

# Экспериментальное моделирование бактериального простатита.

## Обзор литературы

**М.И. Коган, Ю.Л. Набока, Р.С. Исмаилов, И.В. Попов, Н.В. Слюсаренко**

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. Ростов-на-Дону

### Сведения об авторах:

Коган М.И. – д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой урологии и репродуктивного здоровья человека с курсом детской урологии-андрологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, dept\_kogan@mail.ru, AuthorID 189415

Kogan M.I. – Dr. Sc., professor, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Head, department of urology and human reproductive Health with the Course of Pediatric Urology-andrology of the Advanced Training and Specialist Professional Retraining Faculty, Rostov State Medical University (FGBOU VPO RostGMU of Russian Federation Ministry Of Healthcare), dept\_kogan@mail.ru

Набока Ю.Л. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой микробиологии и вирусологии №1 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, nagu22@mail.ru, AuthorID 634824

Naboka Yu.L. – Dr. Sc., professor, Head, Department of Microbiology and Virology № 1, Rostov State Medical University (FGBOU VPO RostGMU of Russian Federation Ministry Of Healthcare), nagu22@mail.ru, ORCID 0000-0002-4808-7024

Исмаилов Р.С. – очный аспирант кафедры урологии и репродуктивного здоровья человека с курсом детской урологии-андрологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, dr.ruslan.ismailov@gmail.com, AuthorID 986211

Ismailov R.S. – MD, Full-time Postgraduate student, Department of Urology and Human Reproductive Health with the Course of Pediatric Urology-andrology of the Advanced Training and Specialist Professional Retraining Faculty, Rostov State Medical University (FGBOU VPO RostGMU of Russian Federation Ministry Of Healthcare), dr.ruslan.ismailov@gmail.com, ORCID 0000-0003-1958-9858

Попов И.В. – студент III курса лечебно-профилактического факультета ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, igor98hk21@gmail.com, AuthorID 1013687

Popov I.V. – III year Student, Treatment and Prophylactic Faculty, Rostov State Medical University, gor98hk21@gmail.com

Слюсаренко Н.В. – студент III курса лечебно-профилактического факультета ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, nsluysarenko@gmail.com

Slyusarenko N.V. – III year Student, Treatment and Prophylactic Faculty, Rostov State Medical University, nsluysarenko@gmail.com

Референсная группа британских экспертов по изучению простатита (PERG) во главе с J. Rees и соавт. в консенсусных клинических рекомендациях 2015 г. по лечению и диагностике хронического бактериального простатита (ХБП) и хронического простатита/синдрома хронической тазовой боли (ХП/СХТБ) сообщает, что в течение жизни от 35 до 50% мужчин отмечают наличие симптомов, по их собственному мнению связанных с наличием простатита [1].

С целью оценки изучения существующих современных научных тенденций в данной проблеме нами проведен поиск публикаций с 1930 по 2018 гг. в базах данных и медицинских онлайн-библиотеках: SciVerse Scopus, The Cochrane Database, MEDLINE/PubMed Database, Medline Complete EBSCO, Embase-Elsevier, Web of Science Core Collection, eLIBRARY с использованием логических операторов SQL – AND, OR и ключевых слов: prostatitis, bacterial, causative uropathogens, atypical uropathogens, animals models, experimental modeling и отобрано 136 статей, более 50% ко-

торых сфокусировано на представлении актуальных проблем этиологии и патогенеза различных категорий данного заболевания. В настоящий обзор для подробного анализа включено 34 релевантные статьи, наиболее полно и доказательно освещающие данные вопросы.

Проанализировав результаты информационного серфинга, мы пришли к выводу, что одним из наиболее актуальных векторов исследований в современной уроинфектологии является верификация роли различных таксонов микроорганизмов в возникновении как острого бактериального простатита (ОБП) и ХБП, но также и ХП/СХТБ. В настоящее время исследователи, согласно рекомендациям Европейской Ассоциации Урологов, выделяют 2 основные группы бактерий, рассматриваемых в качестве этиологических агентов БП: кластер каузативных уропатогенов и кластер дебатированных микроорганизмов. Конвенционально к основным каузативным возбудителям относят представителей семейства *Enterobacteriales*: *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, некоторые таксоны грамположи-

тельных бактерий (*E. faecalis*) и грамотрицательных неферментирующих бактерий (*P. aeruginosae*). Второй кластер репрезентирован различными представителями как условно-, так и облигатно-патогенной микрофлоры, роль которых в этиологии БП не до конца определена. Он включает группу грамположительных кокков семейства *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, группу неклостридиальных анаэробных бактерий (НАБ) – *Bacteroides spp.*, *Peptococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, грамположительные палочки семейства *Corynebacterium spp.*, а также группу внутриклеточных и мембранных паразитов – *C. trachomatis*, *U. urealyticum*, *Mycoplasma spp.* [2].

В большинстве публикаций репродуцировалась концепция доминирующего положения уропатогенной *E. coli* (UPEC) в качестве основного возбудителя инфекции мочевой системы и внутренних половых органов. Однако с середины 2000 годов опубликовано значительное количество статей, которые ставят под сомнение сложившуюся парадигму. Так, в крупных исследованиях представлены данные, отводящие прева-

лирующую роль представителям грамположительной кокковой флоры (*E. faecalis*, коагулазо-негативные стафилококки) в генезе ОБП и ХБП [3,4]. Кроме того, опубликованы работы, демонстрирующие принадлежность интрацеллюлярных патогенов (*C. trachomatis*, *M. hominis*, *U. urealyticum*) к группе возбудителей ХБП и ХП/СХТБ [5-8]. Нашими собственными исследованиями было установлено, что в подавляющем большинстве случаев у пациентов с ХБП в биоматериале преобладает микст-инфекция, состоящая из 3-х и 4-х компонентных бактериальных ассоциаций, с преобладанием представителей группы дебатизируемых штаммов, а именно, неклостридиальных анаэробных бактерий: *Peptostreptococcus spp.*, *Peptococcus niger*, а также КОС (*S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. epidermidis*) и *Corynebacterium spp.* [9,10]. В то же время, возник вопрос о принадлежности нанобактерий (*Nanobacterium sanguineum*) к категории возбудителей простатита II и III категорий [11].

Представленные факты определяют необходимость интенсификации дальнейших исследований с целью уменьшения мозаичности знаний об этиологии БП, определении валидированного и рентабельного алгоритма диагностики с целью дефинитивной идентификации возбудителей, что, в свою очередь, на основе синтеза полученной информации позволит разработать эффективную схему этиотропной и/или патогенетической лекарственной терапии больных данных категорий простатита. По нашему мнению в современных условиях страховой медицины наиболее оптимальным репрезентативным, информативным и контролируемым подходом к изучению различных процессов, формирующихся как при развитии, так и при медикаментозной терапии БП, является разработка и применение экспериментальных моделей (ЭМ) на лабораторных животных (ЛЖ).

## РЕГЛАМЕНТИРУЮЩАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ

С учетом современных принципов разработки и планирования экспериментов использование ЛЖ в них дефинитивно регламентируется как международными, так и отечественными конвенциями, и нормативно-правовыми актами:

1) Хельсинкская декларация (пересмотр 64-ой WMA General Assembly, г. Форталеза, Бразилия, от 10.10.2013 г.) [12];

2) «Правила лабораторной практики», утв. приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.) [13];

3) протокол FELASA (FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units) [14];

4) правила «трех R», определенных Russel-Burch в 1959 г.;

5) гармонизированные принципы Надлежащей лабораторной практики («Principles of Good Laboratory Practice»).

Важным условием является обоснование цели исследования, определения таксона, числа и пола особей, необходимых для решения поставленных задач. Необходимо уточнить, что в мировой литературе для обозначения ЭМ на ЛЖ исследователи применяют специализированное обобщенное определение: animal model – животная модель (ЖМ), которое в контексте будем использовать и мы. Все представленные далее в нашем обзоре научно-исследовательские работы имеют дифференцированные дизайн и методологию проведения экспериментов, различия в иерархии используемых в качестве ЛЖ млекопитающих (семейства, роды, виды, породы), методиках инокуляции микроорганизмов в ткань предстательной железы (ПЖ) и таксонах используемых бактерий, а также технологиях и средствах регистрации инфекционно-воспалительного процесса, статистического анализа полученных данных. С учетом этих позиций нами в обзор отобрано несколько наиболее значи-

мых ЭМ, демонстрирующих историческое развитие экспериментальной мысли исследователей с течением времени, от наиболее ранних исследований до методик, которые с некоторыми изменениями используются в современной экспериментальной урологии для моделирования БП.

## МЕТОДИКИ МОДЕЛИРОВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРОСТАТИТА

Анализ публикаций показал, что впервые широкое применение ЖМ в экспериментальной урологии получили с конца 30-х – начала 40-х годов прошлого столетия. Пионерами в этой области являются Т. Mann, С.А. Mawson и М.І. Fisher, а также S.A. Gunn, фундаментальные работы которых были ориентированы на изучение особенностей анатомической структуры и физиологии ПЖ у ЛЖ, а также определение состава и свойств простатического секрета (ПС).

Так, на основе работ V. Korenchevsky и М. Dennison [15] научной группой во главе с G.F. Humphrey и Т. Mann впервые детально изучено анатомическое строение дорсолатеральной ПЖ (ДЛП) у крыс породы Wistar [16]. Т. Mann и соавт. идентифицировали высокое содержание фруктозы в секрете дорсальной и латеральных долей ДЛП и определили взаимосвязь между концентрацией углевода и секреторной активностью ПЖ [17]. В своих работах С.А. Mawson и М.І. Fisher представили данные об индикации, посредством гистохимических методик, ионов  $Zn^{2+}$  в латеральной доле ДЛП [18]. Позднее в крупном исследовании S.A. Gunn и Т.С. Gould обобщили знания, посвященные изучению ДЛП крыс породы Wistar, и существенно их расширили. Путем изучения большого количества образцов вивисекционного материала исследователи детализировали анатомическое строение ДЛП и представили новые данные о ее строении [19].

Активное изучение непосредственно БП началось только в 70-х годах XX века, благодаря

клиническим и экспериментальным исследованиям Т.А. Stamey и Е.М. Meares, А.М. Friedlander, а также работам Р.О. Madsen и А. Baumuller [20-22]. Практический опыт в создании и проведении экспериментов, а также появление новых диагностических методик и лекарственных средств (ЛС), в первую очередь антибактериальных препаратов (АБП), послужили импульсом для разработки более сложных ЭМ, в которых использовались высокоорганизованные млекопитающие и применялись разнообразные методики моделирования патологического процесса.

В первую очередь стоит упомянуть исследование, проведенное Т.А. Stamey, Е.М. Meares и D.G. Winingham в 1970-м году, которое посвящено, однако, не непосредственному моделированию БП и изучению структурных изменений в ПЖ ЛЖ при развитии патологического процесса, а изучению механизмов диффузии различных групп АБП в ПС через простатический эпителий и определению минимальной дозировки антибиотика, способного накапливаться в моче и предотвращать инфицирование мочевого пузыря (МП) патогенной флорой. Данная ЖМ является одной из предтеч экспериментальных фармакологических исследований в урологии и интересна в контексте сравнения с современными методиками изучения противомикробной активности АБП, процессов их взаимодействия с другими классами ЛС в ткани ПЖ и СП, а также объяснения механизмов формирования бактериального персистирования. В качестве ЛЖ исследователи использовали собаку, однако, порода, вес, возраст особи в работе не указаны. Предварительно ЛЖ проводили пролонгированную внутривенную (в/в) инфузию нескольких групп АБП для поддержания высокой концентрации в плазме крови (Ampicillin, Oleandomycin, Polymyxin, Nalidixic Acid, Nitrofurantoin и т.д.). Через необозначенный промежуток

времени после проведения фенобарбиталовой анестезии исследователи производили лигирование МП ЛЖ проксимальнее ПЖ, далее мочеточники отсекали от МП, стентировали и выводили стенты через переднюю брюшную стенку в резервуар для отведения мочи. Семявыносящие протоки также перевязывали, осуществляли *circumcisio* и посредством в/в инъекции Sol. Pylocarpini стимулировали секрецию ПЖ. По прошествии некоторого временного интервала ПС поступал по уретре в емкость, расположенную под penisом. Далее, сравнив градиенты концентраций АБП между плазмой и ПС, исследователи установили, что только Oleandomycin, Erythromycin lactobionate и Nalidixic Acid в достаточном количестве проникают через простатический эпителий в ПС, причем концентрация макролидов в ПС в несколько раз превышает плазматический уровень. Таким образом, группа исследователей пришла к заключению, что создание недостаточно высокой концентрации остальных АБП в ПС объясняется процессом развития персистенции, идентифицированной по данным обследования *E. coli* в ПС у мужчин, которым проводили лечение данными ЛС по поводу верифицированного БП, несмотря на положительный результат теста на антибиотикочувствительность [20].

В 1972-м году А.М. Friedlander и А.И. Braude представили работу, посвященную изучению патогенетических механизмов интеркуррентного развития пиелонефрита (ПН) на фоне БП. Для создания ЖМ исследователи использовали 182 особи самцов крыс Sprague-Dawley весом 250-300 г. В качестве уропатогенов применяли штаммы *P. mirabilis*, выделенные из мочи пациентов в период манифестации инфекции мочевой системы, которые перед инокуляцией инкубировали 6 часов при температуре – 37°C в Triptase-соу бульоне до титра 10<sup>8</sup> КОЕ/мл в 0,05 мл, а также лабораторный «му-

зейный» штамм *P. mirabilis* № 2215. Основной группе ЛЖ инокуляцию микроорганизмов проводили следующим образом: после эфирного наркоза осуществляли доступ к мочевому пузырю через абдоминальный разрез справа от срединной линии тела, производили инокуляцию 0,05 мл бактериальной взвеси в стенку МП (точная локализация не указана), после чего ушивали. Согласно дизайну исследования через определенные промежутки времени ЛЖ подвергали сакрификации, удаляли почки и ПЖ, далее проводили бактериологическое и гистологическое исследование аутопсийного материала с применением различных методов окраски препаратов. Статистический анализ показал, что из 182 крыс, вскрытых через 1 неделю, у 130 верифицирован ПН, в свою очередь, из 130 особей в 126 случаях обнаружен БП с тяжелыми изменениями в вентральной ПЖ и менее выраженными в дорсолатеральной ПЖ. У 52 крыс ПН не идентифицирован и среди них только у 4 особей обнаружен БП. Дополнительные исследования, проведенные позже, показали протективную роль ПЖ в качестве барьера для распространения инфекции на верхние мочевые пути: так, в серии опытов при введении инокулята в каждую долю вентральной ПЖ (титр 0,5 x 10<sup>8</sup> КОЕ/мл объемом 0,025 мл) 6-ти ЛЖ после сакрификации на 1, 2 и 4 неделе в исследуемом материале (почки и ПЖ) обнаружены более тяжелые и диффузные воспалительные изменения в ПЖ уже на 1-ой неделе, но уже к 2-ой неделе они практически отсутствовали, а бактериологическое исследование гомогенизатов ткани ПЖ не идентифицировало рост микроорганизмов и при этом ни у одной из крыс не зафиксировано развитие ПН [21]. Данное исследование является одним из первых (в хронологии формирования ЖМ для изучения БП), имеющих подобный дизайн и методологию построения эксперимента, в кото-

рых применяли разделение на несколько испытуемых групп ЛЖ с целью изучения механизмов развития определенных моделируемых патологических процессов в зависимости от вводимых исследователями условий (введение инокулята непосредственно в ПЖ, проведение билатеральной орхиэктомии перед инфицированием, вивисекция ЛЖ в различные контрольные сроки и т.д.).

Применение актуальных гистологических методик оценки аутопсийного материала позволило исследователям получить достоверную информацию о характере изменений в органах ЛЖ каждой экспериментальной группы. Следует отметить, что аналогичный дизайн экспериментальных работ с некоторыми модификациями используется при моделировании различных патологических процессов в зарубежных и отечественных исследованиях и по настоящее время.

Подобный, но более прецизионный дизайн исследования, позднее использовала в 1983 г. научно-исследовательская группа во главе с L. Kaplan при изучении протективного эффекта кастрации при БП на крысах Sprague-Dawley, опираясь на результаты исследования C.J. Jesik, J.M. Holland, Lee C. в области анатомического и гистологического строения ПЖ крыс [22,23].

Исследовательский коллектив A. Baumuller и P.O. Madsen в 1977 г. представил оригинальную ЖМ, созданную для изучения гематогенного пути инфицирования ПЖ. В качестве ЛЖ использовали 30 половозрелых собак (без указания породы, веса и возраста). В начале исследователи осуществляли доступ к ПЖ и МП (описания локализации лапаротомии и анестезии не представлено), производили диссекцию парапростатической и паравезикальной клетчатки, изолировали полость мочевого пузыря посредством наложения эластичного турникета (или жгута) на шейку и выполняли вазэктомию (по всей видимости двухстороннюю). После в/в

стимуляции Sol. Pylocarpini 0,3 mg/kg СП собирали в емкость посредством пассивного оттока через предварительно установленный уретральный катетер для оценки концентрации  $Zn^{2+}$  и уровня pH. Далее выделяли простатическую артерию и с помощью иглы 25G производили интраартериальную инъекцию суспензии *E.coli*  $1 \times 10^6$  КОЕ/мл в 0,5 ml Sol. Natrii Chloridi 0,9%. На заключительном этапе окружающие ткани орошали Ampicillini для предотвращения распространения воспаления на перипростатические участки и, судя по всему, перед ушиванием брюшного доступа, снимали турникет с шейки МП, хотя уточнения по данному поводу в тексте работы не приведены. Позднее через определенные временные интервалы (от 1 недели до 2 месяцев) после инфицирования производили оценку концентрации  $Zn^{2+}$ , уровня pH, иммунофлуоресцентный анализ ПС для детекции антигенов *E.coli*, в последующем сакрификация, вивисекция ЛЖ и удаление ПЖ. Данные культурального исследования ПС показали, что во всех образцах ПС до инфицирования не зафиксировано антигенов *E. coli*, а после заражения лишь в 2-х образцах ПС получен отрицательный результат. Гистологический анализ аутопсийного материала зафиксировал в 100% случаев наличие воспалительных изменений в ПЖ в виде экссудативных изменений в ацинусах с преобладанием в их стенке лимфоцитарно-макрофагальных инфильтратов в острой фазе [24]. Необходимо отметить высокую валидность представленной работы в понимании механизмов гематогенного инфицирования ПЖ и протективных свойств СП, к тому же аналогичный дизайн ЖМ использовался в некоторых исследованиях и позднее.

Подобную ЭМ разработали и успешно использовали в 1980-х годах исследователи под руководством М.И. Каплуна [25]. Однако техническая сложность исполнения эксперимента и юридические огра-

ничения со стороны международных обществ по защите животных на использование высокоорганизованных млекопитающих в качестве ЛЖ не позволили дальше развивать и использовать представленную методику моделирования.

Наиболее репрезентативную, практичную и физиологичную ЖМ воспроизведения БП на крысах породы Sprague-Dawley в 1990 г. разработал научный коллектив в составе J.C. Nickel, M. Olson, A. Barabas, J. Benediksson, M.K. Dasgupta, J.W. Costerton. В качестве уропатогена использовали штаммы *E.coli* K-235, которые культивировали в течение ночи в Trypticsoy бульоне при температуре  $+37^{\circ}C$  и титровали в трис-буферном солевом растворе (TBS) до  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл. Всех ЛЖ рандомизировали на 2 группы: контрольную – 10 особей (им вводили 0,2 мл натрий-фосфатного буфера (PBS)) и экспериментальную – 65 особей (им вводили 0,2 мл инфеканта, содержащего *E.coli* K-235). После адаптации ЛЖ под общей анестезией 4% Halotane после обработки пениса 70% спиртом проводили по уретре стерильную полиэтиленовую трубку (PE 10) до простатической уретры (длина и диаметр трубки были определены предварительно) и производили инокуляцию бактериальной взвеси. Сакрификацию производили с помощью интоксикации  $CO_2$ . Вивисекцию выполняли на 1, 3, 7 день и далее через неделю вплоть до 8-ми недель после инфицирования и удаляли вентральную предстательную железу (ВПЖ) и МП. Перед сакрификацией производили забор мочи путем аспирации из МП для бактериологического исследования, а также крови для иммунологических тестов. Половину ВПЖ гомогенизировали в течение 15 минут в 10 мл PBS, затем 0,1 мл гомогенизата ВПЖ и мочи титровали путем метода серийных разведений от  $10^{-2}$  до  $10^{-5}$ , далее производили культивирование биоматериала на McConkey агаре. Рандомные участки ВПЖ и МП фиксировали в 10% формалине. ■

и после окраски Haematoxylin-eosin оценивали при помощи световой микроскопии. Для изучения ультраструктуры различные участки ПЖ после специальной последовательной обработки серий растворов (от 5% Glutaraldehyde до 0,05% Ruthenium красного) и фиксации по Sprug и Reynolds подвергали электронной микроскопии. Иммуногистологические исследования биоптатов ПЖ проводили с помощью перекрестного иммуноэлектрофореза по Lam и применения реакции прямой иммунофлюоресценции с методикой регистрации по Cornish. Регистрацию циркулирующих иммунных комплексов осуществляли с использованием CIC Raji cell метода радиоиммунного анализа по технике Dasgupta. В результате исследователям удалось вызвать развитие ретроградного трансуретрального БП у 61 особи экспериментальной группы (4 крысы в ходе эксперимента умерли от уросепсиса/ОБП) [26].

Принимая во внимание результаты анализа последующих публикаций в основных базах данных, можно с определенной уверенностью утверждать, что вышеуказанная научная работа является предтечей дальнейших исследований в области детализации и структуризации этиологических и патогенетических механизмов формирования БП. Разработанная ЖМ трансуретрального воспроизведения БП оказалась наиболее репрезентативной и казуальной, что, с некоторыми авторскими изменениями, позволяет с успехом применять ее также для изучения взаимодействия различных классов препаратов, особенностей их фармакодинамики и фармакокинетики в ПЖ в ходе клинических испытаний ЛС [27-30].

Исследовательская группа под руководством С. Jantos представила исследование по экспериментальному воспроизведению инфекции половых органов с использованием окулוגенитальных штаммов *S. psittaci* Z-432 в титре  $2 \times 10^7$  КОЕ/мл. Кры-

сам породы Wistar после комбинированной Ketamine-Xylazine анестезии проводили скрототомию и выделяли правое яичко с придатком и семявыносящий проток. Введение 1 мл инокулята осуществляли с помощью 27G иглы непосредственно в семявыносящий проток, после чего рану мошонки ушивали. Впоследствии всех ЛЖ рандомно разделили на 6 групп (7-я контрольная). Сакрификацию крыс производили на 3, 7, 14, 30, 60 и 90 сутки, извлекали придатки, яички и ПЖ а также печень, селезенку и подвздошные лимфатические узлы, собирали образцы крови из аорты; одну половину придатков, яичек и ПЖ помещали в 10% буферизированный формалин, другую замораживали при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Впоследствии данные участки тканей после препарации подвергались микробиологическому (гомогенизированные участки дуплицировали в монослои 229-клеточных культур HeLa, обрабатывались соевым раствором Hanks и средой Eagle, после чего инкубировали при  $37^{\circ}\text{C}$  в 5%  $\text{CO}_2$  в течение 48 часов, фиксировали метанолом и детектировали хламидийные включения в монослое с помощью моноклональных антител) и гистологическому исследованию (световая микроскопия после окрашивания Haematoxylin-eosin, образцы крови – серологическому (детекция антител к *Ch. psittaci* с помощью микроиммунофлюоресцентного теста с DTA F Pasteur). По результатам морфологического исследования тяжелые интерстициальные и интратубулярные гнойные воспалительные изменения зафиксированы на 7 и 14 день, постепенно сменившиеся умеренной моноклеарной инфильтрацией с 30 по 90 сутки. Результаты микробиологических тестов коррелировали с морфологическими – наиболее выраженная обсемененность ткани ПЖ зафиксирована у ЛЖ, умерщвленных с 3 по 14 сутки. Представленные работы помимо описательной части эксперимента интересны в качестве примера акти-

визации исследовательского поиска в направлении изучения роли представителей кластера дебатированных штаммов микроорганизмов в генезе бактериального простатита [31,32].

## УРОПАТОГЕНЫ

На протяжении всех этапов развития технологии экспериментального моделирования БП в качестве тестовых эталонных уропатогенов по обыкновению использовали штаммы *E. coli*. В современных исследованиях традиционно продолжают применять различные серотипы эшерихий: Z17 (O2: K1: H-), K-235 (O1: K1: H-), O78 и т.д., а также контрольные штаммы серий ATCC1677, ATCC 25922. При этом используют различные типы культур – как выделенные из секрета ПЖ/мочи у пациентов с верифицированным диагнозом ОБП/ХБП, так и лабораторные «frozen stock» штаммы, которые после делиофилизации культивируют 12 часов на *Tryptic-soy* бульоне при температуре  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Помимо *E. coli* в некоторых исследованиях также в качестве инфекционных флогогенов применяли штаммы *Pr. Mirabilis* 2215, NPI/7244 штаммы *St. epidermidis*, уропатогенные *K. pneumoniae*, идентифицированные в 3 порции мочи/СП у пациентов с верифицированным БП или инфекцией мочевой системы, которые также культивировали на *Trypticase-soy* бульоне при  $37^{\circ}\text{C}$  (*Pr. mirabilis* 2215, *K. pneumoniae*), либо на Luria бульоне (NPI/7244 штаммы *St. epidermidis*), а также лабораторные окулוגенитальные штаммы *Ch. trachomatis* (ATCC VR-123) культивируемых в BGM монослоях клеток и *Ch. psittaci*, выделенные у *Guinea pig* из конъюнктивного мешка (GPIC agents). Все представленные микроорганизмы как в вышепредставленных работах, так и в последующих исследованиях использовали в высоких титрах от  $5 \times 10^5$  до  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл. Объем вводимого инокулята, содержащего уропато-

ген, в зависимости от вида используемых ЛЖ, таксона микроорганизма и применяемого способа инокуляции варьирует от 0,05 до 0,5 мл. Пути введения инфектанта – 1) трансуретрально; 2) интрапростатическая инъекция; 3) ангиогенно; 4) в семявыносящий проток [20,21,24,26,28-30,32-34].

## ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

В качестве основных ЛЖ при моделировании БП исследователи используют оутбредных половозрелых самцов возрастом от 3 до 4 месяцев и массой от 180 до 450 г: крыс пород Wistar и Sprague-Dawley, а также самцов мышей линий СЗН/HeOuJ и СЗН/HeJ. Все ЛЖ согласно протоколу проходят адаптацию в течение недели к новым условиям пребывания, после доставки из питомника. Цикл содержания животных составляет 12/12 часов день/ночь в контролируемых условиях микроклимата, свободный доступ к пище и воде [21,22,26,28-31]. В работах середины и конца XX века также использовали собак и приматов, но современными европейскими, американскими и российскими протоколами на законодательном уровне запрещено использовать высших млекопитающих в лабораторных исследованиях.

Анатомические исследования строения ПЖ данных ЛЖ показали, что ДЛП представлена 2 отдельными железами, разделенными по середине тонкой соединительнотканной перегородкой и заключенными в собственные капсулы. При этом изучение гистологического строения ПЖ показало, что каждая ДЛП сепарирована на 3 зоны – дорсаль-

ная часть представлена железистыми ацинусами голокринового типа (АГТ), латеральная часть представлена ацинусами апокринового типа (ААТ), а средняя (промежуточная) состоит как из ацинусов с голокриновым, так и с апокриновым типом секреции, а также имеет несколько крупных протоков, которые выводят секрет, продуцируемый обеими glandулярными компонентами. Изолированный анализ гомогенизатов тканей перечисленных участков выявил секреторные особенности каждой зоны. Было установлено, что секрет АГТ содержит высокие концентрации фруктозы, в противоположность ААТ продуцируют флюид с повышенным содержанием  $Zn^{2+}$ , а ацинусы промежуточной зоны эксгилируют как фруктозу, так и  $Zn^{2+}$  [18,19,23].

Использование крыс пород Wistar и Sprague-Dawley при ЭМ БП позволяет в подавляющем большинстве случаев добиться развития острого и с течением времени хронического воспаления в ПЖ при различных способах введения инокулята. При этом установлено, что билатеральная орхиэктомия/химическая андрогенная депривация перед инфицированием позволяет уменьшить бактериальный рост в ПЖ, что может быть использовано в качестве метода контроля за течением эксперимента [21,22,33]. Применение мышей СЗН/HeOuJ и СЗН/HeJ в ЭМ менее распространено вследствие более высокой стоимости этих ЛЖ, технических трудностей при моделировании, связанных с размерами мышей и достаточно длительным периодом развития хронических изменений в ПЖ (12-24 недель) [34].

Анестезиологическое пособие,

используемое в исследованиях с течением времени претерпело изменения в направлении использования менее токсичных и контролируемых препаратов, в соответствии с современными требованиями к наркозу. Так, в работах 50 – 70-х годов применяли Aether, позднее в 90-х успешно использовали 4% Halotane. На современном этапе чаще всего используют комбинацию в/м инъекции Ketamine (50 мг/кг) и Xylazine (12 мг/кг) или 10% Chloral hydrate (3 мл/кг-1), хотя в некоторых экспериментальных работах Aether используется до сих пор [20,21,24,26,28-31].

Резюмируя, следует отметить, что представленный теоретический материал, созданный в результате синтеза информации, полученной в ходе проведения данных экспериментов, стал базисом для проведения дальнейших исследований по изучению антисептических, ресторативных, фертильных и других свойств ПС, оценке влияния нарушений гормональной регуляции, дисбаланса пищевого рациона, острого и хронического бактериально индуцированного воспаления на формирование ультраструктурных изменений в простатической ткани.

Таким образом, применение ЖМ в доклинической фазе исследований играет важную роль для понимания некоторых особенностей развития и течения патологических реакций при развитии инфекционно-воспалительного процесса в ПЖ. Тенденции современной «медицины, основанной на доказательствах» (Evidence-Based Medicine) диктуют необходимость более интенсивного внедрения ЖМ в исследовательский процесс. ■

**Ключевые слова:** бактериальный простатит, каузативные уропатогены, атипичные уропатогены, экспериментальное моделирование, животные модели, лабораторные животные.

**Key words:** prostatitis, bacterial, causative uropathogens, atypical uropathogens, experimental modeling, animals models, laboratory animals.

**Резюме:**

Несмотря на значительный объем публикаций, этиология простатита I и II категорий окончательно не установлена. На основании синтеза множества исследований выделен кластер каузативных уропатогенов, роль которых в возникновении острой и хронической форм данного заболевания дефинитивно определена. В свою очередь, для достоверной верификации этиологической принадлежности таксонов микроорганизмов, составляющих обширный дебатыруемый кластер, к развитию бактериального простатита необходимо продолжать исследования в данном направлении. Также, дискуссионным остается вопрос аффилиции некоторых микроорганизмов к развитию простатита IIIа категории. Помимо этого, значительное количество исследований посвящено проблематике консервативной терапии бактериального простатита, что несмотря на широкий ассортимент современных синтезированных различных классов фармпрепаратов, применяемых в урологии, отражает факт отсутствия персуазивной комбинации медикаментов, используемых для лечения бактериального простатита. Комплексный конклюдентный тест публикаций, показал, что для решения обширной части представленных задач многие исследователи в настоящее время успешно применяют экспериментальные модели на лабораторных животных. В настоящем обзоре нами выполнен анализ наиболее валидированных литературных источников, которые отражают этапы становления, а также динамику развития и формирования современных тенденций в экспериментальном моделировании бактериального простатита. Данный обзор содержит описание различных моделей воспроизведения бактериального простатита и методик лабораторного исследования аутопсийного материала используемых пород животных и способов их анестезиологического ведения, а также краткую характеристику применяемых бактериальных штаммов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Summary:****Experimental modeling of bacterial prostatitis.****Review**

*M.I. Kogan, Yu.L. Naboka, R.S. Ismailov, I.V. Popov, N.V. Slyusarenko*

The etiology of prostatitis in categories I and II has not been finally determined, despite the considerable amount of publications. Based on the synthesis of many studies, causative uropathogens cluster has been distinguished, whose role in the onset of the acute and chronic forms of this disease is definitively determined. In turn, in order to verify the etiological identity of microorganisms' taxa that constitute an extensive discussion cluster for the development of bacterial prostatitis, it is necessary to continue research in this direction. In addition, the affiliation issue of some microorganisms to the development of prostatitis category IIIa remains controversial. A considerable amount of research is devoted to the problem of conservative treatment of bacterial prostatitis, which, despite the wide range of modern synthesized different classes of pharmaceuticals used in urology, reflects the absence of a persuasive combination of medicines used to treat bacterial prostatitis. The comprehensive conclusive test of publications showed that many researchers are now successfully using animals models to solve the vast part of the presented problems. We have analyzed the most validated literature that reflects the stages of formation, as well as the dynamics of development and the formation of modern trends in experimental modeling of bacterial prostatitis. This review describes various animals models of bacterial prostatitis and techniques of autopsy's material laboratory study, animal used species and methods for their anesthetic reference, in addition a brief description of the bacterial strains used.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Rees J, Abrahams M, Doble A, Cooper A. Diagnosis and treatment of chronic bacterial prostatitis and chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: a consensus guideline. *BJU Int* 2015;116(4):509–525. doi: 10.1111/bju.13101
2. Bonkat G, Pickard RS, Bartoletti R, Bruyere F, Geerlings S, Wagenlehner F, et al. Guidelines on Urological Infections. *European Association of Urology*. 2017, 64 p. URL: [https://uroweb.org/wp-content/uploads/19-Urological-infections\\_2017\\_web.pdf](https://uroweb.org/wp-content/uploads/19-Urological-infections_2017_web.pdf)
3. Gill BC, Shoskes DA. Bacterial prostatitis: a systematic review. *2016*;29(1):86–91. doi: 10.1097/QCO.0000000000000222
4. Khan FU, Ihsan AU, Khan HU, Jana R, Wazir J, Khongorzul P, et al. Comprehensive overview of prostatitis: a systematic review. *Biomed Pharmacother* 2017;94:1064–1076. doi: 10.1016/j.biopha.2017.08.016
5. Cai T, Pisano F, Nesi G, Magri V, Verze P, Perletti G, et al. Chlamydia trachomatis versus common uropathogens as a cause of chronic bacterial prostatitis: Is there any difference? Results of a prospective parallel-cohort study. *Investig Clin Urol* 2017;58:460–467. doi.org/10.4111/
6. Xiao J, Ren L, Lee H, Ding Q, Lou S, Zhang W, et al. Atypical microorganisms in expressed prostatic secretion from patients with chronic prostatitis and chronic pelvic pain syndrome. Microbiological results from a case-control study. *J. Urol. Int* 2013;91(4):410–416. doi: 10.1159/000350934
7. Brede CM, Shoskes DA. The etiology and management of acute prostatitis: a systematic review. *Nat Rev Urol* 2011;8(4):207–212. doi: 10.1038/nrurol.2011.22
8. Strockij AV, Gavrushev AA, Rubanik LV, Poleshchuk NN. Is a nonbacterial prostatitis nonbacterial? *Urology* 2015;(4):102–106. PMID: 26665775
9. Коган М.И., Ибишев Х.С., Набока Ю.Л., Ферзаули А.Х. Микробные патогены при хроническом бактериальном простатите. *Медицинский вестник Башкортостана* 2011;(2):104–106.
10. Набока Ю.Л., Коган М.И., Черницкая М.Л., Гудима И. А., Ибишев Х.С., Ферзаули А.Х. Микробный спектр секрета предстательной железы и факторы персистенции бактерий, обнаруженных при хроническом бактериальном простатите. Обзорная статья. *Бюллетень*

ЛИТЕРАТУРА

- Оренбургского научного центра УрО РАН 2012;(3):1-6.
11. Zheng J, Tang J, Yin S, Shen X, Zhou Z. Comparison of polymerase chain reaction and immunologic methods for the detection of nanobacterial infection in type-III prostatitis. *Urology* 2014;84(3):731.e9-13. doi:10.1016/j.urology.2014.05.038.
  12. Хельсинкская декларация всемирной медицинской ассоциации. Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека и животных в качестве субъекта. Принята на 18-ой Генеральной Ассамблее ВМА, Хельсинки, Финляндия, июнь 1964 г., последние изменения внесены на 64-ой Генеральной Ассамблее ВМА, Форталеза, Бразилия, октябрь 2013 г.
  13. Правила лабораторной практики (GLP) при проведении доклинических исследований в Российской Федерации. Утверждены приказом Министерства Здравоохранения Российской Федерации «Об утверждении правил лабораторной практики» № 267 от 19.06.2003.
  14. Mahler M, Berard M, Feinstein R, Gallagher A, Illgen-Wilcke B, Pritchett-Corning K, et al. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Laboratory Animals* 2014;48(3):178-192. doi: 10.1177/0023677213516312
  15. Korenchevsky V, Dennison M. Histological changes in the organs of rats injected with oestrone alone or simultaneously with oestrone and testicular hormone. *J Path and Raet* 1935;42:323-337
  16. Humphrey GF, Mann T. Citric acid in semen. *Nature*. 1948;161:332-353.
  17. Mann T, Parsons U. Studies on the metabolism of Semen, 6. Role of hormones. Effect of castration, hypophysectomy and diabetes. Relation between blood glucose and seminal fructose. *Biochem J* 1950;46:440-450.
  18. Mawson CA, Fischer MI. Zinc content of the genital organs of the rat. *Nature* 1951;167:859
  19. Gunn SA, Gould TC. A correlative anatomical and functional study of the dorsolateral prostate of the rat. *Anat Rec* 1957;128(1):41-53. doi:10.1002/ar.1091280105
  20. Stamey TA, Meares EM Jr, Winingham DG. Chronic bacterial prostatitis and the diffusion of drugs into prostatic fluid. *J Urol* 1970;103(2):187-194.
  21. Friedlander AM, Braude AI. Experimental prostatitis: relationship to pyelonephritis. *J Inf Diseases* 1972;126(6): 645-651. doi:10.1093/infdis/126.6.645
  22. Kaplan L, Lee C, Schaeffer AJ. Effect of castration on experimental bacterial prostatitis in rats. *Prostate* 1983;4(6):625-630. doi:10.1002/pros.2990040608
  23. Jesik CJ, Holland JM, Lee C. An anatomical and histological study of the rat prostate. *Prostate* 1982;3:81-97.
  24. Baumuller A, Madsen PO. Experimental bacterial prostatitis in dogs. *Urol Res* 1977;5(4):211-213
  25. Каплун М.И., Калимулина Л.Б. Морфология хронического простатита. Материалы III Всесоюзного съезда урологов.1984. С. 241
  26. Nickel JC, Olson ME, Barabas A, Benediktsson H, Dasgupta MK, Costerton JW. Pathogenesis of chronic bacterial prostatitis in an animal model. *Br J Urol* 1990;66(6): 47-54. doi:10.1111/j.1464-410X.1990.tb14864.x
  27. Elkahwaji JE, Zhong W, Hopkins WJ, Bushman W. Chronic bacterial infection and inflammation incite reactive hyperplasia in a mouse model of chronic prostatitis. *Prostate* 2007;67(1):14-21. doi: 10.1002/pros.20445
  28. Yoon BI, Ha US, Sohn DW, Lee S-J, Kim HW, Han CH, et al. Anti-inflammatory and antimicrobial effects of nanocatechin in a chronic bacterial prostatitis rat model. *J Infect Chemother* 2011;17(2):189-194. doi.org: 10.1007/s10156-010-0098-9
  29. Guo-Dong Qin, Ming-Zhao Xiao, Yuan-Da Zhou, Jing Yang, Hai-Xia He, Yue He, et al. Tamsulosin alters levofloxacin pharmacokinetics in prostates derived from rats with acute bacterial prostatitis. *Asian J Androl* 2013;15(2):254-260. doi: 10.1038/aja.2012.134
  30. Lee YS, Han CH, Kang SH, Lee S-J, Kim SW, Shin OR, et al. Synergistic effect between catechin and ciprofloxacin on chronic bacterial prostatitis rat model. *Int J of Urol* 2005;12:383-389
  31. Juntos C, Banmgirtner W, Durchfeld B, Schiefer HG. Experimental epididymitis due to Chlamydia trachomatis in rats. *Infect Immun* 1992;60:2324-2328. doi.org:10.1007/s00345-005-0047-x
  32. Jantos CA1, Augustin J, Durchfeld-Meyer B, Baumgärtner W, Schiefer HG. Experimental genital tract infection with Chlamydia psittaci (GPIC agent) in male rats. *Infection* 1998;26:126-130. doi: 10.1007/BF02767776
  33. Seo SI, Lee SJ, Kim JC, Choi YJ, Kim SW, et al. Effects of androgen deprivation on chronic bacterial prostatitis in a rat model. *Int J Urol* 2003; 10: 485-491.
  34. Vykhovanets EV1, Resnick MI, MacLennan GT, Gupta S. Experimental rodent models of prostatitis: limitations and potential. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2007;10(1):15-29. doi: 10.1038/sj.pcan.4500930

REFERENCES (9, 10, 12, 13, 25)

9. Kogan M.I., Ibishev H.S., Naboka Yu.L., Ferzauli A.H. Mikrobynye patogeny pri hronicheskom bakterialnom prostatite. [Pathogens in microbial chronic bacterial prostatitis]. *Meditsskiy vestnik Bashkortostana* 2011;(2):104-106. (In Russian)
10. Naboka Yu.L., Kogan M.I., Chernitskaya M.L., Gudima I. A., Ibishev H.S., Ferzauli A.H. Mikrobyniy spektr sekreta predstatelnoy zhelezy i faktoryi persistentsii bakteriy, obnaruzhennyih pri hronicheskom bakterialnom prostatite. Obzornaya statya. [Microbial spectrum of prostate fluid and predictors of persistence of the bacteria detected in chronic bacterial prostatitis]. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN* 2012;(3):1-6. (In Russian)
12. Helsinkskaya deklaratsiya vseмирnoy meditsinskoy assotsiatsii. Eticheskije printsipyi provedeniya meditsinskih issledovaniy s uchastiem cheloveka i zhivotnyih v kachestve sub'ekta. Prinyata na 18-oy Generalnoy Assamblee [Helsinki Declaration of the World Medical Association. Ethical principles of medical research involving human and animals as a subject. Adopted at the 18th General Assembly of the Military Medical Academy]. VMA, Helsinki, Finlyandiya, iyun 1964 g., poslednie izmeneniya vneseny na 64-oy Generalnoy Assamblee VMA, Fortaleza, Braziliya, oktyabr 2013 g. (In Russian)
13. Pravila laboratornoy praktiki (GLP) pri provedenii doklinicheskikh issledovaniy v Rossiyskoy Federatsii. [Rules of laboratory practice (GLP) when conducting preclinical studies in the Russian Federation]. Utverzhdeniyi prikazom Ministerstva Zdravoohraneniya Rossiyskoy Federatsii «Ob utverzhdenii pravil laboratornoy praktiki». № 267 ot 19.06.2003. (In Russian)
25. Kaplun M.I., Kalimulina L.B. Morfologiya hronicheskogo prostatita. [The morphology of chronic prostatitis.]. Materialy III Vsesoyuznogo s'ezda urologov.1984. P. 241 (In Russian)