https://doi.org/10.15407/animbiol24.02.014
UDC 619:616:41:636.12:611.4
Received 12.01.2022 ▪ Accepted 12.05.2022 ▪ Published online 01.07.2022

Показники клітинної ланки імунітету у серопозитивних та серонегативних котів за токсоплазмозу

В. Б. Кустуров, М. М. Брошков
rectormb@osau.edu.ua, mr_m_m@ukr.net

Одеський державний аграрний університет,
вул. Пантелеймонівська, 13, м. Одеса, 65012, Україна

У роботі представлені дані досліджень імунограм у серопозитивних (СП) та серонегативних (СН) до *Toxoplasma gondii* котів та залежність абсолютної кількості імунокомпетентних клітин від умов утримання тварин. У дослідженні використовували кров від домашніх та безпритульних котів віком від 3 до 5 років, у яких під час серологічного дослідження виявлені IgG до *T. gondii*. Аналізуючи середні показники (СП) безпритульних котів, варто зазначити, що у 10 тварин (22%) встановлено достатньо високі титри IgG 3,24±0,835 (P≤0,05) і лише п'ять котів (11%) можна вважати такими, які не контактували зі збудником токсоплазмозу. Нейтрофіли як імунорегуляторні клітини одними з перших зустрічаються та інфікуються токсоплазмою після того, як паразит перетинає епітелій кишечнику. За визначення здатності нейтрофілів до фагоцитозу було встановлено, що у СП безпритульних котів цей показник удвічі нижчий за СН та у понад 4 рази за СН домашніх котів. Аналіз показників вмісту абсолютної кількості лімфоцитів та їх Т-популяції в крові у різних груп котів показав, що у СП безпритульних котів ці показники були нижчими. Доведеним фактом є те, що для контролю адекватної імунної відповіді в організмі тварин вкрай важливим є не тільки кількісне значення популяції імунорегуляторних клітин, але й співвідношення між ними. Отримані результати вказують на те, що серед безпритульних тварин була вдвічі більша серопозитивність на токсоплазмоз порівняно з домашніми котами. Встановлено, що у СП домашніх котів вищий показник Т-супресорів і за рахунок цього IPI становить 2,38±0,175. Проте у СП безпритульних котів більша Т-хелперна субпопуляція лімфоцитів, тому IPI становить 4,13±0,506. У СП домашніх котів абсолютний вміст В-лімфоцитів становив 0,616±0,038 і є найвищим порівняно з іншими групами. Встановлені також відмінності вмісту в крові NK-клітин, а саме у СП безпритульних він є вищим, ніж у СП домашніх котів. Таким чином, широке розповсюдження та постійне збільшення інфекції в навколишньому середовищі регіону спричинене повсюдно поширеними безпритульними котами, інфікованими *T. gondii*.

Ключові слова: *Toxoplasma gondii*, титр IgG, фагоцитарна активність нейтрофілів, NK-клітини

Епізоотичний стан паразитарних захворювань домашніх тварин в умовах великих міст України залишається складним і має тенденцію до погіршення. У поширенні токсоплазмозу значну роль відіграють коти — дефінітивні хазяї збудника. Ці тварини розсіюють навколо себе велику кількість ооцист, які виділяються з фекаліями, значно забруднюючи навколишнє середовище [28].

Хоча токсоплазма викликає безсимптомну інфекцію у більшості господарів, паразит може виникнути як опортуністична інфекція за імунодефіцитних станів. Паразит використовує складні молекулярні стратегії, щоб збалансувати механізми ухилення від активації імунної відповіді хазяїна [13].

Захисні клітини, залучені до первинного вогнища інфекції, є мішенями для паразитів, які проникають у клітину, щоб циркулювати по організму всередині клітини-хазяїна за механізмом, подібним до троянського коня, доставляючи паразита до різних тканин — таких, як центральна нервова система і очі [9]. Згідно з сучасними уявленнями, на ранніх стадіях інфекції (в експериментах, зокрема *in vitro*) *T. gondii* ініціюють антиген-неспецифічний Т-клітинно-незалежний імунітет через активацію макрофагів і природних кі-

лерів. Ця активація опосередковується цитокіновими системами, що проявляється у посиленні продукції інтерферону-гамма (ІФН-γ) природними кілерами з подальшою активацією мікробіцидної функції в макрофагах, що обмежує реплікацію тахізоїтів, поки не сформується адекватний імунітет, опосередкований Т-клітинами [23, 11, 34, 18]. На ранніх стадіях інфекції *T. gondii* виникає каскад реакцій між макрофагами та природними кілерними клітинами, що призводить, з одного боку, до прямого обмеження поширення патогену, а з іншого — до синтезу цитокінів, що визначає тип імунної відповіді та активації Т-лімфоцитів. *T. gondii* є потужним індуктором антиген-специфічних ліній Т-лімфоцитів: з хелперною активністю (клітини CD4) та з кілерною та супресорною активністю (цитотоксичні клітини CD8), що доводить участь паразитарних пептидів у клітинно-опосередкованих методах презентації антигену.

Лікування тварин від токсоплазмозу — надзвичайно важлива проблема. Немає доказів того, що будь-який лікарський засіб може повністю очистити організм від *T. gondii*, тому повторне клінічне захворювання може виникати в інфікованих собак або котів [35]. Важко спровокувати клінічний токсоплазмоз у собак чи котів без супутніх захворювань, пригнічення імунітету, тому контрольованих досліджень впливу на кишечник немає [15]. Деякі собаки та коти із захворюваннями центральної нервової системи потребують підтримувального лікування — наприклад, протисудомними препаратами.

Зазвичай після зникнення симптомів токсоплазмоз переходить у стадію хронічного прихованого захворювання. У цьому випадку *T. gondii* зберігається у вигляді внутрішньоклітинних цист у клітинах-хазяїнах та всередині ділянок деструкції у внутрішніх органах [16]. Нехарактерні клінічні прояви й перебіг токсоплазмозу, часте переважання латентних форм над клінічно вираженими унеможливлюють постановку діагнозу. Отже, вивчення показників імунного стану домашніх тварин є актуальним питанням в зв'язку з необхідністю розроблення методологічних підходів до проведення неспецифічної системної імунотерапії за токсоплазмозу.

Метою дослідження було визначення особливостей показників клітинної ланки імунітету (показників імунограми) у домашніх та безпритульних котів за токсоплазмозу.

Матеріали і методи

Дослідження провели впродовж 2020–2021 рр. на 13 домашніх і 6 безпритульних котах різної статі віком від 3 до 5 років, в умовах Багатопрофільної лабораторії ветеринарної медицини Одеського державного аграрного університету, м. Одеса. Матеріалом для імунологічних досліджень слугувала кров тварин, відібрана з вени передпліччя. У сироватці крові усіх тварин визначали наявність IgG до *Toxoplasma gondii* методом твердофазного імуноферментного аналізу на ІФА-аналізаторі *Multiskan FC* (Фінляндія) за допомогою тест-системи фірми «Хема» (РФ). За результатами серологічного дослідження котів було сформовано три групи тварин: I — серопозитивні (СП) домашні коти (n=7); II — серонегативні (СН) домашні коти (n=6); III — серопозитивні (СП) безпритульні коти (n=6). За СП вважали показник IgG до *T. gondii* понад 1,1 ум. од. (референтні значення при визначенні титру IgG *Toxoplasma gondii* становлять: <0,9 — негативний результат; 0,9–1,1 — сумнівний результат; >1,1 — позитивний результат). У крові тварин дослідних груп визначали абсолютну кількість лейкоцитів (за методикою Т. В. Дегтяренка), лімфоцитів, їхніх імунорегуляторних субпопуляцій (в реакції розеткоутворення з еритроцитами барана) та кількість фагоцитуючих нейтрофілів на 50 нейтрофілів. Фагоцитуючою вважали клітину-нейтрофіл, який поглинув одну та більше дріжджових клітин [10]. Результати досліджень обробляли статистично загальноприйнятими методами.

За висновком комісії з біоетичної експертизи від 10 лютого 2022 року, усі досліди виконано з дотриманням вимог Конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей, дотримуючись загальних етичних принципів поводження з тваринами, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Результати й обговорення

Відповідно до результатів наших попередніх досліджень [30], антитіла до *T. gondii* виявлені у 22 (49%) з 45 обстежених котів, а 18 котів (40%) були визначені як «сумнівні», тобто середні показники титру IgG був в межах 0,9–1,1, що не перевищувало середнє значення OD для критичних контролів. Ці результати не були класифіковані як позитивні чи негативні і, відповідно до рекомендацій виробника, вони вважалися «сумнівними» щодо інфекції *T. gondii*. Аналізуючи середні показники СП котів, треба зазначити, що у 10 тварин (22%) встановлені достатньо високі титри IgG — 3,24±0,835 (P≤0,05) і лише 5 котів (11%) можна вважати такими, що не контактували зі збудником токсоплазмозу. Проведені нами дослідження показали, що 24,4% домашніх котів та 22,0% собак є СП щодо *T. gondii* [30].

Отримані результати свідчать про те, що серед безпритульних тварин достатньо висока СП на токсоплазмоз — вдвічі більша порівняно з домашніми котами. Отже, можна припустити, що за високе поширення токсоплазмозу в регіоні частково відповідають інфіковані *T. gondii* безпритульні коти, які сприяють розповсюдженню збудника в навколишньому середовищі.

Критичними факторами у боротьбі з інфекційним агентом є стан імунної системи та адекватна імунна відповідь під час контакту зі збудником.

Таблиця. Показники клітинної ланки імунного захисту у серопозитивних та серонегативних до *Toxoplasma gondii* котів
Table. Indicators of cellular immune defense in cats seropositive and seronegative to *Toxoplasma gondii*

Показники Indexes	Домашні коти Domestic cats		Безпритульні коти Stray cats
	СП до *T. gondii* (I група) Seropositive for *T. gondii* (1st group)	СН до *T. gondii* (II група) Seronegative for *T. gondii* (2nd group)	СП до *T. gondii* (III група) Seropositive for *T. gondii* (3rd group)
Лейкоцити, Г/л Leukocytes, G/l	9,27±1,10	14,98±2,67*	5,8±1,17
Лімфоцити, Г/л Lymphocytes, G/l	3,59±0,57	3,87±0,63	1,94±0,192
Т-лімфоцити, Г/л T-lymphocytes, G/l	1,91 ±0,106	2,704±0,48	1,21±0,193
Т-хелпери, Г/л T-helpers, G/l	1,359±0,244	2,27±0,19	1,039±0,045
Т-супресори, Г/л T-suppressors, G/l	0,572±0,083	0,804±0,05	0,237±0,029
В-лімфоцити, Г/л B-lymphocytes, G/l	0,616±0,038	0,416±0,04	0,232±0,027
Імунорегуляторний індекс (Тх/Тс) Immunoregulatory index (Th/Ts)	2,38±0,175	2,82±0,056*	4,13±0,506*
NK-клітини, Г/л NK cells, G/l	0,168±0,009	0,381 ±0,015*	0,209±0,004*
Фагоцитарна активність нейтрофілів, Г/л Phagocytic activity of neutrophils, G/l	3,014±0,168	6,82±1,74*	1,491±0,217*

Примітка. * — P<0,05 — порівняно з тваринами I групи.
Note. * — P<0.05 — compared with animals of 1st group.

Стан імунної системи відіграє провідну роль у забезпеченні адекватної відповіді організму за інфікування паразитом *T. gondii* [38, 40, 21]. Імунограма дає можливість оцінити стан клітинної ланки імунної системи організму в нормі і за патології. У табл. представлені показники імунограми СП домашніх та безпритульних котів, а також СН домашніх котів.

За результатами аналізу встановлено, що абсолютна кількість лейкоцитів у безпритульних СП котів становила 5,8±1,17 Г/л, що в 1,6 раза (P<0,001) нижче, ніж у домашніх СП котів, та у 2,6 раза (P<0,001) нижче, ніж у домашніх СН котів. Дані щодо вмісту абсолютної кількості лімфоцитів та їх Т-субпопуляції у крові в різних груп котів також показують, що ці показники були нижчими у СП безпритульних котів.

Для адекватної імунної відповіді вкрай важливим є не тільки кількісне значення популяції імунорегуляторних клітин, але й співвідношення між ними. Співвідношення між субпопуляціями Т-хелперів та Т-супресорів називається імунорегуляторний індекс (IPI). Оптимальним цей показник є в домашніх СН котів — 2,82±0,065. Хоча у СП домашніх та безпритульних тварин абсолютна кількість Т-хелперів та Т-супресорів є нижчою порівняно з домашніми СН котами. При цьому показник IPI має особливості: у СП домашніх котів вищий показник Т-супресорів і за рахунок цього IPI — 2,38±0,175, тоді як у СП безпритульних котів більша субпопуляція Т-хелперів і відповідно, IPI — 4,13±0,506. Абсолютний вміст В-лімфоцитів у СП домашніх котів становив 0,616±0,038, що є найвищим показником порівняно з іншими групами (P<0,001). Встановлені також відмінності у показнику NK-клітин, а саме у СП безпритульних він є вищим (P<0,001), ніж СП домашніх котів.

Нейтрофіли як імунорегуляторні клітини одними з перших зустрічаються та інфікуються токсоплазмою після того, як паразит перетинає епітелій кишечнику. Визначення фагоцитарної активності нейтрофілів показало, що у СП безпритульних котів цей показник у 2 рази (P<0,001) нижчий за СП та понад в 4 рази (P<0,001) за показники СН домашніх котів.

У попередніх наших дослідженнях встановлено, що 21,7% досліджених проб сироваток крові домашніх всеїдних тварин мали антитіла до *T. gondii*. Встановлено залежність між сезонами року та кількістю серопозитивних щодо токсоплазмозу тварин [30]. Великий відсоток СП безпритульних котів в умовах міста вказує на достатньо високе антигенне навантаження і на організм людини. Це може бути пов'язано з тим, що безпритульні тварини частіше їдять мертвих птахів, гризунів або недостатньо оброблене м'ясо [24]. Цікаво, що епідеміологічне дослідження показало однакову поширеність між токсоплазмозом в людей і безпритульними домашніми, зараженими *T. gondii*

в одному регіоні, що вказує на те, що бродячі тварини можуть бути хорошими маркерами впливу *T. gondii* на людей і дику природу [45, 36]. Достатньо високу поширеність *T. gondii* встановлено і серед безпритульних собак; антитіла до *T. gondii* були виявлені у 93 (40,3%) із 231 обстежених собак, а чотири собаки (1,7%) були визнані «сумнівними» [36]. На думку деяких дослідників, тварини з «сумнівними» титрами, ймовірно, перебували в гострій фазі або тривалій хронічній інфекції *T. gondii*, оскільки рівні антитіл до *T. gondii* були низькими та близькими до фонових [33, 41].

Варто зазначити, що в наших дослідженнях достатньо високий відсоток тварин з «сумнівними титрами». Вочевидь, цей факт треба враховувати як адекватність імунної відповіді у таких тварин під час контакту зі збудником токсоплазмозу. Також залишається важливим аспектом в епідеміології та епізоотології *T. gondii* питання щодо повторного виділення ооцист котами. Раніше вважалося, що після першого зараження коти виділять тисячі ооцист, а потім протягом життя тварини елімінація більше не відбуватиметься. Однак дослідження продемонстрували повторне виділення після експериментального застосування імуносупресивної терапії [35]. Отже, від адаптивних імунних реакцій організму залежатиме стійкість до *T. gondii* при інфікуванні. Це продемонстровано у людей та мишей з первинними або набутими дефектами у функції Т($CD4^+$ або $CD8^+$)- і В-клітин, які переживають гостру стадію зараження, але зрештою виявляють підвищену сприйнятливість до *T. gondii* [26, 25, 14]. Аналіз основних показників імунограм, що характеризують стан як вродженого, так і адаптивного імунітету, показав характерні відмінності в досліджуваних групах. Цей аналіз дозволяє нам зробити висновок, що всі кількісні показники імунограм у безпритульних СП котів є значно нижчими, ніж у домашніх. Цікаво, що у СП домашніх та безпритульних котів суттєво відрізняється імунорегуляторний індекс (Тх/Тс) через значну зміну Т-супресорних ($CD8^+$) клітин. Давно визнано критичну функцію $CD8^+$ цитотоксичних Т-клітин у пригніченні реплікації паразитів через знищення інфікованих клітин і сприяння перетворенню тахізоїту в брадизоїт [5]. Досліди на мишах показали, що миші $CD4^{-/-}$ здатні подолати гострий токсоплазмоз і не демонструють підвищеної смертності при зараженні. Таким чином, *T. gondii* належить до групи патогенів, у яких імунітет $CD8^+$ Т-клітин може бути індукований незалежним від Т-хелперних клітин способом [6, 43]. Інфекція *T. gondii* викликає сильний вроджений імунітет, що проявляється потужною відповіддю NK-клітин [44]. Цікаво, що 100% мишей $CD4^{-/-}$, позбавлених NK-клітин, зазнавали інфікування і всі тварини загинули на 16-й день після зараження [8]. Виявлена в наших дослідженнях закономірність, яка характеризується збільшенням абсолютної кількісті NK-клітини у СП безпритульних котів на фоні зниження кількості Т-хелперних клітин, вказує на те, що популяції цих двох груп клітин перебувають в компенсаторній залежності. Вочевидь, спосіб утримання тварин впливає на більшу активність різних субпопуляцій лімфоцитів. Менша роль під час імунної відповіді за токсоплазмозу, ймовірно, належить Т-хелперним клітинам. Це очікувано, оскільки попередні дослідження продемонстрували, що відсутність $CD4^+$ Т-клітин може спричинити зниження гіперзапальної реакції, що в підсумку призводить до виживання хазяїна [32]. І $CD4^+$, і $CD8^+$ Т-клітини відіграють важливу роль у вирішенні інфекції *T. gondii* [20, 18]. Проте саме $CD8^+$ Т-клітини діють як первинні ефектори, причому $CD4^+$ Т-клітини відіграють синергетичну роль [7, 27]. У звичайних умовах $CD4^+$ Т-клітини, які продукують IFN-γ, забезпечують допомогу для праймування реакції $CD8^+$ Т-клітин. Однак за відсутності цих клітин NK-клітини завдяки своїй здатності продукувати IFN-γ беруть на себе роль надання необхідної допомоги $CD8^+$ Т-клітинам [8].

Стандартний погляд на нейтрофіли полягає в тому, що вони швидко стають осередками інфекції, фагоцитують патогени, вивільняють антимікробні гранули та зазнають апоптозу. Однак нейтрофіли теж можуть вивільняти імунорегуляторні цитокіни та хемокіни, що свідчить про те, що вони також можуть брати участь у формуванні імунітету [37]. Існують докази того, що нейтрофіли мають важливе значення у залученні та активації дендритних клітин у відповідь на мікробні патогени, зокрема токсоплазму [4]. Хоча нейтрофіли рекрутуються у великій кількості у відповідь на токсоплазму і їхнє виснаження пов'язане з підвищеною сприйнятливістю до інфекції, їхня функція *in vivo* є спірною. Накопичення цих клітин у слизовій оболонці кишечнику після інфікування може бути реакцією на бактерії, які переміщуються з просвіту в субепітелій під час інфікування токсоплазмою, а не відповіддю господаря на самого паразита [22]. У наших дослідженнях встановлено відмінність у фагоцитарній активності нейтрофілів залежно від серопозитивності до токсоплазмозу та умов життя. Ймовірно, це доводить те, що внаслідок генералізованого супресивного впливу збудника на організм розвиток хронічних вторинних захворювань відбувається за зниження здатності нейтрофілів до фагоцитозу. За даними інших дослідників, виснаження нейтрофілів під час зараження *T. gondii* було пов'язано зі зниженням рівня IFN-γ, TNF-α та IL-12, цитокінів, які, як відомо, важливі для боротьби з паразитами [12, 19, 42, 46]. В будь-якому випадку однозначним є той факт, що персистенція збудника токсоплазмозу призводить до імуносупресивного стану імунної системи господаря. Зниження абсолютної кількості лімфоцитів під час клінічного обстеження тварин, особливо безпритульних, має стати сигналом ветеринарам-практикам для серологічного дослідження крові на *T. gondii*. Нехтування цього факту, особливо за використання імуносупресивних стандартних фармакологічних засобів, призведе до розвитку гострого токсаплазмозу і загибелі тварин. У кішок, які потребують пригнічення клітинного імунітету, рекомендована попередня оцінка серологічного

статусу *Toxoplasma* для оцінки ризику токсоплазмозу [15]. Тому перед застосуванням препаратів, які є потужними інгібіторами клітинно-опосередкованого імунітету (наприклад, циклоспорину), варто розглянути питання щодо визначення серологічного статусу проти *T. gondii*. У літературі повідомлялося, що шкірні вузли посилилися після лікування кортикостероїдами у двох кішок [1, 29], а після лікування циклоспорином [2, 31] і преднізолоном [3, 17] спостерігали три випадки генералізованого токсоплазмозу з пневмонією у кішок. В іншому випадку дисемінований токсоплазмоз із гострим респіраторним дистрес-синдромом та септичним шоком виник у кішки [39] після застосування циклоспорину для лікування еозинофільного дерматиту.

Отже, знання про динаміку поширення та передачі *T. gondii* в навколишньому середовищі необхідно визначати та досліджувати, оскільки для людей також потенційно існує ризик впливу цього збудника. Крім того, потрібно вжити заходів щодо ліквідації джерел *T. gondii* в навколишньому середовищі — наприклад, кампанія з моніторингу безпритульних собак і котів на наявність збудника токсоплазмозу та розробка відповідних регіональних програм. Крім цього, потрібно приділяти більше уваги інформуванню суспільства з цієї проблематики, що значно знизить рівень інфікування людей *T. gondii*.

Висновки

Встановлений високий рівень серопозитивних до *T. gondii* безпритульних та домашніх котів свідчить про широке розповсюдження та постійний інфекційний тиск цього збудника на навколишнє середовище, що вказує на загрозу інфікування людей та інших тварин.

Персистенція збудника *T. gondii* в організмі котів супроводжується зміною стану клітинної ланки імунного захисту, зокрема зниженням фагоцитарної активності нейтрофілів, зміною співвідношення між субпопуляціями Т-лімфоцитів. За таких показників компенсаторно у безпритульних серопозитивних котів встановлено вищий показник NK-клітини.

Перспективи подальших досліджень

Враховуючи високу поширеність захворювання та широкий спектр клінічних проявів, велике значення має вивчення факторів, які беруть участь у вродженій передачі *T. gondii* і тяжкості вродженого токсоплазмозу у новонароджених. Ці питання мало вивчені і потребують подальших досліджень, особливо можливість трансплацентарної та колострального передачі збудника.

1. Anfray P, Bonetti C, Fabbrini F, Magnino S, Mancianti F, Abramo F. Feline cutaneous toxoplasmosis: a case report. *Vet. Dermatol.* 2005; 16 (2): 131–136. DOI: 10.1111/j.1365-3164.2005.00434.x.
2. Barrs VR, Martin P, Beatty JA. *Antemortem* diagnosis and treatment of toxoplasmosis in two cats on cyclosporin therapy. *Australian Vet. J.* 2006; 84 (1–2): 30–35. DOI: 10.1111/j.1751-0813.2006.tb13119.x.
3. Beatty J, Barrs V. Acute toxoplasmosis in two cats on cyclosporin therapy. *Australian Vet. J.* 2003; 81 (6): 339. DOI: 10.1111/j.1751-0813.2003.tb11508.x.
4. Bennouna S, Bliss SK, Curiel TJ, Denkers EY. Cross-talk in the innate immune system: neutrophils instruct early recruitment and activation of dendritic cells during microbial infection. *J. Immunol*. 2003; 171 (11): 6052–6058. DOI: 10.4049/jimmunol.171.11.6052.
5. Bhadra R, Gigley JP, Khan IA. The CD8 T-cell road to immunotherapy of toxoplasmosis. *Immunotherapy*. 2011; 3 (6): 789–801. DOI: 10.2217/imt.11.68.
6. Carvalho LH, Sano GI, Hafalla JCR, Morrot A, Curotto de Lafaille MA, Zavala F. IL-4-secreting $CD4^+$ T cells are crucial to the development of $CD8^+$ T-cell responses against malaria liver stages. *Nat. Med*. 2002; 8: 166–170. DOI: 10.1038/nm0202-166.
7. Casciotti LK, Ely KH, Williams ME, Khan IA. $CD8^+$-T-cell immunity against *Toxoplasma gondii* can be induced but not maintained in mice lacking conventional $CD4^+$ T cells. *Infect. Immun.* 2002; 70 (2): 434–443. DOI: 10.1128/IAI.70.2.434-443.2002.
8. Combe CL, Curiel TJ, Moretto MM, Khan IA. NK cells help to induce $CD8^+$-T-cell immunity against *Toxoplasma gondii* in the absence of $CD4^+$ T cells. *Infect. Immun*. 2020; 73 (8): 18. DOI: 10.1128/IAI.73.8.4913-4921.2005.
9. Da Gama LM, Ribeiro-Gomes FL, Guimarães U, Arnholdt ACV. Reduction in adhesiveness to extracellular matrix components, modulation of adhesion molecules and *in vivo* migration of murine macrophages infected with *Toxoplasma gondii*. *Microb. Infect*. 2004; 6 (14): 1287–1296. DOI: 10.1016/j.micinf.2004.07.008.
10. Dehtjarenko TV, Makulkyn RF. *Biogenic biostimulants and immunoreactivity*. Odesa, 1997; 1: 52–73. (in Ukrainian)
11. Del Rio L, Bennouna S, Salinas J, Denkers EY. CXCR2 deficiency confers impaired neutrophil recruitment and increased susceptibility during *Toxoplasma gondii* infection. *J. Immunol.* 2001; 167 (11): 6503–6509. DOI: 10.4049/jimmunol.167.11.6503.
12. Denkers EY, Gazzinelli RT. Regulation and function of T-cell-mediated immunity during *Toxoplasma gondii* infection. *Clin. Microbiol. Rev*. 1998; 11 (4): 569–588. DOI: 10.1128/CMR.11.4.569.
13. Denkers EY, Schneider AG, Cohen SB, Butcher BA. Phagocyte responses to protozoan infection and how *Toxoplasma gondii* meets the challenge. *PLoS Pathog.* 2012: e1002794. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002794.
14. Denkers EY, Yap G, Scharton-Kersten T, Charest H, Butcher BA, Caspar P, Heiny S, Sher A. Perforin-mediated cytolysis plays a limited role in host resistance to *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol*. 1997; 159 (4): 1903–1908. PMID: 9257855.
15. Dubey JP, Lindsay DS, Lappin MR. Toxoplasmosis and other intestinal coccidial infections in cats and dogs. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract*. 2009; 39 (6): 1009–1034. DOI: 10.1016/j.cvsm.2009.08.001.
16. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin. Microbiol. Rev.* 1998; 11 (2): 267. DOI: 10.1128/CMR.11.2.267.
17. Evans NA, Walker JM, Manchester AC, Bach JF. Acute respiratory distress syndrome and septic shock in a cat with disseminated toxoplasmosis. *J. Vet. Emerg. Crit. Care*. 2017; 27 (4): 472–478. DOI: 10.1111/vec.12621.

18. Gazzinelli RT, Hieny S, Wynn TA, Wolf S, Sher A. Interleukin 12 is required for the T-lymphocyte-independent induction of interferon gamma by an intracellular parasite and induces resistance in T-cell-deficient hosts. *PNAS*. 1993; 90 (13): 6115–6119. DOI: 10.1073/pnas.90.13.6115.

19. Gazzinelli RT, Wysocka M, Hayashi S, Denkers EY, Hieny S, Caspar P, Trinchieri G, Sher A. Parasite-induced IL-12 stimulates early IFN-gamma synthesis and resistance during acute infection with *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol*. 1994; 153 (6): 2533–2543. PMID: 7915739.

20. Gazzinelli R, Xu Y, Hieny S, Cheever A, Sher A. Simultaneous depletion of CD4$^+$ and CD8$^+$ T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 1992; 149 (1): 175–180. PMID: 1351500.

21. Gómez-Chávez F, Cañedo-Solares I, Ortiz-Alegría LB, Flores-García Y, Luna-Pastén H, Figueroa-Damián R, Mora-González JC, Correa D. Maternal immune response during pregnancy and vertical transmission in human toxoplasmosis. *Front. Immunol*. 2019; 10: 1–7. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00285.

22. Heimesaat MM, Bereswill S, Fischer A, Fuchs D, Struck D, Niebergall J, Jahn HK, Dunay IR, Moter A, Gescher DM, Schumann RR, Göbel UB, Liesenfeld O. Gram-negative bacteria aggravate murine small intestinal Th1-type immunopathology following oral infection with *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol*. 2006; 177 (12): 8785–8795. DOI: 10.4049/jimmunol.177.12.8785.

23. Hunter C, Subauste C, Van Cleave V, Remington JS. Production of gamma interferon by natural killer cells from *Toxoplasma gondii*-infected SCID mice: regulation by interleukin-10, interleukin-12, and tumor necrosis factor alpha. *Infect. Immun*. 1994; 62 (7): 2818–2824. DOI: 10.1128/iai.62.7.2818-2824.1994.

24. Jadoon A, Akhtar T, Maqbool A, Anjum AA, Ajmal A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in canines. *J. Anim. Plant Sci*. 2009; 19 (4): 179–181. Available at: https://www.thejaps.org.pk/docs/19-no-4-2009/Jadoon.pdf

25. Johnson LL, Sayles PC. Deficient humoral responses underlie susceptibility to *Toxoplasma gondii* in CD4-deficient mice. *Infect. Immun.* 2002; 70 (1): 185–191. DOI: 10.1128/IAI.70.1.185-191.2002.

26. Kang H, Remington JS, Suzuki Y. Decreased resistance of B cell-deficient mice to infection with *Toxoplasma gondii* despite unimpaired expression of IFN-γ, TNF-α, and inducible nitric oxide synthase. *J. Immunol*. 2000; 164 (5): 2629–2634. DOI: 10.4049/jimmunol.164.5.2629.

27. Khan IA, Ely KH, Kasper LH. Antigen-specific CD8$^+$ T cell clone protects against acute *Toxoplasma gondii* infection in mice. *J. Immunol.* 1994; 152 (4): 1856–1860. Available at: https://www.jimmunol.org/content/152/4/1856

28. Kudryavchenko OP. Distribution and methods of diagnosis of toxoplasmosis in cats and dogs. Abstract. PhD vet. sci. Lviv, 2016: 19 p. (in Ukrainian)

29. Kul O, Atmaca HT, Deniz A, Süer C. Clinicopathologic diagnosis of cutaneous toxoplasmosis in an angora cat. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 2011; 124 (9–10): 386–389. PMID: 21950216.

30. Kusturov V. Serological monitoring distribution toxoplasmosis among home animals in the city of Odesa. *Agr. Bull. Black Sea Littoral*. 2020; 97: 189–194. DOI: 10.37000/abbsl.2020.97.24. (in Ukrainian)

31. Last RD, Suzuki Y, Manning T, Lindsay D, Galipeau L, Whitbread TJ. A case of fatal systemic toxoplasmosis in a cat being treated with cyclosporin A for feline atopy. *Vet. Dermatol.* 2004; 15 (3): 194–198. DOI: 10.1111/j.1365-3164.2004.00371.x.

32. Liesenfeld O, Kosek J, Remington JS, Suzuki Y. Association of CD4$^+$ T cell-dependent, interferon-gamma-mediated necrosis of the small intestine with genetic susceptibility of mice to peroral infection with *Toxoplasma gondii*. *J. Exp. Med.* 1996; 184 (2): 597–607. DOI: 10.1084/jem.184.2.597.

33. Lindsay DS, Dubey JP, Butler JM, Blagburn BL. Experimental tissue cyst induced *Toxoplasma gondii* infections in dogs. *J. Eukaryot. Microbiol*. 1996; 43 (5): 113S. DOI: 10.1111/j.1550-7408.1996.tb05032.x.

34. Liu CH, Fan YT, Dias A, Esper L, Corn RA, Bafica A, Machado FS, Aliberti J. Cutting edge: dendritic cells are essential for *in vivo* IL-12 production and development of resistance against *Toxoplasma gondii* infection in mice. *J. Immunol*. 2006; 177 (1): 31–35. DOI: 10.4049/jimmunol.177.1.31.

35. Malmasi A, Mosallanejad B, Mohebali M, Sharifian Fard M, Taheri M. Prevention of shedding and re-shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts in experimentally infected cats treated with oral clindamycin: A preliminary study. *Zoonos. Publ. Health*. 2009; 56 (2): 102–104. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2008.01174.x.

36. Meireles LR, Galisteo AJ, Pompeu E, Andrade HF. *Toxoplasma gondii* spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs. *Trop. Med. Int. Health*. 2004; 9 (8): 876–881. DOI: 10.1111/j.1365-3156.2004.01280.x.

37. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat. Rev. Immunol*. 2006; 6 (3): 173–182. DOI: 10.1038/nri1785.

38. Ortiz-Alegría LB, Caballero-Ortega H, Cañedo-Solares I, Rico-Torres CP, Sahagún-Ruiz A, Medina-Escutia ME, Correa D. Congenital toxoplasmosis: candidate host immune genes relevant for vertical transmission and pathogenesis. *Genes Immun*. 2010; 11: 363–373. DOI: 10.1038/gene.2010.21.

39. Pepper A, Mansfield C, Stent A, Johnstone T. Toxoplasmosis as a cause of life-threatening respiratory distress in a dog receiving immunosuppressive therapy. *Clin. Case Rep.* 2019; 7 (5): 942–948. DOI: 10.1002/ccr3.2121.

40. Pfaff AW, Georges S, Abou-Bacar A, Letscher-Bru V, Klein JP, Mousli M, Candolfi E. *Toxoplasma gondii* regulates ICAM-1 mediated monocyte adhesion to trophoblasts. *Immunol. Cell Biol*. 2005; 83 (5): 483–489. DOI: 10.1111/j.1440-1711.2005.01356.x.

41. Piergili-Fioretti D. Problems and limitations of conventional and innovative methods for the diagnosis of toxoplasmosis in humans and animals. *Parassitologia*. 2004; 46 (1–2): 177–181. PMID:15305712. (in Italian)

42. Scharton-Kersten TM, Wynn TA, Denkers EY, Bala S, Grunvald E, Hieny S, Gazzinelli RT, Sher A. In the absence of endogenous IFN-gamma mice develop unimpaired IL-12 responses to *Toxoplasma gondii* while failing to control acute infection. *J. Immunol*. 1996; 157 (9): 4045–4054. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8892638/.

43. Sun JC, Williams MA, Bevan MJ. CD4$^+$ T cells are required for the maintenance, not programming, of memory CD8$^+$ T cells after acute infection. *Nat. Immunol.* 2004; 5 (9): 927–933. DOI: 10.1038/ni1105.

44. Tato CM, Villarino A, Caamaño JH, Boothby M, Hunter CA. Inhibition of NF-κB activity in T and NK cells results in defective effector cell expansion and production of IFN-γ required for resistance to *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 2003; 170 (6): 3139–3146. DOI: 10.4049/jimmunol.170.6.3139.

45. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol*. 2000; 30 (12–13): 1217–1258. DOI: 10.1016/S0020-7519(00)00124-7.

46. Yap GS, Scharton-Kersten T, Charest H, Sher A. Decreased resistance of TNF receptor p55- and p75-deficient mice to chronic toxoplasmosis despite normal activation of inducible nitric oxide synthase *in vivo*. *J. Immunol*. 1998; 160 (3): 1340–1345. PMID: 9570552.

Immunogram indices in seropositive and seronegative cats for *Toxoplasma gondii*

V. Kusturov, M. Broshkov
mr_m_m@ukr.net

Odesa State Agrarian University,
13 Panteleimonivska str., Odesa, 65012, Ukraine

The article presents the data of immunogram studies in seropositive and seronegative for *Toxoplasma gondii* cats and the dependence of the absolute number of immunocompetent cells on their housing conditions. The blood from domestic and stray cats aged 3 to 5 years in which IgG to *T. gondii* was detected during a serological study was used in the study. During analyzes of the average values of seropositive (SP) cats it was detected that 10 animals (22%) had sufficiently high IgG titers of 3.24±0.835 (P≤0.05) and only 5 cats (11%) can be considered as animals that did not come into contact with the causative agent of toxoplasmosis. Neutrophils, as immunoregulatory cells, are among the first to encounter and become infected with *Toxoplasma* after the parasite crosses the intestinal epithelium. Determination of phagocytic activity of neutrophils showed that in the SP stray cats this indicator is 2 times lower than in the SP domestic cats and more than 4.0 times in the seronegative (SN) domestic cats. Analysis of the absolute content of lymphocytes and their T-subpopulation in the blood of different cats' groups showed that in the SP stray cats, these indicators were lower. It is a proven fact that in order to control the adequate immune response in animals, it is extremely important not only the quantitative value of the immunoregulatory cells' population, but also the ratio between them. The obtained results indicate that among homeless animals the seropositivity for toxoplasmosis is twice that of domestic cats. It was found that the SP domestic cats have a higher rate of T-suppressors and due to this IPI is 2.38±0.175. While the SP homeless cats have a larger T-helper subpopulation of lymphocytes and IPI is 4.13±0.506. In the SP domestic cats, the absolute content of B-lymphocytes was 0.616±0.038 and this indicator is the highest compared to other groups. There are also differences in the blood content of NK cells, namely in the homeless SP animals, it is higher than in the domestic cats. From this it should be noted that stray cats infected with *T. gondii* are mainly responsible for the widespread and constant pressure of infection in the region.

Key words: *Toxoplasma gondii*, IgG titer, phagocytic activity of neutrophils, NK cells

Kusturov V, Broshkov M. Immunogram indices in seropositive and seronegative cats for *Toxoplasma gondii*. *Biol. Tvarin*. 2022; 24 (2): 14–20. DOI: 10.15407/animbiol24.02.014.