

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

*Д.Б.Гончаров, Е.В.Губарева, Н.В.Кобец, Э.А.Домонова\*, Е.С.Иевлева*

### **ТОКСОПЛАЗМОЗ ПРИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ: КРИТЕРИИ РЕАКТИВАЦИИ ИНВАЗИИ**

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи, \*Центральный НИИ эпидемиологии, Москва

Обобщены современные представления о критериях реактивации токсоплазмоза при ВИЧ-инфекции. Обосновывается значимость проблемы: токсоплазмоз — ведущая неврологическая патология при СПИД с высоким процентом летальности из-за сложности его клинического подтверждения и трудностей лабораторного подтверждения начала реактивации. В работе обсуждены клинические, инструментальные, иммунологические, молекулярно-генетические критерии реактивации инвазии и проведен анализ их эффективности; обоснованы их наиболее целесообразные сочетания. Дальнейший системный анализ указанных в статье критериев реактивации церебрального токсоплазмоза в сочетании с поиском новых маркеров диссеминации патогена позволит получить важную информацию, представляющую как фундаментальный интерес, так и имеющую важное практическое значение.

Журн. микробиол., 2012, № 4, С. 88—92

Ключевые слова: церебральный токсоплазмоз, критерии реактивации, персистенция, ВИЧ-инфекция, инвазия, головной мозг

*D.B.Goncharov, E.V.Gubareva, N.V.Kobets, E.A.Domonova\*, E.S.Ievleva*

### **TOXOPLASMOSIS IN HIV INFECTION: INVASION REACTIVATION CRITERIA**

Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, \*Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Contemporary representation of toxoplasmosis reactivation criteria in HIV infection is generalized. Significance of the issue is justified: toxoplasmosis is a leading neurological pathology in AIDS with a high lethality percentage due to complexity of clinical confirmation and difficulties of laboratory confirmation of the start of reactivation. Clinical, instrumental, immunologic, molecular genetic invasion reactivation criteria are discussed in the article and analysis of their effectiveness is performed; their most feasible combinations are justified. Further system analysis of the cerebral toxoplasmosis reactivation criteria specified in the article in combination with search of new pathogen dissemination markers will allow to obtain important information that has both fundamental interest and important practical significance.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2012, No. 4, P. 88—92

Key words: cerebral toxoplasmosis, reactivation criteria, persistence, HIV infection, invasion, brain

Токсоплазмоз — убиквитарная протозойная инвазия, которая относится к числу заболеваний, наносящих значительный экономический ущерб обществу. Ситуация усугубляется развивающейся эпидемией ВИЧ-инфекции. Не составляет исключения и Россия, где в последние годы отмечается постоянный рост количества больных ВИЧ-инфекцией, нуждающихся в стационарном лечении [11].

Показано, что токсоплазмоз составляет 50 — 70% всех паразитозов у пациентов со СПИД [13, 32], причем доминирующей клинической формой инвазии является церебральный токсоплазмоз. Так, из 90 пациентов с ВИЧ, умерших в ИКБ № 2 Москвы за период с 2006 по

2008 гг., у 76 (84,4%) диагностирован первичный очаг инвазии в ЦНС [4]. При этом по нашим данным развитие церебрального токсоплазмоза связано более чем в 95% случаев с реактивацией латентной инвазии [3], что согласуется с литературными источниками [11, 28].

Причина реактивации заболевания преимущественно на терминальной стадии ВИЧ-инфекции может быть обусловлена тем, что в ходе коэволюционного взаимодействия *Toxoplasma gondii* и человека селективно отбираются в большей степени низковирулентные штаммы [1, 27]. В дальнейшем эти факты были подтверждены нашими экспериментальными данными при изучении свойства

штаммов *T.gondii*, выделенных из секционного материала фрагментов мозга пациентов с ВИЧ: на модели *in vivo* показана их чрезвычайно низкая вирулентность, выраженный тропизм к ЦНС и возможность длительной персистенции в организме мышей [2]. Вероятнее всего, тропизм таких штаммов к ЦНС, особенности клиники при хронической и реактивирующейся инвазии отчасти опосредованы определенным генотипом возбудителя и связаны с его клональной популяционной структурой [16, 25, 26, 33].

Почему же так важно определить и научно обосновать критерии реактивации токсоплазменной инвазии при ВИЧ-инфекции? В первую очередь, это связано со значимостью проблемы: токсоплазмоз — третья по частоте причина летальных исходов у пациентов на поздних стадиях ВИЧ [13, 14] и ведущая неврологическая патология у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции — 34,7% случаев поражений головного мозга [9, 10]. Данные цифры обобщены на большом статистическом материале, на основании наблюдения за 458 больными ВИЧ-инфекцией на стадии 4В (СПИД), имевших поражения ЦНС и госпитализированных в ИКБ № 2 Москвы за период с 2003 по 2009 гг.

Кроме этого, диагностика поражений ЦНС у пациентов с ВИЧ представляет особую сложность для врача-инфекциониста из-за необходимости проведения разноплановых инструментальных и лабораторных методов обследования для расшифровки природы неврологической патологии, что приводит к поздней постановке диагноза, неэффективности этиотропной терапии, тяжелым органическим повреждениям головного мозга. Согласно данным литературы признаки поражения ЦНС обнаруживают при клиническом обследовании только в 30% случаев, тогда как при патологоанатомических исследованиях — в 80% [9, 15]. Так, при отсутствии или позднем начале этиотропного лечения церебрального токсоплазмоза заболевание быстро прогрессирует, летальность достигает 37,5%. Наши данные свидетельствуют, что даже при своевременно начатой терапии наблюдаются остаточные стойкие нарушения и случаи летальности (за счет генерализации патологического процесса, сочетания с другими инфекциями и т.п.) [4].

В последние годы в связи с разработкой новых лабораторных иммунологических и молекулярных технологий стало возможным установить не только этиологию паразитоза, но и фазу патологического процесса, что своевременно определяет тактику специфической терапии, позволяет прогнозировать исход. Знание практическими врачами ИКБ № 2 критериев реактивации токсоплазмоза стало основой для проведения мониторинга ранней диагностики заболевания при выявлении

очагов поражения в ЦНС, вследствие чего отмечено снижение числа умерших больных токсоплазмозом в 2009 г. на 30% по сравнению с 2005 г. [10].

В настоящей работе представлены критерии реактивации церебрального токсоплазмоза при ВИЧ-инфекции.

*Клинические критерии реактивации.* За период 2008 — 2010 гг. было изучено около 500 историй болезней пациентов с ВИЧ на стадии СПИД 3В/4В, госпитализированных в ИКБ № 2. Анализ клинического течения токсоплазменного энцефалита позволил определить наиболее типичные признаки заболевания: длительное повышение температуры до 38 — 40° и головные боли (у 50% больных), сопровождающиеся вялостью, сильной заторможенностью (практически у всех больных), выраженной сонливостью (у 50% больных), слабостью в конечностях и ослаблением памяти. Симптомы поражения головного мозга в разгаре реактивации включали: гемипарезы (у 65% пациентов), парезы и параличи черепных нервов (у 50% пациентов), дизартрию, судорожный синдром (у 6 — 10% пациентов) в сопровождении отеков головного мозга [10]. На фоне указанных симптомов часты двигательные расстройства и нарушения координации движений. Изменения в психическом статусе включали, кроме снижения памяти, не критичность к своему состоянию, реже — дезориентацию в пространстве и времени, слуховые и зрительные галлюцинации. Менингеальные симптомы отмечали только в отдельных случаях.

Следует отметить, что на основании вышеперечисленных критериев реактивации инвазии возможна постановка только предварительного диагноза заболевания, поскольку клиника церебрального токсоплазмоза схожа со многими другими заболеваниями, развивающимися при ВИЧ-инфекции: первичной лимфомой, прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатией, а также с более редкими заболеваниями (микобактериозами, криптококкозом, аспергиллезом, кандидозом) [9, 11, 15].

*Инструментальные критерии реактивации.* Для подтверждения развивающегося паразитоза большое значение имеют методы, основанные на визуализации изображений головного мозга. Оптимальным методом визуализации в настоящее время является магнитно-резонансная томография (МРТ) [29]. Как правило, при церебральном токсоплазмозе по МРТ выявляют отдельные шаровидные или овальные образования от 10 — 15 мм с размытыми контурами (зона некроза) и перифокальными отеками вокруг (повышенный МР-сигнал в режимах T2 и FLAR, пониженный — в режиме T1). При использовании внутривенного контрастирования очаги накапливали контраст по периферии. Мно-

жественные очаги встречаются редко; для всех типов очагов характерна округлая форма с размытыми контурами и перифокальным отеком. По мере развития заболевания определяется гидроцефалия [9]. Однако, надо иметь в виду, что такая визуализация не абсолютно патогномична, и в отдельных случаях аналогичная картина наблюдается при первичной лимфоме ЦНС, нейротуберкулезе, энцефалитах бактериальной и вирусной природы и некоторых других патологиях [9, 20].

#### *Иммунологические критерии реактивации.*

Большинство исследователей сходится во мнении, что весьма показательным косвенным критерием возможной реактивации токсоплазмоза является уровень CD4+ клеток. Согласно Клиническому протоколу для Европейского региона ВОЗ по лечению и помощи при ВИЧ/СПИД показаниями к применению лекарственной профилактики инвазии служат наличие IgG к *T.gondii*, клинические признаки заболевания и уровень CD4+ клеток < 200/мкл у взрослых и < 100/мкл у детей [7, 8]. По нашим данным у 84% пациентов с подтвержденным диагнозом токсоплазмоза число CD4+ составило < 150 клеток/мкл. В Бразилии 88% пациентов с токсоплазменным энцефалитом имели аналогичный уровень CD4+ [19]. В материалах, обобщенных В.В. Покровским, сообщается о значимости показателя < 100 клеток/мкл как объективного критерия возможной реактивации инвазии [12]. В целом, несмотря на отдельные случаи развития заболевания при более высоком уровне CD4+, обусловленном, в том числе, вирулентностью и генотипом самого возбудителя, данный показатель представляется весьма информативным для назначения специфической терапии при наличии других диагностических маркеров токсоплазмоза.

Конечно, к более информативным иммунологическим критериям реактивации относится определение специфических антител к *T.gondii*. Однако, существуют свои особенности выявления антител различных классов к патогену на фоне ВИЧ-инфекции. Так, IgM (общепринятый маркер острого и реактивации хронического токсоплазмоза) обнаруживают только у 1 — 8% больных [3, 5, 15], что, вероятно, связано с дефектом иммунного ответа при СПИД. Соответственно, данный маркер не может быть рекомендован как значимый критерий реактивации токсоплазмоза на терминальных стадиях ВИЧ-инфекции.

Некоторые авторы относят к критериям реактивации наличие IgG в сыворотке крови [8]. Однако достоверность подтверждения манифестации токсоплазмоза по наличию данного маркера невысока, и здесь большее значение имеет его количественное определение наряду с другими иммунологическими и молекулярными показателями. Клиническая значимость высоких титров антипара-

зитарных IgG и обнаружения ДНК *T.gondii* впервые показана в 1992 г. [31]. У пациентов с ВИЧ и предварительным диагнозом нейротоксоплазмоза высокий уровень IgG к *T.gondii* в крови отмечали в 51% случаев; в 13,5% случаев у пациентов с ВИЧ, имеющих другой основной диагноз, и у 5,9% пациентов с различной инфекционной патологией, но серонегативных на ВИЧ [19]. Специфичность теста при выявлении высокого уровня IgG составила 86%. Вместе с тем, уже на поздних стадиях СПИД, когда и наблюдается преимущественно реактивация токсоплазмоза, такая закономерность не прослеживается из-за иммунной дисфункции. Так, исследуя группу из 48 больных с подтвержденным диагнозом церебрального токсоплазмоза, мы выявили IgG с высоким уровнем только в 52% случаев. Безусловно, такой моноанализ имеет ряд недостатков. Если же рассматривать другие иммунологические критерии реактивации, то достоверность исследования повышается.

Поскольку наличие и количество антител в периферической крови не всегда отражают стадию инвазии (латентная инфекция или реактивация), проводят определение антител в спинномозговой жидкости (СМЖ) [34] и факт наличия IgG не в сыворотке крови, а именно в СМЖ считается более четким критерием реактивации инвазии [3, 19]. К сожалению, при почти 100% специфичности чувствительность тестов по определению IgG в СМЖ значительно ниже. Кстати, IgG в СМЖ обнаруживали преимущественно при высоком уровне IgG в крови (частота выявления IgG у таких больных достигала 52,4%) [3]. В другой работе сообщается о 50% у пациентов с токсоплазменным энцефалитом, у которых в СМЖ были данные антитела [19]. За 2009, 2010 гг. мы провели полное лабораторное обследование 49 пациентов с церебральным токсоплазмозом, и у 30 из них (57%) найдены IgG в СМЖ. Другими авторами сообщается о перспективности определения локального синтеза интратекальных антител в СМЖ против *T.gondii* [19]. Выявляя такие антитела в СМЖ возможно фиксировать начало реактивации инвазии на самых ранних стадиях, когда еще нет клинических признаков заболевания, что представляется нам чрезвычайно перспективным.

Другим эффективным критерием для мониторинга реактивации церебрального токсоплазмоза предложено считать определение в крови антипаразитарных IgA [5, 18, 22]. Первоначально мы подтвердили это на экспериментальной модели *in vivo*, изучая иммунный ответ на возбудитель при различных сменах заражения и персистенцию низковирулентного штамма у иммунодефицитных животных [2, 6], затем исследуя сыворотки от ВИЧ-инфицированных [4]. Особенно ценным при этом являются два момента: возможность

выявления рецидива токсоплазмоза в отсутствие IgM; наличие корреляционной связи между количеством IgA, активностью инвазии и эффективностью антипротозойной терапии. Однако IgA присутствуют в крови не у всех пациентов.

Поэтому в силу неоднозначности валидности количественных показателей для решения вопроса о реактивации токсоплазменной инфекции определении и количественный анализ антител различных классов в ИФА необходимо сочетать с качественным анализом ответа на различные антигены возбудителя с использованием иммуноблоттинга. Такое сочетание признано перспективным для понимания особенностей токсоплазменной инвазии при ВИЧ [23]. Так, в некоторых работах показано, что сочетание ИФА и иммуноблоттинга может более надежно установить факт реактивации возбудителя [17, 24]. С этой целью нами был разработан метод иммуноблоттинга с мембранным антигеном *T.gondii* [3]. При реактивации токсоплазмоза отмечены некоторые особенности: появление антител к белкам с массой менее 20 и 65 — 70 кДа. Эти факты согласуются с данными зарубежных авторов, которые предлагают рассматривать наличие в тесте антител против антигенов паразита с массой 6, 20, 25 и 60 кДа прогностическим критерием вероятного развития заболевания [28].

*Молекулярно-генетические критерии реактивации.* Анализ всех случаев смерти от токсоплазмоза за 2006 — 2008 гг. в ИКБ № 2 Москвы показал, что у 84% таких больных первичный очаг инвазии находился в ЦНС, но поражение головного мозга развивалось изолированно только в 61% случаев [4], в остальных случаях предполагается генерализация процесса. Соответственно, присутствие в крови и СМЖ ДНК *T.gondii* свидетельствует как о локализации возбудителя, так и о начале реактивации инвазии. По нашим данным ДНК *T.gondii* у больных церебральным токсоплазмозом выявлена в крови в 53,1% случаев, а в СМЖ — в 57,1% случаев. Результаты исследований других авторов также показывают достоверную корреляцию между иммунологическими и молекулярными критериями реактивации и высокую специфичность обнаружения ДНК токсоплазм при ВИЧ-инфекции, что дает основание, безусловно, рекомендовать данный критерий [21, 35].

Надо сказать, что локализация *T.gondii* в организме человека и соответствующая локализации клиническая форма заболевания во многом опосредованы генотипом паразита [25, 26]. Поэтому мы считаем перспективным не только определять ДНК токсоплазм в крови, СМЖ и других тканях, но и параллельно генотип возбудителя, что позволит предполагать локализацию реактивации инвазии. Также

было показано, что у тахизоитов токсоплазмоза можно выявить РНК, специфичные для данной стадии существования паразита, отсутствующие у брадизоитов цист (латентных форм) [30]. В этой связи, также актуально проведение исследований по выявлению корреляции между реактивацией токсоплазмоза и обнаружением РНК, типичных для диссеминирующих, активных форм паразита.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гончаров Д.Б. Значение персистенции *Toxoplasma gondii* в клинической патологии человека. Журн. микробиол. 2006, 4: 92-97.
2. Гончаров Д.Б., Губарева Е.В., Тишкевич О.А. и др. Изучение персистенции низковирulentного штамма *Toxoplasma gondii* на модели *in vivo*. Журн. микробиол. 2009, 4: 107-111.
3. Губарева Е.В., Гончаров Д.Б., Перегудова А.Б. и др. Особенности эпидемиологии и диагностики токсоплазмоза при ВИЧ-инфекции. Журн. микробиол. 2010, 2: 28-32.
4. Губарева Е.В., Гончаров Д.Б., Кобец Н.В. и др. Разработка подходов к созданию системы диагностики и профилактики токсоплазмоза при ВИЧ-инфекции. Эпидемиол. вакцинопроф. 2010, 4 (53): 60-65.
5. Долгих Т.И. Токсоплазмоз: современная стратегия лабораторной диагностики. Инфекции и иммунитет. 2011, 1 (1): 43-50.
6. Кобец Н.В., Зайцева Л.Г., Гончаров Д.Б. и др. Иммунный ответ при токсоплазмозе после мукозальной иммунизации антигенами *Toxoplasma gondii*. Мед. паразитол. 2010, 1: 10-14.
7. Лечение и помощь при ВИЧ/СПИДе у детей. Клинический протокол для Европейского региона ВОЗ. Европейское региональное бюро ВОЗ. Королевство Дания, Копенгаген, 2006.
8. Лечение и помощь при ВИЧ/СПИДе у детей. Клинические протоколы для Европейского региона ВОЗ. Королевство Дания, Копенгаген, 2006.
9. Перегудова А.Б., Шахгильдян В.И., Гончаров Д.Б. и др. Клинические особенности и диагностическое значение лабораторных маркеров церебрального токсоплазмоза у больных ВИЧ-инфекцией. Тер. архив. 2007, 79 (11): 31-35.
10. Перегудова А.Б., Шахгильдян В.И., Цветкова О.А. и др. Структура поражения центральной нервной системы у больных ВИЧ-инфекцией специализированного отделения инфекционной больницы. Тер. архив. 2010, 82 (11): 22-27.
11. Покровский В.В., Ермак Г.Н., Беляева В.В. и др. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение. М., Геотар-медиа, 2003.

12. Покровский В.В. (ред.). ВИЧ-инфекция и СПИД. М., Геотар-медиа, 2010.
13. Тишкевич О.А., Шахгильдян В.И., Пархоменко Ю.Г. Структура летальных исходов и патологическая анатомия у больных ВИЧ-инфекцией в Москве. Эпидемиол. инфекц. бол. 2004, 4: 42-46.
14. Цинзерлинг В.А., Комарова Д.В., Рахманова А.Г. и др. Актуальные проблемы морфологической диагностики и патоморфоз ВИЧ-инфекции. Арх. патологии. 2010, 72 (2): 26-30.
15. Шахгильдян В.И. Цитомегаловирусная инфекция (Лекции по инфекционным болезням). Ющук Н.Д., Венгеров Ю.А. (ред.). М., Медицина, 2007.
16. Ajzenberg D., Cogne N., Paris L. et al. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. J. Infect. Dis. 2002, 186: 684-689.
17. Ashburn D., Davidson M.M., Joss A.W. et al. Improved diagnosis of reactivated toxoplasmosis. Mol. Pathol. 1998, 51 (2): 105-109.
18. Borges A.S., Figueiredo J.F. Detection of anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM and IgA immunoglobulins in the serum, cerebrospinal fluid and saliva of patients with acquired immunodeficiency syndrome and neurotoxoplasmosis. Arq. Neuropsiquiatr. 2004, 62 (4): 1033-1037.
19. Borges A.S., Figueiredo J.F. Evaluation of intrathecal synthesis of specific IgG antibodies against *Toxoplasma gondii* in the diagnosis assessment of presumptive toxoplasma encephalitis in AIDS patients. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2004, 37 (6): 480-484.
20. Circillo S.F., Rosenblum M.L. Imaging of solitary lesions in AIDS. J. Neurosurg. 1991, 74 (6): 1029.
21. Colombo F.A., Vidal J.E., de Oliveira A.C. et al. Diagnosis of cerebral toxoplasmosis in AIDS patients in Brazil: importance of molecular and immunological methods using peripheral blood samples. J. Clin. Microbiol. 2005, 43 (10): 5044-5047.
22. Contreras M.C., Sandoval L., Salinas P. et al. Diagnostic use of ELISA IgG, IgM, IgA and ELISA avidity in recent and chronic toxoplasmosis. Bol. Chil. Parasitol., 2000, 55 (1-2): 17-24.
23. Dzitko K., Staczek P., Gatkowska J. et al. *Toxoplasma gondii*: Serological recognition of reinfection. Exp. Parasitol. 2006, 112 (2): 134-137.
24. Fekkar A., Bodaghi B., Touafek F. et al. Comparison of immunoblotting, calculation of the Goldmann-Witmer coefficient, and real-time PCR using aqueous humor samples for diagnosis of ocular toxoplasmosis. J. Clin. Microbiol. 2008, 46 (6): 1965-1970.
25. Fux B., Nawas J., Khan A. et al. *Toxoplasma gondii* strains defective in oral transmission are also defective in developmental stage differentiation. Infect. Immun. 2007, 75 (5): 2580-2590.
26. Genot S., Franck J., Forel J.-M. et al. Severe *Toxoplasma gondii* I/III recombinant-genotype encephalitis in a human immunodeficiency virus patient. Clin. Microbiol. 2007, 45 (9): 3138-3140.
27. Kim S.K., Boothroyd J.C. Stage-specific expression of surface antigens by *Toxoplasma gondii* as a mechanism to facilitate parasite persistence. J. Immunol. 2005, 174 (12): 8038-8048.
28. Leport C., Franck J., Chene G. et al. Immunoblot profile as predictor of toxoplasmic encephalitis in patients infected with human immunodeficiency virus. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2001, 8 (3): 579-584.
29. Levi R.M. The efficacy and clinical impact of brain imaging in neurologically symptomatic AIDS patients: a prospective CT/MRI study. J. AIDS. 1990, 3 (5): 461-471.
30. Lirussi D., Matrajt M. RNA granules present only in extracellular *Toxoplasma gondii* increase parasite viability. Int. J. Biol. Sci. 2011, 7 (7): 960-967.
31. Luft B.J., Remington J.S. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. Clin. Infect. Dis. 1992, 15 (2): 211-222.
32. Portegies P. The neurology of HIV-1 infection. London, Meditech Media, 1995.
33. Saeij J.P., Boyle J.P., Boothroyd J.C. Differences among the three major strains of *Toxoplasma gondii* and their specific interactions with the infected host. Trends Parasitol. 2005, 21: 476-481.
34. Stroehle A., Schmid K., Heinzer I. et al. Performance of a Western immunoblot assay to detect specific anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in human saliva. J. Parasitol. 2005, 91 (3): 561-563.
35. Vidal J.E., Colombo F.A., de Oliveira A.C. et al. PCR assay using cerebrospinal fluid for diagnosis of cerebral toxoplasmosis in Brazilian AIDS patients. J. Clin. Microbiol. 2004, 42 (10): 4765-4768.

Контактная информация: Гончаров Дмитрий Борисович,  
123009, Москва, ул. Гамалеи, 18, р.т. (499) 193-61-36