

© Т. Г. Кожанова, В. С. Полякова, Е. Е. Мхитарян, К. Н. Мещеряков, 2013  
УДК 616 -091.811

*Т. Г. Кожанова, В. С. Полякова, Е. Е. Мхитарян и К. Н. Мещеряков*

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СИНОВИАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ КОЛЕННОГО СУСТАВА ЧЕЛОВЕКА В ЗРЕЛОМ ВОЗРАСТЕ

Кафедра патологической анатомии (зав. — проф. В. С. Полякова), Оренбургская государственная медицинская академия

Структурно-функциональная реорганизация синовиальной мембраны суставной капсулы коленного сустава исследована у 22 людей зрелого возраста (30–65 лет) обоего пола с использованием методов световой и электронной микроскопии, гистохимии, иммуногистохимии и морфометрии. Выявлены особенности морфофункциональной перестройки синовиальной мембраны во II периоде зрелого возраста, которые включают: увеличение толщины синовиальной интимы; значительное нарастание содержания коллагена IV типа на границе синовиальной интимы с субинтимальным фиброваскулярным слоем синовиальной мембраны; активизацию матриксных металлопротеиназ ММП-2, ММП-9; увеличение проапоптотической активности клеток синовиальной интимы. Эти изменения в совокупности могут инициировать нарушение выработки синовиальной жидкости и развитие дегенеративно-дистрофических изменений в суставном хряще на этом этапе онтогенеза.

**Ключевые слова:** коленный сустав, синовиальная мембрана, иммуногистохимия, коллаген I, II, III, IV типов, матриксные металлопротеиназы -2 и -9

Остеоартроз — самое распространенное заболевание суставов, поражающее 10–12% населения планеты и являющееся одной из частых причин нетрудоспособности [1, 9]. Обычно он возникает после 30–35 лет, и у людей старше 60 лет встречается в 97%. К 2020 г. прогнозируют удвоение заболеваемости, особенно за счет возрастной группы людей моложе 45 лет [6, 10]. При остеоартрозе чаще всего поражаются коленные суставы, так как они находятся под постоянной нагрузкой тела, имеют большое количество хрящевых образований и очень часто травмируются.

Значительно возросшие за последние годы технические возможности оперативного вмешательства при повреждениях и заболеваниях суставов особенно остро поставили перед восстановительной хирургией вопрос о необходимости правильной оценки биологических потенциалов синовиальной среды суставов, включающей: синовиальную мембрану, ее производную — синовиальную жидкость и суставной хрящ [8]. Этот комплекс совместно обеспечивает существование сустава как органа, создавая оптимальные биофизические условия для движения сочленяющихся костей, осуществляя обменные процессы в нем. Из названной триады взаимосвязанных структур, имеющих общий источник развития, наиболее изученным является суставной хрящ, сведения же о строении и функции синовиальной мембраны в онтогенезе человека единичны [5, 8]. В более поздних работах появились сведения о микро-

циркуляторном русле синовиальной мембраны в различные периоды жизни человека [3, 4, 7] и при остеоартрозе [4, 7].

Современные представления об особенностях строения суставов не оставляют сомнений в том, что синовиальная мембрана является основным продуцентом синовиальной жидкости, играет важную роль в питании суставного хряща [4, 12] и восстановлении его целостности. Несмотря на имеющиеся успехи в раскрытии патогенеза дегенеративно-дистрофических процессов в суставном хряще при остеоартрозах, до настоящего времени нет единого мнения о пусковых механизмах и степени структурных перестроек его компонентов при инволютивных изменениях [13], безусловно зависящих от состояния синовиальной мембраны. Динамика её структурно-функциональной реорганизации на протяжении зрелого возраста изучена недостаточно, что и определило цель данной работы.

Материал и методы. Исследованы участки капсулы коленного сустава, взятые в ходе судебно-медицинских вскрытий трупов 22 людей 30–65 лет, не имевших патологии коленного сустава. Исследование получило одобрение этического комитета Оренбургской государственной медицинской академии (протокол № 3 от 7 марта 2013 г.). При разделении людей на группы использовали возрастную периодизацию И. А. Аршавского [2]. В каждом из двух периодов зрелого возраста было по 11 человек (5 женщин, 6 мужчин).

Для световой микроскопии материал фиксировали в 10% нейтральном формалине при комнатной температуре в течение 1 сут и после обезвоживания в этаноле возрастающей

### Сведения об авторах:

*Кожанова Татьяна Геннадьевна* (e-mail: kozhanovatatyona@yandex.ru), *Полякова Валентина Сергеевна* (e-mail: k\_patanatom@orgma.ru), *Мхитарян Елена Евгеньевна* (e-mail: doc.mkhitarayan@mail.ru), *Мещеряков Константин Николаевич* (email: mescheryakovne@inbox.ru), кафедра патологической анатомии, Оренбургская государственная медицинская академия, 460000, Оренбург, ул. Советская, 6

концентрации заливали в парафин. Серийные срезы толщиной 5–6 мкм изготавливали на ротационном микротоме МПС-2 (Точмедприбор, Украина) и окрашивали гематоксилином Майера — эозином, по Маллори и Ван-Гизону.

На парафиновых срезах, помещенных на стекла Super frost plus, с использованием набора реактивов для иммуногистохимии (Bio Genex, США) идентифицировали коллаген I, II, III и IV типов с помощью моноклональных антител (к коллагенам соответствующих типов). Для определения состояния межклеточного матрикса синовиальной мембраны суставной капсулы проведены иммуногистохимические исследования по выявлению активности матриксных металлопротеиназ (ММР-2, ММР-9). Исследовали также экспрессию каспазы-3, Bcl-2. С использованием набора реактивов «ApoTag Plus Peroxidase in situ Apoptosis Detection Kit» (Integrin, Канада) идентифицировали фрагментированную ДНК. Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в канадский балзам. Все иммуногистохимические исследования проводили согласно протоколу фирм производителей. Степень экспрессии разных типов коллагена и металлопротеиназы оценивали визуально по балльной системе от 0 до 4. У каждого объекта на 10 срезах не менее чем в 50 полях зрения среди синовиоцитов производили подсчет доли клеток, экспрессирующих каспазу-3, Bcl-2 и дающих реакцию в тесте ApoTag и выражали ее в промиле.

Для электронно-микроскопического исследования материал фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида на какодильном буфере (pH 7,3) с последующей дополнительной фиксацией в 1% растворе четырехоксида осмия на том же буфере. Материал обезжировали в растворах ацетона возрастающей концентрации, после чего заливали в смесь эпона-812 и аралдита. Ультратонкие срезы, изготовленные на ультратоме LKB-5 (Bromma, Швеция), подвергали двойному контрастированию растворами уранилацетата и цитрата свинца. Исследование ультратонких срезов и их фотографирование проводили в электронном микроскопе ЭВМ 100АК (SELMI, Украина) при увеличении от 4000 до 40 000.

С помощью окулярного микрометра МОВ-1-1,5× определяли толщину синовиальной интимы. Статистическую обработку количественных данных производили на ПЭВМ Pentium IV с использованием пакета программ «Statistica 6,6 for Windows» и программного пакета «MS Excel 2007». Определяли среднее значение абсолютных и относительных величин ( $\bar{x}$ ), ошибку среднего ( $s_{\bar{x}}$ ) и стандартные отклонения (SD). Значимость полученных данных проводили по t-критерию Стьюдента. Различия считали значимыми при  $P < 0,05$ .

**Результаты исследования.** В течение I и II периодов зрелого возраста происходит структурная реорганизация синовиальной мембраны капсулы коленного сустава. В синовиальной мембране выявлены отчетливо выделяющаяся синовиальная интима и непосредственно прилегающий к ней субинтимальный фиброваскулярный слой, без границы переходящий в волокнистый слой суставной капсулы.

Синовиальная интима представлена соединительной тканью, содержащей преимущественно клетки, основное вещество и кровеносные капилляры. Толщина этого слоя в I периоде зрелого возраста человека составляет  $36 \pm 7$  мкм. Во II периоде зрелого возраста происходит увеличение тол-

щины синовиальной интимы как за счет покрывающих клеток, так и за счет увеличения основного вещества, и она составляет  $119 \pm 16$  мкм.

В синовиальной интиме в I периоде зрелого возраста при электронно-микроскопическом исследовании выявлено больше клеток с микроворсинками, хорошо развитым комплексом Гольджи, с многочисленными вакуолями и лизосомами, т. е. фагоцитирующих (А) синовиоцитов.

Во II периоде зрелого возраста, наряду с фагоцитирующими синовиоцитами, чаще, чем в I периоде, встречаются клетки крупных размеров с развитой гранулярной эндоплазматической сетью, с большим количеством фиксированных на ней рибосом и полисом, т. е. секреторные (В) синовиоциты.

В синовиальной интиме во II периоде зрелого возраста у человека по сравнению с I периодом обнаруживается значимое уменьшение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 с  $0,90 \pm 0,07$  до  $0,50 \pm 0,04$  ( $P < 0,05$ ) и увеличение экспрессии проапоптотического белка каспазы-3 с  $1,30 \pm 0,08$  до  $2,0 \pm 0,07$ . Во II периоде зрелого возраста происходит значимое повышение интрануклеосомальной фрагментации ДНК с  $1,25 \pm 0,06$  до  $2,50 \pm 0,10$  ( $P < 0,05$ ).

Синовиальная интима, являясь пластом соединительной ткани с покрывающими его клетками — синовиоцитами, ограничивающими суставную полость, не имеет базальной мембраны. При иммуногистохимическом выявлении коллагена IV типа, являющегося компонентом базальных мембран, он экспрессируется между синовиоцитами и в большей степени на границе между синовиальной интимой и субинтимальным фиброваскулярным слоем синовиальной мембраны (рис. 1, а, б). Отчетливо выраженная экспрессия коллагена IV типа выявлена в стенке сосудов субинтимального фиброваскулярного слоя и слабая — в сосудах волокнистого слоя суставной капсулы. Экспрессия коллагена IV типа выше во II периоде зрелого возраста.

Среди исследованных типов коллагена, обнаруженных в синовиальной мембране иммуногистохимически как в I, так и во II периоде зрелого возраста, активнее всего экспрессируется коллаген III типа, особенно во II периоде (см. рис. 1, в, г). В I периоде высокое содержание коллагена III типа отмечается между синовиоцитами, а во II периоде зрелого возраста он в виде нежнвоволокнистой сети располагается среди синовиоцитов. Высокое его содержание отмечено в субинтимальном фиброваскулярном слое и волокнистом слое суставной капсулы.

В синовиальной мембране выявлено умеренное содержание коллагена I типа и низкое — коллагена II типа, причем значимых различий в их

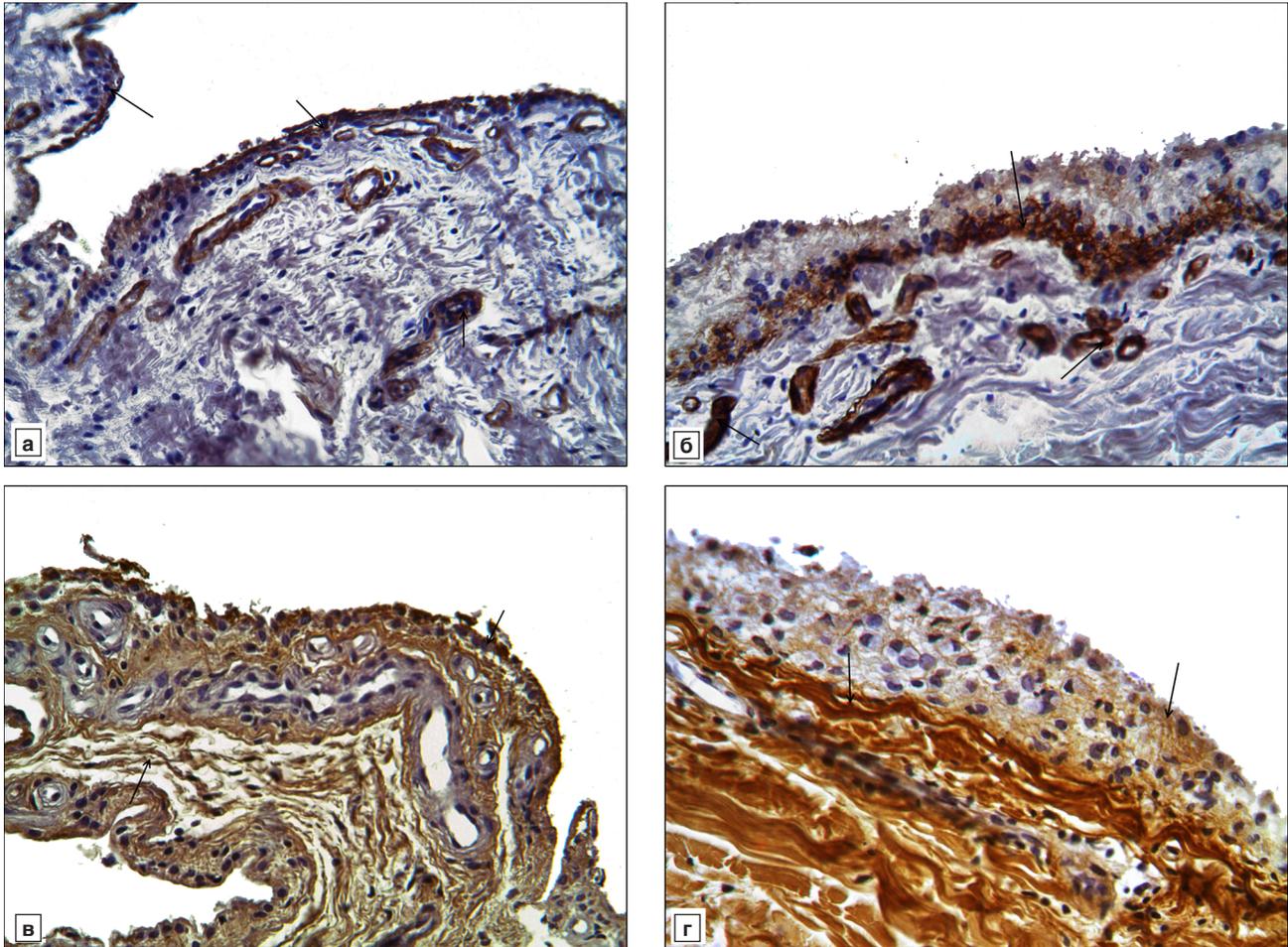


Рис. 1. Синовиальная мембрана суставной капсулы женщины 20 (а), 22 (в), 55 (г) лет и мужчины 58 лет (б).

а, б — экспрессия коллагена IV типа (стрелки); в, г — экспрессия коллагена III типа (стрелки). Иммуногистохимические реакции: а, б — с использованием антител к коллагену IV типа, в, г — с использованием антител к коллагену III типа. Ув.: а, в — 300; б, г — 600

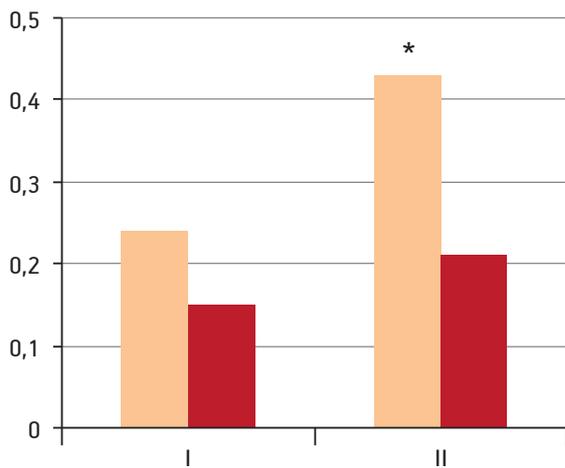


Рис. 2. Экспрессия металлопротеиназ: MMP-2 (темные столбики) и MMP-9 (светлые столбики) в синовиальной мембране коленного сустава человека в зрелом возрасте.

По оси абсцисс I — I период зрелого возраста; II — II период зрелого возраста; по оси ординат — показатели экспрессии (баллы); звездочка — различия значимы по сравнению с показателем в I периоде зрелого возраста при  $P < 0,05$

экспрессии в I и II периодах зрелого возраста, не обнаружено.

При исследовании MMP-2 и MMP-9 обнаружена слабая экспрессия этих ферментов в синовиальной мембране у людей в I периоде зрелого возраста с тенденцией к повышению во II периоде, особенно MMP-9 (рис. 2). Все исследованные признаки изменялись в равной степени у мужчин и женщин.

**Обсуждение полученных данных.** В зрелом возрасте у человека, как показали наши исследования, происходит структурная реорганизация клеток и межклеточного вещества синовиальной мембраны капсулы коленного сустава, независимая от гендерных признаков. Толщина синовиальной интимы во II периоде по сравнению с таковой в I периоде зрелого возраста человека увеличивается. Показатели толщины синовиальной интимы во II периоде зрелого возраста согласуются с данными, полученными В. Н. Павловой [8] при исследовании синовиальной интимы у людей того же возраста. В синовиальной интиме,

не имеющей базальной мембраны, коллаген IV типа экспрессируется больше во II периоде зрелого возраста между синовиоцитами, особенно на границе с субинтимальным фиброваскулярным слоем, формируя подобие отграничивающей «базальной мембраны». Основу субинтимального фиброваскулярного слоя синовиальной мембраны составляет коллаген III типа, содержание которого выше во II периоде зрелого возраста. Наши исследования по выявлению экспрессии каспазы-3, Bcl-2 и интрануклеосомальной фрагментации ДНК показали увеличение проапоптотической доминанты среди клеток синовиальной интимы во II периоде зрелого возраста по сравнению с таковой в I периоде. Металлопротеиназы MMP-2 и MMP-9 участвуют в разрушении межклеточного матрикса [10, 13, 14]. Имеются сведения об увеличении активности MMP-2 и MMP-9 в синовиальной жидкости при остеоартрозах у собак [11]. Однако сведения об активности этих ферментов в синовиальной мембране у людей зрелого возраста отсутствуют. Нами обнаружена слабая экспрессия матриксных металлопротеиназ в синовиальной мембране в I периоде зрелого возраста с тенденцией к их повышению во II периоде, особенно MMP-9.

Таким образом, выявленные нами особенности морфофункциональной реорганизации синовиальной мембраны капсулы коленного сустава во II периоде зрелого возраста: увеличение толщины синовиальной интимы, отчетливо выраженная в ней экспрессия коллагена IV типа, формирующего на границе с субинтимальным фиброваскулярным слоем разграничительную «мембраноподобную» структуру; активизация матриксных металлопротеиназ; увеличение проапоптотической и уменьшение антиапоптотической активности клеток синовиальной интимы, как мы полагаем, могут инициировать развитие в этом периоде дегенеративно-дистрофических процессов в суставном хряще, что согласуется с имеющимися сведениями о частоте развития остеоартроза именно в этом периоде зрелого возраста [1, 6, 12].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Л. И. Эпидемиологические основы остеоартроза: методология, распространенность, факторы риска в этнических неоднородных группах населения России и фармакотерапия: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2000.
2. Аршавский И. А. Основы возрастной периодизации. В кн.: Возрастная физиология. Руководство по физиологии. Л., Наука, 1975, с. 5–67.
3. Борзилова О. Х. Морфология переходной зоны синовиальной мембраны коленного сустава на этапах онтогенеза: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2005.
4. Бородин Ю. И., Любарский М. С., Бгатова Н. П. и др. Морфологические критерии состояния микроциркуляции и

лимфатического дренажа в синовиальной оболочке коленного сустава в норме и при патологии. Морфология, 2008, т. 133, вып. 1, с. 51–55.

5. Ваганова В. Ш. Развитие суставов в онтогенезе. Морфология, 2002, т. 121, вып. 2–3, с. 29.
6. Денисов-Никольский Ю. И., Мионов С. П., Омеляненко Н. П. и Матвейчук И. В. Актуальные проблемы теоретической и практической остеопатологии М., Новости, 2005.
7. Дремов Е. Ю. Микроскопическая анатомия синовиальной оболочки и суставного хряща коленного сустава в возрастном аспекте: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2007.
8. Павлова В. Н. Синовиальная среда сустава. М., Медицина, 1980.
9. Хитров Н. А. Структура заболеваемости остеоартрозом и проблема наличия сопутствующих заболеваний. Тер. арх., 2005, № 12, с. 59–63.
10. Burkert B. A. Matrix metalloproteinase 3, matrix metalloproteinase 13 and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 concentrators in normal and naturally-occurring osteoarthritic canine stifles. Baton Rouge Louisiana. A Thesis. Louisiana State University, 2005.
11. Coughlan A. R., Robertson D. H., Bennett D. et al. Matrix metalloproteinases 2 and 9 in canine rheumatoid arthritis. Vet. Rec., 1998, v. 143, № 8, p. 219–223.
12. Kapitonova M. Y. and Othman M. Ultrastructural characteristics of synovial effusion cells in some arthropathies. Malays J. Pathol., 2004, № 2, p. 73–87.
13. Martin J. A. and Buckwalter J. A. The role of chondrocyte senescence in the pathogenesis of osteoarthritis and in limiting cartilage repair. Bone Joint Surg. Am., 2003, v. 85, № 2, p. 106–110.
14. Ohta S., Tmai K., Yamashita K. et al. Expression of matrix metalloproteinase (matrilysin) in human osteoarthritic cartilage. Lab. Invest., 1998, № 78, p. 79–87.

Поступила в редакцию 05.02.2013  
Поступила после доработки 20.06.2013

#### MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF THE SYNOVIAL MEMBRANE OF HUMAN KNEE JOINT IN MATURE AGE

*T. G. Kozhanova, V. S. Polyakova, E. E. Mkhitaryan  
and K. N. Meshcheryakov*

The structural and functional reorganization of the synovial membrane of the knee joint capsule was studied in 22 individuals of mature age (30–65 years) of both genders with the use of light and electron microscopy, histochemistry, immunohistochemistry and morphometry. The morpho-functional peculiarities of the synovial membrane remodeling in the II period of mature age included: increase the in the synovial intima thickness; significant accumulation of type IV collagen at the border of synovial intima with the subintimal fibrovascular layer of synovial membrane; activation of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9; increased cell proapoptotic activity in synovial intima. Collectively, these changes may initiate the disturbances in fluid production and the development of the degenerative-dystrophic processes in the articular cartilage at this stage of ontogenesis.

**Key words:** *knee joint, synovial membrane, immunohistochemistry, collagens type I, II, III, IV, matrix metalloproteinases -2 and -9*

Department of Pathological Anatomy, Orenburg State Medical Academy