

А. Г. БЕГЛАРЯН, Л. Н. МКРТЧЯН, А. В. АЗНАУРЯН, Д. К. ГЕВОРКЯН

К ПАТОГЕНЕЗУ ДЕЗОРГАНИЗАЦИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ УШКА ЛЕВОГО ПРЕДСЕРДИЯ ПРИ РЕВМАТИЗМЕ

Изучение биопсированного ушка левого предсердия при ревматизме в значительной мере расширило представление о данной болезни. Это касается прежде всего клинико-морфологических параллелей остроты течения ревматического процесса. Выявлен и ряд новых факторов об изменении метаболизма миокарда при сердечной недостаточности на почве ревматических пороков. В то же время наличие биопсированного материала, дающее возможность проведения разносторонних гистохимических и иммуногистохимических исследований, сравнительно мало обогатило наше понимание механизма развития прогрессирующей дезорганизации соединительной ткани. Этому проблемному вопросу современной ревматологии посвящено настоящее исследование.

Материал и методы. Морфологически, гистохимически и иммуногистохимически исследовали ушки левого предсердия 56 больных, полученные при операциях по поводу митрального или митрально-аортального стеноза*.

Парафиновые срезы окрашивались гематоксилин-эозином, пикрофуксинном (коллагеназа), синим толуидином рН 3,2 (гиалуронидаза), ставились реакции по Грам-Вейгерту, Браше (РНК-аза), Фельгену (ДНК-аза, коллагеназа), Шикку, Селье, флуорохромировалась по Берталанфи-Биккису, Хиксу-Маттеи. Часть препаратов исследовалась в реакциях иммунофлуоресценции по Кунсу (прямой и непрямой методы). Параллельно изучали ушки левого предсердия 10 практически здоровых лиц, погибших от травмы. Выборочные препараты исследовали при помощи фазово-контрастной микроскопии.

Для расшифровки некоторых гистохимических и гистохимических реакций *in vitro* использовали соединение ДНК, экстрагированной из селезенки телят по Mirsky А. Е., Pollister А. W. в модификации К. Г. Чамовой с проколлагеном кожи кроликов. Указанное соединение подвергали воздействию ДНК-азы и коллагеназы с последующей окраской мазков, приготовленных из центрифугата, по Фельгену.

В реакциях Кунса использовали меченую сыворотку крови кроликов, шестикратно иммунизированных ДНП с интервалами в 2—3 дня (10 мл на 1 кг веса) и забитых спустя неделю после окончания иммунизации, а также сыворотку крови больных ревматизмом.

Результаты и обсуждение. В препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином, изучали неспецифический экссудативно-пролиферативный компонент, а также определяли наличие или отсутствие ашоф-талаалаевских гранул. Очевидные признаки ревматического кардита были выяв-

* Приносим благодарность проф. А. Л. Микаеляну за возможность использования операционного материала.

лены в 17 наблюдениях (30,4%). При сопоставлении гистологической картины с клинико-лабораторными данными не было найдено корреляции между ними. Более того, не выявлено прямой зависимости между интенсивностью атак в прошлом и тяжестью изменений в ушке левого предсердия.

Отсутствие четких морфологических критериев остроты течения ревматизма значительно затрудняет клинико-морфологический анализ. Так, полагают [10], что серозный эндокардит связан не с экссудацией, а с накоплением кислых мукополисахаридов, поэтому он является не воспалительным, а дистрофическим процессом и не может служить признаком активного эндокардита. Нам представляется необоснованным такое разграничение, поскольку воспалительная реакция в значительной мере обусловлена дистрофическими процессами. Степень выраженности реакции диффузной или пятнистой γ -метахромазии в сочетании с фокальными или распространенными клеточными инфильтратами, по-видимому, следует считать наиболее очевидным признаком остроты течения ревматического процесса в морфологическом отношении.

Набухшие коллагеновые пучки эндокарда при окраске толудиновым синим приобретали метахроматическое окрашивание, которое почти полностью исчезало под влиянием гиалуронидазы. При этом метахромазия межучасточного основного вещества (МОВ) была гораздо менее выражена, а иногда вообще отсутствовала. Это объясняется тем, что МОВ, как лабильная субстанция, рано деполимеризируется с образованием гиалуронатов, не обладающих способностью метахроматического окрашивания. Наличие метахроматических зерен в основном веществе частично обусловлено и зернистым распадом коллагена. Сравнительно мало кислых полисахаридов в МОВ выявлено и в срезах, флуорохромированных по Хиксу и Маттеи. Эти данные свидетельствуют о том, что мукоидное набухание в ушке левого предсердия поддерживается в основном не диссоциацией белково-углеводных комплексов МОВ, а перманентной дистрофизацией коллагена.

Нам кажется, что биологическая целесообразность наличия такого большого количества кислых полисахаридов в эндокарде, с одной стороны, объясняется выполняемой ими механической функцией—ликвидацией влияния на эндокард вихревых волн, что, несомненно, имеет большое значение для нормальной функции сократительного миокарда, а с другой—барьерной способностью кислых полисахаридов, образующих химический барьер вокруг внедрившихся микроорганизмов [3]. Чаще всего β -гемолитический стрептококк и продукты тканевого распада в эндокард проникают ретроградным лимфотоком из лимфоглоточного кольца [4, 7]. В связи с этим следует заметить, что, по нашим данным, тушь, введенная в околоминдаликовую клетчатку крыс, через основание сердца в 68,2% случаев проникает в створки митрального клапана (пленчатые препараты).

Реакцией Фельгена установлено обилие мелких коричневатых и изредка розовато-красных зерен в эндокарде. Эти зерна имели преиму-

соответственно линейное расположение, соответствующее ходу коллагеновых пучков (фазово-контрастная микроскопия—рис. 1). В участках распада коллагеновых пучков зерна эти были беспорядочно расположены. В строме миокарда они наблюдались несколько реже, но и здесь были вкраплены в коллагеновые фибриллы. В мышечных клетках коричневые и розовато-красные зерна полностью отсутствовали. Нередко они выявлялись и по ходу коллагеновых пучков стенок сосудов. Коричневая и розовато-красная зернистость при реакции Фельгена выявлена в 40 наблюдениях (71,4%), причем у лиц с продолжительностью заболевания 10—19 лет (19 случаев). Кроме того, активный ревматический процесс и формирование цветущих гранул чаще наблюдались в случаях с коричневой и розовато-красной зернистостью.



Рис. 1. Зернистость по ходу коллагеновых фибрилл эндокарда. (реакция Фельгена, $\times 840$).



Рис. 2. Дезинтеграция ядерного хроматина гипертрофированных мышечных клеток. (Окраска толуидиновым синим, $\times 1890$).

Наличие при реакции Фельгена зерен переходных тонов от ярко-красного до коричневатого, а также их расположение по ходу коллагеновых пучков дали основание предположить, что эти образования связаны с нарушением обмена ДНК и коллагена. Поэтому срезы были инкубированы в растворах ДНК-азы и коллагеназы. Во всех случаях зернистость под влиянием указанных ферментов полностью исчезала; лишь в 1 наблюдении сохранились следы зерен, но с потерей тинкториальных свойств. ДНК, вышедшая из ядер, уже находится в состоянии деполимеризации и под влиянием ДНК-азы, безусловно, сильнее подвергается дальнейшему распаду с полной потерей тинкториальных свойств при реакции Фельгена.

С целью биохимической идентификации изучаемых зерен, как было выше отмечено, *in vitro* получено комплексное соединение высокополимерной ДНК с проколлагеном. После 2-часовой инкубации при $t\ 4^{\circ}\text{C}$ в пробирки добавляли ДНК-азу и коллагеназу. Оказалось, что при сочетанном воздействии указанных ферментов мазки, приготовленные из центрифугата, в реакции Фельгена приобретали вид коричневатых масс.

Вышеизложенное позволяет считать, что коричневатые по Фельгену зерна являются соединением деполимеризованной ДНК с коллагеном.

Еще в 1959 г. в опытах *in vitro* была установлена способность бактериальной ДНК вступать в комплексное соединение с проколлагеном с последующим более интенсивным расщеплением под влиянием протеолитических ферментов [6]. Гистохимический феномен дистрофизации коллагеновых пучков под влиянием вышедшей из ядер ДНК при группе коллагеновых болезней был описан А. Г. Бегларяном (1962).

Следует отметить, что ни при одном из применяемых методов описанная зернистость не наблюдалась. Так, при окраске по Шабдашу зерна гликогена, расположенные по ходу миофибрилл, только при глубокой дегенерации миокарда проникали в интерстициальную ткань. При активном ревматическом процессе, сопровождающемся увеличением фуксинофильного вещества (по Селье) в мышечных клетках и цветущих ревматических гранулемах, аналогичной зернистости в эндокарде и миокардиальной строме также не выявлено [5].

Интересные данные были получены при флуорохромировании срезов по Берталанффи-Биккису. Отчетливо проявлялись изменения хроматина в виде периферического и центрального хроматолиза, отшнуровки и распыления ядерного вещества как в ядрах гипертрофированных мышечных, так и соединительнотканых клеток. Более того, в части случаев коллагеновые пучки эндокарда приобретали желто-зеленое свечение, характерное для ядер. В этом отношении люминесцентно-микроскопический метод является несравненно более чувствительным и в гистотопографическом отношении более отчетливым, чем реакция Фельгена. Об изменениях ядер представлялось возможным судить и по окраске толудиновым синим. Так, в ядрах гипертрофированных клеток миокарда наблюдалась своеобразная дезинтеграция ядер с появлением большого числа обособленных ортохроматических зерен (рис. 2). Нередко в межклеточном основном веществе наряду с метахроматической зернистостью выявлялись и мелкие ортохроматические зерна. Иногда они располагались по краю сарколеммы (рис. 3).



Рис. 3. Скопление зерен по краю сарколеммы. (Окраска толудиновым синим, $\times 1890$).



Рис. 4. Фиксация антител в области сарколеммы и в прилегающих к ней участках. (Метод Кунса, $\times 1890$).

Поскольку речь идет о нуклеиновых кислотах и нуклеопротеидах, интересно проследить аутоиммунные реакции, связанные с повышенной продукцией антинуклеарных антител. В настоящее время можно

рассчитать доказанным существование циркулирующих, а также фиксированных с тканевыми элементами антител, возникающих при иммунизации ДНК и ДНП [2].

Результаты иммунофлуоресцентных исследований показали, что при использовании сыворотки крови больных ревматизмом специфическое свечение обнаруживалось в основном по ходу сарколеммы и в прилегающих к ней участках саркоплазмы (рис. 4). Отмечалось также свечение отдельных фрагментов мышечного волокна (рис. 5). Адсорбированная от гомогената ткани сердца иммунная сыворотка специфического свечения не давала. Обработка ткани ушка практически здоровых людей мериценой сывороткой не выявила закономерной реакции антител.



Рис. 5. Преципитация антител в отдельных фрагментах мышечного волокна. (Метод Кунса, $\times 1890$).



Рис. 6. Корпускулярное свечение по ходу коллагеновых фибрилл. (Метод Кунса, $\times 1890$).

При обработке ткани ушка сывороткой подопытных животных, иммунизированных ДНП, специфическое свечение наблюдалось по ходу коллагеновых фибрилл эндокарда в виде мелких зернышек (рис. 6). Сопоставление с результатами реакции Фельгена показало, что указанное свечение наблюдалось преимущественно в случаях с коричневатой зернистостью.

Обобщая изложенное выше, можно прийти к выводу, что при ревматизме в ушке левого предсердия наблюдается комплексное содинение ДНК с проколлагеном. Источником ДНК являются не только ядра клеток соединительной ткани, но и ядра гипертрофированных мышечных волокон. Максимальная концентрация ДНК и других эндогенных факторов создается у основания сердца, куда собирается лимфа со всех его отделов. Указанные вещества при митральном пороке оказывают выраженное альтерирующее воздействие на внеклеточные структуры соединительной ткани левого предсердия, находящегося в функционально перенапряженном состоянии. В этом, на наш взгляд, кроется одна из причин подверженности ткани ушка дезорганизации при ревматизме. Поражение соединительной ткани усугубляется также вовлечением в процесс иммунопатологических реакций, обусловленных появлением циркулирующих и фиксированных с тканевыми элементами аутоанти-

Ա. Հ. ԲԵԳԼԱՐՅԱՆ, Լ. Ն. ՄԿԵՐՏՉՅԱՆ, Ա. Վ. ԱԶՆԱՎՈՐԻԱՆ, Զ. Դ. ԳԵՎՈՐԿՅԱՆ

**ՌԵՎՄԱՏԻԶՄԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ԶԱՆ ՆԱԽԱՍՐՏԻ ԱԿԱՆՋԻԿԻ ՇԱՐԱԿՑԱԿԱՆ
ՀՅՈՒՍՎԱԾՔԻ ԿԱԶՄԱԼՈՒԾՄԱՆ ԱՆՏԱՆՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ**

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Սրտի ռևմատիկ արատներով 56 հիվանդներից, վիրահատման ժամանակ, ստացված ձախ խոսքերի ականջիկները ուսումնասիրվել են ձևաբանորեն, հիստոքիմիորեն և իմունոհիստոքիմիորեն:

Հայտնաբերված է, որ ռևմատիզմի ժամանակ տեղի է ունենում ԴՆԹ-ի կոմպլեքսացումը քերկուլացների հետ: Ցույց են տրված միջուկային նյութի դեգրեդացիայի և երկրման վերջանալը, նրա հաստատումը սոսնառու խրձիրում և կենտրոնական ու ծայրամասային բրոմատոլիզի երևույթները: Հայտնաբերված է նաև ինքնահակամարմինների հաստատումը մկանային բջիջի շարակցական պատյանի շրջանում և էնդոկարդի սոսնձատու խրձերի ընթացքով:

A. G. BEGLARIAN, L. N. MEKERTCHIAN, A. V. AZNAOURIAN,
D. K. GEVORKIAN

**PATHOGENESIS OF DISORGANIZATION OF THE CONNECTIVE
TISSUE OF THE LEFT ATRIUM AURICLE IN RHEUMATISM**

S u m m a r y

A morphological histochemical and immunological analysis of the auricles of the left atrium has been made, the data being obtained from operations on 56 patients with rheumatic valvular disease.

It has been established that a complex formation of DNK with procollagen takes place during rheumatism in the auricle of the left atrium. An unlacing and disintegration of the nuclear substance has been discovered together with its fixation along collagen fascicles and phenomena of peripheral and central chromatolysis. The fixation of auto-antibodies in the region of the sarcolemma and along the collagen fascicles of the endocardium has also been revealed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бегларян А. Г. Докт. дис., 1963.
2. Бегларян А. Г., Азнаурян А. В. Архив патологии, 1970, 7, 62—67.
3. Бегларян А. Г., Вартазарян Н. Д., Амбарджанян Р. С. Вопросы охраны мат. и дет., 1970, 9, 51—54.
4. Белецкий В. К. Вопр. ревм., 1965, 1, 3—7.
5. Геворкян Д. К. Канд. дис., 1968.
6. Поверенный А. М. Биохимия, 1959, 24, 5, 777.
7. Рейнгольд М. Л. Клинич. мед., 1940, 18, 7—8, 134.
8. Тустановский А. А. Биохимия, 1947, 12, 4, 286.
9. Чамова К. Г. Бюлл. экспер. мед., 1958, 2, 89.
10. Geller G. Dtsch. med. Wschr., 1967, 92, 31, 1383.
11. Mirsky A. E., Pollster H. W. J. Gen. Physiol. 1946, 30, 117.