

УДК 616.611-002+616.94-022.7]-092.9

РАЗВИТИЕ ПОСТИНФЕКЦИОННОГО СТАФИЛОКОККОВОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Мамедова Т.Т.¹, Жураковский И.П.¹

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: mamedovatala8@gmail.com

На 12 крысах-самцах Вистар была воспроизведена модель остеомиелита большеберцовой кости с помощью суточной культуры Золотистого стафилококка (штамм 209). В качестве контроля использовали 6 интактных животных. Исследования производили через 1 и 3 месяца после инфицирования. Морфометрический анализ проводили после окрашивания срезов гемотоксином Эрлиха и эозином. Выявленные лимфоидные инфильтраты через 1 месяц у с момента инфицирования 50% экспериментальных животных могут быть связаны с имеющей место бактериемией вследствие несовершенства барьерной функции макрофагально-фиброцитарного вала в костной ткани очага воспаления через 1 месяц после инфицирования, а также антигенным раздражением и нарушением цитокинового баланса при формировании хронического воспалительного процесса. Проведенное исследование также позволило выявить существенные структурные нарушения в клубочковом аппарате почек, которые имели отчетливую тенденцию к нарастанию, и обуславливали нарушение процессов ультрафильтрации. Данные изменения имели определенную стадийность. Так, на более раннем сроке эксперимента повышение белка в первичной моче было связано с повышением фильтрационной способности, обусловленной спазмом отводящей артериолы, в основе чего лежал, вероятнее всего, рефлекторный механизм. На более позднем сроке дальнейшее усиление протеинурии было обусловлено нарушениями фильтрационного барьера.

Ключевые слова: Золотистый стафилококк, постинфекционный гломерулонефрит, хроническое воспаление, фокальная персистирующая инфекция, остеомиелит

DEVELOPMENT OF POSTINFECTIOUS STAPHYLOCOCCAL GLOMERULONEPHRITIS IN THE EXPERIMENT

Mamedova T.T.¹, Zhurakovsky I.P.¹

¹Novosibirsk State Medical University, e-mail: mamedovatala8@gmail.com

A model of tibial osteomyelitis was reproduced on 12 male Wistar rats using a daily culture of *Staphylococcus aureus* (strain 209). Six intact animals were used as controls. Studies were performed 1 and 3 months after infection. Morphometric analysis was performed after staining sections with Ehrlich's haemotoxin and eosin. Detected lymphoid infiltrates 1 month after infection in 50% of experimental animals may be associated with the existing bacteremia due to imperfect barrier function of the macrophage-fibrocytic shaft in the bone tissue of the inflammation focus 1 month after infection, as well as antigen irritation and cytokine balance violation during the formation of a chronic inflammatory process. The study also revealed significant structural disorders in the glomerular apparatus of the kidneys, which had a clear tendency to increase, and caused a violation of ultrafiltration processes. These changes had a certain staging. Thus, in the earlier period of the experiment, the increase in protein in the primary urine was associated with an increase in filtration capacity due to diverting arteriolar spasm, which was based, most likely, on the reflex mechanism. At a later term, a further increase in proteinuria was due to disorders of the filtration barrier.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, post-infectious glomerulonephritis, chronic inflammation, focal persistent infection, osteomyelitis

Хроническое воспаление является одним из наиболее часто встречающихся патологических процессов, в результате которого стойко изменяются структура и функция пораженного органа. Подавляющее большинство научных исследований, которые посвящены изучению фокальной персистирующей инфекции, рассматривают либо локальные изменения в очаге воспаления, либо нарушения, связанные с реакцией иммунной системы. Вместе с тем, изучению процессов, происходящих в других органах, уделяется значительно меньшее внимание. В последние годы в развитых странах нестрептококковая инфекция, представленная инвазией золотистого стафилококка у взрослых заняла место стрептококковой инфекции, что связано с эволюцией бактерий и злоупотреблением антибиотиками, которые обусловили постепенное возрастание лекарственной устойчивости Золотистого стафилококка, поэтому уровень инфицирования лекарственно-резистентными штаммами стафилококков также увеличился во всем мире [1]. Проявления инфекции варьируются от поверхностных кожных поражений до глубоких инвазивных. Известно такое заболевание как постинфекционный нестрептококковый гломерулонефрит, относящийся к воспалительным гломерулопатиям, и который возникает в связи с другими инфекционными заболеваниями, в том числе вызванными такими бактериальными агентами как стафилококк. Также известно, что средний возраст пациентов с постинфекционным нестрептококковым гломерулонефритом, исключая стафилококковую инфекцию, моложе, чем в группах со стафилококк-ассоциированным гломерулонефритом[2]. Это можно связать с ростом числа пожилых пациентов с сопутствующими заболеваниями, такими как сахарный диабет и ожирение, которые нуждаются в длительном пребывании в больнице, а также с увеличением продолжительного использования центральных катетеров, имплантатов и кардиологических устройств [3]. Несмотря на то, что изменения почек при этом виде гломерулонефрита чаще всего полностью обратимы, возможен переход в хроническую форму.

Цель исследования: изучить изменения, происходящие в клубочковом аппарате почек при формировании патологического состояния, обусловленного наличием фокальной персистирующей инфекции и выявить возможные предпосылки для развития хронической формы постинфекционного нестрептококкового гломерулонефрита.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проводился на 18 половозрелых крысах-самцах Вистар с массой тела 180-220 г. У 12 животных под общей ингаляционной анестезией проведена трепанация большеберцовой кости с последующим тампонирующим отверстием хлопчатобумажной нитью, находившейся 30 минут в смыве суточной культуры Золотистого стафилококка (штамм 209). Животных выводили из эксперимента декапитацией под фторотановым наркозом через 1 месяц и 3 месяца с момента воспроизведения модели. В

качестве контроля использовали 6 интактных животных. Гистологические препараты для морфологического исследования подготовили с помощью стандартного метода фиксации в нейтральном 12% формалине с последующей заливкой в парафин. Полученные срезы (5 мкм) окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином. Морфометрический анализ проводили с помощью морфометрического комплекса на базе микроскопа Микромед-6, цифровой камеры DSM 510 и программного обеспечения ImageJ 1.42g. Для статистической обработки результатов использовали программный пакет SPSS v 17.0 for Windows. Для сравнения двух независимых групп использовали критерий Манна-Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение.

После инокуляции Золотистого стафилококка через 1 месяц и через 3 месяца с начала воспроизведения модели в участке большеберцовой кости крыс обнаружены зона некроза костного мозга в непосредственной близости от введенных хлопчатобумажных нитей, ограниченная макрофагально-фиброцитарным валом и фрагментация костных балок.

Изменения, обнаруженные в клубочковом аппарате почек при фокальной персистирующей инфекции, оказались неоднозначными на разных сроках исследования, что подтверждается различиями результатов морфометрического анализа по нескольким показателям, однако это проявляется, в основном, в степени выраженности выявленных изменений. Деформация почечных телец была обнаружена на обоих месяцах эксперимента, при этом через 1 месяц после инфицирования относительная плотность почечных телец стала статистически значимо меньше, чем у интактных животных ($p < 0,00016$), что связано с уменьшением относительной площади, занимаемой данными структурами. Вместе с тем количество почечных телец на тестируемой площади во всех изученных группах достоверно не отличалось от аналогичного показателя интактных животных. Также наблюдались изменения капиллярного клубочка почечных телец: на 1 и 3 месяцах исследования капиллярный клубочек плотно упакован, просветы между сосудами практически отсутствуют, само же почечное тельце уменьшено в размерах, причем на раннем сроке эксперимента эти явления в 1,5 раза более выражены, в то время как капилляры интактных клубочков расширены, просветы между ними более крупные и в них заметны эозинофильно окрашенные эритроциты. Обращает на себя внимание наличие воспалительных инфильтратов в корковом веществе почек у 50% экспериментальных животных через 1 месяц после инфицирования и отсутствие инфильтратов через 3 месяца после инфицирования. Не исключено, что это может быть связано с имевшей место преходящей бактериемией вследствие несовершенства барьерной функции макрофагально-фиброцитарного вала в костной ткани очага воспаления через 1 месяц после инфицирования.

К 3-му месяцу в поле инфицирования была сформирована полноценная гранулема с выраженной соединительнотканной капсулой, надежно предотвращающей возможность сохранения в последующем бактериемии. Однако, несмотря на ее отсутствие к 3 месяцу после инфицирования выраженность поражения почечных клубочков не только не уменьшилась, но и возросла. Это подтверждается наличием и характером распределения включений в пространстве капсулы Шумлянско-Боумана, представляющих собой бесструктурное вещество, образованное скоплениями белка и слущенным эпителием. Подобные структуры были выявлены в обеих опытных группах, однако через 3 месяца после инфицирования относительная площадь, занимаемая включениями, увеличилась в 1,3 раза по сравнению с 1 группой. Такие результаты указывают на дальнейшее увеличение количества белка в первичной моче, что при сочетании с наличием дистрофических изменений в эпителии канальцевого аппарата почек, может привести к протеинурии. Необходимо отметить, что механизмы ультрафильтрации белка в пространство капсулы Шумлянско-Боумана в изученные сроки были различными. Это подтверждается следующими данными: 1) диаметр капилляров клубочков через 1 месяц с начала воспроизведения модели стал значительно меньше по сравнению с этим же показателем у интактных животных, что свидетельствует о спазме артериол, в то время как на 3 месте эксперимента капилляры почечных клубочков были расширенными, что сочеталось с наличием застойных явлений в венозной системы почек; 2) через 1 месяц после инфицирования выявлена обратная корреляционная связь между диаметром капилляров и относительной площадью, занимаемой включениями, что указывает на зависимость ультрафильтрации белка от выраженности гидростатического давления в капиллярах. Процесс ультрафильтрации через 3 месяца после инфицирования связан не столько с гидростатическим давлением в капиллярах почечного клубочка, сколько с повышением онкотического давления в просвете капсулы, что подтверждается дальнейшим увеличением площади, занимаемой включениями, в 1,3 раза по сравнению с предыдущим сроком, и может быть связано с повреждением базальной мембраны. Не исключено, что данное повреждение обусловлено тем, что стафилококковые энтеротоксины С, А и токсин синдрома токсического шока 1, являются суперантигенами, что играет важную роль в заболевании, поскольку они являются факторами, которые стимулируют не только высвобождение цитокинов иммунокомпетентными клетками, но и способствуют секреции матриксных металлопротеиназ, которые способны оказывать повреждающее действие на базальные мембраны[3,4]. Вместе с тем известно, что снижение клубочковой фильтрации является одним из важных показателей нарушения функции клубочков, а следовательно может характеризовать состояние клубочкового аппарата при фокальной персистирующей инфекции. То есть, на более раннем сроке эксперимента протеинурия была связана с

повышением фильтрационной способности, обусловленной спазмом отводящей артериолы, в основе чего вероятнее всего лежал рефлекторный механизм. На более позднем сроке (через 3 месяца с момента инфицирования) дальнейшее усиление протеинурии обусловлено нарушениями фильтрационного барьера, образованного эндотелиоцитами капилляров, трехслойной базальной мембраной и подоцитами внутреннего листка капсулы.

Выводы.

Проведенное морфологическое исследование почек позволило выявить структурные нарушения в клубочковом аппарате почек, связанные с нарушением процессов ультрафильтрации. Данные изменения имеют определенную стадийность. Так, на более раннем сроке эксперимента повышение белка в первичной моче было связано с повышением фильтрационной способности, обусловленной спазмом отводящей артериолы, в основе чего лежал, вероятнее всего, рефлекторный механизм. На более позднем сроке (через 3 месяца с момента инфицирования) дальнейшее усиление протеинурии обусловлено нарушениями фильтрационного барьера. Можно предположить, что именно нарушение базальной мембраны играет роль в развитии патологических проявлений поражения клубочкового аппарата при фокальной персистирующей инфекции. Кроме того, возможно, что именно нарушение базальной мембраны является одной из предпосылок для развития хронической формы постинфекционного нестрептококкового гломерулонефрита.

Не исключено, что выявленные лимфоидные инфильтраты через 1 месяц с момента инфицирования могут быть связаны с имеющей место бактериемией вследствие несовершенства барьерной функции макрофагально-фиброцитарного вала в костной ткани очага воспаления через 1 месяц после инфицирования, а также антигенным раздражением и нарушением цитокинового баланса при формировании хронического воспалительного процесса.

Диагностика и лечение стафилококк-ассоциированного гломерулонефрита затруднены из-за отсутствия уникальных гистологических признаков, часто скрытого характера основной инфекции, а также пожилого возраста и сопутствующих заболеваний у пораженных пациентов [5], поэтому более подробное изучение заболеваний почек, вызванных стафилококками (в особенности, лекарственно-резистентными штаммами), на данный момент служит основой для установления диагноза и выбора подходов к лечению данной патологии.

Список литературы:

1. Yunlei G., Guanghui S, Meiling S., Juan W., Yi W. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in Staphylococcus aureus. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020. Vol. 10. No. 107.
2. Usui J, Tawara-Iida T., Takada K., Ebihara I, Ueda A., Iwabuchi S., Ishizu T., Iitsuka T., Takemura K., Kawamura T., Kaneko S., Sakai K., Kai H., Gomibuchi T., Nagata M., Kobayashi M., Koyama A., Suka M., Radhakrishnan J., Yamagata K. Temporal Changes in Post-Infectious Glomerulonephritis in Japan(1976-2009). *PLOS One*. 2016. Vol. 11. No. 6.
3. Satoskar A.A, Parikh S.V, Nadasdy T. Epidemiology, pathogenesis, treatment and outcomes of infection-associated glomerulonephritis. *Nature Reviews Nephrology*. 2019. Vol. 16. No. 1. P. 32-50.
4. Takayasu M., Hirayama K., Shimohata H., Kobayashi M., Koyama A. Staphylococcus aureus Infection-Related Glomerulonephritis with Dominant IgA Deposition. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23. No. 13.
5. Satoskar A.A., Shapiro J.P., Jones M., Bott C., Parikh S.V., Brodsky S.V., Yu L., Nagaraja H.N., Wilkey D.W., Merchant M.L., Klein J.B., Nadasdy T., Rovin B.H. Differentiating Staphylococcus infection-associated glomerulonephritis and primary IgA nephropathy: a mass spectrometry-based exploratory study. 2020. Vol. 10. No. 1.