

СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕГЕНЕРАЦІЇ ДОВГИХ КІСТОК У ЩУРІВ ІЗ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ ХРОНІЧНОЮ ГІПЕРГЛІКЕМІЄЮ

Є.С. Дудченко, Г.Ф. Ткач

Сумський державний університет, м. Суми, Україна

Ключові слова:
регенерація, кістка,
механічна травма,
хронічна гіперглікемія.

Буковинський медичний
вісник. Т.24, № 2 (94).
С. 34-40.

DOI:
10.24061/2413-0737.
XXIV.2.94.2020.40

E-mail:
transmitter@ukr.net
tkachgf732@gmail.com

Мета роботи – з'ясувати гістологічні, ультрамікроскопічні та гістоморфометричні особливості регенераторного процесу довгих кісток у щурів із експериментальною хронічною гіперглікемією (ХГ).

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 60 білих лабораторних щурах-самцях, яких розподілили на такі групи: I – контрольна група (20 щурів); II – група для оцінювання стану глюкозного гомеостазу і підтвердження змодельованої ХГ (10 щурів); III – група для порівняння з групою II (10 щурів); IV – тварини з ХГ та посттравматичним дефектом кісток (20 щурів). У тварин II та IV груп ХГ моделювали шляхом двотижневого навантаження 10 % водним розчином фруктози із подальшим одноразовим введенням стрептозоточину (40 мг/кг) та нікотинової кислоти (1 мг/кг). Тварин I та IV груп виводили з експерименту на 21-шу добу після нанесення травми. Світлову мікроскопію виконували з використанням мікроскопа Олутрис ВН-2; растрову мікроскопію – за допомогою електронного мікроскопа РЕМ 102.

Результати. На 21-шу добу після відтворення травми у щурів контрольної групи більша частина ділянки дефекту була заповнена сформованими кістковими балками. У групі з ХГ у цей термін лише тільки відбувалось початкове формування тонких дрібнопетлястих кісткових трабекул. У товщі балок розташовувались поодинокі групи хондрогенних клітин. Крім того, у регенераті спостерігались жирові клітини та лімфоцитарно-лейкоцитарна інфільтрація. Площа грубоволокнистої кісткової тканини в контрольній групі була на 29,26 % більшою, а площа сполучної тканини – на 10,87 % меншою, ніж у тварин із ХГ. Також у групі з ХГ регенерат містив грануляційну та хрящову тканини.

Висновок. Хронічна гіперглікемія призводить до порушення проліферації та диференціації остеобластичного диферону в бік формування фіброзно-хрящового регенерату.

Ключевые слова:
регенерация, кость,
механическая
травма, хроническая
гипергликемия.

Буковинский медицин-
ский вестник. Т.24, № 2
(94). С. 34-40.

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИЕЙ

Е.С. Дудченко, Г.Ф. Ткач

Цель работы – выяснить гистологические, ультрамикроскопические и гистоморфометрические особенности регенераторного процесса длинных костей у крыс с экспериментальной хронической гипергликемией (ХГ).

Материал и методы. Исследование проведено на 60 белых лабораторных крысах-самцах, которые были разделены на следующие группы: I – контрольная группа (20 крыс); II – группа для оценки состояния глюкозного гомеостазу и подтверждения смоделированной ХГ (10 крыс); III – группа для сравнения с группой II (10 крыс); IV – животные с ХГ и посттравматическим дефектом костей (20 крыс). У животных II и IV группы ХГ моделировали путем двухнедельной нагрузки 10 % водным раствором фруктозы с последующим однократным введением стрептозоточина (40

мг/кг) и никотиновой кислоты (1 мг/кг). Животных I и IV групп выводили из эксперимента на 21-ый день после нанесения травмы. Световую микроскопию выполняли с использованием микроскопа Olympus BH-2; растровую микроскопию – с помощью электронного микроскопа РЭМ 102.

Результаты. На 21-ые сутки после воспроизведения травмы у крыс контрольной группы большая часть участка дефекта была заполнена сформированными костными балками. В группе с ХГ в этот срок только лишь происходило первоначальное формирование тонких мелкопетлистых костных трабекул. В толще балок располагались отдельные группы хондрогенных клеток. Кроме того, в регенерате наблюдались жировые клетки и лимфоцитарно-лейкоцитарная инфильтрация. Площадь грубоволокнистой костной ткани в контрольной группе была на 29,26 % больше, а площадь соединительной ткани – на 10,87 % меньше, чем у животных с ХГ. Также в группе с ХГ регенерат содержал грануляционную и хрящевую ткани.

Вывод. Хроническая гипергликемия приводит к нарушению пролиферации и дифференциации остеобластического дифферона в сторону формирования фиброзно-хрящевого регенерата.

Key words: regeneration, bone, mechanical trauma, chronic hyperglycemia.

Bukovinian Medical Herald. V.24, № 2 (94). P. 34-40.

STRUCTURAL FEATURES OF LONG BONES REGENERATION IN RATS WITH EXPERIMENTAL CHRONIC HYPERGLYCEMIA

Ye.S. Dudchenko, G.F.Tkach

Objective – to find out the histological, ultramicroscopic and histomorphometric features of regenerative process of long tubular bones in rats with experimental chronic hyperglycemia (CH).

Material and methods. The study was performed on 60 white laboratory male rats, which were divided into following groups: I – control group (20 rats); II – group for assessment of glucose homeostasis and simulated CH confirmation (10 rats); III – group for comparison with group II (10 rats); IV – animals with CH and post-traumatic bone defect (20 rats). CH in I and IV groups was simulated by 10% aqueous fructose solution (loading during two weeks) followed by a single injection of streptozotocin (40 mg/kg) and nicotinic acid (1 mg/kg). Animals of I and IV groups were removed from the experiment on the 21st day after injury. Light microscopy was performed using Olympus BH-2 microscope; scanning microscopy – using the electron microscope SEM 102.

Results. On the 21st day after reproduction of the injury in rats, the defect site of control rats was mostly filled with formed bone trabecula. At this time in the group with simulated CH only the initial formation of thin fine-meshed bone trabeculae occurred. Single groups of chondrogenic cells were observed around the osteoid beams. In addition, fat cells and lymphocyte-leukocyte infiltration were present in the regenerate. In control group the area of woven bone tissue was 29.26 % larger, and the area of connective tissue was 10.87 % smaller than in CH animals. Also the regenerate of CH rats contained granulation and cartilaginous tissues.

Conclusion. Chronic hyperglycemia leads to delayed restorative osteogenesis and impairment of proliferation and differentiation of osteoblastic differon towards the formation of fibrocartilage regenerate.

Вступ. На сьогодні травми опорно-рухового апарату посідають друге місце серед причин тимчасової непрацездатності та третє місце серед причин інвалідності

та смертності [1]. Згідно з прогнозами, до 2025 року щорічна кількість переломів у Європі зросте на 28 % (з 3,5 до 4,5 мільйона випадків) [2]. Поряд із цим, за

Оригінальні дослідження

даними ВООЗ, в усьому світі близько 422 мільйони осіб страждають на цукровий діабет (ЦД), а до 2045 року експерти прогнозують зростання захворюваності на ЦД до 629 млн, що становить велику соціально-економічну проблему [3].

Низка нещодавніх метааналізів продемонстрували, що в пацієнтів із ЦД 1-го та 2-го типів відносний ризик переломів кісток від 1,2 до 5,5 раза вищий, ніж в осіб без порушення глікозного гомеостазу [4, 5, 6]. Крім того, показано, що у хворих на ЦД 2-го типу перелом довгих кісток скелета асоційований із вищим показником ускладнень та смертності, порівняно із контрольною групою [7].

Вважається, що тривалий вплив гіперглікемії призводить до зміни метаболізму кісток та порушення їх мікроструктури через різноманітні механізми на молекулярному та структурному рівнях. Зокрема, відомо, що ЦД пригнічує процеси ремоделювання кісток [8], зумовлює накопичення в них кінцевих продуктів глікації [9], спотворює реакцію на гормональні сигнали та викликає розвиток мікросудинних ускладнень [10].

Сьогодні особливу увагу вчених привертає питання післятравматичного відновлення кісток в умовах хронічної гіперглікемії (ХГ). Результати багатьох досліджень на тваринах показали, що ЦД пов'язаний із порушенням процесу остеорегенерації [11, 12, 13], що проявляє себе пригніченням проліферації клітин та зменшення механічної жорсткості в ділянці перелому.

Експерименти *in vitro* встановили, що ХГ гальмує дозрівання остеобластів та призводить до зсуву диференціації мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) від остеобластогенезу в бік адипогенезу [14]. Поряд із цим виявлено, що у щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом суттєво зменшується експресія факторів транскрипції, необхідних для остеобластної диференціації МСК [15].

Незважаючи на значну кількість робіт щодо розкриття особливостей молекулярних та клітинних механізмів регенерації кісток в осіб із ЦД, на сьогодні бракує сучасних морфологічних досліджень, які б дозволили на різних рівнях структурної організації охарактеризувати посттравматичне відновлення кісток в умовах впливу на організм ХГ, що і стало метою нашого дослідження.

Мета дослідження. З'ясувати гістологічні, ультрамікроскопічні та гістоморфометричні особливості регенераторного процесу довгих кісток у щурів із експериментальною ХГ.

Матеріал і методи. Експериментальне дослідження проведено на 60 білих лабораторних щурах-самцях зрілого віку – 7-9 місяців, яких розподілили на такі групи: I – контрольна група для проведення коректного порівняльного аналізу одержаних даних процесу остеорепарації (20 щурів), яка була поділена на дві підгрупи – по 10 щурів для гістологічного та ультрамікроскопічного дослідження; II – група для оцінювання стану глікозного гомеостазу і підтвердження змодельованої ХГ (10 щурів); III – група для порівняльного аналізу з групою оцінювання стану глікозного гомеостазу (10

щурів); IV група – тварини з ХГ та посттравматичним дефектом кісток (20 щурів), яка також була поділена на дві підгрупи – по 10 щурів для гістологічного та ультрамікроскопічного дослідження.

Перед початком експерименту всі тварини оглянули на предмет їх рухової активності та стану зовнішніх покривів. Після цього щури підлягали двотижневій карантинізації. Піддослідних тварин доглядали відповідно до загальноприйнятих рекомендацій, вимог та положень щодо догляду за лабораторними тваринами («Правила проведення робіт із використанням експериментальних тварин», додаток 4, затверджений Наказом Міністерства охорони здоров'я № 755 від 12 серпня 1997 р.; «Про заходи щодо подальшого вдосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин»; «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах», ухвалені Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.); Гельсінкська декларація Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000 р.); Положення «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985 р.). Під час проведення дослідних робіт норми етики та моралі не були порушені. Щури перебували в кімнаті віварію за умов сталої температури (24–25 °C), вологості (60 ± 5) % та умов 12-годинного циклу зміни темряви й освітлення. Поточне прибирання кліток виконували щоденно.

У тварин II та IV груп моделювали ХГ таким чином: упродовж двох тижнів замість питної води щури вживали 10 % водний розчин фруктози. Після цього кожному щуру одноразово виконане внутрішньоочеревинне введення стрептозотозину (Streptozocin «Sigma-Aldrich») (40 мг/кг) та нікотинової кислоти (1 мг/кг). Щурам I та III групи виконана одноразова внутрішньоочеревинна ін'єкція стерильного цитратного буфера. Після введення стрептозотозину тварини перебували у звичайних умовах віварію на звичайному харчовому та питному раціоні впродовж 60 діб. На 60-ту добу після відтворення моделі ХГ у тварин II групи в плазмі крові визначали показники вмісту глюкози натше, інсуліну, глікованого гемоглобіну та С-пептиду, на основі яких підтверджували наявність гіперглікемії.

Щурам I та IV груп був змодельований у великогомілковій кістці дефект із метою можливого подальшого дослідження процесу зрощення відламків кісток на мікро- та ультраструктурному рівні. Оперативне втручання проводили в асептичних умовах під кетаміновим наркозом. За 30 хвилин до початку операції тваринам внутрішньом'язово вводили профілактичну дозу ампіциліну (7,5 мг/кг), ксилазин (3 мг/кг) та кетамін (8 мг/кг). Передопераційну підготовку операційного поля проводили шляхом виголювання шерстяного покриву в ділянці передньої поверхні гомілки та тричі обробляли 3 % спиртовим розчином йоду. Робили розріз завдовжки 0,8-1,5 см по лінії *margo anterior tibiae*. За допомогою портативної зуботехнічної бормашини стерильним бором (d 1,6 мм) при малих обертах з охолодженням у

верхній третині діафіза великогомілкової кістки формували отвір до кістково-мозкового каналу. Операційну рану закривали шкірним швом, який обробляли 3 % спиртовим розчином йоду. Впродовж наступних трьох діб після операції для профілактики гнійних ускладнень післяопераційний шов обробляли 3 % спиртовим розчином йоду, а для знеболювання внутрішньом'язово вводили кеторолак дозою 0,2 мг двічі на добу. Кісткові дефекти залишали загоюватися під кров'яним згустком. Тварин із I та IV груп з експерименту виводили шляхом передозування тіопенталового наркозу (4 мг/100 г маси тіла) на 21-шу добу після нанесення травми.

З метою вивчення мікроскопічної будови відпрепаровані ділянки великогомілкової кістки з дефектом фіксували в 10 % розчині формаліну, потім проводили демінералізацію в 5 % водному розчині Трилону Б. Далі зразки зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації та проводили заливання в парафін. Потім з отриманих препаратів робили зрізи на санному мікротомі МС-2 товщиною 4-6 мкм. Забарвлення проводили гематоксилін-еозином, а світлову мікроскопію – з використанням мікроскопа Olympus BH-2 (Японія). Морфометричний аналіз здійснювали за допомогою мікросітки, мікролінійки та з використанням обчислювальної програми «Digimizer». Вимірювали такі параметри: площу запального інфільтрату (мм²), площу грануляційної тканини (мм²), площу сполучної тканини (мм²), площу грубоволокнистої кісткової тканини (мм²), площу хрящової тканини (мм²).

Для ультрамікроскопічного вивчення з використанням растрової електронної мікроскопії травмовані великогомілкові кістки щурів видаляли та фіксували у 2,5% розчині глутарового альдегіду на 0,2 М какодилатному буфері з рН = 7,2 при температурі +4°C і постфіксували в 1% розчині OsO₄ протягом 4 годин при температурі +4°C, дегідрували за допомогою серії етилового спирту висхідної концентрації. Фіксували на графітових столиках та висушували на повітрі. Перед переглядом у растровому мікроскопі зразки напилювали золотом у вакуумному універсальному пості «ВУП-5», поміщали в растровий електронний мікроскоп «РЕМ 102» та фотографували.

Статистичне оброблення всіх одержаних числових даних проводили з використанням електронного пакета програм SPSS-17. Перевірку величин на нормальність розподілу реалізовували із застосуванням критерію Колмогорова-Смірнова. Дані наведені у вигляді середньої арифметичної (M) та середнього квадратичного відхилення (SD). Визначення достовірності відмінностей між двома вибірками проводили з використанням параметричного критерію Стьюдента (t). Відмінність вважали достовірною, якщо ймовірність випадкової різниці (P) не перевищувала 0,05 (P < 0,05).

Результати дослідження та їх обговорення. На 21-шу добу після відтворення травми у щурів контрольної групи більша частина ділянки дефекту була заповнена сформованими кістковими балками. Найвиразніше цей процес відбувався від материнської кістки, де утворення

кісткових балок проходило у вигляді тяжів у товщу сполучнотканинного матриксу. Навколо капілярів простежувався початок формування первинних остеонів. У центральній частині дефекту залишалась незначна площа фіброретикулярної сполучної тканини, у якій тільки спостерігався початок упорядкування колагенових волокон і трансформація їх в остеодні балки (рис. 1 А). На електронних сканограмах новоутворені кісткові балки мали циркулярне розміщення (рис. 1 Б). Будова їх була нещільною та комірчастою. Ділянки між балками заповнювали клітини кісткового мозку округлої форми, що, ймовірно за все, були клітинами-попередниками гемопоєзу.

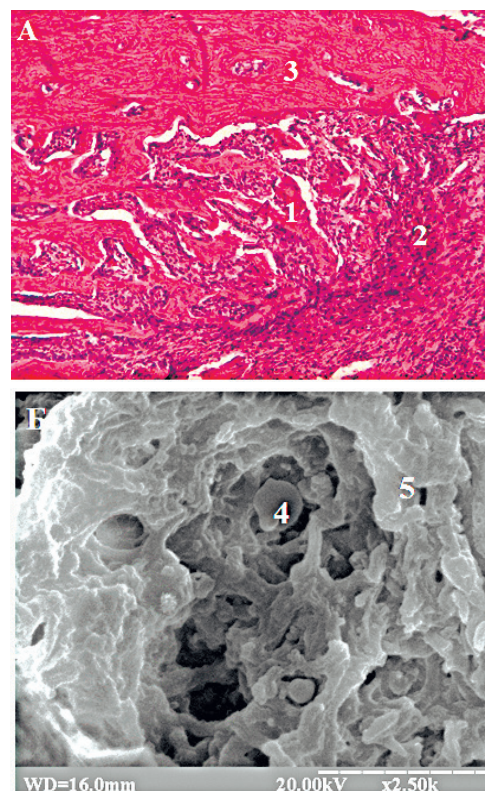


Рис. 1. Ділянка дефектів великогомілкових кісток щурів контрольної групи на 21-шу добу репаративного остеогенезу. А – Кісткові балки (трабекули) (1), фіброретикулярна (грубоволокниста) сполучна тканина (2), материнська кістка (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. х 200. Б – міжтрабекулярні проміжки (4), кісткові балки (5). Електронна сканограма. Зб. х 2500

На 21-шу добу репаративного остеогенезу в групі із модельованою ХГ лише тільки відбувалось початкове формування тонких дрібнопетлястих кісткових трабекул. Вони мали осередкове, нерівномірне розміщення, нещільну та переривчасту структуру. У товщі балок спостерігались поодинокі групи хондрогених клітин. Крім того, регенерат характеризувався наявністю жирових клітин та локальною лімфоцитарно-лейкоцитарною інфільтрацією (рис. 2 А, Б). При скануючому електронно-мікроскопічному дослідженні поверхня дефекту була вкрита формуючими остеогенними балками (рис. 2 В).

Оригінальні дослідження

На 21-шу добу репаративного остеогенезу більшу площу регенерату контрольної групи займала грубоволокниста кісткова тканина, яка склала 1,01 мм², що на 29,26 % (p < 0,001) більше за групу тварин із ХГ. Площа сполучної тканини у тварин групи контролю була меншою від групи з ХГ на 10,87 % (p < 0,001). Крім того, регенерат у групі з ХГ налічував (0,099 ± 0,01) мм² грануляційної тканини та (0,22 ± 0,01) мм² хрящової тканини (рис. 3).

У представленому дослідженні проведено вивчення морфологічних особливостей регенерації довгих кісток скелета у щурів із ХГ. Для експерименту обрана механічна травма великогомілкових кісток. ХГ моделювали за допомогою двотижневого навантаження фруктозою та одноразового введення стрептозоточину і нікотинової кислоти.

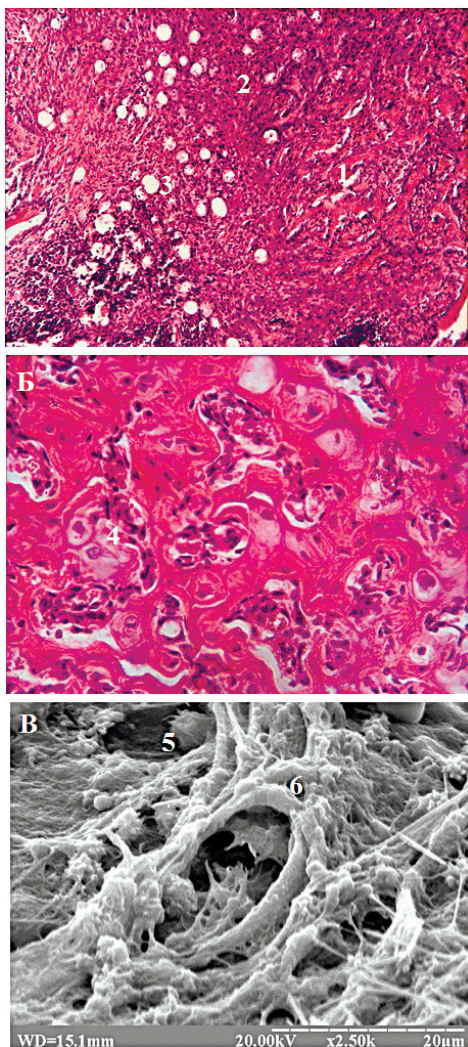


Рис. 2. Ділянка дефектів великогомілкових кісток щурів із змодельованою хронічною гіперглікемією на 21-шу добу репаративного остеогенезу. А – остеогенні балки (1), сполучна тканина (2), жирові клітини (ліпоцити) (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. x 100. Б – ізогенні групи хондрогених клітин (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. x 400. В – остеобласт (5), остеогенні балки (трабекули) (6). Електронна сканограма. Зб. x 2500

Результати кількох робіт повідомляють про високий відсоток (від 8 до 32 %) порушень процесів репаративного остеогенезу в умовах ЦД 2-го типу, а також про те, що ХГ призводить до зменшення проліферації та диференціації клітин хрящового й остеобластичного диферонів, які беруть участь у регенерації [16, 17]. У нашому дослідженні було виявлено, що в групі тварин із ХГ відбувається порушення проліферації та диференціації остеобластичного диферону в бік формування фіброзно-хрящового регенерату.

Колективами Marin et al. [18] і Hugum et al. [8] показано, що за умов ХГ порушується узгоджена дія сигнальних молекул та регуляторів транскрипції репаративного остеогенезу, що призводить до зниження функціонування остеобластів, збільшення кількості жирової тканини в складі регенерату та істотного гальмування процесу консолідації переломів. Під час аналізу процесу остеорепарації ми також виявили затримання ліквідації першої фази запалення у тварин із ХГ, як наслідок, на 21-ту добу регенерат у цій групі містив жирові клітини та ділянки локальної лімфоцитарно-лейкоцитарної інфільтрації.

Важливу роль у загоєнні кістки відіграє інсулін, що стимулює утворення кісткового матриксу, призводить до збільшення синтезу колагену остеобластами. У дослідженнях in vitro визначено зниження рівня осифікації новоутвореної тканини та порушення формування хряща в умовах дефіциту інсуліну [19]. Дослідники з'ясували, що в щурів із ЦД рівень синтезу колагену в зоні перелому знижується на 50-55 %, що призводить до погіршення механічних властивостей новоутвореної тканини. У нашому дослідженні ми виявили порушення структурування колагену в остеїдні балки у тварин із ХГ та нерівномірне утворення й розміщення хрящової тканини в регенераті.

Площі тканинспецифічних структур регенерату в дефектах досліджуваних групах на 21-шу добу експерименту

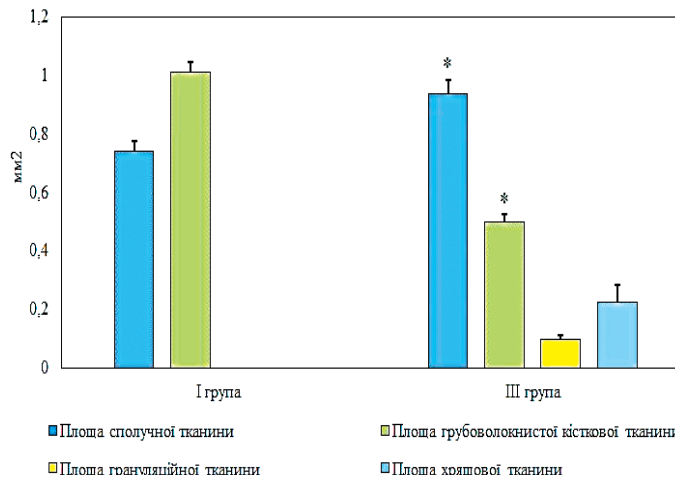


Рис. 3. Площі тканинспецифічних структур регенерату в дефектах досліджуваних групах на 21-шу добу експерименту. I група – контрольна група тварин. III група – тварини з хронічною гіперглікемією. * – статистично значуща достовірність відмінності між групами порівняння

Дедух та ін. [20] в експериментальних дослідженнях з'ясували, що на фоні змодельованого ЦД у тварин у ділянці регенерату відзначається підвищена щільність остеокластів, зростає площа хондроїда та відбувається порушення заміщення хрящової тканини кістковою, порушуються процеси ангиогенезу, утворення колагену та глікозаміногліканів. Площа фіброретикулярної тканини в ділянці регенерату у тварин із ЦД значно перевищувала показник у контрольних тварин, що свідчило про ускладнення процесів репаративного остеогенезу. За допомогою аналізу морфометричних показників у нашому дослідженні виявлено, що у тварин, в яких рівень глюкози перевищував нормальні показники, на 21-шу добу репаративного остеогенезу площа сполучної тканини була значно вищою, ніж у групі порівняння.

Показано, що у тварин із ХГ репаративний остеогенез є тривалішим за часом, ніж у тварин із нормальними показниками глюкози в крові [18]. На фоні ХГ порушуються нео- та ангиогенез, посилюються механізми запалення, що перешкоджають правильному розподілу остеогенних клітин, кисню та поживних речовин у зоні регенерації [21]. Наше дослідження підтверджує, що у тварин із ХГ процес відновлення довгих кісток більш тривалий, що зумовлюється затримкою переходу від однієї стадії до іншої. На 21-шу добу процесу остеопарації новоутворена грубоволокниста кісткова тканина була на 29,3 % меншою від контрольного показника.

Висновки

1. Хронічна гіперглікемія призводить до порушення проліферації та диференціації остеобластичного диферену в бік формування фіброзно-хрящового регенерату.

2. Відбувається затримка ліквідації запалення у місці кісткового дефекту, що робить процес репаративного остеогенезу більш тривалішим.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є складовою частиною науково-дослідної теми з держбюджетним фінансуванням «Молекулярно-генетичні та морфологічні особливості регенерації тканин нижньої кінцівки за умов хронічної гіперглікемії» (номер державної реєстрації 0117U003926).

Перспективи подальших досліджень. Наші подальші дослідження спрямовані на вивчення ультраструктурних особливостей репаративного остеогенезу у щурів із хронічною гіперглікемією.

Список літератури

- Prall J, Ross M. The management of work-related musculoskeletal injuries in an occupational health setting: the role of the physical therapist. *J Exerc Rehabil.* 2019;15(2):193-99. DOI: 10.12965/jer.1836636.318.
- Lopes D, Martins-Cruz C, Oliveira MB, Mano JF. Bone physiology as inspiration for tissue regenerative therapies. *Biomaterials.* 2018;185:240-75. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.09.028.
- Ferrari SL, Abrahamsen B, Napoli N, Akesson K, Chandran M, Eastell R, et al. Diagnosis and management of bone fragility in diabetes: an emerging challenge. *Osteoporos Int.* 2018;29(12):2585-96. DOI: 10.1007/s00198-018-4650-2.
- Wang H, Ba Y, Xing Q, Du JL. Diabetes mellitus and the risk of fractures at specific sites: a meta-analysis. *BMJ Open.* 2019;9(1):e024067. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-024067.

2019;9(1):e024067. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-024067.

5. Fan Y, Wei F, Lang Y, Liu Y. Diabetes mellitus and risk of hip fractures: a meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2016;27(1):219-28. doi: 10.1007/s00198-015-3279-7.

6. Janghorbani M, Van Dam RM, Willett WC, Hu FB. Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am J Epidemiol.* 2007;166(5):495-505. DOI: 10.1093/aje/kwm106.

7. Martinez-Huedo MA, Jimenez-Garcia R, Mora-Zamorano E, Hernandez-Barrera V, Villanueva-Martinez M, Lopez-de-Andres A. Trends in incidence of proximal humerus fractures, surgical procedures and outcomes among elderly hospitalized patients with and without type 2 diabetes in Spain (2001-2013). *BMC Musculoskelet Disord.* 2017;18(1):522. DOI: 10.1186/s12891-017-1892-7.

8. Hygum K, Starup-Linde J, Langdahl BL. Diabetes and bone. *Osteoporos Sarcopenia.* 2019;5(2):29-37. DOI: 10.1016/j.afos.2019.05.001.

9. Sanches CP, Vianna AG, Barreto FC. The impact of type 2 diabetes on bone metabolism. *Diabetol Metab Syndr.* 2017;9:85. DOI: 10.1186/s13098-017-0278-1.

10. Murray CE, Coleman CM. Impact of Diabetes Mellitus on Bone Health. *Int J Mol Sci.* 2019;20(19):4873. DOI: 10.3390/ijms20194873.

11. Santana RB, Xu L, Chase HB, Amar S, Graves DT, Trackman PC. A role for advanced glycation end products in diminished bone healing in type 1 diabetes. *Diabetes.* 2003;52(6):1502-10. DOI: 10.2337/diabetes.52.6.1502.

12. Kayal RA, Siqueira M, Alblowi J, McLean J, Krothapalli N, Faibish D, et al. TNF-alpha mediates diabetes-enhanced chondrocyte apoptosis during fracture healing and stimulates chondrocyte apoptosis through FOXO1. *J Bone Miner Res.* 2010;25(7):1604-15. DOI: 10.1002/jbmr.59.

13. Kayal RA, Alblowi J, McKenzie E, Krothapalli N, Silkman L, Gerstenfeld L, et al. Diabetes causes the accelerated loss of cartilage during fracture repair which is reversed by insulin treatment. *Bone.* 2009;44(2):357-63. DOI: 10.1016/j.bone.2008.10.042.

14. Panahi G, Pasalar P, Zare M, Rizzuto R, Meshkani R. High glucose induces inflammatory responses in HepG2 cells via the oxidative stress-mediated activation of NF-κB, and MAPK pathways in HepG2 cells. *Arch Physiol Biochem.* 2018;124(5):468-74. DOI: 10.1080/13813455.2018.1427764.

15. Lu H, Kraut D, Gerstenfeld LC, Graves DT. Diabetes interferes with the bone formation by affecting the expression of transcription factors that regulate osteoblast differentiation. *Endocrinology.* 2003;144(1):346-52. DOI: 10.1210/en.2002-220072.

16. Brown ML, Yukata K, Farnsworth CW, Chen DG, Awad H, Hilton MJ. Delayed fracture healing and increased callus adiposity in a C57BL/6J murine model of obesity-associated type 2 diabetes mellitus. *PLoS One.* 2014;9(6):e99656. DOI: 10.1371/journal.pone.0099656.

17. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury.* 2011;42(6):551-5. DOI: 10.1016/j.injury.2011.03.031.

18. Marin C, Luyten FP, Van der Schueren B, Kerckhofs G, Vandamme K. The Impact of Type 2 Diabetes on Bone Fracture Healing. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:6. DOI: 10.3389/fendo.2018.00006.

19. Carvalho FR, Calado SM, Silva GA, Diogo GS, Moreira da Silva J, Reis RL, et al. Altered bone microarchitecture in a type 1 diabetes mouse model Ins2Akita. *J Cell Physiol.* 2019;234(6):9338-50. DOI: 10.1002/jcp.27617.

20. Dedukh N, Sykal A. Bone repair under type 2 diabetes mellitus (experimental investigation). *Osteology Problems.* 2015;18(4):12-8.

21. Mangialardi G, Ferland-McCollough D, Maselli D, Santopaulo M, Cordaro A, Spinetti G. Bone marrow pericyte dysfunction in individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2019;62(7):1275-90. DOI: 10.1007/s00125-019-4865-6.

References

- Prall J, Ross M. The management of work-related musculoskeletal injuries in an occupational health setting: the role of the physical therapist. *J Exerc Rehabil.* 2019;15(2):193-99. DOI:

Оригінальні дослідження

10.12965/jer.1836636.318.

2. Lopes D, Martins-Cruz C, Oliveira MB, Mano JF. Bone physiology as inspiration for tissue regenerative therapies. *Biomaterials*. 2018;185:240-75. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.09.028.

3. Ferrari SL, Abrahamsen B, Napoli N, Akesson K, Chandran M, Eastell R et al. Diagnosis and management of bone fragility in diabetes: an emerging challenge. *Osteoporos Int*. 2018;29(12):2585-96. DOI: 10.1007/s00198-018-4650-2.

4. Wang H, Ba Y, Xing Q, Du JL. Diabetes mellitus and the risk of fractures at specific sites: a meta-analysis. *BMJ Open*. 2019;9(1):e024067. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-024067.

5. Fan Y, Wei F, Lang Y, Liu Y. Diabetes mellitus and risk of hip fractures: a meta-analysis. *Osteoporos Int*. 2016;27(1):219-28. DOI: 10.1007/s00198-015-3279-7.

6. Janghorbani M, Van Dam RM, Willett WC, Hu FB. Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am J Epidemiol*. 2007;166(5):495-505. DOI: 10.1093/aje/kwm106.

7. Martinez-Huedo MA, Jimenez-Garcia R, Mora-Zamorano E, Hernandez-Barrera V, Villanueva-Martinez M, Lopez-de-Andres A. Trends in incidence of proximal humerus fractures, surgical procedures and outcomes among elderly hospitalized patients with and without type 2 diabetes in Spain (2001-2013). *BMC Musculoskelet Disord*. 2017;18(1):522. DOI: 10.1186/s12891-017-1892-7.

8. Hygum K, Starup-Linde J, Langdahl BL. Diabetes and bone. *Osteoporos Sarcopenia*. 2019;5(2):29-37. DOI: 10.1016/j.afos.2019.05.001.

9. Sanches CP, Vianna AG, Barreto FC. The impact of type 2 diabetes on bone metabolism. *Diabetol Metab Syndr*. 2017;9:85. DOI: 10.1186/s13098-017-0278-1.

10. Murray CE, Coleman CM. Impact of Diabetes Mellitus on Bone Health. *Int J Mol Sci*. 2019;20(19):4873. DOI: 10.3390/ijms20194873.

11. Santana RB, Xu L, Chase HB, Amar S, Graves DT, Trackman PC. A role for advanced glycation end products in diminished bone healing in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2003;52(6):1502-15. DOI: 10.2337/diabetes.52.6.1502.

12. Kayal RA, Siqueira M, Alblowi J, McLean J, Krothapalli N,

Faibish D, et al. TNF-alpha mediates diabetes-enhanced chondrocyte apoptosis during fracture healing and stimulates chondrocyte apoptosis through FOXO1. *J Bone Miner Res*. 2010;25(7):1604-15. DOI: 10.1002/jbmr.59.

13. Kayal RA, Alblowi J, McKenzie E, Krothapalli N, Silkman L, Gerstenfeld L et al. Diabetes causes the accelerated loss of cartilage during fracture repair which is reversed by insulin treatment. *Bone*. 2009;44(2):357-63. DOI: 10.1016/j.bone.2008.10.042.

14. Panahi G, Pasalar P, Zare M, Rizzuto R, Meshkani R. High glucose induces inflammatory responses in HepG2 cells via the oxidative stress-mediated activation of NF-κB, and MAPK pathways in HepG2 cells. *Arch. Physiol. Biochem*. 2018;124(5):468-74. DOI: 10.1080/13813455.2018.1427764.

15. Lu H, Kraut D, Gerstenfeld LC, Graves DT. Diabetes interferes with the bone formation by affecting the expression of transcription factors that regulate osteoblast differentiation. *Endocrinology*. 2003;144(1):346-52. DOI: 10.1210/en.2002-220072.

16. Brown ML, Yukata K, Farnsworth CW, Chen DG, Awad H, Hilton MJ. Delayed fracture healing and increased callus adiposity in a C57BL/6J murine model of obesity-associated type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*. 2014;9(6):e99656. DOI: 10.1371/journal.pone.0099656.

17. Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury*. 2011 Jun;42(6):551-5. DOI: 10.1016/j.injury.2011.03.031.

18. Marin C, Luyten FP, Van der Schueren B, Kerckhofs G, Vandamme K. The Impact of Type 2 Diabetes on Bone Fracture Healing. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:6. DOI: 10.3389/fendo.2018.00006.

19. Carvalho FR, Calado SM, Silva GA, Diogo GS, Moreira da Silva J, Reis RL et al. Altered bone microarchitecture in a type 1 diabetes mouse model Ins2Akita. *J Cell Physiol*. 2019;234(6):9338-50. DOI: 10.1002/jcp.27617.

20. Dedukh N, Sykal A. Bone repair under type 2 diabetes mellitus (experimental investigation). *Osteology Problems*. 2015;18(4):12-8.

21. Mangialardi G, Ferland-McCollough D, Maselli D, Santopaolo M, Cordaro A, Spinetti G. Bone marrow pericyte dysfunction in individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2019;62(7):1275-90. DOI: 10.1007/s00125-019-4865-6.

Відомості про авторів

Дудченко Євген Сергійович – аспірант кафедри морфології Сумського державного університету, м. Суми, Україна.

Ткач Геннадій Федорович – д. мед. н., проф. кафедри морфології Сумського державного університету, м. Суми, Україна.

Сведения об авторах

Дудченко Евгений Сергеевич – аспирант кафедры морфологии Сумского государственного университета, г. Сумы, Украина.

Ткач Геннадий Федорович – д. мед. н., проф. кафедры морфологии Сумского государственного университета, г. Сумы, Украина.

Information about the authors

Dudchenko Yevhen Sergiyovych – PhD-student of the Morphology Department of Sumy State University, Sumy, Ukraine.

Tkach Gennadii Fedorovich – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Morphology Department of Sumy State University, Sumy, Ukraine.

*Надійшла до редакції 26.05.2020
Рецензент — проф. Цигикало О.В.
© Є.С. Дудченко, Г.Ф. Ткач, 2020*