

УДК 616.72—002—022

А. Г. БЕГЛЯРЯН, Н. Д. ВАРТАЗАРЯН

ИЗМЕНЕНИЕ СУСТАВОВ У КРЫС ПРИ ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ КУЛЬТУР А-СТРЕПТОКОККА

У крыс, инфицированных различными штаммами А-стрептококка, изучалась динамика суставных изменений после внутреннего введения суточной культуры стрептококка 1-, 12-го типов, а также культур, выделенных от больных ревматизмом, острым гломерулонефритом и стрептококковым аллергическим васкулитом кожи.

Суставные изменения прогрессировали только после повторного введения стрептококка 12-го типа и культуры, выделенной от больного стрептококковым аллергическим васкулитом. С 14-го дня отмечается деструкция суставного хряща с ростом грануляционной ткани и фиброзным анкилозом, которые напоминают изменения, наблюдаемые при ревматоидном артрите человека.

Изучение морфологии суставных поражений у животных, инфицированных стрептококком группы А, имеет значение для выяснения вопроса патогенеза инфекционных полиартритов, напоминающих ревматоидный артрит человека. Такая постановка вопроса объясняется отсутствием в литературе окончательных данных об этиологии заболевания, хотя и имеются данные о его инфекционной природе. Неясности в этиологии заболевания побудили многих авторов в эксперименте изучить роль гемолитического стрептококка, его различных компонентов и иммунологических процессов [1, 5, 13, 19—21, 23].

В настоящей работе была поставлена задача в эксперименте изучить динамику суставных изменений при стрептококковом полиартрите у крыс, инфицированных различными штаммами стрептококка группы А.

Материал и методы

Ставились опыты на крысах линии «Вистар» весом 100—120 г. Животные распределялись на 5 групп по 30 крыс в каждой. Первая группа инфицировалась культурой А-стрептококка 1-го типа (штамм № 2/49), вторая—культурой 12-го типа (штамм 22/59), полученными из Института эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР. Крысы третьей группы заражались культурой А-стрептококка, выделенной нами от больного с острым гломерулонефритом. Животным же четвертой группы вводили культуру стрептококка, выделен-

ного от больного с активным ревматизмом при первой атаке. Пятую группу крыс инфицировали культурой А-стрептококка, выделенного нами от больного стрептококковым аллергическим васкулитом кожи. Использовались суточные бульонные культуры стрептококка группы А, отмытые 8—10 раз стерильным физиологическим раствором. Концентрацию микробной взвеси определяли по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Тарасевича. В опытах использовались лишь те штаммы А-стрептококка, которые при внутривенном введении в количестве 15 млрд микробных тел вызывали гибель 50% крыс в течение недели. После внутривенного введения 4 млрд взвеси стрептококков крысы забивались через 2 и 24 часа, 7, 14 и 30 дней. Животным, находящимся под наблюдением в течение 14 и 30 дней, спустя 7 и 15 дней после первой инъекции вводили стрептококк в той же дозе.

Для выявления стрептококков производились посевы проб крови и измельченных тканей суставов на кровяной агар. Готовились криостатные срезы для прямой и непрямой реакции иммуофлюоресценции. В прямой реакции использовалась кроличья флуоресцирующая сыворотка против глобулина крысы, в непрямой—кроличья антистрептококковая сыворотка группы А 1-го типа с последующим нанесением на срез меченой антикроличьей ослиной сыворотки. Стандартные сыворотки были получены из Института им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР. Для контроля специфичности антистрептококковая сыворотка испытывалась на срезах органов интактных крыс, антитела блокировались взвесью убитой культуры стрептококка группы А, ставилась реакция с нормальной кроличьей сывороткой. Для контроля специфичности антистрептококковая сыворотка испытывалась на срезах органов интактных крыс, антитела блокировались взвесью убитой культуры стрептококка группы А, ставилась реакция с нормальной кроличьей сывороткой. Для контроля специфичности прямой реакции на срезы из тканей суставов интактных крыс наносили люминисцирующую кроличью антисыворотку против глобулинов крыс и ослиную антисыворотку против глобулинов кролика.

Для морфогистохимического исследования кусочки из тканей фиксировались в жидкости Карнуа, заливались в парафин. Декальцинация костей производилась в жидкости Дженкинса. Срезы окрашивали: гематоксилин-эозином, пикрофуксином, толуидиновым синим (рН 3,0 и 4,8), азаном по Гейденгайну, по Грам-Вейгерту. Ставилась реакция по Браше на РНК. Контроль с рибонуклеазой.

Результаты и обсуждение

У всех животных после введения стрептококка с 4—5-го дня развивался полиартритический синдром с преимущественным поражением предплечье-запястных и коленных суставов. Лапки становились отечными и болезненными с нарушением функции. Если макроскопически у всех животных в течение 7 дней суставные изменения были одинаково выражены, то с 14-го дня между группами наблюдалось отличие.

Наиболее выраженные и стабильные изменения констатировались при инфицировании 12-ым типом А-стрептококка и культурой, выделенной от больного со стрептококковым аллергическим васкулитом кожи. Наряду с тугоподвижностью при вскрытии коленных суставов отмечалось увеличение количества синовиальной жидкости со снижением вязкости, а также полнокровие синовиальных оболочек. Суставная щель заполнялась грануляционной тканью, и на 30-й день обнаруживался фиброзный анкилоз. В остальных группах изменения ограничивались лишь помутнением с некоторым огрубением суставных поверхностей. Указанные сдвиги в основном относились к коленным и частично к предплечье-запястным суставам.

При рентгенологическом исследовании (рис. 1) отмечалось прогрессирующее сужение суставной щели с узурацией суставных поверх-

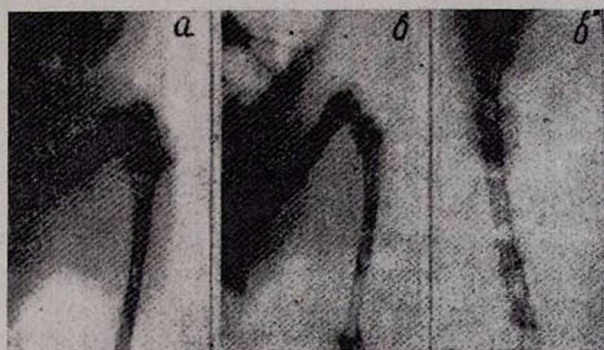


Рис. 1. Рентгенограмма крысы на 30-й день после инфицирования стрептококком группы А 12-го типа. а—нарушение контуров суставных поверхностей коленного сустава с заполнением суставной щели и развитием фиброзного анкилоза; б—коленный сустав интактной крысы; в—нарушение непрерывности контуров позвонков хвоста.

ностей и наклонностью к анкилозированию, что, как известно, характерно для воспалительных и инфекционных заболеваний суставов вообще [3, 4]. На 30-й день они имели анатомо-рентгенологическое сходство с изменениями при ревматоидном артрите, напоминая вторую и третью стадию болезни, когда замечались множественные узурации, разрушение хряща и сужение суставной щели.

Микроскопические изменения в суставах обнаруживались рано. Через 24 часа уже наблюдалась умеренная пролиферативная реакция синовиальных клеток, в которых иммуофлуоресцентным методом и по Грам-Вейгерту стрептококк не обнаруживался. Стрептококки не удалось выявить также в ткани суставного хряща, которая окрашивалась толундиновым синим метакроматично с наличием редких ортохроматических очагов. На суставных поверхностях нередко определялись клеточные скопления, состоящие из лимфоцитов и нейтрофильных лейкоцитов. Указанные изменения, имеющие стереотипный характер, чаще констатировались на 7-й день эксперимента.

Можно полагать, что отсутствие стрептококка в ткани хряща, синовиальной оболочке и в жидкости при его наличии в параартикулярной соединительной ткани, а также в стенках сосудов (метод Грам-Вейгерта) обусловлено барьерной функцией кислых мукополисахаридов, уровень которых в межуточном основном веществе по направлению от капсулы до синовиальной оболочки постепенно нарастает, что было хорошо видно в срезах, окрашенных толуидиновым синим. В этих условиях задерживается процесс внедрения стрептококка из микроциркуляторного русла в окружающую ткань в связи со снижением его жизнеспособности. Это, несомненно, отражалось и на тинкториальных свойствах возбудителя, в связи с чем использованные нами методы (как по Грам-Вейгерту, так и флюоресцирующих антител) были недостаточными для их выявления в тканях. При этом высвобождение антигенных субстанций микробной клетки явилось основным фактором развития синовита.

Заметные отличия, характеризующие особенности патологического процесса, вызванные испытываемыми культурами, выявлены на 14- и 30-й дни. В непрямой реакции иммунофлюоресценции во внутреннем клеточном слое синовиальной оболочки, а также на поверхности ворсин определялись синовиальные клетки, диффузно реагирующие с антистрептококковой сывороткой (рис. 2 а). Люминесценция не снималась после адсорбции сыворотки гомогенатом из тканей суставов и селезеночным порошком и в то же время полностью отсутствовала в срезах из ткани суставов контрольных неинфицированных животных. Изменения имели более тяжелый и прогрессирующий характер у крыс 2- и 5-й групп. Основной процесс развивался в хондроцитах и в межуточном веществе хряща, которые постепенно лишались хромотропной субстанции. С 14-го дня в большинстве хондроцитов кислые мукополисахариды редко обнаруживались или определялись в виде узкой краевой зоны под клеточной мембраной, а также в межуточном веществе базального слоя хряща (рис. 2 б). Указанные сдвиги, характеризующие гистохимические особенности суставного хряща, напоминали изменения при ревматоидном артрите, когда в ткани резко уменьшается уровень мукополисахаридов. Одновременно отмечалось уменьшение количества хондроцитов с инфильтрацией ткани мононуклеарами (рис. 2 в). В этом периоде в ткани суставов преобладали признаки серозного воспаления с умеренной пролиферацией кроющих клеток синовиальной оболочки, что при остром и подостром синовите описано также Н. Н. Грицман и А. А. Роговым [8], Т. М. Трофимовой и соавт. [12] в ранней стадии инфекционного неспецифического полиартрита. На 14- и особенно 30-й день после введения стрептококка у крыс второй и пятой групп суставной хрящ большими очагами замещался волокнистой соединительной тканью с развитием фиброзного анкилоза (рис. 2 г).

Воспалительная реакция сопровождалась заметной инфильтрацией синовиальной оболочки и суставной капсулы лимфоцитами и гис-

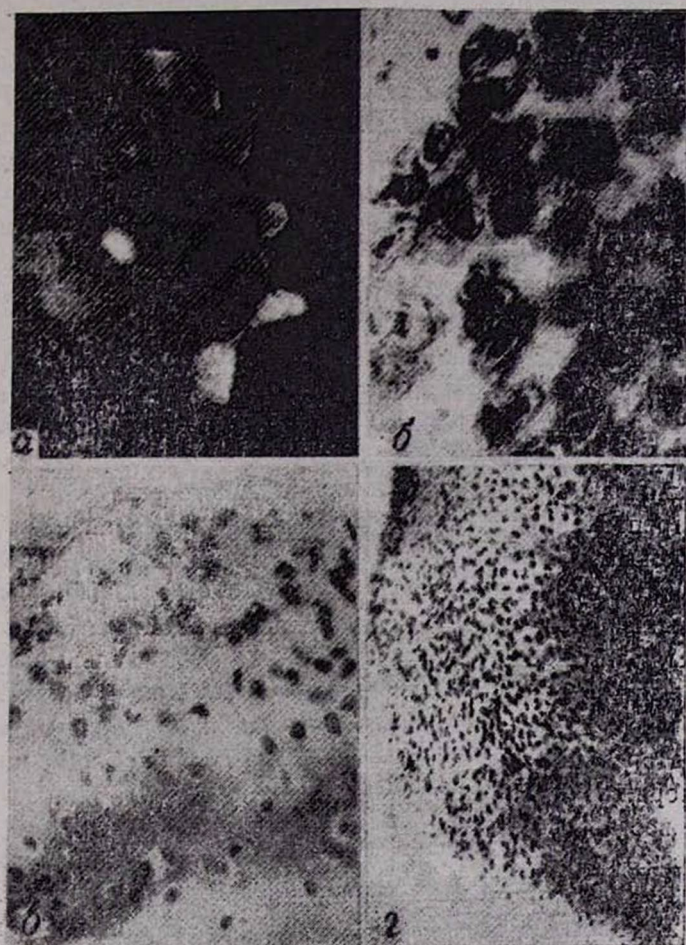


Рис. 2. Изменение суставов крыс, инфицированных стрептококком группы А. а—диффузное свечение цитоплазмы синовиальных клеток, ворсинки коленного сустава. Непрямая реакция иммунофлюоресценции с антистрептококковой сывороткой I-го типа на 7-й день после инфицирования стрептококком, выделенным от больного стрептококковым аллергическим васкулитом кожи, об. $\times 40$, гомаль $\times 5$; б—отсутствие хромотропного вещества в ткани суставного хряща с наличием лишь узкой краевой зоны метакромазии в цитоплазме отдельных хондроцитов; в—умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация в поверхностном слое суставного хряща с отсутствием хондроцитов и хромотропного материала. б, в—на 14-й день инфицирования животных культурой А-стрептококка, выделенной от больного стрептококковым аллергическим васкулитом кожи, об. $\times 40$, ок. $\times 10$; г—рост соединительной ткани на месте суставного хряща через 30 дней после инфицирования А-стрептококком 12-го типа, об. $\times 10$, ок. $\times 10$. б, в, г—окраска толудиновым синим.

тиоцитами с очаговыми полями мукоидного набухания. Описанные при ревматоидном артрите лимфоидные скопления в синовиальной оболочке ни в одном случае не обнаруживались. Они не были выявлены у крыс также Т. Н. Копьевой [9] при адьювантном артрите. Иммунофлюоресцентным методом обнаруживались участки фиксированных аутологичных глобулинов. В непрямо́й реакции в сосудах параартикулярной ткани обнаруживался стрептококковый антиген и единичные макрофаги, реагирующие с антистрептококковой сывороткой. У крыс второй и пятой групп в отличие от остальных отмечались выраженные изменения со стороны мелких сосудов синовиальной оболочки и параартикулярной ткани.

Преимущественное поражение микроциркуляторного русла в виде пролиферативного васкулита и связанный с ним подострый гиперпластический синовит явились теми основными признаками тканевых изменений, которые определяли патоморфологическую картину полиартрита. Они зависели от введенного инфицирующего агента.

Так, стрептококк 12-го типа и культура, выделенная от больного стрептококковым аллергическим васкулитом кожи, вызвали описанную выше картину полиартрита в отличие от стрептококка 1-го типа и культур, выделенных от больных с активным ревматизмом и гломерулонефритом, которые в суставах вызывали незначительные изменения. Сосудистые изменения у крыс второй и пятой групп напоминали изменения при ревматоидном артрите человека, при котором, как указывает ряд авторов [2—4, 6—8, 12, 16], ранним патогенетическим звеном является поражение микроциркуляторного русла.

Как известно, синовиальная жидкость является диализатом крови с примесью секрета кроющих клеток синовиальной оболочки. В связи с поражением синовиальной оболочки (подострый синовит) синовиальная жидкость теряет свою вязкость, разжижается, становится мутной [10, 18]. Такие изменения синовиальной жидкости, несомненно, сказываются на хрящевой ткани, в которой до появления паннуса обнаруживаются очаги деполимеризации межучточного основного вещества в виде бесструктурных эозинофильных полей. Последние толудиновым синим окрашиваются ортохроматично.

В механизме развития описанных суставных изменений у животных, инфицированных стрептококком 12-го типа и культурой, выделенной от больного со стрептококковым аллергическим васкулитом кожи, помимо инфекционно-токсического воздействия возбудителя, определенное значение следует придавать также реакциям повышенной чувствительности как замедленного, так и немедленного типов. Об этом свидетельствуют также результаты исследований Л. В. Белецкой [5], которая в развитии экспериментального стрептококкового полиартрита важное значение придает аллергическим реакциям, оценивая полиартрит как результат гиперергического воспаления. Эти изменения также напоминают ревматоидный артрит человека, в основе которого лежат иммунные нарушения [11, 14].

Хотя ни у одного животного ни в одном сроке инфицирования как бактериологическим, так и бактериоскопическим методом в синовиальной оболочке и ткани суставного хряща стрептококк не обнаружился, все же исключить роль непосредственного воздействия микроба и его токсинов на ткани суставов не представляется возможным, т. к. удалось выявить свечение микробного антигена в ткани. Поэтому можно считать, что в механизме повреждения микроциркуляторного русла суставов основную роль играет первичное инфекционно-токсическое повреждение стрептококком, к которому в дальнейшем присоединяются аллергические и иммунопатологические реакции.

Таким образом, при внутривенном инфицировании крыс различными культурами А-стрептококка на 4—5-й день развивается полиартритический синдром, имеющий стереотипный характер. Суставные изменения прогрессируют только после повторного введения стрептококка 12-го типа и культуры, выделенной от больного стрептококковым аллергическим васкулитом кожи. С 14-го дня на фоне иммунопатологических реакций и васкулитов отмечается деструкция суставного хряща с ростом грануляционной ткани и фиброзным анкилозом, которые напоминают изменения, наблюдающиеся при ревматоидном артрите человека.

Кафедра патологической анатомии
Ереванского медицинского института

Поступила 28/IV 1978 г.

Ա. Հ. ԲԵՂԱՐՅԱՆ, Ն. Դ. ՎԱՐԴԱՋԱՐՅԱՆ

Ա-ՍՏՐԵՊՏՈԿՈԿԻ ՏԱՐԲԵՐ ԿՈՒՏՈՒՐԱՆԵՐԻ ՆԵՐՆՐԱԿԱՅԻՆ ՆԵՐԱՐԿՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ ՀՈԴԵՐԻ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԱՌՆՏՆԵՐԻ ՄՈՏ

Փորձական պայմաններում ուսումնասիրվել է առնետների մոտ զարգացող պոլիարթրիտի դինամիկան, կապված А-ստրեպտոկոկի տարբեր կուլտուրաներով վարակման հետ:

Կենդանիները ներերակային ճանապարհով վարակվել են А-խմբի 1-ին տիպի հեմոլիտիկ ստրեպտոկոկով (№ 2/49 շտամ), 12-րդ տիպով (№ 22/59 շտամ), սուր գլոմերուլոնեֆրիտով, ակտիվ ռեմատիզմով և մաշկի ստրեպտոկոկային ալերգիկ վասկուլիտով տառապող հիվանդների բկանցքից անջատված А-խմբի ստրեպտոկոկի կուլտուրաներով:

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ վարակումից 4—5 օր անց առնետների մոտ զարգանում է ստերեոտիպ բնույթ կրող պոլիարթրիտիկ սինդրոմ: Հոդային փոփոխությունների հարաճում նկատվում է 12-րդ տիպի ստրեպտոկոկի և մաշկի ստրեպտոկոկային ալերգիկ վասկուլիտով տառապող հիվանդներից անջատված կուլտուրաների ներարկումից հետո:

Սկսած 14-րդ օրվանից, իմունոպաթոլոգիական տեղաշարժերի և վասկուլիտների ֆոնի վրա, նկատվում է հոդաճառի վնասում և գրանուլացիոն հյուսվածքի աճ, որն ավարտվում է հոդերի ֆիբրոզ անկիլոզով:

Այս բոլորը հիշեցնում են ռեմատոիդ արթրիտի ժամանակ դիտվող հոդային փոփոխությունները:

CHANGES IN JOINTS OF RATS IN INTRAVENOUS ADMINISTRATION OF DIFFERENT A—STREPTOCOCCUS CULTURES

After intravenous administration of daily culture of streptococcus of the 1-st, 12-th types and cultures, excreted from patients with rheumatism, acute glomerulonephritis and streptococcus allergic vasculitis of skin, the dynamics of articular changes in rats, infected by different strains of A—streptococcus was studied. Articular changes progressed only after repeated injection of the 12-th type and the culture, excreted from the patient with streptococcus vasculitis. Beginning from the 14-th day destruction of the articular cartilage with the growth of granulation tissue and fibrous ankylosis were revealed, which remind of the changes peculiar to rheumatoid arthritis in persons.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арзаканян Э. Х. Канд. дисс. Ереван, 1974.
2. Астапенко М. Г. В кн.: Современные проблемы ревматологии. М., 1965, стр. 170.
3. Астапенко М. Г. Вopr. ревмат., 1973, 4, стр. 3.
4. Астапенко М. Г., Пихлак Э. Г. Болезни суставов. М., 1966.
5. Белецкая Л. В. Докт. дисс. М., 1970.
6. Грицман Н. Н. В кн.: Современные проблемы ревматологии. М., 1965.
7. Грицман Н. Н. Вopr. ревмат., 1973, 3, стр. 3.
8. Грицман Н. Н., Рогов А. А. Арх. пат., 1965, 6, стр. 67.
9. Копьева Т. Н. Арх. пат., 1973, 5, стр. 49.
10. Струков А. И., Бегларян А. Г. Патологическая анатомия и патогенез коллагеновых болезней. М., 1963.
11. Струков А. И., Симакова Р. А., Копьева Т. Н., Кактурский Л. В. Арх. пат., 1970, 7, стр. 20.
12. Трофимова Т. М., Дуляпин В. А., Русакова М. С. Вopr. ревмат., 1973, 4, стр. 40.
13. Benoit M., Waltsing P. Presse med., 1970, 78, 1787.
14. Caperton E. M., Baker D. R., King R. A. Ann. Rheum. Dis., 1975, 34, 231.
15. Cook T. D., Hurd E. D., Ziff M., Jasin H. J. Exp. Med., 1972, 135, 323.
16. Gardner D. L. The pathology of Rheumatoid Arthritis. London, Edward Arnold., 1972.
17. Glynn L. E. Rheumatoid arthritis. Clin. Aspects Immunol., 3rd. ed. Oxford e. a., 1975.
18. Hertel E., Ingenpass G. Z. Rheum., 1974, 33, 379.
19. Klein G., Kellner G. Z. Rheum., 1974, 33, 399.
20. Millman M. Ann. Allergy, 1972, 30, 399.
21. Petterson F. Scand. J. Rheumatol., 1972, 1, 61.
22. Stein H., Jorom L., Levin S., Dishon T., Ginsburg J. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1973, 143, 1106.
23. Тошков Ас., Георгиев Д., Обретенкова Кл. и др. Acta microbiol., virol. et immunol., 1975, 2, 34.