

М. С. Гнатюк, Н. Я. Монастирська, Л. В. Татарчук, О. Б. Ясіновський, Н. С. Вадзюк
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ

ОСОБЛИВОСТІ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В СИНОВІАЛЬНІЙ ОБОЛОНЦІ КОЛІННОГО СУГЛОБА ПРИ ДІАБЕТИЧНІЙ АРТРОПАТІЇ

Вступ. Ушкодження суглобів у хворих на цукровий діабет є досить частим ускладненням. Особливості змін антиоксидантного захисту в синовіальній оболонці колінного суглоба при діабетичній артропатії вивчено недостатньо.

Мета дослідження – вивчити особливості змін антиоксидантного захисту в синовіальній оболонці колінного суглоба при діабетичній артропатії.

Методи дослідження. Комплексом біохімічних та морфологічних методів досліджено синовіальну оболонку колінного суглоба 90 лабораторних статевозрілих білих щурів-самців, яких поділили на три групи: 1-ша група нараховувала 30 інтактних практично здорових тварин, 2-га – 30 щурів з місячною діабетичною артропатією колінного суглоба, 3-тя – 30 тварин з двомісячною вказаною патологією. Цукровий діабет моделювали шляхом одноразового внутрішньочеревного введення стрептозоцину фірми "Sigma" в дозі 50 мг/кг. Евтаназію щурів здійснювали кровопусканням за умов використання тіопенталового наркозу. В синовіальній оболонці тварин визначали показники антиоксидантного захисту. На її гістологічних препаратах визначали відносні об'єми ушкоджених венозних, артеріальних ендотеліоцитів та синовіоцитів. Кількісні показники обробляли статистично.

Результати й обговорення. Встановлено, що при діабетичній артропатії колінного суглоба істотно погіршується антиоксидантний захист синовіальної оболонки. При місячному діабетичному ушкодженні колінного суглоба активність супероксиддисмутази в синовіальній оболонці зменшилася на 12,2 %, каталази – на 13,8 %, церулоплазмину – на 8,5 % ($p < 0,001$), при двомісячній діабетичній артропатії колінного суглоба наведені показники знизилися, відповідно, на 18,3, 20,0 та 19,2 % ($p < 0,001$). Відносний об'єм ушкоджених ендотеліоцитів у артеріях синовіальної оболонки за умов місячного експерименту збільшився в 10,7 раза, у венах – у 12,1 раза, синовіальних клітин – у 10,4 раза ($p < 0,001$), при двомісячній діабетичній артропатії колінного суглоба ці показники змінились аналогічно – відповідно, в 15,6, 17,7 та 14,6 раза ($p < 0,001$).

Висновки. Діабетична артропатія колінного суглоба характеризується значним зниженням антиоксидантного захисту синовіальної оболонки колінного суглоба, апоптозом, дистрофією, некробіозом синовіальних клітин, ендотеліоцитів, розростанням стромы, вогнищевими інфільтраціями. Найбільш виражені зміни показників антиоксидантного захисту, ушкоджених ендотеліоцитів у артеріальному і венозному руслах та уражених синовіоцитів синовіальної оболонки спостерігали при двомісячній діабетичній артропатії колінного суглоба.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: колінний суглоб; діабетична артропатія; синовіальна оболонка; антиоксидантний захист.

ВСТУП. Відомо, що цукровий діабет посідає третє місце після онкологічних та серцево-судинних захворювань. За даними деяких дослідників, кількість людей із цією патологією кожні 13–15 років подвоюється, а її поширеність набуває епідемічного характеру. За останні роки досягнуто значних успіхів у розумінні патофізіології і молекулярної генетики цукрового діабету. Незважаючи на це, дане захворювання й надалі залишається серйозною медичною та соціальною проблемою, що підтверджується ран-

© М. С. Гнатюк, Н. Я. Монастирська, Л. В. Татарчук, О. Б. Ясіновський, Н. С. Вадзюк, 2023.

ньо інвалідизацією і смертністю працездатного населення [1, 2].

Ушкодження суглобів у хворих на цукровий діабет є досить частим ускладненням. Так, при цукровому діабеті 1 типу артропатію виявляють у 58 % хворих, а при цукровому діабеті 2 типу – в 28 % пацієнтів [1, 2]. При вказаній патології порушується вуглеводний, білковий, мінеральний обмін, виникають гормональні розлади, ангіо- і нейропатії, що ускладнюються резорбцією кісткової тканини внаслідок дисбалансу остеобластної та остеобластної активності [1, 2]. Через високу глюкозотоксичність відбуваються

накопичення кінцевих продуктів гліколізу, активація оксидативного стресу, а також розвиток низькорівневого запалення на організменному рівні. Ці фактори зумовлюють аномальне ремоделювання суглобової, синовіальної, кісткової тканин та біохімічні зміни, що ускладнюються діабетасоційованою артропатією [3, 4]. Синовіальна оболонка відіграє важливу роль у розвитку діабетичних артропатій. Водночас зміни антиоксидантного захисту в цій структурі вивчено недостатньо.

Мета дослідження – вивчити особливості змін антиоксидантного захисту в синовіальній оболонці колінного суглоба при діабетичній артропатії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Комплексом біохімічних та морфологічних методів досліджено синовіальну оболонку колінного суглоба 90 лабораторних статевозрілих білих щурів-самців, яких поділили на три групи: 1-ша група нараховувала 30 інтактних практично здорових тварин, 2-га – 30 щурів з місячною діабетичною артропатією колінного суглоба, 3-тя – 30 тварин з двомісячною вказаною патологією. Цукровий діабет моделювали шляхом одноразового внутрішньочеревного введення стрептозотоцину фірми “Sigma” в дозі 50 мг/кг. Евтаназію тварин здійснювали через один і два місяці від початку експерименту кровопусканням за умов використання тіопенталового наркозу. Всі досліді проводили в першій половині дня в спеціально відведеному приміщенні при температурі 18–22 °С, вологості 50–60 % та освітленості 250 лк. У синовіальній оболонці колінного суглоба визначали активність антиоксидантної системи, зокрема супероксиддисмутази, каталази, церулоплазміну [5, 6], а також виготовляли гістологічні мікропрепарати [7], на яких визначали відносні об’єми ушкоджених синовіоцитів (БОУС), ендотеліоцитів у венозних (БОУВЕ) та артеріальних (БОУАЕ) судинах [8]. Морфометрію вказаних структур проводили за допомогою світлового мікроскопа “Olimpus VX-2” із цифровою відеокамерою і пакетом прикладних програм “Відео-тест 5,0” та “Відео-розмір 5,0”. Виконували також кореляційний аналіз між показниками антиоксидантного захисту та досліджуваними гістостерео-

метричними параметрами. Силу кореляційного зв’язку оцінювали за чотирма ступенями: сильний ($r=0,7-0,9$), значний ($r=0,5-0,7$), помірний ($r=0,3-0,5$), слабкий ($r<0,3$) [9].

Отримані кількісні показники обробляли статистично. Обробку одержаних результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України у програмному пакеті STATISTICA (StatSoft. Inc., США). Різницю між порівнюваними показниками визначали за критеріями Стьюдента і Манна – Уїтні [9].

Експериментальні дослідження та евтаназію піддослідних тварин проводили з дотриманням Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001), та відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [10].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать результати виконаних досліджень, через один місяць після введення білим щурам-самцям стрептозотоцину концентрація глюкози в їх крові зросла з $(3,65\pm 0,03)$ до $(17,15\pm 0,18)$ ммоль/л, тобто в 4,7 раза, а через два місяці – до $(16,42\pm 0,12)$ ммоль/л, тобто в 4,5 раза. Світлооптичні дослідження структур колінного суглоба показали дегенеративні їх зміни при місячній експериментальній гіперглікемії, які прогресували зі збільшенням тривалості перебігу цукрового діабету. Отримані в результаті проведеного дослідження дані наведено в таблиці 1.

Проаналізувавши дані, наведені в таблиці 1, встановили, що за умов змодельованого експерименту вони суттєво змінилися. Так, активність супероксиддисмутази при місячній діабетичній артропатії колінного суглоба з вираженою статистично достовірною різницею ($p<0,001$) зменшилася на 12,2 %, при двомісячній – на 18,3 % ($p<0,001$) порівняно з контролем. Майже аналогічно за досліджуваних експериментальних умов знизилась активність каталази у синовіальній оболонці колінного суглоба. Так, у контрольних спостереженнях вона становила $(0,145\pm 0,002)$ мкат/кг, при місячному

Таблиця 1 – Зміни активності антиоксидантів у синовіальній оболонці колінного суглоба експериментальних тварин ($M\pm m$)

Показник	Група спостереження		
	1-ша	2-га	3-тя
Супероксиддисмутаза, ум. од./ мг	2,9500±0,0021	2,5900±0,0021***	2,4100±0,0018***
Каталаза, мкат/кг	0,145±0,002	0,125±0,002***	0,116±0,001***
Церулоплазмін, мг/кг	83,200±1,200	76,100±0,900***	67,200±0,720***

Примітка. *** – $p<0,001$ порівняно з 1-ю групою.

діабетичному ушкодженні колінного суглоба – ($0,125 \pm 0,002$) мкат/кг. Наведені вище показники статистично достовірно відрізнялися між собою ($p < 0,001$). При цьому остання цифрова величина виявилася меншою за попередню на 13,8 %, а при двомісячній діабетичній артропатії – на 20,0 % ($p < 0,001$).

Активність церулоплазміну при змодельованій діабетичній артропатії також змінилася: при місячній патології – на 8,5 %, ($p < 0,001$), при двомісячній – на 19,2 % ($p < 0,001$).

У змодельованому експерименті виявлено також зміни досліджуваних морфометричних параметрів (табл. 2). Так, ВОУАЕ синовіальної оболонки колінного суглоба при місячній діабетичній артропатії з вираженою статистично достовірною різницею ($p < 0,001$) збільшився в 10,7 раза, ВОУВЕ – у 12,1 раза ($p < 0,001$), а при двомісячному перебізі патології – відповідно, в 15,6 та 17,7 раза ($p < 0,001$). Проаналізовані вищенаведені цифрові величини свідчать про те, що при змодельованій патології домінувало ушкодження ендотеліоцитів у венозному руслі синовіальної оболонки колінного суглоба.

За змодельованих експериментальних умов ВОУС синовіальної оболонки колінного суглоба також виражено змінився. При місячному діабетичному ураженні колінного суглоба вказаний морфометричний параметр статистично достовірно ($p < 0,001$) збільшився з ($1,90 \pm 0,03$) до ($19,80 \pm 0,15$) %, тобто в 10,4 раза, при двомісячній діабетичній артропатії – в 14,6 раза ($p < 0,001$).

Під час кореляційного аналізу виявлено сильні негативні кореляційні зв'язки між показниками антиоксидантного захисту та досліджуваними морфометричними параметрами синовіальної оболонки. Встановлено, що кореляційні зв'язки між досліджуваними показниками посилювалися при двомісячній діабетичній артропатії колінного суглоба. Найбільш виражений нега-

тивний кореляційний зв'язок відзначено між активністю каталази і відносним об'ємом ушкоджених ендотеліоцитів у венозних судинах ураженої синовіальної оболонки ($r = -0,850 \pm 0,002$) при двомісячному діабетичному ушкодженні досліджуваного суглоба. Це свідчить про те, що порушення антиоксидантного захисту синовіальної оболонки колінного суглоба при діабетичній артропатії тісно пов'язане з морфологічним ураженням її структурних компонентів.

Гістологічно у синовіальній оболонці відмічено розширення та повнокров'я переважно венозних судин, десквамацію ендотеліоцитів, перивазальний набряк. У венозних мікросудинах (закапілярні венули і венули) синовіальної оболонки спостерігали повнокров'я, стази, осередки тромбозів, вогнищеві діapedезні крововиливи, у стінках судин та перивазальному просторі – плазморагію, набряки строми, осередки дистрофічно, некробіотично, апоптично змінених синовіальних клітин, вогнищеві інфільтрати і розростання сполучної тканини. Стінка артеріальних судин була потовщена та з явищами міоеластофіброзу, в просвіті – десквамовані ендотеліоцити. Також мали місце набряк ендотеліоцитів, їх дистрофія, некробіоз, десквамація і проліферація. Останнє свідчило про наявність гіпоксії. Мембрани, ендотеліоцити, судинна стінка були просякнуті білками плазми. У деяких досліджуваних судинах спостерігали осередки фібриноїдного набряку та некрозу, що вказувало на виражене їх ушкодження.

Встановлено, що діабетична артропатія колінного суглоба суттєво змінює антиоксидантний захист синовіальної оболонки, що супроводжується вираженим збільшенням відносних об'ємів ушкоджених артеріальних, венозних ендотеліоцитів та синовіоцитів синовіальної оболонки колінного суглоба. Виявлені зміни домінували при двомісячній діабетичній артропатії колінного суглоба.

Таблиця 2 – Показники структур синовіальної оболонки колінного суглоба експериментальних тварин ($M \pm m$)

Показник	Група спостереження		
	1-ша	2-га	3-тя
ВОУАЕ, %	$2,10 \pm 0,03$	$22,50 \pm 0,12^{***}$	$32,70 \pm 0,33^{***}$
ВОУВЕ, %	$2,20 \pm 0,03$	$26,70 \pm 0,15^{***}$	$38,90 \pm 0,51^{***}$
ВОУС, %	$1,90 \pm 0,03$	$19,80 \pm 0,15^{***}$	$27,80 \pm 0,18^{***}$

Примітка. *** – $p < 0,001$ порівняно з 1-ю групою.

ВИСНОВКИ. Діабетична артропатія колінного суглоба характеризується значним зниженням антиоксидантного захисту синовіальної оболонки колінного суглоба, апоптозом, дистрофією, некробіозом синовіальних клітин, ендотеліоцитів, розростанням строми, вогнищевими інфільт-

ратами. Найбільш виражені зміни показників антиоксидантного захисту, ушкоджених ендотеліоцитів у артеріальному і венозному руслах та уражених синовіоцитів синовіальної оболонки спостерігали при двомісячній діабетичній артропатії колінного суглоба.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Орленко В. Л. Гормональні характеристики діабет-асоційованих остеоартритів / В. Л. Орленко // Вісн. проблем біології та медицини. – 2020. – № 2 (159). – С. 138–143.
2. Кризина О. В. Трофічні порушення тканин нижніх кінцівок при цукровому діабеті 2 типу / О. В. Кризина // Клініч. ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2018. – № 1 (6). – С. 15–24.
3. Berenbaum F. Diabetes induced osteoarthritis from a new paradigm to a new phenotype / F. Berenbaum // *Ann.Rheum.Dis.* – 2011. – No. 70 (8). – P.1354–1356.
4. Tu M. The pathogenic role connective tissue growth factor in osteoarthritis / M. Tu, F. Qiao, L. Wong // *Biosci Rep.* – 2019. – No. 39(7). – P. 1374-1376.
5. Superoxide dismutases and superoxide reductases / Y. Sheng, I. A. Abreu, D. E. Cabelli [et al.] // *Chem. Rev.* – 2014. – No. 114. – P. 3854–3918.
6. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range / L. Goth // *Clinica Chimica Acta.* – 1991. – No. 196. – P. 143–151.
7. Методики морфологічних досліджень / М. М. Багрій, В. А. Діброва, О. Г. Попадинець, І. М. Грищук. – Вінниця : Нова книга, 2016. – 238 с.
8. Гнатюк М. С. Особливості структурної перебудови артерій язика при десквамативному глоситі / М. С. Гнатюк, І. В. Боднарчук, Л. В. Татарчук // Вісн. наук. дослідж. – 2019. – № 2. – С. 85–89.
9. Festing M. The design and statistical analysis of animal experiments introduction to this issue / M. Festing, T. Nevalainen // *Ilar. J.* – 2014. – No. 55 (3). – P. 379–372.
10. Запорожан В. М. Біоетика та біобезпека / В. М. Запорожан, М. Л. Аряєв. – К. : Здоров'я, 2013. – 456 с.

REFERENCES

1. Orlenko, L. (2020). Hormonal characteristics of diabetes-associated osteoarthritis. *Bulletin of Problems of Biology and Medicine*, 2 (159), 138-143 [in Ukrainian].
2. Kryzyna, O.V. (2018). Trophic disorders of the tissues of the lower extremities in type 2 diabetes. *Clinical Endocrinology and Endocrine Surgery*, 1 (6), 15-24 [in Ukrainian].
3. Berenbaum, F. (2011). Diabetes induced osteoarthritis from a new paradigm to a new phenotype. *Ann. Rheum. Dis.*, 70 (8), 1354-1356. DOI: 10.1136/ard.2010.146399
4. Tu, M., Qiao, F., & Wong, L. (2019). The pathogenic role connective tissue growth factor in osteoarthritis. *Biosci. Rep.*, 39 (7), 1374-1376. DOI: 10.1042/BSR20191374
5. Sheng, Y., Abreu, I.A., & Cabelli, D.E. (2014). Superoxide dismutases and superoxide reductases. *Chem. Rev.*, 114, 3854-3918. DOI: 10.1021/cr4005296
6. Goth, L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta*, 196, 143-151.
7. Bagriy, M.M., Dibrova, V.A., Popadynets, O.G., & Grishchuk, I.M. (2016). *Methods of morphological research*. Vinnytsia: Nova knyha [in Ukrainian].
8. Hnatjuk, M.S., Bodnarchuk, I.V., & Tatarchuk, L.V. (2019). Peculiarities of structural rearrangement of the arteries of the tongue in desquamative glossitis. *Bulletin of Scientific Research*, 2, 85-89 [in Ukrainian].
9. Festing, M., & Nevalainen, T. (2014). The design and statistical analysis of animal experiments introduction to this issue. *Ilar J.*, 55 (3), 379-372.
10. Zaporozhyan, V.M., & Aryaev, M.L. (2013). *Bioethics and biosafety*. Kyiv: Zdorovia [in Ukrainian].

M. S. Hnatjuk, N. Ja. Monastyrskya, L. V. Tatarchuk, O. B. Jasinovsky, N. S. Vadzuk
I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

FEATURES OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE SYNOVIAL MEMBRANE OF THE KNEE JOINT AT DIABETIC ARTHROPATHY

Summary

Introduction. Joint damage in patients with diabetes is a fairly frequent complication. Features of changes in antioxidant protection in the synovial membrane of the knee joint in diabetic arthropathy have not been studied enough.

The aim of the study – to investigate the features of changes in antioxidant protection in the synovial membrane of the knee joint at diabetic arthropathy.

Research Methods. The synovial membrane of knee joint of 90 laboratory sexually mature white male rats, which were divided into 3 groups, was studied using a complex of biochemical and morphological methods. Group 1 included 30 intact, practically healthy animals, group 2 – 30 rats with one-month diabetic arthropathy of the knee

joint, group 3 – 30 animals with the two-month specified pathology. Diabetes mellitus was modeled by a single intraperitoneal injection of streptozotocin manufactured by “Sigma” at a dose of 50 mg/kg. Rats were euthanized by bloodletting under thiopental anesthesia. Indicators of antioxidant protection were determined in the synovial membrane of animals. The relative volumes of damaged venous and arterial endotheliocytes and synoviocytes were determined on histological preparations of synovial membrane. Quantitative indicators were processed statistically.

Results and Discussion. It has been established that with diabetic arthropathy of the knee joint, the antioxidant protection of the synovial membrane significantly deteriorates. With one-month diabetic damage to the knee joint, the activity of superoxide dismutase in the synovial membrane decreased by 12.2 %, catalase by 13.8 %, and ceruloplasmin by 8.5 % ($p<0.001$); with two-month diabetic arthropathy, these indicators decreased by 18.3 %, 20.0 %, and 19.2 %, respectively ($p<0.001$). The relative volume of damaged endotheliocytes in the arteries of the synovial membrane increased by 10.7 times, in the veins by 12.1 times, and synovial cells by 10.4 times ($p<0.001$), in two-month diabetic arthropathy of the knee joint, the given indicators have similarly changed in 15.6; 17.7 and 14.6 ($p<0.001$) times.

Conclusions. Diabetic arthropathy of knee joint is characterized by a significant decrease in antioxidant protection of synovial membrane of the knee joint, apoptosis, dystrophy, necrobiosis of synovial cells, endotheliocytes, stroma growth, and focal infiltrates. The most pronounced changes in indicators of antioxidant protection and damaged endotheliocytes in arterial and venous channels and affected synoviocytes of the synovial membrane were found in two-month diabetic arthropathy of the knee joint.

KEY WORDS: **knee joint; diabetic arthropathy; synovial membrane; antioxidant protection.**

Отримано 03.02.23

Адреса для листування: М. С. Гнатюк, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: hnatjuk@tdmu.edu.ua.