Сахарный диабет. – 2016. – Т. 19, № 4. – С. 295-302.
13. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых / Е. А. Пигарова, Л. Я. Рожинская, Ж. Е. Белая [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2016. – Т. 62, № 4. – С. 60-84.
14. Костное ремоделирование при менопаузе в сочетании с сахарным диабетом у крыс Wistar / Н. В. Тимкина, А. В. Симаненкова, А. А. Байрамов [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2023. – Т. 20, № 3. – С. 189-200.
15. Междисциплинарные клинические рекомендации «Лечение ожирения и коморбидных заболеваний» / И. И. Дедов, М. В. Шестакова,

- Г. А. Мельниченко [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 5-99.
16. Новая модель сахарного диабета 2-го типа и диабетической нефропатии у крыс / В. К. Байрашева, А. Ю. Бабенко, Ю. В. Дмитриев [и др.] // Трансляционная медицина. – 2016. – Т. 3, № 4. – С. 44-55.
  17. Особенности жирового обмена у пациентов с сахарным диабетом 2 типа на комбинированной терапии с эмпаглифлозином по сравнению с монотерапией метформином / А. П. Мишарова, А. С. Аметов, Л. В. Кондратьева [и др.] // Эндокринология: Новости. Мнения. Обучение. – 2024. – Т. 46, № 1. – С. 7-14.
  18. Переломы костей при сахарном диабете 2 типа: распространенность и факторы риска / Т. О. Ялочкина, Ж. Е. Белая, Л. Я. Рожинская [и др.] // Сахарный диабет. – 2016. – Т. 19, № 5. – С. 359-365.
  19. Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным Федерального регистра сахарного диабета за период 2010–2022 гг. / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, О. К. Викулова [и др.] // Сахарный диабет. – 2023. – Т. 26, № 2. – С. 104-123.
  20. Сравнительная оценка влияния ингибиторов натрий-глюкозного ко-транспортера 2 типа и ингибиторов дипептидилпептидазы 4 типа на параметры костного ремоделирования у крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа / Н. В. Тимкина, А. В. Симаненкова, Т. Л. Каронова [и др.] // Остеопороз и остеопатии. – 2021. – Т. 24, № 4. – С. 27-38.
  21. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза / Ж. Е. Белая, К. Ю. Белова, Е. В. Бирюкова [и др.] // Остеопороз и остеопатии. – 2021. – Т. 24, № 2. – С. 4-47.
  22. Ширинский В. С. Остеоиммунология: междисциплинарный подход к изучению взаимодействия клеток иммунной системы и костной ткани /

- В. С. Ширинский, И. В. Ширинский // Медицинская иммунология. – 2022. – Т. 24, № 5. – С. 911-930.
23. Шкиреева С. Ю. Длительная терапия бисфосфонатами в реальной клинической практике: преимущества, основные проблемы и риски / С. Ю. Шкиреева, О. М. Лесняк // Остеопороз и остеопатии. – 2023. – Т. 26, № 3. – С. 12-17.
24. A signature of microRNA-155 in the pathogenesis of diabetic complications / A. M. Khamaneh, M. R. Alipour, F. Sheikhzadeh Hesari [et al.] // Journal of physiology and biochemistry. – 2015. – Vol. 71, N 2. – P. 301-309.
25. Alexander R. T. Effect of diuretics on renal tubular transport of calcium and magnesium / R. T. Alexander, H. Dimke // American journal of physiology – Renal physiology. – 2017. – Vol. 312, N 6. – P. F998-F1015.
26. Alexeyeva N. Dual balance correction in repeated measures ANOVA with missing data / N. Alexeyeva // Electronic journal of applied statistical analysis. – 2017. – Vol. 10, N 1. – P. 146-159.
27. Anomalous bone changes in ovariectomized type 2 diabetic rats: inappropriately low bone turnover with bone loss in an estrogen-deficient condition / R. Aeimlapa, K. Wongdee, W. Tiyasatkulkovit [et al.] // American journal of physiology – Endocrinology and metabolism. – 2019. – Vol. 317, N 4. – P. E646-E657.
28. Association between hypoglycaemic events and fall-related fractures in medicare-covered patients with type 2 diabetes / S. S. Johnston, C. Conner, M. Aagren [et al.] // Diabetes, obesity and metabolism. – 2012. – Vol. 14, N 7. – P. 634-643.
29. Berberoglu Z. Effects of rosiglitazone on bone mineral density and remodelling parameters in postmenopausal diabetic women: a 2-year follow-up study / Z. Berberoglu, A. C. Yazici, N. G. Demirag // Clinical endocrinology. – 2010. – Vol. 73, N 3. – P. 305-312.

30. Biological basis of bone strength: anatomy, physiology and measurement / N. H. Hart, R. U. Newton, J. Tan [et al.] // Journal of musculoskeletal neuronal interactions. – 2020. – Vol. 20, N 3. – P. 347-371.
31. Blevins T. C. Bone effects of canagliflozin, a sodium glucose co-transporter 2 inhibitor, in patients with type 2 diabetes mellitus / T. C. Blevins, A. Farooki // Postgraduate medicine. – 2017. – Vol. 129, N 1. – P. 159-168.
32. Blumer M. J. F. Bone tissue and histological and molecular events during development of the long bones / M. J. F. Blumer // Annals of anatomy. – 2021. – Vol. 235. – P. 151704.
33. Bone fragility in diabetes: novel concepts and clinical implications / L. C. Hofbauer, B. Busse, R. Eastell [et al.] // The Lancet diabetes and endocrinology. – 2022. – Vol. 10, N 3. – P. 207-220.
34. Bone resorption is unchanged by liraglutide in type 2 diabetes patients: a randomised controlled trial / K. Hygum, T. Harsløf, N. R. Jørgensen [et al.] // Bone. – 2020. – Vol. 132. – P. 115197.
35. Bonewald L. F. FGF23 production by osteocytes / L. F. Bonewald, M. J. Wacker // Pediatric nephrology. – 2013. – Vol. 28, N 4. – P. 563-568.
36. Botolin S. Chronic hyperglycemia modulates osteoblast gene expression through osmotic and non-osmotic pathways / S. Botolin, L. R. McCabe // Journal of cellular biochemistry. – 2006. – Vol. 99, N 2. – P. 411-424.
37. Canagliflozin promotes osteoblastic MC3T3-E1 differentiation via AMPK/RUNX2 and improves bone microarchitecture in type 2 diabetic mice / C. Song, T. Chen, S. Rui [et al.] // Frontiers in endocrinology. – 2022. – Vol. 13. – P. 1081039.
38. Canagliflozin triggers the FGF23/1,25-dihydroxyvitamin D/PTH axis in healthy volunteers in a randomized crossover study / J. E. Blau, V. Bauman, E. M. Conway [et al.] // JCI insight. – 2018. – Vol. 3, N 8. – P. 1-14.
39. Canagliflozin, an SGLT2 inhibitor, corrects glycemic dysregulation in TallyHO model of T2D but only partially prevents bone deficits /

- K. M. Thrailkill, R. C. Bunn, S. Uppuganti [et al.] // Bone. – 2020. – Vol. 176, N 1. – P. 139-148.
40. Canagliflozin: effects in overweight and obese subjects without diabetes mellitus / H. E. Bays, R. Weinstein, G. Law [et al.] // Obesity. – 2014. – Vol. 22, N 4. – P. 1042-1049.
  41. Carcinogenicity in rats of the SGLT2 inhibitor canagliflozin / S. De Jonghe, J. Proctor, C. Vinken [et al.] // Chemico-biological interactions. – 2014. – Vol. 224. – P. 1-12.
  42. Chronic administration of glucagon-like peptide-1 receptor agonists improves trabecular bone mass and architecture in ovariectomised mice / M. Pereira, J. Jeyabalan, C. S. Jørgensen [et al.] // Bone. – 2015. – Vol. 81. – August. – P. 459-467.
  43. Comparative safety of different sodium-glucose transporter 2 inhibitors in patients with type 2 diabetes: a systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials / C. X. Li, L. Y. Liu, C. X. Zhang [et al.] // Frontiers in endocrinology. – 2023. – Vol. 14. – P. 1-17.
  44. Comparative safety of the sodium glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors: a systematic review and meta-analysis / J. R. Donnan, C. A. Grandy, E. Chibrikov [et al.] // BMJ Open. – 2019. – Vol. 9, N 1. – P. 1-15.
  45. Comparison of the long-term effects of liraglutide and glimepiride monotherapy on bone mineral density in patients with type 2 diabetes / M. C. Gilbert, M. Marre, J. J. Holst [et al.] // Endocrine practice. – 2016. – Vol. 22, N 4. – P. 406-411.
  46. Consoli A. Do thiazolidinediones still have a role in treatment of type 2 diabetes mellitus? / A. Consoli, G. Formoso // Obesity and metabolism. – 2013. – Vol. 15. – P. 967-977.
  47. Cowan P. T. Anatomy, bones / P. T. Cowan, M. V. Launico, P. Kahai [Электронный ресурс]. – Treasure Island, FL: StatPearls, 2019. – URL:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537199> (дата обращения: 02.12.2024).

48. Dapagliflozin and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes / S. D. Wiviott, I. Raz, M. C. Bonaca [et al.] // The New England journal of medicine. – 2019. – Vol. 380, N 4. – P. 347-357.
49. Dapagliflozin and liraglutide therapies rapidly enhanced bone material properties and matrix biomechanics at bone formation site in a type 2 diabetic mouse model / A. Mieczkowska, C. Millar, D. Chappard [et al.] // Calcified tissue international. – 2020. – Vol. 107, N 3. – P. 281-293.
50. Dapagliflozin attenuates hyperglycemia related osteoporosis in ZDF rats by alleviating hypercalciuria / J. Y. Wang, Y. Z. Cheng, S. L. Yang [et al.] // Frontiers in endocrinology. – 2019. – Vol. 10. – P. 1-14.
51. Dapagliflozin maintains glycaemic control while reducing weight and body fat mass over 2 years in patients with type 2 diabetes mellitus inadequately controlled on metformin / J. Bolinder, Ö. Ljunggren, L. Johansson [et al.] // Diabetes, obesity and metabolism. – 2014. – Vol. 16, N 2. – P. 159-169.
52. Densitometer-specific differences in the correlation between body Mass index and lumbar spine trabecular bone score / G. Mazzetti, C. Berger, W. D. Leslie [et al.] // Journal of clinical densitometry. – 2017. – Vol. 20, N 2. – P. 233-238.
53. Diabetes and bone health: latest evidence and clinical implications / V. Sundararaghavan, M. M. Mazur, B. Evans [et al.] // Therapeutic advances in musculoskeletal disease. – 2017. – Vol. 9, N 3. – P. 67-74.
54. Diabetes and fractures: new evidence of atypical femoral fractures? / N. H. Rasmussen, J. Dal, F. de Vries [et al.] // Osteoporosis international. – 2020. – Vol. 31, N 3. – P. 447-455.
55. Diabetes mellitus and the risk of fractures at specific sites: a meta-analysis / H. Wang, Y. Ba, Q. Xing [et al.] // BMJ Open. – 2019. – Vol. 9, N 1. – P. 1-11.

56. Diabetes pharmacotherapy and effects on the musculoskeletal system / E. Kalaitzoglou, J. L. Fowlkes, I. Popescu [et al.] // Diabetes/metabolism research and reviews. – 2019. – Vol. 35, N 2. – P. e3100.
57. Diagnosis and management of bone fragility in diabetes: an emerging challenge / S. L. Ferrari, B. Abrahamsen, N. Napoli [et al.] // Osteoporosis international. – 2018. – Vol. 29, N 12. – P. 2585-2596.
58. Differential effects of PPAR- $\gamma$  activation versus chemical or genetic reduction of DPP-4 activity on bone quality in mice / K. A. Kyle, T. L. Willett, L. L. Baggio [et al.] // Endocrinology. – 2011. – Vol. 152, N 2. – P. 457-467.
59. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and bone fractures: a meta-analysis of randomized clinical trials / M. Monami, I. Dicembrini, A. Antenore [et al.] // Diabetes Care. – 2011. – Vol. 34, N 11. – P. 2474-2476.
60. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and fracture risk: an updated meta-analysis of randomized clinical trials / J. Fu, J. Zhu, Y. Hao [et al.] // Scientific reports. – 2016. – Vol. 6. – P. 29104.
61. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes therapy – focus on alogliptin / A. Capuano, L. Sportiello, M. I. Maiorino [et al.] // Drug design, development and therapy. – 2013. – Vol. 7. – P. 989-1001.
62. Disassociation of bone resorption and formation by GLP-2: a 14-day study in healthy postmenopausal women / D. B. Henriksen, C. Alexandersen, B. Hartmann [et al.] // Bone. – 2007. – Vol. 40, N 3. – P. 723-729.
63. DPP IV inhibitor treatment attenuates bone loss and improves mechanical bone strength in male diabetic rats / L. Glorie, G. J. Behets, L. Baerts [et al.] // American journal of physiology – Endocrinology and metabolism. – 2014. – Vol. 307, N 5. – P. E447-E455.
64. Effect of ertugliflozin on glucose control, body weight, blood pressure and bone density in type 2 diabetes mellitus inadequately controlled on metformin monotherapy (VERTIS MET) / J. Rosenstock, J. Frias, D. Páll [et al.] // Diabetes, obesity and metabolism. – 2018. – Vol. 20, N 3. – P. 520-529.



65. Effect of GLP-1 treatment on bone turnover in normal, type 2 diabetic, and insulin-resistant states / B. Nuche-Berenguer, C. Moreno, C. Esbrit [et al.] // *Calcified tissue international*. – 2009. – Vol. 84, N 6. – P. 453-461.
66. Effect of rosiglitazone on bone quality in a rat model of insulin resistance and osteoporosis / L. D. Sardone, R. Renlund, T. L. Willett [et al.] // *Diabetes*. – 2011. – Vol. 60. – P. 3271-3278.
67. Effect of rosiglitazone, metformin, and glyburide on bone biomarkers in patients with type 2 diabetes / B. Zinman, S. M. Haffner, W. H. Herman [et al.] // *Journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 2010. – Vol. 95, N 1. – P. 134-142.
68. Effect of SGLT2 inhibitors on fractures, BMD, and bone metabolism markers in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis / X. Wang, F. Zhang, Y. Zhang [et al.] // *Osteoporosis international*. – 2023. – Vol. 34, N 12. – P. 2013-2025.
69. Effects of canagliflozin on fracture risk in patients with type 2 diabetes mellitus / N. B. Watts, J. P. Bilezikian, K. Usiskin [et al.] // *The journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 2016. – Vol. 101, N 1. – P. 157-166.
70. Effects of commonly used medications on bone tissue mineralisation in SaOS-2 human bone cell line: an in vitro study / M. Salai, D. Somjen, R. Gigi [et al.] // *Bone and joint journal*. – 2013. – Vol. 95 B, N 11. – P. 1575-1580.
71. Effects of diabetes and ovariectomy on rat hippocampus (a biochemical and stereological study) / B. Z. Altunkaynak, D. Unal, M. E. Altunkaynak [et al.] // *Gynecological endocrinology*. – 2012. – Vol. 28, N 3. – P. 228-233.
72. Effects of gastric inhibitory polypeptide, glucagon-like peptide-1 and glucagon-like peptide-1 receptor agonists on bone cell metabolism / M. S. S. Hansen, M. Tencerova, J. Frølich [et al.] // *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. – 2018. – Vol. 1. – P. 25-37.
73. Effects of GLP-1 receptor agonists on bone mineral density in patients with type 2 diabetes mellitus: a 52-week clinical study / T. Cai, H. Q. Li,

- L. L. Jiang [et al.] // BioMed research international. – 2021. – Vol. 2021. – P. 3361309.
74. Effects of GLP-1 receptor analogue liraglutide and DPP-4 inhibitor vildagliptin on the bone metabolism in ApoE<sup>-/-</sup> mice / L. Zhang, C. Li, Z. Tang [et al.] // Annals of translational medicine. – 2019. – Vol. 7, N 16. – P. 369.
  75. Effects of ipragliflozin versus metformin in combination with sitagliptin on bone and muscle in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: subanalysis of a prospective, randomized, controlled study (PRIME-V study) / M. Koshizaka, K. Ishikawa, R. Ishibashi [et al.] // Journal of diabetes investigation. – 2021. – Vol. 12, N 2. – P. 200-206.
  76. Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes / B. Zinman, C. Wanner, J. M. Lachin [et al.] // The New England journal of medicine. – 2015. – Vol. 373, N 22. – P. 2117-2128.
  77. Epidemiology and correlates of osteoporotic fractures among type 2 diabetic patients / I. Goldshtein, A. M. Nguyen, A. E. de Papp [et al.] // Archives of osteoporosis. – 2018. – Vol. 13, N 1. – P. 15.
  78. Evaluation of bone mineral density and bone biomarkers in patients with type 2 diabetes treated with canagliflozin / J. C. Bilezikian, N. B. Watts, K. Usiskin [et al.] // The journal of clinical endocrinology and metabolism. – 2016. – Vol. 101, N 1. – P. 44-51.
  79. Evaluation of the risk of fracture in type 2 diabetes mellitus patients with incretins: an updated meta-analysis / Q. X. Kong, Q. Ruan, C. Fan [et al.] // Endokrynologia Polska. – 2021. – Vol. 72, N 4. – P. 319-328.
  80. Exendin-4 increases bone mineral density in type 2 diabetic OLETF rats potentially through the down-regulation of SOST/sclerostin in osteocytes / J. Y. Kim, S. K. Lee, K. J. Jo [et al.] // Life sciences. – 2013. – Vol. 92, N 10. – P. 533-540.

81. Exendin-4 promotes proliferation and differentiation of MC3T3-E1 osteoblasts by MAPKs activation / Y. Feng, L. Su, X. Zhong [et al.] // Journal of molecular endocrinology. – 2016. – Vol. 4, N 3. – P. 189-199.
82. Exendin-4, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, prevents osteopenia by promoting bone formation and suppressing bone resorption in aged ovariectomized rats / X. Ma, J. Meng, M. Jia [et al.] // Journal of bone and mineral research. – 2013. – Vol. 28, N 7. – P. 1641-1652.
83. Expression of glucagon-like peptide-1 receptor and glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor is regulated by the glucose concentration in mouse osteoblastic MC3T3-E1 cells / E. Aoyama, I. Watari, A. Podyma-Inoue [et al.] // International journal of molecular medicine. – 2014. – Vol. 34, N 2. – P. 475-482.
84. Extrapankreatic roles of glimepiride on osteoblasts from rat mandibular bone in vitro: regulation of cytodifferentiation through PI3-kinases/Akt signalling pathway / C. Ma, W. Xiong, H. Liu [et al.] // Archives of oral biology. – 2011. – Vol. 56, N 4. – P. 307-316.
85. Foretz M. Understanding the glucoregulatory mechanisms of metformin in type 2 diabetes mellitus / M. Foretz, B. Guigas, B. Viollet // Nature reviews endocrinology. – 2019. – Vol. 15, N 10. – P. 569-589.
86. Fracture risk after initiation of use of canagliflozin: a cohort study / M. Fralick, S. C. Kim, S. Schneeweiss [et al.] // Annals of internal medicine. – 2019. – Vol. 170, N 3. – P. 155-163.
87. Fracture risk in diabetic elderly men: the MrOS study / N. Napoli, E. S. Strotmeyer, K. E. Ensrud [et al.] // Diabetologia. – 2014. – Vol. 57, N 10. – P. 2057-2065.
88. Fracture risk in patients with type 2 diabetes mellitus and possible risk factors: a systematic review and meta-analysis / A. Moayeri, M. Mohamadpour, S. F. Mousavi [et al.] // Therapeutics and clinical risk management. – 2017. – Vol. 13. – P. 455-468.

89. Fracture risk in patients with type 2 diabetes under different antidiabetic treatment regimens: a retrospective database analysis in primary care / S. Pscherer, K. Kostev, F. W. Dippel [et al.] // Diabetes, metabolic syndrome and obesity. – 2016. – Vol. 9. – P. 17-23.
90. Fracture risk in type 2 diabetes: update of a population-based study / L. J. Melton, C. L. Leibson, S. J. Achenbach [et al.] // Journal of bone and mineral research. – 2008. – Vol. 23, N 8. – P. 1334-1342.
91. Fronczek-Sokół J. Effect of glimepiride on the skeletal system of ovariectomized and non-ovariectomized rats / J. Fronczek-Sokół, M. Pytlik // Pharmacological reports. – 2014. – Vol. 66, N 3. – P. 412-417.
92. Gao L. Liraglutide promotes the osteogenic differentiation in MC3T3-E1 cells via regulating the expression of Smad2/3 through PI3K/Akt and Wnt/ $\beta$ -Catenin pathways / L. Gao, S. L. Li, Y. K. Li // DNA and cell biology. – 2018. – Vol. 37, N 12. – P. 1031-1043.
93. Glimepiride induces proliferation and differentiation of rat osteoblasts via the PI3-kinase/Akt pathway / C. Ma, B. Gu, J. Ma [et al.] // Metabolism: clinical and experimental. – 2010. – Vol. 59, N 3. – P. 359-366.
94. GLP-1 receptor agonist treatment increases bone formation and prevents bone loss in weight-reduced obese women / E. W. Iepsen, J. R. Lundgren, B. Hartmann [et al.] // Journal of clinical endocrinology and metabolism. – 2015. – Vol. 100, N 8. – P. 2909-2917.
95. Glucagon-like peptide-1 attenuates diabetes-associated osteoporosis in ZDF rat, possibly through the RAGE pathway / Y. Cheng, C. Liu, Q. Xiang [et al.] // BMC musculoskeletal disorders. – 2022. – Vol. 23, N 1. – P. 1-13.
96. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist liraglutide has anabolic bone effects in ovariectomized rats without diabetes / N. Lu, H. Sun, J. Yu [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, N 7. – P. 1-15.
97. Glucagon-like peptide-1 receptor agonists and fracture risk: a network meta-analysis of randomized clinical trials / Y. S. Zhang, W. Y. Weng, B. C. Xie [et al.] // Osteoporosis international. – 2018. – Vol. 29, N 12. – P. 2639-2644.

98. Glucagon-like peptide-1 receptor agonists and risk of bone fracture in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials / L. Cheng, Y. Hu, Y. Y. Li [et al.] // Diabetes/metabolism research and reviews. – 2019. – Vol. 35, N 7. – P. 1-11.
99. Hegazy S. K. Evaluation of the anti-osteoporotic effects of metformin and sitagliptin in postmenopausal diabetic women / S. K. Hegazy // Journal of bone and mineral metabolism. – 2015. – Vol. 33, N 2. – P. 207-212.
100. High glucose downregulates the effects of autophagy on osteoclastogenesis via the AMPK/mTOR/ULK1 pathway / Z. Y. Cai, B. Yang, Y. X. Shi [et al.] // Biochemical and biophysical research communications. – 2018. – Vol. 503, N 2. – P. 428-435.
101. Ho B. FGF23 signalling and physiology / B. Ho, C. Bergwitz // Journal of molecular endocrinology. – 2021. – Vol. 66, N 2. – P. R23-R32.
102. Incidence of fractures in patients with type 2 diabetes in the SAVOR-TIMI 53 trial / O. Mosenzon, C. Wei, J. Davidson [et al.] // Diabetes care. – 2015. – Vol. 38, N 11. – P. 2142-2150.
103. Insulin receptor signaling in osteoblasts regulates postnatal bone acquisition and body composition / K. Fulzele, R. C. Riddle, D. J. DiGirolamo [et al.] // Cell. – 2010. – Vol. 142, N 2. – P. 309-319.
104. Insulin-deficient diabetes-induced bone microarchitecture alterations are associated with a decrease in the osteogenic potential of bone marrow progenitor cells: preventive effects of metformin / M. J. Tolosa, S. R. Chuguransky, C. Sedlinsky [et al.] // Diabetes research and clinical practice. – 2013. – Vol. 101, N 2. – P. 177-186.
105. International diabetes federation. IDF diabetes atlas. 10<sup>th</sup> ed. [Электронный ресурс]. – Brussels, 2021. – URL: <https://www.diabetesatlas.org> (дата обращения: 02.12.2024).
106. Is insulin an anabolic agent in bone? Dissecting the diabetic bone for clues / K. M. Thrailkill, C. K. Lumpkin, R. C. Bunn [et al.] // American journal of

- physiology – Endocrinology and metabolism. – 2005. – Vol. 289. – P. 735–745.
107. Itoh N. Endocrine FGFs: evolution, physiology, pathophysiology, and pharmacotherapy / N. Itoh, H. Ohta, M. Konishi // *Frontiers in endocrinology*. – 2015. – Vol. 6. – P. 1-9.
  108. Jackuliak C. Effect of antidiabetic treatment on bone / C. Jackuliak, M. Kužma, J. Payer // *Physiological research*. – 2019. – Vol. 68, Suppl. 2. – P. S107–S120.
  109. Jiating L. Role of metformin on osteoblast differentiation in type 2 diabetes / L. Jiating, J. Buyun, Z. Yinchang // *BioMed research international*. – 2019. – Vol. 26. – P. 9203934.
  110. Khan M. Physiology, parathyroid hormone / M. Khan, A. Jose, S. Sharma [Электронный ресурс]. – Treasure Island, FL: StatPearls 2018. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499940> (дата обращения: 02.12.2024).
  111. Komori T. Regulation of proliferation, differentiation and functions of osteoblasts by Runx2 / T. Komori // *International journal of molecular sciences*. – 2019. – Vol. 20, N 7. – P. 1694.
  112. Leung E. K. Parathyroid hormone / E. K. Leung // *Advances in clinical chemistry*. – 2021. – Vol. 101. – P. 41-93.
  113. Li Y. The unique metabolic characteristics of bone marrow adipose tissue / Y. Li, Y. Meng, X. Yu // *Frontiers in endocrinology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1-13.
  114. Liraglutide attenuates the osteoblastic differentiation of MC3T3-E1 cells by modulating AMPK/mTOR signaling / X. K. Hu, X. H. Yin, H. Q. Zhang [et al.] // *Molecular medicine reports*. – 2016. – Vol. 14, N 4. – P. 3662-3668.
  115. Liraglutide exerts a bone-protective effect in ovariectomized rats with streptozotocin-induced diabetes by inhibiting osteoclastogenesis / B. Wen, L. Zhao, H. Zhao [et al.] // *Experimental and therapeutic medicine*. – 2018. – Vol. 15, N 6. – P. 5077-5083.

116. Liraglutide regulates proliferation, differentiation, and apoptosis of preosteoblasts through a signaling network of Notch/Wnt/Hedgehog signaling pathways / H. W. Hou, C. Xue, Y. Wang [et al.] // European review for medical and pharmacological sciences. – 2020. – Vol. 24, N 23. – P. 12408-12422.
117. Liraglutide, the glucagon-like peptide-1 receptor agonist, has anabolic bone effects in diabetic Goto-Kakizaki rats / H. X. Sun, N. Lu, X. Luo [et al.] // Journal of diabetes. – 2015. – Vol. 7, N 4. – P. 584-588.
118. Loke Y. K. Long-term use of thiazolidinediones and fractures in type 2 diabetes: a meta-analysis / Y. K. Loke, S. Singh, C. D. Furberg // CMAJ. – 2009. – Vol. 180, N 1. – P. 32-39.
119. Long-term effects of Sglt2 deletion on bone and mineral metabolism in mice / C. Gerber, X. Wang, V. David [et al.] // JBMR Plus. – 2021. – Vol. 5, N 8. – P. 1-8.
120. Lu L. Postmenopausal osteoporosis coexisting with sarcopenia: the role and mechanisms of estrogen / L. Lu, L. Tian // Journal of endocrinology. – 2023. – Vol. 259, N 1. – P. e230116.
121. Mechanisms of diabetes mellitus-induced bone fragility / N. Napoli, M. Chandran, D. D. Pierroz [et al.] // Nature reviews endocrinology. – 2017. – Vol. 13, N 4. – P. 208-219.
122. Metformin prevents anti-osteogenic in vivo and ex vivo effects of rosiglitazone in rats / C. Sedlinsky, M. S. Molinuevo, A. M. Cortizo [et al.] // European journal of pharmacology. – 2011. – Vol. 668, N 3. – P. 477-485.
123. Naot D. The activity of peptides of the calcitonin family in bone / D. Naot, D. S. Musson, J. Cornish // Physiological reviews. – 2019. – Vol. 99, N 1. – P. 781-805.
124. Nonclinical toxicology assessments support the chronic safety of dapagliflozin, a first-in-class sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor / M. Tirmenstein, T. E. Dorr, E. B. Janovitz [et al.] // International journal of toxicology. – 2013. – Vol. 32, N 5. – P. 336-350.

125. Older women with diabetes have an increased risk of fracture: a prospective study / A. V. Schwartz, D. E. Sellmeyer, K. E. Ensrud [et al.] // The journal of clinical endocrinology and metabolism. – 2001. – Vol. 86, N 1. – P. 32-38.
126. Once-weekly semaglutide versus placebo in adults with increased fracture risk: a randomised, double-blinded, two-centre, phase 2 trial / M. S. Hansen, E. M. Wölfel, S. Jeromdesella [et al.] // eClinicalMedicine. – 2024. – Vol. 72. – P. 102624.
127. Osteoblast differentiation is functionally associated with decreased AMP kinase activity / T. Kasai, K. Bandow, H. Suzuki [et al.] // Journal of cellular physiology. – 2009. – Vol. 221, N 3. – P. 740-749.
128. Pal China S. Adiponectin signaling and its role in bone metabolism / S. Pal China, S. Sanyal, N. Chattopadhyay // Cytokine. – 2018. – Vol. 112. – P. 116-131.
129. Parathyroid hormone and its related peptides in bone metabolism / T. Chen, Y. Wang, Z. Hao [et al.] // Biochemical pharmacology. – 2021. – Vol. 192. – P. 114669.
130. Patel J. J. PPAR agonists stimulate adipogenesis at the expense of osteoblast differentiation while inhibiting osteoclast formation and activity / J. J. Patel, O. R. Butters, T. R. Arnett [et al.] // Cell biochemistry and function. – 2014. – Vol. 32, N 4. – P. 368-377.
131. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus / U. Galicia-Garcia, A. Benito-Vicente, S. Jebari [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2020. – Vol. 21, N 17. – P. 6275.
132. Pharmacotherapy of type 2 diabetes: an update and future directions / A. DeMarsilis, N. Reddy, C. Boutari [et al.] // Metabolism. – 2022. – Vol. 137. – P. 155332.
133. PPARG post-translational modifications regulate bone formation and bone resorption / L. A. Stechschulte, C. J. Czernik, Z. C. Rotter [et al.] // EBioMedicine. – 2016. – Vol. 10. – P. 174-184.



134. PPAR $\gamma$  signaling and metabolism: the good, the bad and the future / M. Ahmadian, J. M. Suh, N. Hah [et al.] // *Nature medicine*. – 2013. – Vol. 19, N 5. – P. 557–566.
135. Prevalence of osteoporosis in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of observational studies / X. Liu, F. Chen, L. Liu [et al.] // *BMC endocrine disorders*. – 2023. – Vol. 23, N 1. – P. 1-12.
136. Preventative effects of metformin on glucocorticoid-induced osteoporosis in rats / J. Zhao, Y. Li, H. Zhang [et al.] // *Journal of bone and mineral metabolism*. – 2019. – Vol. 37, N 5. – P. 805-814.
137. Real-world antidiabetic drug use and fracture risk in 12,277 patients with type 2 diabetes mellitus: a nested case-control study / E. Losada, B. Soldevila, M. S. Ali [et al.] // *Osteoporosis international*. – 2018. – Vol. 29, N 9. – P. 2079-2086.
138. Receptors and effects of gut hormones in three osteoblastic cell lines / E. L. Pacheco-Pantoja, L. R. Ranganath, J. A. Gallagher [et al.] // *BMC physiology*. – 2011. – Vol. 11. – P. 12.
139. Rena G. The mechanisms of action of metformin / G. Rena, D. G. Hardie, E. R. Pearson // *Diabetologia*. – 2017. – Vol. 60, N 9. – P. 1577-1585.
140. Risk factors for fractures and falls in older women with type 2 diabetes mellitus / S. Patel, S. Hyer, K. Tweed [et al.] // *Calcified tissue international*. – 2008. – Vol. 82, N 2. – P. 87-91.
141. Risk of bone fractures associated with glucagon-like peptide-1 receptor agonists' treatment: a meta-analysis of randomized controlled trials / B. Su, H. Sheng, M. Zhang [et al.] // *Endocrine*. – 2015. – Vol. 48, N 1. – P. 107-115.
142. Risk of fracture with dipeptidyl peptidase-4 inhibitors, glucagon-like peptide-1 receptor agonists, or sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and network meta-analysis combining 177 randomized studies / S. Chai, F. Liu, Z. Yang [et al.] // *Frontiers in pharmacology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1-8.

143. Role of advanced glycation end-products and oxidative stress in type-2-diabetes-induced bone fragility and implications on fracture risk stratification / G. Cavati, F. Pirrotta, D. Merlotti [et al.] // *Antioxidants*. – 2023. – Vol. 12, N 4. – P. 928.
144. Romero-Díaz C. Diabetes and bone fragility / C. Romero-Díaz, D. Duarte-Montero, S. A. Gutiérrez-Romero [et al.] // *Diabetes therapy*. – 2021. – Vol. 12, N 1. – P. 71-86.
145. Rosiglitazone causes bone loss in mice by suppressing osteoblast differentiation and bone formation / A. A. Ali, R. S. Weinstein, S. A. Stewart [et al.] // *Endocrinology*. – 2005. – Vol. 146, N 3. – P. 1226-1235.
146. Rosiglitazone decreases bone mass and bone marrow fat / T. Harsløf, L. Wamberg, L. Møller [et al.] // *The journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 2011. – Vol. 96, N 5. – P. 1541-1548.
147. Safety of saxagliptin: events of special interest in 9156 patients with type 2 diabetes mellitus / B. Hirshberg, A. Parker, H. Edelberg [et al.] // *Diabetes/metabolism research and reviews*. – 2014. – Vol. 30, N 7. – P. 556-569.
148. Safety of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors in elderly patients with type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials / M. Rigato, G. C. Fadini, A. Avogaro [et al.] // *Diabetes, obesity and metabolism*. – 2023. – Vol. 25, N 10. – P. 2963-2969.
149. Saxagliptin affects long-bone microarchitecture and decreases the osteogenic potential of bone marrow stromal cells / M. L. Sbaraglini, M. S. Molinuevo, C. Sedlinsky [et al.] // *European journal of pharmacology*. – 2014. – Vol. 727. – P. 8-14.
150. Schacter G. I. Diabetes and osteoporosis: part I, epidemiology and pathophysiology / G. I. Schacter, W. D. Leslie // *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. – 2021. – Vol. 50, N 2. – P. 275-285.

151. SCOPE 2021: a new scorecard for osteoporosis in Europe / J. A. Kanis, N. Norton, N. C. Harvey [et al.] // Archives of osteoporosis. – 2021. – Vol. 16, N 1. – P. 82.
152. Sedky A. A. Improvement of cognitive function, glucose and lipid homeostasis and serum osteocalcin levels by liraglutide in diabetic rats / A. A. Sedky // Fundamental and clinical pharmacology. – 2021. – Vol. 35, N 6. – P. 989-1003.
153. SGLT2 inhibitor therapy improves blood glucose but does not prevent diabetic bone disease in diabetic DBA/2J male mice / K. M. Thrailkill, R. C. Bunn, J. S. Nyman [et al.] // Bone. – 2016. – Vol. 82. – P. 101-107.
154. SGLT2 inhibitor treatment is not associated with an increased risk of osteoporotic fractures when compared to GLP-1 receptor agonists: a nationwide cohort study / Z. K. Al-Mashhadi, R. Viggers, J. Starup-Linde [et al.] // Frontiers in endocrinology. – 2022. – Vol. 13. – P. 1-15.
155. Sitagliptin and fractures in type 2 diabetes: a nationwide population-based propensity-matching study / S. Y. Lin, W. H. Hsu, C. C. Lin [et al.] // Frontiers in pharmacology. – 2018. – Vol. 9. – P. 677.
156. Spatiotemporal characterization of microdamage accumulation and its targeted remodeling mechanisms in diabetic fatigued bone / X. Liu, W. Li, J. Cai [et al.] // FASEB journal. – 2020. – Vol. 34, N 2. – P. 2579-2594.
157. Srinivasan A. Calcitonin: a useful old friend / A. Srinivasan, F. K. Wong, D. Karponis // Journal of musculoskeletal neuronal interactions. – 2020. – Vol. 20, N 4. – P. 600-609.
158. Starup-Linde J. Effect of incretins on skeletal health / J. Starup-Linde, K. Hygum, B. Langdahl // Current opinion in endocrinology, diabetes and obesity. – 2023. – Vol. 30, N 4. – P. 206-212.
159. State of the art in osteoporosis risk assessment and treatment / J. Liu, E. M. Curtis, C. Cooper [et al.] // Journal of endocrinological investigation. – 2019. – Vol. 42, N 10. – P. 1149-1164.

160. Successful integration of nonclinical and clinical findings in interpreting the clinical relevance of rodent neoplasia with a new chemical entity / K. Ways, M. D. Johnson, R. N. Mamidi [et al.] // Toxicologic pathology. – 2015. – Vol. 43, N 1. – P. 48-56.
161. Swimming exercise improves SIRT1, NF- $\kappa$ B, and IL-1 $\beta$  protein levels and pancreatic tissue injury in ovariectomized diabetic rats / C. Habibi, N. Ahmadiasl, A. Nourazarian [et al.] // Hormone molecular biology and clinical investigation. – 2022. – Vol. 43, N 3. – P. 345-352.
162. Taylor S. I. Possible adverse effects of SGLT2 inhibitors on bone / S. I. Taylor, J. E. Blau, K. I. Rother // The Lancet diabetes and endocrinology. – 2015. – Vol. 3, N 1. – P. 8-10.
163. TBS (trabecular bone score) and diabetes-related fracture risk / W. D. Leslie, B. Aubry-Rozier, O. Lamy [et al.] // The journal of clinical endocrinology and metabolism. – 2013. – Vol. 98, N 2. – P. 602-609.
164. The effects of rosiglitazone on osteoblastic differentiation, osteoclast formation and bone resorption / E. S. Cho, M. K. Kim, Y. O. Son [et al.] // Molecules and cells. – 2012. – Vol. 33. – P. 173-181.
165. The extraglycemic effect of SGLT-2i on mineral and bone metabolism and bone fracture / D. Bingzi, L. Ruolin, W. Jun [et al.] // Frontiers in endocrinology. – 2022. – Vol. 13, N 6. – P. 1-16.
166. The impact of glucagon-like peptide 1 receptor agonists on bone metabolism and its possible mechanisms in osteoporosis treatment / B. Xie, S. Chen, Y. Xu [et al.] // Frontiers in pharmacology. – 2021. – Vol. 12. – P. 1-7.
167. The impact of SGLT2 inhibitors, compared with insulin, on diabetic bone disease in a mouse model of type 1 diabetes / K. M. Thrailkill, J. S. Nyman, R. C. Bunn [et al.] // Bone. – 2017. – Vol. 94. – P. 141-151.
168. The osteogenic effect of liraglutide involves enhanced mitochondrial biogenesis in osteoblasts / S. Pal, S. K. Maurya, S. Chattopadhyay [et al.] // Biochemical pharmacology. – 2019. – Vol. 164. – P. 34-44.

169. The pathophysiology of osteoporosis in obesity and type 2 diabetes in aging women and men: the mechanisms and roles of increased bone marrow adiposity / D. Ali, M. Tencerova, F. Figeac [et al.] // *Frontiers in endocrinology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1-16.
170. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone increases bone resorption in women with type 2 diabetes: a randomized, controlled trial / U. Gruntmanis, S. Fordan, H. K. Ghayee [et al.] // *Calcified tissue international*. – 2010. – Vol. 86, N 5. – P. 343-349.
171. The RANK–RANKL–OPG system: a multifaceted regulator of homeostasis, immunity, and cancer / D. De Leon-Oliva, S. Barrena-Blázquez, L. Jiménez-Álvarez [et al.] // *Medicina (Lithuania)*. – 2023. – Vol. 59, N 10. – P. 1-15.
172. The risk of fractures associated with thiazolidinediones: a self-controlled case-series study / I. J. Douglas, S. J. Evans, S. Pocock [et al.] // *PLoS medicine*. – 2009. – Vol. 6, N 9. – P. e1000154.
173. The risk of hip and non-vertebral fractures in type 1 and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis update / T. Vilaca, M. Schini, S. Harnan [et al.] // *Bone*. – 2020. – Vol. 137. – P. 115457.
174. The risk of major osteoporotic fractures with GLP-1 receptor agonists when compared to DPP-4 inhibitors: a Danish nationwide cohort study / Z. K. Al-Mashhadi, R. Viggers, R. Fuglsang-Nielsen [et al.] // *Frontiers in endocrinology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1-16.
175. The risk of osteoporotic forearm fractures in postmenopausal women in a Siberian population sample / E. Mazurenko, O. Rymar, L. Shcherbakova [et al.] // *Journal of personalized medicine*. – 2020. – Vol. 10, N 3. – P. 77.
176. The role of osteoblasts in energy homeostasis / N. Dirckx, M. C. Moorer, T. L. Clemens [et al.] // *Nature reviews endocrinology*. – 2019. – Vol. 15, N 11. – P. 651-665.
177. The serum vitamin D metabolome: what we know and what is still to discover / R. C. Tuckey, C. Y. S. Chenga, A. T. Slominskib [et al.] // *The*

- journal of steroid biochemistry and molecular biology. – 2019. – Vol. 186. – P. 4-21.
178. The skeletal effects of pioglitazone in type 2 diabetes or impaired glucose tolerance: a randomized controlled trial / A. Grey, M. Bolland, S. Fenwick [et al.] // European journal of endocrinology. – 2014. – Vol. 170, N 2. – P. 255-262.
  179. The use of metformin, insulin, sulphonylureas, and thiazolidinediones and the risk of fracture: systematic review and meta-analysis of observational studies / K. Hidayat, X. Du, M. J. Wu [et al.] // Obesity reviews. – 2019. – Vol. 20, N 10. – P. 1494-1503.
  180. Thiazolidinediones (TZDs) affect osteoblast viability and biomarkers independently of the TZD effects on aromatase / A. Seth, V. Sy, A. Pareek [et al.] // Hormone and metabolic research. – 2013. – Vol. 45, N 1. – P. 1-8.
  181. Toulis K. A. Thiazolidinedione use and the risk of fractures / K. A. Toulis, D. G. Goulis, A. D. Anastasilakis // CMAJ. – 2009. – Vol. 180, N 8. – P. 841–842.
  182. Transformation of mature osteoblasts into bone lining cells and RNA sequencing-based transcriptome profiling of mouse bone during mechanical unloading / A. R. Hong, K. Kim, J. Y. Lee [et al.] // Endocrinology and metabolism. – 2020. – Vol. 35, N 2. – P. 456-469.
  183. Type 1 diabetes mellitus induced low bone turnover in ovariectomized rats / B. Liu, W. Feng, T. Hasegawa [et al.] // Histology and histopathology. – 2018. – Vol. 34, N 1. – P. 57-67.
  184. Type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, and vitamin D / A. Sacerdote, C. Dave, V. Lokshin [et al.] // Current diabetes reports. – 2019. – Vol. 19, N 10. – P. 101.
  185. Use of glucagon-like peptide-1 receptor agonists and bone fractures: a meta-analysis of randomized clinical trials / G. Mabileau, A. Mieczkowska, D. Chappard [et al.] // Journal of diabetes. – 2014. – Vol. 6. – P. 260-266.

186. Veis D. J. Osteoclasts, master sculptors of bone / D. J. Veis, C. A. O'Brien // Annual review of pathology. – 2023. – Vol. 18. – P. 257-281.
187. Vestergaard C. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes – a meta-analysis / C. Vestergaard // Osteoporosis international. – 2007. – Vol. 18, N 4. – P. 427-444.
188. Vinke J. S. J. Effects of sodium glucose cotransporter 2 inhibitors on mineral metabolism in type 2 diabetes mellitus / J. S. J. Vinke, H. J. L. Heerspink, M. H. De Borst // Current opinion in nephrology and hypertension. – 2019. – Vol. 28, N 4. – P. 321-327.
189. Vitamin D sources, metabolism, and deficiency: available compounds and guidelines for its treatment / L. J. Dominguez, M. Farruggia, N. Veronese [et al.] // Metabolites. – 2021. – Vol. 11, N 4. – P. 255.
190. Weight loss and maintenance related to the mechanism of action of glucagon-like peptide 1 receptor agonists / J. Ard, A. Fitch, S. Fruh [et al.] // Advances in therapy. – 2021. – Vol. 38, N 6. – P. 2821-2839.