

*На правах рукописи*

**Калитин  
Александр Владимирович**

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ  
ТОКСОПЛАЗМОЗА В ГРУППАХ ВЫСОКОГО РИСКА**

14.00.30 – эпидемиология  
14.00.36 – аллергология и иммунология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Омск – 2007

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, профессор  
Долгих Татьяна Ивановна

**Официальные оппоненты:** доктор медицинских наук  
Ястребов Владимир Константинович  
Омский НИИ природно-очаговых инфекций

доктор медицинских наук, профессор  
Теплова Светлана Николаевна  
Челябинская государственная медицинская академия

**Ведущая организация:** ГУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи РАМН», г. Москва

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2007 г. в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.065.03. при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 644099 г. Омск, ул. Ленина,12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2007 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук, доцент

Р.Н. Готвальд

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** В последнее десятилетие оппортунистические инфекции приобрели характер серьёзной медико-социальной проблемы вследствие их широкого распространения и крайне неблагоприятного влияния на уровень здоровья и воспроизводства населения. (С.В. Прозоровский, 1998; Г.Б. Безнощенко с соавт., 2002; Т.И. Долгих, 2003; И.В. Макаров, 2004; Е.И. Архипова, 2006; Д.Б. Гончаров, 2006). Они являются маркерами иммунологического неблагополучия у иммунокомпрометированных лиц и могут служить дополнительной причиной их смерти (J.P. Dubey, 1989; O. Djurkovic-Djakovic, 1998; С.В. Гладкова с соавт., 2000; Н.И. Пенкина с соавт., 2000; Е.М. Андреев, 2002; Ю.В. Лобзин с соавт., 2004; Д.Б. Гончаров, 2006). Важное место в данной группе инфекций занимает токсоплазмоз, интерес к проблеме которого обусловлен широким распространением этого паразитоза среди населения и важной ролью в формировании патологии в различных возрастных группах (Т.И. Долгих, 2000, 2002, 2005; Н.П. Омельченко, 2000; Ю.В. Редькин, 2005; М.Н. Кутарева, 2006).

В настоящее время токсоплазмоз составляет 50–70% всех паразитозов у пациентов со СПИД (Д.Б. Гончаров, 2006), а в структуре оппортунистических заболеваний у больных ВИЧ-инфекцией в России церебральный токсоплазмоз, как результат реактивации латентной инфекции, занимает третье место (28,5%) после цитомегаловирусной инфекции (35,7%) и туберкулёза (32,1%) (Т.Н. Ермак, 1999; В.В. Покровский, 2003).

Кроме того, на фоне роста иммунодефицитных состояний всё чаще у лиц, инфицированных *T. gondii*, отмечается наличие микст-инфекции, которая потенцирует клеточную иммунологическую недостаточность, является её индикатором и характеризуется полиорганными поражениями (Г.Б. Безнощенко с соавт., 2002). Изменение клинической картины токсоплазмоза на фоне микст-инфекции затрудняет раннюю своевременную диагностику и лечение, что ухудшает исход заболевания. Несмотря на значительную долю микст-инфекций в патологии человека, характер иммунной дисфункции при токсоплазмозе, ассоциированным с инфекциями, вызываемыми другими внутриклеточными патогенами, изучен недостаточно. Между тем, выявление этих особенностей позволит оптимизировать лечебно-диагностический процесс у данной категории лиц, а также проводить мониторинг этих инфекций в группах высокого риска.

Трудности диагностики токсоплазмоза ввиду полиморфизма его клинических проявлений и преобладания латентных и субклинических форм выдвигают результаты лабораторных исследований на первый план при постановке клинического и эпидемиологического диагноза, обуславливают совершенствование методологических подходов и методического обеспечения для дифференциальной диагностики между инаппарантным токсоплазмозом и носительством (А.В. Чебуркин, 2000; Э.А. Кузнецова с соавт., 2001; О.А. Землянский, 2004; Ю.В. Лобзин с соавт., 2001, 2004; Т.П. Пашанина соавт., 2005; Д.Б. Гончаров, 2006).

Целесообразность данных исследований мотивировалась запросами здравоохранения с целью оптимизации диагностики, лечения и профилактики токсоплазмоза.

**Цель исследования:** совершенствование системы эпидемиологического надзора за токсоплазмозом на основе изучения эпидемиологических и иммунологических особенностей его течения в отдельных группах высокого риска.

**Задачи исследования:**

1. Дать эпидемиологическую характеристику токсоплазмоза в Омской области на основе комплексного анализа распространенности данной инвазии среди населения Омской области за 15 лет (1992-2006 гг.).
2. Изучить распространенность токсоплазмоза у детей, в том числе с вторичным иммунодефицитом на фоне туберкулезной инфекции, в закрытых коллективах.
3. Дать сероэпидемиологическую характеристику токсоплазмоза у ВИЧ-инфицированных лиц.
4. Изучить в сравнительном аспекте факторы неспецифической резистентности, состояние цитокиновой системы и гуморального звена иммунитета в группах высокого риска по развитию токсоплазмоза.
5. Оптимизировать диагностику и клинико-эпидемиологический мониторинг токсоплазмоза с использованием современных лабораторных методов в группах высокого риска заболевания.

**Научная новизна.** Получены новые знания по эпидемиологии токсоплазмоза: представлена эпидемиологическая характеристика токсоплазмоза в Омской области за последние 15 лет и предложена система эпидемиологического надзора за данной патологией в группах высокого риска. Впервые изучена частота параллельного инфицирования детей *T. gondii*, *M. tuberculosis* и Epstein-Barr virus, находящиеся длительное время в закрытых коллективах, и установлена важная роль *T. gondii* и Epstein-Barr virus в формировании иммунной дисфункции. Установлены иммунологические особенности течения токсоплазмоза при моно- и микст-инфекции на основе изучения цитокиновой системы, отдельных факторов неспецифической защиты и гуморального звена иммунитета. Определены диагностические и прогностические критерии активности инфекционного процесса при моно- и микст-инфекции.

**Практическая значимость.** Обоснована целесообразность комплексного подхода к диагностике токсоплазмоза у детей, инфицированных *M. tuberculosis*. Показано, что для верификации диагноза токсоплазмоза и определения его активности у ВИЧ-инфицированных лиц и пациентов с туберкулезной инфекцией целесообразно определять специфический IgA. Предложенный алгоритм лабораторной диагностики и оценки иммунорезистентности на основе определения IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-4, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , лактоферрина, общих IgA, M, G и C<sub>3</sub>-, C<sub>4</sub>-компонентов комплемента позволил улучшить диагностику заболевания и создал базу для широкого внедрения в здравоохранение клинико-иммунологического и эпидемиологического мониторинга токсоплазмоза в

группах высокого риска. Разработаны предложения по совершенствованию информационной базы системы эпидемиологического надзора за токсоплазмозом.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. В Омской области за последние 15 лет (за период 1992-2006 гг.) отмечается рост токсоплазмоза среди детского и взрослого населения.
2. Дети, инфицированные *M. tuberculosis*, являются группой высокого риска по формированию сопутствующей патологии за счет развития токсоплазмоза и инфекции, вызываемой вирусом Эпштейна-Барр. Диагностика и мониторинг токсоплазмоза у ВИЧ-инфицированных лиц требует совершенствования методологических подходов. У лиц, инфицированных *T. gondii*, характер и выраженность иммунных нарушений определяются стадией инфекционного процесса. У детей на фоне туберкулёзной инфекции установлена дисфункция иммунной системы, наиболее выраженная в случае активного течения токсоплазмоза и ВЭБ-инфекции.
3. Оценка состояния цитокиновой системы, гуморального звена иммунной системы и лактоферрина в комплексной диагностике позволяют определять активность инфекционного процесса.
4. Эпидемиологический и клинико-иммунологический мониторинг токсоплазмоза позволяет оптимизировать лечебно-диагностический процесс, усовершенствовать и эффективно реализовать систему эпидемиологического надзора за данным паразитозом в группах высокого риска.

**Апробация работы и публикации.** Основные положения диссертации доложены: на научно-практической конференции, посвященной 40-летию ЦНИЛ Омской государственной медицинской академии «Молекулярно-биологические исследования в теоретической и практической медицине» (Омск, 2004); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2004; 2005); заседании научного общества паразитологов г. Москвы (Москва, 2006).

Диссертационная работа апробирована на совместном заседании проблемной комиссии «Гигиена, экология, эпидемиология, общественное здоровье и здравоохранение» и кафедр гигиены, эпидемиологии, медицинской экологии, общественного здоровья и организации здравоохранения и Центральной научно-исследовательской лаборатории Омской государственной медицинской академии 20 июня 2007 г. По теме диссертации опубликовано 7 научных работ на русском языке, в том числе в реферируемых ВАК журналах - 2.

**Внедрение результатов исследования.** Результаты исследования внедрены в работу Государственного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 1 им. Д.М. Далматова», Омского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями и Академического центра лабораторной диагностики Омской государственной медицинской академии, а также используются в учебном процессе на кафедрах эпидемиологии, инфекционных болезней и детских инфекций ГОУ ВПО

Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию «Омская государственная медицинская академия».

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы, описывающей материалы и методы исследований, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Имеется 1 приложение. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 22 рисунками. Библиографический указатель включает 205 источников информации, из них 132 отечественных и 73 зарубежных.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Дизайн исследования представлен на рис. 1.

В работе представлены результаты эпидемиологического мониторинга токсоплазмоза в Омской области за период 1992-2006 гг., проведён ретроспективный и оперативный анализ данных. Для установления эпидемиологических особенностей у лиц с высоким риском заболевания токсоплазмозом выполнены диагностические исследования в отдельных группах населения, в которые были включены:

1. Дети в возрасте 7-16 лет (средний возраст  $11,2 \pm 2,4$  лет) с малыми формами туберкулёза из Санаторно-лесной школы с. Красноярка Омской области (далее – СЛШ);
2. Дети в возрасте 3-16 лет (средний возраст  $9,9 \pm 4,7$  лет) с легочным туберкулёзом из Специализированной детской туберкулёзной клинической больницы г. Омска (далее – СДТКБ);
3. Дети в возрасте 7-16 лет (средний возраст  $10,6 \pm 2,9$  лет) из Детского дома № 5 г. Омска (далее – ДД).
4. ВИЧ-инфицированные в возрасте от 1 года до 50 лет (средний возраст  $27,7 \pm 8,2$  лет) из Омского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (далее - ОЦПБС);
5. Взрослые в возрасте от 18 до 55 лет (средний возраст  $27,5 \pm 7,3$  лет) с токсоплазмозом из Городской клинической инфекционной больницы № 1 им. Д.М. Далматова г. Омска (далее - ГКИБ);

Основным исследуемым материалом служила сыворотки крови, которая тестировались на наличие антител классов IgM, IgA, IgG к *T. gondii* с определением индекса авидности IgG с помощью тест-систем производства фирмы «Euroimmun AG» (Германия) на автоматическом ИФА-анализаторе «Elisys Quattro» фирмы «Human» (Германия). Для изучения частоты микст-инфицирования вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ) у детей из первых трёх закрытых коллективов методом ИФА выявляли IgM и IgG к ВЭБ на тест-системах ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Всего было обследовано при проведении скрининговых и диагностических исследований 31885 человек (табл. 1).

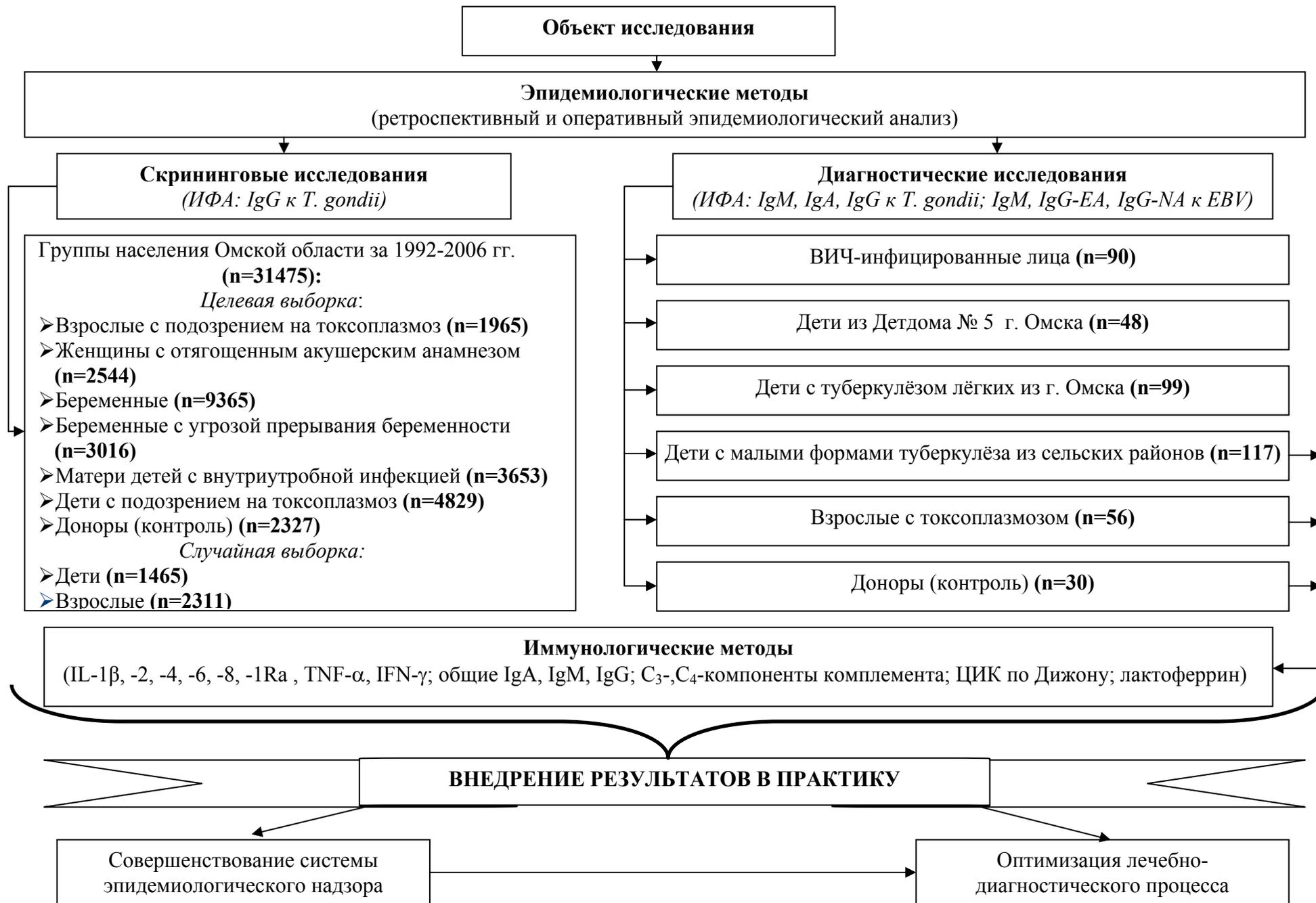


Рис. 1. Дизайн исследования

Для изучения иммунологических особенностей течения токсоплазмоза проведено когортное рандомизированное исследование по типу «случай-контроль» у 56 пациентов из ГКИБ и 27 детей из СЛШ.

Таблица 1

Объём сероэпидемиологических исследований

Группа	Обследовано на наличие антител к <i>T. gondii</i> , чел.
Дети с малыми формами туберкулёза	117 *
Дети, больные легочным туберкулёзом	99 *
Дети из Детдома № 5 г. Омска	48 *
ВИЧ-инфицированные лица	90
Взрослые, больные токсоплазмозом	56
Отдельные группы населения Омской области	31475
Всего	31885

Примечание: \* - дополнительно обследованы на наличие антител к вирусу Эпштейна-Барр.

Для оценки гуморального звена иммунитета определяли содержание общих IgA, IgM, IgG и C<sub>3</sub>-, C<sub>4</sub>-компонентов комплемента методом турбидиметрии на автоматическом анализаторе белков «Turbox Plus» фирмы «Orion Diagnostica» (Финляндия) и ЦИК по Дижону. Оценку функционального состояния иммунных клеток проводили методом ИФА по определению сывороточных концентраций IL (интерлейкинов)-1 $\beta$ , -2, -4, -6, -8, -1Ra; TNF- $\alpha$  (фактора некроза опухоли- $\alpha$ ); IFN- $\gamma$  (интерферона- $\gamma$ ) на тест-системах производства ООО «Протеиновый контур» и «Цитокин» (Россия). Для оценки состояния неспецифических факторов защиты в ИФА определяли концентрацию белка острой фазы – лактоферрина на тест-системах ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). При оценке состояния системы иммунитета иммунологические показатели сравнивались с показателями контрольной группы, которую составили 30 доноров в возрасте от 18 до 50 лет (средний возраст 26,5 $\pm$ 5,4 лет).

Лабораторные исследования были выполнены в 2004-2007 годах в Центральной научно–исследовательской лаборатории Омской государственной медицинской академии. Кровь от ВИЧ-инфицированных лиц была исследована в иммунологической лаборатории ОЦПБС (зав. лабораторией - к.м.н. О.И. Назарова). Используемые в научно-исследовательской работе лабораторные исследования по серодиагностике токсоплазмоза и определению иммунологических показателей у детей из ДД, СЛШ, СДТКБ и пациентов ГИКБ были выполнены автором лично.

Математическая обработка полученных результатов (среднее арифметическое, стандартное отклонение, стандартная ошибка) проводилась с помощью методов описательной статистики, входящих в состав MS Office 2003. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ Statistica 6.0. Ретроспективный анализ распространенности токсоплазмоза в целевой и случайной выборках проведён с применением t-критерия Стьюдента. С учетом небольшого объема выборок в диагностических группах для их сравнения использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни (С. Гланц, 1998). Критический уровень значимости статистических гипотез принимался равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Ретроспективный анализ распространенности токсоплазмоза в Омской области за 1992-2006 годы

Отправной точкой наших исследований по распространённости токсоплазмоза среди жителей Омской области явился 1992 год, когда при проведении скрининга образцов крови различных групп населения методом ИФА в 14,4% случаев установлена серопозитивность к *T. gondii*, что было расценено как «стартовый» уровень для дальнейшего эпидемиологического надзора за данной инвазией (Т.И. Долгих, 2000).

Результаты ретроспективного анализа распространенности токсоплазмоза по Омской области свидетельствуют об увеличении частоты выявления антител к *T. gondii* в общей популяции жителей Омской области за последние 15 лет (1992-2006 гг.) с 14,4% до 33,2% (рис. 2).

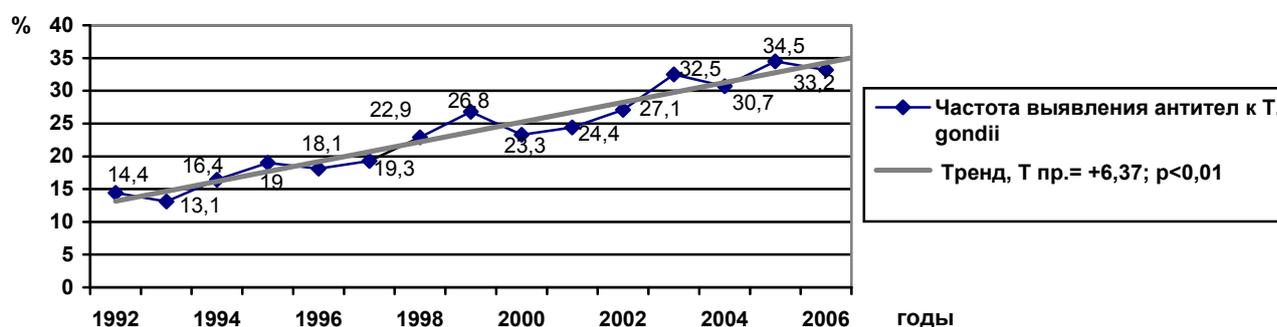


Рис. 2. Динамика частоты выявления антител к *T. gondii* в общей популяции жителей Омской области за 1992-2006 годы (в %).

Для мониторинга данной инвазии была проведена сравнительная оценка состояния иммунореактивности к *T. gondii* в различных группах населения за три пятилетних периода: 1992-1996 гг. (I период наблюдения), 1997-2001 гг. (II период наблюдения) и 2002-2006 гг. (III период наблюдения) (табл. 2).

Эпидемиологические исследования распространенности во времени свидетельствуют о росте серопозитивности к токсоплазмам в 2,0 раза ( $t$ ;  $p < 0,001$ ) по сравнению с I периодом наблюдения, которая в настоящее время составляет  $31,6 \pm 0,56\%$ . При этом в I периоде наблюдения у женщин антитела к *T. gondii* выявлялись в 1,4 раза чаще, чем у мужчин, а в III – в 1,7 раза чаще ( $t$ ;  $p < 0,01$ ). Если в I периоде наблюдения у жителей сельской местности серопозитивность была выше в 1,4 раза, чем в городе, то в настоящее время отмечается рост показателя в 2,5 раза ( $t$ ;  $p < 0,001$ ) по сравнению с городскими жителями. Среди доноров на III этапе наблюдения антитела стали регистрироваться в 1,8 раза чаще ( $t$ ;  $p < 0,001$ ) по сравнению с I этапом исследований. При целевой выборке количество серопозитивных лиц регистрировалось в 1,7-1,8 раза чаще ( $t$ ;  $p < 0,001$ ), чем при случайной выборке.

Особый интерес представляет рост серопозитивности среди детского населения по сравнению с I периодом наблюдения - в 2,0 раза ( $t$ ;  $p < 0,01$ ) во II периоде и в 2,3 раза ( $t$ ;  $p < 0,001$ ) – за последние 5 лет. При целевой выборке у группы детей с подозрением на токсоплазмоз (VI) этот показатель в 3,9 раза ( $t$ ;  $p < 0,001$ ) был выше, чем в группе сравнения в I периоде и в 3,4 раза ( $t$ ;  $p < 0,001$ ) – в III периоде наблюдения.

Таблица 2

Частота выявления антител класса IgG к *T. gondii* методом ИФА в различных группах населения Омской области при случайной и целевой выборке в 1992-2006 гг.

Группа	I период (1992-1996 гг.)		II период (1997-2001 гг.)		III период (2002-2006 гг.)	
	n	ИФА (+)	n	ИФА (+)	n	ИФА (+)
<i>Целевая выборка</i>						
Взрослые с подозрением на токсоплазмоз (I)	481	*** 101 21,0±0,64%	689	### *** ^^ 219 31,8±1,77%	795	### *** ^^ 316 39,7±1,27%
Женщины с отягощенным акушерским анамнезом (II)	603	# ** 113 18,7±0,61%	1033	### *** ^^ 368 35,6±1,49%	908	### *** ^^ 449 49,4±1,29%
Беременные (III)	1801	201 11,2±0,50%	4892	* ^ 910 18,6±0,56%	2672	* ^^ 670 25,1±0,96%
Беременные с угрозой прерывания беременности (IV)	348	## ** 81 23,3±0,67%	1423	### *** ^^ 474 33,3±1,25%	1245	### *** ^^ 482 38,7±0,80%
Матери детей с внутриутробной инфекцией (V)	801	## ** 171 21,3±0,64%	1490	### *** ^^ 435 29,9±1,19%	1362	## *** ^^ 503 36,9±0,76%
Дети с подозрением на токсоплазмоз (VI)	2883	### 565 19,6±0,74%	608	### ^^ 179 29,4±1,85%	1338	### ^^ 534 39,9±0,95%
Доноры (контроль - VII)	711	70 9,8±1,12%	812	^ 119 14,7±1,05%	804	^^ 145 18,0±1,22%
<i>Случайная выборка</i>						
Дети (VIII)	322	16 5,0±1,21%	584	^^ 57 9,8±1,23%	559	^^ 65 11,6±0,98%
Взрослые (IX)	501	52 10,4±1,01%	930	^^ 148 15,9±1,20%	880	^^ 177 20,1±1,05%
ВСЕГО	8451	1370 16,2±0,75%	12461	^^ 2909 23,3±0,60%	10563	^^ 3341 31,6±0,56%

Примечание: \*, \*\*, \*\*\* - достоверные различия с контролем (p<0,05; 0,01; 0,001); #, ##, ### - достоверные различия с группой случайной выборки (p<0,05; 0,01; 0,001); ^, ^^, ^^ - достоверные различия с соответствующими группами I периода наблюдения (p<0,05; 0,01, 0,001) по t-критерию.

Среди взрослых, отобранных методом целевой выборки, на последующих этапах наблюдения также имел место рост показателя серопозитивности: антитела у них стали выявляться в 1,8-2,3 раза чаще (t; p<0,01) по сравнению со случайной выборкой в зависимости от выраженности иммунодефицита.

При оценке частоты выявления специфических IgA у 550 человек из групп высокого риска установлено их наличие в 33% случаев, что свидетельствовало в пользу активной инвазии (подострый и реактивация хронического токсоплазмоза). Результаты изучения avidности IgG-антител показали, что у беременных острый токсоплазмоз имел место в 4,2% случаев, подострый - в 6,1% случаев.

Таким образом, установленный рост инфицированности населения Омской области *T. gondii* за последние 15 лет практически во всех обследованных группах свидетельствует, с одной стороны об актуальности и важности проблемы токсоплазмоза для нашего региона, а с другой – об усилении настороженности врачей по отношению к токсоплазмозу.

### Результаты обследования детей из группы высокого риска на токсоплазмоз

Проведённые исследования в закрытых детских коллективах позволили установить, что в I группе дети, инфицированные *M. tuberculosis*, проживающие в сельской местности имели IgG к *T. gondii* в 41,0% случаев – в 2,5 раза чаще (U;  $p < 0,01$ ), чем в III группе, и в 1,3 раза чаще по сравнению со II группой, где IgG были выявлены в 16,2% и 32,3% случаев соответственно (рис. 3).

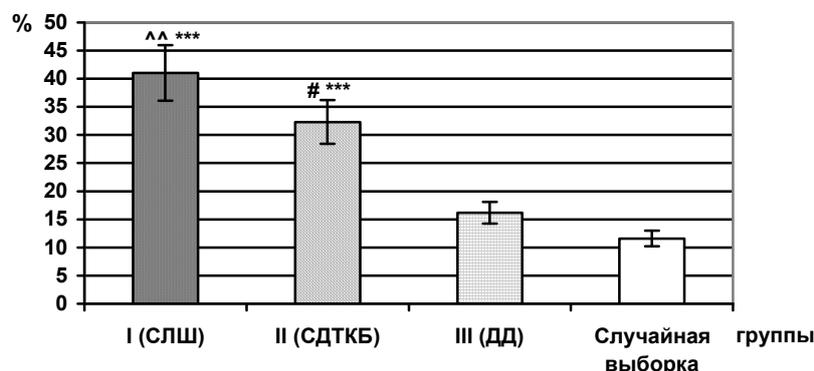


Рис. 3. Частота выявления антител класса IgG к *T. gondii* методом ИФА у детей (в %).

Примечание: \*, \*\*, \*\*\* - достоверность различий с группой случайной выборки ( $p < 0,05$ ; 0,01; 0,001); <sup>o</sup>, <sup>oo</sup>, <sup>ooo</sup> – между группой I и II; <sup>^</sup>, <sup>^^</sup>, <sup>^^^</sup> – между группой I и III; <sup>#</sup>, <sup>##</sup>, <sup>###</sup> - между группой II и III по U-критерию.

Мы полагаем, что более высокая частота заражения *T. gondii* детей, проживающих в сельских районах, обусловлена прежде всего совокупностью их условий жизни: по анамнестическим данным 83,5% обследованных детей из I группы были из неполных многодетных семей с плохими санитарно-бытовыми условиями жизни, а у 94,7% серопозитивных к *T. gondii* детей имелись в домах одна или несколько кошек. Достоверное увеличение серопозитивности к *T. gondii* по антителам класса IgG в зависимости от пола обнаружено только во II группе (СДТКБ): у девочек она в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) была выше, чем у мальчиков.

Вместе с тем, увеличение частоты выявления антител класса IgG к *T. gondii* у детей из СЛШ в 3,5 раза (U;  $p < 0,001$ ) и СДТКБ в 2,8 раза (U;  $p < 0,001$ ) по сравнению с аналогичным показателем у детей при случайной выборке может свидетельствовать о более благоприятных условиях для паразитоза на фоне имеющейся иммунной дисфункции, вызванной туберкулёзной инфекцией.

Установлена тенденция к увеличению по мере углубления иммунодефицита частоты токсо-IgA в I и II группах по сравнению с III группой – в 1,6 раза и 2,4 раза соответственно без достоверных различий в зависимости от пола (рис. 4).

У двух детей (из СЛШ и СДТКБ) выявлен острый токсоплазмоз с выраженными клиническими проявлениями, что подтверждено наличием IgM и низкоavidных IgG; у одного ребёнка из ДД параллельно присутствовали IgM и

IgA на фоне высокоавидных IgG-антител, что было расценено нами как реактивация хронического токсоплазмоза. Заслуживает внимания и тот факт, что у 22,9% детей из СЛШ и 12,5% детей из СДТКБ определен индекс авидности от 40 до 60%, указывающий на подострое течение токсоплазмоза, тогда как в III группе не отмечено присутствия низко- и среднеавидных антител.

При обследовании на ВЭБ-инфекцию установлено, что IgG-NA-антитела определялись у детей из обследованных коллективов в 97,8-100% случаев, что свидетельствует о высокой инфицированности детей в закрытых коллективах. При исследовании частоты ассоциации токсоплазм и вируса Эпштейна-Барр нами установлено, что «ранние» IgG-EA определялись в I группе в 4,7 раза чаще (U; p<0,05), чем во II группе (соответственно в 9,4% и 2,0%); в III группе у инфицированных токсоплазмами лиц ВЭБ-IgG-EA антитела не определялись (табл. 3).

Таблица 3

Частота ассоциации *T. gondii* и Epstein-Barr virus с серологическими признаками активности в зависимости от пола

Группа	Муж.	Жен.	Всего, чел.	Токсо-IgG (+) + ВЭБ-IgG-EA (+)					
				Муж.		Жен.		Итого	
				Абс.	% (M±m)	Абс.	% (M±m)	Абс.	% (M±m)
I (СЛШ)	61	56	117	4	6,55±3,19	7	12,50±4,45	11	9,40±2,70
II (СДТКБ)	48	51	99	0	0	2	3,92±2,74	2	2,02±1,42
III (ДД)	32	16	48	0	0	0	0	0	0

Примечание: \*, \*\*, \*\*\* - достоверность различий между группой I и II (p<0,05; 0,01; 0,001) по U-критерию.

Следует также отметить, что случаев обнаружения маркёров сочетанной реактивации токсоплазмоза (IgA) и ВЭБ-инфекции (IgG-EA) в III группе не отмечено, а выявлено только у 2 мальчиков из I группы и 1 девочки – из II группы, что соответственно составило 1,7% и 2,0% от количества обследованных в этих группах (рис. 4). При этом случаев обнаружения сочетания токсо-IgM и ВЭБ-IgM во всех трёх группах не выявлено.

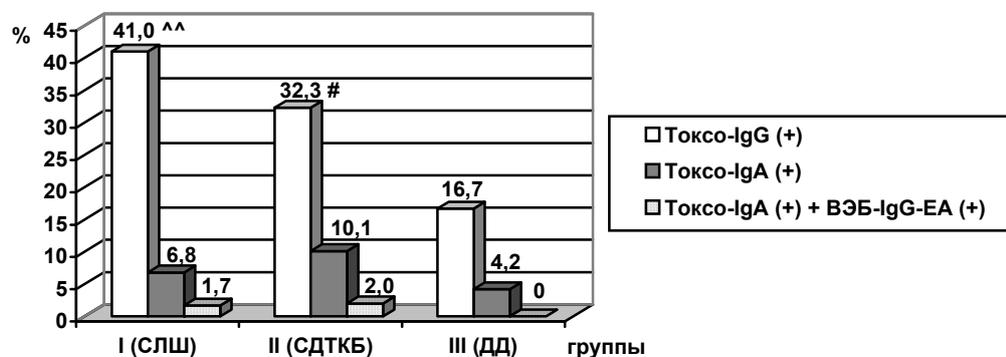


Рис. 4. Соотношение частоты инфицирования детей *T. gondii*, активных форм токсоплазмоза и микст-инфекции, вызванной *T. gondii* и Epstein-Barr virus (в %).

Примечание: достоверность различий ( $p < 0,05$ ;  $0,01$ ;  $0,001$ ):  $^{\circ}$ ,  $^{\circ\circ}$ ,  $^{\circ\circ\circ}$  – между группой I и II;  $^{\wedge}$ ,  $^{\wedge\wedge}$ ,  $^{\wedge\wedge\wedge}$  – между группой I и III;  $^{\#}$ ,  $^{\#\#}$ ,  $^{\#\#\#}$  – между группой II и III по U-критерию.

Таким образом, полученные данные указывают на увеличение частоты реактивации токсоплазмоза и (или) ВЭБ-инфекции на фоне туберкулёзной инфекции, что обосновывало необходимость проведения иммунологических исследований, чему и был посвящён второй фрагмент исследования, представленный ниже.

### Иммунореактивность к *T. gondii* ВИЧ-инфицированных лиц

Исследования показали, что IgG-антитела к *T. gondii* были выявлены в 32,2% - в 1,6 раза чаще ( $U$ ;  $p < 0,001$ ) чем при случайной выборке. Все сыворотки были негативны по специфическим IgM. Вместе с тем, на фоне отсутствия достоверных различий между мужчинами и женщинами у 16,6% обследованных обнаружены IgA к *T. gondii* – показатель активного токсоплазмоза. Обращал на себя факт изолированного присутствия IgA к антигенам паразита в 4,4%. Параллельный синтез IgA и IgG установлен у 12,2% пациентов.

Увеличение частоты лиц с реактивацией токсоплазмоза коррелировало со степенью углубления иммунодефицита: в терминальной стадии ВИЧ-инфекции IgA к *T. gondii* выявлялись в 42,9% случаев, что в 4,5 раза ( $U$ ;  $p < 0,01$ ) чаще, чем у лиц с 3 стадией ВИЧ-инфекции (табл. 4).

Таблица 4

Результаты выявления антител класса IgA и IgG к *T. gondii* методом ИФА в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции

Стадии ВИЧ-инфекции	n	IgG (+) / IgA (-)	IgA (+) / IgG (+)	IgA (+) / IgG (-)
		Абс.	Абс.	Абс.
2	7	1	0	0
3	63	15	6 <sup>##</sup>	3
4А	10	0	2	1
4Б	3	1	0	0
4В	7	1	3	0
<b>ВСЕГО:</b>	<b>90</b>	<b>18</b>	<b>11</b>	<b>4</b>

Примечание: \*, \*\*, \*\*\* - достоверность различий между стадией 2 и 3 ( $p < 0,05$ ;  $0,01$ ;  $0,001$ );  $^>$ ,  $^>>$ ,  $^>>>$  - между стадией 2 и 4Б ( $p < 0,05$ ;  $0,01$ ;  $0,001$ );  $^{\wedge}$ ,  $^{\wedge\wedge}$ ,  $^{\wedge\wedge\wedge}$  - между стадией 2 и 4В ( $p < 0,05$ ;  $0,01$ ;  $0,001$ ); \*, \*\*, \*\*\* - между стадией 3 и 4А ( $p < 0,05$ ;  $0,01$ ;  $0,001$ );  $^{\circ}$ ,  $^{\circ\circ}$ ,  $^{\circ\circ\circ}$  - между стадией 3 и 4Б ( $p < 0,05$ ;  $0,01$ ;  $0,001$ ); #, ##, ### - между стадией 3 и 4В ( $p < 0,05$ ;  $0,01$ ;  $0,001$ ) по U-критерию.

Таким образом, полученные нами данные указывают на высокий риск реактивации токсоплазмоза у ВИЧ-инфицированных лиц и диктуют необходимость включения в программу мониторинга теста на наличие IgA к *T. gondii*, что позволит более эффективно и своевременно оценивать риск развития данного паразитоза и проводить адекватную терапию.

### Иммунологическая характеристика лиц, инфицированных *T. gondii*

С целью оценки состояния иммунореактивности организма в зависимости от стадии заболевания 56 человек из ГИКБ с верифицированным диагнозом «токсоплазмоз» составили следующие группы: I - лица с острым токсоплазмозом, II - лица с реактивацией хронического токсоплазмоза, III – лица

с хроническим латентным токсоплазмозом. Группы сопоставимы по половым, возрастным признакам и преморбидному фону.

Результаты изученных иммунологических показателей у пациентов с токсоплазмозом представлены в таблице 5.

Таблица 5

Иммунологические показатели пациентов с токсоплазмозом

Показатель	Группы			Контроль n=30
	I n=6	II n=19	III n=31	
<i>Содержание цитокинов</i>				
IL-1 $\beta$ , пкг/мл	*** ^^ ^ 000 105,97 $\pm$ 16,50	*** ### 5,92 $\pm$ 1,54	27,31 $\pm$ 4,53	22,63 $\pm$ 2,85
IL-2, пкг/мл	*** ^ ^ 000 75,38 $\pm$ 4,87	*** ### 170,00 $\pm$ 21,00	** 37,34 $\pm$ 1,89	28,29 $\pm$ 2,81
IL-4, пкг/мл	^^ ^ 5,75 $\pm$ 1,19	*** ### 50,4 $\pm$ 4,03	12,99 $\pm$ 2,57	7,07 $\pm$ 1,67
IL-6, пкг/мл	7,49 $\pm$ 2,18	# 4,52 $\pm$ 0,20	4,00 $\pm$ 0,18	4,2 $\pm$ 1,74
IL-8, пкг/мл	** 000 59,44 $\pm$ 4,89	*** ### 74,42 $\pm$ 5,55	22,50 $\pm$ 1,90	20,46 $\pm$ 1,51
IL-1Ra, пкг/мл	*** ^ ^ 000 165,87 $\pm$ 11,31	*** ### 273,15 $\pm$ 17,71	388,84 $\pm$ 16,95	400,52 $\pm$ 20,22
TNF- $\alpha$ , пкг/мл	*** ^^ ^ 000 57,91 $\pm$ 7,43	### 1,94 $\pm$ 0,44	7,71 $\pm$ 1,98	6,18 $\pm$ 1,7
IFN- $\gamma$ нативный, пкг/мл	^^ ^ 16,52 $\pm$ 2,27	*** ### 42,34 $\pm$ 5,47	13,36 $\pm$ 1,05	13,21 $\pm$ 3,25
IFN- $\gamma$ стим. ФГА, пкг/мл	* ^^ ^ 000 2585,57 $\pm$ 162,32	*** ### 307,60 $\pm$ 44,60	1109,33 $\pm$ 124,69	1494,68 $\pm$ 246,50
<i>Показатели гуморального звена иммунитета и лактоферрина</i>				
C <sub>3</sub> , мг/дл	94,00 $\pm$ 1,86	96,84 $\pm$ 2,86	95,64 $\pm$ 1,73	96,72 $\pm$ 5,68
C <sub>4</sub> , мг/дл	*** 000 28,5 $\pm$ 2,71	* # 24,42 $\pm$ 2,85	16,41 $\pm$ 1,12	14,90 $\pm$ 0,83
IgA, г/л	*** 00 1,60 $\pm$ 0,14	*** ### 2,00 $\pm$ 0,20	1,03 $\pm$ 0,10	0,92 $\pm$ 0,03
IgM, г/л	*** ^^ ^ 000 1,72 $\pm$ 0,10	0,75 $\pm$ 0,02	0,76 $\pm$ 0,02	0,72 $\pm$ 0,06
IgG, г/л	^^ ^ 8,12 $\pm$ 0,37	*** ### 15,51 $\pm$ 0,69	** 11,21 $\pm$ 0,71	7,41 $\pm$ 0,27
ЦИК, у.е.	*** 548 $\pm$ 14,59	*** ### 581,94 $\pm$ 18,44	** 454,48 $\pm$ 20,67	329,27 $\pm$ 12,97
ЦИК, размер	** 1,2 $\pm$ 0,02	*** 1,27 $\pm$ 0,02	*** 1,30 $\pm$ 0,02	1,11 $\pm$ 0,01
Лактоферрин, нг/мл	^^ ^ 00 1057,48 $\pm$ 43,04	** # 420,58 $\pm$ 52,85	607,49 $\pm$ 58,16	982,22 $\pm$ 153,76

Примечание: \*, \*\*, \*\*\* - достоверность различий по отношению к контролю (p<0,05; 0,01; 0,001); достоверность различий между группами: ^, ^^, ^^ ^ - между I и II; 0, 00, 000 между - I и III; #, ##, ### - между II и III (p<0,05; 0,01; 0,001) по U-критерию.

Исследования показали, что во II группе уровень IL-4 превышал аналогичный показатель контрольной группы в 7,1 раза (U; p<0,001) при одновременном повышении содержания нативного IFN- $\gamma$  в 3,2 раза (U; p<0,001)

и снижении в 4,9 раза ( $U$ ;  $p < 0,001$ ) концентрации стимулированного ФГА IFN- $\gamma$ . Такая дискордантность изменений, с одной стороны, свидетельствовала о смещении баланса между типами иммунного ответа в сторону развития реакций гуморального иммунитета при реактивации хронического токсоплазмоза, а с другой - указывала на падение функциональной активности секретирующих IFN- $\gamma$  Т-лимфоцитов 1 типа как в результате прямого ингибирующего действия IL-4, так и в результате истощения функциональных резервов синтеза вследствие увеличения антигенной нагрузки. Об уменьшении функциональной способности к синтезу адекватных антигенной нагрузке количеств IFN- $\gamma$  также свидетельствовала сниженная на 25% в III группе по сравнению с контролем продукция стимулированного IFN- $\gamma$ . В то же время у лиц из I группы уровень стимулированного IFN- $\gamma$  превышал контроль в 1,7 раза ( $U$ ;  $p < 0,001$ ), что свидетельствовало об активации IFN- $\gamma$ -продуцирующих клеток в ответ на внедрение токсоплазм с развитием реакций преимущественно Th1 (Т-хелперы 1-го типа), препятствующих выраженному повреждающему действию патогена на макроорганизм.

Во всех анализируемых группах отмечалась конкордантное увеличение концентрации IL-2: его уровень по сравнению с контролем был выше в I группе – в 2,7 раза ( $U$ ;  $p < 0,001$ ), во II группе – в 6,0 раз ( $U$ ;  $p < 0,001$ ), в III группе – в 1,3 раза ( $U$ ;  $p < 0,01$ ). Увеличение данного показателя отражало степень активации антигенами токсоплазм Т-хелперных клеток - основных продуцентов IL-2, мишенями которого являются Th1, цитотоксические Т-клетки, В-клетки, NK (натуральные киллеры) и макрофаги, играющие ведущую роль в развитии нестерильного иммунитета на любой стадии токсоплазмоза.

Уровень IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  в I группе достоверно превышали контроль в 4,7 раза ( $U$ ;  $p < 0,001$ ) и 9,4 раза ( $U$ ;  $p < 0,001$ ) соответственно. Учитывая, что данные цитокины участвуют в запуске местной и системной воспалительной реакции, активируют Т-, В-, NK-клетки, полиморфноядерные лейкоциты, а также играют значительную роль в координации воспалительного ответа и запуске цитокинового каскада, являясь индуктором для синтеза других цитокинов (А.В. Демьянов, 2003), гиперпродукция IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  в остром периоде токсоплазмоза, по нашему мнению, имеет положительное значение, инициируя и направляя реакции всех звеньев иммунитета в сторону элиминации возбудителя. В то же время снижение уровней TNF- $\alpha$  в 3,2 раза и IL-1 $\beta$  в 3,8 раза ( $U$ ;  $p < 0,001$ ) во II группе по сравнению с контролем можно расценить как неадекватную реакцию иммунной системы на повышенную антигенную нагрузку с истощением её резервов, сопровождающуюся как снижением количества иммунокомпетентных клеток, продуцирующих цитокины, так и падением их функциональной активности, что в условиях реактивации токсоплазмоза играет отрицательную роль, способствуя сдвигу равновесия в сторону развития ответа по Th2 пути.

Примечательно, что продукция IL-1Ra, ограничивающего эффекты IL-1 $\beta$  и являющегося естественным противовоспалительным агентом, не соответствовала повышенной (в I группе) и пониженной (во II группе) концентрации сывороточного IL-1 $\beta$  и была достоверно ниже контрольной: в 2,4

раза (U;  $p < 0,001$ ) и 1,5 раза (U;  $p < 0,001$ ) соответственно. Учитывая важную роль *in vivo* баланса между IL-1 и IL-1Ra в защите организма от инфекций, в том числе и от внутриклеточных патогенов (А.В. Демьянов, 2003), по нашему мнению, такое уменьшение продукции IL-1Ra может являться с одной стороны причиной истощения синтеза IL-1 $\beta$ , а с другой – способствовать поддержанию и распространению воспалительного процесса в органах и тканях, поражённых *T. gondii*.

Достоверное увеличение концентрации IL-8, основной функцией которого является усиление хемотаксиса лейкоцитов, в I и II группах в 2,9 раза (U;  $p < 0,01$ ) и 3,6 раза (U;  $p < 0,001$ ) соответственно по сравнению с контрольными значениями, отражало уровень воспалительного процесса и интенсивность реакций внеклеточного цитолиза.

Результаты исследования показателей гуморального иммунитета свидетельствовали о развитии этих реакций в соответствии с общими законами иммуногенеза, что характеризовалось последовательным переключением синтеза иммуноглобулинов IgM-IgA-IgG (табл.5). Так, у лиц с острым токсоплазмозом из I группы отмечалось увеличение концентрации сывороточного IgA по сравнению с контролем в 1,7 раза (U;  $p < 0,001$ ), IgM – в 2,4 раза (U;  $p < 0,001$ ), а во II группе на фоне реактивации IgA-ответ был на 25% более интенсивным, чем в I группе и превышал аналогичный показатель в контрольной группе в 2,2 раза (U;  $p < 0,001$ ). При этом в III группе статистически значимые различия с контролем наблюдались лишь в отношении продукции IgG, уровень которых в 1,5 раза (U;  $p < 0,01$ ) был выше, чем в контрольной группе, что отражало достаточно высокую напряжённость антителообразования за счет непрерывного поступления антигенов из цист. Усиление антигенемии при реактивации токсоплазмоза (II группа) проявлялось увеличением интенсивности синтеза IgG-антител, уровень которых превышал контрольные значения в 2,1 раза (U;  $p < 0,001$ ) и был в 1,4 раза выше (U;  $p < 0,001$ ), чем в III группе.

Увеличение концентрации C<sub>4</sub>-компонента комплемента в I группе в 1,9 раза (U;  $p < 0,001$ ) и в 1,6 раза (U;  $p < 0,05$ ) - во II группе по сравнению с контролем в целом отражало усиление их продукции в ходе острой фазы воспалительного процесса и свидетельствовало об активации системы комплемента иммунными комплексами по классическому пути.

Количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) было достоверно выше, чем в группе доноров: при этом в III группе наблюдалось наименьшее увеличение ЦИК, превышавшее контроль в 1,4 раза (U;  $p < 0,01$ ), а в I и II группах это увеличение составляло в 1,7 раза (U;  $p < 0,001$ ) и 1,8 раза (U;  $p < 0,001$ ) соответственно. Это свидетельствовало о зависимости между ростом количества ЦИК и степенью развития специфического гуморального ответа (С.И. Логинов, 1999; С.В. Гладкова, 2000). Кроме того, статистически значимые различия между крупными размерами ЦИК, наблюдавшиеся в контрольной группе, и средними размерами ЦИК, выявленные во всех группах (U;  $p < 0,01$ ), по нашему мнению, могут свидетельствовать о возможности развития у больных токсоплазмозом аутоиммунных процессов.

Исследование лактоферрина показало достоверное изменение его содержания лишь во II группе - в 2,3 раза ниже ( $U; p < 0,01$ ), чем в контроле, что, по нашему мнению, обусловлено отсутствием в условиях реактивации токсоплазмоза увеличения продукции IL-6, уровень которого позитивно коррелирует с лактоферрином (Э.А. Юркина, 1998). Дополнительным подтверждением этому предположению может служить факт отсутствия изменения уровня лактоферрина в I группе по сравнению с контролем.

### ***Иммунная дисфункция у лиц с токсоплазмозом, ассоциированным с инфекцией, вызванной Epstein-Barr virus и M. tuberculosis***

На фоне роста иммунодефицитных состояний всё чаще у иммунокомпromетированных пациентов отмечается факт наличия микст-инфекции, которая потенцирует клеточную иммунологическую недостаточность, является её индикатором и характеризуется полиорганными поражениями (Г.Б. Безнощенко с соавт., 2002). Учитывая немногочисленность исследований по данной проблеме, особое внимание нами было уделено изучению иммунной дисфункции при токсоплазмозе, ассоциированным с инфекцией, вызванной Epstein-Barr virus и M. tuberculosis, основную роль в иммунопатогенезе которых играет дисфункция T-клеточного звена иммунитета. По результатам тестирования сывороток крови детей из СЛШ сформированы следующие группы: I - дети с малыми формами туберкулёза, серопозитивные к T. gondii; II - дети, имеющие IgM или IgA к T. gondii (активное течение токсоплазмоза); III - дети, у которых наряду с IgA к T. gondii выявлены ВЭБ-IgG-EA (микст-инфекция, обусловленная активным токсоплазмозом и ВЭБ-инфекцией), IV - группа сравнения (дети, серонегативные к T. gondii, не имеющие ВЭБ-IgG-EA). Результаты изученных иммунологических показателей у детей с токсоплазмозом, ассоциированным с инфекцией, вызванной Epstein-Barr virus и M. tuberculosis представлены в таблице 6.

Проведённые исследования показали, что в I, II и III группах наблюдалось одновременное увеличение уровней как IL-4 (основного медиатора Th2 типа иммунного ответа), так и нативного IFN- $\gamma$ , ответственного за переключение реакций иммунной системы на Th1 тип. При этом увеличение IL-4 по сравнению с контролем составило для I группы - в 75,0 раз ( $U; p < 0,001$ ), для II группы - в 72,0 раза ( $U; p < 0,01$ ), для III группы - в 60,0 раз ( $U; p < 0,05$ ) соответственно. Нативный IFN- $\gamma$  превышал контроль в 3,5 ( $U; p < 0,001$ ), в 5,8 ( $U; p < 0,01$ ) и в 3,4 ( $U; p < 0,05$ ) раза соответственно. По нашему мнению, отсутствие чёткой дифференцировки по типам иммунного ответа в указанных группах, но с превалированием эффектов Th2 обусловлено, прежде всего, дисфункцией T-клеточного звена иммунитета на фоне тубинфицирования.

В пользу этого предположения свидетельствуют аналогичные, хотя и менее выраженные вышеописанным, изменения в группе сравнения, куда входили тубинфицированные дети без серологических признаков наличия и активности как токсоплазмоза, так и ВЭБ-инфекции. Так, в группе сравнения уровень IL-4 был увеличен в 39,0 раз ( $U; p < 0,001$ ), а нативный IFN- $\gamma$  в 2,9 раза ( $U; p < 0,01$ ) по сравнению с контролем. Примечательно, что только в III группе

отмечалась сниженная в 5,5 раза (U;  $p < 0,05$ ) по отношению к контролю продукция стимулированного IFN- $\gamma$ .

Таблица 6

Иммунологические показатели детей, инфицированных *T. gondii* и вирусом Эпштейна-Барр на фоне малых форм туберкулёза

Показатель	Группы				Контроль
	I	II	III	IV	
<i>Содержание цитокинов</i>					
IL-1 $\beta$ , пкг/мл	** 140,27 $\pm$ 5,13	** 399,81 $\pm$ 33,36	# 18,32 $\pm$ 0,70	** 76,16 $\pm$ 28,46	22,63 $\pm$ 2,85
IL-2, пкг/мл	*** # 2068,75 $\pm$ 45,47	* 967,88 $\pm$ 91,46	* 999,10 $\pm$ 56,69	*** 779,29 $\pm$ 51,31	28,29 $\pm$ 2,81
IL-4, пкг/мл	*** 529,67 $\pm$ 114,26	** 509,20 $\pm$ 44,32	* 423,40 $\pm$ 36,29	*** 278,01 $\pm$ 76,63	7,07 $\pm$ 1,67
IL-6, пкг/мл	^ 4,50 $\pm$ 0,76	# 1,87 $\pm$ 0,38	4,65 $\pm$ 0,37	7,41 $\pm$ 1,47	4,2 $\pm$ 1,74
IL-8, пкг/мл	*** 60,06 $\pm$ 10,46	** # 61,36 $\pm$ 4,20	* 61,64 $\pm$ 7,94	*** 42,53 $\pm$ 2,58	20,46 $\pm$ 1,51
IL-1Ra, пкг/мл	*** ° 208,62 $\pm$ 51,08	383,00 $\pm$ 23,04	* # 72,41 $\pm$ 9,53	*** 246,20 $\pm$ 10,90	400,52 $\pm$ 20,22
TNF- $\alpha$ , пкг/мл	*** 0,00 $\pm$ 0,00	** 0,00 $\pm$ 0,00	* 0,00 $\pm$ 0,00	*** 0,00 $\pm$ 0,00	6,18 $\pm$ 1,7
IFN- $\gamma$ натив., пкг/мл	*** 46,50 $\pm$ 7,09	** 76,72 $\pm$ 7,17	* 44,52 $\pm$ 3,90	** 39,15 $\pm$ 10,12	13,21 $\pm$ 3,25
IFN- $\gamma$ стим. ФГА, пкг/мл	# 1331,53 $\pm$ 386,12	1764,16 $\pm$ 119,18	* 267,33 $\pm$ 91,07	2976 $\pm$ 597,90	1494,68 $\pm$ 246,50
<i>Показатели гуморального звена иммунитета и лактоферрина</i>					
C <sub>3</sub> , мг/дл	106,38 $\pm$ 4,26	116,33 $\pm$ 11,46	114,00 $\pm$ 14,00	98,55 $\pm$ 7,06	96,72 $\pm$ 5,68
C <sub>4</sub> , мг/дл	16,07 $\pm$ 1,33	17,33 $\pm$ 4,40	17,00 $\pm$ 0,01	15,88 $\pm$ 1,54	14,90 $\pm$ 0,83
IgA, г/л	*** 2,21 $\pm$ 0,39	** # 2,84 $\pm$ 0,20	* 2,66 $\pm$ 0,79	** 1,64 $\pm$ 0,21	0,92 $\pm$ 0,03
IgM, г/л	*** 1,57 $\pm$ 0,18	** 1,88 $\pm$ 0,36	* 1,00 $\pm$ 0,06	** 1,25 $\pm$ 0,17	0,72 $\pm$ 0,06
IgG, г/л	*** 16,76 $\pm$ 1,64	** # 19,93 $\pm$ 2,60	9,30 $\pm$ 7,00	*** 13,50 $\pm$ 0,91	7,41 $\pm$ 0,27
ЦИК, у.е.	*** 471,46 $\pm$ 22,00	** 506,00 $\pm$ 29,28	* 469,50 $\pm$ 3,50	** 442,11 $\pm$ 21,03	329,27 $\pm$ 12,97
ЦИК, размер	** # 1,24 $\pm$ 0,02	* 1,24 $\pm$ 0,05	* 1,23 $\pm$ 0,05	** 1,31 $\pm$ 0,01	1,11 $\pm$ 0,01
Лактоферрин, нг/мл	*** 236,46 $\pm$ 25,28	271,50 $\pm$ 79,39	343,50 $\pm$ 12,50	** 238,00 $\pm$ 26,66	982,22 $\pm$ 153,76

Примечание: \*, \*\*, \*\*\* - достоверность различий по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ; 0,01; 0,001); достоверность различий между группами: ^, ^^, ^^ - между I и II; °, °°, °°° между I и III; <, <<, <<< - между II и III ( $p < 0,05$ ; 0,01; 0,001); #, ##, ### - достоверность различий с группой сравнения: ( $p < 0,05$ ; 0,01; 0,001) по U-критерию.

Только в III группе отмечалось уменьшение в 4,2 раза (U;  $p < 0,05$ ) по отношению к группе сравнения уровня IL-1 $\beta$ , что в условиях Т-клеточной дисфункции может являться одной из причин снижения функциональной

способности к синтезу IFN- $\gamma$ , так как IL-1 $\beta$  совместно с TNF- $\alpha$  и IL-15 потенцирует действие IL-12, играющего ведущую роль в синтезе значительных количеств IFN- $\gamma$  (E.Y. Denkers, 1998). Напротив, в I, II и IV группах уровень IL-1 $\beta$  был достоверно выше, чем в контроле в 6,2 (U;  $p < 0,01$ ), 17,7 (U;  $p < 0,01$ ) и 3,4 (U;  $p < 0,01$ ) раза соответственно на фоне отсутствия статистически значимых различий с контролем по митоген-индуцированной продукции IFN- $\gamma$ . У детей из группы сравнения наблюдалась более сильная продукция стимулированного IFN- $\gamma$ , что косвенно указывает на снижение функциональной активности IFN- $\gamma$ -продуцентов при микст-инфекции за счёт прямого ингибирующего действие ВЭБ на клеточный иммунитет в условиях активнопротекающего токсоплазмоза.

Особый интерес представляет неадекватная гиперпродукция IL-1 $\beta$  в I, II и IV группах и низкий по отношению к контролю уровень его рецепторного антагониста в I, III и IV группах. Примечательно, что самая низкая концентрация IL-1Ra при этом отмечалась в III группе: в 5,5 раза (U;  $p < 0,05$ ) меньше по сравнению с контролем и в 3,4 раза меньше (U;  $p < 0,05$ ), чем в группе сравнения. При этом уровень IL-1 $\beta$  в этой группе был в 4,0 раза (U;  $p < 0,05$ ) меньше, чем в группе сравнения, статистически не отличаясь от контроля. По-видимому, данный факт является следствием глубоких нарушений в иммунной системе в условиях активной микст-инфекции, обусловленной *T. gondii* и Epstein-Barr virus на фоне тубинфицирования.

Следует отметить низкое значение (ниже порогового уровня) TNF- $\alpha$  у всех обследованных детей, что вероятно, обусловлено либо истощением синтеза на фоне усиленной антигенной нагрузки, либо прямым ингибирующим действие туберкулёзной инфекции на моноциты и макрофаги, являющихся основными продуцентами TNF- $\alpha$ . Во всех обследованных группах отмечалось достоверное увеличение уровня IL-2 по сравнению с контролем, что в целом отражало у тубинфицированных детей степень активации Th-клеток.

Статистически значимых различий по уровню IL-6 между диагностическими и контрольной группами в сыворотках крови обследованных детей не обнаружено. В то же время во II группе его уровень достоверно был в 3,9 раза (U;  $p < 0,05$ ) ниже, чем в группе сравнения и в 2,4 раза (U;  $p < 0,05$ ) ниже аналогичного показателя I группы. Возможно, что реактивация токсоплазмозной инвазии в условиях тубинфицирования вызывает блокирование экспрессии гена ИЛ-6 в клетках разных типов, что, несомненно играет отрицательную роль, ингибируя развитие генерализованной, координированной, острофазовой и неспецифической реакции организма на внутриклеточные патогены. Уровень IL-8 в I, II и III группах был практически одинаковым и достоверно превышал в 2,9–3,0 раза (соответственно для указанных групп U;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$ ) аналогичный показатель контрольной группы. При этом только во II группе отмечалось его достоверное увеличение в 1,4 раза (U;  $p < 0,05$ ) по отношению к группе сравнения, в которой содержание IL-8 в 2,1 раза (U;  $p < 0,001$ ) было выше, чем в контроле. Это свидетельствовало о более сильной активации процессов хемотаксиса лейкоцитов на фоне дополнительной антигенной нагрузки у детей при ассоциации *T. gondii*, Epstein-Barr virus и *M. tuberculosis*.

Результаты исследования показателей гуморального звена иммунитета тубинфицированных детей свидетельствовали о наличии дисфункции у всех детей (табл. 6). Во всех группах имела место дисглобулинемия. Так, содержание сывороточных IgA, IgM, IgG было достоверно выше контрольных значений в группах I, II и IV. При этом максимальное повышение указанных показателей отмечалось во II группе, где уровень IgM превышал контроль в 2,6 раза (U;  $p < 0,01$ ), IgA - в 3,0 раза (U;  $p < 0,01$ ), IgG - в 2,7 раза (U;  $p < 0,01$ ). У детей с наличием реактивации токсоплазмоза и ВЭБ-инфекции (III группа) на фоне увеличения сывороточных IgM в 1,4 раза (U;  $p < 0,05$ ) и IgA в 2,9 раза (U;  $p < 0,05$ ) содержание IgG достоверно не отличалось от контроля, что по нашему мнению, является следствием усиления антигенной нагрузки на иммунную систему и отражает потенцирующую роль активно протекающей микст-инфекции в углублении степени иммунной дисфункции гуморального звена иммунитета.

Тенденция к повышению на 15% по сравнению с контролем уровня C<sub>3</sub>-, C<sub>4</sub> компонентов комплемента во II и III группах, по-видимому, отражала увеличение их продукции на фоне реактивации токсоплазмоза и ВЭБ-инфекции. При этом уровень ЦИК превышал аналогичный показатель контрольной группы в I группе - в 1,4 раза (U;  $p < 0,001$ ), во II группе - в 1,5 раза (U;  $p < 0,01$ ), в III группе - в 1,4 раза (U;  $p < 0,05$ ), а в IV группе - в 1,3 раза. Установлено снижение уровня лактоферрина по сравнению с контролем в I и IV группах в 4,2 раза (U;  $p < 0,001$ ) и 4,1 раза (U;  $p < 0,01$ ) соответственно, что могло быть обусловлено депрессией синтеза, либо значительным потреблением его в ходе иммунопатологических реакций на фоне туберкулёзной инфекции.

Вышеизложенное свидетельствует об усилении глубины нарушений в изученных звеньях иммунной системы тубинфицированных детей с увеличением количества и степени активности ассоциантов, участвующих в микст-инфекции. Наиболее глубокие дисфункциональные нарушения изученных звеньев иммунитета отмечались у детей с реактивацией токсоплазмоза и ВЭБ-инфекции, которые на фоне тубинфицирования потенцировали иммунологическую недостаточность не только клеточного и гуморального звеньев иммунитета, но и неспецифических факторов защиты. Имевшая место у обследованных детей одновременная гиперактивация Th1 и Th2-типов иммунного ответа с превалированием эффектов Th2, в условиях тубинфицирования способствовала углублению нарушений изученных звеньев иммунитета, при этом усиление дисбаланса между содержанием IL-1 $\beta$  и IL-1Ra, усугубляло нарушения иммунного ответа организма на внутриклеточные патогены.

Таким образом, проведенные исследования подтвердили рост токсоплазмоза в Омской области. Полученные данные о распространенности данного паразитоза у детей на фоне туберкулёзной инфекции и среди ВИЧ-инфицированных лиц значительно расширили представления о проблеме, дополнили информационную базу системы эпидемиологического надзора за токсоплазмозом и социально-значимыми инфекциями (ВИЧ-инфекцией и туберкулезом). Включение в алгоритм обследования пациентов методов, направленных на установление активности инфекционного процесса

(определение IgA к токсоплазмам, IgG-EA к ВЭБ) и выявление нарушений иммунной системы, значительно расширяют горизонты клинико-лабораторного и иммунологического мониторинга этих инфекций. Установленная важная роль микст-инфекции при ассоциации микобактерий, токсоплазм и вируса Эпштейна-Барр в формировании иммунной дисфункции и сопутствующей патологии определяет приоритет вторичного и третичного уровней профилактики.

### **ВЫВОДЫ:**

1. За последние 15 лет в Омской области отмечается рост токсоплазмоза в 2,0 раза. Наиболее высокая частота токсоплазмоза - 41,0% отмечается у детей из сельских районов на фоне туберкулезной инфекции.
2. У ВИЧ-инфицированных лиц токсоплазмоз установлен в 36,6% случаев. У 16,6% лиц данной группы выявлены IgA к *T. gondii*, что свидетельствует об активности токсоплазмоза и позволяет расценивать этот показатель как диагностический и прогностический критерий и рекомендовать его для мониторинга данного паразитоза при иммунодефицитных состояниях с целью снижения риска его развития.
3. Показана важная роль у детей ассоциации *T. gondii*, *M. tuberculosis* и Epstein-Barr virus в формировании иммунной дисфункции и дисбаланса цитокинов. Глубина нарушений в изученных звеньях иммунной системы у детей с туберкулезной инфекцией усиливалась с увеличением количества и степени активности ассоциантов, участвующих в микст-инфекции. Реактивация токсоплазмоза и ВЭБ-инфекции потенцировала иммунологическую недостаточность не только клеточного и гуморального звеньев иммунитета, но и неспецифических факторов защиты у детей с туберкулезной инфекцией.
4. У лиц, инфицированных *T. gondii*, выраженность и характер иммунных нарушений определялись стадией инвазии, при этом основная роль в реактивации токсоплазмоза принадлежала переключению с Th1 на Th2 тип иммунного ответа. Одновременная активация Th1 и Th2 с превалированием эффектов Th2 в условиях тубинфицирования способствовала углублению иммунных нарушений, при этом дисбаланс между IL-1 $\beta$  и IL-1Ra усугублял нарушения иммунного ответа организма на внутриклеточные патогены. Установлена сниженная продукция TNF- $\alpha$  на фоне гиперпродукции IL-1 $\beta$ . В качестве диагностических и прогностических критериев активного течения инфекционного процесса могут выступать TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, нативный и стимулированный IFN- $\gamma$ , IL-4, лактоферрин, C<sub>3</sub>-, C<sub>4</sub>-компоненты комплемента, общие IgA, IgM, IgG, а также IgA к *T. gondii*.
5. Основная роль в профилактике токсоплазмоза в группах высокого риска принадлежит вторичному и третичному уровням профилактики. Реализация предложений по совершенствованию информационной базы системы эпидемиологического надзора позволяет проводить эффективный эпидемиологический мониторинг токсоплазмоза в группах высокого риска.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:**

1. Целесообразно включение теста для определения avidности IgG и IgA к *T. gondii* в медико-социальный стандарт диагностики и мониторинга токсоплазмоза в группах высокого риска, что позволяет установить активность паразитоза и провести адекватную терапию.
2. Включение определения IgA к *T. gondii* в комплексную диагностику токсоплазмоза у ВИЧ-инфицированных лиц значительно расширяет диагностические возможности клиницистов и позволяет своевременно установить реактивацию паразитоза.
3. В качестве диагностических и прогностических критериев активного течения токсоплазмоза следует оценивать содержание TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, нативного и стимулированного ФГА IFN- $\gamma$ , IL-4, лактоферрина, C<sub>3</sub>-, C<sub>4</sub>-компонентов комплемента, общих Ig A, IgM, IgG, а также IgA к *T. gondii*.
4. В группу высокого риска по развитию токсоплазмоза следует включить детей, инфицированных *M. tuberculosis*. Целесообразно обследование детей данной группы на наличие токсоплазмоза и ВЭБ-инфекции с определением активности этих инфекций.

### **СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ:**

1. Герпесвирусные инфекции и токсоплазмоз: эпидемиологические особенности и клиничко-лабораторные параллели при моно- и микст-патологии / Т.И. Долгих, Н.С. Запарий, А.В. Калитин, Э.Ф. Зайкова, Н.В. Комарова // Актуальные проблемы здоровья населения Сибири: гигиенические и эпидемиологические аспекты : материалы 5 межрегион. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Омск, 2004. – С.212-219.
2. Иммунореактивность и цитокиновый профиль у больных токсоплазмозом / Т.И. Долгих, А.В. Калитин, Э.Ф. Зайкова, Н.С. Запарий, Н.Г. Гордиенко // Медицинская иммунология. – 2004. – Т. 6, № 3-5. - С. 304-305.
3. Диагностическое значение определения низкоавидных IgG и IgA к *Toxoplasma gondii* в перинатологии / Т.И. Долгих, Н.С. Запарий, А.В. Калитин, Т.В. Кадцина, Н.В. Комарова // Иммунология репродукции : материалы Республ. науч. конф. – Иваново, 2005. - С.221-222.
4. Долгих Т.И. Влияние токсоплазмоза и герпесвирусных инфекций на иммунореактивность организма / Т.И. Долгих, А.В. Калитин, Н.С. Запарий // Иммуно-опосредованные заболевания: от теории к лечению : материалы междунар. конгр. – М., 2005. – С. 193.
5. Долгих Т.И. Оптимизация диагностики токсоплазмоза у детей / Т.И. Долгих, А.В. Калитин // Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики у детей : материалы 4 конгр. педиатров-инфекционистов России. – М., 2005. - С. 65-66.
6. Клиничко-лабораторные параллели при герпесвирусных инфекциях, ассоциированных с токсоплазмозом и хламидиозом / Т.И. Долгих, Э.Ф. Зайкова, Н.С. Запарий, С.В. Уманская, А.В. Калитин // Оппортунистические инфекции: проблемы и перспективы / под ред. Ю.В. Редькина, О.А. Мирошника. – Омск, 2005. – Вып. 2. – С. 28-35.

7. Токсоплазмоз: оптимизация диагностики и лечения на основе оценки иммунореактивности и оценки интерферонового статуса при моно- и микст-инфекции / Т.И. Долгих, Н.С. Запарий, А.В. Калитин, Т.Ф. Соколова, Н.Е. Турок // Медицинская иммунология. – 2005. – Т. 7, № 2-3. - С. 156-157.