

Dorota Samojłowicz¹, Aleksandra Borowska-Solonyko¹, Elżbieta Gołąb²

WYSTĘPOWANIE ZARAŻENIA *TOXOPLASMA GONDII* W GRUPIE OSÓB ZMARŁYCH Z PRZYCZYN NAGŁYCH NA TERENIE MIASTA STOŁECZNEGO WARSZAWY I OKOLIC

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

² Zakład Parazytologii Lekarskiej, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Warszawa, Polska

STRESZCZENIE

WPROWADZENIE. Ostatnio wykazano, że u osób z prawidłowo działającym układem odpornościowym *przewlekłe zarażenie T. gondii* może stanowić podłoże zmian behawioralnych, mających efekty autodestrukcyjne.

CEL PRACY. Ocena częstości występowania zarażenia *Toxoplasma gondii* w grupie zbadanych *post mortem* osób, które zmarły z przyczyn nagłych na terenie Miasta Stołecznego Warszawy i okolic.

MATERIAŁY I METODY. Objęto badaniem 42 ofiary wypadków drogowych, kierujących w trakcie zdarzenia pojazdem typu: rower (n=6), motorower (n=3), motocykl (n=13), samochód (n=20) oraz 41 osób, których śmierć była wynikiem samobójstwa. Zbadano 169 próbek surowicy krwi na obecność swoistych przeciwciał klasy G przeciwko *T. gondii* oraz oznaczono poziom alkoholu etylowego w 155 próbkach krwi.

WYNIKI. Wykryto przeciwciała przeciwko *T. gondii* u 93 (55%) spośród 169 zbadanych osób, w tym u 25 (59,5%) kierujących pojazdami i 26 (63,4%) zmarłych śmiercią samobójczą. Odsetek osób posiadających przeciwciała IgG anty *T. gondii* w grupie badanej (61,4%) i kontrolnej (49,4%) nie różnił się znacząco (p=0,09). W przedziale wieku 38-58 lat odsetek zarażonych *T. gondii* był istotnie wyższy wśród zmarłych w wyniku samobójstwa aniżeli w grupie kontrolnej (71,4% vs. 44,4%; p<0,05). Wykryto obecność alkoholu etylowego we krwi u 49,7% zbadanych, w tym wśród: kierowców 25,7%, samobójców 67,6% i osób z grupy kontrolnej 51,8%. Częstość występowania przeciwciał przeciw *T. gondii* była istotnie wyższa wśród osób u których stwierdzono obecność alkoholu etylowego we krwi w porównaniu do osób u których nie stwierdzono obecności alkoholu we krwi, w grupie samobójców (72% v. 50%) i w grupie kontrolnej (60 v. 40%); (p<0,05).

WNIOSKI. Potwierdzono użyteczność badań serologicznych próbek krwi pobranej *post mortem* dla celów epidemiologicznych, jednak mała grupa zbadanych uniemożliwiła określenie wpływu chronicznego zarażenia *T. gondii* na częstość występowania przypadków nagłej śmierci. Znaczenie infekcji *Toxoplasma gondii* jako czynnika ryzyka dla zachowań autodestrukcyjnych wymaga dalszych badań.

Słowa kluczowe: *Toxoplasma gondii*, toksoplazmoza, badania serologiczne *post mortem*, samobójstwo, wypadki drogowe

WSTĘP

Wewnątrzkomórkowy pierwotniak *Toxoplasma gondii* występuje powszechnie w populacji ludzkiej; szacuje się, że w różnych rejonach świata zarażonych może być od 30 do 60% osób (1,2). U osób z prawidłową funkcją układu odpornościowego toksoplazmoza przebiega zazwyczaj bezobjawowo. Inwazja w formie utajonej utrzymuje się do końca życia osoby zarażonej. Za istotne zagrożenie dla zdrowia i życia uznawano dotychczas inwazje *Toxoplasma gondii* u osób z im-

munosupresją oraz przypadki zarażeń wrodzonych. Jednak wyniki badań przeprowadzonych początkowo na modelach zwierzęcych, a także późniejsze badania ludzi wskazują, że skutki inwazji *T. gondii* mogą pojawić się również u osób z prawidłowo działającym układem odpornościowym. Są one związane z umiejscowieniem pasożyta w ośrodkowym układzie nerwowym. Stwierdzono, że wynikiem przewlekłego zarażenia może być brak koncentracji, obniżenie refleksu i zmniejszenie poczucia strachu (3-6). Cechy takie mogą predysponować do podejmowania zachowań stwarzających bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia i życia.

Celem pracy była ocena częstości występowania zarażenia *Toxoplasma gondii* w grupie zbadanych *post mortem*, zmarłych z przyczyn nagłych osób prowadzących pojazdy oraz osób, które popełniły samobójstwo na terenie Miasta Stołecznego Warszawy i okolic.

MATERIAŁY I METODY

Materiał do badań stanowiło 169 próbek surowicy krwi, pobranych od 154 mężczyzn i 15 kobiet. Próbkę pobrano *post mortem* od osób zmarłych nagle w okresie od maja 2010 roku do kwietnia 2012 roku. Wśród wszystkich zbadanych osób znajdowały się 42 ofiary wypadków drogowych, kierujące w trakcie zdarzenia pojazdem typu: rower (n=6), motorower (n=3), motocykl (n=13), samochód (n=20) oraz 41 osób, których śmierć była wynikiem samobójstwa. Mediana wieku grupy badanej wyniosła 40 lat (zgon w wieku 18 - 86 lat). Grupę kontrolną stanowiło 86 osób w wieku od 20 do 89 lat (mediana=51), zmarłych z przyczyn chorobowych, z wychłodzenia, z powodu zatrucia alkoholem etylowym, a także wskutek odniesionych obrażeń w wypadku samochodowym (pasażer) i zabójstwa (tab I).

Krew do badań na obecność przeciwciał IgG przeciwko *T. gondii* (10ml) pobierano z jamy czaszki lub z żyły udowej do suchej próbki podczas sądowo-lekarskich oględzin i sekcji zwłok w Zakładzie Medycyny Sądowej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Próbkę surowicy do czasu przeprowadzenia badań przechowywano w temperaturze -20°C.

Przeciwciała klasy IgG przeciwko *T. gondii* poszukiwano za pomocą metody immunofluorescencji pośredniej (IF) zgodnie z procedurą badawczą PB-03-LEP/S NIZP-PZH w Zakładzie Parazytologii Lekarskiej Państwowego Zakładu Higieny – Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego (NIZP-PZH). Surowice rozcieńczano w buforowanym roztworze soli fizjologicznej PBS dwukrotnie od stosunku 1:16 aż do najwyższego rozcieńczenia, które dawało jeszcze reakcję dodatnią i nakraplano na miejsca opłaszczony antygenem *T. gondii* na szkiełkach mikroskopowych. Po 45 minutach inkubacji z surowicą, szkiełka płukano trzykrotnie w PBS przez 30 min., inkubowano z koniugatem (Fluoline G, bioMerieux) i dodatkiem błękitu Evansa (Fluka) przez 45 min., a następnie odczytywano wyniki w mikroskopie fluorescencyjnym. Próg czułości odczynu stanowiła najniższa wartość spośród rzędu rozcieńczeń jednostek międzynarodowych (j.m.) przeciwciała toksoplazmowego (Międzynarodowy standard surowicy przeciwtoksoplazmowej), przy której uzyskiwano reakcję dodatnią. Miano przeciwciał toksoplazmowych w j.m. określano mnożąc wartość graniczną dodatniego rozcieńczenia surowicy przez próg czułości odczynu. Za wynik dodatni uznawano miano IgG $\geq 1,6$ j.m./ml.

Ponadto analizowano wyniki badań na zawartość alkoholu etylowego we krwi pobranej podczas sądowo-lekarskich oględzin i sekcji zwłok. Badania wykonywane były rutynowo metodą chromatografii gazowej na zlecenie Prokuratury w Pracowni Toksykologicznej Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Badania te przeprowadzono u 155 osób w tym 35 prowadzących pojazdy i 37 osób, których śmierć była wynikiem samobójstwa oraz 83 osób z grupy kontrolnej.

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą testu chi-kwadrat (χ^2) i testu Manna-Whitneya.

WYNIKI

Przeciwciała klasy IgG przeciwko *Toxoplasma gondii* wykryto w surowicy krwi 93, tj. 55% z ogółu 169 zbadanych osób. Odsetek wyników dodatnich w grupie badanej (61,4%) i kontrolnej (49,4%) nie różnił się znacząco ($p=0,09$). Przeciwciała wykryto u 25 (59,5%) kierujących pojazdem i 26 (63,4%) osób zmarłych w wyniku samobójstwa.

Łącznie wśród zbadanych kierujących pojazdami i samobójców w przedziałach wiekowych: 18-37, 38-58, 59-76 lat i ≥ 77 roku życia odsetek dodatnich wyników badania na obecność toksoplazmowych IgG wyniósł odpowiednio: 53,7%, 48,6%, 70,3% i 50%. Częstość występowania przeciwciał w wyróżnionych przedziałach wieku nie różniła się istotnie w grupie badanej i grupie kontrolnej ($p>0,05$).

Przeciwciała przeciw *T. gondii* istotnie częściej wykrywano wśród osób, które popełniły samobójstwo w wieku 38-58 lat (71,4%) niż wśród osób w tym wieku z grupy kontrolnej 44,4% ($p<0,05$).

Dodatni wynik badania na zawartość alkoholu etylowego we krwi uzyskano łącznie u 49,7% (n=77) osób w grupie badanej i grupie kontrolnej. W grupie badanej odsetek ten wyniósł 41% (n=34), w tym wśród kierujących pojazdami (n=9) 25,7%, wśród samobójców (n=25) 67,6%. W grupie kontrolnej odsetek dodatnich wyników badania krwi na zawartość alkoholu wyniósł (n=43) 51,8%. Średnie stężenie alkoholu etylowego wyniosło: wśród kierujących 0,4‰, wśród osób które popełniły samobójstwo 1,2‰. i w grupie kontrolnej 1,2‰.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy częstością występowania toksoplazmowych IgG wśród osób kierujących z pozytywnym wynikiem badania na obecność alkoholu (67%) i osób z tej grupy z wynikiem negatywnym (54%) w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio 40% i 60%; $p>0,05$).

Częstość występowania przeciwciał przeciw *T. gondii* była istotnie wyższa wśród osób u których stwierdzono obecność alkoholu etylowego we krwi w porównaniu do osób u których nie stwierdzono obecności alkoholu

we krwi, w grupie samobójców (72% v. 50%) i w grupie kontrolnej (60 v. 40%); ($p < 0,05$) (ryc1).

DYSKUSJA

Mózg należy do predylekcyjnych miejsc dla *Toxoplasma gondii*. Pasożyt ulokowany wewnątrzkomórkowo tworzy cysty, w których utrzymuje się w stanie uśpionym. W przypadku znacznego obniżenia odporności organizmu dochodzi do uaktywnienia się inwazji i powstawania zmian patologicznych określanych jako ropnie mózgu i rozwoju objawów neurologicznych, odpowiadających ich lokalizacji.

Na modelu zwierzęcym wykazano, że przewlekłe inwazje *Toxoplasma* mogą wywoływać zmiany zachowania immunokompetentnych gryzoni. U osobników zarażonych zaobserwowano zmniejszenie wrodzonego poczucia lęku przed „nowym”: dźwiękiem, zapachem lub widokiem, zwiększenie ruchliwości, spadek zdolności uczenia się i koncentracji. Również u ludzi zaobserwowano zaburzenia behawioralne, które mogą być związane z przewlekłą toksoplazmozą. Stwierdzono, że osoby u których wykryto obecność przeciwciał przeciwko *T. gondii* wykazywały wzrost aktywności, spadek czasu reakcji, zaburzenia profilu osobowości (5,6).

Mechanizmy oddziaływania pasożyta na zachowanie wiązano z miejscem jego lokalizacji i wywoływanym uciskiem, ponieważ na modelu zwierzęcym stwierdzono tropizm *Toxoplasma* do struktur mózgu takich jak jądro migdałowe i/ lub jądro półleżące, które są aktywne w stanach lęku i niepokoju (7). Badano także wpływ prozapalnych cytokin, wytwarzanych w przewlekłej inwazji w mózgu. Rozważano również wpływ zaburzeń poziomu neurotransmiterów, a głównie dopaminy, w odniesieniu do częściowej redukcji zmian zachowania, wywoływanych przez *T. gondii*, w wyniku podanych zwierzętom leków antypsychotycznych o działaniu dopaminolitycznym. Natomiast ostatnio wykazano, że *T. gondii* dereguluje poziom dopaminy wydzielając pozakomórkowo hydrolazę tyrozyny – enzymu biorącego udział w syntezie dopaminy (8).

Deregulacja poziomu neuroprzebieżników w mózgu prowadzi do poważnych zaburzeń nastroju i zachowań depresyjnych, wymienianych jako potencjalne przyczyny samobójstw. Stwierdzono, że istnieje pozytywna korelacja pomiędzy występowaniem przeciwciał antytoksoplazmowych, a częstością podejmowania prób samobójczych. W badaniach przeprowadzonych w Turcji seroprevalencja wśród osób podejmujących próby samobójcze (41%) była istotnie wyższa aniżeli w grupie kontrolnej (28%) (9). W prezentowanej pracy stwierdziliśmy występowanie przeciwciał IgG u 26 (63,4%), spośród 41 zbadanych osób, które popełniły samobójstwo w Warszawie i okolicach. Odsetek ten

był wyższy aniżeli wśród osób z grupy kontrolnej (49,4%), jednak różnica ta nie była istotna statystycznie. Wśród osób zbadanych większość stanowili mężczyźni (87,8%), którzy częściej niż kobiety ponoszą śmierć w wyniku samobójstwa. Według statystyk WHO, około 80% wśród osób zmarłych w wyniku samobójstwa to mężczyźni (10). Niestety większość dostępnych danych dotyczy rozpowszechnienia toksoplazmozy wśród kobiet. Analiza tych danych pozwoliła Ling VJ i wsp. na stwierdzenie istotnego statystycznie związku częstszego występowania przeciwciał przeciwko *T. gondii* z podejmowaniem prób samobójczych u kobiet po menopauzie (11). Jednak nie tylko toksoplazmoza ale także starszy wiek mogą predestynować do częstszego podejmowania prób samobójczych. Hawton i Van Heringen wymieniają wiek jako czynnik mający istotny wpływ na wyższą częstość popełnianych samobójstw, szczególnie u mężczyzn (12). W prezentowanym badaniu w grupie zmarłych w wyniku samobójstwa odsetek mężczyzn wynosił 87,8%, co może odpowiadać odsetkowi odnotowanemu dla kraju w 2010 r. (86%) (13). Najwyższą częstość zarażeń *T. gondii* (71,4%) stwierdzono w grupie wiekowej 38-58 lat; była ona istotnie wyższa w odniesieniu do częstości występującej wśród osób z grupy kontrolnej dla tego wieku. Według danych statystycznych z 2010 r. 49% spośród wszystkich podjętych prób samobójczych odnotowano w grupie wiekowej 35-59 lat; w tym 52% spośród tych prób samobójczych które zakończyły się zgonem (13).

Badania przeprowadzone w Polsce przez Wojnara i wsp. wskazują na powiązanie podejmowania prób samobójczych ze spożyciem alkoholu (14). Test na obecność alkoholu etylowego we krwi przeprowadzono u 37 osób, które popełniły samobójstwo uzyskując pozytywny wynik u 25 (67,6%) zbadanych. Częstość występowania przeciwciał przeciwko *T. gondii* wśród osób, z pozytywnym wynikiem badania na obecność alkoholu była istotnie wyższa niż wśród tych, u których nie wykryto alkoholu (72% v. 50%). Podobny rezultat uzyskano dla grupy kontrolnej, gdzie odsetek osób z pozytywnym i negatywnym wynikiem badania krwi na obecność alkoholu etylowego wynosił odpowiednio 60% i 40%. Nadużywanie alkoholu często prowadzi do zubożenia, konsekwencją jest także spadek dbałości o higienę, a te czynniki są wymieniane wśród czynników ryzyka dla toksoplazmozy. Jednak bez szerszej zakrojonych badań nie można wykluczyć, że przeciwnie do powyższego założenia, to zarażenie *Toxoplasma gondii* ma wpływ na powstawanie skłonności do częstego spożywania alkoholu.

Ponieważ stwierdzono wpływ obecności alkoholu we krwi na występowanie częstości zarażenia *Toxoplasma*, wśród kierujących przeprowadzono dwa warianty analizy wyników badań serologicznych: z uwzględnieniem i z wyłączeniem osób, u których wykryto alkohol we krwi. W żadnej z tych wersji nie stwierdzono sta-

tystycznie istotnej zależności wyższej częstości występowania wyników dodatnich w badaniu IF w grupie kierujących pojazdami, które zmarły wskutek wypadku drogowego w Warszawie lub okolicach, w porównaniu do grupy kontrolnej. Jednak badacze tureccy potwierdzili statystycznie występowanie zwiększonego ryzyka spowodowania wypadku samochodowego u osób seropozytywnych w grupie zbadanych kierowców (15). Również w badaniach przeprowadzonych w Czechach, wśród kierowców i pieszych, którzy swoim zachowaniem przyczynili się do zaistnienia wypadku drogowego, częstość występowania przewlekłej toksoplazmozy była istotnie wyższa niż w grupie kontrolnej (16).

Należy przyjąć, że czynnikami, które wpłynęły na uzyskany przez nas wynik były: zbyt niska liczebność oraz dobór osób do grupy kierujących. Niestety nie dysponowaliśmy danymi pozwalającymi na pewne stwierdzenie, że każdy ze zbadanych kierujących był sprawcą wypadku w wyniku którego poniósł śmierć. Orzeczenie o winie jest wydawane przez sąd po zebraniu wszystkich ekspertyz. Według danych Komendy Głównej Policji o winie kierujących orzeczono w 80% wszystkich wypadków odnotowanych w 2010 r. (17)

WNIOSKI

Potwierdzono użyteczność badań serologicznych próbek krwi pobranej *post mortem* dla celów epidemiologicznych, jednak mała grupa zbadanych uniemożliwiła określenie wpływu chronicznego zarażenia *T. gondii* na częstość występowania przypadków nagłej śmierci. Znaczenie infekcji *Toxoplasma gondii* jako czynnika ryzyka dla zachowań autodestrukcyjnych wymaga dalszych badań.

Otrzymano: 10.09.2012 r.

Zaakceptowano do druku: 17.12.2012 r.

Adres do korespondencji:

1. lek. Dorota Samojłowicz,
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego,
ul. Oczki 1, 02-007 Warszawa, Polska,
Tel. (+48-22) 628 89 75 lub 629-43-78,
Fax (+48-22) 628 63 04,
e-mail: dorotea_7@poczta.onet.pl.

2. dr hab. n. med., prof. nadzw. NIZP-PZH Elżbieta Gołąb,
Zakład Parazytologii Lekarskiej,
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny,
ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa, Polska,
Tel. (+48-22) 54-21-220 lub 54-21-351,
e-mail: egolab@pzh.gov.pl