

## Криптоспоридии и макроорганизм: факторы, влияющие на развитие криптоспоридиоза

*Криптоспоридиоз — протозойное заболевание, вызываемое простейшими паразитами, принадлежащими к роду Cryptosporidium. Первичным местом локализации инфекции является тонкий кишечник, что обуславливает основной клинический симптом заболевания — диарею. Важнейшими факторами, влияющими на инфицирование криптоспоридиями и течение заболевания, являются молекулярно-генетическая вариабельность паразита, его контагиозность и вирулентность, а также состоятельность слизистой оболочки пищеварительного тракта, локального и системного иммунитета макроорганизма. Иммунный статус хозяина играет ключевую роль в определении чувствительности к инфекции, а также тяжести течения заболевания. Инфицирование криптоспоридиями различается в исходах: от асимптоматического у одних пациентов до острого энтерита, сопровождающегося профузной диареей, поражением внутренних органов и летальным исходом, — у других. Современные терапевтические подходы к лечению криптоспоридиоза, как правило, малоэффективны. Среди большого количества препаратов с антипаразитарным эффектом лекарственные средства со специфическим действием в отношении криптоспоридий в настоящее время отсутствуют. Понимание факторов, определяющих, с одной стороны, патогенность криптоспоридий, а с другой — протективные свойства организма-хозяина, позволит разработать эффективные методы профилактики и подходы к медикаментозной терапии данного протозооза.*

**Ключевые слова:** криптоспоридиоз, эпидемиология, патогенез, терапия.

(Для цитирования: Старикова Е.Г., Воронкова О.В., Ковширина Ю.В., Шубина Н.И. Криптоспоридии и макроорганизм: факторы, влияющие на развитие криптоспоридиоза. *Вестник РАМН*. 2017;72 (6):420–427. doi: 10.15690/vramn888)

### Введение

Криптоспоридии — небольшие одноклеточные паразиты рода *Cryptosporidium* из типа *Apicomplexa* (паразиты, имеющие апикальный комплекс на стадии спорозоита), способные инфицировать организм человека, позвоночных и беспозвоночных животных. Основной путь заражения криптоспоридиозом — фекально-оральный — реализуется при употреблении контаминированной воды и пищи. По данным Всемирной организации здравоохранения, по распространенности криптоспоридиоз занимает пятое место в мире среди паразитарных инвазий, передаваемых фекально-оральным способом [1].

Диагностика криптоспоридиоза крайне затруднена ввиду небольшого размера ооцист возбудителя. Известно также, что ооцисты криптоспоридий высокорезистентны к дезинфицирующим агентам, что обуславливает частые вспышки заболевания. Человек чаще всего подвержен инфицированию штаммами *Cryptosporidium parvum* и *Cryptosporidium hominis*, а основным симптомом вызываемого ими заболевания является диарея с тенденцией к самоизлечению. У детей младшего возраста и пациентов со сниженной иммунологической резистентностью криптоспоридии могут вызвать тяжелую патологию с поражением висцеральных органов и летальным исходом. В последнем случае, как показывают исследования,

Е.Г. Starikova<sup>1</sup>, О.В. Voronkova<sup>1</sup>, Yu.V. Kovshirina<sup>1</sup>, N.I. Shubina<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Health Care Unit № 2, Tomsk, Russian Federation

## Cryptosporidia and Macroorganism: Factors that Influence on the Development of Cryptosporidiosis

*Cryptosporidiosis is a disease caused by unicellular parasites belonging to the Cryptosporidium genus. The small intestine is the primary site of localization of infection which predicts the main clinical symptom of the disease — diarrhea. The most important factors influencing Cryptosporidium infection and the course of disease are molecular genetic variability of the parasite, its virulence and infectivity, and viability of the mucosa of the digestive tract and local and systemic immunity of the macroorganism. The immune status of the host plays a key role in determining sensitivity to infection and the severity of the disease. Cryptosporidium infection differs in outcomes: asymptomatic in some patients, acute enteritis accompanied by profuse diarrhea, lesions of internal organs, and fatal outcome in others. Current therapeutic approaches to the treatment of cryptosporidiosis are ineffective. Despite the existence of a large number of drugs with antiparasitic effect, there are no medications with a specific effect on cryptosporidia. Understanding the factors that determine both the pathogenicity of Cryptosporidia and the protective properties of host defense systems will allow developing effective prevention measures and therapeutic interventions of this protozoosis.*

**Key words:** cryptosporidiosis, epidemiology, pathology, therapy.

(For citation: Starikova EG, Voronkova OV, Kovshirina YuV, Shubina NI. Cryptosporidia and Macroorganism: Factors that Influence on the Development of Cryptosporidiosis. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72 (6):420–427. doi: 10.15690/vramn888)

развитию заболевания способствует несостоятельность Т-клеточного звена иммунитета [2, 3].

Детальное изучение механизмов взаимодействия паразит-хозяин в процессе инфицирования и развития заболевания позволит разработать новые патогенетически обоснованные подходы к терапии криптоспориоза, в том числе основанные на комбинированном применении протозооцидных препаратов и иммуномодулирующих средств.

### Эпидемиология криптоспориоза и генетическая вариабельность возбудителя

Для криптоспориоза характерны вспышки заболеваемости. Так, в 2010–2011 гг. в Швеции были зарегистрированы 2 крупные вспышки криптоспориоза, при которых количество зараженных составило 47 000 человек. В этом случае зараженность водопроводной воды была признана основным фактором распространения заболевания; кроме того, подчеркивалась также высокая вирулентность и самого возбудителя — *C. hominis* [4].

Среди путей заражения криптоспориозом выделяют прямой путь трансмиссии инфекции — от человека к человеку или от животного к человеку, и непрямой — через зараженную воду, пищевые продукты (главным образом, непастеризованное или неправильно пастеризованное молоко) и предметы, контаминированные ооцистами криптоспориций [5].

Известно о крупных вспышках криптоспориоза в Америке, Швеции, Англии, Германии. Малочисленные эпидемиологические данные по другим странам, в том числе по России, свидетельствуют, скорее, о неадекватной диагностике данной паразитарной инфекции, чем об отсутствии протозооза. В литературе приводятся результаты единичных исследований по изучению распространенности криптоспориоза в регионах Российской Федерации. Так, наличие антител к антигенам криптоспориций было зарегистрировано у 68% обследованных взрослых в Череповце [6]. В результате исследования, проведенного в Санкт-Петербурге, установлено, что 41,3% обследованных ВИЧ-инфицированных лиц являлись серопозитивными по антигенам *C. parvum* [7]. Поскольку основные симптомы криптоспориоза неспецифичны, диагностический поиск, направленный на выявление паразита, проводится крайне редко, и только в случаях, когда исключены вирусная и бактериальная этиология заболевания. Так, например, результаты исследования, проведенного среди детей школьного возраста в Триполи, продемонстрировали широкую распространенность инфицированностью криптоспориозом в Ливане. При этом в 27% случаев инфекция не сопровождалась какими-либо острыми клиническими проявлениями, а характеризовалась отдельными эпизодами кишечных расстройств [8]. Таким образом, скрининговая диагностика на наличие криптоспориоза необходима как при вспышках энтероинфекций, так и при спорадических случаях длительно текущей диареи.

Эпидемиологические исследования во время вспышек криптоспориоза позволили идентифицировать виды криптоспориций, ранее не считавшиеся важными патогенами человека. Так, например, паразит кроликов *Cryptosporidium cuniculus* вызвал вспышку заболеваемости в Англии с вовлечением 422 человек [9].

Ряд исследователей относит организмы, принадлежащие к роду криптоспориций, к типу споровиков (*Apicomplexa*), классу *Conoidasida*, отряду *Eucoccidiorida* [10]. В настоящее время дискутируется вопрос об отнесении криптоспориций к грегариам и подклассу *Cryptogregaria*, основанием чему служат результаты генетического анализа. Одним из фактов, поддерживающих эту точку зрения, является способность криптоспориций размножаться внеклеточно, т.е. без инвазии клеток хозяина [11].

С помощью морфологических, биологических и молекулярных методов исследования был идентифицирован 31 вид криптоспориций, инфицирующих птиц, амфибий, рептилий и млекопитающих [12]. Более 40 вариантов генотипов возбудителя были выявлены у позвоночных хозяев. Основными патогенами, вызывающими свыше 90% случаев криптоспориоза у человека, являются *C. hominis* и *C. parvum* [13].

В настоящее время хорошо исследован полиморфный ген *gp60* изолятов *C. hominis* и *C. parvum* [14]. Продукт данного гена — гликопротеин *gp60* — расщепляется протеазами паразита и экспрессируется на поверхности спорозонта в виде двух гликопротеинов — *gp15* и *gp40*. Оба полипептида обладают иммуногенными свойствами. Установлено также, что различные аллельные варианты *gp60* *C. hominis* и *C. parvum* ассоциированы с разной клинической картиной и имеют свои особенности течения заболевания у детей и ВИЧ-положительных взрослых [15, 16].

Показано, что единичные аллельные варианты гена *gp60* доминируют среди изолятов *C. parvum* (семейство Па — 84,8%) и *C. hominis* (семейство Ib — 90,8%). У ряда пациентов обнаруживается одновременное поражение множеством штаммов с различными аллельными вариантами гена *gp60*, при этом клиническая картина характеризуется тяжелым гастроэнтеритом. Прямая зоонозная передача *C. parvum* доказана для нескольких подтипов семейства Па: ПаА15G2R1 (характерная инфекция молодняка крупного рогатого скота), IaA19G1R1 (вызывает вспышки заболевания у ягнят), ПаА20G2R1 (вовлечен в спорадические случаи и вспышки инфекций у животных). Субтипы криптоспориций, принадлежащие к аллельному семейству Id, также вызывают заболевание у человека [17, 18].

Изучение распространенности криптоспориоза у ВИЧ-инфицированных лиц показало, что клиническое течение заболевания находится в зависимости от того, какие виды, типы и подтипы возбудителя преобладают у пациента. Так, инфекция, вызванная *C. hominis* (подтип Id), *C. parvum*, *C. canis*, *C. felis*, ассоциирована с более тяжелым клиническим течением криптоспориоза и характеризуется хронической диареей и значительной потерей массы тела [19].

Кроме того, риск развития диареи оказался выше у пациентов, инфицированных *C. hominis*, принадлежащих подтипу Id, в сравнении с теми, кто был инфицирован *C. hominis* субтипа Ib; диарея совсем не проявлялась у пациентов, инфицированных *C. hominis* подтипа Ia [20].

Принимая во внимание зависимость клинической картины криптоспориоза от генотипического профиля возбудителя, а также различающуюся вирулентность генотипических вариантов криптоспориций в отношении организма человека, следует отметить, что молекулярно-биологическая диагностика (генотипирование) паразита играет важную роль в определении риска тяжелого течения заболевания, развития осложнений, а также контагиозности инфекции для окружающих.

### Патогенетические особенности кишечного криптоспоридиоза

Криптоспоридиоз обычно протекает в гастроинтестинальной форме с развитием диареи секреторного типа. Клиническая картина заболевания обусловлена особенностями жизненного цикла паразита. Криптоспоридии являются моноксенными паразитами, которые развиваются в эпителиальных клетках тонкого кишечника, размножаются бесполом путем (стадия мерозоита), созревают до полового поколения (стадия микро- и макрогамонта) с последующим формированием зиготы и инфекционных ооцист. Контагиозные спорулированные ооцисты выделяются инфицированным хозяином с фекалиями.

Ооцисты криптоспоридий высокорезистентны к действию химических веществ и физическим воздействиям, благодаря послойной структуре стенки, состоящей из гликокаликсного, липидного и гликопротеинового слоев. Внутренний протеиновый слой стенки ооцисты в основном состоит из белков COWP1 и небольшого количества COWP8. COWP (Cryptosporidium Oocyst Wall Protein) — это семейство протеинов, состоящее из 9 богатых цистеином белков, которые, за исключением COWP1 и COWP8, пока мало изучены. Предполагается, что молекулы цистеина образуют дисульфидные связи, обеспечивающие прочность внутреннего слоя стенки ооцисты [21, 22].

Исследования *in vitro* показали, что *Cryptosporidium* в отличие от других кокцидий, таких как *Eimeria* или *Toxoplasma*, требуется только один единственный раздражитель (изменение температуры), чтобы начать эксцистирование. Это объясняет способность *Cryptosporidium* инфицировать органы за пределами кишечника (например, легкие) у хозяев с несостоятельным иммунитетом. После активации спорозоитов внутри ооцисты они начинают секретировать протеазы, которые играют решающую роль в процессе эксцистирования. При использовании различных ингибиторов протеаз было показано, что в активированных ооцистах в основном экспрессируются сериновые и цистеиновые протеазы. В целом исследования *in vitro* показали, что после попадания ооцист в организм хозяина подъем температуры активирует спорозоиты, приводя к продуцированию протеаз и усилению подвижности паразитов [23].

Прикрепление к клетке хозяина опосредовано разнообразными молекулами, которые присутствуют на поверхности спорозоита и могут связываться с поверхностными структурами клетки хозяина. Геномный поиск выявил наличие 51 белка, экспрессированного на поверхности спорозоита. Многие белки имеют строение, подтверждающее их специфическое происхождение, отличное от *Plasmodium* и *Toxoplasma* [24].

Спорозоиты инвазируют энтероциты кишечника, после чего следует внутриклеточная стадия развития паразита — трофозоит. Во время внутриклеточного этапа развития паразит, заключенный в паразитофорную вакуоль, прикреплен к щеточной каемке эпителия и не соприкасается с цитоплазмой клеток хозяина. *Cryptosporidium* имеет сравнительно небольшой геном, в котором не предусмотрено значимых основ для формирования собственного метаболизма, что заставляет паразита получать питательные вещества из клетки хозяина. Показано, что *S. parvum* содержит по меньшей мере 69 транспортеров для различных веществ [25]. Трофозоит за счет бесполого размножения образует два различных типа меронтов. Мерозоиты из меронтов I типа инфицируют близлежащие энтероциты и могут развиваться в меронты II типа или за-

вершать жизненный цикл как меронты I типа. Мерозоиты из меронтов II типа далее продуцируют макро- и микрогаметоциты для полового размножения. При слиянии гамет образуется зигота, которая дозревает в ооцисту [21].

При попадании ооцист в организм нового хозяина цикл повторяется, при этом каждый раз после размещения *Cryptosporidium* в своей внутриклеточной нише паразит приспосабливается к новым условиям существования. Активирующийся при инфицировании иммунный ответ макроорганизма может быть достаточным для элиминации паразита или неэффективным, способствуя хронизации инфекции и возникновению внекишечных сайтов криптоспоридиоза.

Инфицирование криптоспоридиями и развитие заболевания зависят от иммунологического статуса хозяина. Несмотря на то, что криптоспоридиоз протекает остро, и эпизоды диареи длятся дольше, чем эпизоды гастроэнтеритов, вызываемых другими энтеровозбудителями (вирусы, бактерии), для лиц с сохраненным иммунным статусом характерно самоизлечение.

Как врожденный, так и приобретенный иммунитет играет ключевую роль в защите от инфицирования криптоспоридиями и элиминации паразита. При инфицировании первыми воздействия паразита подвергаются энтероциты, которые экспрессируют рецепторы распознавания патогенассоциированных паттернов, таких как TLR (Toll-like receptor) и внутриклеточные NOD (Nucleotide-binding oligomerization domain; NOD-like receptor, NLRs) рецепторы [26].

Основу иммунных реакций при криптоспоридиозе составляют реакции клеточного иммунитета, поскольку они являются наиболее эффективными при внутриклеточном типе паразитирования инфекционного агента. Лица с иммунодефицитными состояниями, у которых затронута T-клеточное звено (ВИЧ-инфекция, синдром сочетанного иммунодефицита, CD4<sup>+</sup>-лимфоцитопении и др.), особенно подвержены риску инфицирования криптоспоридиями [3].

У пациентов с ВИЧ-инфекцией тяжелое течение криптоспоридиоза наблюдается при количестве CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов в крови менее 200 кл./мл. В слизистых оболочках интраэпителиальные CD4<sup>+</sup>-лимфоциты контролируют размножение криптоспоридий, опосредуя свое действие через секрецию интерферона (Interferon, IFN)  $\gamma$ , который, как известно, является важным регулятором реакций как врожденного, так и приобретенного иммунитета.

Однако механизмы антипаразитарного действия IFN  $\gamma$  при криптоспоридиозе изучены недостаточно. В настоящее время предполагается два механизма действия IFN  $\gamma$  в отношении криптоспоридий:

- 1) цитокин напрямую ингибирует развитие паразита в энтероцитах за счет снижения содержания внутриклеточного железа в клетках хозяина, необходимого для жизнедеятельности возбудителя;
- 2) IFN  $\gamma$  индуцирует NF- $\kappa$ B (Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)-опосредованный синтез фактора некроза опухоли (Tumor necrosis factor, TNF)  $\alpha$ , который в свою очередь предотвращает проникновение криптоспоридий в энтероциты [27].

При воспалении стенки кишечника, сопровождающем криптоспоридиоз, доминирует NF- $\kappa$ B-зависимая секреция цитокинов. В свою очередь, секретлируемые эпителиальными клетками цитокины и хемокины могут повышать проницаемость эпителия и изменять кишечную абсорбцию, усугубляя течение синдромов мальабсорбции и мальабсорбции [28].

В эксперименте показано, что в функционирование врожденного иммунитета при криптоспориidioзе вовлечена индуцируемая NO-синтаза (iNOS) [29]. Так, ингибирование iNOS энтероцитов кишечника существенно усугубляло течение инфекции. Возможно, это связано с угнетением апоптоза инфицированных энтероцитов под действием NO. В результате ранее проведенных в нашем университете исследований на базе научно-образовательного центра молекулярной медицины было показано, что воздействие оксида азота на клетки (эксперимент проводился на культуре клеток линии *Jurkat*) приводит к повышению содержания белков ингибиторов каспаз в клетке, т.е. к NO-опосредованному ингибированию апоптоза клеток [30].

В современной литературе представлены результаты единичных исследований, касающихся изучения роли отдельных цитокинов в патогенезе криптоспориidioза. Так, исследования *in vivo* подтвердили, что интерлейкин (Interleukin, IL) 12 принимает участие в реакциях врожденного иммунитета при реализации антипаразитарной иммунной реакции, направленной против *S. parvum*. Известно также, что IL12 необходим для экспрессии мРНК IFN  $\gamma$  в слизистой оболочке кишечника. Ученые выявили, что введение анти-IL12-нейтрализующих антител новорожденным мышам линии *SCID* усугубляло течение криптоспориidioза. Те же авторы подтвердили и регуляторную роль IL18 в балансе Th1/Th2 иммунного ответа при криптоспориidioзе и зарегистрировали повышение уровня данного цитокина в крови в ответ на инфицирование *S. parvum* [31]. IL18 играет важную роль в функционировании Т-хелперов 1-го типа, являясь для них ростовым и дифференцировочным фактором [32].

В свою очередь, эффекторная роль Т-лимфоцитов не ограничивается исключительно продукцией цитокинов и цитотоксичностью в отношении зараженных клеток хозяина. Процессы, происходящие при установлении непосредственного контакта «Т-лимфоцит-макрофаг», а также продукция Т-лимфоцитами хемокинов могут вносить существенный вклад в развитие местных воспалительных реакций [33]. Тем не менее четкое понимание роли других иммунокомпетентных клеток в патогенезе криптоспориidioза в настоящее время отсутствует. Одним из объектов внимания исследователей в контексте антипаразитарного иммунитета являются дендритные клетки. В литературе представлены результаты единичных исследований, демонстрирующих цитокинпродуцирующую активность дендритных клеток при их культивировании *in vitro* с *S. parvum*: установлено повышение концентрации IL2 и IL12 в культуральных супернатантах по сравнению с контрольными пробами [34].

Нельзя оставлять без внимания способность инвазивных агентов изменять активность апоптоза иммунокомпетентных клеток организма-хозяина. В настоящее время хорошо изучены механизмы, посредством которых микроорганизмы (вирусы и бактерии) способны регулировать апоптоз клеток хозяина для обеспечения собственной выживаемости [35]. Простейшие паразиты не являются исключением и способны изменять апоптоз клеток в инфицированном организме [36]. Так, D. McCole и соавт. провели исследование, в котором подтвердили изменение апоптотической активности эпителиальных клеток, непосредственно инфицированных криптоспориidiaми [37]. Сведения, касающиеся участия криптоспориидий в регуляции апоптоза иммунокомпетентных клеток, являются единичными. Так, в исследовании А.-У. Gong и соавт. показано, что со-

вместное культивирование инфицированных криптоспориidiaми эпителиальных клеток с активированными Т-клетками запускало процесс апоптотической гибели последних [38]. Исследование влияния криптоспориидий на программированную гибель непосредственно хелперного паттерна лимфоцитов (CD4<sup>+</sup>) не проводилось. Подтверждение факта изменения апоптотической активности Т-лимфоцитов-хелперов при криптоспориidioзе будет являться основанием к поиску механизмов проли антиапоптотического действия паразита и подходов к управлению данными эффектами с целью усиления реакций антипаразитарного иммунитета.

Принимая во внимание тот факт, что тяжелое течение криптоспориidioза характерно для лиц с измененным иммунным статусом, на наш взгляд, необходимо сосредоточить исследования на изучении особенностей иммунопатогенеза заболевания с целью поиска факторов и расшифровки механизмов, способствующих формированию протективного баланса цитокинпродуцирующей и апоптотической активности иммунокомпетентных клеток организма-хозяина.

### Подходы к лечению и профилактике криптоспориidioза

Для большинства иммунокомпетентных лиц характерно непродолжительное течение заболевания с неярко выраженной диареей и спонтанным выздоровлением в течение 1–2 нед. В этом случае основу терапии составляют препараты патогенетической терапии, включая регидратацию. Оправданным является использование препаратов со специфическим действием у больных криптоспориidioзом детей и лиц, страдающих иммунодефицитом. Несмотря на наличие широкого спектра противопаразитарных препаратов, терапевтические подходы к медикаментозному лечению криптоспориidioза весьма ограничены [39]. Низкая эффективность применяемых медикаментозных схем при криптоспориidioзе, вероятно, обусловлена тем, что паразит локализуется в щеточной каемке ворсинок кишечника. Такое расположение криптоспориидий обеспечивает их недоступность как для действия лизосомальных ферментов клеток хозяина, так и для факторов иммунной системы. Кроме того, как упоминалось выше, в литературе активно дискутируется вопрос принадлежности криптоспориидий к грегаринам, что объясняет отсутствие эффекта от препаратов, действующих при инфицировании другими споровиками. Таким образом, для обеспечения антипаразитарного эффекта при лечении криптоспориidioза необходимы лекарственные препараты со специфическим действием, оказывающим эффект на расположенных внутриклеточно паразитов.

В России не разработаны клинические рекомендации и протоколы лечения криптоспориidioза у детей и взрослых без инфицирования ВИЧ. При выявлении данного агента у ВИЧ-инфицированных пациентов используются противопаразитарные лекарственные средства, такие как паромомицин, нитазоксанид, имеющие ограничение по применению у детей раннего возраста [40].

В настоящее время для лечения криптоспориidioза Управлением по контролю за лекарственными средствами (США) одобрен нитазоксанид (Алиния, Romark Laboratories). Данное вещество является производным тиазолидового ряда с широкой антипаразитарной активностью. Лимитированное число источников сообщает об эффективности нитазоксанида у иммуноком-

прометированных пациентов и детей [41]. При этом прекращение диареи наблюдалось в 56% случаев с использованием нитазоксанида по сравнению с 23% при приеме плацебо. В трех исследованиях с вовлечением ВИЧ-инфицированных пациентов нитазоксанид не влиял на течение заболевания при отсутствии антиретровирусной терапии [42].

Эффективность в отношении криптоспоридий в экспериментах *in vitro*, экспериментальных исследованиях с участием животных и клинических исследованиях продемонстрировали спирамидин и азитромицин [43], тогда как паромомицин показал низкую эффективность при купировании симптомов и слущивании ооцист в двух рандомизированных плацебоконтролируемых исследованиях [44].

Для пациентов с нарушениями иммунной системы наилучшей стратегией лечения является улучшение функции клеточного иммунного ответа (например, антиретровирусная терапия при криптоспориidioзе у пациентов с ВИЧ-инфекцией на стадии поздних осложнений в комбинации с антипаразитарными препаратами) [45].

Основу для разработки новой стратегии таргетной медикаментозной терапии криптоспориidioза составляют результаты геномного сиквенса и исследования функциональной геномики криптоспоридий [46–48]. Согласно молекулярно-генетическому исследованию, консервативным семейством ферментов у растений и ряда споровиков, включая криптоспориидии, являются кальцийзависимые протеинкиназы [49]. Структурный анализ показал, что данное семейство ферментов содержит глицин в участке связывания аденозинтрифосфата, что делает изучаемый гидрофобный регион более доступным для ингибиторов данных киназ с целью воздействия на жизненный цикл криптоспориидий [50, 51]. Формирование микрофиламентов является другой потенциальной мишенью для терапевтического воздействия. Установлено, что динитроанилины, включая трифлуралин, ингибируют формирование микротрубочек и рост криптоспориидий *in vitro* и *in vivo* [52].

Как уже было отмечено выше, криптоспориидии обладают ограниченной способностью синтезировать необходимые вещества *de novo*, включая аминокислоты, нуклеозиды и жирные кислоты. Многие гены, ассоциированные с метаболизмом, не представлены у споровиков, в том числе митохондриальная дыхательная цепь, а также пути, ассоциированные с апикопластом. Анаэробный гликолиз является основным источником энергии для криптоспориидий и протекает с образованием лактата в качестве конечного продукта. Благодаря этому факту ингибиторы гексокиназы и лактатдегидрогеназы эффективно подавляют жизнедеятельность криптоспориидий [53].

На мембране паразитофорных вакуолей криптоспориидий были обнаружены несколько протеинов, вовлеченных в метаболизм жирных кислот. Установлено, что триасцин С и ряд других веществ ингибируют ацил-КоА-связывающие протеины и приводят к уменьшению образования ооцист криптоспориидий у мышей и в эксперименте *in vitro* [54].

Особое внимание ряда исследователей направлено на разработку вакцин против криптоспориidioза [55–58]. Ученые показали, что у взрослых пациентов, проживающих в эндемических по криптоспориidioзу зонах и перенесших заболевание, развивается иммунитет, предотвращающий повторное заражение [59]. Исследования на добровольцах демонстрируют, что инфицирующая доза

возбудителя для повторного развития заболевания должна быть значительно выше в случае, если пациент когда-либо уже перенес криптоспориidioз [60].

В настоящее время идентифицирован 31 подвид криптоспориидий. По результатам исследований, наиболее частой причиной реинфекции у детей являлось инфицирование различными видами и подвидами криптоспориидий [15]. Таким образом, важной задачей при разработке вакцины является предотвращение инфицирования любым из подвидов возбудителя. На сегодняшний день результаты исследований применения экспериментальных вакцин у животных показывают неполную межвидовую протекцию при инфицировании *S. parvum* и *S. hominis*.

В качестве вакцин апробированы несколько антигенов криптоспориидий [55]. Одними из них являются продукты расщепления полипептида gp 60 — протеины gp15 и gp40, экспрессируемые на поверхности спорозита. Установлено, что *in vitro* оба протеина стимулируют продукцию IFN  $\gamma$  мононуклеарными лейкоцитами периферической крови. Применение gp15 для иммунизации детей в Республике Бангладеш приводило к более легкому течению инфекции, а также к повышению продукции невидоспецифичных антител (IgA) [56].

## Заключение

Несмотря на значительные успехи в изучении биологической природы криптоспориидий, основ их вирулентности и иммуногенности, а также клинических особенностей заболевания при инфицировании отдельными видами возбудителя, многие аспекты, необходимые для эффективного контроля над заболеваемостью криптоспориidioзом, остаются невыясненными.

Эпидемиологические исследования демонстрируют высокую значимость криптоспориидий в качестве инфекционного агента при вспышках гастроэнтеритов. Поскольку основные симптомы криптоспориidioза неспецифичны, диагностический поиск, направленный на выявление паразита, проводится крайне редко, и только в случаях, когда исключены вирусная и бактериальная этиология заболевания. При этом молекулярно-генетические методы детекции криптоспориидий являются наиболее перспективными для диагностики, однако данные методические подходы требуют стандартизации применения и широкого внедрения в клинико-лабораторную диагностику протозоозов на всей территории Российской Федерации.

Изучение особенностей антипаразитарного иммунного ответа, а также закономерностей реагирования систем врожденного и приобретенного иммунитета на этапах инфицирования и реинфицирования криптоспориидиями должно быть направлено на поиск факторов, способствующих формированию протективного баланса цитокин-продуцирующей и апоптотической активности иммунокомпетентных клеток организма-хозяина. Изучение функциональной геномики криптоспориидий позволит создать основу для разработки методов специфической иммунопрофилактики и таргетной медикаментозной терапии криптоспориidioза.

Несомненно, разработка и внедрение методов диагностики криптоспориidioза, а также интенсификация исследований, направленных на разработку лекарственных средств против криптоспориидий, должны быть основаны на понимании значимости данной инфекции для общественного здоровья.

**Источник финансирования**

Поисково-аналитическая работа выполняется при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых, договор № 14W01.17.3455-МД.

**Конфликт интересов**

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

**Участие авторов**

При работе со статьей авторами к.м.н. Ковшириной Ю.В. и Шубиной Н.И. был подготовлен раздел «Подходы к лечению и профилактике криптоспоридиоза». Д.м.н. Старикова Е.Г. подготовила разделы «Эпидемиология криптоспоридиоза и генетическая вариабельность возбудителя», «Патогенетические особенности кишечного криптоспоридиоза», «Введение» и «Заключение». Профессор, д.м.н. Воронкова О.В. работала над разделом «Патогенетические особенности кишечного криптоспоридиоза», осуществляла концептуальное осмысление информации.

**ЛИТЕРАТУРА**

- Rossle NF, Latif B. Cryptosporidiosis as threatening health problem: a review. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2013;3(11):916–924. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60179-3.
- Petry F, Jakobi V, Tessema TS. Host immune response to Cryptosporidium parvum infection. *Exp Parasitol.* 2010;126(3):304–309. doi: 10.1016/j.exppara.2010.05.022.
- McDonald V, Korbelt DS, Barakat FM, et al. Innate immune responses against Cryptosporidium parvum infection. *Parasite Immunol.* 2013;35(2):55–64. doi: 10.1111/pim.12020.
- Caccio SM, Sannella AR, Mariano V, et al. A rare Cryptosporidium parvum genotype associated with infection of lambs and zoonotic transmission in Italy. *Vet Parasitol.* 2013;191(1–2):128–131. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.08.010.
- Robertson LJ, Chalmers RM. Foodborne cryptosporidiosis: is there really more in Nordic countries? *Trends Parasitol.* 2013;29(1):3–9. doi: 10.1016/j.pt.2012.10.003.
- Egorov A, Frost F, Muller T, et al. Serological evidence of Cryptosporidium infections in a Russian city and evaluation of risk factors for infections. *Ann Epidemiol.* 2004;14(2):129–136. doi: 10.1016/S1047-2797(03)00122-4.
- Kucerova Z, Sokolova OI, Demyanov AV, et al. Microsporidiosis and Cryptosporidiosis in HIV/AIDS patients in St. Petersburg, Russia: serological identification of microsporidia and Cryptosporidium parvum in sera samples from HIV/AIDS patients. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2011;27(1):13–15. doi: 10.1089/aid.2010.0132.
- Osman M, El Safadi D, Benamrouz S, et al. Initial data on the molecular epidemiology of cryptosporidiosis in Lebanon. *PLoS One.* 2015;10(5):e0125129. doi: 10.1371/journal.pone.0125129.
- Puleston RL, Mallaghan CM, Modha DE, et al. The first recorded outbreak of cryptosporidiosis due to Cryptosporidium cuniculus (formerly rabbit genotype), following a water quality incident. *J Water Health.* 2014;12(1):41–50. doi: 10.2166/wh.2013.097.
- Levine ND. Taxonomy and review of coccidia genus Cryptosporidium (Protozoa, Apicomplexa). *J Protozool.* 1984;31(1):94–98. doi: 10.1111/j.1550-7408.1984.tb04296.x.
- Clode PL, Koh WH, Thompson RC. Life without a host cell: what is Cryptosporidium? *Trends Parasitol.* 2015;31(12):614–624. doi: 10.1016/j.pt.2015.08.005.
- Ryan U. Cryptosporidium in birds, fish and amphibians. *Exp Parasitol.* 2010;124(1):113–120. doi: 10.1016/j.exppara.2009.02.002.
- Isaza JP, Galván AL, Polanco V, et al. Revisiting the reference genomes of human pathogenic Cryptosporidium species: reannotation of C. parvum Iowa and a new C. hominis reference. *Sci Rep.* 2015;5:16324. doi: 10.1038/srep16324.
- Nichols GL, Chalmers RM. *Molecular epidemiology of human cryptosporidiosis.* In: Caccio SM, Widmer G, editors. *Cryptosporidium: parasite and disease.* Vienna: Springer; 2014. pp. 81–147.
- Cama VA, Bern C, Roberts J, et al. Cryptosporidium species and subtypes and clinical manifestations in children, Peru. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(10):1567–1574. doi: 10.3201/eid1410.071273.
- Cama VA, Ross JM, Crawford S, et al. Differences in clinical manifestations among Cryptosporidium species and subtypes in HIV-infected persons. *J Infect Dis.* 2007;196(5):684–691. doi: 10.1086/519842.
- Johansen OH, Hanevik K, Thrana F, et al. Symptomatic and asymptomatic secondary transmission of Cryptosporidium parvum following two related outbreaks in schoolchildren. *Epidemiol Infect.* 2015;143(8):1702–1709. doi: 10.1017/S095026881400243X.
- Hunter PR, Hadfield SJ, Wilkinson D, et al. Subtypes of Cryptosporidium parvum in humans and disease risk. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(1):82–88. doi: 10.3201/eid1301.060481.
- Asma I, Sim BL, Brent RD, et al. Molecular epidemiology of Cryptosporidium in HIV/AIDS patients in Malaysia. *Trop Biomed.* 2015;32(2):310–322.
- Berahmat R, Spotin A, Ahmadpour E, et al. Human cryptosporidiosis in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Parasitol Res.* 2017;116(4):1111–1128. doi: 10.1007/s00436-017-5376-3.
- Xiao L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Exp Parasitol.* 2010;124(1):80–89. doi: 10.1016/j.exppara.2009.03.018.
- Bushkin GG, Motari E, Carpentieri A, et al. Evidence for a structural role for acid-fast lipids in oocyst walls of Cryptosporidium, Toxoplasma, and Eimeria. *MBio.* 2013;4(5):e00387–00313. doi: 10.1128/mBio.00387-13.
- Karanis P, Kimura A, Nagasawa H, et al. Observations on Cryptosporidium life cycle stages during excystation. *J Parasitol.* 2008;94(1):298–300. doi: 10.1645/GE-1185.1.
- Singh P, Mirdha BR, Srinivasan A, et al. Identification of invasion proteins of Cryptosporidium parvum. *World J Microbiol Biotechnol.* 2015;31(12):1923–1934. doi: 10.1007/s11274-015-1936-9.
- Swapna LS, Parkinson J. Genomics of apicomplexan parasites. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2017;52(3):254–273. doi: 10.1080/10409238.2017.1290043.
- Perez-Cordon G, Yang G, Zhou B, et al. Interaction of Cryptosporidium parvum with mouse dendritic cells leads to their activation and parasite transportation to mesenteric lymph nodes. *Pathog Dis.* 2014;70(1):17–27. doi: 10.1111/2049-632X.12078.
- Lean IS, Lacroix-Lamande S, Laurent F, McDonald V. Role of tumor necrosis factor alpha in development of immunity against Cryptosporidium parvum infection. *Infect Immun.* 2006;74(7):4379–4382. doi: 10.1128/IAI.00195-06.
- Zhou R, Hu G, Liu J, et al. NF-kappaB p65-dependent transactivation of miRNA genes following Cryptosporidium parvum infection stimulates epithelial cell immune responses. *PLoS Pathog.* 2009;5(12):e1000681. doi: 10.1371/journal.ppat.1000681.

29. Nordone SK, Gookin JL. Lymphocytes and not IFN-gamma mediate expression of iNOS by intestinal epithelium in murine cryptosporidiosis. *Parasitol Res.* 2010;106(6):1507–1511. doi: 10.1007/s00436-010-1837-7.
30. Starikova EG, Tashireva LA, Novitsky VV, Ryazantseva NV. Nitric oxide donor NOC-5 increases XIAP and Aven level in Jurkat cells. *Cell Biol Int.* 2014;38(7):799–802. doi: 10.1002/cbin.10262.
31. Ehigiator HN, McNair N, Mead JR. Cryptosporidium parvum: the contribution of Th1-inducing pathways to the resolution of infection in mice. *Exp Parasitol.* 2007;115(2):107–113. doi: 10.1016/j.exppara.2006.07.001.
32. Якушенко Е.В., Лопатникова Ю.А., Сенников С.В. Интерлейкин 18 и его роль в иммунном ответе // *Медицинская иммунология.* — 2005. — Т.7. — №4 — С. 355–364. [Yakushenko EV, Lopatnikova JA, Sennikov SV. IL-18 and immunity. *Meditsinskaya Immunologiya.* 2005;7(4):355–364. (In Russ).]
33. Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., и др. Роль  $\gamma\delta$ T- и NK-клеток в иммунном ответе // *Бюллетень сибирской медицины.* — 2010. — Т.9. — №5 — С. 138–142. [Churina YeG, Urazova OI, Novitskiy VV, et al. The role of  $\gamma\delta$ T- and NK-cells in immune response. *Bulletin of Siberian medicine.* 2010;9(5):138–142. (In Russ).]
34. Bedi B, Mead JR. Cryptosporidium parvum antigens induce mouse and human dendritic cells to generate Th1-enhancing cytokines. *Parasite Immunol.* 2012;34(10):473–485. doi: 10.1111/j.1365-3024.2012.01382.x.
35. DeLeo FR. Modulation of phagocyte apoptosis by bacterial pathogens. *Apoptosis.* 2004;9(4):399–413. doi: 10.1023/B:APPT.0000031448.64969.fa.
36. Lendner M, Dausgies A. Cryptosporidium infections: molecular advances. *Parasitology.* 2014;141(11):1511–1532. doi: 10.1017/S0031182014000237.
37. McCole DF, Eckmann L, Laurent F, Kagnoff MF. Intestinal epithelial cell apoptosis following Cryptosporidium parvum infection. *Infect Immun.* 2000;68(3):1710–1713. doi: 10.1128/iai.68.3.1710-1713.2000.
38. Gong AY, Zhou R, Hu GK, et al. Cryptosporidium parvum induces B7-H1 expression in cholangiocytes by down-regulating microRNA-513. *J Infect Dis.* 2010;201(1):160–169. doi: 10.1086/648589.
39. Roche JK, Rojo AL, Costa LB, et al. Intranasal vaccination in mice with an attenuated Salmonella enterica Serovar 908htr A expressing Cp15 of Cryptosporidium: impact of malnutrition with preservation of cytokine secretion. *Vaccine.* 2013;31(6):912–918. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.12.007.
40. Козлов С.Н., Козлов Р.С. *Современная антимикробная терапия. Руководство для врачей.* — М.: МИА; 2017. — 400 с. [Kozlov SN, Kozlov RS. *Sovremennaya antimicrobnaya terapiya. Rukovodstvo dlya vrachei.* Moscow: MIA; 2017. 400 p. (In Russ).]
41. Abubakar II, Aliyu SH, Arumugam C, et al. Prevention and treatment of cryptosporidiosis in immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;(1):CD004932. doi: 10.1002/14651858.CD004932.pub2.
42. Amadi B, Mwiya M, Sianongo S, et al. High dose prolonged treatment with nitazoxanide is not effective for cryptosporidiosis in HIV positive Zambian children: a randomised controlled trial. *BMC Infect Dis.* 2009;9:195. doi: 10.1186/1471-2334-9-195.
43. Cabada MM, White AC. Treatment of cryptosporidiosis: do we know what we think we know? *Curr Opin Infect Dis.* 2010;23(5):494–499. doi: 10.1097/QCO.0b013e328333de052.
44. Hewitt RG, Yiannoutsos CT, Higgs ES, et al. Paromomycin: no more effective than placebo for treatment of cryptosporidiosis in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis.* 2000;31(4):1084–1092. doi: 10.1086/318155.
45. Giacometti A, Cirioni O, Barchiesi F, et al. Activity of nitazoxanide alone and in combination with azithromycin and rifabutin against Cryptosporidium parvum in cell culture. *J Antimicrob Chemother.* 2000;45(4):453–456. doi: 10.1093/jac/45.4.453.
46. Abrahamsen MS, Templeton TJ, Enomoto S, et al. Complete genome sequence of the apicomplexan, Cryptosporidium parvum. *Science.* 2004;304(5669):441–445. doi: 10.1126/science.1094786.
47. Xu P, Widmer G, Wang YP, et al. The genome of Cryptosporidium hominis. *Nature.* 2004;431(7012):1107–1112. doi: 10.1038/nature02977.
48. Aurecochea C, Barreto A, Brestelli J, et al. EuPathDB: the eukaryotic pathogen database. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(D1):D684–D691. doi: 10.1093/nar/gks113.
49. Larson ET, Ojo KK, Murphy RC, et al. Multiple determinants for selective inhibition of apicomplexan calcium-dependent protein kinase CDPK1. *J Med Chem.* 2012;55(6):2803–2810. doi: 10.1021/jm201725v.
50. Murphy RC, Ojo KK, Larson ET, et al. Discovery of potent and selective inhibitors of calcium-dependent protein kinase 1 (CDPK1) from C. parvum and T. gondii. *ACS Med Chem Lett.* 2010;1(7):331–335. doi: 10.1021/ml100096t.
51. Castellanos-Gonzalez A, White AC, Ojo KK, et al. A novel calcium-dependent protein kinase inhibitor as a lead compound for treating Cryptosporidiosis. *J Infect Dis.* 2013;208(8):1342–1348. doi: 10.1093/infdis/jit327.
52. Arrowood MJ, Mead JR, Xie LT, You XD. In vitro anticryptosporidial activity of dinitroaniline herbicides. *FEMS Microbiol Lett.* 1996;136(3):245–249. doi: 10.1111/j.1574-6968.1996.tb08056.x.
53. Madern D, Cai XM, Abrahamsen MS, Zhu G. Evolution of Cryptosporidium parvum lactate dehydrogenase from malate dehydrogenase by a very recent event of gene duplication. *Mol Biol Evol.* 2004;21(3):489–497. doi: 10.1093/molbev/msh042.
54. Fritzier JM, Zhu G. Novel anti-Cryptosporidium activity of known drugs identified by high-throughput screening against parasite fatty acyl-CoA binding protein (ACBP). *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(3):609–617. doi: 10.1093/jac/dkr516.
55. Mead JR. Prospects for immunotherapy and vaccines against Cryptosporidium. *Hum Vaccin Immunother.* 2014;10(6):1505–1513. doi: 10.4161/hv.28485.
56. Allison GM, Rogers KA, Borad A, et al. Antibody responses to the immunodominant Cryptosporidium gp15 antigen and gp15 polymorphisms in a case-control study of cryptosporidiosis in children in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;85(1):97–104. doi: 10.4269/ajtmh.2011.11-0043.
57. Ehigiator HN, Romagnoli P, Priest JW, et al. Induction of murine immune responses by DNA encoding a 23-kDa antigen of Cryptosporidium parvum. *Parasitol Res.* 2007;101(4):943–950. doi: 10.1007/s00436-007-0565-0.
58. Benitez AJ, McNair N, Mead JR. Oral Oral immunization with attenuated Salmonella enterica serovar Typhimurium encoding Cryptosporidium parvum Cp23 and Cp40 antigens induces a specific immune response in mice. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16(9):1272–1278. doi: 10.1128/Cvi.00089-09.
59. Okhuysen PC, Chappell CL, Sterling CR, et al. Susceptibility and serologic response of healthy adults to reinfection with Cryptosporidium parvum. *Infect Immun.* 1998;66(2):441–443.
60. Chappell CL, Okhuysen PC, Sterling CR, et al. Infectivity of Cryptosporidium parvum in healthy adults with pre-existing anti-C. Parvum serum immunoglobulin G. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60(1):157–164. doi: 10.4269/ajtmh.1999.60.157.

**КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

**Старикова Елена Григорьевна**, доктор медицинских наук, доцент кафедры биологии и генетики Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Адрес:** 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (3811) 90-11-01 доб. 16-93, **e-mail:** elena.g.starikova@yandex.ru, **SPIN-код:** 2669-7130, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-8899-0795>

**Воронкова Ольга Владимировна**, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры биологии и генетики Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Адрес:** 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (3811) 90-11-01 доб. 19-45, **e-mail:** voronkova-ov@yandex.ru, **SPIN-код:** 8005-8110, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-9478-3429>

**Ковширина Юлия Викторовна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Адрес:** 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, **тел.:** +7 (3811) 90-11-01 доб. 16-80, **e-mail:** yulia.v.kovshirina@gmail.com, **SPIN-код:** 2821-7165, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-6818-9792>

**Шубина Наталья Ивановна**, врач-инфекционист Областного государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Медико-санитарная часть № 2»

**Адрес:** 634041, Томск, ул. Бела Куна, д. 3, **тел.:** +7 (3822) 90-73-62, **e-mail:** natalya.i.shubina@gmail.com, **SPIN-код:** 7476-6479, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0003-4736-3370>