

# УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ХОНДРОЦИТОВ СУСТАВНОГО ХРЯЩА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ГОНАРТРИТА

Юрий Иванович БОРОДИН<sup>1</sup>, Наталья Петровна БГАТОВА<sup>1</sup>, Назим Расимович МУСТАФАЕВ<sup>1</sup>, Егор Юрьевич ДРЕМОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН  
630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2

<sup>2</sup> ОГУЗ Новосибирская областная клиническая больница  
630087, Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

С использованием метода трансмиссионной электронной микроскопии исследована структура суставного хряща при гонартрите. Показано, что морфологические изменения в суставном хряще при гонартрите связаны с изменением плотности межклеточного матрикса и, в зависимости от стадии процесса, с дистрофией, некрозом и апоптозом хондроцитов. В цитоплазме хондроцитов происходит снижение концентрации цитоплазматических органоидов, накопление липидов и электронноплотных включений.

**Ключевые слова:** гонартрит, суставной хрящ, хондроциты, ультраструктура.

Несмотря на значительные успехи в распознавании патогенетических механизмов и открытии новых методов лечения остеоартрита, не удается приостановить рост заболеваемости [1, 2]. Основные изменения сустава происходят в суставном хряще [3, 4]. Однако отсутствует единое мнение о развивающихся при этом процессах [5]. Поэтому целью данной работы было выявление особенностей ультраструктурной организации хондроцитов суставного хряща коленного сустава у пациентов с различными стадиями артрита.

## Материал и методы исследования

Морфологические исследования суставного хряща коленного сустава были проведены у 52 страдающих гонартритом пациентов, и был взят материал от 10 трупов. Контрольную группу составили 5 мужчин и 5 женщин в возрасте от 18 до 25 лет с травматическими повреждениями компонентов коленного сустава. Материал, взятый у пациентов с гонартритом, в зависимости от стадии их заболевания был разделен на 2 подгруппы: в первую вошел материал, взятый у 23 пациентов и от 10 трупов (1–2 стадия), во вторую полученный — у 19 пациентов с 2–3 стадией гонартрита (по классификации Kellgren J.H. и Lawrence J.S.). Гистологический материал для исследования был получен при выполнении лечебно-диагностических артроскопий и при проведении эндопротезирований коленного сустава. Для изучения структурной организации хондроцитов суставного хряща коленного сустава в условиях нормы и на различных стадиях артрита в световом микроскопе и просвечивающем режиме электронного микроскопа образцы тканей фиксировали в 2,5%-м растворе глutarового альдегида, затем в 1%-м растворе OsO<sub>4</sub> на фосфатном буфере, деги-

дратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон. Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим, изучали под световым микроскопом и выбирали необходимые участки для исследования в электронном микроскопе. Ультратонкие срезы контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата, цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1010. Морфометрические исследования выполняли в соответствии с общепринятыми принципами [6]. Морфометрию хондроцитов (по 50 клеток на каждую группу) проводили при конечном увеличении в 32 000 раз с помощью закрытой тестовой системы.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ Excel и Statistica. Различия между сравниваемыми средними оценивали с помощью t-критерия Стьюдента и считали достоверными при  $p < 0,05$ . Исследования выполнены в соответствии с положениями Хельсинкской декларации по проведению клинических исследований и согласованы с локальным этическим комитетом.

## Результаты исследования

Структура суставного хряща коленного сустава в условиях нормы характеризовалась равномерным окрашиванием хрящевой ткани, без видимых зон деструкции межклеточного матрикса. Хондроциты располагались по одиночке и образовывали изогенные группы. В цитоплазме хондроцитов отмечали большое содержание мембран гранулярного эндоплазматического ретикулула и прикрепленными рибосомами, свободных полисомальных рибосом. На поверхности клеток отмечали микроворсинки и выросты, в перичеселлюлярном пространстве располагались одиночные фибриллы

**Бородин Ю.И.** — академик РАМН, советник при дирекции

**Бгатова Н.П.** — д.б.н., профессор, зав. лаб. ультраструктурных исследований, e-mail: N\_Bgatova@ngs.ru

**Мустафаев Н.Р.** — канд.м.н., н.с. лаб. оперативной хирургии

**Дремов Е.Ю.** — канд.м.н., врач-травматолог

Таблица

Результаты морфометрического исследования хондроцитов суставного хряща коленного сустава ( $M \pm m$ )

Исследованные параметры	Контроль	Артрит коленного сустава 1–2 стадии	Артрит коленного сустава 2–3 стадии
Митохондрии (Vv)	$8,9 \pm 0,12$	$5,1 \pm 0,35^*$	$2,7 \pm 0,14^*$
Митохондрии Sv внутр. мембрана Sv наружн. мембрана	$2,1 \pm 0,07$	$0,66 \pm 0,11^*$	$0,58 \pm 0,08^*$
Митохондрии (NA)	$6,2 \pm 0,14$	$4,5 \pm 0,62$	$3,2 \pm 0,15^*$
Гранулярный эндоплазматический ретикулум (Vv)	$22,7 \pm 0,12$	$13,2 \pm 0,48^*$	$9,3 \pm 0,21^*$
Рибосомы прикрепленные (NA)	$60,5 \pm 2,47$	$32,1 \pm 2,18^*$	$18,6 \pm 2,45^*$
Рибосомы свободные полисомальные (NA)	$35,4 \pm 2,96$	$25,8 \pm 2,44^*$	$17,2 \pm 2,13^*$
Лизосомы (Vv)	$2,1 \pm 0,08$	$5,3 \pm 0,16^*$	$6,8 \pm 0,14^*$
Лизосомы (NA)	$2,0 \pm 0,19$	$2,2 \pm 0,43$	$1,9 \pm 0,12$
Липиды (Vv)	0	$12,5 \pm 0,37^*$	$30,7 \pm 0,49^*$
Электронноплотные включения (Vv)	0	$11,0 \pm 0,11^*$	$30,7 \pm 0,49^*$

Примечания: Vv – объемная плотность структур (% от объема цитоплазмы); NA – численная плотность структур (число структур в тестовой площади); SV – поверхностная плотность структур в объеме ( $\text{мкм}^2/\text{мкм}^3$ ); \* – обозначены величины, достоверно отличающиеся от соответствующих показателей в контроле.

коллагена (рис. а). Структурные признаки состояния межклеточного, перицеллюлярного матрикса и хондроцитов свидетельствовали о хорошем трофическом обеспечении органа и активном функционировании клеток.

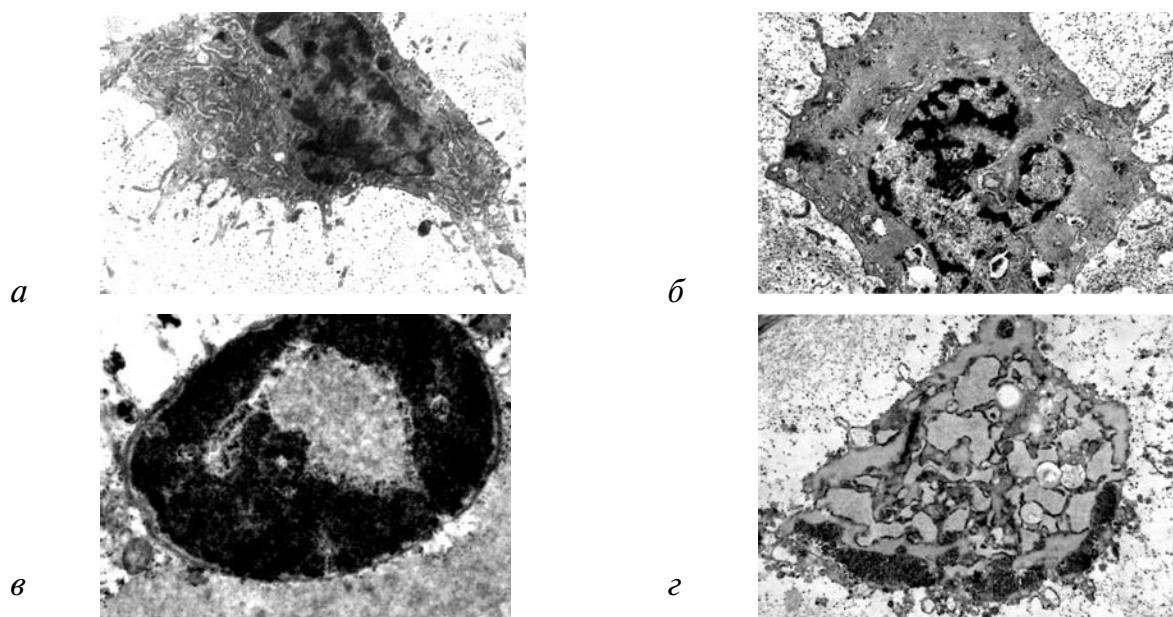
Структура суставного хряща пациентов с артритом коленного сустава 1–2 стадии характеризовалась неравномерным окрашиванием хрящевой ткани, с наличием зон различной плотности и деструкции межклеточного матрикса. Слабо окрашивалось околклеточное пространство хондроцитов. Отмечали структурную гетерогенность хондроцитов. При морфометрическом анализе хрящевых клеток было выявлено снижение на 43% объемной плотности митохондрий. При этом концентрация крист митохондрий уменьшалась на 69%, численная плотность органелл достоверно не изменялась по сравнению с контрольными значениями (табл.). Объемная плотность мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума уменьшилась на 30%, а численные плотности прикрепленных и свободных полисомальных рибосом – на 42 и 33%, соответственно (табл.). Повышалась объемная плотность лизосом в 2,5 раза. В цитоплазме происходило накопление липидов и электронноплотных включений (табл., рис. б).

При исследовании структуры суставного хряща коленного сустава пациентов с артритом 2–3 стадии отмечали клетки в состоянии апоптоза (рис. в). При морфометрическом анализе хондроцитов было выявлено снижение на 70%, по сравнению с соответствующей величиной в контроле, объемной плотности митохондрий. Концентрация крист митохондрий уменьшалась на 72%, а численная плотность органелл –

на 48% (табл.). На 59% уменьшалась объемная плотность мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума и на 69 и 51% – соответственно численные плотности прикрепленных и свободных полисомальных рибосом (табл.). Возрастала объемная плотность лизосом в 3,2 раза. В цитоплазме происходило значительное накопление липидов и электронноплотных включений (табл., рис. г).

При сравнении структуры хондроцитов суставного хряща коленного сустава пациентов с артритом 1–2 и 2–3 стадий было выявлено, что при большем клиническом проявлении болезни происходят более значимые дистрофические изменения хондроцитов. Так, при артрите 2–3 стадии в цитоплазме хондроцитов объемная плотность митохондрий была меньше на 48 %. Объемная плотность мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума снижалась на 30%, а численные плотности прикрепленных и свободных полисомальных рибосом – на 42 и 33% соответственно (табл.). В цитоплазме происходило более значительное накопление липидов и электронноплотных включений (табл.). Объемная плотность липидных и электронноплотных включений при артрите 2–3 стадии превышала соответствующий показатель у пациентов с артрозом 1–2 стадии в 2,5 раза (табл.). При артрите 2–3 стадии развивались более выраженные дистрофические изменения хондроцитов суставного хряща.

При исследовании структуры суставного хряща коленного сустава у пациентов с артритом 1–2 и 2–3 стадии нами были выявлены неравномерное окрашивание межклеточного матрикса и дистрофические изменения хондроцитов. В их цитоплазме отмечали наличие



**Рис.** Структура хондроцитов суставного хряща в зависимости от стадии гонартроза. а — Наличие выростов и микроворсинок на поверхности хондроцита, большое содержание мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума в условиях нормы. Увел. 8000. б — Структура хондроцита суставного хряща пациента с артрозом коленного сустава 1-2 стадии. Гетерохроматизация ядра, накопление электронноплотного содержимого в везикулах. Увел. 8000. в — Апоптоз хондроцита суставного хряща при 2-3 стадии гонартроза. Увел. 12000. г — Структура хондроцита суставного хряща пациента с артрозом коленного сустава 2-3 стадии. Расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети, возрастание содержания электронноплотного материала и липидных включений. Увел. 10000.

вакуолей, слабо окрашивалось перичеселлюлярное пространство, наблюдали деструкцию хондроцитов. По данным Piliñ A. et al. [7], изменение в окраске тканей может быть маркером определенного возраста и развивающихся дистрофических изменений. Начальные события повреждения хрящевой ткани связаны со снижением синтеза гликозаминогликанов матрикса хряща [8]. В цитоплазме хондроцитов происходило накопление липидов и электронноплотных включений. Последние, по-видимому, могли быть связаны с накоплением кальция. Известно, что митохондрии хондроцитов принимают участие в транспорте кальция и минерализации внеклеточного матрикса [9]. При нарушении функции митохондрий, что наблюдается при дегенеративных изменениях хондроцитов, кальций остается в клетке и происходит ее минерализация [9].

В суставном хряще, как и в других соединительных тканях, интерстициальное (межфибрилярное и межклеточное) пространство заполнено основным веществом (интегративно-буферной метаболической средой). Компонентами этой среды являются вода, протеогликаны, минеральные соли, молекулярные предшественники коллагена, плазменные белки. От качественного и количественного состава этой среды во многом зависят свойства суставного хряща и его жизнедеятельность [10]. В зависимости от объема и размерного дифференциаль-

ного распределения межклеточного матрикса определяют метаболическую активность суставного хряща [1]. Существование двух взаимодействующих, неразрывно связанных систем — микроканалов различного диаметра, сообщающихся с лакунами хондроцитов и суставной полостью, и интерстициального пространства — определяет пути транспорта продуктов метаболизма и перемещение жидкости. Это является одним из механизмов, посредством которого осуществляется регуляция жизнедеятельности суставного хряща и выполнение им своих биомеханических функций [1, 9]. Большую роль в состоянии суставного хряща играет синовиальная оболочка. Через ее сосудистую сеть происходит удаление продуктов распада хондроцитов, поступление энергетических и пластических материалов в хрящевую ткань [11].

По нашему мнению, наблюдаемые деструктивные изменения в суставном хряще, приводящие к патологии, обусловлены нарушением лимфатического дренажа в суставе. Об этом свидетельствуют полученные нами ранее данные о состоянии интерстиция, кровеносных и лимфатических капилляров синовиальной оболочки коленного сустава [12–15].

#### Заключение

Морфологические изменения в суставном хряще при гонартрите связаны с изменением плотности межклеточного матрикса и, в зависимости от стадии процесса, дистро-

фией, некрозом и апоптозом хондроцитов. В цитоплазме хондроцитов происходит снижение концентрации цитоплазматических органоидов, накопление липидов и электронноплотных включений.

#### Литература

1. Денисов-Никольский Ю.И., Миронов С.П., Омеляненко Н.П., Матвейчук И.В. Актуальные проблемы теоретической и клинической остеоартрологии. М., 2005. 336.
2. Denisov-Nikolsky Yu.I., Mironov S.P., Omeliyanenko N.P., Matveychuk I.V. Actual problems of theoretical and clinical osteoarthrology. Moscow, 2005. 336.
3. Goebel J.C., Watrin-Pinzano A., Bettembourg-Brault I. et al. Age-related quantitative MRI changes in healthy cartilage: preliminary results // *Biorheology*. 2006. (3): 547-551.
4. Mrosek E.H., Lahm A., Erggelet C. et al. Subchondral bone trauma causes cartilage matrix degeneration: an immunohistochemical analysis in a canine model // *Osteoarthritis Cartilage*. 2006. (2): 171-178.
5. Wang L., Kalu D.N., Banu J. et al. Effects of ageing on the biomechanical properties of rat articular cartilage // *Proc. Inst. Mech. Eng.* 2006. (4): 573-578.
6. Konig S.A., Goldammer A., Vitzthum H.E. Anatomical data on the craniocervical junction and their correlation with degenerative changes in 30 cadaveric specimens // *J. Neurosurg. Spine*. 2005. (5): 379-385.
7. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М., 1990. 166.
8. Avtandilov G.G. Medical morphometry. Moscow, 1990. 166.
9. Pilin A., Pudil A., Bencko V. Changes in colour of different human tissues as a marker of age // *Int. J. Legal Med.* 2007. (2): 158-162.
10. Takahashi I., Onodera K., Bae J.W. et al. Age-related changes in the expression of gelatinase and tissue inhibitor of metalloproteinase genes in mandibular condylar, growth plate, and articular cartilage in rats // *J. Mol. Histology*. 2005. (5): 355-366.
11. Blanco F.J., Lopez M.J., Maneiro E. Mitochondrial dysfunction in osteoarthritis. *Rheumatology*. 2004. (4): 715-728.
12. Омеляненко Н.П. Ультраструктура интерстициального пространства и основного вещества суставного хряща человека // *Архив АГЭ*. 1990. (6): 77-83.
13. Omeliyanenko N.P. Ultrastructure interstitial space and the basic substance of an articulate cartilage of the person. *Archive AGE*. 1990. № 6. 77-83.
14. Kapitonova M.Y., Othman M. Ultrastructural characteristics of synovial effusion cells in some arthropathies // *Malays J. Pathology*. 2004. (2): 73-87.
15. Бородин Ю.И. Регионарный лимфатический дренаж и лимфодетоксикация // *Морфология*. 2005. (4): 25-28.
16. Borodin Yu.I. Regional lymphatic drainage and lymphodetoxication. *Morphology*. 2005. № 4. 25-28.
17. Бородин Ю.И., Любарский М.С., Бгатова Н.П. и др. Морфологические признаки нарушения микрогемолимфоциркуляции коленного сустава при остеоартрозе // *Материалы I Сибирского съезда лимфологов. Проблемы экспериментальной, клинической и профилактической лимфологии*. Новосибирск, 2006. 57-58.
18. Borodin Yu.I., Lybarsky M.S., Bgatova N.P., Mustafaev N.R., Dremov E.Yu., Pavlov V.V., Baitov V.S. Morphological signs of infringement of knee joint microhaemolymphocirculation at osteoarthritis // *Materials of I Siberian congress of lymphologist. Problems of experimental, clinical and preventive lymphology*. Novosibirsk, 2006. 57-58.
19. Любарский М.С., Бгатова Н.П., Мустафаев Н.Р., Дремов Е.Ю. Морфологические признаки нарушений микроциркуляции в структурных компонентах сустава при артрозе // *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2006. 46-47.
20. Lubarsky M.S., Bgatova N.P., Mustafaev N.R., Dremov E.Yu. Morphological signs of infringements of microcirculation in joint structural components in arthrosis // *Angiology and vascular surgery*. 2006. P. 46-47.
21. Любарский М.С., Нимаев В.В., Мустафаев Н.Р. и др. Нарушения гемолимфоциркуляции у больных с гонартрозом // *Сибирский консилиум*. 2006. (5): 51-54.
22. Lubarsky M.S., Nimaev V.V., Mustafaev N.R., Dremov E.Yu., Altuhov I.A. Infringements of haemolymphocirculation at patients with knee joint arthrosis // *Siberian consultation*. 2006. (5): 51-54.

#### ULTRASTRUCTURAL FEATURES OF THE CHONDROCYTE IN AN ARTICULATE CARTILAGE DEPENDING ON STAGE OF KNEE JOINT ARTHRITIS

Yuri Ivanovich BORODIN<sup>1</sup>, Natalia Petrovna BGATOVA<sup>1</sup>, Nazim Rasimovich MUSTAFAEV<sup>1</sup>, Egor Yurievich DREMOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> SI Scientific Institute for Clinical and Experimental Lymphology SB RAMS

2, Ac. Timakov str., Novosibirsk, 630117

<sup>2</sup> OGUS state Novosibirsk regional clinical hospital

130, Nemirovicha-Danchenko str., Novosibirsk, 630087

Using transmission electron microscopy an articulate cartilage structural organization at knee joint arthritis was studied. It was shown that morphological changes in an articulate cartilage at knee joint arthritis are connected with change of density intercellular matrix and, depending on a stage of process, of chondrocyte dystrophy, necrosis and apoptosis are took place. In cytoplasm of chondrocyte there is a decrease in concentration cytoplasmic organelles, lipids accumulation and electron density inclusions.

**Key words:** knee joint arthritis, articulate a cartilage, chondrocyte, ultrastructure.

**Borodin Yu.I.** — the academician of the RAMS, the adviser at management

**Bgatova N.P.** — dr.sci.biol., the professor managing laboratory of ultrastructural researches, e-mail: N\_Bgatova@ngs.ru

**Mustafaev N.R.** — candidate of medical sciences, the scientific employee of laboratory of operative surgery

**Dremov E.Yu.** — candidate of medical sciences, doctor-traumatologist