

УДК 611.724-018.4-02:616.153.455.01] – 092.9
DOI: 10.24061/1727-0847.22.1.2023.01

М. С. Гнатюк, Н. Я. Монастирська, Л. В. Татарчук*, Н. С. Вадзюк, О. Б. Ясіновський**
*Кафедри оперативної хірургії та клінічної анатомії (зав. – проф. М. С. Гнатюк), *фізіології з основами біоетики та біобезпеки (зав. – проф. С. Н. Вадзюк) Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, **Інститут Травматології та Ортопедії НАМН України, м. Київ*

МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ ХОНДРОЦИТІВ СУГЛОБОВОЇ ПОВЕРХНІ НАКОЛІНКА В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ДІАБЕТИЧНОЇ АРТРОПАТІЇ КОЛІННОГО СУГЛОБА

Резюме. Цукровий діабет є розповсюдженою хворобою, яка має тенденцію до зростання і нерідко призводить до інвалідності та смертності населення в молодому працездатному віці. При вказаній патології нерідко уражаються суглоби. За даними багатьох дослідників пошкодження суглобів більш ніж у 50 % хворих на цукровий діабет 1 і 2 типів діагностують артропатії, тобто діабет-асоційований остеоартрит. Особливості структурних змін хондроцитів суглобової поверхні наколінка при діабетичній артропатії колінного суглоба досліджені недостатньо. Метою дослідження при цьому стало вивчення особливостей структурних змін хондроцитів суглобової поверхні наколінка при експериментальній діабетичній артропатії колінного суглоба. Комплексом морфологічних методів досліджено хондроцити суглобової поверхні наколінка 60 лабораторних статевозрілих білих щурів-самців, які були розділені на 3-и групи. 1-а група включала 20 інтактних практично здорових тварин, 2-а – 20 щурів з місячною експериментальною діабетичною артропатією колінного суглоба, 3-я – 20 експериментальних тварин з двомісячною вказаною патологією. Цукровий діабет моделювали шляхом одноразового внутрішньо-очеревинного введення стрептозотоцину фірми «Sigma» у дозі 50 мг/кг. Через місяць і два місяці від початку експерименту виконували евтаназію щурів кровопусканням в умовах тіопенталового наркозу. На гістологічних мікропрепаратах у хрящовій тканині суглобової поверхні наколінка визначали діаметри молодих і зрілих хондроцитів та їх ядер, ядерно-цитоплазматичні відношення у цих клітинах, відносний об'єм пошкоджених хондроцитів, міжклітинно-хондроцитарні відношення. Кількісні показники обробляли статистично. Встановлено, що тривала гіперглікемія призводить до діабетичної артропатії колінного суглоба, яка характеризується атрофією хондроцитів суглобової поверхні наколінка і змінами в них ядерно-цитоплазматичних відношень, що вказувало на порушення клітинного структурного гомеостазу. Виявлено, що ядерно-цитоплазматичні відношення в молодих хондроцитах суглобової поверхні наколінка при місячній експериментальній гіперглікемії виявилися зміненими на 4,7 % ($p < 0,01$), при двомісячній – на 10,5 % ($p < 0,001$), у зрілих хондроцитах – на 3,7 % ($p < 0,01$) та 8,2 % ($p < 0,001$). При діабетичній артропатії відмічалось виражене зростання відносного об'єму пошкоджених хондроцитів і об'єму міжклітинної речовини. Встановлені зміни кількісних морфологічних показників залежали від тривалості гіперглікемії і домінували в молодих хондроцитах.

Ключові слова: колінний суглоб, діабетична артропатія, хондроцити, наколінок.

Цукровий діабет посідає третє місце після онкологічних і серцево-судинних захворювань. Згідно з статистичними даними кількість людей із цієї патологією кожні 13-15 років подвоюється, а поширеність цукрового діабету набуває епідемічного характеру. За останні роки досягнуто значних успіхів у розумінні патофізіології й молекулярної генетики гіперглікемії, проте це захворювання й надалі залишається серйозною медичною та соціальною проблемою. Це підтверджується ранньою інвалідизацією і смертністю працездатного населення, причиною яких є цукровий діабет [1]. Тривалий перебіг вказаної патології нерідко призводить до ураження суглобів. За даними багатьох дослідників пошкодження суглобів виникає більш ніж у 50 % хворих на цукровий діабет 1 та 2 типів, при яких діагностують артропатії, тобто діабет-асоційований остеоартрит [2-4]. При цукровому діабеті в організмі людини порушуються білковий, вуглеводний, мінеральний обмін, виникають гормональні розлади, ангіо- і нейропатії, зміни реології крові й гемодинаміки [5, 6]. Перераховані фактори призводять до структурно-функціональних змін хрящової тканини, які при діабетичній артропатії досліджені недостатньо [7]. Вважають, що наколінка – найбільша сесамовидна кісточка людського організму, яка бере участь в утворенні колінного суглоба і при його ушкодженнях, є маловивченою.

Мета дослідження: встановити особливості структурних змін хондроцитів суглобової поверхні наколінки при експериментальній діабетичній артропатії колінного суглоба.

Матеріал і методи. Комплексом морфологічних методів досліджено суглобову поверхню наколінки 60 лабораторних статевозрілих білих щурів-самців, які були розподілені на 3-и групи. 1-а група включала 20 інтактних практично здорових тварин, 2-а – 20 щурів з місячною експериментальною діабетичною артропатією колінного суглоба, 3-я – 20 експериментальних тварин з двомісячною вказаною патологією. Цукровий діабет моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозоточину фірми «Sigma» у дозі 50 мг/кг [7]. Через місяць і два місяці від початку експерименту виконували евтаназію щурів кровопусканням в умовах тіопенталового наркозу. На гістологічних мікропрепаратах [8] у хрящових тканинах суглобової поверхні наколінки визначали діаметри молодих (М) і зрілих (З) хондроцитів (ДХ) та їх ядер (ДЯХ), ядерно-цитоплазматичні відношення у цих клітинах (ЯЦВХ), відносний об'єм пошкоджених хондроцитів (ВОПХ), міжклітинно-хондроцитарні

відношення (МХВ) [7]. Кількісне морфологічне вивчення хондроцитів здійснювали, використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів, зображення з яких на монітор комп'ютера виводили з мікроскопа MICROMED SEOSCAN та за допомогою відеокамери Vision CCD Camera. При морфометричних дослідженнях використовували програму Відео-Тест-5,0 КААРА Image Dose та Microsoft Excell на персональному комп'ютері.

Морфометричні параметри обробляли статистично. Статистична обробка кількісних величин проведена у відділі статистичних досліджень Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України у програмному пакеті «Statsoft Statistica». Достовірність різниці між порівнювальними морфометричними параметрами визначали за критеріями Ст'юдента та Манна-Уїтні [9]. Дослідження виконували згідно з положеннями «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директивами Ради Європи 2010/63/EU, Законом України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухваленими Першим національним конгресом України з біоетики (2001) [10].

Результати дослідження та їх обговорення.

На основі проведених досліджень виявлено, що через місяць після введення стрептозоточину білим щурам-самцям концентрація глюкози в їхній крові зросла з $(3,65 \pm 0,03)$ ммоль/л до $(17,15 \pm 0,18)$ ммоль/л, тобто у 4,7 раза, а через два місяці – до $(16,42 \pm 0,12)$ ммоль/л, тобто у 4,5 раза. Світлооптичними дослідженнями структур колінного суглоба виявлено дегенеративні їх зміни при місячній експериментальній гіперглікемії, які прогресували із збільшенням тривалості перебігу цукрового діабету.

Отримані в результаті проведеного дослідження морфометричні параметри хондроцитів суглобової поверхні наколінки експериментальних тварин представлені у таблиці. Усестороннім аналізом даних вказаної таблиці встановлено, що кількісні морфологічні показники хондроцитів при змодельованій патології змінювалися. Виявлено, що при місячній діабетичній артропатії колінного суглоба діаметр молодих хондроцитів статистично достовірно ($p < 0,01$) зменшився на 4,7 %, при двомісячній – на 10,5 % ($p < 0,001$). Діаметри ядер молодих хондроцитів у вказаних умовах експерименту відповідно знизилися на 2,2 % ($p < 0,05$) і 8,8 % ($p < 0,001$). Зміненими також виявилися ядерно-цитоплазматичні відно-

шення у досліджуваних клітинах. Так, вказаний морфометричний параметр молодих хондроцитів у неушкодженому хрящі дорівнював ($0,450 \pm 0,003$), а при місячній діабетичній артропатії колінного суглоба – ($0,474 \pm 0,003$). Наведені морфометричні параметри статистично достовірно ($p < 0,01$) відрізнялися між собою, і останній кількісний морфологічний показник перевищував попередній на 5,3 %, а при двомісячній діабетичній артропатії – на 8,4 % ($p < 0,001$).

Відносний об'єм пошкоджених молодих хондроцитів суглобової поверхні наколінка в умовах місячної діабетичної артропатії з вираженою статистично достовірною різницею ($p < 0,001$) зріс у 5,8 раза, а при двомісячній – у 7,3 раза.

Кількісні морфологічні показники зрілих хондроцитів суглобової поверхні наколінника при змодельованій експериментальній патології змінювалися аналогічно і дещо у меншому ступені порівняно з молодими хондроцитами. Так, діаметр зрілих хондроцитів при місячній артропатії колінного суглоба статистично достовірно ($p < 0,05$) зменшився на 3,7 %, при двомісячній – на 8,2 % ($p < 0,001$). Діаметри ядер зрілих хондроцитів суглобової поверхні наколінка в умовах досліджуваного експерименту також зменшувалися. При місячній діабетичній артропатії колінного суглоба вказаний морфометричний параметр з статистично достовірною різницею ($p < 0,05$) зменшився на 2,1 %, при двомісячній – на 4,8 % (таблиця).

Таблиця

Морфометричні параметри хондроцитів суглобової поверхні наколінка експериментальних тварин ($M \pm m$)

Показник	Група спостереження		
	1-а	2-а	3-я
ДХМ, мкм	$6,15 \pm 0,05$	$5,86 \pm 0,04^{**}$	$5,50 \pm 0,04^{***}$
ДЯХМ, мкм	$4,12 \pm 0,03$	$4,03 \pm 0,03^*$	$3,84 \pm 0,02^{***}$
ЯЦВМ	$0,450 \pm 0,003$	$0,474 \pm 0,003^{**}$	$0,488 \pm 0,003^{***}$
МХВМ	$0,118 \pm 0,001$	$0,125 \pm 0,001^{**}$	$0,134 \pm 0,001^{***}$
ВОПХМ, %	$2,10 \pm 0,02$	$12,20 \pm 0,12^{***}$	$15,30 \pm 0,15^{***}$
ДХЗ, мкм	$12,10 \pm 0,12$	$11,65 \pm 0,12^*$	$11,10 \pm 0,15^{***}$
ДЯЗ, мкм	$6,17 \pm 0,04$	$6,04 \pm 0,03^*$	$5,87 \pm 0,03^{**}$
ЯЦВХЗ	$0,260 \pm 0,002$	$0,270 \pm 0,002^*$	$0,280 \pm 0,002^{***}$
МХВЗ	$0,150 \pm 0,001$	$0,160 \pm 0,002^{**}$	$0,166 \pm 0,002^{***}$
ВОПХЗ, %	$2,30 \pm 0,002$	$9,30 \pm 0,12^{***}$	$13,90 \pm 0,12^{***}$

Примітка. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ порівняно з 1-ю групою.

Встановлено, що при цьому порушувалися відношення між розмірами ядра та цитоплазми зрілого хондроцита, що адекватно відображалися ядерно-цитоплазматичними відношеннями. Так, при місячній діабетичній артропатії вказаний морфометричний параметр статистично достовірно ($p < 0,05$) зріс на 3,8 %, при двомісячній – на 7,7 % ($p < 0,001$). Деякі дослідники стверджують, що виявлені зміни ядерно-цитоплазматичних відношень свідчать про пошкодження клітин і порушення структурного клітинного гомеостазу [7].

Міжклітинно-хондроцитарні відношення зрілих хондроцитів суглобової поверхні наколінка при місячній діабетичній артропатії колінного суглоба статистично достовірно зросли ($p < 0,01$) на 6,6 %, при двомісячній на 10,6 % ($p < 0,001$), молодих хондроцитів відповідно на 5,9 % та 13,5 % ($p < 0,001$). Відносний об'єм пошкоджених зрілих хондроцитів з вираженою статистично достовірною різницею ($p < 0,001$) при місячній діабетичній артропатії колінного суглоба збільшився у 4 рази, при двомісячній – у 6,3 рази ($p < 0,001$).

Отримані та проаналізовані морфометричні параметри хондроцитів свідчать, що найбільш вираженим ступінь їх ремоделювання виявився при двомісячній діабетичній артропатії колінного суглоба. Встановлено, що ступінь ремоделювання (структурної перебудови) молодих хондроцитів при цьому був більшим порівняно із зрілими хрящовими клітинами, що об'єктивно підтверджувалося змінами ядерно-цитоплазматичних відношень у досліджуваних клітинах і відносними об'ємами пошкоджених хондроцитів. Кількісні морфологічні показники хондроцитів наколінка при змодельованій діабетичній артропатії колінного суглоба свідчать, що ця патологія призводить до атрофії хондроцитів, а ступінь їх ремоделювання залежить від тривалості гіперглікемії та зрілості досліджуваних клітин.

Світлооптично хондроцити в неушкодженій хрящовій тканині суглобової поверхні наколінка переважно еліпсоїдної форми, розміщені радіально ланцюжками (стовпчиками) з 2-6 клітин. Межі між клітинами чіткі, ядра добре забарвлені.

При діабетичній артропатії колінного суглоба відмічається зменшення клітин у стовпчиках, збільшення проміжної речовини. Хондроцити нечітко контуруються, дещо зменшені в розмірах, різних форм, місцями вони з дистрофічними та некробіотичними змінами (пікнотичні ядра, каріорексис). Знайдене переважає в молодих хондроцитах.

Висновок. Тривала гіперглікемія призводить до діабетичної артропатії колінного суглоба, яка характеризується атрофією хондроцитів суглобової поверхні наколінка, порушенням у них ядерно-цитоплазматичних відношень, зростанням відно-

сних об'ємів пошкоджених хондроцитів. Виявлені зміни кількісних морфологічних показників залежали від тривалості гіперглікемії та домінували у молодих хондроцитах хрящової тканини суглобової поверхні наколінка.

Перспективи подальших досліджень. Усестороннє комплексне та детальне морфологічне і морфологічне вивчення особливостей структурної перебудови хондроцитів суглобових поверхонь кісток при діабетичних артропатіях дозволить суттєво покращити їх діагностику, корекцію та профілактику.

Список використаної літератури

1. Бойко АІ. Аналіз та управління факторами, що формують фармацевтичну допомогу хворим на цукровий діабет в Україні. *Science Rise*. 2016;3-4 (20):9-16.
2. Кризина ОВ. Трофічні порушення тканин нижніх кінцівок при цукровому діабеті 2 типу. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2018;1(6):15-24.
3. Орленко ВЛ. Гормональні характеристики діабет-асоційованих остеоартритів. *Вісник проблем біології та медицини*. 2020;2(159):138-43.
4. Berenbaum F. Diabetes induced osteoarthritis from a new paradigm to a new phenotype. *Ann. Rheum. Dis*. 2011;70(8):1354-6. <http://dx.doi.org/10.1136/ard.2010.146399>.
5. King K, Rosenthal A. The adverse effects of diabetes on osteoarthritis update on clinical evidence and molecular mechanism. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2015;2:841-850. doi: 10.1016/j.joca.2015.03.031.
6. Graham RW. Thyroid hormone actions in cartilage bone. *Eur. Thyroid J*. 2013;2:3-13. doi: 10.1159/000345548.
7. Гнатюк МС, Монастирська НЯ, Татарчук ЛВ, Вадзюк НС. Кількісний морфологічний аналіз структурних змін хондроцитів суглобових поверхонь стегнової та великогомілкової кісток при експериментальній діабетичній артропатії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2022;2(165):42-49.
8. Багрії ММ, Діброва ВА, Попадинець ОГ, Гришук МІ. Методики морфологічних досліджень. *Вінниця: Нова книга*. 2016. 328 с.
9. Festing M, Nevalainen T. The design and statistical analysis of animal experiments introduction to this issue. *Ilar J*. 2014;55(3):372-9.
10. Запорожан ВМ, Аряєв МЛ. Біоетика і біобезпека. Київ: Здоров'я. 2013. 456 с.

References

1. Boyko AI. Analiz ta upravlinnya faktoramy, shcho formuyut' farmatsevychnu dopomohu khvorym na tsukrovyyu diabet v Ukraini. *Science Rise*. 2016;3-4 (20):9-16. [in Ukrainian].
2. Kryzyna OV. Trofichni porushennya tkanyin nyzhnikh kintsivok pry tsukrovomu diabeti 2 typu. *Klinichna endokrynolohiya ta endokryinna khirurgiya*. 2018;1(6):15-24. [in Ukrainian].
3. Orlenko VL. Hormonal'ni kharakterystyky diabet-asotsiyovanykh osteoarttrytiv. *Visnyk problem biolohiyi ta medytsyny*. 2020;2(159):138-43. [in Ukrainian].
4. Berenbaum F. Diabetes induced osteoarthritis from a new paradigm to a new phenotype. *Ann. Rheum. Dis*. 2011;70(8):1354-6. <http://dx.doi.org/10.1136/ard.2010.146399>.
5. King K, Rosenthal A. The adverse effects of diabetes on osteoarthritis update on clinical evidence and molecular mechanism. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2015;2:841-850. doi: 10.1016/j.joca.2015.03.031.
6. Graham RW. Thyroid hormone actions in cartilage bone. *Eur. Thyroid J*. 2013;2:3-13. doi: 10.1159/000345548.
7. Hnatjuk MS, Monastyr'ska NYa, Tatarchuk LV, Vadzyuk NS. Kil'kisnyy morfolohichnyy analiz strukturnykh zmin khondrotsytiv suhlobovykh poverkhon' stehnovoyi ta velykohomilkovoyi kistok pry eksperymental'niy diabetychniy artropathy. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*. 2022;2(165):42-49. [in Ukrainian].
8. Bahrii MM, Dibrova VA, Popadynets OH, Hryshchuk MI. Metodyky morfolohichnykh doslidzhen. *Vynnytsia: Nova knyha*. 2016. 328 s. [in Ukrainian].

9. Festing M, Nevalainen T. The design and statistical analysis of animal experiments introduction to this issue. *Ilar J.* 2014;55(3):372-9.

10. Zaporozhan VM, Ariaiev ML. *Bioetyka i biobezpeka.* Kyiv: Zdorovia. 2013. 456 s. [in Ukrainian].

MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRIC CHANGES OF CHONDROCYTES OF THE JOINT SURFACE OF THE PATELLA IN THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL DIABETIC KNEE ARTHROPATHY

Abstract. Diabetes is a widespread disease that has a tendency to grow and often leads to disability and mortality of the population at a young working age. In this pathology, the joints are often affected. According to many researchers, more than 50 % of patients with type 1 and type 2 diabetes are diagnosed with arthropathies, i.e. diabetes-associated osteoarthritis. Features of structural changes of chondrocytes of the articular surface of the patella in diabetic arthropathy of the knee joint have not been sufficiently investigated. The purpose of the study was to study the features of structural changes in the chondrocytes of the articular surface of the patella in experimental diabetic arthropathy of the knee joint. The chondrocytes of the articular surface of the patella of 60 laboratory sexually mature white male rats, which were divided into 3 groups, were investigated using a complex of morphological methods. The 1-st group included 20 intact practically healthy animals, the 2-nd – 20 rats with a one-month experimental diabetic arthropathy of the knee joint, the 3-rd – 20 experimental animals with the two-month specified pathology. Diabetes mellitus was modeled by a single intraperitoneal injection of streptozotocin from the company «Sigma» in a dose of 50 mg/kg. One month and two months after the start of the experiment, rats were euthanized by bloodletting under thiopental anesthesia. The diameters of young and mature chondrocytes and their nuclei, the nuclear-cytoplasmic ratio in these cells, the relative volume of damaged chondrocytes, and intercellular-chondrocyte ratios were determined on histological micro-sections in the cartilage tissue of the articular surface of the patella. Quantitative indicators were processed statistically. It was established that long-term hyperglycemia leads to diabetic arthropathy of the knee joint, which is characterized by atrophy of chondrocytes of the articular surface of the patella and changes in their nuclear-cytoplasmic ratios, which indicated a violation of cellular structural homeostasis. It was found that the nuclear-cytoplasmic ratio in young chondrocytes of the articular surface of the patella was changed by 5.3 % ($p < 0.01$) during one-month experimental hyperglycemia, by 8.4 % ($p < 0.001$) during two-month hyperglycemia, in mature chondrocytes – by 3.8 % ($p < 0.05$) and 7.7 % ($p < 0.001$). In diabetic arthropathy, a marked increase in the relative volume of damaged chondrocytes and the volume of intercellular substance was noted. The detected changes in quantitative morphological indicators depended on the duration of hyperglycemia and dominated in young chondrocytes.

Key words: knee joint, diabetic arthropathy, chondrocytes, patella.

Відомості про авторів:

Гнатюк Михайло Степанович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри оперативної хірургії та клінічної анатомії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль;

Монастирська Наталія Ярославівна – доктор філософії, асистент кафедри оперативної хірургії та клінічної анатомії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль;

Татарчук Людмила Василівна – доктор медичних наук, доцент кафедри фізіології з основами біоетики та біобезпеки Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль;

Вадзюк Назар Степанович – кандидат медичних наук, асистент, Інститут Травматології та Ортопедії НАМН України, м. Київ;

Ясіновський Олег Борисович – кандидат медичних наук, доцент кафедри оперативної хірургії та клінічної анатомії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль.

Information about the authors:

Hnatjuk Mychailo S. – MD, Professor, Head of the Department of Operative Surgery and Clinical Anatomy, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil;

Monastyrskа Nataliia Ya. – PhD, Assistant of the Department of Operative Surgery and Clinical Anatomy, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil;

Tatarchuk Ludmyla V. – MD, Associate professor of the Department of Physiology, Bioethics and Biosafety, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil;

Vadziuk Nazar S. – PhD, Assistant, The Institute of Traumatology and Orthopedics of the NAMS Ukraine, Kyiv;

Yasinovskyi Oleh B. – PhD, MD, Associate professor of the Department of Operative Surgery and Clinical Anatomy, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil.

Надійшла 15.12.2022 р.

Рецензент – проф. І. Ю. Олійник (Чернівці)