



Г.Г. Голка<sup>1</sup>, Т.Г. Голка<sup>2</sup>, І.М. Кузнецова<sup>3</sup>, Т.А. Синенко<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Харківський національний медичний університет

<sup>2</sup> ДУ «ІПХС імені проф. М.І. Ситенка НАМНУ», Харків

<sup>3</sup> КЗОЗ «Обласна туберкульозна лікарня № 1», Харків

## Експериментальне моделювання кістково-суглобового туберкульозу

**Мета роботи** — висвітлення процесу моделювання кістково-суглобового туберкульозу і його особливостей у морських свинок для подальшого використання результатів експерименту в лікувальній та науковій практиці.

**Матеріали та методи.** Експеримент проводили на 30 статевозрілих морських свинках. Моделювали туберкульозний артрит колінного суглоба за нашим способом (Патент 70401 (UA)). За всіма тваринами проводили динамічне спостереження з клінічними, рентгенологічними, патоморфологічними і лабораторними дослідженнями. Виводили експериментальних тварин з досліду після виявлення ознак туберкульозного процесу.

**Результати та обговорення.** Удалося простежити стадійність розвитку туберкульозного гоніту у морської свинки та вивчити особливості клінічного, рентгенологічного і патоморфологічного перебігу. Виявлено ідентичність моделі основних клінічних форм туберкульозу колінного суглоба у морської свинки і людини.

**Висновки.** Запропонована експериментальна модель кістково-суглобового туберкульозу дає змогу розробити експериментальну модель різних оперативних втручань залежно від стадії розвитку хвороби і вивчити діагностичну цінність різних лабораторних методів діагностики кістково-суглобового туберкульозу, зокрема й полімеразної ланцюгової реакції.

### Ключові слова

Експериментальне моделювання, кістково-суглобовий туберкульоз, діагностика.

Основні відомості про патогенез туберкульозу як хронічної специфічної інфекції від часів Роберта Коха і до наших днів отримано шляхом експериментальних досліджень. Успіху сприяло те, що ця хвороба належить до антропозооносних інфекцій [1, 5].

Перші досліді з моделювання кістково-суглобового туберкульозу (КСТ) провів проф. А.Н. Чистович зі співробітниками Ленінградського інституту хірургії туберкульозу (ЛІХТ) в 1935 р. [5].

Заслуги і досягнення ЛІХТу в розвитку експериментального туберкульозу важко переоцінити. Всесвітньо відомі праці П.Г. Корнева, Е.М. Белендіра присвячено патогенезу КСТ, дослідженому на експериментальних моделях у

тварин. Але після об'єднання ЛІХТ та НДІ фізіопульмонології в середині 90-х років ХХ сторіччя заклад почали називати Санкт-Петербурзьким НДІ фізіопульмонології та основну увагу зосередили на вивченні експериментальних моделей легеневого туберкульозу. За останніх 20 років з цього закладу вийшли поодинокі публікації, присвячені експериментальному КСТ [1–3].

Експериментальні дослідження з моделювання КСТ проводили також В.В. Струков та А.П. Скоблін у Харківському НДІ травматології та ортопедії ім. М.І. Ситенка [2, 3].

Важливо наголосити, що дослідження проводили задовго до того, як дістали чітке уявлення про патогенез КСТ, тобто в доантибактеріальну еру медицини, а більшість відомих моделей експериментального туберкульозу базується на

внутрішньовенному гематогенному або внутрішньосуглобовому введенні мікобактерій туберкульозу, що не дає змоги, на нашу думку, повноцінно відтворити преартритичну стадію розвитку хвороби.

Для вивчення особливостей клінічного та патоморфологічного перебігу КСТ ми створили модель туберкульозу колінного суглоба на основі введення культури мікобактерії туберкульозу (МБТ) у проксимальний метаепіфіз великогомілкової кістки (позасуглобово).

### Матеріали та методи

Дослідження проводили на базі Інституту експериментальної та клінічної ветеринарної медицини УААН. Досліджували 30 статевозрілих (понад 6 міс) морських свинок (маса тіла 350–500 г). Протокол експерименту на тваринах затвердила Комісія з біоетики Харківської медичної академії післядипломної освіти (протокол № 4 від 14 квітня 2011 року) відповідно до правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються у експериментальних і інших наукових цілях.

Туберкульозний артрит колінного суглоба моделювали за нашим способом [4].

За даними порівняльного вивчення будови колінних суглобів, наведеними в літературних джерелах, форма і величина суглобових поверхонь, розміри кісток, складові колінного суглоба морської свинки відрізняються від людських, але загальний план анатомічної будови схожий (рис. 1). Остання обставина дає підстави стверджувати, що колінний суглоб морської свинки може бути використаний для моделювання туберкульозного гоніту.

Перед початком експерименту всіх тварин обстежено на предмет паразитарних та інфекційних хвороб із подальшим проведенням реакції Манту з 25 туберкуліновими одиницями (ТО) *m. bovis* і *m. avium*. У всіх тварин результати туберкулізації свідчили про те, що у них немає імунітету проти туберкульозу, тобто вони не хворіють і не хворіли на туберкульоз.

Вибір місця зараження було зумовлено високою частотою (90 %) локалізації первинного оститу в ділянці метафізів великогомілкової та стегнової кісток при туберкульозному артриті колінного суглоба у пацієнтів.

Експериментальне моделювання КСТ проводили шляхом уведення суспензії *m. bovis* штаму *valle* (0,1 мг сухої маси в 1мл) внутрішньокістково, згідно з методикою.

Виводили з експерименту тварин шляхом передозування ефіру через 1 та 2,5 міс. На першому етапі після виявлення рентгенологічних



Рис. 1. Рентгенанатомія колінного суглоба морської свинки в нормі

ознак преартритичної стадії туберкульозного артрити (через 1 міс) було виведено з експерименту 10 тварин. На другому етапі після виявлення клініко-рентгенологічно артритичної стадії (через 2,5 міс) – також 10.

У подальшому ми чекали постартритичної стадії туберкульозного артрити або ремісії захворювання, але тварини загинули протягом періоду від 3,5 до 4 міс. Причиною смерті, за результатами макроскопічного обстеження під час автопсії, стала генералізація інфекційного процесу з подальшим ураженням життєво важливих органів та систем.

### Результати та обговорення

**Методика зараження.** Знерухомлювали тварин шляхом внутрішньом'язового введення розчину ксилазину (5 мг/кг). Морську свинку фіксували на верстаті на спині з максимально випростаними лапами.

Шкіру в ділянці правого колінного суглоба звільняли від шерсті і обробляли розчином йоду. Операційне поле обкладали стерильними серветками. Розтинали шкіру завдовжки до 2,0 см по передньо-внутрішній поверхні колінного суглоба на рівні проксимального метаепіфіза великогомілкової кістки. Після розтину шкіри оголювали кортикальний шар великогомілкової кістки. За допомогою порожнистої мікрофрези формували канал у губчастій речовині проксимального метаепіфіза великогомілкової кістки орієнтовно на 0,5 см нижче від суглобової щілини діаметром 2 мм у напрямку спереду назад, зсередини назовні, знизу вгору. Таким чином

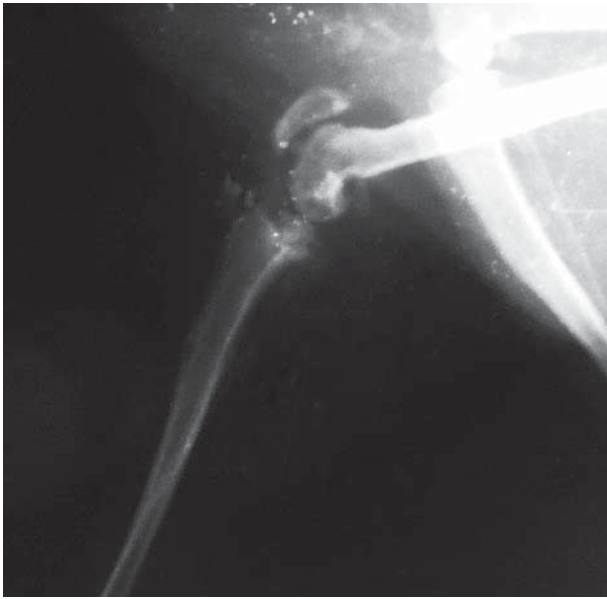


Рис. 2. Осередки деструкції у проксимальному відділі великогомілкової кістки



Рис. 3. Осередки деструкції у дистальному та проксимальному відділах великогомілкової кістки

формували канал діаметром 2–2,5 мм завглибшки до 5 мм позасуглобово.

Після зупинки кровотечі зі спонгіозної тканини за допомогою турунди, змоченої в 3 % розчині перексиду водню, в канал вносили культуру МБТ – 0,5 мл суспензії *m. bovis* штаму *valle* (0,1 мг сухої маси в 1 мл). Канал пломбували медичним воском з використанням кортикальної пластинки, отриманої під час трепанації, м'які тканини ушивали без місцевого застосування туберкулоциклів.

**Клінічне дослідження.** За всіма тваринами проводили динамічне спостереження з детальним клінічним оглядом, зважуванням, дослідженням функції суглоба. Звертали увагу на поведінку тварини, позу і характер пересування, оперований суглоб порівнювали з контралатеральним. Стежили за положенням кінцівки, загальним виглядом її порівняно з протилежною стороною, за контурами суглоба тощо. Пальпація суглоба розширювала і доповнювала дані шляхом оцінки стану шкіри, м'яких тканин, що оточують суглоб (зв'язки, капсула), епіметафізів кісток і вмісту порожнини суглоба. Визначали амплітуду рухів в ураженому суглобі.

Через 1 міс після зараження в усіх тварин підвищувалася температура тіла в середньому на 0,5 °С, одночасно з'являлося і наростало обмеження рухів: згинання – на 10°, розгинання – на 5°. Тварини втрачали від 20,0 до 40,0 г маси тіла. Колінні суглоби збільшувалися за рахунок інфільтрації і потовщення м'яких тканин. Рухи були обмежені, здійснювалися в межах згинання – розгинання 0/140/65°. У 10 морських

свинок сформувалися напливні абсцеси на передній та задній поверхнях колінного суглоба. Поява абсцесів могла бути наслідком руйнування кортикального шару біля вогнища. На рентгенограмах визначався пороз кісток, що утворюють суглоб, у метафізі великогомілкової кістки навколо пломби помітно осередок деструкції з руйнуванням кортикального шару (рис. 2).

У подальшому формувалася і збільшувалася (тільки в межах метафіза) туберкульозний остит. Зміни в суглобі мали реактивний характер.

Протягом перших 6–10 тиж продовжували наростати симптоми інтоксикації (млявість тварин, зниження апетиту), втрата у масі становила в середньому 40 г. Колінні суглоби були значно збільшені за рахунок потовщення й інфільтрації м'яких тканин. Спостерігалася різка згинальна контрактура, спроба оцінки рухів у суглобі зумовлювала больову реакцію у тварини. Визначалася виражена кульгавість, оскільки через біль тварини кінцівку не навантажували. Абсцеси поширювалися на стегно і гомілку, формувалися нориці. На рентгенограмах помітно збільшення деструктивних осередків, вони займали весь метафіз з переходом на суглобову поверхню великогомілкової кістки. Осередки деструкції містили секвестри різної форми і розміру (рис. 3).

**Рентгенологічне дослідження.** Рентгенологічне дослідження проводили за показаннями від 3 до 5 разів у період спостережень. Рентгенографію оперованого (зараженого) суглоба проводили під час фіксації морської свинки на спеціальному верстаті й знерухомлення ксила-

зином (5 мг/кг). Вивчали структуру кісток, взаємозв'язки їх у суглобі, стан суглобової щільності, розміри суглобових дефектів.

Вивчали експериментальних тварин з досліду за графіком: 1 міс, 2,5 міс. Перед евтаназією тварин ретельно оглядали, а макропрепарати піддавали рентгенографії та патоморфологічному дослідженню.

**Анатомічне дослідження.** Анатомічне препарування і макроскопічне вивчення препаратів колінного суглоба проводили безпосередньо після виведення тварин з експерименту. Колінні суглоби розкривали передньо-зовнішнім доступом, таким чином вся суглобова поверхня була легко доступна огляду. Макроскопічно вивчали стан покривного хряща, синовіальної оболонки, м'язово-зв'язувального апарату, виготовляли макропрепарати кісток.

**Гістологічне дослідження.** Для гістологічного дослідження виділяли колінні суглоби морських свинок та прилеглі м'язи і фіксували у розчині з масовою часткою нейтрального формаліну 10 %. Для вивчення запального процесу в колінних суглобах проводили декальцинацію кісток у розчині з масовою часткою азотної кислоти 4 % при температурі від 18 до 22 °С. Кістки після декальцинації та прилеглі до суглоба м'язи зневоднювали у спиртах зі зростанням міцності (50 °, 70 ° та двічі — у 96 °) та у спирті з ефіром (розчин 1 : 1), вміщували у целоїдин. Гістологічні зрізи виготовляли на санному мікротомі Reichert та забарвлювали гематоксиліном і еозином та за Ван-Гізеном. Гістологічний аналіз проводили за допомогою світлового мікроскопа Axio Star Plus (Carl Zeiss) з фотографуванням цифровою камерою Canon Power Shot A610 та комп'ютерної програми AxioVision.

Під час гістологічного дослідження через 1 міс після моделювання запального процесу в усіх тварин чітко виявляли ознаки запалення (інфекційного процесу).

Ми вважаємо, що для характеристики патологічних змін в уражених суглобах морських свинок у преартритичну стадію досить навести один протокол патогістологічного дослідження.

Під час вивчення зрізу на рівні залягання менісків виявлено інфільтрат під артикулюючою поверхнею на місці невеликого руйнування субхондральної кістки безпосередньо під суглобовим хрящем.

Серед інфільтратів помітно невелике некротичне вогнище з елементами розпаду. Суглобовий хрящ над ним стоншений, має нерівну поверхню.

Запальний інфільтрат визначається і в основі меніска. Він пронизує суглобову сумку і частину перехідної складки, розм'якшуючи її.

Серед цього інфільтрату зустрічаються некротичні фокуси з зернистим розпадом клітинних елементів грануляційної тканини. Поряд із інфільтратом спостерігається запальний набряк пухкої сполучної тканини. У субхондральній кістці на межі з описаним вище субхондральним туберкульозним осередком у кісткових балочках спостерігаються некротичні зміни.

Вивчення інфільтрату під великим збільшенням засвідчило, що він складається в основному з макрофагів, лімфоцитів і гістіоцитів, місцями зустрічається невелика кількість лейкоцитів. Вказані елементи свідчать про некробіоз.

Звертає на себе увагу невелика кількість кровоносних судин у інфільтраті, а місцями й повна відсутність їх.

Патогістологічний діагноз: «туберкульозний остит».

Через 2,5 міс під час патогістологічного дослідження зразків поряд із формуванням продуктивного запалення в ділянці червоного кісткового мозку в міжтрабекулярних просторах губчастої кістки проксимального метафізу великогомілкової кістки, остеопоротичними порушеннями, деструкцією кісткових трабекул виявлено виразне запалення в синовіальній мембрані у вигляді ексудативного синовіту.

У колінному суглобі помітно потовщення суглобової капсули із розширенням її контурів за рахунок дифузної або локальної інфільтрації лімфоцитами і макрофагами. Синовіальна мембрана при цьому гіпертрофована, спостерігаються виразна лімфоїдна інфільтрація і набрякання синовіальних ворсинок. У капсулі утворюються численні горбики (туберкульозні гранульоми) характерної будови з некрозом клітин у центральних відділах, по краю горбиків розташовується лімфоїдно-макрофагальний вал.

У горбику висока щільність епітеліоїдних клітин, які мають характерну будову — невелике слабкобазофільне ядро, оточене рясною цитоплазмою. Виявлено плазматичні клітини.

У міжтрабекулярних просторах спостерігаються деструкція кісткового мозку і формування вогнищ продуктивного запалення та епітеліоїдно-клітинних горбиків, які відрізняються один від одного. Деякі з них не містять усіх елементів. Вони представлені епітеліоїдними клітинами зі світлими овальними ядрами. У крайових відділах горбиків виявляють високу щільність лімфоцитів, макрофагів і фібробластів. Плазматичні клітини поодинокі.

В артритичну фазу туберкульозні горбики в субхондральній кістці займають значні території, формування їх пов'язано зі злиттям дрібних



гранульом. У центральних відділах туберкульозних гранульом розташовуються великі осередки клітково-тканинного некрозу. У крайових відділах помітно високу щільність характерних для туберкульозних гранульом епітеліоїдних клітин та поодинокі плазматичні клітини.

Синовіальна оболонка суглоба гіперплазована, представлена стрічкоподібними структурами потовщених синовіальних ворсинок, у товщі яких, а також у капсулі суглоба розташовуються туберкульозні гранульоми, де у великій кількості містяться епітеліоїдні клітини з невеликими ядрами і слабко базофільною рясною цитоплазмою.

Не представляючи протоколи патогістологічних досліджень уражених суглобів інших морських свинок, ми можемо сказати, що в усіх випадках виявлено туберкульозний артрит із залученням у процес синовіальної оболонки, м'якшуків суглоба, перехідної складки і капсули.

Під час гістологічного дослідження останньої морської свинки з основної групи в епіметафізі великогомілкової кістки визначався великий гранулематозно-некротичний осередок. Кісткові секвестри оточені гранулематозною тканиною, в частині епіфіза, що збереглася, — велика кількість некротизованих балок. Остеогенез невиразний. Синовіальна оболонка потовщена, в ділянці її прикріплення до плато великогомілкової кістки покривний хрящ резорбований, визначалися розростання специфічних грануляцій. Суглобовий хрящ практично повністю зруйнований.

Отже, в усіх випадках (30 морських свинок) за описаного методу зараження змодельовано

туберкульозний остеоартрит, підтверджений клінічно, патогістологічно, причому туберкульозне запалення суглоба (туберкульозний артрит) у разі внутрішньокісткового позасуглобового зараження розвивається раніше, ніж уражуються легені, з чого випливає, що та кількість туберкульозних паличок, яка потрібна для виникнення вогнища в легенях, не одразу потрапляє в кров з кісткового вогнища, а поступово.

## Висновки

Таким чином, у нашому експерименті вдалося простежити стадійність розвитку гоніту у морської свинки і порівняти фази його еволюції зі стадіями розвитку туберкульозного артрити за класифікацією Е.М. Белендіра [2].

Виявлено ідентичність моделі туберкульозу колінного суглоба у морської свинки в разі метаепіфізарного способу зараження щодо основних клінічних форм туберкульозного гоніту у людини: до 4 тиж розвивався туберкульозний остит поблизу суглоба (1-ша стадія, за класифікацією Е.М. Белендіра), до 10 тиж спостерігалось прогресування оститу з початком артрити (2-га стадія) з подальшим розпалом туберкульозного артрити колінного суглоба.

Важливо наголосити, що згадана експериментальна модель дає змогу не лише виявити особливості клініко-рентгенологічного та патоморфологічного перебігу захворювання, а й розробити експериментальну модель різних оперативних втручань залежно від стадії розвитку хвороби, вивчити діагностичну цінність різних лабораторних методів діагностики КСТ, зокрема й полімеразно-ланцюгової реакції.

## Список літератури

- Белендір Э.Н. Экспериментальная патология и хирургия внелегочного туберкулеза и ее клиническое значение // Хирургия внелегочного туберкулеза.— Л., 1983.— С. 13—27.
- Белендір Э.Н. Современное представление о патогенезе внелегочного туберкулеза // Актуальные вопросы диагностики и лечения туберкулеза: научные труды Всерос. науч.-практ. конф.— СПб, 2006.— С. 225—226.
- Костно-суставной туберкулез / Под ред. Ю.Н. Левашева и А.Е. Гарбуза.— М.: Медицина и жизнь, 2003.— 294 с.
- Пат. 70401 (UA) Україна, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання кістково-суглобового туберкульозу у тварин // Корж М.О., Дедух Н.В., Голка Т.Г.; заявник і патентовласник ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка АМНУ».— № u20111317: заявл. 21.11.2011; опубл. 11.06.2012, Бюл. № 11.
- Чистович А.Н. Патологическая анатомия и патогенез туберкулеза.— Л., 1973.— 175 с.

Г.Г. Голка, Т.Г. Голка, И.Н. Кузнецова, Т.А. Синенко

## Експериментальное моделирование костно-суставного туберкулеза

**Цель работы** — освещение процесса моделирования костно-суставного туберкулеза и его особенностей у морских свинок для дальнейшего использования результатов эксперимента в лечебной и научной практике.

**Материалы и методы.** Эксперимент проводили на 30 половозрелых морских свинках. Туберкулезный артрит коленного сустава моделировали на основании разработанного нами способа (Патент 70401 (UA)). За всеми животными проводили динамическое наблюдение с клиническими и

рентгенологічними, патоморфологічними і лабораторними дослідженнями. Виводили живих тварин з експерименту при виявленні ознак туберкульозного процесу.

**Результати і обговорення.** Удалося прослідкувати стадійність розвитку туберкульозного гоніту у морської свинки і особливості клінічного, рентгенологічного і патоморфологічного перебігу. Обнаружена ідентичність моделі основних клінічних форм туберкульозу колінного суглоба у морської свинки і людини.

**Висновки.** Данна експериментальна модель кістково-суглобового туберкульозу дає можливість розробити експериментальну модель різних оперативних втручань в залежності від стадії розвитку захворювання і вивчити діагностичну цінність різних лабораторних методів діагностики кістково-суглобового туберкульозу, в тому числі і полімеразної ланцюгової реакції.

H.H. Holka, T.H. Holka, I.M. Kuznetsova, T.A. Synenko

## Experimental modeling of tuberculosis of bones and joints

**Objective:** to describe the process of modeling of tuberculosis of bones and joints and its peculiarities in Guinea pigs for the further use of the results of the experiment in the medical and scientific practice.

**Materials and methods.** The experiment was conducted on 30 Guinea pigs. Modeling of tuberculous arthritis of the knee joint was carried out on the basis of authors patented method (Patent 70401 (UA)). All the animals were under dynamic observation including clinical, X-ray, pathomorphological and laboratory examination. The euthanasia of animals was made at the early developed of tuberculous process.

**Results and discussion.** Authors managed to trace the stages of the development of the tuberculosis gonitis in the Guinea pig and track the modern features of clinical, X-ray and pathomorphological course. The identity of the model of the main clinical forms of tuberculosis of the knee joint in the Guinea pig and a human was found.

**Conclusions.** This experimental model of tuberculosis of the bones and joints gives an opportunity to develop an experimental model of various surgical interventions depending on the stage of the disease and gives the opportunity to study the diagnostic value of various laboratory methods of diagnostics of osteo-articular tuberculosis, including polymerase chain reaction.

---

### Контактна інформація:

Голка Григорій Григорович, д. мед. н., проф., зав. кафедри травматології та ортопедії  
61018, м. Харків, пров. Балакірева, 3, лікарня швидкої невідкладної допомоги  
Тел. (057) 343-09-11  
E-mail: doctor\_golka@mail.ru

Стаття надійшла до редакції 9 січня 2013 р.