

УДК 616.72 : 616.981

Р. С. АМБАРДЖАНЫ, Н. Д. ВАРТАЗАРЯН, Э. Х. АРЗАКАНЯН,  
Н. Г. ХОСТИКЯН, Ю. В. ВУЛЬФОВИЧ, И. В. ЖЕВЕРЖЕЕВА

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И  
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СУСТАВОВ  
ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ ЖИВОТНЫХ  
Л-ФОРМАМИ СТРЕПТОКОККА  
ГРУППЫ А 12-го ТИПА

Показано, что однократное внутрибрюшинное введение ресуспендированной культуры Л-форм стрептококка группы А 12-го типа приводит к вялотекущему прогрессирующему патологическому процессу в суставах животных. При этом в межуточном основном веществе соединительной ткани, в стенках сосудов и синовиальной оболочке обнаруживаются Л-формы стрептококка. Морфологические изменения сопровождаются иммунологическими сдвигами с дисбалансом В- и Т-лимфоцитов.

Данные экспериментальных и клинико-лабораторных исследований последних лет, полученные микробиологическими, серологическими и иммуноморфологическими методами, свидетельствуют о несомненной роли Л-форм стрептококка группы А в патогенезе ревматических заболеваний [1, 3, 4, 5, 7—9]. В этой связи представляет интерес изучение специфики патогенного действия разных типов Л-форм стрептококка группы А.

В настоящем сообщении приводятся результаты морфологического изучения тканей суставов кроликов и крыс, экспериментально инфицированных Л-формами стрептококка группы А 12-го типа. В литературе описана лишь индукция артрита Л-формами стрептококка в остром опыте, т. е. при введении взвеси Л-форм непосредственно в полость сустава [10].

Материал и методы

Эксперимент поставлен на 36 кроликах и 60 крысах линии Wistar. В опыт были взяты молодые животные: кролики массой 700 г—1 кг и крысы—100—150 г. Животных заражали однократно внутрибрюшинно стабильной Л-формой стрептококка группы А 12-го типа, крысят в дозе  $1,5 \times 10^8$ , кроликов— $5 \times 10^8$  КОЕ. Контрольным животным вводилась смесь стерильного бульона и 1,5% раствора NaCl (контролем последних являлись интактные кролики).

Культура Л-форм 12-го типа была получена в пробирке и пассировалась в лаборатории на обычной среде для Л-форм стрептококка. Для инфицирования животных бульонная культура Л-форм трижды отмывалась и ресуспендировалась в соответствующем объеме 1,5% NaCl. Животные забивались в разные сроки эксперимента (от 24 часов до



2 лет) и подразделялись на группы, в каждой по 4 кролика и 6 крыс со своим контролем.

Материал эксперимента изучался в динамике. В сыворотке крови определялись антистрептолизин-О (АСЛ-О), антигиалуронидазная активность (АСГ), а также антистрептококковые антитела по реакции связывания комплемента (РСК) и реакции пассивной гемагглютинации (РПГА). Исследовались скорость оседания эритроцитов (СОЭ), С-реактивный протеин (СРП), дифениламинный показатель (ДФА); Т-лимфоциты определялись по методу Jondal и соавт. [13], а В-система лимфоцитов—методом комплементарных розеток по Mendes с соавт. [14]. Были изучены все крупные суставы. Для гистологического, гистохимического и иммуноморфологического исследований параартикулярных мягких тканей и синовиальной оболочки готовились парафиновые срезы, пленчатые препараты и мазки из синовиальной жидкости. Производилась окраска гематоксилин-эозином, толуидиновым синим, азур-II-эозином, по ван-Гизону, Браже, Фельгену, Гомори, ШИК-реакция.

В непрямой реакции Кунса для выявления антигенов Л-форм стрептококка использовались кроличьи иммунные сыворотки к Л-формам стрептококка и люминесцентные сыворотки против глобулина кроликов. В прямой реакции срезы обрабатывались меченой сывороткой против глобулинов.

### Результаты и обсуждение

Изучение иммунологических данных показало, что у интактных животных антистрептококковые антитела не обнаруживаются. Однако как у кроликов, так и у крыс начиная с 3-й по 6-ую неделю эксперимента циркулирующие антитела к Л-формам стрептококка обнаруживались в титре 1:40 (табл. 1), а в поздние сроки наблюдалось повышение количества антител. В ранние сроки эксперимента отмечалось незначительное повышение титра АСЛ-О—до 250 ед., АСГ—до 200 ед., которые постепенно повышаются и к концу эксперимента достигают высоких цифр.

Таблица 1

Изменение титра антистрептококковых антител в разные сроки эксперимента

| Показатели | Контроль | Ранний срок | Средний срок | Поздний срок |
|------------|----------|-------------|--------------|--------------|
| РСК        | —        | 1:40        | 1:40         | 1:80         |
| РПГА       | —        | 1:40        | 1:80         | 1:160        |
| АСЛ-О      | 125      | 250         | 500          | 500          |
| АСГ        | 150      | 200         | 620          | 800          |

Примечание. Здесь и в табл. 2. ранний срок—3—6 нед., средний—6—30 нед., поздний срок—30 нед.—2 года.

Лабораторные исследования показали, что с повышением лейкоцитоза от 6300 до 6900 соответственно увеличиваются СОЭ, СРП и ДФА (табл. 2).



Таблица 2

Динамика лабораторных показателей в разные сроки эксперимента

| Показатели | Контроль | Ранний срок | Средний срок | Поздний срок |
|------------|----------|-------------|--------------|--------------|
| Лейкоцитоз | 6000     | 6300        | 6500         | 6900         |
| СОЭ        | 5,0      | 10,1        | 12,3         | 16,0         |
| СРП        | —        | ++          | +++          | ++++         |
| ДФА        | 0,16     | 0,22        | 0,27         | 0,32         |

Помимо гуморальных сдвигов, у экспериментальных животных было изучено абсолютное и относительное содержание В- и Т-лимфоцитов (табл. 3). Выявленный дисбаланс В- и Т-систем иммунитета отмечен у больных ревматизмом [2, 12, 15].

Таблица 3

Изменения количества Т- и В-лимфоцитов в периферической крови в различные сроки эксперимента

| Сроки    | Количество лимфоцитов в 1 мл крови | Количество лимфоцитов |             |               |            |
|----------|------------------------------------|-----------------------|-------------|---------------|------------|
|          |                                    | Т                     |             | В             |            |
|          |                                    | относительное         | абсолютное  | относительное | абсолютное |
| Контроль | 1700,0±78                          | 62,2±1,4              | 1953,6±56,4 | 26,2±2,1      | 429,0±34,9 |
| Ранний   | 1650,0±86                          | 53,1±1,1              | 900,5±55,7  | 20,9±0,8      | 350,7±25,2 |
| Средний  | 1990,0±137                         | 43,1±1,7              | 860,8±62,2  | 19,0±1,1      | 368,8±28,8 |
| Поздний  | 1860,0±190                         | 37,6±2,8              | 705,3±109,3 | 19,4±1,6      | 365,9±54,2 |

Проведенные исследования показали, что как у кроликов, так и у крыс в ранние сроки эксперимента при вскрытии суставов макроскопически отмечалось помутнение синовиальной оболочки и жидкости, а в более поздние сроки—заметное сужение суставной щели, более выраженное помутнение синовиальной жидкости и уменьшение ее количества. При гистологическом, гистохимическом и гистоэнзиматическом исследованиях уже в ранние сроки эксперимента наблюдалась сосудистая реакция, особенно микроциркуляторного русла, как на территории синовиальной оболочки, так и в параартикулярной соединительной ткани. К 6-12-й неделе после инфицирования отмечался стаз, появлялись очаги старых и свежих кровоизлияний (рис. 1, а), периваскулярные муфтообразные лимфогистиоцитарные инфильтраты, в составе которых обнаруживались плазматические клетки. Пролiferация эндотелия сосудов приводила в некоторых случаях к их полной облитерации (рис. 1, б). Стенки сосудов подвергались мукоидному набуханию и фибриноидному изменению.

В синовиальной оболочке развивался процесс дезорганизации основного и межучного веществ, что подтверждалось уменьшением хромотропности и полным ее исчезновением в поздние сроки. Изменения коллагеновых волокон приводили к их огрубению (ШИК-реакция, ван-Гизон, импрегнация по Гомори) и последующему фиброзу, в результате чего происходило спаивание синовиальной оболочки с под-



лежащей тканью (рис. 1, в). При этом ворсинки синовиальной оболочки подвергались гиалинозу и хрящевой метаплазии. Дистрофические изменения наблюдались в синовиальных клетках, ядра которых были вакуолизированы с явлением центрального хроматолиза.



Рис. 1. а. Отек стромы, периваскулярная, круглоклеточная инфильтрация, стаз и очаги кровоизлияний в параартикулярной ткани и миоцитоллизе,  $\times 200$ . б. Склероз синовиальной оболочки, облитерация просвета сосудов,  $\times 200$ . в. Склероз и липоматоз синовиальной оболочки и ворсинок со спаиванием с подлежащей тканью,  $\times 400$ . Окраска гематоксилин-эозином.

Через 12—20 недель после инфицирования животных в синовиальной оболочке суставов преобладала также фибробластическая реакция. В синовиальной оболочке, как в цитоплазме клеток, так и экстрацеллюлярно, при окраске азур-II-эозином выявлялись скопления структурных элементов Л-форм стрептококка, которые при обработке гипериммунной сывороткой против Л-форм стрептококка группы А в реакции непрямой иммунофлюоресценции обнаруживали специфическое свечение по ходу коллагеновых волокон.

Гиалиновый хрящ также вовлекается в патологический процесс. В основном веществе хрящевой ткани развивается очаговая дистрофия вокруг хондроцитов, о чем свидетельствуют участки пятнистой пикринофилии, в глубинных слоях хряща выявляются отложения белковых преципитатов. Следует отметить, что в патологический процесс вовлекается не только соединительная параартикулярная ткань, но и мышечная. Наблюдаются очаги миоцитолиза отдельных мышечных волокон (рис. 1 а), что характерно для миозита.

Таким образом, однократное внутрибрюшинное заражение кроликов и крыс Л-формой стрептококка группы А 12-го типа приводит к развитию вялотекущего прогрессирующего патологического процесса в суставах, в который вовлекаются синовиальная оболочка, параартикулярная соединительная и мышечная ткани, а также хрящ. Наиболее ранним и постоянным признаком процесса являются нарушение микроциркуляторного русла и васкулиты. Наряду с дистрофическими изменениями в мягких тканях сустава развивается воспалительный процесс, который приводит к склеротическим изменениям. Отложение иммуноглобулина по ходу коллагеновых волокон свидетельствует о его



аутсиммуной направленности. Аутофагия, вероятно, является проявлением реакции аутоагрессии. Следует отметить, что аналогичный патологический процесс в суставах развивается при ревматических заболеваниях.

Кафедра патанатомии Ереванского  
медицинского института

Поступила 2/II 1987 г.

Ռ. Ս. ԱՄԲԱՐՋԱՆՅԱՆ, Ն. Գ. ՎԱՐԴԱԶԱՐՅԱՆ, Է. Խ. ԱՐԶԱԿԱՆՅԱՆ, Ն. Գ. ԽՈՍՏԻԿՅԱՆ,  
ՅՈՒ. Վ. ՎՈՒԼՖՈՎԻՉ, Ի. Վ. ՉԵՎԵՐԶԵՅԵՎԱ

ԻՄՈՒՆՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ ԵՎ ՀՈԴԵՐԻ ՀՅՈՒՍՎԱԾԱՐԱՆԱԿԱՆ  
ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՓՈՐՁԱԿԱՆ ԿԵՆԴԱՆԻՆԵՐԻՆ ՍՏՐԵՊՏՈԿՈԿԻ  
Ա. ԽՄԲԻ 12 ՏԻՊԻ «Լ» ՁԵՎԵՐՈՎ ՎԱՐԱԿԱՄԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ

Փորձնական կենդանիներին ներորովայնային միանվագ Ա խմբի 12 տիպի ստրեպտոկոկերի և ձևերով վարակումը առաջացնում է ձգձգվող ընթացք ունեցող հոդաբորբ, որն ընդգրկում է սինովիալ թաղանթը, հոդաճառը, հարհոդային փափուկ հյուսվածքները և, սկսած վարակման 24 ժամից մինչև փորձի վերջը՝ հայտնաբերվում են ստրեպտոկոկերի և ձևեր անոթների պատերում, թափկներում, շարակցական հյուսվածքի հիմնական նյութում: Հոդերում դիտարկվել և բորբոքային պրոցեսները ուղեկցվում են իմունոլոգիական տեղաշարժերով և B ու T լիմֆոցիտների դիսբալանսով:

R. S. AMBARJANIAN, N. D. VARTAZARIAN, E. Kh. ARZAKANIAN,  
N. G. KHOSTIKIAN, Yu. V. VULFOVICH, I. V. ZHEVERZHEYEVA

# THE IMMUNOLOGIC CHARACTERISTICS AND THE JOINTS HISTOLOGIC CHANGES IN INFECTING THE EXPERIMENTAL ANIMALS BY A GROUP 12 TYPE L-FORMS OF STREPTOCOCCUS

It is shown that a single intraperitoneal administration of resuspended culture of the A group 12 type L-forms of Streptococcus to rats and rabbits results in latent progressing pathologic process in the joints, which involves the synovial membrane, articular cartilage as well as the pararticular soft tissues.

The morphologic changes are accompanied by immunologic shifts and disbalance of B-and T-lymphocytes.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Амбарджанян Р. С., Хостикиан Н. Г., Вартазарян Н. Д., Арзаканян Э. Х. Сов. мед., 1984, I, с. 5.
2. Ананьева Л. П., Михайлова И. Н., Буланова Т. Д. Тер. архив, 1978, 8, с. 81.
3. Бегларян А. Г., Каган Г. Я., Амбарджанян Р. С. и др. В кн.: VII Всесоюзн. съезд патанатомов. Тезисы. Ташкент, 1983, с. 75.
4. Вартазарян Н. Д., Каган Г. Я., Горина Л. Г. и др. Микробиол. журн., 1985, 2, с. 58.
5. Вартазарян Н. Д., Горина Л. Г., Амбарджанян Р. С. Вестн. АМН СССР, 1986, 7, с. 22.
6. Ешматайте И. А. Дис. докт. Вильнюс, 1974.
7. Каган Г. Я., Вульфович Ю. В., Чумаченков Н. В. и др. Вестн. АМН СССР, 1973, 2, с. 71.
8. Клодницкий С. Н. Дис. докт. М., 1964.



9. Прозоровский С. Е., Каб Л. Н., Каган Г. Я. Л-формы бактерий. М., 1981.
10. Finchnan W., Cook F., Lack C. L. Path. Bact., 1969, 99, 283.
11. Ginsburg T. J. Infect. Dis., 1972, 126, 419.
12. Lewker R. L. Clin. Invest., 1975, 55, 975.
13. Jondal M., Holm J., Wigrell H. J. Exp. Med., 1972, 136, 207.
14. Mendes N., Tolnai M., Silvera N. J. Immunol., 1973, 111, 860.
15. Williams R. Clin. Exp. Immunol., 1977, 27, 135.

УДК 612.397.8.015

Л. В. СЕМЕРДЖЯН, Л. В. МХИТАРЯН, М. И. АГАДЖАНОВ

**ВЗАИМОСВЯЗЬ  $\alpha$ -ТОКОФЕРОЛА С НАДФН- И  
АСКОРБАТЗАВИСИМЫМ ПЕРЕКИСНЫМ  
ОКИСЛЕНИЕМ ЛИПИДОВ, ИНДУЦИРОВАННЫМ  
ПЕРЕОКИСЛЕННОЙ ЛИНОЛЕВОЙ КИСЛОТОЙ**

Путем внутрибрюшинного введения пероксидированной линолевой кислоты (ПЛК) на крысах создана модель избыточной липидной пероксидации. При этом в печени и мозге происходило изменение аскорбат- и НАДФН-зависимого перекисного окисления липидов. Однако эти изменения неоднотипны в зависимости от органа и срока исследования. Совместное введение ПЛК и  $\alpha$ -токоферола предотвращало указанные изменения.

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) является физиологическим процессом, непрерывно протекающим во всех тканях животных организмов. В обычных условиях этот процесс строго лимитирован. ПОЛ происходит как ферментативным, так и неферментативным путем. Ферментативное НАДФН-зависимое переокисление является обязательным этапом на пути синтеза таких биологически активных метаболитов, как стероидные гормоны и простагландины. Велико значение НАДФН-зависимого ПОЛ в метаболизме лекарственных средств и ряда токсических соединений.

Система природных антиоксидантов регулирует ПОЛ по принципу отрицательной обратной связи [3]. Однако нарушение регуляции этого процесса может привести к разрушению клеточных мембран, нарушению их проницаемости, изменению активности целого ряда мембраносвязанных ферментов, вызывая дезинтеграцию внутриклеточных структур, окисление и полимеризацию низкомолекулярных структур внутриклеточных компонентов и макромолекул, что играет важную роль в механизмах клеточного повреждения.

Исследованиями В. Г. Мхитаряна и сотр. [8] показано, что действие различных органических перекисей, ненасыщенных жирных кислот сильно меняет уровень липидных перекисей и  $\alpha$ -токоферола в гомогенатах различных тканей. Нами установлено угнетающее влияние указанных веществ на активность НАДФН-генерирующих ферментов в цитоплазме [11].

Целью настоящей работы явилось изучение аскорбат-зависимого (АЗП) и НАДФН-зависимого переокисления (НЗП) в цитоплазме печени и мозга, индуцируемого переокисленной линолевой кислотой (ПЛК), а также возможности его коррекции при помощи природного антиоксиданта  $\alpha$ -токоферола.