

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА ДЛЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

С. Б. Антонова¹, М. А. Уфимцева², О. Г. Макеев³, К. И. Николаева⁴, Е. С. Мыльникова⁵

Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

¹ ant-sveta13@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5989-1333>

² mail-m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4335-9334>

³ larim@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6819-3185>

⁴ kris-nikol@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5879-2018>

⁵ e.s.mylnikova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8620-4044>

Аннотация

Введение. Разработка новых методов и технологии лечения atopического дерматита (АтД) является актуальной медицинской задачей в связи с ростом заболеваемости, увеличением частоты развития тяжелых, непрерывно рецидивирующих форм дерматоза, устойчивых как к наружной, так и к системной терапии. Для тестирования новых методов лечения АтД необходимы соответствующие экспериментальные модели лабораторных животных. **Цель работы** – на основании данных зарубежной и отечественной литературы описать технологии создания экспериментальных моделей АтД на лабораторных животных для проведения доклинических исследований по оценке эффективности терапии АтД. **Материалы и методы.** Проведен поиск в библиографических базах данных PubMed, Scopus, Web of Science, научной электронной библиотеке ELibrary, отобрано для литературного обзора 58 источников. Ключевые слова поиска: atopический дерматит, животные модели, мышинные модели, доклинические исследования. **Результаты и обсуждение.** Для воспроизведения АтД в основном используются мышинные модели. Экспериментальные мышинные модели АтД можно разделить на три группы: мыши, у которых спонтанно развиваются поражения кожи, подобные АтД; модели с использованием трансгенных мышей, которые либо сверхэкспрессируют селективные молекулы, либо лишены их; модели, индуцированные накожной аппликацией сенсibilizаторов. Как правило, данные модели имитируют различные аспекты патофизиологии АтД человека, такие как дефекты кожного барьера, преобладание Th2, с дополнительной активацией Th1 и Th22, а в некоторых популяциях – Th17 звена иммунного ответа. **Заключение.** Из технологий создания экспериментальных моделей АтД у лабораторных животных наиболее близкими к АтД человека являются модели с генетической предрасположенностью и алерген-индуцированные модели.

Ключевые слова: atopический дерматит, животные модели, мышинные модели, доклинические исследования

Для цитирования: Антонова С.Б., Уфимцева М.А., Макеев О.Г. с соавт. Экспериментальные модели atopического дерматита для доклинических исследований. Уральский медицинский журнал. 2023;22(1): 111-119. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-1-111-119>.

@ Антонова С.Б., Уфимцева М.А., Макеев О.Г., Николаева К.И., Мыльникова Е.С., 2023

@ Antonova S.B., Ufimtseva M.A., Makeev O.G., Nikolaeva K.I., Mylnikova E.S., 2023

EXPERIMENTAL MODELS OF ATOPIC DERMATITIS FOR PRECLINICAL RESEARCHES

S. B. Antonova¹, M. A. Ufimtseva², O. G. Makeev³, K. I. Nikolaeva⁴, E. S. Mylnikova⁵

Ural state medical University, Ekaterinburg, Russia

¹ ant-sveta13@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5989-1333>

² mail-m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4335-9334>

³ larim@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6819-3185>

⁴ kris-nikol@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5879-2018>

⁵ e.s.mylnikova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8620-4044>

Abstract

Introduction. The development of new methods and technologies for the treatment of atopic dermatitis (AtD) is an urgent medical task due to the growing incidence of the disease, increasing frequency of severe, continuously relapsing forms of dermatosis resistant to both external and systemic therapy. Appropriate experimental models of laboratory animals are needed to test new methods of AtD treatment. **The purpose of the study** is to describe the technologies of creating experimental models for AtD in laboratory animals to conduct preclinical studies to evaluate the effectiveness of AtD therapy, based on foreign and domestic literature data. **Materials and methods.** A search in the bibliographic databases PubMed, Scopus, Web of Science, scientific electronic library Elibrary was conducted, 58 sources were selected for the literary review. Search keywords: atopic dermatitis, animal models, mouse models, preclinical studies. **Results and discussion.** Mouse models are mainly used to reproduce AtD. Experimental mouse models of AtD can be divided into three groups: mice that spontaneously develop skin lesions similar to AtD; models using transgenic mice that either overexpress selective molecules or lack them; models induced cutaneous application of sensitizers. Typically, these models mimic various aspects of human AtD pathophysiology, such as defects in the skin barrier, Th2 predominance, with additional activation of Th1 and Th22 and, in some populations, Th17 immune response. **Conclusion.** Of the technologies for creating experimental models of AtD in laboratory animals, those with genetic predisposition and allergen-induced models are the closest to human AtD.

Keywords: atopic dermatitis, animal models, mouse models, preclinical researches

For citation:

Antonova SB, Ufimtseva MA, Makeev OG et al. Experimental models of atopic dermatitis for preclinical researches. Ural medical journal 2023;22(1): 111-119. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-1-111-119>

ВВЕДЕНИЕ

Атопический дерматит (АтД) является одним из наиболее распространенных неинфекционных заболеваний кожи, поражая до 20 % детей и 2–8 % взрослых по всему миру, характеризуется сильно зудящими кожными высыпаниями воспалительного характера и сухостью кожи [1, 2, 3]. АтД оказывает значительное влияние на качество жизни пациентов и членов их семей, влечет за собой ряд негативных социально-экономических проблем [4].

В ряде стран отмечают неуклонный рост регистрации АтД в течение последних трех десятилетий, при этом увеличивается частота развития тяжелых, непрерывно рецидивирующих форм заболевания, устойчивых как к наружной, так и к системной терапии [5].

Терапия АтД направлена на уменьшение воспаления и продление ремиссии заболевания. Первой «ступенью» терапии АтД являются смягчающие средства (эмолиенты), в период обострения АтД в качестве следующей «ступени» используются топические глюкокортикостероиды и ингибиторы кальциневрина. При тяжелом течении заболевания применяются препараты, обладающие системным иммуносупрессивным или цитостатическим действием [1, 6]. Препараты для местной и

системной терапии АтД, применяемые в клинической практике, не всегда эффективны и имеют ряд побочных эффектов, что обуславливает необходимость разработки более безопасных и эффективных препаратов для лечения [7, 8].

Разработка лекарственных средств включает поиск новых фармакологически активных веществ, изучение их свойств, проведение доклинических исследований, разработку технологий производства фармацевтических субстанций, разработку составов и технологий производства лекарственных препаратов (Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ, ред. 26.03.2022, «Об обращении лекарственных средств»).

В целом разработка лекарств затруднена из-за невозможности провести доклинические исследования in vivo в клинических испытаниях на людях, что требует проведения биомоделирования. Доклинические исследования in vivo на лабораторных животных необходимы для глубокого понимания вопросов патогенеза и возможности сопоставления экспериментальной модели с клиническими проявлениями у человека [9].

Цель работы – на основании данных зарубежной и отечественной литературы изучить технологии создания экспериментальных моделей АтД на лабораторных животных для проведения до-

клинических исследований по оценке эффективности терапии АтД.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен поиск в библиографических базах данных PubMed, Scopus, Web of Science, научной электронной библиотеке Elibrary источников, опубликованных в период с 1997 по 2022 г., для литературного обзора отобрано 58 источников. Ключевые слова поиска: атопический дерматит, животные модели, мышинные модели, доклинические исследования. MESH: atopic dermatitis, animal models, mouse models, preclinical studies.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности патогенеза атопического дерматита

У пациентов с АтД нарушается целостность кожного барьера из-за сниженной экспрессии эпидермального структурного белка и нарушения регуляции состава и структуры липидов, что приводит к нарушению защитной функции кожного барьера. В свою очередь, нарушение кожного барьера может быть вызвано генетическими мутациями, у пациентов с АтД экспрессия эпидермальных белков филаггрина и лорикрина обычно снижена как в неповрежденной коже, так и в очагах поражения [10, 11]. Нарушение функции кожного барьера способствует повышенному проникновению антигенов в кожу, что приводит к активации местных иммунных реакций и увеличению трансэпидермальной потери воды через кожный барьер, что способствует ксерозу.

Иммунная дисфункция является еще одним ключевым звеном патогенеза АтД и обуславливает измененную воспалительную реакцию в пораженной коже. При АтД развитие воспалительной реакции в коже происходит с участием Т-лимфоцитов. В острую фазу заболевания преобладает иммунный Th2-ответ, в результате стимуляции Т-хелперов (Th) 2-го типа происходит гиперпродукция иммуноглобулинов Е (IgE), в хронической фазе заболевания происходит переключение с Th2- на Th1-иммунный ответ [7, 11].

Кроме того, клинически здоровая кожа пациентов с АтД обычно характеризуется более высоким количеством резидентных клеток иммунной системы по сравнению со здоровым контролем, особенно клеток иммунного ответа Th2 и Th22, которые быстро секретируют провоспалительные цитокины при местной стимуляции [7, 11]. Антигены, проникающие через кожу, стимулируют клеточное взаимодействие между иммунными клетками кожи и кератиноцитами, дополнительно стимулируя воспалительные реакции, усиливая нарушение кожного барьера и стимуляцию нейрогенного зуда, вызывающего расчесывание и тем самым механическое повреждение кожного барьера. Таким образом, хроническое рецидивирующее течение АтД обусловлено порочным кругом зуд-расчесывание, воспалением кожи и взаимно усиливающих друг друга процессов, способствующих нарушению барьерной функции кожи [11].

Рабочая группа Harmonizing Outcomes Measures for Eczema (HOME) определила такие признаки,

как эксфолиация, эритема, отек/образование папул и лихенификация, минимальными клиническими симптомами, которые следует оценивать в доклинических испытаниях на моделях АтД [12]. Эритема и отек/образование папул характерны для острых стадий заболевания, в то время как эксфолиация и лихенификация наблюдаются при хроническом процессе [7].

Общие принципы доклинических исследований

При фармакологических исследованиях для оценки активности, фармакокинетики, фармакодинамики лекарственных средств-кандидатов in vivo достаточно модели животных, однако для оценки эффективности прогнозирования дозы препарата-кандидата для человека, выбранные модели должны обладать как можно большим количеством признаков заболевания человека. Обширные знания патофизиологии АтД человека необходимы для оценки особенностей, которые имитируются в существующих моделях АтД на животных. Кроме того, существуют различия в строении кожи и иммунитете у животных и человека [13, 14]. Толщина и состав кожи различаются у разных видов и полов, эпидермис человека значительно толще, чем у мышей и собак, в том числе из-за отсутствия защитного волосного покрова. Следует учитывать, что иммунный ответ мышей C57BL/6, преимущественно Th1 типа, тогда как иммунный ответ мышей BALB/c преобладанием Th2 типа [15, 16].

Кроме мышей, существуют другие виды животных, например, собаки и морские свинки, у которых можно воспроизвести АтД, однако в основном используются мышинные модели из-за простоты манипуляций, низкой стоимости и, что наиболее важно, доступности генетически модифицированных штаммов [17]. В настоящее время мыши являются самыми востребованными объектами для доклинических исследований. Необходимость однородных экспериментальных объектов потребовала выведения линейных мышей. Существует не только аутбредные и инбредные, но также трансгенные и нокаутные линии. Название линий лабораторных животных, как правило, состоит из обозначений мутантных генов (DBA-dba, HRS, GLF), символов масти и индивидуального номера (C57BL) или сокращенного обозначения места выведения (NZB- и NZW-новозеландские черные и белые) [18].

Аутбредные линии лабораторных животных получают посредством скрещивания неродственных организмов, в том числе и принадлежащих к разным линиям/породам и даже видам. Основным следствием аутбридинга является сокрытие рецессивных признаков за счет перехода их в гетерозиготное состояние. Использование аутбредных линий в доклинических исследованиях позволяет унифицировать полученные данные, так как для эксперимента используется одна и та же линия мышей [18, 19].

Однако аутбредные линии не подходят для всех экспериментов, в ряде опытов необходима генетическая однородность. Для получения гомозиготных и генетически однородных лабораторных животных применяется инбридинг – близкородственное скрещивание. Генетическая однородность обеспечивает получение полноценных

воспроизводимых результатов. Каждая инбредная линия – это сочетание генетического материала с определенным фенотипом. Особенности фенотипа позволяют вывести «модели» заболеваний. Для многих моделируемых заболеваний выведена своя линия мышей, такая спецификация необходима для доклинических исследований в зависимости от задач эксперимента [18, 20].

Трансгенным лабораторным животным вводится сегмент чужой ДНК вставку инфекционным агентом – ретровирусным вектором или микроинъекцией в пронуклеус. Нокаутные формы получают с помощью микроинъекции генетически измененных эмбриональных стволовых клеток в бластоцисту хозяина, у нокаутных мышей заблокирована экспрессия одного или нескольких генов. Трансгенные и нокаутные формы используют для фундаментальных исследований молекулярных основ экспрессии генов млекопитающих и их развития, а также для создания модельных систем, позволяющих изучать болезни человека [18, 21].

Экспериментальные мышинные модели АДД можно разделить на три группы: мыши, у которых спонтанно развиваются поражения кожи, подобные АДД; модели с использованием трансгенных мышей, которые либо сверхэкспрессируют селективные молекулы, либо лишены их; модели, индуцированные кожной аппликацией сенсibilизаторов.

Спонтанный atopический дерматит у животных

Модель со спонтанно возникающим дерматитом у инбредной линии мышей NC/Nga была разработана Н. Matsuda как экспериментальная модель АДД человека в 1997 г. [22]. У мышей NC/Nga при содержании в условиях обычного вивария развиваются зудящие поражения кожи (не требуется SPF вивария (specific pathogen free) – международный стандарт условий содержания лабораторных животных, свободный от специфических патогенов), при патогистологическом исследовании изменения кожи сходны с таковыми у человека с АДД, также наблюдается повышенный уровень Ig-E в крови. Несмотря на то, что спонтанные нарушения инбредных мышей имитируют естественное течение АДД у человека, не так просто точно определить лежащий в основе генетический дефект. Высыпания, подобные АДД, также спонтанно возникают у так называемых «мышей с шелушащимся хвостом» (Flaky Tail mice). Мыши Flaky Tail имеют мутацию как в гене *filaggrin* (*flg*), так и в генах *matted* (*ma*), причем последний отвечает за естественное развитие поражений кожи в виде ихтиоза, АДД-подобных высыпаний и воспаления кожи с вовлечением Th-17 [23, 24]. Ярко выраженный Th-2 иммунный ответ наблюдается у мышей NC/Nga и у мышей с шелушащимся хвостом. Однако у мышей NC/Nga, в отличие от мышей с шелушащимся хвостом, происходит модуляция иммунного ответа как при АДД, что позволяет рассматривать мышей данной линии в качестве хорошей модели АДД. Следует также отметить, что модификаторы генетического фона могут либо ослаблять, либо усугублять фенотипы, что следует учитывать исследователям при планировании эксперимента [25].

Генетически модифицированные модели

Модели трансгенных и нокаутных (КО) мышей необходимы для выяснения биологической функции определенного белка, а также для моделирования заболеваний человека, вызванных специфическими мутациями. У трансгенных мышей (KIL-4(CByB6), KIL-4(SKH1), KIL-13, KIL-18, IL-31, KIL-33, ApoC1 KCASP1, CTSS, SCCE, Stat6CVT, KTSPLP) экспрессия трансгена находится под контролем промотора базальных кератиноцитов (K5 или K14), который обеспечивает конститутивную специфичную для эпидермиса экспрессию. Все вышеперечисленные модели проявляют различную степень лейкоцитоза в дерме, который состоит из Т-клеток, макрофагов, эозинофилов или нейтрофилов, а также наблюдается увеличенное количество тучных клеток дермы [17].

Нокаутные модели с «нулевым» филлагрином (Flg(-/-)) были созданы как в штаммах C57BL/6, так и в BALB/c. У новорожденных мышей Flg(-/-) наблюдается сухая чешуйчатая кожа. Полный дефицит филлагрина приводит к нарушению целостности эпидермального барьера и усилению сенсibilизации, которые являются важными факторами ранней фазы atopического дерматита. Мыши Flg (-/-) используются для изучения триггеров, которые приводят к неконтролируемому воспалению у пациентов с atopическими заболеваниями [26].

Условные модели, такие как Notch1/Notch2, индуцируемые тамоксифеном, и трансгенные модели IL-13 и TSLP были созданы, чтобы изучить иммунные механизмы, запускающие начало заболевания [27]. Одним из недостатков этих моделей является дополнительная изменчивость агента, индуцирующего экспрессию трансгена, что может привести либо к недостаточной экспрессии белка, или к развитию токсических побочных эффектов [28]. Кроме того, индуцирующий агент потенциально может влиять на фенотип заболевания и эффективность любого тестируемого соединения, например, тетрациклины могут оказывать нейтропротекторное действие, ингибируют протеазы и являются хорошо известными антибиотиками, которые могут влиять на поверхностную микробиоту. Наконец, пенетрантность фенотипа заболевания также может варьироваться в этих моделях, кроме того, создание этих моделей требует много времени, и поэтому их коммерческая доступность ограничена [29].

Гаптен-индуцированные модели АДД

Гаптены представляют собой небольшие молекулы, которые легко проникают в эпидермис и могут вызывать иммунный ответ при связывании с тканевыми белками, тем самым приводя к развитию atopического контактного дерматита (АКД). В отличие от людей, у которых АКД можно индуцировать слабыми гаптенами, у мышей необходимо использовать сильные сенсibilизаторы, такие как оксазон (OXA), динитрофторбензол (DNFB), тринитрохлорбензол (TNCB), изотиониянат флуоресцеина (FITC). Из-за своего небольшого размера гаптены легче проникают в здоровую неповрежденную кожу, чем белковые аллергены, индуцированные иммунные ответы, как правило,

воспроизводимы и предсказуемы, а финансовые затраты на создание гаптен-индуцированного АКД у мышей обычно невелики [30, 31].

У линии мышей C57BL/6 динитрохлорбензол (DNCB), тринитрохлорбензол (TNCB) и оксазолон ОХА первоначально индуцируют иммунный ответ по Th1 пути, в то время как толуолдиизоцианат (TDI) имеет высокую экспрессию IL-4; у линии мышей BALB/c труднее дифференцировать иммунные ответы Т-хелперов, индуцированные одними и теми же агентами. Модели острого гаптен-индуцированного дерматита используются для исследований АКД, модели, основанные на повторяющихся аппликациях гаптенов, приводящие к изменениям кожного барьера и Th2 иммунному ответу пути применяют для моделирования АтД [17, 32].

В большинстве гаптен-индуцированных моделей наблюдается нарушение кожного барьера, повышенное количество тучных клеток в дерме и инфильтрирующих Т-клеток по сравнению с нормальной кожей. Подмножества Т-клеток в FITC-индуцированных поражениях кожи представляют собой преимущественно CD4⁺ клетки у линии мышей BALB/c и CD8⁺ клетки у линии мышей NC/Nga. Данное наблюдение подчеркивает, что иммунный ответ у гаптен-индуцированных моделей АтД зависит от выбранных штаммов мышей. Это явление также было описано исследователями в оксазолон-индуцированных моделях хронического воспаления, в которых у безволосых мышей наблюдается Th2 зависимый иммунный ответ, по сравнению с линией мышей BALB/c, где преобладает Th1-опосредованное воспаление [33, 34].

В большинстве гаптен-индуцированных моделей АтД эффективно местное и/или системное лечение глюкокортикоидами. Ингибиторы янус-киназы и фосфодиэстеразы (JAK и PDE4) были протестированы на модели острого воспаления TDI-индуцированной модели [35]. В ОХА-индуцированной модели у мышей линии BALB/c антагонист H1 рецептора неседативного действия фексофенадин не обладал противозудным действием так же, как и при АтД у человека, аналогичная ситуация наблюдалась при лечении хлорфенамином безволосых мышей в TNCB-модели АтД [36–38]. В последнее десятилетие исследователи Восточной Азии, включая Китай, Корею и Тайвань также на мышинных гаптен-индуцированных моделях изучают эффективность лекарственных трав как для местного, так и для перорального применения [39].

Таким образом, несмотря на то, что модели повторной сенсibilизации гаптеном не являются генетически обусловленными, ввиду своей воспроизводимости, предсказуемости, низкой стоимости и относительной быстроты данные модели могут использоваться для изучения механизмов патогенеза и для оценки эффективности исследуемых лекарственных средств.

Модель, индуцированная витамином D и аналогами витамина D

В 2006 г. исследователь M. Li с соавторами продемонстрировал, что местное применение витамина D3 или его синтетических аналогов (MC903) в мышинных моделях вызывает воспаление, подобное АтД [40, 41]. Повторное местное применение

MC903 у мышей линии BALB/c индуцирует высокие уровни TSLP и инфильтрацию кожи интерлейкинами (IL) второй группы (IL-5 + и IL-13 +), тем самым имитирует иммунные нарушения, наблюдаемые при поражениях кожи у людей с АтД [42, 43]. Воспаление кожи, вызванное MC903, происходит с вовлечением тимусного стромального лимфопоэтина (TSLP) у линии мышей C57BL/6, но не зависит от TSLP у линии мышей BALB/c, подтверждая тот факт, что разный генетический фон может влиять на цитокиновый каскад, вызывающий воспалительные реакции в коже разных линий мышей. Тем не менее MC903 не индуцирует экспрессию TSLP ни в здоровой коже человека, ни в коже без поражений АтД, поэтому большинство исследователей модель, индуцированную витамином D и аналогами витамина D, относят к воспалительной модели, более подходящей для разработки экспериментальных моделей псориаза или других иммуновоспалительных заболеваний кожи [44].

Аллерген-индуцированные и смешанные модели

Большинство аллерген-индуцированных животных моделей атопического дерматита человека включают сенсibilизацию мышей к клещам домашней пыли (HDM) или овальбумину (OVA). Известно 48 аллергенов клещей домашней пыли и 10 аллергенов яичного белка, коммерчески доступные экстракты аллергенов клещей домашней пыли и овальбумина различаются по составу и концентрации аллергенов, поэтому объяснимы различия при сравнении результатов исследований *in vivo* [45, 46]. Накожное нанесение экстрактов аллергенов на неповрежденную кожу не вызывает легкой сенсibilизации и инициации развития поражения у мышей линии BALB/c или C57BL/6. Повторное нанесение экстрактов аллергенов клещей домашней пыли на поврежденный кожный барьер легко вызывает дерматит, в то время как для поражений кожи, вызванных овальбумином, требуется дополнительная окклюзия [47, 48].

Как мыши линии NC/Nga, так и мыши линии Flaky Tail обнаруживают спонтанную несостоятельность кожного барьера, что облегчает их сенсibilизацию и индукцию поражений путем накожного применения аллергенов клещей домашней пыли без предварительного нарушения барьера [49, 50]. У линии этих мышей поражения кожи характеризуются клеточной инфильтрацией лимфоцитами и большим количеством тучных клеток дермы. В дерме линии мышей NC/Nga также обнаруживаются многочисленные эозинофилы, в то время как дерма мышей Flaky Tail богата нейтрофилами. У мышей NC/Nga лечение такролимусом снижало как показатели тяжести, так и уровни белков хемокинов TARC/CCL17 в коже [49, 50]. Высокая межиндивидуальная вариабельность в оценках тяжести поражения может быть уменьшена путем применения ПАВ додецилсульфата натрия (SDS) или легкого снятия пластыря. В модели NC/Nga SDS+HDM было сообщено об увеличении количества интраэпидермальных нервных волокон, что является характеристикой поражений кожи при атопическом дерматите человека [51, 52].

В отличие от экстракта клещей домашней пыли, овальбумин не индуцирует гиперплазию эпидермиса у мышей линии NC/Nga, вероятно из-за менее сложного строения аллергенов, не содержащих протеаз [53]. В эксперименте с аппликацией овальбумина с использованием пластыря у линии мышей BALB/c наблюдается повышенное количество тучных клеток дермы, эозинофилов и дендритных клеток [53]. После трех периодов применения пластыря воспаление кожи и уровень IL-4 обычно уменьшаются [17]. Таким образом, овальбумин-индуцированная модель с использованием пластыря нецелесообразна для доклинических исследований местных препаратов, так как окклюзия, вероятно, усиливает эпидермального проникновение тестируемых препаратов. Однако эта модель может быть использована для тестирования эффективности пероральных и инъекционных соединений [54].

Совместное введение аллергенов клещей домашней пыли и стафилококкового энтеротоксина В (SEB) увеличивает тяжесть дерматита у мышей линии NC/Nga и вызывает легкие поражения у мышей линии BALB/c. В этой модели SEB функционирует не только как суперантиген, но и как аллерген, индуцирующий выработку специфического IgE, как это наблюдается при АД человека [55].

D.A. Ewald с соавт. сравнили транскриптомный профиль нескольких мышинных моделей АД с профилем АД человека. Модели с наибольшим общим сходством с профилем АД человека представляют аллергические модели с применением инъекций IL-23, за которыми следовали HDM-индуцированные модели линии мышей NC/Nga, оксазолон-индуцированные модели хронического воспаления и овальбумин-индуцированные модели. Несмотря на то, что модель с применением инъекций IL-23 демонстрировала наибольшее общее сходство с АД человека на транскриптомном уровне, экспрессия биомаркеров лечения TARC/CCL17 и MAD/CCL22 в этой модели не увеличивалась. Кроме того, модель с применением инъекций IL-23 имела наибольшее сходство с псориазом человека, у этой модели более чем в два раза больше дифференциально экспрессируемых генов, чем у любой из других моделей, т. е. может использоваться в исследованиях как модель широкого воспаления кожи. Помимо воспалительного аспекта, в данной модели наблюдается некоторое подавление генов, участвующих в функции эпидермального барьера, не обнаруживающееся в других моделях. Тем не менее, если рассмотреть клинические и гистологические характеристики всех этих моделей, у HDM-индуцированных моделей у мышей линии NC/Nga и оксазолон-индуцированных моделей хронического воспаления наблюдается большинство основных признаков АД человека. К ним относятся: эпидермальная гиперплазия, повышенная транс-

пидермальная потеря воды со сниженным содержанием воды в роговом слое, характеризующие нарушенную функцию эпидермиса [34].

Поражения кожи острого воспаления в HDM-индуцированных моделях реагируют на профилактическое лечение местными или пероральными глюкокортикоидами. Примеры использования этих моделей для доклинических испытаний как местных, так и пероральных препаратов, таких как антагонист CCR4 и антагонистов гистаминовых рецепторов H(1) или H(4), были опубликованы зарубежными исследователями [56, 57].

Тщательное сравнение подробных транскриптомных данных, например как в исследовании, проведенном D.A. Ewald et al., позволяет определить, какие биомаркеры лечения, выявленные в исследованиях на людях, также можно использовать в различных моделях животных [34]. Учитывая гетерогенность АД у человека, необходим выбор наиболее оптимальных экспериментальных моделей для доклинических исследований эффективности лекарственных препаратов, а также для прогнозирования дозы в лечении человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные исследования по технологии создания экспериментальных моделей АД у лабораторных животных можно использовать при биомоделировании в зависимости от поставленных целей и задач. Модели со спонтанно возникающим дерматитом не требуют содержания в SPF вивария и могут быть применимы для изучения иммунного ответа при АД. Модель, индуцированная витамином D и аналогами витамина D, подходит для разработки экспериментальных моделей псориаза или других иммуновоспалительных заболеваний кожи. Генетически модифицированные модели можно использовать для изучения иммунных механизмов и триггеров, запускающих начало АД. Аллерген-индуцированные животные модели требуют нанесения различных аллергенов на кожу, в ряде случаев требуется повреждение кожного барьера, их применение целесообразно для моделирования воспаления в коже. Смешанные модели, воссоздаваемые на линиях мышей со спонтанно возникающим дерматитом, с индукцией аллергенами не требуют предварительного нарушения барьера и подходят для тестирования системных лекарственных форм. Таким образом, наиболее близкими к АД человека являются модели с генетической предрасположенностью, аллергические модели с применением инъекций IL-23 и аллерген-индуцированные (HDM, OVA) модели. На наш взгляд, планирование эксперимента, выбор модели для конкретной цели исследования приведет к лучшей предсказуемости и применимости результатов к клиническим исследованиям у пациентов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Wollenberg A, Szepietowski J, Taieb A, Ring J. Corrigendum: Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: part I. J Eur Acad Dermatol Venereol 2019;33(7):1436. <https://doi.org/10.1111/jdv.15719>.
2. Werfel T, Heratizadeh A, Aberer W et al. S2k guideline on diagnosis and treatment of atopic dermatitis – short version. J Dtsch Dermatol Ges 2016;14(1):92–106. <https://doi.org/10.1111/ddg.12871>.
3. Drucker AM, Wang AR, Li W-Q et al. The burden of atopic dermatitis: Summary of a report for the National Eczema

- Association. *J Invest Dermatol* 2017;137(1):26–30. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.07.012>.
4. Ali F, Vyas J, Finlay AY. Counting the burden: atopic dermatitis and health-related quality of life. *Acta Derm Venereol* 2020;100(12):adv00161. <https://doi.org/10.2340/00015555-3511>.
5. Намазова-Баранова Л.С., Баранов А.А., Кубанова А.А. с соавт. Атопический дерматит у детей: современные клинические рекомендации по диагностике и терапии. *Вопросы современной педиатрии* 2016;15(3):279–294. <https://doi.org/10.15690/vsp.v15i3.1566>. Namazova-Baranova LS, Baranov AA, Kubanova AA et al. Atopic Dermatitis in Children: Current Clinical Guidelines for Diagnosis and Therapy. *Current Pediatrics* 2016;15(3):279–294 (In Russ.). <https://doi.org/10.15690/vsp.v15i3.1566>.
6. Reda AM, Elgendi A, Ebraheem AI et al. A practical algorithm for topical treatment of atopic dermatitis in the Middle East emphasizing the importance of sensitive skin areas. *J Dermatolog Treat* 2019;30(4):366–373. <https://doi.org/10.1080/09546634.2018.1524823>.
7. Weidinger S, Novak N. Atopic dermatitis. *Lancet* 2016;387(10023):1109–1122. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00149-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00149-X).
8. Bieber T. Atopic dermatitis: an expanding therapeutic pipeline for a complex disease. *Nat Rev Drug Discov* 2022;21(1):21–40. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00266-6>.
9. Henderson VC, Kimmelman J, Fergusson D et al. Threats to validity in the design and conduct of preclinical efficacy studies: a systematic review of guidelines for in vivo animal. *PLoS Med* 2013;10(7):e1001489. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001489>.
10. Suárez-Fariñas M, Tintle SJ, Shemer A et al. Nonlesional atopic dermatitis skin is characterized by broad terminal differentiation defects and variable immune abnormalities. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(4):954–964.e1–4. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.12.1124>.
11. Moosbrugger-Martinz V, Leprince C, Méchin MC et al. Revisiting the roles of filaggrin in atopic dermatitis. *Int J Mol Sci* 2022;23(10):5318. <https://doi.org/10.3390/ijms23105318>.
12. Chalmers J, Deckert J, Schmitt J. Reaching clinically relevant outcome measures for new pharmacotherapy and immunotherapy of atopic eczema. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2015;15(3):227–233. <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000158>.
13. Mestas J, Hughes CC. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J Immunol* 2004;172(5):2731–2738. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.5.2731>.
14. Pasparakis M, Haase I, Nestle FO. Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2014;14(5):289–301. <https://doi.org/10.1038/nri3646>.
15. Sellers RS, Clifford CB, Treuting PM, Brayton C. Immunological variation between inbred laboratory mouse strains: points to consider in phenotyping genetically immunomodified mice. *Vet Pathol* 2012;49(1):32–43. <https://doi.org/10.1177/0300985811429314>.
16. Jung EC, Maibach HI. Animal models for percutaneous absorption. *J Appl Toxicol* 2015;35(1):1–10. <https://doi.org/10.1002/jat.3004>.
17. Jin H, He R, Oyoshi M, Geha RS. Animal models of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2009;129(1):31–40. <https://doi.org/10.1038/jid.2008.106>.
18. Гайдай Е.А., Гайдай Д.С. Генетическое разнообразие экспериментальных мышей и крыс: история возникновения, способы получения и контроля. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2019;4:78–85. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-04-09>.
- Gajdaj EA, Gajdaj DS. Genetic variety of laboratory mice and rats: history of occurrence, methods of obtaining and control. *Laboratory Animals for Science* 2019;478–85 (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-04-09>.
19. Каркищенко Н.Н., Грачев С.В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. М.: Профиль, 2010. С. 88–90.
- Karkishchenko NN, Grachev SV. Manual on laboratory animals and alternative models in biomedical technologies. Moscow: Profil, 2010. P. 88–90. (In Russ.).
20. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования. М.: Изд-во ВПК, 2005. С. 193–197.
- Karkishchenko NN. Fundamentals of Biomodeling. Moscow: Publishing house of the Military-industrial complex, 2005. P. 193–197.
21. Abbott A. Geneticists prepare for deluge of mutant mice. *Nature* 2004;432(7017):541. <https://doi.org/10.1038/432541a>.
22. Matsuda H, Watanabe N, Geba GP et al. Development of atopic dermatitis-like skin lesion with IgE hyperproduction in NC/Nga mice. *Int Immunol* 1997;9(3):461–466. <https://doi.org/10.1093/intimm/9.3.461>.
23. Oyoshi MK, Murphy GF, Geha RS. Filaggrin-deficient mice exhibit TH17-dominated skin inflammation and permissiveness to epicutaneous sensitization with protein antigen. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(3):485–493. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.05.042>.
24. Sasaki T, Shiohama A, Kubo A et al. A homozygous nonsense mutation in the gene for Tmem79, a component for the lamellar granule secretory system, produces spontaneous eczema in an experimental model of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(5):1111–1120. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.08.027>.
25. Kim D, Kobayashi T, Nagao K. Research Techniques Made Simple: Mouse Models of Atopic Dermatitis. *J Invest Dermatol* 2019;139(5):984–990. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.02.014>.
26. Kawasaki H, Nagao K, Kubo A et al. Altered stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses in filaggrin-null mice. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129(6):1538–1546. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.01.068>.
27. Zheng T, Oh MH, Oh SY. Transgenic expression of interleukin-13 in the skin induces a pruritic dermatitis and skin remodeling. *J Invest Dermatol* 2009;129(3):742–751. <https://doi.org/10.1038/jid.2008.295>.
28. Günschmann C, Chiticariu E, Garg B. Transgenic mouse technology in skin biology: inducible gene knockout in mice. *J Invest Dermatol* 2014;134(7):1–4. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.213>.
29. Tellkamp F, Benhadou F, Bremer J et al. Transgenic mouse technology in skin biology: generation of knockin mice. *J Invest Dermatol* 2014;134(12):1–3. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.434>.
30. Peiser M, Tralau T, Heidler J et al. Allergic contact dermatitis: epidemiology, molecular mechanisms, in vitro methods and regulatory aspects. Current knowledge assembled at an international workshop at BfR, Germany. *Cell Mol Life Sci* 2012;69(5):763–781. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0846-8>.
31. Kabashima K. New concept of the pathogenesis of atopic dermatitis: interplay among the barrier, allergy, and pruritus as a trinity. *J Dermatol Sci* 2013;70(1):3–11. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2013.02.001>.

32. Honda T, Egawa G, Grabbe S, Kabashima K. Update of immune events in the murine contact hypersensitivity model: toward the understanding of allergic contact dermatitis. *J Invest Dermatol* 2013;133(2):303–315. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.284>.
33. Zheng H, Jeong Y, Song J, Ji GE. Oral administration of ginsenoside Rh1 inhibits the development of atopic dermatitis-like skin lesions induced by oxazolone in hairless mice. *Int Immunopharmacol* 2011;11(4):511–518. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.12.022>.
34. Ewald DA, Noda S, Oliva M et al. Major differences between human atopic dermatitis and murine models, as determined by using global transcriptomic profiling. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139(2):562–571. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.08.029>.
35. Fukuyama T, Ehling S, Cook E, Bäumer W. Topically administered janus-kinase inhibitors tofacitinib and oclacitinib display impressive antipruritic and anti-inflammatory responses in a model of allergic dermatitis. *J Pharmacol Exp Ther* 2015;354(3):394–405. <https://doi.org/10.1124/jpet.115.223784>.
36. Ueda Y, Inoue T, Rahman MA et al. A new chronic itch model accompanied by skin lesions in hairless mice. *Int Immunopharmacol* 2006;6(10):1609–1615. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2006.06.002>.
37. Tsukumo Y, Harada D, Manabe H. Pharmacological characterization of itch-associated response induced by repeated application of oxazolone in mice. *J Pharmacol Sci* 2010;113(3):255–262. <https://doi.org/10.1254/jphs.10050fp>.
38. Darsow U, Wollenberg A, Simon D et al. ETFAD/EADV eczema task force 2009 position paper on diagnosis and treatment of atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010;24(3):317–328. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2009.03415.x>.
39. Mohd Kasim VNK, Noble SM, Liew KY et al. Management of atopic dermatitis via oral and topical administration of herbs in murine model: a systematic review. *Front Pharmacol* 2022;13:785782. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.785782>.
40. Li M, Hener P, Zhang Z et al. Induction of thymic stromal lymphopoietin expression in keratinocytes is necessary for generating an atopic dermatitis upon application of the active vitamin D3 analogue MC903 on mouse skin. *J Invest Dermatol* 2009;129(2):498–502. <https://doi.org/10.1038/jid.2008.232>.
41. Li M, Hener P, Zhang Z et al. Topical vitamin D3 and low-calcemic analogs induce thymic stromal lymphopoietin in mouse keratinocytes and trigger an atopic dermatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(31):11736–11741. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604575103>.
42. Kim BS, Siracusa MC, Saenz SA et al. TSLP elicits IL-33-independent innate lymphoid cell responses to promote skin inflammation. *Sci Transl Med* 2013;5(170):170ra16. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005374>.
43. Liu XJ, Mu ZL, Zhao Y, Zhang JZ. Topical tetracycline improves MC903-induced atopic dermatitis in mice through inhibition of inflammatory cytokines and thymic stromal lymphopoietin expression. *Chin Med J (Engl)* 2016;129(12):1483–1490. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.183427>.
44. Martel BC, Lovato P, Bäumer W, Olivry T. Translational animal models of atopic dermatitis for preclinical studies. *Yale J Biol Med* 2017;90(3):389–402.
45. Everberg H, Brostedt P, Oman H et al. Affinity purification of egg-white allergens for improved component-resolved diagnostics. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;154(1):33–41. <https://doi.org/10.1159/000319206>.
46. Casset A, Mari A, Purohit A et al. Varying allergen composition and content affects the in vivo allergenic activity of commercial dermatophagoides pteronyssinus extracts. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;159(3):253–262. <https://doi.org/10.1159/000337654>.
47. Jin M, Choi JK, Choi YA et al. 1,2,4,5-Tetramethoxybenzene suppresses house dust mite-induced allergic inflammation in BALB/c mice. *Int Arch Allergy Immunol* 2016;170(1):35–45. <https://doi.org/10.1159/000446510>.
48. Shimura S, Takai T, Iida H et al. Epicutaneous allergic sensitization by cooperation between allergen protease activity and mechanical skin barrier damage in mice. *J Invest Dermatol* 2016;136(7):1408–1417. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.02.810>.
49. Oshio T, Sasaki Y, Funakoshi-Tago M et al. Dermatophagoides farinae extract induces severe atopic dermatitis in NC/Nga mice, which is effectively suppressed by the administration of tacrolimus ointment. *Int Immunopharmacol* 2009;9(4):403–411. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.12.013>.
50. Moniaga CS, Egawa G, Kawasaki H et al. Flaky tail mouse denotes human atopic dermatitis in the steady state and by topical application with Dermatophagoides pteronyssinus extract. *Am J Pathol* 2010;176(5):2385–2393. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090957>.
51. Matsuoka H, Maki N, Yoshida S. A mouse model of the atopic eczema/dermatitis syndrome by repeated application of a crude extract of house-dust mite Dermatophagoides farina. *Allergy* 2003;58(2):139–145. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2003.23790.x>.
52. Yamada Y, Ueda Y, Nakamura A et al. Biphasic increase in scratching behaviour induced by topical application of Dermatophagoides farinae extract in NC/Nga mice. *Exp Dermatol* 2016;25(8):611–617. <https://doi.org/10.1111/exd.12999>.
53. Wang G, Savinko T, Wolff H et al. Repeated epicutaneous exposures to ovalbumin progressively induce atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *Clin Exp Allergy* 2007;37(1):151–161. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2006.02621.x>.
54. Cross SE, Roberts MS. The effect of occlusion on epidermal penetration of parabens from a commercial allergy test ointment, acetone and ethanol vehicles / S.E. Cross. *J Invest Dermatol* 2000;115(5):914–918. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2000.00151.x>.
55. Kawakami Y, Yumoto K, Kawakami T. An improved mouse model of atopic dermatitis and suppression of skin lesions by an inhibitor of Tec family kinases. *Allergol Int* 2007;56(4):403–409. <https://doi.org/10.2332/allergolint.0-07-486>.
56. Bäumer W, Stahl J, Sander K et al. Lack of preventing effect of systemically and topically administered histamine H(1) or H(4) receptor antagonists in a dog model of acute atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 2011;20(7):577–581. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2011.01268.x>.
57. Murray C, Ahrens K, Devalaraja M et al. use of a canine model of atopic dermatitis to investigate the efficacy of a CCR4 antagonist in allergen-induced skin inflammation in a randomized study. *J Invest Dermatol* 2016;136(3):665–671. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2015.11.001>.

Сведения об авторах:

Светлана Борисовна Антонова – кандидат медицинских наук;	Svetlana B. Antonova – Ph.D. in medicine;
Марина Анатольевна Уфимцева – доктор медицинских наук, профессор;	Marina A. Ufimtseva – Doctor of Science (Medicine), Professor;
Олег Германович Макеев – доктор медицинских наук, профессор;	Oleg G. Makeev – Doctor of Science (Medicine), Professor;
Кристина Игоревна Николаева – кандидат медицинских наук;	Kristina I. Nikolaeva – Ph.D. in medicine;
Екатерина Сергеевна Мыльникова – ассистент кафедры	Ekaterina S. Mylnikova – Department assistant

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests. The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания Минздрава РФ 2021-2023 гг, регистрационный номер 121032400217-9 от 24.03.2021.

Funding source. The study was performed within the state task of the Ministry of Health of the Russian Federation 2021-2023, registration number 121032400217-9 dated March 24, 2021.

Этическая экспертиза не применима.

Ethics approval is not applicable.

Информированное согласие не требуется.

Informed consent is not required.

Статья поступила в редакцию 27.09.2022; одобрена после рецензирования 28.11.2022; принята к публикации 06.02.2023.

The article was submitted 27.09.2022; approved after reviewing 28.11.2022; accepted for publication 06.02.2023.