

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Задорожний А.М., Герасун Б.А., 2009
УДК 616.993.192.1-036.12-07:616.153.96-07

А.М. Задорожний, Б.А. Герасун

КРІОГЛОБУЛІНЕМІЯ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ НАБУТИЙ ТОКСОПЛАЗМОЗ

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Наявність у частини хворих з anti-Toxo вираженої кріоглобулінемії та особливості клінічних проявів хвороби доводять зв'язок вегето-судинної дистонії (ВСД) із кріоглобулінемією. Особливе значення це має у разі низької концентрації anti-Toxo IgG у хворих із проявами вегето-судинної дистонії. Отримані результати підтверджують, що кріоглобулінемія є частим ускладненням токсоплазмозу, яке необхідно враховувати в алгоритмі лікування таких хворих.

Ключові слова: токсоплазмоз, кріоглобулінемія, вегето-судинна дистонія, anti-Toxo IgG.

Відомо, що при багатьох інфекційних захворюваннях виникає кріоглобулінемія. Зазвичай за складом преципітуючих на холоді імуноглобулінів, її відносять до так званої змішаної кріоглобулінемії. У хворих на токсоплазмоз кріоглобуліни складаються з поліклональних IgM, IgG або IgA (IgM має активність ревматоїдного фактору) [1, 2]. Такий склад холодних імуноглобулінів характерний для змішаної кріоглобулінемії 3-го типу [2-4].

Синдром кріоглобулінемії, що характеризується поліморфізмом симптоматики, має багато спільного із клінічними проявами хронічного набутого токсоплазмозу. Зокрема, це стосується наявності тривалого субфебрилітету, метеорологічної залежності, поганого сприйняття холоду, міалгій та артралгій, лімфаденопатії, вегето-судинних кризів та ін. Особливо складна діагностика токсоплазмозу у хворих із ВСД. У наших дослідженнях понад 50 % хворих з ВСД мали антитіла до токсоплазм, але лише у 12,8 % з них антитіла були у концентрації понад 200 МО/мл, значна частина пацієнтів (33 %) мали антитіла у низькій концентрації [5].

У значної частини пацієнтів з наявністю anti-Toxo класу IgG та клінічною картиною вегето-судинної дистонії відсутні ознаки активного інфекційного процесу: полімеразна ланцюгова реакція негативна, вміст антитіл до токсоплазм у сироватці крові протягом тривалого часу незначний, до того

ж стабільний, рівень сенсibiliзації до антигенів збудника хвороби незначний або помірний. У такому разі зв'язок клінічних проявів з токсоплазмозом викликає сумніви, етіологічний діагноз у значної частини хворих залишається незрозумілим. Тим більше, що виявлення інших етіологічних чинників, які б можна було трактувати як причину хвороби, у більшості з цих хворих виявити не вдається, навіть за допомоги ампліфікаційних технологій.

У більшості подібних спостережень алгоритм диференційної діагностики не включає заходів з діагностики кріоглобулінемії. Можливий зв'язок клінічних проявів із синдромом кріоглобулінемії у хворих із підозрою на токсоплазмоз, у тому числі з проявами вегето-судинної дистонії, зазвичай не розглядається. Роль кріоглобулінемії у хворих, які мають антитіла до токсоплазм і клінічні прояви вегето-судинної дистонії, залишається мало вивченою. Саме тому метою роботи було дослідження частоти та особливостей кріоглобулінемії у хворих із наявністю anti-Toxo класу IgG і клінічними проявами ВСД.

Пацієнти і методи

Обстежено 99 осіб, які мали антитіла до токсоплазм класу IgG. Серед них було 50 донорів (здорові особи, що відповідали вимогам до донорів крові) та 49 хворих, які мали клінічні прояви ВСД. Серед осіб, які мали антитіла до токсоплазм за відсутності клінічних ознак хвороби (донори), було 22 жінки і 28 чоловіків; серед хворих з клінічними ознаками токсоплазмозу переважали жінки (32 із 49 обстежених – 65,3 %).

Антитіла до токсоплазм визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-систем «Вектор-Бест». Моніторинг вмісту антитіл здійснювали методом «парних сироваток», для чого досліджували взірці протягом трьох-чотирьох місяців зберігали за температури -40 °С (дослідження взірців проводили одночасно).

Сенсibiliзацію хворих до антигенів збудника визначали за інтенсивністю синтезу фактора некрозу пух-

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

лин альфа (ФНП- α) у культурі лейкоцитів, що активована антигеном. Використовували антигени токсоплазм на твердій фазі виробництва ЗАТ «Вектор-Бест». Методика культивування лейкоцитів у цих дослідах описана раніше [5, 6]. Як контроль дослідження використовували не стимульовані антигеном лейкоцити, а також лейкоцити здорових донорів, які не мали антитіл до токсоплазм (за даними ІФА). ФНП- α у супернатанті стимульованих лейкоцитів визначали методом ІФА з використанням тест-системи для наукових досліджень виробництва ТОВ «Протеиновый контур», що дозволяє кількісно визначати ФНП- α у культуральній рідині.

У всіх досліджуваних взірцях сироватки крові визначали кріоглобуліни. Для цього використовували такі методи.

Візуальний кількісний. Метод заснований на холодовій преципітації кріоглобулінів. Венозну кров, отриману за допомогою нагрітого шприца, інкубували за температури 37 °С до утворення згустку. Сироватку, що відділилася, витримували за температури 4 °С протягом трьох діб у спеціальних мірних пробірках. Після холодової інкубації сироватку центрифугували при 400g протягом 30 хв у центрифугі з охолодженням. Якщо випадав осад, вимірювали його співвідношення із рідкою частиною сироватки (виражали у відсотках від загального об'єму сироватки).

Спектрофотометричний метод визначення кріоглобулінів у сироватці крові. Якщо після холодової інкубації сироватки крові преципітат не утворився або кількість його була незначною, то спектрофотометричним методом при довжині хвилі 500 нм визначали оптичну густину сироватки. Результат виміру зіставляли з показником оптичної густини сироватки крові, отриманої безпосередньо після її відокремлення від згустку, що утворився в термостаті. Якщо різниця між показниками перевищувала 10 %, результат вважали позитивним. Співвідношення цих показників характеризує вміст кріоглобулінів у сироватці крові [2].

Визначення кріоглобулінів 3-го типу методом гістерезисних кривих. Для цього встановлюється співвідношення наступних показників оптичної густини: 1) сироватки, що не піддавались охолодженню (D1); 2) сироватки, що були інкубовані за температури 4 °С протягом 24 год (D2); 3) сироватки, які після 24-годинного охолодження інкубовані у термостаті за температури 37 °С протягом 90 хв (D3). Досліджувані взірці попередньо розводили у веронал-мединаловому буфері при рН 8,6 (співвідношення 1:2).

У разі розбіжності показників D1 та D3 понад 10 % діагностували кріопатію 3-го типу [2].

Для визначення антитіл до токсоплазм класу IgG у преципітаті осад, отриманий після центрифугування попередньо охолодженої сироватки, розводили теплим

(t 37 °С) ізотонічним розчином хлориду натрію та інкубували протягом години при 37 °С. Після цього у розчині визначали anti-Toxo IgG методом ІФА, результати зіставляли з концентрацією антитіл у сироватці крові, що не піддавалась охолодженню.

Результати досліджень та їх обговорення

При обстеженні 50 донорів крові, які мали антитіла до токсоплазм, кріоглобуліни були виявлені у 4 з них (8 %). Вміст кріоглобулінів у сироватці крові обстежених був незначний: оптична густина сироватки крові після 24-годинного охолодження змінилася лише на 10-15 % (позитивний результат >10 %).

Аналогічна частота кріоглобулінемії спостерігалась і при обстеженні донорів крові, які не мали антитіл до токсоплазм: холодіві преципітуючі білки виявлені в 3 з 50 обстежених (6 %), теж лише за допомогою спектрофотометричного методу.

Інакше це виглядало у хворих із наявністю anti-Toxo IgG: частота виявлення кріоглобулінів була значно вищою і становила 38,8 % (у 19 з 49 обстежених). До того ж у 7 хворих (з 19, що мали кріоглобуліни; 36,8 %) вміст кріоглобулінів у сироватці крові був високим (табл. 1). У таких випадках об'єм осаду коливався у діапазоні від 30 до 50 % загального об'єму сироватки крові. Отже, можна вважати встановленим, що у пацієнтів із клінічними проявами токсоплазмозу кріоглобулінемія виникає вірогідно частіше, ніж у здорових людей, що мають антитіла до токсоплазм (відповідно 38,8 і 8 %; $p=0,0002$).

Аналіз інтенсивності кріоглобулінемії в обстежених пацієнтів з anti-Toxo IgG (табл. 1) свідчить, що високий вміст холодіві преципітуючих білків спостерігався у хворих з різним вмістом anti-Toxo IgG, у тому числі й серед тих, хто мав антитіла в концентрації нижче за 50 МО/мл. Це, на нашу думку, дозволяє пояснити клінічну симптоматику хвороби у пацієнтів із «сумнівним» діагнозом токсоплазмозу, якщо виходити з діагностичної значимості виявлених антитіл.

Відомо, що сама по собі наявність антитіл класу IgG до токсоплазм не є достатньою підставою для діагностики хронічного активного токсоплазмозу, особливо якщо кількість їх не перевищує 100 МО/мл сироватки крові. Тим не менше, для уточнення діагнозу ми виконали додаткові імунологічні дослідження. Як раніше було встановлено [6], у таких випадках для підтвердження діагнозу токсоплазмозу має значення рівень специфічної сенсibiliзації до антигенів збудника

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 1

Кріоглобулінемія у хворих із різним вмістом anti-Toxo IgG

Вміст anti-Toxo IgG (n=49)	Виявлено кріоглобуліни	Візуальний метод	Спектрофотометричний метод		
			10-15	15,1-20	>20
До 50	7 (14,28 %)	5 (10,20 %)	1 (2,04 %)	-	1 (2,04 %)
51-100	5 (10,20 %)	2 (4,08 %)	-	3 (6,12 %)	-
101-150	1 (2,04 %)	1 (2,04 %)	-	-	-
151-200	4 (8,16 %)	-	3 (6,12 %)	1 (2,04 %)	-
>200	2 (4,08 %)	1 (2,04 %)	-	-	1 (2,04 %)
Разом	19 (38,76 %)	9 (18,36 %)	4 (8,16 %)	4 (8,16 %)	2 (4,08 %)

(гіперчутливість сповільненого типу – ГЧСТ). При цьому ми виходимо з того, що ГЧСТ до антигенів збудника є у всіх, хто має anti-Toxo, але рівень її суттєво відрізняється, а це має важливе діагностичне значення.

В обстежених донорів крові з anti-Toxo IgG вміст ФНП-α у супернатанті стимульованих антигеном лейкоцитів (показник рівня ГЧСТ) не перевищував 180 пг/мл (незалежно від вмісту антитіл у сироватці крові). Натомість в обстежених хворих аналогічні низькі показники ГЧСТ до антигенів токсоплазм спостерігалися лише у разі низької концентрації anti-Toxo. У хворих, що мали anti-Toxo у концентрації понад 200 МО/мл, вміст ФНП-α коливався у межах від 180 до 1110 пг/мл. Проте у двох хворих із незначним та помірним вмістом антитіл (70 та 140 МО/мл) сенсibiliзація до антигенів токсоплазм збудника виявилася інтенсив-

ною. А таке, попри низький вміст антитіл, можна розглядати як вказівку на активний інфекційний процес з недостатністю гуморального імунітету (переважає його клітинна ланка). В інших хворих з низьким вмістом антитіл і слабкою реактивністю на антигени збудника підстав для діагностики активного інфекційного процесу ми не встановили. Тому для частини хворих із низьким вмістом anti-Toxo у сироватці крові здається цілком ймовірним зв'язок проявів хвороби із встановленою в них кріоглобулінемією. На користь цього свідчать і деякі особливості клінічних проявів хвороби (табл. 2). З наведених даних видно, що у хворих на ВСД із кріоглобулінами в крові значно частіше, ніж в інших пацієнтів з ВСД, спостерігалися акроціаноз, погане сприйняття холоду, лімфаденопатія та міалгії, тобто симптоми, що є частими проявами кріоглобулінемії [7].

Таблиця 2

Вплив кріоглобулінемії на особливості ВСД та інші клінічні прояви у хворих із anti-Toxo IgG

Симптом	Пацієнти з ВСД і кріоглобулінемією, % (n=19)	Пацієнти з ВСД, % (n=30)	P
Приступоподібний біль голови	52,6	63,3	0,4625
Тривалий субфебрилітет	57,8	46,6	0,4449
Підвищена дратівливість	52,6	63,3	0,4625
Порушення сну	36,8	60,0	0,1096
Локальне підвищення пітливості	47,4	43,3	0,78
Погіршення самопочуття при зміні погоди	68,4	53,3	0,2872
Погане сприйняття холоду	89,5	6,7	0,0001
Бронхоспазм, задишка на холоді	26,9	3,3	0,0321
Холодова стенокардія	27,1	-	0,0107
Холодові васкуліти	21,1	-	0,0289
Холодові мігрені	18,8	-	0,0414
Холодова гіпотензія	18,3	6,6	0,2461
Акроціаноз	31,6	3,3	0,0145
Мармурова шкіра	68,4	10,0	0,0001
Лімфаденопатія	63,2	26,7	0,0105
Артралгії	79,8	83,3	0,7613
Міалгії	42,1	6,7	0,0057
Нефритичний синдром	26,9	13,3	0,2594

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Визначення anti-Toxo у холодовому преципітаті підтвердило, що anti-Toxo IgG входять до складу преципітуючих білків. Проте розрахункові дані свідчать, що у більшості хворих це не могло бути причиною низького вмісту антитіл. Лише у хворих, в яких об'єм осаду сягав 40-50 % від загального об'єму сироватки крові, таке можливе.

Висновки

1. Кріоглобулінемія є частим ускладненням токсоплазмозу, що необхідно враховувати в алгоритмі лікування таких хворих.

2. У хворих з вегето-судинною дистонією та низьким або помірним вмістом антитіл до токсоплазм кріоглобуліни виявляються значно частіше, ніж серед пацієнтів, які не мають антитіл до токсоплазм. Наявність у частини хворих з anti-Toxo вираженої кріоглобулінемії та особливості клінічних проявів хвороби доводять зв'язок вегето-судинної дистонії із кріоглобулінемією.

3. Частота кріоглобулінемії у хворих із низьким вмістом anti-Toxo та помірною інтенсивністю ГЧСТ до антигену токсоплазм свідчить, що кріоглобулінемія у цих пацієнтів є наслідком перенесеного токсоплазмозу.

Література

1. Насонов Е.Л., Баранов А.А., Шишкина Н.П. Васкуліти и васкулопатии. – Ярославль: Верхняя Волга, 1999. – 616 с.
2. Клінічний алгоритм надання медичної допомоги хворим на поліклоновий (змішаний) кріоглобулінемічний синдром: Методичні рекомендації / Чоп'як В.В., Господарський І.Я., Герасун Б.А. – К., 2005. – 33 с.

3. Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. Г. Лолора-младшего, Т. Фишера и Д. Адельмана: пер. с англ. – М.: Практика, 2000. – 806 с.

4. Якобияк М. Імунологія: пер з польської за ред. В.В. Чоп'як. – Вінниця: Нова книга, 2004. – 672 с.

5. Патент на корисну модель № 26600. Спосіб визначення сенсibiliзації організму при інфекційних хворобах / Герасун О.Б., Задорожний А.М., Зінчук О.М. – Опубл. 25.09.2007 р.

6. Герасун Б.А., Задорожний А.М. Особливості вегето-судинної дистонії у хворих на хронічний набутий токсоплазмоз // Практична медицина. – 2007. – № 3. – С. 62-64.

7. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. – 604 с.

CRYOGLOBULINEMIA IN PATIENTS WITH CHRONIC ACQUIRED TOXOPLASMOSIS

A.M. Zadorozhny, B.A. Herasun

SUMMARY. Presence of expressed cryoglobulinemia in part of patients with anti-Toxo and peculiarities of clinical signs of disease prove the connection between vegetovascular dystonia and cryoglobulinemia. It has a special meaning in case of low concentration of anti-Toxo IgG in patients with manifestations of vegetovascular dystonia. Obtained results prove that cryoglobulinemia is frequent complication of toxoplasmosis, which is necessary to take into consideration in algorithm of treatment of such patients.

Key words: toxoplasmosis, cryoglobulinemia, vegetovascular dystonia, anti-Toxo IgG.

© Ковалик А.П., 2009

УДК 616.22-003.92-007.271+612.781]-018.73-008.87

А.П. Ковалик

МІКРОФЛОРА СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ГОРТАНІ ЗДОРОВИХ ОСІБ І ХВОРИХ З ІІ РУБЦЕВИМ СТЕНОЗОМ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

Вивчено частоту виявлення, щільність і видовий склад мікроорганізмів, виділених зі слизової оболонки гортані 40 здорових осіб (контрольна група) і 55 хворих на рубцевий стеноз гортані. Загальна

щільність мікробних популяцій у здорових осіб становила (2672 ± 614) КУО/мл, у хворих на рубцевий стеноз гортані – (17510 ± 1983) КУО/мл. Усього виділено й ідентифіковано 312 штамів мікроорганізмів. У