

Экспериментальное моделирование лепры

А.А. Кубанов¹, А.Э. Карамова¹, А.А. Воронцова¹, П.А. Калинина²

¹ ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России 107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6

² ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России 123995, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1

Лепра (болезнь Хансена) — хроническая гранулематозная бактериальная инфекция, поражающая преимущественно кожные покровы и периферическую нервную систему. Возбудитель лепры — облигатный внутриклеточный микроорганизм *Mycobacterium leprae*.

Экспериментальное моделирование лепрозной инфекции сопряжено со значительными трудностями, связанными с биологическими особенностями возбудителя. Многочисленные попытки создания экспериментальных моделей на различных группах животных привели к созданию нескольких воспроизводимых моделей на мышах и на девятипоясных броненосцах.

Линии нокаутных мышей, генетические дефекты которых были созданы с помощью направленного мутагенеза, служат основой для создания различных экспериментальных моделей лепры. Экспериментальное моделирование лепры позволяет проводить скрининг противолепрозных препаратов, определять резистентность к этим препаратам, изучать патогенез заболевания, получать *M. leprae* и определять жизнеспособность бактерий, разработать и изучать противолепрозные вакцины.

Ключевые слова: лепра, лабораторные животные, экспериментальная модель.

Контактная информация: Karamova@cnikvi.ru. Вестник дерматологии и венерологии 2015; (6): 17—29.

Experimental models of leprosy

A.A. Kubanov¹, A.E. Karamova¹, A.A. Vorontsova¹, P.A. Kalinina²

¹ State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation Korolenko str., 3, bldg 6, Moscow, 107076, Russia

² Russian Medical Academy of Postgraduate Studies, Ministry of Health of the Russian Federation Barrikadnaya str., 2/1, Moscow, 123995, Russia

Leprosy (Hansen's disease) is a chronic granulomatous bacterial disease which mainly affects skin and peripheral nervous system. Leprosy is caused by the obligate intercellular pathogen known as *Mycobacterium leprae*.

Creating experimental models of leprosy is associated with serious problems due to biological characteristics of the pathogen. Numerous attempts to develop experimental models on different types of animals resulted in a few reproducible models on mice and nine-banded armadillos.

Strains of knockout mice with genetic defects caused by site-directed mutagenesis are used as a basis for different leprosy models. Experimental models of leprosy are used for screening of anti-leprosy drugs, detection of drug resistance, studies on the pathogenesis of leprosy, production and evaluation of viability of *M. leprae*, developing of anti-leprosy vaccines.

Key words: leprosy, laboratory animals, experimental models.

Corresponding author: Karamova@cnikvi.ru. Vestnik Dermatologii i Venerologii 2015; 6: 17—29.

■ Лепра, или болезнь Хансена, — хроническое инфекционное гранулематозное заболевание, вызываемое *Mycobacterium leprae* и характеризующееся относительно низкой контагиозностью, длительным инкубационным периодом, затяжным течением, разнообразными клиническими проявлениями, склонностью к периодическим обострениям, протекающее с преимущественным поражением кожных покровов, слизистых оболочек, периферической нервной системы [1].

Известно, что успешность борьбы с инфекционными болезнями во многом зависит от результатов экспериментальных исследований, которые способствуют углублению знаний о свойствах возбудителя и механизмах патогенеза заболевания. Успехи современной лепрологии в значительной степени связаны с достижениями экспериментального моделирования этого заболевания. Моделирование лепрозной инфекции в эксперименте позволяет изучать биологию возбудителя заболевания, важные аспекты патогенеза лепры, а также осуществлять скринирование препаратов с потенциальной противолепрозной активностью. Подходы к моделированию лепры на животных определяются необходимостью обеспечить в экспериментальных условиях максимально точное воспроизведение патологического процесса, лишенное каких-либо побочных реакций, искажающих результаты эксперимента. В области лепрологии определенные успехи получены в разработке воспроизводимых экспериментальных моделей этого заболевания на ряде лабораторных животных, однако эти модели имеют ряд недостатков. Тем не менее они активно используются в научных исследованиях, и попытки их совершенствования позволяют ускорить решение актуальных задач, поставленных перед современной лепрологией [2, 3].

Поиск экспериментальной модели лепры имеет длительную историю и ведется со времени открытия возбудителя этого заболевания 20 февраля 1873 г., когда норвежский врач G. Hansen выделил *M. leprae*. Моделирование лепры в лабораторных условиях остается актуальной задачей в связи с тем, что *M. leprae* не культивируется на искусственных питательных средах, что в значительной степени затрудняет изучение его биологических свойств [4].

Однако попытки G. Hansen воспроизвести лепру у ряда животных не увенчались успехом. R. Rees разделяет эпоху экспериментального изучения лепры на два периода: 1874—1960 гг., когда не удавалось разработать успешной модели заболевания, и период после 1960 г., когда С. Shepard предложил первый успешный метод культивирования лепры на животных [5].

Перечень видов животных, которых пытались использовать для моделирования заболевания, включает кроликов, которых впервые пытался инфицировать G. Hansen, собак, кошек, голубей, кур, канареек, по-

пугаев, угрей, лягушек, свиней, черепах, змей (в том числе гремучих змей), различных океанических рыб, крыс, мышей, бурундуков, золотых хомячков, песчанок, морских свинок, девятиполосных броненосцев, ряд приматов. Экспериментальное моделирование лепры на указанных животных проходило с различной степенью эффективности. В подавляющем большинстве случаев ожидаемые результаты не достигались, а редкие данные об успешном культивировании *M. leprae* зачастую были недоказательными, и данные опыты не могли быть воспроизведены. Не был описан серийный перенос жизнеспособных *M. leprae*. Значительная часть относительно успешных, по мнению авторов, работ объяснялась лепроминподобной реакцией в месте введения не полностью разрушенных *M. leprae* [6].

В 1960 г. С. Shepard сообщил об эффективном методе культивирования *M. leprae* в подушечках лап мыши [11]. В 1971 г. W. Kirchheimer и E. Storrs удалось показать, что при внутривенном или подкожном заражении возбудителем лепры девятипоясных броненосцев через 1,5—2 года у животных развивается генерализованный инфекционный процесс с поражением кожи и внутренних органов, напоминающий лепроматозный тип лепры у человека. Впоследствии именно мыши и броненосцы стали наиболее популярными животными для экспериментального моделирования лепры. В 1956 г. Binford выдвинул постулат о том, что селективный рост *M. leprae* возможен в анатомических участках тела с более низкой температурой, а именно в подушечках лапок мышей и в организме девятипоясных броненосцев, которые характеризуются низкой температурой тела [8].

Все животные, используемые в экспериментальных работах по культивированию *M. leprae*, могут быть разделены на три группы: грызуны, броненосцы и приматы [9].

Моделирование лепры на мышах

Даже в ранних работах по воспроизведению лепры авторы отметили различия в активности роста *M. leprae* в различных генетических линиях мышей. В течение более чем 60 лет исследователи изучали вариации восприимчивости линий лабораторных мышей, в результате чего был выявлен аутосомный ген *Vcg/Nramp1/Slc11a1*, который определяет чувствительность грызунов к *M. bovis*, *M. lepraemurium* и ряду атипичных микобактерий. В настоящее время доступно множество линий нокаутных мышей, генетические дефекты которых были созданы с помощью направленного мутагенеза (таблица) [10].

Нормальные (иммунокомпетентные) мыши

Как было показано выше, впервые размножение *M. leprae* вне организма человека продемонстрировал С. Shepard в 1960 г. С целью создания модели инфекции С. Shepard вводил несколько тысяч бацилл

Таблица

Сравнение различных генетических линий мышей в качестве моделей для культивирования *M. leprae*

Генетическая линия	Описание	Особенности течения инфекции	Особенности патоморфологической картины
Атимичные мыши	Мыши с врожденной гипоплазией тимуса	Выраженный отек в месте инъекции возбудителя, гематогенная диссеминация. Рост числа микобактерий до 10 ¹⁰ и более бацилл	Выраженные специфические изменения в тканях печени и селезенки. Крупные макрофагальные гранулемы
Мыши, которых подвергли тимэктомии и облучению	Тимэктомия и последующее ионизирующее облучение в дозе 9 Гр	Выраженная индукция в месте инъекции через 9 мес. после инокуляции	Гематогенная диссеминация в периферические участки тела с низкой температурой
Линия r40 ^{-/-}	Дефицит IL-12 и IL-23	Ускоренный рост <i>M. leprae</i>	Слабовыраженное воспаление, снижение способности контролировать рост <i>M. leprae</i> , а также уменьшение индукции подушечки лапки с измененным составом Т-клеточного инфильтрата и нарушенной продукцией цитокинов вследствие дефицита защитного фактора IL-12 и провоспалительного фактора IL-23
IL-10-нокаутные мыши	IL-10 является ингибитором продукции провоспалительных цитокинов	Животные погибают от тяжелой патологии, связанной с гиперпродукцией медиаторов воспаления	Гранулемы крупного размера, содержащие макрофаги с повышенной антимикробной активностью. Увеличение количества лимфоцитов, макрофагов и в особенности эпителиоидных клеток по сравнению с группой контроля
Линия NOS2 ^{-/-}	Дефицит индуцируемой синтазы оксида азота — недостаточность функции макрофагов	Существенных различий нет	Крупные, плотные гранулемы с четкой организацией, состоявшие преимущественно из эпителиоидных клеток и лимфоцитов. Повышение экспрессии цитокинов Th1
Линия rag1 ^{-/-}	Дефицит зрелых Т- и В-лимфоцитов вследствие дефицита ферментов, необходимых для ранних этапов дифференцировки	Демиелинизация различной степени выраженности развивается в течение 72 ч	Демиелинизация при внутривенральном введении <i>M. leprae</i>
Линии мышей TNF ^{-/-} и TNFR1 ^{-/-}	Дефицит TNF/рецептора TNF 1-го типа	Рост <i>M. leprae</i> в 10 раз выше, чем в контрольной группе. Отсроченная индукция подушечек	Повышенное количество αβ+CD4+ эффекторных Т-клеток, I–Ab+ макрофагов, CD69+ Т-клеток в инфильтрате
LTα ^{-/-}	Дефицит лимфотоксина-α	Медленная индукция подушечек по сравнению с контролем	Снижение экспрессии воспалительных цитокинов. Снижение количества лимфоцитов в очаге поражения и повышение в регионарных лимфоузлах
PARK2-нокаутные мыши	Дефицит лигазы E3 и паркина	Выраженная индукция подушечек	Состав гранулемы не имеет существенных отличий от дикого типа. Повышенная экспрессия IFN-γ, TNF, IL12p35, IL12/23p40 в очагах поражения по сравнению с контролем
Линия CGD	Дефицит NADPH-оксидазы	Скорость роста <i>M. leprae</i> не отличается от таковой у диких типов. Высокая смертность мышей после 6 мес. культивации	
Линия GKO	Дефицит IFN-γ	Конечное число <i>M. leprae</i> выше, чем у диких типов. Выраженная индукция подушечек	Формирование бесструктурных гранулем

лепры в подушечки лапок иммунокомпетентных мышей, в итоге получив в результате роста примерно 1 млн организмов. Возбудитель лепры был выделен С. Shepard из биоптатов очагов поражения или смывов из носа больных лепроматозной формой лепры. Гистологические изменения в организме животных возникают приблизительно через 3 мес. после начала культивирования и включают мелкие гранулемы, в которых обнаруживались инфицированные макрофаги и лимфоциты с кластерами кислотоустойчивых бактерий. Редко наблюдается инвазия бацилл в периневральное пространство и нервные пучки. При этом диссеминация микобактерий не развивалась ни в одном наблюдаемом случае. Таким образом, иммунокомпетентные мыши резистентны к *M. leprae* и развития полноценного заболевания у них не происходит [11].

Метод культивирования *M. leprae*, предложенный С. Shepard, позволил выделить жизнеспособные бактерии из лепрозных высыпаний, разработать новые препараты для лечения лепры, изучить фармакологическую резистентность возбудителя лепры, а также провести множество иммунологических исследований этого заболевания.

Впоследствии опыт С. Shepard был неоднократно повторен другими исследователями, в частности R. Rees и Pattyn, и метод культивирования лепры в подушечках лапок мышей стал использоваться повсеместно. На настоящий момент в качестве материала для заражения используется суспензия микобактерий, выделенная из лепром нелеченого больного лепррой или из тканей экспериментально зараженных мышей [5].

Инокуляция лепры на данной модели представляет собой подкожную инъекцию 0,03 мл раствора, содержащего от $5 \cdot 10^3$ до 10^4 кислотоустойчивых бацилл, в подушечку лапки мыши. Минимальная инфицирующая доза *M. leprae* составляет 1—10 живых бактерий. В течение 180 дней численность бацилл возрастает до 10^6 микроорганизмов в одной подушечке. Общее количество микроорганизмов остается постоянным в течение 1 года, достигая плато, после чего число жизнеспособных бацилл резко снижается.

Показано, что бациллы после забора от одного животного и повторной инъекции в подушечку лапки другого животного продолжают размножаться. Если инокулят содержал 10^4 кислотоустойчивых организмов и менее, при каждой пересадке от животного к животному наблюдалось 50—1000-кратное увеличение численности микроорганизмов.

Количество *M. leprae* после культивирования зависит от выбранной линии мышей. Так, использование генетических линий мышей BALB/c, CBA, CFW и DBA позволяет получить значительно большее число микобактерий, чем большинство других линий, например C57 BL [9].

Голые (атимичные) и другие иммунокомпромированные мыши

Вскоре после разработки классической интраплантарной модели С. Shepard ряд исследователей использовали его технику для моделирования лепры у иммунодефицитных мышей с целью создания репрезентативных моделей для лепроматозной формы лепры. В качестве иммунодефицитных мышей использовались мыши с удаленным в неонатальном периоде тимусом, а также атимичные мыши и крысы (с врожденной гипоплазией тимуса), мыши линий T900g и SCID [12—18]. Указанные модели позволили установить выраженную роль лимфоцитов, в частности Т-клеток, в патогенезе лепры. По данным D. Nagge и соавт., в подушечке лапки атимичных мышей численность *M. leprae* может достигать $1 \cdot 10^9$ и более бацилл, при этом клеточный инфильтрат состоит главным образом из инфицированных макрофагов [19].

Впервые линия атимичных мышей была использована в моделировании лепры в 1976 г. M. Colston и соавт. [13] и K. Kohsaka и соавт. [20]. Выращивание атимичных мышей является альтернативой мышам, которым была проведена тимэктомия. На модели лепры с использованием голых мышей возможно размножение микобактерий вне подушечек лапок. После инокуляции у мышей этой линии наблюдается выраженный отек в месте инъекции возбудителя, а также гематогенная диссеминация инфекции в участки тела с относительно низкой температурой. Через 18 мес. после переноса микобактерий определяются значительные специфические изменения в тканях печени и селезенки [9].

Согласно D. Scollard и соавт., на линии атимичных nu/nu мышей репродукция *M. leprae* становится практически неограниченной и достигает 10^{10} и более бацилл [21]. При этом гистологически в пораженной подушечке лапки развивалась крупная макрофагальная гранулема (лепрома), в клетках которой определялось огромное количество *M. leprae*. В некоторых случаях наблюдалась диссеминация возбудителя лепры, а при культивировании в течение долгого времени возникал рост микобактерий в подушечке другой задней лапки или в передних лапках. Таким образом, использование атимичных мышей линии nu/nu позволяет получить после культивирования в относительно рутинных условиях значительное количество *M. leprae*, характеризующихся высокой жизнеспособностью.

R. Rees и соавт. разработали модель лепры, включавшую мышей, которых подвергли тимэктомии и последующему ионизирующему излучению в дозе 9 Гр. Через 9 мес. после инокуляции *M. leprae* в подушечки лапок и уши таких животных развивается выраженный отек подушечки лапки, регистрируется гематогенное распространение бактерий в периферические участки тела с низкой температурой, а именно в подушечки

других лапок, уши, нос, хвост, где нередко развивался локальный отек [15].

Мыши, нокаутные по определенным генам

Разработка генетически модифицированных линий мышей дала возможность создания новых моделей для изучения лепры. Использование животных с дефектами определенных звеньев иммунного ответа, в частности цитокинов Th1, позволяет анализировать патогенез и клинические проявления заболевания в сравнении со скудными данными, которые получаются при моделировании лепры на иммунокомпетентных или атимичных мышах [22]. На настоящий момент нет достоверных данных об особенностях течения лепры у лиц с дефектами иммунитета, однако авторы объясняют этот пробел затяжной, часто стертой клинической картиной и относительно низкой вирулентностью *M. leprae*. Однако экспериментальное моделирование лепры на мышах, нокаутных по генам цитокинов, показало значительную роль цитокинов в иммунном ответе на *M. leprae* и позволило пролить свет на компенсаторные механизмы, происходящие в организме хозяина [21].

IL-12/IL-23-нокаутные мыши

IL-12 и IL-23 — ключевые регуляторные цитокины врожденного и приобретенного иммунитета. IL-12, секретируемый макрофагами и моноцитами на ранних стадиях инфекционного процесса, участвует в развитии иммунного ответа, опосредуемого Th1, который является одним из ключевых защитных факторов антимикробного иммунитета. IL-23 выделяется главным образом макрофагами и дендритными клетками. Однако вместо того, чтобы, подобно ряду других цитокинов, стимулировать дифференцировку наивных Th1 в IFN- γ -продуцирующие Th1, IL-23 способствует образованию альтернативной линии Т-клеток — Th17, которые секретируют провоспалительный цитокин IL-17. Th17 играют значительную роль в индукции хронического воспаления и формирования гранулем [23, 24]. IL-12 и IL-23 имеют общую субъединицу p40, поэтому у p40-/- мышей наблюдается пониженная способность к ограничению роста *M. tuberculosis* [25].

Для оценки роли IL-12 и IL-23 в патогенезе лепры L. Adams и соавт. моделировали заболевание на p40-/- мышах [26]. Был зафиксирован ускоренный рост *M. leprae* на данных моделях. Гистологическое исследование подушечек лапок показало развитие слабовыраженного воспаления, как и у классической линии мышей C57BL/6J, у которых наблюдалась слабая лимфоцитарная и гистиоцитарная инфильтрация. После введения высоких доз лепромина у мышей p40-/- индукция подушечки лапки была значительно менее выраженной, чем у мышей C57BL/6J. В обеих линиях мышей состав лейкоцитарного инфильтрата включал $\alpha\beta$ +CD4+ Т-клетки и CD11b+ макрофаги. Од-

нако экспрессия клеток CD69 и CD25 была существенно повышена в образцах от мышей p40-/. В ходе развития воспаления экспрессия факторов, необходимых для формирования гранулемы (IFN- γ , TNF, ключевых цитокинов Th1, хемокинов CXCL-10, CCL-3, CCL-4), была значительно снижена у мышей p40-/- по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты позволяют сказать о том, что по сравнению с линией мышей C57BL/6J мыши p40-/- показали снижение способности контролировать рост *M. leprae*, а также уменьшение индукции подушечки лапки с измененным составом Т-клеточного инфильтрата и нарушенной продукцией цитокинов вследствие дефицита защитного фактора IL-12 и провоспалительного фактора IL-23 [26].

IL-10-нокаутные мыши

IL-10 секретируется Т-клетками и макрофагами и является ингибитором продукции провоспалительных цитокинов. IL-10-/- нокаутные мыши, инфицированные межклеточными патогенами в экспериментальных условиях, погибают не вследствие неконтролируемого размножения микроорганизмов, а от тяжелой патологии, связанной с гиперпродукцией медиаторов воспаления. Имеются единичные данные о том, что у IL-10-/- мышей повышена резистентность к микобактериальной инфекции. У них формируются гранулемы крупного размера, содержащие макрофаги с повышенной антимикробной активностью [27]. Кроме того, поступление IL-10 извне *in vitro* увеличивает продолжительность жизни *M. leprae* в макрофагах [28].

По данным С. Cardoso и соавт., в генетических исследованиях человека выявлена аллель -819Т, локализованная на промоторном участке гена IL-10, которая ассоциирована с повышенной чувствительностью к лепре [29].

При использовании классической модели С. Shepard кинетика роста *M. leprae* на модели IL-10-/- мышей не отличалась от таковой в контрольной группе. Однако при гистологическом исследовании тканей из очагов поражения IL-10-/- мышей было выявлено увеличение количества лимфоцитов, макрофагов и в особенности эпителиоидных клеток по сравнению с группой контроля. Кроме того, IL-10-/- мыши продемонстрировали умеренное усиление индукции и числа воспалительных клеток, выделенных из подушечек лапки, при введении повышенной дозы лепромина. Таким образом, дефицит IL-10 оказывает незначительное иммуномодулирующее действие на инфекцию *M. leprae* у резистентных к этому заболеванию животных [26].

NOS2-нокаутные мыши

Одной из наиболее успешных моделей культивирования возбудителя лепры являются мыши, нокаутные по гену индуцируемой синтазы оксида азота (NOS2-/-).

Макрофаги, изолированные из данной линии мышей, не обладают способностью к продукции реактивных азотсодержащих веществ, а также не способны подавлять метаболическую активность *M. leprae in vitro*, однако они синтезируют реактивные кислородсодержащие факторы. После инокуляции *M. leprae* в подушечки лапок мышей NOS2^{-/-} отмечался более активный рост микобактерий по сравнению с контрольной группой (мыши дикого типа), однако в дальнейшем течении инфекции существенных различий выявлено не было. Гранулемы в инфицированных подушечках лапок мышей дикого типа состояли из мелких, фокальных скоплений мононуклеарных клеток, тогда как гранулемы, сформировавшиеся в тканях подушечек лапок нокаутных мышей, содержали крупные, плотные гранулемы с четкой организацией, состоявшие преимущественно из эпителиоидных клеток и лимфоцитов, которые инфильтрировали периневральное пространство и разрушали пучки мышечных волокон [30]. Помимо этого, в очагах поражения у нокаутных мышей определялось выраженное повышение экспрессии цитокинов Th1. В тканях печени были выявлены гранулемы, сходные по структуре с таковыми, наблюдаемыми в очагах лепры у человека [31], в которых регистрировались CD4⁺ Т-клетки, распределенные по всей площади очагов, окруженные CD8⁺ Т-клетками. Таким образом, выявленные черты лепрозной инфекции у мышей NOS2^{-/-} сходны с таковыми промежуточной формы лепры у человека [21].

Мыши, нокаутные по гену Rag1 (rag1^{-/-})

Гены Rag1 и 2 (recombination activating genes) кодируют ферменты, которые играют существенную роль в рекомбинации генов иммуноглобулина и молекул рецепторов Т-клеток. У мышей с дефектом в гене Rag1 наблюдается дефицит зрелых Т- и В-лимфоцитов. Мыши rag1^{-/-} обладают недоразвитыми лимфоидными органами, которые не содержат зрелых Т- и В-лимфоцитов. Мутация в гене Rag1 приводит к нарушению V. D. J-рекомбинации (соматической рекомбинации ДНК) на ранних этапах дифференцировки Т- и В-лимфоцитов. В результате нарушается формирование антигенраспознающих участков иммуноглобулинов и Т-клеточного рецептора [32, 33].

Несмотря на то что мутация rag1^{-/-} с полной потерей функции гена вызывает выраженную недостаточность иммунной системы, нервная система у таких животных остается интактной. А. Rambukkana и соавт. использовали генетическую линию мышей rag1^{-/-} для изучения процесса демиелинизации. При внутривенральном введении жизнеспособных, погибших *M. leprae* или фрагментов клеточной стенки в седалищный нерв у животных достоверно развивалась демиелинизация различной степени выраженности в течение 72 ч. Разрушение миелина наблюдалось во всех пучках пораженных нервов [34].

TNF-нокаутные мыши

TNF является важным медиатором как врожденного, так и приобретенного иммунитета, а также играет центральную роль в воспалительном ответе в патогенезе инфекций, вызываемых микобактериями. В недавнее время была обнаружена однонуклеотидная мутация TNF-308A, которая обуславливает усиление защитных свойств организма против лепры [35].

Значительная роль TNF в иммунной защите против *M. leprae* была обнаружена D. Scollard и соавт., которые описали два случая развития лепры после приема моноклональных антител к TNF α у больных ревматоидным артритом [36].

В экспериментах значение TNF в патогенезе лепры определялось на модели генетических линий мышей TNF^{-/-} и TNFR1^{-/-}. Рост численности *M. leprae* на данных моделях за период 9—12 мес. превысил рост в контрольной группе в 10 раз, что подтверждает значение TNF при острой и хронической микобактериальной инфекции. По данным гистологического исследования, у мышей TNF^{-/-} и TNFR1^{-/-} развивалась обширная и диффузная лимфоцитарная инфильтрация, преимущественно состоящая из CD4⁺ Т-клеток. У мышей обеих генетических линий наблюдалась отсроченная индукция подушечки лапки, которая достигала сходных размеров с контрольной группой в течение 28 дней после инфицирования. Проточная цитофлуориметрия показала, что лейкоцитарный инфильтрат состоял преимущественно из $\alpha\beta$ +CD4⁺ эффекторных Т-клеток и I-Ab⁺ макрофагов. Численность указанных клеток, как и количество CD69⁺ Т-клеток в инфильтрате, была повышена в подушечках лапок мышей TNF^{-/-} и TNFR1^{-/-} по сравнению с контрольной группой. Эти данные демонстрируют необходимость секреции TNF для формирования защитной реакции в виде организованной гранулемы, а также для контроля воспалительного процесса при лепре [19].

Мыши с генетическим дефектом LT α

Используя геномные методы исследования, в частности позиционное клонирование, А. Alcais и соавт. выявили полиморфизм LTA+80, локализованный на промоторном участке гена лимфотоксина- α (LT α), цитокина из суперсемейства факторов некроза опухоли, который был тесно ассоциирован с повышением заболеваемости лепрой. Данная корреляция была установлена у больных лепрой в трех различных популяциях (вьетнамцы, индийцы и бразильцы) и была особенно выраженной для тех пациентов, у которых диагностировали лепру в возрасте до 16 лет [37].

LT α играет важную роль в становлении клеточного иммунитета, индукции хронического воспаления, лимфоидном органогенезе, экспрессии цитокинов, хемокинов и молекул клеточной адгезии, активации Т-клеток и поддержании функции клеток памяти. Несмотря на то что точная роль LT α в патогенезе лепры

не выяснена, его потенциальная провоспалительная функция подтверждается обнаружением $LT\alpha$ в очагах у больных с туберкулоидной формой лепры и лепроматозной реакцией 1-го типа [26, 38, 39].

В работах D. Nagge и соавт. рост *M. leprae* в подушечках лапки мышей с потерей функции $LT\alpha$ и животных контрольной группы на ранних этапах культивирования носил сходный характер. Однако на поздних стадиях инфекции численность микобактерий у грызунов с дефицитом $LT\alpha$ значительно превышала таковую у животных контрольной группы, что говорит о более продолжительном жизнеспособном периоде *M. leprae* на данной модели. При введении животным из обеих групп высоких доз лепромина у мышей с недостаточностью $LT\alpha$ индукция подушечки лапки развивалась медленнее, чем у нормальных мышей. Проточная цитофлуориметрия показала меньшее количество лимфоцитов в инфицированной подушечке лапки у нокаутных мышей, однако подколенные лимфоузлы содержали значительно увеличенное число Т-клеток, что говорит о нарушении механизмов клеточной миграции. Кроме того, в тканях подушечек лапок нокаутных мышей определялось выраженное снижение экспрессии воспалительных цитокинов и хемокинов. Перечисленные данные подтверждают влияние $LT\alpha$ на развитие приобретенного иммунитета против *M. leprae* и его существенную роль в регуляции гранулематозного процесса на этапе хронизации заболевания на мышинной модели. Указанные механизмы могут лежать в основе зависимости вариаций в гене $LT\alpha$ и течения лепры у человека [19].

PARK2-нокаутные мыши

Методом позиционного клонирования было выявлено, что генетические варианты промоторного участка, общего для генов PARK2 и PACRG, коррелируют с чувствительностью к развитию лепры. Так, обнаружена выраженная взаимосвязь хромосомного участка 6q25 и лепры. Системный анализ указанной взаимосвязи показал, что наиболее тесная зависимость наблюдается именно на промоторе PARK2/PACRG в определенных этнических группах, в частности вьетнамцев и бразильцев [40]. PARK2 и PACRG являются частью системы клеточного убиквитинирования. Ген PARK2 кодирует лигазу E3 и паркин, кроме того, продемонстрирована его ассоциация с ранним началом болезни Паркинсона. Паркин участвует в контролируемом протеолизе, формировании клеточного антиоксидантного ответа, функции митохондрий и регуляции врожденного иммунитета. Также показаны его антиапоптотическое действие и функция стимуляции аутофагии. Таким образом, роль паркина заключается в защите от межклеточных патогенов путем стимуляции антибактериального ответа и подавления апоптоза [41, 42].

В попытках изучить роль PARK2 при развитии лепры были проведены работы по моделированию

данного заболевания у мышей, нокаутных по данному гену. Показатели роста *M. leprae* у мышей с дефицитом изучаемого гена и у животных контрольной группы в течение 12 мес. наблюдения не имели существенных различий. Однако экспрессия $IFN-\gamma$, TNF, IL12p35, IL12/23p40 в тканях подушечки лапки PARK2-нокаутных мышей возрастала по сравнению с контрольной группой начиная с 4-го месяца культивирования и сохранялась повышенной вплоть до пика численности *M. leprae*. Кроме того, у нокаутных мышей отмечалась более выраженная индукция подушечки лапки при введении высоких доз лепромина по сравнению с мышами дикого типа. В то же время метод проточной цитометрии не показал значительных различий в составе воспалительных клеток в гранулемах и регионарных лимфатических узлах. Таким образом, PARK2 оказывает незначительное влияние на восприимчивость к лепре и ее течение, и его дефицит легко компенсируется мощным иммунным ответом у мышей, компетентных по всем факторам приобретенного иммунитета, за исключением PARK2 [26].

Генетические линии мышей с дисфункцией макрофагов

Для изучения роли мононуклеарных фагоцитов при микобактериальной инфекции используются линии мышей, нокаутные по генам, определяющим антимикробную функцию макрофагов. Отдельно выделяют генетическую линию GKO, представители которой теряют способность к продукции $IFN-\gamma$ — основного активирующего фактора макрофагов.

Линия CGD характеризуется дефицитом ферментного комплекса NADPH-оксидазы цитохрома b вследствие мутации с потерей функции субъединицы gp91^{phox} и служит моделью для развития хронической гранулематозной болезни. Полиморфно-ядерные лейкоциты и макрофаги данной линии мышей не обладают способностью к продукции кислородных свободных радикалов, пероксида водорода, супероксид-аниона и гидроксильного радикала. Показано, что макрофаги, выделенные из данной линии мышей и активированные с помощью $IFN-\gamma$, подавляют рост *M. leprae in vitro*. В ходе 6 мес. наблюдения скорость размножения микобактерий в подушечках лапок мышей линии CGD не отличалась от таковой в контрольной группе, достигая плато в период 4—6 мес. после инфицирования. Тогда как количество *M. leprae* на модели диких мышей постепенно снижалось в течение 6—9-го мес., отследить дальнейшее течение инфекции в линии CGD не представлялось возможным, так как практически все животные не пережили рубеж в 6 мес. после инфицирования [43].

$IFN-\gamma$ -нокаутные мыши

Ключевая роль CD4+ и CD8+ Т-клеток заключается в выделении $IFN-\gamma$, цитокина, обладающего активностью против микобактерий и регулирующего Th17.

Для изучения роли IFN- γ в развитии лепры L. Adams и соавт. инфицировали *M. leprae* линию мышей IFN- γ -/- (GKO) и мышей контрольной группы по методу С. Shepard. Первоначально скорость роста *M. leprae* не различалась в обеих группах, однако у мышей IFN- γ -/- конечное число бактерий на порядок превышало показатель в контрольной группе. Через 9 мес. после инокуляции *M. leprae* подушечки лапок мышей IFN- γ -/- визуально были значительно увеличены в размерах, что говорит о продолжении клеточной инфильтрации и гранулематозном процессе даже после того, как количество микобактерий достигло плато. В отличие от мышей контрольной группы у грызунов линии IFN- γ -/- определялись крупные скопления мононуклеарных клеток, которые не были организованы в четкие по структуре гранулемы, а также мелкие группы лимфоцитов, что напоминало гистологическую картину пограничных лепроматозных очагов [44].

Моделирование лепры на броненосцах

Исследования на броненосцах внесли большой вклад в достижения изучения лепры. Уже более 40 лет этих животных используют в экспериментальных моделях по изучению лепры [8]. Броненосцы уникальны в том, что это единственное животное, используемое в экспериментальных моделях, у которого наблюдается естественная восприимчивость к *M. leprae*, а также схожесть клинических проявлений заболевания с клинической картиной лепры у людей [46].

Броненосцы — млекопитающие из отряда неполнозубых. Эти животные обладают рядом особенностей: пониженная температура тела (33—35 °С), долгий период жизни, большая поверхность тела — все эти особенности являются преимуществами данных животных в исследованиях заболевания лепрой [47, 48]. Есть целая разновидность этих животных, но интерес для изучения лепры представляет девятипоясный броненосец (*Dasypus novemcinctus*) [49].

Средой обитания девятипоясных броненосцев является Южная Америка и южные регионы Северной Америки. Учитывая, что броненосцы являются резервуаром для *M. leprae*, возрастает риск заболеваемости лепрой в регионах, где обитают эти животные. Причиной более 64% регистрируемых новых случаев заболевания лепры в южной части США, а также в Бразилии был контакт с броненосцами, заражение человека чаще всего происходит при охоте на этих животных, приготовлении и употреблении их мяса в пищу [50, 51].

Для исследований броненосцев отлавливают в естественной среде обитания, так как эти животные редко размножаются в неволе, что создает дополнительные сложности использования их в экспериментальных моделях.

Заражение животных чаще всего происходит путем внутривенных инъекций живых *M. leprae*. Доста-

точной дозой для развития инфекции у броненосцев является $1 \cdot 10^3$ *M. leprae*, но более быстро инфекционный процесс развивается при введении $1—4 \cdot 10^9$ бактериальных тел [52, 53]. Инфицирование также можно проводить путем внутрикожных и подкожных инъекций бактериальных тел [47, 48, 53].

Ответ броненосцев на внедрение *M. leprae*, как и у людей, может обладать полным спектром и делится на типы: лепроматозный тип ответа (проявляется у 70% особей), пограничный лепроматозный тип, пограничный туберкулоидный тип и туберкулоидный тип [26, 54]. В лабораторных исследованиях чаще всего используют броненосцев с лепроматозным типом ответа, ценность их заключается в том, что при этом типе ответа выделяется наибольшее количество *M. leprae* из ретикулоэндотелиальной ткани — $\geq 1 \cdot 10^9$ на 1 кг.

Как и люди, броненосцы демонстрируют разную степень чувствительности к *M. leprae*. Чувствительность животных к инфекции начинает проявляться на 6—12-м мес. после заражения. В этот период при осуществлении планового забора крови наблюдается появление антител к антигену *M. leprae* [55, 56], они обнаруживаются на протяжении всего заболевания, но титр их меняется в зависимости от бактериальной нагрузки в тканях [45, 54]. Устойчивость к развитию инфекции в среднем демонстрируют 15—20% экспериментальных животных. В течение 18—24 мес. после заражения можно наблюдать первые клинические проявления лепры, которые нарастают с течением времени. Инкубационный период, а также выраженность клинических проявлений зависят от дозы введенных живых *M. leprae* животному [53].

В НИИ по изучению лепры в Архангельске в период с 1979 по 1985 г. было проведено исследование, где в качестве животных для экспериментальной модели лепры были взяты 88 особей девятипоясных броненосцев, которые предварительно были проверены и прошли 3—4 мес. карантина. Этих животных заражали *M. leprae* от нелеченых больных лепроматозным типом лепры путем введения внутривенно и внутривожно бактериальных агентов в дозе $10^7—10^8$ на особь.

Первые клинические проявления в виде лепром появились у 40—60% броненосцев спустя 20—24 мес. после заражения в местах введения бактериальных агентов. В течение 4—6 мес. количество лепром увеличивалось, и местами их локализации чаще всего являлись внутренние и внешние поверхности задних лап, передние лапы, хвост, место соединения панциря с брюшной поверхностью. Отмечалось увеличение уже имеющихся лепром [57].

После заражения у броненосцев периодически осуществлялся забор крови для регистрации появления антител к антигенам *M. leprae*. Исследования

показали, что антитела в крови появлялись значительно раньше клинических проявлений заболевания и титр антител постепенно возрастал. Из 25 исследуемых особей спустя 7 мес. после заражения антитела в крови регистрировались у 7 броненосцев, через 11 мес. — у 10 особей. У животных без клинических проявлений с нарастанием титра антител *M. leprae* были обнаружены в тканях и внутренних органах при аутопсии [58].

Часть животных забивается спустя несколько месяцев после появления первых лепром для получения культуры *M. leprae*, так как с дальнейшим течением процесса количество *M. leprae*, доступных для высева, уменьшается.

При дальнейшем наблюдении за развитием экспериментальной модели лепры у броненосцев отмечалось появление реактивных состояний у 4 особей из 15 зараженных, которые были схожи с реверсивными состояниями у больных лепрой людей. Отмечалось прогрессирующее шелушение эпидермиса, на фоне шелушения развивалась острая эритема, а в течение нескольких дней в области паховых складок и передних лап образовывались ярко-красные эрозии, а также наблюдалось изъязвление крупных лепром. В отпечатках эрозий и скарификатах кожи обнаруживались *M. leprae*. Все это сопровождалось беспокойством животных, поднятием температуры тела и учащенным дыханием. Проявления реактивного состояния исчезали в течение 15 дней, лепромы уменьшались в размерах и лишь некоторые из них оставались изъязвленными [59].

Со стороны внутренних органов и тканей были выявлены лепрозные гранулемы в виде массивных тяжелей из лимфоцитов и макрофагов в селезенке, выраженные гранулематозные лепроматозные инфильтраты в межмышечных прослойках языка, а также значительное количество макрофагально-эпителиоцелочных гранул в печени [60].

В биоптатах первичных лепром у броненосцев при гистологическом и электронно-микроскопическом исследованиях картина соответствовала таковой при лепроматозном типе лепры у человека и отличалась лишь большей насыщенностью макрофагов. При изучении энзимного спектра макрофагов лепрозных поражений выявлено сходство в количественной характеристике фермента в макрофагах с результатами, полученными от нелеченых больных лепроматозным типом лепры [61].

У части зараженных броненосцев процесс протекал по туберкулоидному типу с наличием эпителиоидных и гигантских клеток в биоптатах. В зонах инфильтрации обнаруживались многочисленные лимфоидные клетки, гистиоциты, единичные полиморфноядерные нейтрофильные лейкоциты и практически отсутствовали *M. leprae*. Это позволило сделать выводы о том, что течение заболевания у девятипоясных бро-

носовцев может происходить как по лепроматозному, так и по туберкулоидному типу [60].

Одно из осложнений лепры, приводящее к инвалидизации больных лепрой людей, — повреждение чувствительных и двигательных нейронов периферической нервной системы. Это происходит за счет внедрения *M. leprae* в швановские клетки с последующим развитием воспаления и дегенеративных процессов в нервной ткани [21].

Ни одно из лабораторных животных не обладает чувствительностью нервной ткани к *M. leprae* и не развивает патоморфологическую картину реакции на внедрение *M. leprae*, схожие с больными лепрой людьми, как броненосцы.

Экспериментальные модели показали раннее инфицирование периферических нервов броненосцев, в гистологической картине наблюдалось характерное интерстициальное воспаление нервной ткани, с инфильтрацией воспалительными клетками по типу макрофагов, а также наличие *M. leprae* в переневрии и эндоневрии. Количественная оценка бактериальных агентов в зараженных участках показывает высокую контаминацию $1 \cdot 10^6$ *M. leprae* на 1 см исследуемого нервного волокна. В процесс вовлекаются как сенсорные, так и двигательные нейроны [62—65].

Долгое время трудности в проведении экспериментальных моделей на броненосцах были связаны с получением специфических реагентов для проведения молекулярно-генетических и иммунологических тестов. Но после того, как был полностью расшифрован геном, молекулярные реагенты, рекомбинантные цитокины, поликлональные и моноклональные антитела стали доступны.

Проведенные генетические исследования на броненосцах выявили специфический генотипический штамм *M. leprae* (31-2-vI), который был найден у 88% диких броненосцев, отобранных в южных регионах США. Этот штамм также был выявлен у 64% больных в южных регионах США. Также выявлено, что чувствительность к *M. leprae* имеет генетическую предрасположенность и наследуется, у потомства наблюдаются идентичный тип ответа и клиническая картина, аналогичные исследования среди больных лепрой людей дали схожие результаты [41].

Ценность броненосцев для экспериментальных моделей лепры заключается в том, что у этих животных короткий инкубационный период для развития инфекции. Они хорошо демонстрируют первые признаки заболевания, а также доклиническую стадию, особенности которых схожи с таковыми у человека. Геномные исследования позволяют наблюдать и исследовать патогенетические механизмы, протекающие на разных стадиях заболевания. С доступностью специфических реагентов стало возможно еще лучше изучить процессы иммунного ответа организма на инфекцию, вызванную *M. leprae*, которые очень схожи

с процессами, протекающими у больного лепрой человека. Так, исследуя TLR-рецепторы у больных лепрой людей, полиморфизм которых связан с развитием реакции иммунного ответа на *M. leprae* или, наоборот, устойчивостью к ней, выявили специфические локусы TLR-1, TLR-2 и TLR-4, которые участвуют в развитии иммунного ответа на *M. leprae*. Взяв белковые последовательности TLR-рецепторов человека за шаблон, были проведены исследования на TLR-рецепторах броненосцев, которые показали 80% идентичности белковой последовательности и на 89% совпадение в аминокислотном составе TLR-рецепторов человека и броненосца [66, 67]. Гистологические проявления заболевания лепры у броненосцев аналогичны таковым у человека. Из всех лабораторных животных только броненосцы демонстрируют на поздних стадиях заболевания вовлеченность периферических нервных волокон с развитием патоморфологической картины, схожей с изменениями, протекающими в нервной ткани у человека, чем представляют большую ценность для исследования этого осложнения у больных лепрой [68, 69].

Модели лепры на животных в практическом использовании

Скрининг противолепрозных препаратов

На данный момент предложено три метода для исследования фармакологических препаратов против лепры на лабораторных животных.

Первый метод подразумевает введение *M. leprae* двум группам лабораторных животных, одной из которых также в момент инокуляции микобактерий вводится препарат, а вторая группа остается контрольной. Наблюдение за группами мышей ведется до тех пор, пока количество бацилл не достигнет плато. После сравниваются гистологические характеристики и число микобактерий в каждой из групп. Тестирование данным методом проводится для всех новых противолепрозных препаратов. Однако в данном методе не учитывается бактериостатическая и бактерицидная активность препарата.

В рамках следующего, кинетического метода скринирования препаратов исследуемое вещество вводится в организм лабораторного животного через 60 дней после инфицирования. Действие препарата оценивается по времени, которое требуется для достижения плато по количеству микобактерий по сравнению с контрольной группой. Если это время одинаково в обеих группах мышей, то препарат считается неактивным в отношении *M. leprae*. Если в основной группе плато наступает на 60—70 дней позже, чем в группе контроля, то препарат обладает бактериостатическим свойством. Если же плато в группе мышей, которым ввели препарат, достигается более чем через 70 дней, то препарат считается бактерицидным.

Кроме того, тип действия фармакологического препарата оценивается с помощью «пропорционального бактерицидного метода». Лабораторным животным вводятся *M. leprae* в десятикратном разведении. С 1-го по 60-й день мышам проводится введение изучаемого препарата. Через 12 мес. после инокуляции проводится подсчет микобактерий в подушечке лапки, на основе результатов которого определяется активность препарата. Однако данный метод не позволяет увидеть разницу между неактивным препаратом и препаратом, который обладает селективным бактериостатическим действием [9].

Кроме того, интраплантарная модель позволяет определить минимальную ингибирующую концентрацию и минимальную эффективную дозу исследуемого препарата в отношении *M. leprae* [3].

Определение резистентности противолепрозных препаратов

Изучение резистентности фармакологических препаратов считается одним из наиболее важных направлений в использовании экспериментальных моделей лепры на животных. Впервые с этой целью экспериментальные модели были использованы J. Pettit и соавт. в 1964 г. для установления резистентности возбудителя лепры к препаратам из группы сульфонов [70]. В 1967 г. R. Jacobson и R. Hastings показали резистентность микобактерии к рифампицину [71]. В 1997 г. E. Cambau и соавт. сообщили о резистентности *M. leprae* к дапсону, рифампицину и офлоксацину [72]. Кроме того, экспериментальные модели лепры используются в разработке тест-систем для определения резистентности возбудителя лепры [73].

Изучение патогенеза лепры

Несмотря на значительный вклад мышиных моделей в изучение патогенеза лепры, их применение ограничено относительно короткой продолжительностью жизни этих грызунов — не более 2 лет, что делает невозможным длительное наблюдение за течением хронической инфекции. Кроме того, использование для той же цели броненосцев невозможно вследствие крайней восприимчивости этих животных к возбудителю лепры и склонности к формированию полноценных лепроматозных очагов в течение 2 лет культивирования. Тем не менее в доступной литературе имеются данные об успешном моделировании лепры на приматах: мартышках мангобей, африканских зеленых мартышках, резус-макаках. Инфекция у приматов клинически напоминает лепроматозную и промежуточные формы лепры у человека, при этом в патологический процесс вовлекаются нервы, кожа, орган зрения, с выраженным поражением нервов конечностей. Таким образом, модели лепры на приматах считаются наиболее подходящими для изучения

патогенеза заболевания вследствие возможности длительного наблюдения [9].

Получение *M. leprae*

Возбудитель лепры является относительно редким ресурсом для лабораторных исследований по причине невозможности его культивирования на искусственной среде *in vitro*. Одним из источников для выделения *M. leprae* для различных исследований является модель заболевания на броненосцах. В одном чувствительном к возбудителю броненосце возможно культивирование с получением 10^{11} — 10^{12} бацилл. *M. leprae* выделяются из тканей животного и очищаются, оставаясь в жизнеспособном состоянии, согласно протоколу, утверждённому ВОЗ в 1980 г., а далее поставляются в лаборатории в различных целях: тестирование вакцин, иммунологические, генетические и метаболические исследования.

Определение жизнеспособности *M. leprae*

Модель, предложенная С. Shepard, используется для определения жизнеспособности микобактерий. Так, с ее помощью было выявлено, что *M. leprae*

сохраняют жизнеспособность после нахождения во влажной почве в течение 46 дней [74].

Разработка и изучение противолепрозных вакцин

Нормальные мыши, вакцинированные убитыми высокой температурой *M. leprae*, показали резистентность к последующему введению инфекционных агентов [75]. Кроме того, вакцинация лабораторных мышей растворимой белковой фракцией, полученной от *M. leprae*, снижала риск последующего заражения лепрой [76].

Заключение

Таким образом, экспериментальные модели лепры позволяют решить ряд задач, включая изучение патогенеза лепры, разработку противолепрозных вакцин и препаратов. Наибольшую значимость имеют модели на мышах и броненосцах. Необходимы дальнейшие исследования по совершенствованию воспроизводимых экспериментальных моделей лепры, которые позволят улучшить диагностику и лечение лепры. ■

Литература

- Degtyarev O.V., Mesnyankina O.A., Naumov V.Z. Using Heptral® (Ademetionine) to treat hepatic affections in leprosy patients. *Vestnik dermatol venerol* 2010; 3: 57—60. [Дегтярев О.В., Меснянкина О.А., Наумов В.З. Применение гептрала (адеметионина) в терапии поражений печени у больных лепрой. *Вестник дерматол венерол* 2010; (3): 57—60.]
- Pervukhin Yu.V., Dujko D.V. Experimental leprosy: past, present and future. *Jeksp fiziol morfol i medicina* 2010; 31 (2): 144—150. [Первухин Ю.В., Дуйко Д.В. Экспериментальная лепра: прошлое, настоящее и будущее. *Эксп физиол морфол и медицина* 2010; 31 (2): 144—150.]
- Yushin M.Yu., Anokhina V.V., Ayupova A.K. i dr. A model of intraplantar inoculation of mice with *Mycobacterium Leprae* proposed by С.С. Shepard and its significance for experimental leprology. *Jeksp fiziol morfol i medicina* 2010; 2 (31): 159—163. [Юшин М.Ю., Анохина В.В., Аюпова А.К. и др. Модель интраплантарного заражения мышей *Mycobacterium leprae*, разработанная С.С. Shepard, и ее место в экспериментальной лепрологии. *Экспер физиол морфол и медицина* 2010; 2 (31): 159—163.]
- Saunderson P.R. Leprosy elimination: not as straightforward as it seemed. *Public Health Rep* 2008; 123 (2): 213—216.
- Rees R.J. A century of progress in experimental leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1973; 41 (3): 320—328.
- Johnstone P.A. The search for animal models of leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1987; 55 (3): 535—547.
- Irgens L.M. The discovery of *Mycobacterium leprae*. A medical achievement in the light of evolving scientific methods. *Am J Dermatopathol* 1984; 6 (4): 337—343.
- Kirchheimer W.F., Storrs E.E. Attempts to establish the armadillo (*Dasypus novemcinctus* Linn.) as a model for the study of leprosy. I. Report of lepromatoid leprosy in an experimentally infected armadillo. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1971; 39: 693—702.
- Faizal M. Animal models in leprosy. *South Am J Med* 2013; 1 (1).
- Schurr E., Buschman E., Malo D. Immunogenetics of mycobacterial infections: mouse-human homologies. *J Infect Dis* 1990; (161) 4: 634—639.
- Shepard C.C. The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into foot-pads of mice. *J Exp Med* 1960; 112 (3): 445—454.
- Chehl S., Ruby J., Job C.K. et al. The growth of *Mycobacterium leprae* in nude mice. *Lepr Rev* 1983; 54: 283—304.
- Colston M.J., Hilson G.R.F. Growth of *Mycobacterium leprae* and *M. marinum* in congenitally athymic (nude) mice. *Nature* 1976; 262: 399—401.
- Dawson P.J., Colston M.J., Fieldsteel A.H. Infection of the congenitally athymic rat with *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1983; 51: 336—346.
- Rees R.J. Enhanced susceptibility of thymectomized and irradiated mice to infection with *Mycobacterium leprae*. *Nature* 1966; 211: 657—658.
- Ebenezer G.J., Arumugam S., Job C.K. Dosage and site of entry influence growth and dissemination of *Mycobacterium leprae* in T900r mice. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2002; 70 (4): 245—249.
- Azouaou N., Gelber R.H., Abel K. et al. Reconstitution of *Mycobacterium leprae* immunity in severe combined immunodeficient mice using a T-cell line. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1993; 61: 398—405.
- Yogi Y., Nakamura K., Inoue T. et al. Susceptibility of severe combined immunodeficient (SCID) mice to *Mycobacterium leprae*: multiplication of the bacillus and dissemination of the infection at early stage. *Nippon Rai Gakkai Zasshi* 1991; 60: 139—145.
- Hagge D.A., Saunders B.M., Ebenezer G.J. et al. Lymphotoxin-alpha and TNF have essential but independent roles in the evolution of the granulomatous response in experimental leprosy. *Am J Pathol* 2009; 174: 1379—1389.
- Kohsaka K., Mori T., Ito T. Lepromatoid lesion developed in nude mouse inoculated with *Mycobacterium leprae*—animal transmission of leprosy. *Repura* 1976; 45 (3): 177—187.
- Scollard D.M., Adams L. B., Gillis T. P. et al. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19 (2): 338—381.
- Vosse E., Van De Hoeve M. A., Ottenhoff T.H.M. Human genetics of intracellular infectious diseases: Molecular and cellular immunity against mycobacteria and salmonellae. *Lancet Infect. Dis.* 2004; 4: 739—749.
- Khader S.A., Gopal R. IL-17 in protective immunity to intracellular pathogens. *Virulence* 2014; 1 (5): 423—427.

24. Torrado E., Cooper A.M. IL-17 and Th17 cells in tuberculosis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21 (6): 455—462.
25. Khader S.A., Pearl J.E., Sakamoto K. et al. IL-23 compensates for the absence of IL-12p70 and is essential for the IL-17 response during tuberculosis but is dispensable for protection and antigen-specific IFN- γ responses if IL-12p70 is available. *J Immunol* 2005; 175 (2): 788—795.
26. Adams L.B., Pena M.T., Sharma R. et al. Insights from animal models on the immunogenetics of leprosy: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2012; 107: 197—208.
27. Jacobs M., Brown N., Allie N. et al. Increased resistance to mycobacterial infection in the absence of interleukin-10. *Immunology* 2000; 100 (4): 494—501.
28. Fukutomi Y., Matsuoka M., Minagawa F. et al. IL-10 treatment of macrophages bolsters intracellular survival of *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2004; 72 (1): 16—26.
29. Cardoso C.C., Pereira A.C., de Sales Marques C. et al. Leprosy susceptibility: genetic variations regulate innate and adaptive immunity, and disease outcome. *Future Microbiol* 2011; (5): 533—49.
30. Adams L.B., Job C.K., Krahenbuhl J.L. Role of inducible nitric oxide synthase in resistance to *Mycobacterium leprae* in mice. *Infect Immun* 2000; 68 (9): 5462—5465.
31. Modlin R.L., Hofman F.M., Taylor C.R. et al. T lymphocyte subsets in the skin lesions of patients with leprosy. *J Am Acad Dermatol* 1983; 8 (2): 182—189.
32. Chen J., Shinkai Y., Young F. et al. Probing immune functions in RAG-deficient mice. *Curr Opin Immunol* 1994; 6 (2): 313—319.
33. Mombaerts P., Iacomini J., Johnson R.S. et al. RAG-1-deficient mice have no mature B and T lymphocytes. *Cell* 1992; 68 (5): 869—877.
34. Rambukkana A., Zanazzi G., Tapinos N. et al. Contact-dependent demyelination by *Mycobacterium leprae* in the absence of immune cells. *Science* 2002; 296: 927—931.
35. Cardoso C.C., Pereira A.C., Brito-de-Souza V.N. et al. TNF-308G>A single nucleotide polymorphism is associated with leprosy among Brazilians: a genetic epidemiology assessment, meta-analysis, and functional study. *J Infect Dis* 2011; 204 (8): 1256—1263.
36. Scollard D.M., Joyce M.P., Gillis T.P. Development of leprosy and type 1 leprosy reactions after treatment with infliximab: a report of 2 cases. *Clin Infect Dis* 2006; 43 (2): 19—22.
37. Alcais A., Alter A., Antoni G. et al. Stepwise replication identifies a low-producing lymphotoxin-alpha allele as a major risk factor for early-onset leprosy. *Nat Genet* 2007; 39 (4): 517—522.
38. Soroosh P., Doherty T.A., So T. et al. Herpesvirus entry mediator (TNFRSF14) regulates the persistence of T helper memory cell populations. *J Exp Med* 2011; 208 (4): 797—809.
39. Ware C.F. Network communications: lymphotoxins, LIGHT, and TNF. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 787—819.
40. Mira M.T., Alcais A., Nguyen V.T. et al. Susceptibility to leprosy is associated with PARK2 and PACRG. *Nature* 2004; 427: 636—640.
41. Alter A., Grant A., Abel L. et al. Leprosy as a genetic disease. *Mamm Genome* 2011; 22 (1—2): 19—31.
42. Deretic V. Autophagy in infection. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22 (2): 252—262.
43. Krahenbuhl J., Adams L.B. Exploitation of gene knockout mice models to study the pathogenesis of leprosy. *Lepr Rev* 2000; 71 Suppl. C: 170—175.
44. Adams L.B., Scollard D.M., Ray N.A. et al. The study of *Mycobacterium leprae* infection in interferon-gamma gene-disrupted mice as a model to explore the immunopathologic spectrum of leprosy. *J Infect Dis* 2002; 185 Suppl. C: S1—8.
45. Kirchheimer W.F., Storrs E.E. Attempts to establish the armadillo (*Dasyus novemcinctus* Linn.) as a model for the study of leprosy. I. Report of lepromatoid leprosy in an experimentally infected armadillo. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1971; 39: 693—702.
46. Adams J.E., Pena M.T., Gillis T.P. et al. Expression of nine-banded armadillo (*Dasyus novemcinctus*) interleukin-2 in *E. coli*. *Cytokine* 2005; 32: 219—225.
47. Kirchheimer W.F., Sanchez R.M. Quantitative aspects of leprosy in armadillos. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1976; 44: 84—87.
48. Storrs E.E., Walsh G.P., Burchfield H.P. Leprosy in the Armadillo New Model for Biomedical Research. *Sci (Wash D C)* 1974; 183 (4127): 851—852.
49. Talmage R.V., Buchanen C.D. The armadillo (*Dasyus novemcinctus*) A review of its natural history, ecology, anatomy, and reproductive physiology. The Rice Institute Pamphlet Monograph in Biology, vol. XLI Number 2. Houston: Rice Institute. 1954—135.
50. Truman R.W., Singh P., Sharma R. et al. Probable zoonotic leprosy in the southern United States. *N Engl J Med* 2011; 364: 1626—1633.
51. Clark B.M., Murray C.K., Horvath L.L. et al. Case-control study of armadillo contact and Hansen's disease. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78: 962—967.
52. Truman R.W., Krahenbuhl J.L. Viable *M. leprae* as a research reagent. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2001; 69: 1—12.
53. Truman R.W., Sanchez R.M. Armadillos: Models for leprosy. *Lab Anim* 1993; 22: 28—32.
54. Rosa P.S., Belone A.F., Silva E.A. Mitsuda reaction in armadillos *Dasyus novemcinctus* using human and armadillo derived antigens. *Hansen Int* 2005; 30: 180—184.
55. Job C.K., Kirchheimer W.F., Sanchez R.M. Variable lepromin response to *Mycobacterium leprae* in resistant armadillos. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1983; 51: 347—353.
56. Truman R.W., Shannon E.J., Hagstad H.V. et al. Evaluation of the origin of *Mycobacterium leprae* infections in the wild armadillo, *Dasyus novemcinctus*. *Am J Trop Med Hyg* 1986; 35: 588—593.
57. Jushhenko A.A. Perspektivy ispol'zovaniya bronenoscev v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh. *Jepidemiologija, klinika, diagnostika i profilaktika antropoznyh i zoonoznyh infekcij. Astrahan'*: 1982; 225—226. [Ющенко А.А. Перспективы использования броненосцев в медико-биологических исследованиях. Эпидемиология, клиника, диагностика и профилактика антропонозных и зоонозных инфекций. Астрахань: 1982; 225—226.]
58. Djachina M.N., Jushhenko A.A. Vyjavlenie cirkulirujushhih mikobakterial'nyh antitel v syvorotkah krovi bronenoscev, zarazhennyh *M. leprae*. *Jepidemiologija, klinika, diagnostika i profilaktika antropoznyh i zoonoznyh infekcij. Astrahan'*: 1982; 223—225. [Дячина М.Н., Ющенко А.А. Выявление циркулирующих микобактериальных антител в сыворотках крови броненосцев, зараженных *M. leprae*. Эпидемиология, клиника, диагностика и профилактика антропонозных и зоонозных инфекций. Астрахань: 1982; 223—225.]
59. Jushhenko A.A. Reversivnye reakcii u jeksperimental'no zarazhennyh leproy devjatipojasnyh bronenoscev. Aktual'nye voprosy leprologii. *Astrahan'*: 1984; 40—42. [Ющенко А.А. Реверсивные реакции у экспериментально зараженных лепрой девятипятиспальных броненосцев. Актуальные вопросы лепрологии. Астрахань: 1984; 40—42.]
60. Vishneveckij F.E., Jushhenko A.A. Patomorfologicheskie izmeneniya vnutrennih organov intaktny i zarazhennyh mikobakterijami leproy devjatipojasnyh bronenoscev. *Vjul jeksperim biologii i mediciny* 1981; 8: 105—109. [Вишневецкий Ф.Е., Ющенко А.А. Патоморфологические изменения внутренних органов интактных и зараженных микобактериями лепры девятипятиспальных броненосцев. Бюл эксперим биологии и медицины 1981; (8): 105—109.]
61. Vishneveckij F.E., Jushhenko A.A. Jenzimnyj spektr i ul'trastruktura leproznoho makrofaqa pri jeksperimental'noj lepre bronenoscev. *Fagocitoz i immunitet*. M: 1983; 54—55. [Вишневецкий Ф.Е., Ющенко А.А. Энзимный спектр и ультраструктура лепрозного макрофага при экспериментальной лепре броненосцев. Фагоцитоз и иммунитет. М: 1983; 54—55.]
62. Scollard D.M., Lathrop G.W., Truman R.W. Early nerve invasion in armadillos, an animal model for lepromatous neuropathy 1996; 64: 146—152.

63. Scollard D.M., Lathrop G.W., Truman R.W. Infection of distal peripheral nerves by *M. leprae* in infected armadillos; an experimental model of nerve involvement in leprosy [see comments]. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1996; 64: 146—151.
64. Scollard D.M. The armadillo leprosy model with particular reference to lepromatous neuritis. *Handbook of Animal Models of Infection*. New York: Academic Press 1999: 331—335.
65. Scollard D.M., Adams L.B., Gillis T.P., Krahenbuhl J.L., Truman R.W., Williams D.L. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 338—381.
66. Bochud P.Y., Sisimer D., Aderem A. et al. Polymorphisms in Toll-like receptor 4 are associated with protection against leprosy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28: 1055—1065.
67. Misch E.A., Berrington W.R., Vary J.C. Jr., Hawn T.R. Leprosy and the human genome. *Microbiol Mol Biol Rev* 2010; 74: 589—620.
68. Sharma R., Lahiri R., Scollard D.M. et al. The armadillo: a model for the neuropathy of leprosy and potentially other neurodegenerative diseases. *Dis Model Mech* 2013; 6: 19—24.
69. Garbino J.A., Virmond M., Almeida J.A. Nerve Conduction Study Technique in the Armadillo. *Hansen Int* 1996; 21: 10—13.
70. Pettit J.H., Rees R.J. Sulphone resistance in leprosy. An experimental and clinical study. *Lancet* (London, England) 1964; 2 (7361): 673—674.
71. Jacobson R.R., Hastings R.C. Rifampin-resistant leprosy. *Lancet* (London, England) 1976; 2: 1304—1305.
72. Cambau E., Perani E., Guillemin I. et al. Multidrug-resistance to dapsonе, rifampicin, and ofloxacin in *Mycobacterium leprae*. *Lancet* (London, England) 1997; 349 (9045): 103—104.
73. Cambau E., Chauffour-Nevejans A., Tejmar-Kolar L. et al. Detection of antibiotic resistance in leprosy using GenoType LeptraeDR, a novel ready-to-use molecular test. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6 (7): 1739.
74. Desikan K. V., Sreevatsa. Extended studies on the viability of *Mycobacterium leprae* outside the human body. *Lepr Rev* 1995; 66 (4): 287—295.
75. Shepard C.C., van Landingham R.M., Walker L.L. et al. Comparison of the immunogenicity of vaccines prepared from viable *Mycobacterium bovis* BCG, heat-killed *Mycobacterium leprae*, and a mixture of the two for normal and *M. leprae*-tolerant mice. *Infect. Immun.* 1983; 40 (3): 1096—1103.
76. Gelber R.H., Brennan P.J., Hunter S.W. et al. Effective vaccination of mice against leprosy bacilli with subunits of *Mycobacterium leprae*. *Infect Immun* 1990; 58 (3): 711—718.

 об авторах:

А.А. Кубанов — д.м.н., профессор, зам. директора по научной работе ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

А.Э. Карамова — к.м.н., зав. отделом дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

А.А. Воронцова — младший научный сотрудник отделения дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

П.А. Калинина — ординатор ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, Москва

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье