

УДК 576.893.161.13 : 599.32

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ КОЖНОГО ЛЕЙШМАНИОЗА НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

С. А. Плескановская

В работе представлен обзор литературы по моделированию кожного лейшманиоза человека (банального, диффузного, метастазирующего) на некоторых линиях мышей, морских свинок, золотистых хомяках, приматах, зараженных различными видами лейшманий. Выделены достоинства и недостатки каждой из описанных моделей.

Исследования на модели значительно облегчают работу исследователя при решении важнейших вопросов патогенеза, лечения и профилактики заболеваний самой различной этиологии. В настоящее время довольно остро стоит вопрос вакцинации против паразитарных болезней. Проблему создания вакцин против малярии, лейшманиозов и ряда других болезней паразитарной этиологии невозможно решить без моделирования их на экспериментальных животных. В этой связи мы поставили перед собой цель обобщить имеющиеся в литературе сведения об экспериментальных моделях кожного лейшманиоза — заболевания, представляющего собой актуальнейшую проблему здравоохранения Узбекистана, а также большого числа стран, расположенных в зоне жаркого климата (Сафьянова, 1979; Сопрунов, 1980).

МЫШИ

Белые беспородные мыши восприимчивы к *L. major* — возбудителю кожного лейшманиоза человека. В зависимости от вирулентности штамма возбудителя на мышках можно получить тяжело (при заражении высоковирулентными штаммами) и абортивно (при заражении слабовирулентными штаммами) протекающий лейшманиозный процесс. При внутрикожном введении $2 \cdot 10^6$ промастигот вирулентного штамма *L. major* развивается типичный кожный лейшманиоз. Через 2—3 недели формируется плотная папула (лейшманиозный бугорок), которая через 2—4 недели изъязвляется. Длительность лейшманиозной инфекции составляет 12—14 недель. Процесс завершается самопроизвольным рубцеванием язвы (Келлина, 1967; Preston, Dumonde, 1976). Нередко при заражении мышей в кожу уха развивается некроз ушной раковины с образованием характерной культи. Существенным отличием кожного лейшманиоза мышей от инфекции у человека является висцерализация, наблюдаемая в 25 % случаев при заражении высоковирулентными штаммами лейшманий. При этом развиваются периаартриты, орхиты, гепато- и спленомегалия, истощение и облысение животного. Изменения со стороны внутренних органов проявляются в виде амилоидной дистрофии печени и селезенки. Патоморфология очага поражения соответствует таковой у человека. Уже на 3-и сут на месте инокуляции лейшманий появляются макрофаги, вслед за ними гистиоциты и сегментоядерные лейкоциты. По мере развития лейшманиомы накапливаются плазмациты и лимфоциты. Лимфоцитарный вал тем более выражен, чем доброкачественнее протекает заболевание. Появление фибробластов указывает на приближающееся рубцевание язвы (Агаева и др., 1977; Каримов, 1980; Келлина, 1967).

Исследованиями последних лет показано, что чувствительность мышей к лейшманиозной инфекции у различных линий животных далеко не равно-

значна. Как выяснилось, из 25 линий мышей, исследованных различными авторами, наиболее чувствительными к лейшманиозной инфекции являются мыши BALB/c (Келлина, 1973; Leclerc e. a., 1981; Olobo e. a., 1980) и особенно BALB/c H-2^b (Mitchell e. a., 1983). При заражении мышей этой линии даже слабо вирулентным штаммом лейшманий развивается тяжелая патология, по клинико-морфологическим проявлениям сходная с висцеральным лейшманиозом (Djoko-Tampou e. a., 1981; Hill e. a., 1983). На 52-й и 95-й дни от момента заражения в отпечатках печени и селезенки животных еще можно обнаружить амастиготы лейшманий (Hill e. a., 1983). Мыши BALB/c высокочувствительны также к *L. donovani*, *L. braziliensis*, *L. mexicana* (Keiner, 1982; Perez, 1978).

Высокочувствительными к лейшманиозу являются также белые безволосые мыши. Типичные кожные проявления при заражении персистируют у них до 368 дней. Процесс в целом напоминает течение лейшманиоза у мышей BALB/c (Paskhanian, 1979).

Оппозитными по чувствительности к лейшманиозу мышам BALB/c являются мыши линии A/He, которые почти не заражаются *L. major*. Между двумя оппозиционными линиями белые беспородные мыши занимают промежуточное положение (Келлина, 1973), но они чувствительны к *L. mexicana* (Alexander, 1978). К линии A/He близки мыши CBA. На месте инокуляции обычной инфицирующей дозы *L. major* образуется инфильтрат, который очень поздно шелушится, но практически не изъязвляется. При заражении высокими дозами паразита (10^8 — 10^9) у них развивается типичный кожный лейшманиоз, завершающийся саморубцеванием в течение 3 мес. (Preston, Dumonde, 1976).

Мыши C57Bl/6 обладают удовлетворительной чувствительностью к лейшманиозной инфекции, равно как мыши P/JN и NZW/N (Haverly e. a., 1983). При заражении обычной инфицирующей дозой возбудителя развивается типичный кожный лейшманиоз, заканчивающийся саморубцеванием в течение 5—6 мес. (Келлина, 1973; Keiner, 1982). По данным Хаверли (Haverly, 1983), мыши C3H/He резистентны к *L. tropica*. Однако при заражении их *L. mexicana* развивается длительно персистирующий процесс, не имеющий тенденции к метастазированию, но по характеру клеточного инфильтрата соответствующий обычному кожному лейшманиозу (Добрянская, 1977). При заражении этим же видом возбудителя мышей C57Bl/6 развивается обычный кожный лейшманиоз (Perez, 1978).

У мышей C57Bl выделена гомозиготная по рецессивному гену бежевой окраски bg/bg группа животных с глубоким дефицитом естественных киллеров. Эти мыши генетически гомологичны людям с врожденным глубоким иммунодефицитом — синдромом Чедиака-Хигаси. Как выяснилось, бежевые мыши высоковосприимчивы как к *L. major*, так и *L. donovani* (Kirkpatrick e. a., 1982).

Таким образом, чувствительность мышей к лейшманиозной инфекции генетически детерминирована. Как было установлено, она кодируется геном Lsh, входящим в I хромосому, связанную с H-2 комплексом — главным комплексом гистосовместимости у мышей (Blackwell e. a., 1980; Bradley e. a., 1979). По всей видимости, резистентность к инфекции имеет доминантный тип наследования, так как гибриды (CBA × C57Bl/6)F₁ более устойчивы к заражению, нежели один из родителей — C57Bl/6, имеющий вполне удовлетворительную чувствительность к возбудителю кожного лейшманиоза (Howard e. a., 1980). В настоящее время допускают, что ген, контролирующий резистентность к кожному лейшманиозу, активно функционирует в одном из типов гемопоэтических клеток. В пользу чего говорят результаты исследований на радиационных химерах. Показано, что если мышей BALB/c облучить в летальной дозе, затем восстановить костным мозгом мышей C57Bl/6 или B10D2 и заразить высоковирулентным штаммом *L. major*, то у «восстановленных» мышей BALB/c не развивается бурно протекающий лейшманиозный процесс, сопровождающийся висцерализацией, что так характерно для мышей этой линии (Howard e. a., 1980).

Таким образом, экспериментальная лейшманиозная инфекция у мышей в основных чертах — по характеру клинических проявлений, патоморфологии очага поражения — весьма сходна с кожным лейшманиозом человека. Существенным недостатком модели является неоднозначность сообщений о формировании резистентности к повторному заражению. По данным одних авторов,

у мышей формируется стойкая невосприимчивость к реинфекции (Preston, Dimonde, 1976), по данным других — мыши способны до 5 раз переболеть кожным лейшманиозом (Келлина, 1967). Указанные расхождения заставляют осторожно относиться к интерпретации полученных экспериментальных данных и их экстраполяции на человека.

МОРСКИЕ СВИНКИ

В иммунологическом и клинико-морфологическом аспектах кожному лейшманиозу человека наиболее близок лейшманиоз морских свинок, на что впервые указала Глазунова (1965а, б). При внутрикожном введении промастигот *L. enriettii* — облигатного паразита морских свинок, у животных развиваются типичные поражения кожи без метастазирования. Инкубационный период составляет 2—4 недели, длительность периода клинических проявлений — от 5 до 15 недель. Процесс протекает доброкачественно и завершается саморубцеванием. В отпечатках печени и селезенки амастиготы не обнаруживаются. Переболевание кожным лейшманиозом оставляет у морских свинок стойкий иммунитет к реинфекции.

В настоящее время широкое распространение получила модель кожного лейшманиоза на морских свинках линии Hartley, зараженных в кожу уха или кончик носа путем инокуляции 10^6 промастигот *L. enriettii*. Через 2 недели после заражения на месте инокуляции формируется «бугорок», который через 2—3 недели изъязвляется. Процесс протекает от 8 до 16 недель. В 8 % случаев на 8-й неделе от момента заражения появляются метастатические очаги поражения. Метастазы проявляются в виде инфильтратов и шелушений кожи, иногда в виде облысений. Они никогда не изъязвляются и заживают вместе с первичными поражениями кожи. Лейшманиозные язвы у морских свинок достигают максимальных размеров — не более 2 см в диаметре — между 4—6-й неделями болезни. Процесс заканчивается саморубцеванием (Bruceson e. a., 1970). Устойчивость к реинфекции формируется уже на 3-й неделе от момента заражения. При метастазировании несколько позже (Poulter, 1980).

Патоморфология кожного лейшманиоза у морских свинок подробно описана в литературе (Bruceson e. a., 1970; Monroy e. a., 1980). Она весьма сходна с таковой у человека и мышей. Та же инфильтрация дермы макрофагами на ранних стадиях развития лейшманиомы, накопление в инфильтрате полинуклеаров и формирование лимфоцитарного вала. В период рубцевания появляются фибробласты и большие мононуклеары. В регионарных лимфоузлах уже с 3—4-го дня инфекции нарастает реакция со стороны герминативных центров коркового слоя, выражающаяся увеличением числа пиронинофильных клеток, значительная часть которых находится в состоянии митоза. В это же время гипертрофируется и паракортикальная область лимфоузла за счет накопления больших пиронинофильных клеток. Указанные изменения в регионарных лимфоузлах достигают максимального выражения между 4—6-й неделями болезни. Затем реакция герминативных центров ослабевает, макрофаги встречаются все реже и с 8-й недели не встречаются вовсе.

На морских свинках разработана модель диссеминированного кожного лейшманиоза. Диссеминирования достигают двумя способами — введением возбудителя непосредственно в лимфоток или внутривенным введением суспензии макрофагов, зараженных амастиготами лейшманий.

При первом способе (Kadivar, Soulsby, 1975) у морских свинок линии Hartley хирургическим путем был создан кожный клапан, открывающий доступ к лимфатическому протоку. Через этот клапан непосредственно в лимфоток вводили обычную инфицирующую дозу промастигот *L. enriettii*. В 43 % случаев у зараженных таким способом животных развивался сильно метастазирующий диссеминированный лейшманиозный процесс. В контрольной группе животных, зараженных внутрикожно, диссеминирование процесса наблюдалось лишь в 5 % случаев. В очагах метастазов дерма была сильно инфильтрирована макрофагами, буквально «нафаршированными» амастиготами лейшманий. В регионарных лимфоузлах была отмечена слабая реакция паракортикальной области и значительная инфильтрация ее макрофагами, содержащими амастиготы. В гер-

минативных центрах лимфоузлов было отмечено большое количество плазматических клеток. Со стороны внутренних органов была выявлена дистрофия печени. Однако выделить амастиготы из печени и селезенки не удалось.

При втором способе получения диссеминированного лейшманиоза (Poulter, 1980) морских свинок линии Hartley заражали как внутривожно, так и внутривенно суспензией макрофагов, зараженных *in vitro* амастиготами лейшманий. При внутривожном заражении метастазирующий кожный лейшманиоз развивался у 60 % животных. При внутривенном заражении у всех животных развивался генерализованный процесс, выражавшийся появлением многочисленных очагов облысения на различных участках тела. В зонах облысения наблюдали Т инфильтрацию и шелушение кожи, но не изъязвления. Клиника и Т патоморфология очагов поражения соответствовали описанным выше.

Таким образом, на морских свинках моделируется как банальный кожный, так и метастазирующий лейшманиоз. Недостаток модели — в отсутствие чувствительности данных животных к какому-либо возбудителю лейшманиоза человека.

ХОМЯКИ

Взаимодействие лейшманий с позвоночным хозяином успешно изучается на золотистых хомяках. Эти животные чувствительны ко всем видам лейшманий. Сафьянова и Емельянова (1978) выделяют 5 типов клиники экспериментального лейшманиоза хомяков. I тип клиники характерен для маловирулентных штаммов лейшманий, II — только для штаммов *L. tropica minor*, III тип — характерен для большинства штаммов *L. major*. Совершенно своеобразно протекает процесс при заражении штаммами *L. donovani* (IV тип) и *L. braziliensis* (V тип).

При заражении хомяков амастиготами высоковирулентного штамма *L. major* (равно как и промастиготами) уже на 5-е сут на внутренней поверхности уха животного появляются небольшие, плотные на ощупь инфильтраты, покрытые неповрежденной кожей. На 20—60-е сут (Сафьянова, Емельянова, 1978; Харитоновна, 1975) соответственно инфильтраты изъязвляются. Диаметр язв не превышает 1—2 см. Персистируют они до 240 дней. Иногда окружены дочерними инфильтратами плотными и шероховатыми. Процесс завершается саморубцеванием. Нередко можно наблюдать некроз ушной раковины; при этом у основания уха наблюдается сильная отечность.

При заражении хомяков *L. minor* первые признаки болезни в виде инфильтратов пальпируются на 15—20-й дни. Бугорок формируется только к 180-му дню и не изъязвляется. Процесс завершается рассасыванием бугорка в те же сроки, что при заражении *L. major* (Харитоновна и др., 1975; Сафьянова, Емельянова, 1978; Харитоновна и др., 1981).

При заражении хомяков *L. enriettii* формируется неизъязвляющийся бугорок, рассасывающийся в течение 10 недель. Тем не менее переболевание оставляет у животных стойкую невосприимчивость к повторному заражению (Belchu, Turk, 1976). Заражение хомяков *L. braziliensis* и *L. mexicana* приводит к развитию интенсивных поражений кожи в виде язв с характерной гистологической картиной (Wilson e. a., 1979).

В целом клиника экспериментального лейшманиоза хомяков, вызываемая разными видами лейшманий, весьма разнообразна. Тем не менее гистологическая картина поражений кожи и внутренних органов сходна и отличаются лишь по степени выраженности. Уже на 3-и сут после заражения, независимо от вида возбудителя, отмечается отечность эпидермиса и дермы, набухание соединительнотканых волокон. С 5-х сут — стаз и краевое стояние лейкоцитов в сосудах, эндотелий которых набухает. С 60-го по 240-й день развивается инфильтративно-некротический процесс. В клеточном составе инфильтрата преобладают лимфоциты. Затем появляются фибробласты и большие мононуклеарные клетки. Эпидермис восстанавливается и процесс завершается. Со стороны внутренних органов отмечается белковая дистрофия печени и селезенки, особенно выраженные с 60-го по 240-й день. Даже при отрицательных результатах паразитологического обследования места инокуляции паразита выявляются серьезные метаболические изменения в паренхиматозных органах и надпочечниках. Эти наблюдения позволили авторам сделать вывод о том, что кожный лейшманиоз

у хомяков проявляется как общее заболевание организма независимо от вида возбудителя (Харитонов и др., 1975; Харитонов и др., 1981).

Высокая чувствительность хомяков к лейшманиозной инфекции позволила с успехом использовать их для выявления циркулирующих штаммов лейшманий в эндемичных очагах. В частности, в некоторых районах Перу, эндемичных по кожному лейшманиозу, золотистых хомяков подсаживали в природные биотопы. Процент заразившихся хомяков варьировал в зависимости от сезона и был максимальным (44.7 %) в летние и осенние месяцы.

Изложенные выше факты свидетельствуют об отсутствии идеальной модели кожного лейшманиоза человека на доступных экспериментальных животных. Так соответствие клинико-морфологических проявлений сочетается с определенными трудностями в толковании вопросов иммунитета (модель на мышах, хомяках). Соответствие клинико-иммунологических проявлений сочетается с отсутствием чувствительности к возбудителю кожного лейшманиоза человека (морские свинки чувствительны только к *L. enriettii*). Все это указывает на необходимость использования одновременно нескольких моделей, взаимно дополняющих друг друга при изучении механизмов иммуно- и патогенеза кожного лейшманиоза.

Л и т е р а т у р а

- А га е в а Р. К., Д о б р ж а н с к а я Р. С., К а р и м о в Ш. М., В о л о х о в с к а я З. П. Динамика патоморфологических реакций при экспериментальном кожном лейшманиозе у белых мышей. — Мед. паразитол., 1977, № 1, с. 73—77.
- Г л а з у н о в а З. И. Экспериментальное изучение суперинфекции при лейшманиозе морских свинок. — Мед. паразитол., 1965а, № 6, с. 642—650.
- Г л а з у н о в а З. И. Аллергические реакции у морских свинок при повторном заражении *L. enriettii*. — Мед. паразитол., 1965б, № 5, с. 582—585.
- Д о б р ж а н с к а я Р. С. Влияние дозы вводимой культуры на образование антител у мышей при кожном лейшманиозе. — Мед. паразитол., 1977, № 4, с. 454—457.
- К а р и м о в Ш. М. Патоморфология кожного лейшманиоза. Ашхабад, Ылым, 1980, с. 128—133.
- К е л л и н а О. И. Изучение особенностей штаммов возбудителей лейшманиоза сельского типа в связи с усовершенствованием профилактических прививок. — Автореф. канд. дис., 1967. 16 с.
- К е л л и н а О. И. О различиях в чувствительности инбредных мышей различных линий к *L. major*. — Мед. паразитол., 1973, № 3, с. 279—286.
- С а ф ь я н о в а В. М. Природно-очаговые болезни человека. М., 1979, с. 83—87.
- С а ф ь я н о в а В. М., Е м е л ь я н о в а Л. П. К методике экспериментального лейшманиоза золотистых хомяков. — Мед. паразитол., 1978, № 2, с. 84—86.
- С о п р у н о в Ф. Ф. Основные проблемы паразитологии и задачи советских паразитологов на 1981—1985 г. — Мед. паразитол., 1980, № 2, с. 3—11.
- Х а р и т о н о в а А. М., А л и е в Э. И., С а ф ь я н о в а В. М., А в а к я н А. А. Морфологические аспекты взаимоотношений паразита и хозяина при экспериментальном кожном лейшманиозе хомяков. — Мед. паразитол., 1975, № 6, с. 682—687.
- Х а р и т о н о в а А. М., С а ф ь я н о в а В. М., А в а к я н А. А. Изменения в коже и внутренних органах хомяков, зараженных различными видами лейшманий. — Паразитология, 1981, т. 15, вып. 2, с. 3—7.
- A l e x a n d e r J., P h i l l i p s R. S. Leishmania tropica and Leishmania mexicana: cross-immunity in mice. — Exp. Parasitol., 1978, vol. 45, N 1, p. 93—100.
- B e l e h u A., T u r k J. Establishment of cutaneous Leishmania enriettii infection of hamsters. — Ibid., 1976, vol. 13, N 4, p. 1235—1241.
- B l a c k w e l l J., F r e e m a n J., B r a d l e y D. Influence of H-2 complex on acquired resistance to Leishmania donovani infection in mice. — Nature, 1980, vol. 238, N 5742, p. 72—74.
- B r a d l e y D., T a y l o r B., B l a c k w e l l J., F r e e m a n J. Regulation of Leishmania populations within the host. III. Mapping of the locus controlling susceptibility to visceral leishmania in the mouse. — Clin. exp. Immunol., 1979, vol. 37, N 1, p. 7—14.
- B r y c e s o n A., B r a y R., W o l s t e n c r o f t R., D u m o n d e D. Immunity in cutaneous leishmaniasis of the guinea-pig. — Ibid., 1970, vol. 7, N 3, p. 301—341.
- D j o k o - T a m n o u J., L e c l e r c C., M o d a b b e r F., C h e d i d L. Study of visceral invasion of BALB/c mice infected Leishmania tropica. I. Clinical specialities and alterations in cellular structure. — Ibid., 1981, vol. 46, N 3, p. 493—498.
- H a v e r l y A., P a p p a s M., H e n r y R., N a s y C. In vitro macrophage antimicrobial activities and in vivo susceptibility to Leishmania tropica infection. — In: Host Def. Intracell. Pathol. Proc. conf. Philadelphia, Pa. 10—12 J, 1981, New York, London, 1983, p. 433—439.
- H i l l J., N o r t h R., C o l l i n s F. Advantages of measuring changes in the number of viable parasites in murine models of experimental cutaneous leishmaniasis. — Infect. and Immunol., 1983, vol. 39, N 3, p. 1087—1094.

- Howard J., Hale C., Liew F. Genetically determined susceptibility to *Leishmania tropica* infection is expressed by haematopoietic donor cells in mouse radiation chimaeras. — *Nature*, 1980, vol. 288, N 5787, p. 161—162.
- Kadivar D., Soulsby E. Model for disseminated cutaneous leishmaniasis. — *Science*, Washington, 1975, vol. 190, N 19, p. 1198—1200.
- Keiner N. Host-parasite relationship in murine leishmaniasis: Pathophysiological and immunological changes. — *Infect. and Immun.*, 1982, vol. 38, N 3, p. 1223—1230.
- Kirkpatrick C., Farrell J. Leishmaniasis beige mice. — *Ibid.*, 1982, vol. 38, N 3, p. 1208—1216.
- Leclerc C., Modabber F., Deriand E., Cheddidi L. Systemic infection *Leishmania tropica* (major) in various strains of mice. — *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 1981, vol. 75, N 6, p. 851—854.
- Mitchell G., Handman E. *Leishmania major* in mice: vaccination against cutaneous leishmaniasis in mice of high genetic susceptibility. — *Austral. J. Exp. Biol. and Med. Sci.*, 1983, vol. 61, N 1, p. 11—25.
- Monroy A., Ridley D., Hearther C., Ridley M. Histological studies of the elimination of *Leishmania enriettii* from skin lesion in the guinea-pig. — *Brit. J. exp. Pathol.*, 1980, vol. 61, N 6, p. 601—610.
- Olobo J., Handman E., Curtis J., Mitchell G. Antibodies to *Leishmania tropica* promastigotes during infection in mice of various genotypes. — *Austral. J. exp. Biol. Med. Sci.*, 1980, vol. 58, N 6, p. 595—601.
- Packhania A. Experimental cutaneous leishmaniasis with *Leishmania tropica* in albino hairless mice *Mus musculus*. — *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 1979, vol. 73, N 1, p. 31—36.
- Perez H. Comparative study of american cutaneous leishmaniasis and diffuse cutaneous leishmaniasis in two strains of inbred mice. — *Infect. and Immunol.*, 1978, vol. 22, N 2, p. 301—307.
- Poulter Z. Mechanisms of immunity to leishmaniasis. II. Significance of the intramacrophage localisation of the parasite. — *Clin. exp. Immunol.*, 1980, vol. 40, N 1, p. 25—35.
- Poulter Z. Mechanisms of immunity to leishmaniasis. III. The development and decay of resistance during metastatic disease. — *Ibid.*, 1980, vol. 42, N 1, p. 211—218.
- Preston P., Dumonde D. Experimental cutaneous leishmaniasis. V. Protective immunity in subclinical and self-healing infection in the mouse. — *Ibid.*, 1976, vol. 23, N 1, p. 126—138.
- Wilson H., Diekman B., Childs G. *Leishmania braziliensis* and *Leishmania mexicana*: experimental cutaneous infection in golden hamsters. — *Exp. Parasitol.*, 1979, vol. 47, N 2, p. 270—283.

НИИ мед. паразитологии
им. Л. М. Исаева МЗ УзССР, г. Самарканд

Поступила 16 VII 1984
после доработки 3 III 1985

EXPERIMENTAL MODELS OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS ON LABORATORY ANIMALS

S. A. Pleskanovskaya

SUMMARY

A survey of literature on modelling cutaneous leishmaniasis of man (common and metastatic) on some lines of mice, guinea pigs, golden hamsters infected with different species of *Leishmania* is given. Merits and demerits of each described model are pointed out.