

საქართველოში გავრცელებული *Leishmania donovani-infantum* -ის
კომპლექსის

მოლეკულურ-ეპიდემიოლოგიური დახასიათება

გიორგი ბაბუაძე

სადისერტაციო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და საინჟინრო ფაკულტეტზე
სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა დოქტორის აკადემიური ხარისხის მინიჭების
მოთხოვნების შესაბამისად

სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა სადოქტორო პროგრამა

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

რევაზ სოლომონია, პროფ. ზმდ,

მერაბ კეკელიძე ზმდ.

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2016

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და
საინჟინრო ფაკულტეტის დეკანს,
პროფ. დავით თრხნიშვილს
ამავე ფაკულტეტის დოქტორანტის
გიორგი ბაბუაძის

განაცხადი

ვაცხადებ, რომ წარმოდგენილი დისერტაცია „საქართველოში გავრცელებული *Leishmania donovani-infantum* -ის კომპლექსის მოლეკულურ-ეპიდემიოლოგიური დახასიათება“ ჩემი დამოუკიდებელი კვლევის შედეგია და იგი არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს.

გიორგი ბაბუაძე

თბილისი, ივნისი, 2016 წ.

მადლობა



- University of Glasgow - ინფექციის, იმუნიტეტისა და ინფლამაციის ინსტიტუტი, მედიცინის, ვეტერინარიისა და ბიოლოგიურ მეცნიერებათა კოლეჯი, პროფესორი ჰარი დე კონინგი. გაწეული მატერიალური და ფინანსური დახმარებისათვის



- ISC - კარლოს III -ის სახ. მიკრობიოლოგიის ეროვნული ცენტრი, ჯანმრთელობის ინსტიტუტი, ლეიშმანიოზისა და ჩაგასის დაავადებების ლაბორატორია, მახადაონდა-მადრიდი, ესპანეთი, დოქტორი ხავიერ მორენო, ერთობლივ სამუშაოში შეტანილი წვლილისა და გაწეული მატერიალური დახმარებისათვის



- CIB - ბიოლოგიურ კვლევათა ცენტრი, ეუკარიოტების ანტიბიოტიკური პეპტიდების ლაბორატორია, მადრიდი, ესპანეთი, დოქტორი ლუის რივასი, ერთობლივ სამუშაოში შეტანილი წვლილისა და გაწეული მატერიალური დახმარებისათვის.



- ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი, პროფესორი რევაზ სოლომონია



- დკსჯეც - ლ. საყვარელიძის სახელობის დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი, დოქტორი მერაბ კეკელიძე, პროფესორი პაატა იმნაძე, პროფესორი ამირან გამყრელიძე.



- შრესფ - შოთა რუსთაველის ეროვნული სამეცნიერო ფონდი, გაწეული მატერიალური დახმარებისათვის.



- BIF - ბერინგერ ინგელჰეიმის ფონდი, გაწეული მატერიალური დახმარებისათვის.

სარჩევი

განაცხადი	2
მადლობა.....	3
ილუსტრაციების ჩამონათვალი	6
ცხრილების ჩამონათვალი	8
გამოყენებული ტერმინოლოგია	9
შესავალი.....	11
ისტორიული ექსკურსი	12
Leishmania –ს გვარის პარაზიტების კლასიფიკაცია და ზოგადი დახასიათება.....	15
პრობლემის აქტუალობა.....	52
ვისცერული ლეიშმანიოზი საქართველოში	52
კვლევის მეთოდები	63
კვლევის დიზაინი.....	63
მიღებული შედეგები	82
LST ტესტირება, ვისცერული ლეიშმანიოზის ინფექცია ადამიანებში თბილისსა და ქუთაისში	82
rK39 ტესტირების შედეგები ვისცერული ლეიშმანიოზის ინფექცია ყვარელსა და საგარეჯოში.....	84
სეროპრევალენტობა რეზერვუარებში	84
შედეგების ინტერპრეტაცია	97

აბსტრაქტი.....	103
კვლევის მიზანი	106
კვლევის მეთოდები.....	107
მიღებული შედეგები /ინტერპრეტაცია	108
Summary	113
Introduction.....	113
Aim of the study.....	115
Methods	115
Results & Disscusions.....	116
Conclusions.....	118
პუბლიკაციები	120
გამოყენებული ლიტერატურა:	121

ილუსტრაციების ჩამონათვალი

სურათი 1. სერ უილიამ ბუგ ლეიშმანი.....	12
სურათი 2. ლეიშმანიოზების ტიპები	14
სურათი 3. ლეიშმანიოზის ტრანსმისიის მექანიზმი.....	15
სურათი 4. ლეიშმანიების ტაქსონომია	17
სურათი 5. ა) ამასტიგოტები ძვლის ტვინში; ბ) პრომასტიგოტები მოსკიტის ორგანიზმში.....	18
სურათი 6. ბავშვი კარგად გამოხატული ჰეპატო-სპლენო მეგალიით	23
სურათი 7. პაციენტი კარგად გამოხატული ელენთის და ღვიძლის კონტურებით	24
სურათი 8. გლუკანტიმის ქიმიური ფორმულა	38
სურათი 9. ვისცერული ლეიშმანიოზის გადამტანი (<i>Phlebotomus</i>).....	41
სურათი 10. მოსკიტების სეზონური განაწილება სახეობების მიხედვით, თბილისი	43
სურათი 11. hsp70 PCR-RFLP ტიპირების შედეგების ვიზუალიზაცია გელზე (Dujardin JC et al.,)	50
სურათი 12. hsp70 PCR-RFLP ტიპირების ტიპირებული შტამების შედარებით აგებული <i>Leishmania</i> -ს ფილოგენეტიკური ხე (Auwera GV et al., 2013).....	50
სურათი 13. ვისცერული ლეიშმანიოზის ბუნებრივი კერები საქართველოში	54
სურათი 14. თბილისის რუკა აღნიშნული პირობითად დაყოფილი უბნებით D#1, D#2 და D#3 ..	64
სურათი 15. დადებითი LST ტესტის შედეგი	66
სურათი 16. <i>Leishmania</i> ბუდობრივი PCR -ის ვიზუალიზაციის ნიმუში გელ-ელექტროფორეზის მეშვეობით.....	72
სურათი 17. ABI კაპილარული სექვენატორი.....	73
სურათი 18. ტრანსკრიბციული უბნისა და გამოყენებული პრაიმერების სქემა	74
სურათი 19. კლინიკურად გამოხატული ლეიშმანიოზი გამოკვლეულ ცხოველებში და ნიმუშების აღება-ტესტირების პროცესები.....	85
სურათი 20. <i>L. donovani</i> კომპლექსის ფილოგენეტიკური კავშირები ორნმ -ის ITS გენის სექვენირებაზე დაყრდნობით. დედნოგრამაში, თითოეულ იზოლატთან არსებული ფერადი სამკუთხედი მიუთითებს მათ გეოგრაფიულ გავრცელებას, რომელიც ნაჩვენებია სურათში 14..	89
სურათი 21. ქართული იზოლატების გეოგრაფიული გავრცელება	90
სურათი 22. კომპონენტების დამატების შედეგად გამოწვეული ლუმინესცენციის ინჰიბირება (თავისუფალი ციტოპლაზმური ატფ), 3-Luc <i>L. donovani</i> -ის პრომასტიგოტებში.	92
სურათი 23. <i>L. donovani</i> პრომასტიგოტების პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზაცია კომპონენტებთან 4 სთ ინკუბაციის შემდეგ. SYTOX Green დამატებული იქნა ინკუბაციის ბოლოს (ისარი მიუთითებს Triton X100-ის დამატებას).	92
სურათი 24. ა). მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაცია, უჯრედების #24 კომპონენტთან 4 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ. უჯრედების შესაღებად გამოყენებული იქნა Rhodamine 123; ბ). მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაცია, უჯრედების Flow cytometry ჰისტოგრამა.	93
სურათი 25. მიტოქონდრიის დაზიანება <i>L. donovani</i> -ის უჯრედებში, ელექტრონული მიკროსკოპი.....	94

სურათი 26. <i>L. donovani</i> პრომასტიგოტები კომპონენტთან #24 4 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ. ინკუბაციამდე უჯრედებს დაემატა 0.05 მკმ Mitotracker Red ფლუორესცენტული საღებავი. კონფოკალური მიკროსკოპირება.....	95
სურათი 27. კონფოკალური მიკროსკოპირება, <i>L. pifanoi</i> ამასტიგოტებით დასნეზოვებული, Balb/C თაგვებიდან მიღებული პერიტონელური მაკროფაგები, #24 კომპონენტთან ინკუბაციის შემდეგ. ისრები მიუთითებენ პარაზიტოფორულ ვაკუოლებში მყოფ ამასტიგოტებზე (მონაცემი წარმოდგენილია MEAN ± SE). უჯრედშიდა ინფექციის რაოდენობრივი ანალიზი.....	96

ცხრილების ჩამონათვალი

ცხრილი 1. <i>Leishmania</i> სახეობები.....	37
ცხრილი 2. ბუდობრივი PCR მეთოდით <i>Leishmania</i> -ს სახეობების დადგენა (Cruz et al., 2002).....	47
ცხრილი 3. ვისცერული ლეიშმანიოზის კერები, რეზერვუარები და გადამტანები საქართველოში	54
ცხრილი 4. სექვენირებისთვის გამოყენებული დკსჯეც -ის კოლექციაში არსებული <i>Leishmania</i> -ს იზოლატების ზოგადი მონაცემები,	57
ცხრილი 5. ფარმაცევტული კომპანიის მიერ მოწოდებული, ექსპერიმენტული პრეპარატების ჩამონათვალი.....	58
ცხრილი 6. PCR Nested 1 სარეაქციო ნარევის მომზადების ცხრილი.....	71
ცხრილი 7. PCR Nested 1 სარეაქციო ნარევის მომზადების ცხრილი.....	71
ცხრილი 8. ვისცერული ლეიშმანიოზის პრევალენტობა ასაკობრივი ჯგუფებისა და რაიონების მიხედვით.....	82
ცხრილი 9. ლეიშმანიოზის პრევალენტობის მაჩვენებელი სეროდადებითებში ასაკობრივი ჯგუფებისა და სქესის მიხედვით	83
ცხრილი 10. rK39 ტესტის შედეგები, სახლის, მაწანწალა ძაღლებსა და გარეულ ცხოველებში თბილისსა და მის შემოგარენში. ნაპოვნია სტატისტიკური სარწმუნოება ძაღლების ასაკს, ჯიშსა და დადებითი ტესტების პროცენტულ მაჩვენებელს შორის ($P<0.001$; χ^2 test).	86
ცხრილი 11. <i>Phlebotomus</i> -ის გვარის მოსკიტების პროცენტული განაწილება და ინფიცირების მაჩვენებელი.....	86
ცხრილი 12. <i>Leishmania</i> -ციდური და ტოქსიკურობის მაჩვენებელი	91

გამოყენებული ტერმინოლოგია

PCR – (Polimerase Chain Reaction) პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია.

Real-Time PCR – ფლუორესცენტული ზონდებით მიმდინარე პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია რეალურ დროში.

bp – ნუკლეოტიდური წყვილი.

Kb – კილობაზა - 10^3 ნუკლეოტიდი.

Mb – მეგაბაზა - 10^6 ნუკლეოტიდი

RPMI medium - ლეიშმანიების საკულტივაციო თხევადი არე

NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) medium - ლეიშმანიების საკულტივაციო ნოვი-მაკნილ-ნიკოლის ორ ფაზიანი არე

LST (Leishmanin Skin Test) -ლეიშმანიინის კანის ტესტი

MS analysis-მიკროსატელიტური ანალიზი

Sequencing by sanger method - სექვენირება სანგერის მეთოდით

rK39 -რეკომბინანტული კ39 ანტიგენი

ITS -შიდა ტრანსკრიპციული უბნები

SSUrRNA -მცირე რიბოსომული სუბერთეულის, რიბონუკლეინის მჟავები

PCR-RFLP -რესტრიქციული ფრაგმენტის სიგრძის პოლიმორფიზმი

TAGs -ტანდემურად განლაგებული გენები

DIREs -დეგენერაციული ინაქტივირებული L1Tc -დაკავშირებული ელემენტები

TATEs -ტელომერთან ასოცირებული ტრანსპოზონული ელემენტები

SLACs -სპლაისინგ ლიდერ ასოცირებული რეტრო-ელემენტები

MLMT -მრავლობითი ლოკუსების მიკროსატელიტური ტიპირება

MTT -3-4,5-დიმეთილთიაზოლი-2,5-დიფენილტეტრაზოლის ბრომიდი

HBSS-Glc -(137 mM NaCl, 5.3 mM KCl, 0.4 mM KH₂PO₄, 4.2 mM NaHCO₃, 0.4 mM Na₂HPO₄, 10 mM D-glucose)

IC₅₀ -კომპონენტის ინჰიბიტორული კონცენტრაცია, რომელიც აინჰიბირებს უჯრედების პროლიფერაციას 50% -ით

DMNP -1-(4,5-დიმეთოქსი-2-ნიტროფენილ) ეთილის ეთერი

Rhodamine123 -[2-(6-ამინო-3 ამინო-3H-ქსანთენ-9-yl) ბენზოლის მჟავა მეთილის ეთერი, ქლორიდი]

NJ Neighbor joining -ფილოგენეტიკური ხეების რეკონსტრუქციის ერთ-ერთი მეთოდი

ML Maximum Likelihood -ფილოგენეტიკური ანალიზის ერთ-ერთი ალგორითმი

JC Jukes-Cantor -ჯუკს-ქენტორის მოდელი

SNP -ერთ-ნუკლეოტიდური პოლიმორფიზმი

შესავალი

ლეიშმანიოზები დაავადებათა ჯგუფია, რომლებიც ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებულია მსოფლიოში და დიდ ზიანს აყენებს მისი მოახლეობის მნიშვნელოვან ნაწილს, ძირითადად კი განვითარებად ქვეყნებს (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010). ჯანმრთელობის მსოფლიო ორგანიზაციის მონაცემებით, დაავადებათა ეს ჯგუფი გავრცელებულია მსოფლიოს 98 ქვეყანაში (Alvar J, et al. 2012.), მათ შორის საქართველოშიც და დაახლოებით 310 მილიონი ადამიანი იმყოფება დაავადების რისკ ქვეშ. მთელი მსოფლიოს მასშტაბით, ყოველწლიურად ლეიშმანიოზის დაახლოებით 3 მილიონი ახალი შემთხვევა რეგისტრირდება, მათ შორის დაახლოებით 20 000 ლეთალურად მთავრდება. ლეიშმანიოზს ტროპიკულ პათოლოგიათა შორის ერთ-ერთი მთავარი ადგილი უჭირავს (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

ლეიშმანიების საციცოცხლო ციკლი მიმდინარეობს მასპინძელთა ცვალებადობით: ხერხემლიანი ცხოველები, ადამიანი და მოსკიტები (*Diptera:Psychodidae; Phlebotominae*) (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010). მოსკიტები პატარა, 1,2–3,7 სმ სიგრძის ორფრთიანი მწერებია. მათი დასნებოვნება *Leishmania* ამასტიგოტებით ხდება ხერხემლიან ცხოველზე სისხლით კვებისას (David M Claborn 2010). მოსკიტების კუჭში ლეიშმანიები გადადიან პრომასტიგოტების სტადიაში, გრძივი დაყოფით მრავლდებიან და ვითარდებიან რა ერთი კვირის განმავლობაში, გარდაიქმნებიან ინვაზიურ ფორმებად, რომლებიც შემდეგ კონცეტირდებიან მოსკიტის კუჭის წინა ნაწილში და მოგვიანებით სანერწყვე ჯირკვლებში. განმეორებითი სისხლით კვებისას პრომასტიგოტები ხერხემლიანი მასპინძლის სისხლში, ფაგოციტირდებიან რეტიკულო-ენდოთელური სისტემის უჯრედების მიერ, გარდაიქმნებიან ამასტიგოტებად და მრავლდებიან ჩვეულებრივი ორად გაყოფის გზით. პარაზიტებით გაჯერებული უჯრედები იშლებიან და გამოსული ამასტიგოტები შთაინთქმებიან სხვა უჯრედების მიერ, რომლებშიც გამრავლების ციკლი მეორდება (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010). ლეიშმანიოზებისათვის დამახასიათებელია კლინიკური ნიშნების პოლიმორფიზმი.

ლიტერატურული მიმოხილვა

ისტორიული ექსკურსი

XIX საუკუნის მიწურულს (1884-1891) კუნინგჰემმა (Cunningham), ბოროვსკიმ (Borovsky), დონოვანმა (Donovan), რაითმა (Wright), ლინდერბერგმა (Linderberg) და ვიანამ (Vianna) ერთმანეთისგან დამუკიდებლად აღმოაჩინეს ლეიშმანიოზის გამომწვევი პარაზიტი, რომელსაც როსმა (Ross) მიაწოდა გვარობრივი სახელი „ლეიშმანია“



სურათი 1. სერ უილიამ
ბუგ ლეიშმანი

(*Leishmania*). აღნიშნული სახელი როსმა შემოიღო ბრიტანელი მეცნიერის, ქირურგის უილიამ ბუგ ლეიშმანის – W. B. Leishman (1865–1926) საპატივცემულოდ, რომელმაც პირველმა გამოყო ლეიშმანიოზის გამომწვევის შტამი 1901 წელს (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010). 1904 წელს კათოირმა (Cathoire) და ლევერანმა (Leveran) *Leishmania* აღმოაჩინეს ახალშობილ ბავშვებში, თანდაყოლილი ელენთის ანემიით, რომელსაც ნიკოლმა (Nicolle) ლეიშმანია ინფანტუმი - *L. infantum* უწოდა. მის

მირვე 1908 წელს ტუნისში, დადგენილი იქნა, რომ ამ დაავადების რეზერვუარებს ძაღლები წარმოადგენდნენ. მოგვიანებით 1922 წელს ინდოელმა მეცნიერმა ბრაჰმაჩარიმ (Brahmachari) პირველმა აღწერა პოსტ-კალა-აზარული-დერმატული ლეიშმანიოზი ინდოეთში. ლეიშმანიოზების გადატანის აღმოჩენაში, რომლებსაც ფლემბოტომუსის (*Phlebotomus*) გვარის მწერები - მოსკიტების წარმოადგენენ, მნიშვნელოვანი წვლილი მიუძღვით ავამინატს, შორტსა და ანდერსონს ინდოეთში (Awaminath, Shortt and Anderson), ხოლო ადლერსა და ბერს (Adler and Ber) პალესტინაში.

ლეიშმანიოზის სახეობების გენეტიკის შესწავლა შესაძლებელი გახდა 1980 -ანი წლების დასაწყისში, დნმ -ჰიბრიდიზაციის მეთოდის გამოგონების შემდეგ.

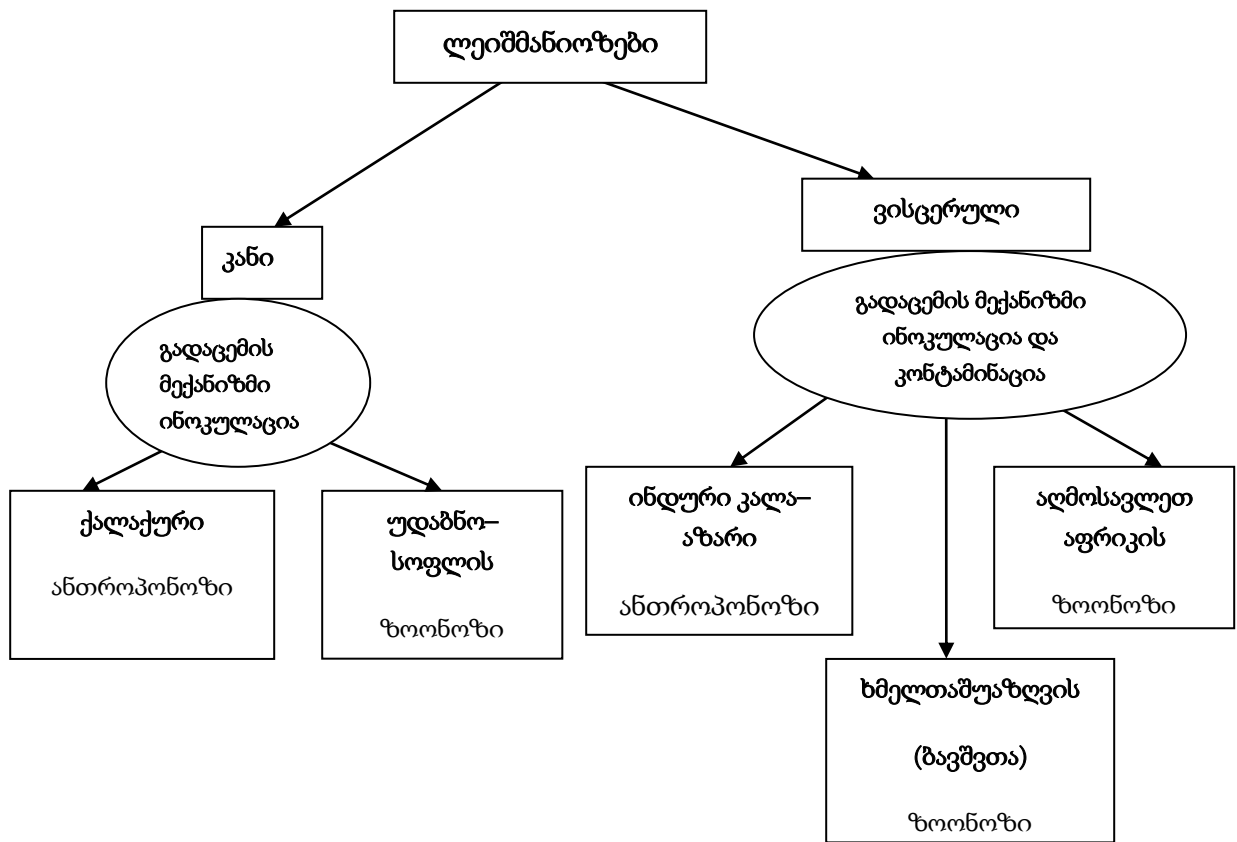
დღეისათვის მსოფლიოში ლეიშმანიოზის გავრცელება ერთ-ერთ პრობლემატურ საკითხს წარმოადგენს და მასთან დაკავშირებული სხვადასხვა საკითხების შესწავლა ძალზედ აქტუალურია.

ზოგადი დახასიათება

ლეიშმანიოზები ადამიანის ტრანსმისიულ დაავადებათა ჯგუფს განეკუთვნებიან, რომლებიც უმეტესად ზოონოზური ბუნებისაა და რომლის მასობრივი გავრცელება განისაზღვრება როგორც ბუნებრივი ისე სოციალური ფაქტორებით. „ლეიშმანიოზების სახელწოდების ქვეშ გაერთიანებულია დაავადებათა ჯგუფი, რომელთაგან ზოგი ანთროპონოზურ დაავადებას წარმოადგენს, ზოგი ზოონოზურს და ზოგიც ანთროპონოზურ–ზოონოზურს (Ready PD. 2010).

არსებობს ადამიანის ლეიშმანიოზების სამი ჯგუფი: ვისცერული, რომელიც უპირატესად ხასიათდება შინაგანი ორგანოების დაზიანებით, კანის და კანლორწოვანის, რომლის დროსაც აღინიშნება, როგორც ლორწოვანი გარსების, ასევე კანის ლოკალური პათოლოგიური გადაგვარება. მათ ახასიათებთ ბუნებრივ კეროვნობა, ტრანსმისიულობა და მკვეთრად გამოხატული სეზონურობა.

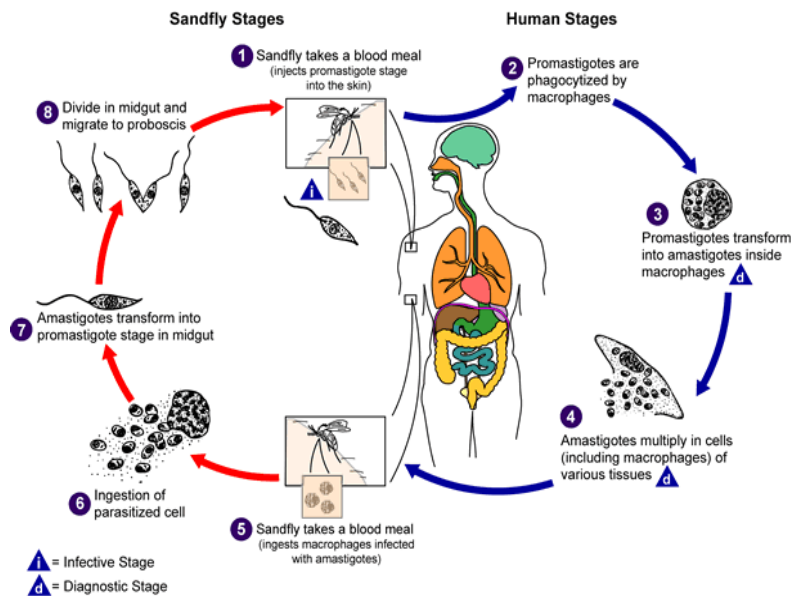
ლეიშმანიოზის თითოეული ფორმა მუძუმწოვარ რეზერვუართა მრავალფეროვნებით ხასიათდება, რომელთაც ძირითადად მაღლისებრთა და მღრნელისებრთა ოჯახები წარმოადგენენ. მრავალფეროვანია დაავადების გადამტანთა სახეობებიც, რომელთა გავრცელებადობა განისაზღვრება გეომორფოლოგიური, კლიმატური და ლანდშაფტური თავისებურებებით (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).



სურათი 2. ლეიშმანიოზების ტიპები

თბილისის ხლიანთა ორგანიზმში ისინი იმყოფებიან ამასტიგოტის – უშოლტო შიდაუჯრედულ ფაზაში. გადამტანის ორგანიზმსა და საკვებ არეებზე ლეიშმანიოზები არიან პრომასტიგოტის –შოლტიანი ფორმით (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

ლეიშმანიოზის გადამტანებს ორფთიანი, *Phlebotomus* –ის გვარის მწერები – მოსკიტები წარმოადგენენ. ადამიანი ავადდება ლეიშმანიებით ინფიცირებული მოსკიტის კბენის შედეგად (Ready PD. 2010).



სურათი 3. ლეიშმანიოზის ტრანსმისიის მექანიზმი

Leishmania –ს გვარის პარაზიტების კლასიფიკაცია და ზოგადი დახასიათება

ლეიშმანიოზებისათვის დამახასიათებელია კლინიკური ფორმების დიდი მმრავალფეროვნება, რომელებიც თავიანთი სპეციფიური ეპიდემიოლოგიური თავისებურებებით ახასიათდებიან და რომელებიც სპეციფიურ მკურნალობასა თუ პროფილაქტიკას საჭიროებენ. ეს უკანასკნელი დაფუძნებულია მედიკამენტოზურ მკურნალობაზე (ვაქცინა ამ დაავადებისათვის დღესდღეისობით არ არსებობს).

ყოველი ფორმისათვის დამახასიათებელი კლინიკური სიმპტომების გამოხატულება და გამოვლინება დამოკიდებულია ბევრ სხვადასხვა ფაქტორზე: ლეიშმანიოზის შტამის პათოგენურობის ხარისხზე, დაავადებული ადამიანის ჯანმრთელობის ზოგად მდგომარეობაზე, პარაზიტების ლოკალიზაციის ადგილზე და სხ (WHO Guidline on Control of The Leishmaniasis 2010). აქედან გამომდინარე კლინიკური სურათი ერთი და იგივე ფორმით დაავადებისას, შესაძლებელია ძლიერ ვარიირებდეს და პირრიქით, ლეიშმანიოზების განსხვავებულ ნოზოლოგიურ ფორმებში ზოგჯერ შეიმჩნევა მსგავსი

კლინიკური სიმპტომები. ამიტომ ცალკეული ნოზოფორმის გამოყოფისას მხედველობაში მიიღება არა მხოლოდ მისი კლინიკური სურათი, არამედ თვით ლეიშმანიოზის სახეობა. დღეისათვის გამოყოფენ ლეიშმანიოზების შემდეგ ძირითად ფორმებს (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010):

I. ძველი სამყაროს ლეიშმანიოზი.

1. ვისცერული ლეიშმანიოზი:

ინდური (კალა-აზარი) – ანთროპონოზი;

ხმეთაშუაზღვის-შუააზიური (ბავშვთა ვისცერული ლეიშმანიოზი) – ზოონოზი;

2. კანის ლეიშმანიოზი:

ანთროპონოზული (ან ქალაქური), გამომწვევი *Leishmania tropica*;

ტუბერკულოიდური ან რეციდიული (გართულებული ანთროპონოზული ფორმით);

II. ახალი სამყაროს ლეიშმანიოზები.

1. ვისცერული ლეიშმანიოზი.

2. კანისა და კან-ლორწოვანას ლეიშმანიოზები:

მექსიკური (‘ჩიკლეროს წყლული’), გამომწვევი *L. mexicana* და კანის ლეიშმანიოზის სხვა ფორმები, რომელთაც „*mexicana*”-ს ჯგუფის პარაზიტები იწვევენ.

პერუს ლეიშმანიოზი (უტა), გამომწვევი *L. peruviana*;

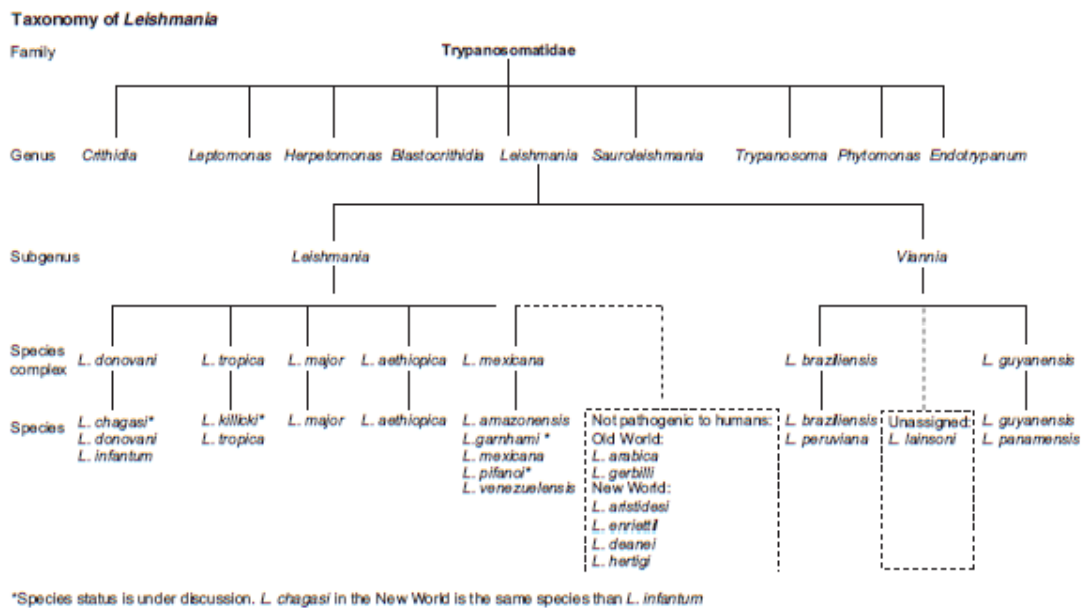
გვინეური (ტყის ფრამბეზია), გამომწვევი *L. guyanensis*;

პანამური, გამომწვევი *L. panamensis*;

კან-ლორწოვანას ლეიშმანიოზი (ესპუნდია), გამომწვევი *L. braziliensis* ან *L. peruviana*. [2][6].

ვისცერული ლეიშმანიოზის გამომწვევი *Leishmania* –ს გვარის პროტოზოაა, რომელიც მიეკუთვნება *Tripanosomatidae* –ს ოჯახს, *Flagellata* –ს კლასს და *Protozoa* –ს

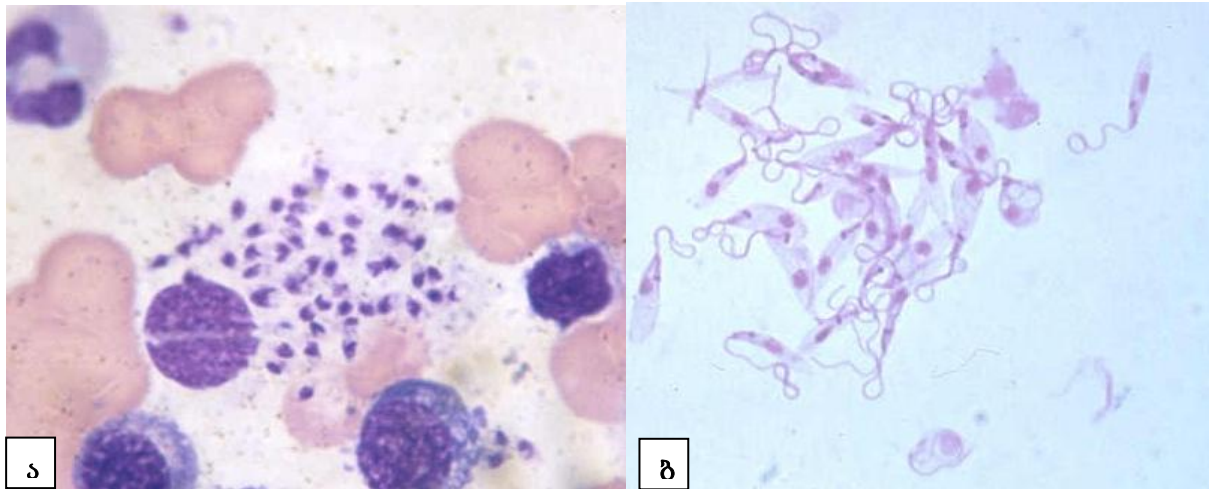
ტიპს. არასაკმარისი კვება და იმუნოსუპრესია, განსაკუთრებით კი აივ ვირუსთან კო-ინფექცია, წარმოადგენენ ძირითად ფაქტორებს, რომლებიც დაავადების კლინიკას განსაზღვრავენ. ვისცერული ლეიშმანიოზი შესაძლოა იყოს ენდემური, სპორადული და ეპიდემიურიც კი, რომლისთვისაც თითოეულ სიტუაციაში დამახასიათებელია განსხვავებული კლინიკური ფორმები. ლეიშმანიების საციცოცხლო ციკლი მიმდინარეობს მასპინძლის ცვლით და შედგება ორი სტადიისგან: ამასტიგოტური (უშოლტო), რომელიც მიმდინარეობს ადამიანისა და სხვა ხერხემლიანების ორგანიზმში და პრომასტიგოტური (შოლტიანი) –მოსკიტის ორგანიზმში.



სურათი 4. ლეიშმანიების ტაქსონომია

ამასტიგოტებისათვის დამახასიათებელია ოვალური ან სფეროსებრი ფორმა, რომლის ზომა 3–5×1–3 მკმ–ა. მისი გიშა–რომანოვსკის წესით შეღებვისას დიფერენცირდება ჰომოგენური ან ვაკუოლიზირებული ცისფერი ციტოპლაზმა, მოწითალო–ლალისფერი ბირთვი და მცირე ზომის დამატებიტი ბირთვაკი–ბლეფაროპლასტი. ასეთი ლეიშმანიების პოვნა შესაძლებელია ხერხემლიანების მონონუკლეარულ–ფაგოციტური სისტემების უჯრედებში (WHO TRS 1984).

პრომასტიგოტები თითისტარისებური ფორმის არიან, მათი ზომა 10–20 მკმ×4–6 მკმ –ა, მათი შეღებვისას ბირთვთან ერთად გამოიკვეთება შოლტიც (WHO TRS 1984).



სურათი 5. ა) ამასტიგოტები ძვლის ტვინში; ბ) პრომასტიგოტები მოსკიტის ორგანიზმში

ლეიშმანიების მემბრანას გააჩნია მნიშვნელოვანი, ასობით ზედაპირული კომპონენტი –ცილები, რომლებიც მათ იცავენ მასპინძლის იმუნური სისტემის პასუხისაგან და აძლიერებენ მათ ინვაზიურობას. აღნიშნულ კომპონენტებიდან ყველაზე უკეთ შესწავლილია ის ცილები, რომლებიც წარმოადგენენ ლიგანდებს ვექტორების ან ძუძუმწოვარი მასპინძლებისათვის. ამ ცილების გარკვეული ნაწილი მასიურად არის შემოფარგლული გლიკანების კომპლექსით და ისინი მსგავსია ან იდენტური იმ ცილებისა, რომლებიც ნაპოვნია ლიპოფოსფოგლიკანებზე, რომლებიც არ შეიცავენ ცილებს. ლეიშმანიოზის მემბრანის ზედაპირული ცილებიდან ყველაზე უკეთ შესწავლილია გლიკოპროტეინი 63 (gp 63). გარდა ამისა, არსებობს სხვა ზედაპირული მოლეკულები, რომლებიც ბოლომდე არ არიან შესწავლილი, მაგ: მემბრანასთან შეკავშირებული მჟავაფოსფატაზა, ატფ-აზა, ადფ-აზა, გლუკოზის მატრანსპორტირებელი ცილები და სხ (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

მოსკიტის კბენის შედეგად სისხლში მოხვედრილი პრომასტიგოტები ექსპოზიციოდებიან კომპლემენტთან ერთად. მათი ნაწილი კი ექსტრაუჯრედული ფერმენტების მეშვეობით გადაურჩება კომპლემენტის სისტემას და მოხვდება

მაკროფაგებში, რომლებსაც პარაზიტები აზიანებენ. დაზიანებული მაკროფაგები ლოკალიზდებიან კლასტერებად და ყალიბდება სპეციფიური გრანულომა ე.წ. პირველადი აფექტი, რომელიც ასევე შედგება პლაზმური უჯრედებისა და T ლიმფოციტებისგან. რამოდენიმე კვირაში გრანულომა იწყებს უკუგანვითარებას და უკვალოდ ქრება. პროცესი შეიძლება ამ ეტაპზე დამთავრდეს ან მოხდეს მისი შემდგომი დისემინაცია (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

მაკროფაგებში პრომასტიგოტი კარგავს შოლტს და ტრანსფორმირდება ამასტიგოტად. ეს უკანასკნელი ფაგოლიზოსომებში დესტრუქციას არ განიცდის და პროლიფერირდება მანამ, სანამ მაკროფაგი არ დაიშლება. მაკროფაგების დაშლის შემდეგ, გამოთავისუფლებული ამასტიგოტი შეიჭრება სხვა მაკროფაგებში. მაკროფაგებში ზოგიერთი ლეიშმანია იშლება. ლეიშმანიოზური აგენტები უკავშირდებიან ძირითადი ჰისტოშეთავსებადობის კომპლექსის II კლასის (MHC II) მოლეკულებს. II კლასის MHC კომპლექსის მოლეკულები იწყებენ ლეიშმანიების ანტიგენის პრეზენტირებას ანტიგენ მაპრეზენტირებელი უჯრედების (APC) საშუალებით მაკროფაგის უჯრედის ზედაპირზე. ხდება CD4 TH1 ლიმფოციტების აქტივაცია და ანთებითი ციტოკინების –IL2 და INF γ –ის გამოყოფა. აქტივირებული CD4 TH1 უჯრედები ასტიმულირებენ მაკროფაგებს, რომლებიც თავისმხრივ იწვევენ IL2 –ისა და სიმსინვნის ნეკროზის ფაქტორის –TNF სტიმულაციას. დაავადების გამოსავალი დამოკიდებულია CD4 უჯრედების სუბტიპებს შორის ბალანსზე (Peruhype-Magalhães V., et al 2005).

აღწერილი პათოგენეზური პროცესების შედეგად ხდება სამიზნე ორგანოების – ელენთა, ღვიძლი, ძვლის ტვინი, ლიმფური კვანძების – დაზიანება, რაც გამოიხატება რეტიკულო–ენდოთელური სისტემის უჯრედების ჰიპერპლაზიაში, ძვლის ტვინის სისხლმზადი ფუნქციის დათრგუნვაში, ანემიის და კახექსიის განვითარებაში, გრანულოციტოპენიასა და აგრანულოციტოზის ჩამოყალიბებაში, რომლის გამოც ხშირია მეორადი ბაქტერიული ინფექციების წარმოქმნა (Peruhype-Magalhães V., et al 2005).

ელენთაში რეტილუკო-ჰისტოციტური და ლიმფოიდური ქსოვილის უხვი ზრდა იწვევს ელენთის ვენაზე ზეწოლას, რის გამოც ადგილი აქვს სისხლის ნორმალური ნაკადის შემცირებას ელენთის ვენიდან კარის ვენაში, რამაც შესაძლებელია შორს წასულ შემთხვევებში (<10%) გამოიწვიოს პორტული ჰიპერტენზია (ღვიძლგარეთა პრესინუსოიდური ფორმა). ამ ფორმის დროს ღვიძლის ფუნქციები, როგორც წესი ნორმალური ან მცირედ დარღვეულია და მიუხედავად პორტული ნაკადის შემცირებისა, ციროზული პროცესები არ ვითარდება (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010). ლეიშმანიების პრომასტიგოტების ლაბორატორიულ პირობებში გამრავლებისათვის სპეციალური, გამდიდრებული საკვები არეები გამოიყენება. განასხვავებენ პირველადი და მეორადი კულტურების საკვებ ნიადაგებს. ორივე შემთხვევაში კულტივირება +26 დან +27°C მდე პირობებში მიმდინარეობს. პირველადი კულტურის მისაღებად საუკეთესო საშუალებას ორ ფაზიანი NNN ნიადაგი წარმოადგენს, რომელიც გამდიდრებულია კურდღლის გულიდან მოპოვებული სტერილური სისხლით. მიღებული კულტურის შემდგომი კულტივაცია კი წარმოებს RPMI თხევად ნიადაგში, რომელშიც შეზავებულია ხარის შრატი, ანტიბიოტიკების ნარევი და ვიტამინები. გადათესვა წარმოებს 5 დღეში ერთხელ ახლად დამზადებულ RPMI ნიადაგში. კულტურის შემოწმება წარმოებს ინვერტირებული მიკროსკოპის მეშვეობით, სადაც ჩვეულებრივ ვხედავთ ფლაგელიან, სწრაფად მოძრავ, წარგძელებული ფორმის ბირთვიან პარაზიტებს.

ლეიშმანიოზის კლინიკა

ძველი სამყაროს ვისცერული ლეიშმანიოზი

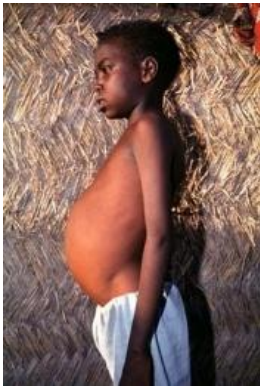
ვისცერულ ლეიშმანიოზს იწვევენ *L. donovani* – *L. infantum*-ის კომპლექსის პარაზიტები (ფიგურა #1, ცხრილი #1), უპირატესად - *L. infantum*. გადამტანი მოსკიტის კბენიდან რამდენიმე დღის შემდეგ, კანზე ფორმირდება ჰისტოციტომა, რომელიც შედგება მაკროფაგების, რეტიკულური, ეპითელიური, გიგანტური და სხვა

უჯრედებისგან (ე. წ. პირველადი აფექტი). შემდეგ იწყება პროცესის გენერალიზება. ლეიშმანიები, მრავლდებიან რა მონონუკლეარული ფაგოციტების სისტემის უჯრედებში, იჭრებიან რეგიონალურ ლიმფურ კვანძებში, საიდანაც ტრანსლოცირდებიან ელენთაში, ღვიძლში, ძვლის ტვინში, კუჭ-ნაწლავის ლიმფურ კვანძებსა და სხვა ორგანოებში (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010). მონონუკლეარული ფაგოციტური სისტემის უჯრედების პროლიფერაციის, ასევე დისტროფიული და ნეკროზული პროცესების განვითარების შედეგად, ირღვევა პარენქიმული ორგანოების ფუნქციები და იზრდება მათი ზომები. მნიშვნელოვნად ზიანდება ელენთის პულპა, რის შედეგადაც ქვეითდება ჰემოპოეზი, პროგრესირდება ანემია; ზიანდება ძვლის ტვინი. მცირდება ლეიკოციტების სიცოცხლის ხანგრძლივობა, რასაც შემდგომში მოჰყვება გრანულოციტოპენია. კუჭფერის უჯრედებისა და ღვიძლის ჰიპერპლაზია, ასევე ინტერგლობულინური ფიბროზი განაპირობებენ ჰეპატოციტების ატროფიას. მცირდება პროთრომბინის გამომუშავება, რამაც თრომბოციტოპენიასთან ერთად შეიძლება გამოიწვიოს ძლიერი სისხლდენები ლორწოვანი გარსებიდან. ასევე შესაძლებელია განვითარდეს ღვიძლის ამილოიდოზი (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010). ინფექცია უპირატესად მიმდინარეობს უსიმპტომოდ, თუმცა ზოგიერთ პაციენტს გარკვეული დროის შემდეგ შეიძლება განუვითარდეს კლინიკურად გამოხატული ვისცერული ლეიშმანიოზი. აღწერილია შემთხვევა, როცა უსიმპტომოდ მიმდინარე ვისცერული ლეიშმანიოზი პაციენტს გამოუვლინდა ენდემური ტერიტორიის დატოვებიდან 7 წლის შემდეგ. ვარაუდობენ, რომ იტალიასა და კენიაში უსიმპტომოდ და კლინიკურად გამოხატული ფორმების თანაფარდობაა დაახლოებით 5:1. არასაკმარისი კვება და იმუნოდეპრესია (ხშირად აივ ინფექციის, ტრანსპლანტაციის ან ქიმიოთერაპიის დროს) დაავადების კლინიკური ფორმის განვითარების რისკ-ფაქტორებს წარმოადგენენ.

ვისცერული ლეიშმანიოზი შეიძლება იყოს ენდემური, სპორადული ან ეპიდემური. ყოველი მათგანი ხასიათდება განსხვავებული კლინიკური სურათით.

ვისცერული ლეიშმანიოზის ენდემურ რაიონებში დაავადებისათვის დამახასიათებელია ქრონიკული მიმდინარეობა. სამხრეთ ევროპაში, ჩრდილოეთ აფრიკაში, დასავლეთ და ცენტრალურ აზიაში *L. infantum*-ის მიერ გამოწვეული ენდემური ვისცერული ლეიშმანიოზით უპირატესად ავადდებიან ბავშვები და იმუნოდეპრესიული მდგომარეობის მქონე მოზრდილები. აღმოსავლეთ აფრიკისა და ინდოეთის ენდემურ რაიონებში ვისცერული ლეიშმანიოზის შემთხვევების უმეტესობა მოდის ბავშვებსა და ახალგაზრდებზე. ინკუბაციური პერიოდი მერყეობს 10 დღიდან 1 წლამდე (ზოგიერთ შემთხვევაში ინკუბაციური პერიოდი შეიძლება აღემატებოდეს 1 წელს). დაავადება, როგორც წესი, იწყება თანდათანობით. ვისცერული ლეიშმანიოზისთვის დამახასიათებელი სიმპტომებია: ცხელება, ზოგადი სისუსტე, კანკალი, შემცივნება, წონის კლება, ანორექსია და დისკომფორტი მარცხენა ფერდქვეშა მიდამოში (Alvar J, et al. 2012). ტიპური კლინიკური ნიშნებია: უმტკივნეულო სპლენომეგალია, ჰეპატომეგალიით ან მის გარეშე, ლორწოვანი გარსების განლევა და სიფერმკრთალე. ზოგჯერ შეიძლება გამოვლინდეს ლიმფოადენოპათია (განსაკუთრებით სუდანში), რომელიც შეიძლება იყოს ერთადერთი კლინიკური ნიშანი (Alvar J, et al. 2012). სახის, ხელის მტევნების, ფეხებისა და მუცლის კანის გამუქება, როგორც წესი, აღინიშნება ინდოეთში (ლეიშმანიოზს ჰინდის ენაზე უწოდებენ კალა-აზარს, რაც ნიშნავს „შავი ცხელება“ ან „სიკვდილის ცხელება“). მისი გამომწვევია - *L. donovani*. ინდოეთის გარდა კალა-აზარი რეგისტრირდება ბანგლადეშში, ნეპალში და პაკისტანში. კლინიკურად კალა-აზარის მსგავსი ვისცერული ლეიშმანიოზი გავრცელებულია ჩინეთის სამხრეთ-აღმოსავლეთ რეგიონებში, სადაც ინფექციის ინფექციის გამომწვევის გადამტანნი არიან *P. chinensis* და *P. longiductus*. ანთროპონოზული ვისცერული ლეიშმანიოზი, რომელსაც იწვევს *L. donovani*, გავრცელებულია აგრეთვე აფრიკის კონტინენტზე – კენია, სუდანი, უგანდა, ეთიოპია, (გადამტანი - *P. martini*) და არაბეთის ნახევარკუნძულზე – საუდის არაბეთის ჩრდილო-დასავლეთ ნაწილში და იემენის მთიან რაიონებში (გადამტანები: *P. arabicus*, *P. orientalis*).

ინკუბაციური პერიოდი გრძელდება 3 კვირიდან 12 თვემდე (იშვიათად 2–3 წელი). ზოგიერთ შემთხვევებში პაციენტებს შეიძლება განუვითარდეთ ჰემოლიზური ანემია, მწვავე თრემლის უკმარისობა და ლორწოვან გარსებში სისხლჩაქცევები. კალა–აზარის



სურათი 6. ბავშვი კარგად გამოხატული ჰეპატო-სპლენო მეგალიით

შემდგომი კანის ლეიშმანიოიდი შესაძლებელია განვითარდეს ვისცერული ლეიშმანიოზის ყველა ენდემურ ტერიტორიებზე, თუმცა ყველაზე ხშირად იგი ინდოეთში ფიქსირდება, სადაც დაავადებულთა 10%-ს, რემისიიდან ერთი ან რამდენიმე თვის შემდეგ, სახესა და სხეულის სხვა ნაწილებზე უვითარდებათ კანის დაზიანებები კვანძოვანი ან ლაქოვანი გამონაზარდების სახით,

რომლებიც შეიცავენ ლეიშმანიებს. ამ გამონაზარდებს ეწოდებათ კალა–აზარის შემდგომი კანის ლეიშმანიოიდი. პაციენტი შეიძლება წლების განმავლობაში იყოს დაავადებული და მთელი ამ პერიოდის

განმავლობაში ის ინფექციის წყაროა. კალა–აზარის შემდგომი კანის ლეიშმანიოიდის კლინიკური ნიშნები ვითარდება ვისცერული ლეიშმანიოზის გადატანიდან 6 თვის ან რამდენიმე წლის შემდეგ. კლინიკურად დაავადება ვლინდება ჰიპოპიგმენტაციით ან სხეულის ნებისმიერ ნაწილზე (მაგრამ უფრო ხშირად სახეზე) კანის ერითემატოზური გამონაყარით, რომელიც შეიძლება იყოს მაკულარული, პაპულარული და ვეზიკულური ბუნების, მხოლოდ გამონადენის გარეშე. ძალიან ხშირად ყველა ეს ელემენტი აღენიშნება ერთ ავადმყოფს. იშვიათ შემთხვევებში გამონაყარი აღინიშნება ლორწოვან გარსებსა და ენაზე, ამ უკანასკნელის დროს კი შესაძლებელია კანის დაზიანებები. დაავადება იწყება ეტაპობრივად და მისი მწვავე პერიოდისთვის დამახასიათებელია ცხელება, სპლენომეგალია, ჰეპატომეგალია და პერიფერიული ლიმფური კვანძების გადიდება. ცხელებას ხშირად გააჩნია ტალღისებური ხასიათი, ზოგჯერ კი დღის განმავლობაში ტემპერატურამ შეიძლება რამდენიმეჯერ მოიმატოს (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

ზოგჯერ ელენტის ქვედა კიდე აღწევს მცირე მენჯამდე, ხოლო ზედა - V-VI ნეკნამდე. ღვიძლის გადიდება შედარებით ნაკლებ მნიშვნელოვანია, რადგან მისი ქვედა ბოლო არასოდეს ჩამოდის ჭიპის დონეზე დაბლა. ღვიძლისა და ელენტის ქვედა ბოლოები მჭიდროდ არიან ერთმანეთთან განლაგებული, ისე რომ, პალპაციის



შემთხვევაში პაციენტი ტკივილს ვერ გრძნობს. მუცლის შესუსტებულ კედელზე, შესაძლებელია გამოიკვეთოს გადიდებული ელენტისა და ღვიძლის კონტურები. ღვიძლი და ელენთა აწვებიან

სურათი 7. პაციენტი კარგად გამოხატული ელენტის და ღვიძლის კონტურებით

დიაფრაგმას, რის გამოც გული გადაინაცვლებს მარჯვენა მხარეს. შედეგად გულისცემა ისმის

ყრუდ, შეინიშნება ტაქიკარდია და ვითარდება გულის უკმარისობა. აღინიშნება საჭმლის მომნელებელი სისტემის მოშლა, რაც ვლინდება დიარეით. ქალებში ხშირად აღინიშნება მენსტრუალური ციკლის მოშლა (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010). კანის მუქი ფერი განპირობებულია თირკმლისზედა ჯირკვლების დაზიანებით. ჰემოგრამაში აღინიშნება ერითროციტების რაოდენობის ($1-2 \times 10^{12}/\text{ლ}$ მდე, შესაძლებელია უფრო ნაკლებიც), ჰემოგლობინის (40–50 გ/ლ მდე ან უფრო ნაკლები) და ფერადობის მაჩვენებლის შემცირება (0,6–0,8). აგრეთვე პოიკილოციტოზი, ანიზოქრომია, ლეიკოპენია ($2-2,5 \times 10^9/\text{ლ}$) და ნეიტროპენია, რომელიც ზოგჯერ 10%-ს აღწევს ლიმფოციტოზის დროს. ვისცერული ლეიშმანიოზისათვის დამახასიათებელია ზომიერი თრომბოციტოპენია, ერითროციტების დალექვის სიჩქარე კი 90 მმ/სთ–ს აღწევს. აღინიშნება სისხლის მიმოქცევის მაჩვენებლების შემცირება და ერითროციტების ოსმოსური გამძლეობა. იმატებს გლობულინების დონეც. გრანულოციტოპენიისა და აგრანულოციტოზის შედეგად ვითარდება ნუშურა ჯირკვლებისა და პირის ღრუს ლორწოვანი გარსის წყლულოვან–ნეკროზული დაზიანებები. ხშირად აღინიშნება ჰემორაგიული სინდრომი სისხლჩაქცევებით კანსა და ლორწოვანების მიდამოებში, აგრეთვე დამახასიათებელია სისხლდენები ცხვირიდან და კუჭნაწლავიდან. აღსანიშნავია, რომ ჰიპერსპლენომეგალიამ შესაძლოა გამოიწვიოს ელენტის ინფარქტი.

დაავადების ტერმინალურ პერიოდში ვითარდება კახექსია, ვარდება კუნთოვანი ტონუსი, იკლებს კანის სიზრქე, რომელიც იძენს ფაიფურის ფერს (ზოგჯერ მოყავისფრო).

სუდანში და იშვიათად აღმოსავლეთ აფრიკაში ავადმყოფებს შეიძლება განუვითარდეთ ლორწოვანის დაზიანებები, კანზე კვანძები ან წყლულებები, რომლებიც შეიცავენ *Leishmania*-ს. დაავადების პროგრესირებასთან ერთად პაციენტს აღენიშნება შემუპება, თმის და კანის ცვლილებები. დამახასიათებელია ინტერკურენტული ინფექციები.

სპორადული ლეიშმანიოზი შეიძლება განუვითარდეს ენდემურ რაიონში მყოფ ნებისმიერი ასაკის პირს, რომელიც არ მიეკუთვნება ადგილობრივ მოსახლეობას. ამ შემთხვევაში დაავადების მიმდინარეობა შეიძლება იყოს მწვავე. დაავადების მწვავე მიმდინარეობა შეიძლება აღინიშნოს მცირე ასაკის ბავშვებშიც. ინკუბაციური პერიოდი 3 კვირიდან 2 წლამდეა. დაავადებისთვის დამახასიათებელია ტალღისებური ხასიათის ცხელება, პროფუზული ოფლიანობა, წონის სწრაფი დაკარგვა და საერთო სისუსტე. აღნიშნულ პაციენტებს შეიძლება განუვითარდეთ მწვავე ჰემოლიზური ანემია, თირკმლის მწვავე უკმარისობა და ლორწოვან გარსებში სისხლჩაქცევები. მკურნალობის გარეშე ან დაგვიანებული მკურნალობისას შეიძლება პაციენტი გარდაიცვალოს (Lewis DJ, et al. 1987).

არცთუ იშვიათად გვხვდება ვისცერული ლეიშმანიოზიოზის ქვემწვავე ფორმა, რომელიც ხშირად მიმდინარეობს მძიმედ და გართულებებით. ლიმფოიდურ-მაკროფაგული სისტემის ჰიპერპლაზიის შედეგად ვითარდება ანემია, ლეიკოპენია, გრანულოციტოპენია და ჰიპერგამაგლობულინემია, ვითარდება სპლენო- და ჰეპატომეგალია. ავადმყოფი მკვეთრად კარგავს წონას, უქვეითდება კუნთოვანი ტონუსი, ზიანდება ძვლის ტვინი და ვითარდება მეორადი იმუნოდეფიციტური მდგომარეობა, აქტიურდება ბაქტერიული ფლორა, რაც განაპირობებს ენტეროკოლიტს, ფურუნკულოზს (მრავალთავიან ძირმაგარა), მრავალრიცხოვან აბსცესებს საჭმლის

მომწესებელი ტრაქტის ლორწოვან გარსებში. სპეციფიკური თერაპიის გარეშე, 5–6 თვის შემდეგ, შესაძლებელია ავადმყოფი გარდაცვალოს.

ვისცერული ლეიშმანიოზის გადატანის შემდეგ, დაავადებულებს უყალიბდებათ მდგრადი და ხანგრძლივი იმუნიტეტი. სრულად განკურნების შემთხვევაში განმეორებითი დაავადებები პრაქტიკულად არ რეგისტრირდება (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

ხშირია ვისცერული ლეიშმანიოზის კოინფექციები შიდსთან. აღნიშნულ პაციენტებში დაავადება მძიმედ მიმდინარეობს, რადგან ყალიბდება რეზისტენტობა სხვადასხვა, სპეციფიური სამკურნალო პრეპარატების მიმართ, შესაძლებელია განვითარდეს აგრანულოციტოზი, მწვავე ჰემოლიზური ანემია, თირკმლის მწვავე უკმარისობა და ძლიერი სისხლდენები, რაც მნიშვნელოვნად ამცირებს პაციენტების სიცოცხლის ხანგრძლივობას (Alvar J, et al. 2008).

მკურნალობა ტარდება 5 ვალენტანი სტიბიუმის (ანტიმონიუმი) შემცველი პრეპარატებით: ნატრიუმის სტიბოგლუკონატი (პენტოსპამი, ნატრიუმის ანტიმონიგლუკონატი), ან მეგლუმინის ანტიმონიატით (გლუკანტიმი).

პრეპარატის დღეღამური დოზის შეყვანა ხდება ერთჯერადად, კუნთებში. ბავშვებში სასურველია ინტრავენურად ნელი შეყვანა 5–10 წუთის განმავლობაში. შესაძლებელია წვეთოვანი შეყვანისათვის, დღეღამური დოზის განზავება 50–100 მლ 5%-იანი გლუკოზით.

დღეღამური დოზა გამოითვლება 20 მგ/კგ–ზე (ანტიმონიუმის შემთხვევაში). მკურნალობის სრული კურსი შეადგენს 30 დღეს. რეციდივების შემთხვევაში მკურნალობას იმეორებენ 14 დღიანი ინტერვალის შემდეგ (Alvar J, et al. 2008).

დაავადების მძიმედ მიმდინარეობისა და 5 ვალენტანი სტიბიუმის შემცველი პრეპარატების არაეფექტურობის შემთხვევაში, ნიშნავენ მეორე რიგის პრეპარატებს, რომლებშიც შედიან ამფოტერიცინ B და პარომომიცინი. ამფოტერიცინ B ინიშნება ინტრავენურად შემდეგი დოზით: 0.5 მგ/კგ–ზე, ყოველ დღე ან დღეგამოშვებით

მთლიანი სამკურნალო დოზის მიღწევამდე –20 მგ/კგ–ზე. აღნიშნული პრეპარატის გამოხატული ტოქსიკურობის გამო აუცილებელია თირკმელების ფუნქციის მონიტორინგი. პარომომიცინის დოზა გამოითვლება ყოველდღიურად 15 მგ/კგ–ზე. მკურნალობის სრული კურსი - 30 დღე. პარომომიცინის მოქმედებამ შეიძლება გამოიწვიოს თირკმელებისა და სმენის ნერვის დაზიანება (Alvar J, et al. 2008). ვისცერული ლეიშმანიოზის სამკურნალოდ აგრეთვე გამოიყენება პენტამიდინ იზოთიონატი, დღიურად - 4 მგ/კგ–ზე, დღეგამოშვებით 11 კვირის განმავლობაში და ლიზოსომალური ამფოტერიცინ B; სამკურნალო კურსის დოზა 20–30 მგ/კგ–ზე, 10–20 დღის განმავლობაში. მკურნალობისას აუცილებელია გულის, ღვიძლისა და თირკმელების ფუნქციების მონიტორინგი (Alvar J, et al. 2008).

ვისცერული ლეიშმანიოზის დროული მკურნალობა პაციენტის სრული გამოჯანმრთელებით მთავრდება, ხოლო მწვავე და მძიმე ფორმები მკურნალობის გარეშე (ან დაგვიანებული მკურნალობით) ლეტალურად. მსუბუქი ფორმებისას შესაძლებელია სპონტანური გამოჯანმრთელება.

კალა–აზარის შემდგომი კანის ლეიშმანიოიდის მკურნალობა იგივეა, რაც ვისცერული ლეიშმანიოზის დროს, თუმცა უფრო ხანგრძლივია – 4 თვე.

ეპიდემიოლოგია.

ვისცერული ლეიშმანიოზის ხმელთაშუა ზღვა – შუა აზიის ფორმა წარმოადგენს ზოონოზს. გამომწვევის ძირითადი ბუნებრივი რეზერვუარი ძაღლისებრთა ოჯახის წარმომადგენლები არიან. ვარაუდობენ, რომ სუდანში გამომწვევის დამატებით ბუნებრივ რეზერვუარია *Arvicantis*-ის გვარის მღწელები, ხოლო იტალიაში შავი ვირთაგვები (*Rattus rattus*). ვისცერული ლეიშმანიოზით ჩრდილოეთ აფრიკასა და სამხრეთ–დასავლეთ აზიაში უპირატესად ავადდებიან 1-დან 4 წლამდე ასაკიდ ბავშვები, აღმოსავლეთ აფრიკაში 5-დან 9 წლამდე ასაკის ბავშვები. ჩინეთში, ცენტრალურ აზიასა და ჩრდილოეთ ევროპაში დაავადება რეგისტრირდება ყველა ასაკობრივ ჯგუფში.

ვისცერულ ლეიშმანიოზს ახასიათებს სეზონურობა; ადამიანთა დაინფიცირება უპირატესად ხდება ზაფხულში, ხოლო დაავადების შემთხვევები რეგისტრირდება შემოდგომაზე ან მომდევნო წლის გაზაფხულზე.

ვისცერული ლეიშმანიოზის ზოონოზური ფორმის კერები გავრცელებულია აზიის, აფრიკისა და ევროპის ფართო ტერიტორიებზე, ატლანტიკის ოკეანედან პაკისტანამდე და ჩრდილოეთ ევროპიდან და ყაზახეთიდან ჩადის რესპუბლიკამდე. სხვადასხვა კერებში გადამტანებს მოსკიტების სხვადასხვა სახეობა წარმოადგენს. ყირიმის სტეპებში, ჩრდილოეთ კავკასიის რეგიონში, მოლდოვეთში, უნგრეთში, რუმინეთში, ალჟირსა და მაროკოში დომინანტური გადამტანია *P. perfilievi*, აზერბაიჯანში – *P. transcausicus*. ტყეებში, ბარში და მთისწინა რაიონებში იტალიაში, ბალკანეთის ნახევარკუნძულზე, ყირიმში, პალესტინაში, თურქეთსა და ჩრდილო-დასავლეთ ირანში *L.infantum*-ის ცირკულაცია *P. neglectus*-ის მეშვეობით ხორციელდება. კავკასიის, შუა აზიის, ირანის, ავღანეთს მთიან ლანდშაფტებში, ასევე პაკისტანის სამხრეთ რაიონებში გადამტანია *P. kandelakii* (რომელიც ერთ-ერთი ძირითადი გადამტანია საქართველოშიც). *P. keshishiani*, *P. longicuspis* და *P. wenioni*. ყაზახეთის ენდემიურ კერებში ძირითადი გადამტანია *P. smirnovi* (WHO TRS-949 2010).

მოსკიტების ცალკეული სახეობები ხასიათდებიან მათთვის სპეციფიური სეზონური პოპულაციური რიცხოვნობით, სეზონური აქტივობის დინამიკით, თაობათა რიცხოვნობით სეზონის განმავლობაში, ანტროპოფილურობის ხარისხით, ენდო- და ეგზოფილურობით, კლიმატური პირობებისადმი მოთხოვნილებებითა და გამრავლების ბიოტოპებით (WHO TRS-949 2010).

ჩრდილოეთ ევროპისა (ესპანეთი, იტალია, პორტუგალია, საფრანგეთი და ა.შ.) და სამხრეთ აფრიკის ქვეყნებში (ალჟირი, ჯიბუტი, კენია, ეთიოპია და ა.შ.) პროგრესიულად იზრდება შერეული ინფექციების – ვისცერული ლეიშმანიოზი + აივ ინფექცია რაოდენობა. ასეთი ინფექციების შეტანის შემთხვევები დაფიქსირებულია ინგლისში,

გერმანიაში, შვეიცარიაში და სხვა ქვეყნებში. ერთი ასეთი შემთხვევა დარეგისტრირებულია რუსეთშიც (Alvar J, et al. 2008).

ძველი სამყაროს კანის ლეიშმანიოზი

ძველ სამყაროში კანის ლეიშმანიოზის იწვევს *Leishmania*-ს ხუთი სახეობა: *L. infantum*, *L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica* და *L. donovani*.

კანის ლეიშმანიოზის კლინიკური ნიშნები, როგორც წესი, განსხვავდება რეგიონების მიხედვით, რაც განპირობებულია სხვადასხვა სახეობების პარაზიტების ინფიცირებით ან ზოონოზური ციკლის შესაბამისი ტიპით, იმუნოლოგიური სტატუსით და პაციენტების გენეტიკურად დეტერმინირებული რეაქციებით. დაავადება, როგორც წესი, იწყება ინოკულაციის ადგილას პაპულის ან კვანძის განვითარებით (შედგება პლაზმატური უჯრედებისგან, ნეიტროფილებისა და ლიმფოციტებისგან, რომელიც ნელა იზრდება და საბოლოო ზომას ღებულობს დაახლოებით ერთი კვირის შემდეგ. ცენტრში წარმოიქმნება ფუფხი, რომელიც შეიძლება მოცილდეს და გამოაჩინოს დაახლოებით 5 სმ-ის დიამეტრის მქონე წყლული, რომელიც რამდენიმე თვის ან წლის განმავლობაში თანდათანობით ხორცდება და წარმოქმნის შეცვლილი პიგმენტაციის მქონე ნაიარევს. შესაძლებელია იფექციის გავრცელდეს ლიმფურ კვანძებშიც, და გამოიწვიოს ლიმფანგიტი და ლიმფადენიტი (WHO Guidline on Control of The Leishmaniasis 2010). განასხვავებენ ანთროპონოზულ და ზოონოზურ კანის ლეიშმანიოზებს.

ძველი სამყაროს ანთროპონოზული კანის ლეიშმანიოზი

დაავადების გამომწვევია *L. tropica*. ინკუბაციური პერიოდი მერყეობს 2–4 თვიდან 2 წლამდე (ზოგჯერ 4–5 წელსაც აღწევს). ინფიცირებული მოსკიტის კბენის ადგილას,

უპირატესად სახეზე და ზედა კიდურებზე, წარმოიქმნებიან ნაკლებ შესამჩნევი, რამდენიმე (იშვიათად მრავალრიცხოვანი) 2–3 მმ დიამეტრის, გლუვი და პრიალა ზედაპირიანი ბორცვაკები. ისინი ნელნელა იზრდებიან და 3–4 თვის შემდეგ მათი დიამეტრი 5–10 მმ-ს აღწევს. რამდენიმე თვის შემდეგ შესაძლებელია მოხდეს ბორცვაკების თანდათანობითი გაწოვა და თითქმის უკვალოდ გაქრობა. თუმცა ასეთი შემთხვევები ძალიან იშვიათია. ხშირად ბორცვაკების ზედაპირზე ჩნდება ძნელად შესამჩნევი ჩაღრმავებები, რომლებზეც აპკი ყალიბდება და რომელიც შემდგომ გადაიქცევა მოყვითალო ფერის, ბორცვაკთან შეზრდილ, მყარ ქერქად. ქერქის მოშორების შემდგომ წარმოიქმნება ეროზია, რომელც არც თუ ისე ღრმაა, ხშირად კრატერის მსგავსი წყლული, გლუვი ან წვრილი გრანულარული ძირით, რომელიც დაფარულია ჩირქოვანი ნადებით. ფორმირებიდან 2–4 თვის შემდეგ თანდათან იწყება წყლულების შეხორცების პროცესი, რომელსაც ბორცვაკის წარმოქმნიდან სჭირდება საშუალოდ 1 წელი (იშვიათად ეს პროცესი გრძელდება 2 წლამდე).

ანთროპონოზული კანის ლეიშმანიოზის შემთხვევაში დაავადების წყაროა ადამიანი. დამატებით რეზერვურს დაავადებული ძაღლი წარმოადგენს. ძირითადი გადამტანია *P. sergenti*. დასნეობვნება მიმდინარეობს მთელი წლის განმავლობაში. კანის ლეიშმანიოზის ანთროპონოზული ტიპი ძირითადად დამახასიათებელია ქალაქებისა და ქალაქის ტიპის დასახლებებისთვის. იშვიათად გვხვდება სოფლის მოსახლეობაში. ადგილობრივ მოსახლეობას შორის ძირითადად ავადდებიან ბავშვები. კანის ანთროპონოზული ლეიშმანიოზი უპირატესად გავრცელებულია ხმელთაშუა ზღვის, ცენტრალური აზიისა და კავკასიის ქვეყნებში (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

ძველი სამყაროს ზოონოზური კანის ლეიშმანიოზი

გამომწვევი – *Leishmania major*. ინკუბაციური პერიოდი გრძელდება ერთი კვირიდან 1–1,5 თვემდე (საშუალოდ 10–20 დღე). ჩვეულებრივ, დაავადება იწყება მოსკიტის კბენის

შემდეგ, ნაკბენები ძირითადად კიდურებზეა, უფრო ხშირად კი ქვედა კიდურებზე. ნაკბენების ადგილას წარმოქმნილი ბორცვაკები, ვიზუალურად მსგავსია ანთროპონოზული ფორმისთვის დამახასიათებელი ბორცვაკებისა, თუმცა გაცილებით დიდი ზომისაა, რომელიც დასაწყისში 2–4 მმ, ხოლო მეორე დღისათვის მათი დიამეტრი იზრდება 8–10 და 15 მმ-მდეც კი. წარმოქმნილი ანთებითი პაპულა ან ძირმაგარისმაგვარი კვანძი, განვითარების პროცესში 1–2 კვირის შემდეგ, შესაძლებელია გადაიზარდოს ცენტრალურ ნეკროზში, რომლის შედეგადაც ყალიბდება ღრმა წყლული დიამეტრით 2–4 მმ. ასეთი წყლული გარშემორტყმულია ძლიერი ინფილტრატით, რომლის შემცირების ხარჯზეც იზრდება წყლულის სიღრმე. მისი ძირი უსწორმასწოროა და ჩვეულებრივ დაფარულია მოყვითალო–მინაცისფრო ან მოყვითალო–მომწვანო ნადებით. წყლულის შიგთავსი სეროზულ–ჩირქოვანია (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

წყლულები ნაკლებ მტკივნეულია, თუმცა ზოგჯერ ტკივილის შეგრძნებას შესაძლებელია ადგილი ჰქონდეს დაზიანებული ადგილის გადახვევის ან შემთხვევითი ტრამვირების დროს. წყლულის გამოხატული ტკივილის გამოვლენა მიუთითებს მეორადი ბაქტერიული პიოგენური ფლორის არსებობაზე.

ბორცვაკის შუა ნაწილის ჩამოშლა მიმდინარეობს ძალიან სწრაფად, წყლული ვითარდება პერიფერიულად და ზოგჯერ სიდიდით აღწევს ბავშვის ხელის გულის ზომას (განსაკუთრებით ზურგსა და მუცელზე). ზოგჯერ, წყლულის ირგვლივ, ინფილტრატის ზონაში, წარმოიქმნებიან ახალი, შედარებით უფრო მომცრო ზომის ლეიშმანიოზები (პროლიფერაციული ბორცვაკები), რომლებიც განვითარების იგივე ციკლის გავლის შემდეგ გარდაიქმნებიან პატარა წყლულებად და აყალიბებენ უფრო დიდი ზომის, მთლიან მწვავე ანთებით წყლულოვან კერებს. ეს უკანასკნელი გარშემორტყმულია ინფილტრატის რგოლებით, რომლებიც თანდათანობით პერიფერიულად შეიზრდება ჯანმრთელ კანთან (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

მრავალრიცხოვანი ლეიშმანიომების შემთხვევაში, რომლებიც მოსკიტების მრავალჯერადი კბენისას წარმოიქმნებიან, შესაძლებელია წარმოიქმნას რამდენიმე ათეული, ზოგჯერ ასამდე წყლული. ჩვეულებრივ, ისინი არც თუ ისე დიდი ზომისაა, მომრგვალებული ან უსწორმასწორო ფორმით.

L. major-ით გამოწვეული კანის ლეიშმანიოზისთვის დამახასიათებელია ჩვეულებრივ, მტკივნეული, რეგიონალური ლიმფადენიტის განვითარება.

ფორმირებიდან 2–3 თვის შემდეგ, წყლულები თანდათანობით იწმინდებიან ნეკროზულ–ჩირქოვანი ნადებისაგან და შესაბამისად მცირდება ინფილტრატი. შედეგად წარმოქმნილი ნაწიბურები ჰიპერემიულია. ჰიპერემია და პროლიფერაციული ბორცვაკებიც კი შესაძლებელია პერიოდულად წარმოიქმნან ნაწიბურებზე თვეების ან წლის განმავლობაში. შემდგომში ნაწიბურები განიცდიან ატროფიას და დეპიგმენტაციას. ისინი მთელი ცხოვრების მანძილზე რჩებიან (Sadeghian G, et al. 2013).

მთლიანი პროცესი, პაპულის ან ბორცვაკის წარმოქმნის მომენტიდან სრულყოფილი ნაწიბურის წარმოქმნამდე, გრძელდება 2 დან 5–6 თვემდე, ანუ გაცილებით მოკლეა, ვიდრე *L. tropica* –თი გამოწვეული კანის ლეიშმანიოზისას.

კანის სვდასხვაგვარად დაზიანების მიუხედავად, ანთროპონოზული და ზოონოზური ფორმების ლეიშმანიოზებისას, ზოგჯერ კლინიკურ სურათზე დაყრდნობით რთულია იმის განსაზღვრა, თუ რომელ ფორმასთან გვაქვს საქმე.

კანის ლეიშმანიოზის ორივე ფორმის შემთხვევაში, დაავადების გადატანის შემდეგ ყალიბდება მყარი და მუდმივი იმუნიტეტი. რეციდივები ძალიან იშვიათა.

L. major –ით გამოწვეული კანის ლეიშმანიოზის გადატანის შემდეგ, ყალიბდება რეზისტენტობა *L. tropica*-ს მიმართ. ყველაზე ხშირ გართულებას მეორადი ინფექცია წარმოადგენს, რომლის დროსაც დაავადება გაცილებით მძიმედ მიმდინარეობს. ქვემო კიდურებზე ლიმფადენიტების შემთხვევაში, ლიმფოსტაზის შედეგად, შესაძლებელია წვივებისა და ქუსლების მიდამოებში წყლულების განვითარება.

მკურნალობა. იმ პრეპარატების პარენტერალური შეყვანა, რომლებიც გამოიყენებიან ვისცერული ლეიშმანიოზის სამკურნალოდ, მიზანმიმართულია მხოლოდ ძლიერი ანთებითი რეაქციისა და რეგიონალური ლიმფადენიტის განვითარებისას, ასევე მაშინაც, თუ ლეიშმანიომები თავისი ადგილმდებარეობით ხელს უშლიან მოძრაობას (მაგ: სახსრების მიდამოებში).

ეპიდემიოლოგია. *L. major*-ის ძირითად ბუნებრივ რეზერვუარს მღრნელები წარმოადგენენ. ცენტრალური აზიის უდაბნოებში, სადაც ძველი სამყაროს კანის ლეიშმანიოზის ენდემიური კერების უმრავლესობაა, დიდი მნიშვნელობა ენიჭებათ იმ მღრნელებს, რომლებიც ცხოვრობენ კოლონიებად (დიდი მექვიშია *Rhombomys opimus*). ახლო აღმოსავლეთში, სამხრეთ და დასავლეთ აფრიკაში, *L. major*-ის ძირითად ბუნებრივ რეზერვუარებს წარმოადგენენ *Psammomys obesus*-ის გვარის მღრნელები. სხვადასხვა კერებში ლეიშმანიოზის ამ ტიპის რეზერვუარები შეიძლება იყოს *Mastomys*, *Meriones* და *Tatera*-ს სახეობები (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

გადამტანების, ანუ მოსკიტების, გამრავლების ძირითადი ადგილია მღრნელების სოროები.

სხვადასხვა ენდემიურ კერებში, *L. major*-ის გადატანას მღრნელებიდან ადამიანზე, მოსკიტების სხვადასხვა სახეობები ახორციელებენ. მაგალითად, ცენტრალურ აზიაში *P. mongolensis*, კავკასიის რეგიონში *P. caucasicus*. ადამიანზე თავდასხმისა და სისხლით აგრესიულად კვების მიხედვით, *L. major*-ის ძირითად გადამტანს *P. papatasi* (სამხრეთ აფრიკა, ცენტრალური აზია, ახლო აღმოსავლეთი), *P. duboscqi* (კენია, სენეგალი) და *P. salehi* (ინდოეთი) წარმოადგენენ.

L. major-ით დასნეზოვებული მღრნელები, მთელი სიცოცხლის განმავლობაში მატარებლებად რჩებიან. ეპიდემიოლოგიურ როლს ადამიანი, როგორც ინფექციის წყარო არ თამაშობს. ზოონოზური კანის ლეიშმანიოზის ინტენსიურ ბუნებრივ კერებში, მაგალითად ჩრდილოეთ თურქმენეთში, ადგილობრივო მოსახლეობის უმრავლესობას, ლეიშმანიოზი ბავშვობის ასაკში გადააქვს.

ძველი სამყაროს კანის დიფუზური ლეიშმანიოზი

კანის დიფუზურ ლეიშმანიოზს იწვევს *L. aethiopica* და ხასიათდება კანის დისიმინირებული ლაქებით, პაპულებით, კვანძებითა და კანის დიფუზური ინფილტრაციებით. ლორწოვანი გარსებიდან ზიანდება მხოლოდ, ნესტოებისა და ტუჩების კიდეები. კანის დიფუზურ ლეიშმანიოზის შემდეგ არცთუ იშვიათად აღინიშნება რეციდივები.

დაავადება სპონტანურად არ ინკურნება, ხოლო განკურნების შემთხვევაში, ხშირად მეორდება რეციდივების სახით.

ძველი სამყაროს მუკოზური ლეიშმანიოზი

ძველ სამყაროში ლორწოვანი გარსების ლეიშმანიოზური დაზიანებანი იშვიათად აღინიშნება. პაციენტებს ვისცერული ლეიშმანიოზით, ინდოეთსა და სუდანში კალა-აზარის შემდგომი კანის ლეიშმანიოზით და ერთდროულად აივ-ინფიცირებით შეიძლება აღენიშნებოდეთ გენიტალიების, პირის და ცხვირის ღრუს ლორწოვანი გარსების დაზიანებები. ხანდაზმულ ან იმუნოსუპრესიის მქონე პირებში *L. infantum*-მა, *L. major*-მა და *L. tropica*-მ შეიძლება გამოიწვიონ ლოყის ლორწოვანის ან ხორხის დაზიანებანი. ამასთან, ხორხის დაზიანებამ შეიძლება მიიღოს ქრონიკული ხასიათი.

პროფილაქტიკა

დაავადებულთა აქტიური გამოვლინება და დროული მკურნალობა. ფლებოტომუსებთან ბრძოლა: მათი გამრავლების ადგილების განადგურება დასახლებულ პუნქტებში და მათ შემოგარენში; დასახლებულ პუნქტების ტერიტორიებზე საჭირო სანიტარული პირობების შენარჩუნება; შენობების ეფექტური ინსექტიციდებით დამუშავება, ასევე ინსექტიციდებით დამუშავებული დამცავი

ბადეების გამოყენება. რეზერვუარების – მაწანწალა და სახლის ძაღლების ავადობის კონტროლი სეროლოგიური ტესტების გამოყენებით, ასევე სახლის ძაღლებზე მწერებისგან დამცავი რეპელენტების გამოყენება (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

ახალი სამყაროს ლეიშმანიოზები

ამერიკული ვისცერული ლეიშმანიოზი

გამომწვევია *L. infantum*. დამახასიათებელია მკვეთრად გამოხატული ადაპტაცია ძაღლისებრთა ოჯახის მტაცებლებსა (მელიების ამერიკული სახეობები, ძაღლები) და ოპოსუმებში (*Didelphis virginiana*). გადამტანია *Lutromyia*-ს გვარის მოსკიტები, რომლებიც გაცილებით აქტიურად ესხმიან თავს ძაღლებს, ვიდრე ადამიანებს (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

კლინიკა. ამერიკული ვისცერული ლეიშმანიოზის კლინიკური სურათი ძველი სამყაროს ვისცერული ლეიშმანიოზის მსგავსია. ავადდებიან, როგორც ბავშვები, ისე მოზრდილები.

ამერიკის კონტინენტზე ვისცერული ლეიშმანიოზი გავრცელებულია ბოლივიაში, ბრაზილიაში, ვენესუელაში, გვატემალაში, გონდურასში, კოლუმბიაში, მექსიკაში, პარაგვაიში, სალვადორში, სურინამში, ეკვადორში და კუნძულ გვადელუპაზე. ამერიკის კონტინენტზე შემთხვევების ყველაზე მეტი რიცხვი რეგისტრირდება ბრაზილიაში.

დიაგნოსტიკა, მკურნალობა, პროფილაქტიკა და ეპიდემიოლოგია ძველი სამყაროს ვისცერული ლეიშმანიოზის მსგავსია.

ახალი სამყაროს კანის ლეიშმანიოზი

ამერიკის კონტინენტზე, ლეიშმანიოზის კლინიკური ფორმების სახესხვაობები განპირობებულია ლეიშმანიას ფილოგენეტიკურად განსხვავებული სახეობების მრავალფეროვნებით. გარკვეულ შემთხვევებში დაავადება უსიმპტომოთ მიმდინარეობს. ინფექციის კლინიკური ფორმები მოიცავს ლოკალიზებულ, მიმოფანტულ, დიფუზიურ და ატიპიურ კანისა და კან-ლორწოვანი გარსის ლეიშმანიოზს. ახალი სამყაროს კანის ლეიშმანიოზის გამომწვევებს მიეკუთვნებიან ლეიშმანიას შემდეგი სახეობები: *L. mexicana*, *L. braziliensis*, *L. panamensis*, *L. guyanensis* და *L. peruvana*. *L. mexicana*

-თი გამოწვეული გამონაყარი ხშირ შემთხვევაში სპონტანურად შეიძლება გაქრეს 3-4 თვის შემდეგ, მაშინ როცა დანარჩენი სახეობებით გამოწვეული კანის დაზიანებები ხშირ შემთხვევაში თვით განკურნებით მტავრდება 6 თვის შემდეგ.

ახალი სამყაროს ანთროპონოზული კანის ლეიშმანიოზი

დიდი მნიშვნელობა ენიჭება ინფორმაციის მოპოვებას ავადმყოფის ენდემურ ტერიტორიაზე ყოფნის შესახებ.

მიკროსკოპული ანალიზისათვის მასალის აღება უნდა მოხდეს ბორცვაკის კიდედან ან იფლიტრატიდან. აღებულ ქსოვილოვან პატარა ნაწილებსა და სეროზულ ექსუდატს იყენებენ ნაცხის დასამზადებლად, რომელსაც შემდეგ იკვლევენ ჩვეულებრივ რომანოვსკი-გიმზას მეთოდით შეღებვის შემდეგ. წყლულის ან დიდი გრანულომების არსებობის შემთხვევაში მასალის აღება წარმოებს კიდური ინფილტრატიდან, რომელიც შეიძლება გამოყენებული იქნას კულტივირებისათვის.

საჭიროა კვალიფიციურობა, რათა სწორად მოხდეს კანის ლეიშმანიოზისას წარმოქმნილი საწყისი ბორცვაკის გარჩევა ჩვეულებრივი ფერიმქამელებისგან, პაპულო-პუსტულარული ფოლიკულიტისგან და პატარა დაწყლულებებისგან, რომლებიც წარმოიქმნიან სხავდასხვა ექტოპარაზიზების კბენის შედეგად. ასევე

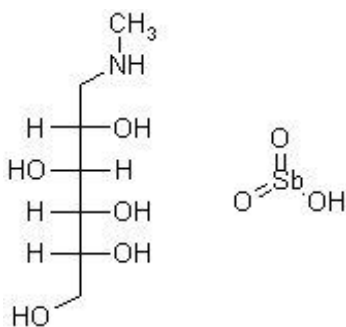
გათვალისწინებული უნდა იქნეს ის, რომ ადამიანის კანზე შესაძლებელია ერთდროულად განვითარდეს განსხვავებული ეტიოლოგიის, მორფოლოგიურად მსგავსი სხვადასხვა პათოლოგიები (მგლურა, ეპითელიომები, ქრონიკული პიოდერმია, კანის კიბოს სხვადასხვა ფორმები, ლეპრა, ტროპიკული წყლული, ღრმა დერმატომიკოზები). სწორი დიაგნოზის დასასმელად საჭიროა ავადმყოფის ყველამხრივი გამოკვლევა, რომელიც მოიცავს: ჰისტოლოგიურ, ბაქტერიოლოგიურ, მოლეკულურ და იმუნოლოგიურ კვლევის მეთოდებს (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010). თუ კი ავადმყოფს დაავადება ძლიერ არ აწუხებს, მაშინ ეთიოტროპული თერაპიის ჩატარება არ არის მიზანშეწონილი, ასეთ დროს საჭიროა დაავადების მიმდინარეობას მიეცეს ბუნებრივად განვითარების საშუალება. სპეციფიური მკურნალობისას იყენებენ იგივე პრეპარატებს, რაც ვისცერული ლეიშმანიოზის დროს. ადრეულ ეტაპებზე, ცალკეული ბორცვაკების განვითარებისას შესაძლებელია სპეციფიური მალამოების გამოყენება ქლორპრომაზინის (2%), პარომომიცინის (15%) ან კლოტრიმაზოლის (1%) შემცველობით. ვისცერულის მსგავსად ტარდება ტუბერკულოიდური ლეიშმანიოზის მკურნალობა, რომელიც რთულად დაქვემდებარებადია, რის გამოც, ხშირად საჭიროებს ხანგრძლივ და განმეორებით თერაპიის კურსს იმუნოსტიმულატორებთან და ვიტამინებთან ერთად.

ცხრილი 1. *Leishmania* სახეობები

Subgenus	<i>L. (Leishmania)</i>	<i>L. (Leishmania)</i>	<i>L. (Viannia)</i>	<i>L. (Viannia)</i>
Old World	<i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i>	<i>L. major</i> <i>L. tropica</i> <i>L. killicki</i> ^a <i>L. aethiopica</i> <i>L. infantum</i>		
New World	<i>L. infantum</i>	<i>L. infantum</i> <i>L. mexicana</i> <i>L. pifanoi</i> ^a <i>L. venezuelensis</i> <i>L. gamhami</i> ^a <i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i> <i>L. guyanensis</i> <i>L. panamensis</i> <i>L. shawi</i> <i>L. naiffi</i> <i>L. lainsoni</i> <i>L. lindenbergi</i> <i>L. peruviana</i> <i>L. colombiensis</i> ^b	<i>L. braziliensis</i> <i>L. panamensis</i>
Principal tropism	Viscerotropic	Dermotropic	Dermotropic	Mucotropic

ვისცერული ლეიშმანიოზის მკურნალობა

მკურნალობა ტარდება 5 ვალენტიანი სტიბიუმის (ანტიმონიუმი) შემცველი პრეპარატებით: ნატრიუმის სტიბოგლუკონატი (პენტოსპამი, ნატრიუმის ანტიმონიგლუკონატი), ან მეგლუმინის ანტიმონიატით (გლუკანტიმი). მკურნალობის ჩატარებისას დაავადების სიმპტომები მოითხოვენ ანალგეტიკების გამოყენებას. ასევე სასურველია ელექტროკარდიოგრამის, ღვიძლისა და თირკმელების ფუნქციის მონიტორინგი (E M Moore and D N Lockwood, 2010).



სურათი 8. გლუკანტიმის ქიმიური ფორმულა

პრეპარატის დღეღამური დოზის შეყვანა ერთი მიღებით ხდება კუნთ ქვეშ, ბავშვებში სასურველია ნელი ინტრავენური შეყვანა 5–10 წუთის განმავლობაში. შესაძლებელია დღეღამური დოზის განზავება 50–100 მლ 5% გლუკოზით ან დექსტროზით წვეთოვანი შეყვანისათვის.

დღეღამური დოზის გამოთვლა შეადგენს 20 მგ/კგ–ზე (ანტიმონიუმის შემთხვევაში). ინექციას ატარებენ ყოველდღიურად მკურნალობის მთლიანი კურსის განმავლობაში, რომელიც შეადგენს 30 დღეს. დაავადების რეციდივის შემთხვევაში მკურნალობას იმეორებენ 14 დღიანი ინტერვალის შემდეგ (E M Moore and D N Lockwood, 2010).

დაავადების მძიმედ მიმდინარეობისა და 5 ვალენტიანი სტიბიუმის შემცველი პრეპარატებით არა ეფექტური მკურნალობისას, ნიშნავენ მეორე ხაზის პრეპარატებს, რომლებშიც შედიან ამფოტერიცინ B და პარომომიცინი. ამფოტერიცინ B ინიშნება ინტრავენურად შემდეგი დოზით: 0.5 მგ/კგ–ზე, ყოველ დღე ან დღეგამოშვებით

მთლიანი სამკურნალო დოზის მიღწევამდე –20 მგ/კგ–ზე. ამ პრეპარატის გამოხატული ტოქსიკურობის გამო აუცილებელია თირკმელების ფუნქციის მონიტორინგი. *პარომომიცინის* დოზის გამოთვლა შემდეგია; 15 მგ/კგ–ზე, ყოველ დღე, კუნთ ქვეშ 30 დღის განმავლობაში. ამ პრეპარატით მკურნალობისას შესაძლებელია თირკმელებისა და სასმენი ნერვის დაზიანება (E M Moore and D N Lockwood, 2010).

ვისცერული ლეიშმანიოზის სამკურნალოდ აგრეთვე გამოიყენება *პენტამიდინ იზოთიონატი*, 4 მგ/კგ–ზე, დღეგამოშვებით 11 კვირის განმავლობაში და *ლიზოსომალური ამფოტერიცინ B*, სამკურნალო კურსის დოზა 20–30 მგ/კგ–ზე შეჰყავთ 10–20 დღის განმავლობაში.

პოსტ–კალა–აზარული კანის ლეიშმანიოიდის მკურნალობა იგივეა, რაც ვისცერული ლეიშმანიოზის დროს, თუმცა უფრო ხანგრძლივია –4 თვე.

ვისცერული ლეიშმანიოზის სამკურნალო პირველი პერორალური პრეპარატი, – *მილტეფოზინი* – დარეგისტრირებულია ინდოეთში, ცდების სრულად ჩატარების შემდეგ. ვარაუდობენ, რომ ეს პრეპარატი შეცვლის ზემოთ ჩამოთვლილ სამკურნალო საშუალებებს, პირველი ხაზის წამლების სახით.

დროული მკურნალობა პაციენტის გამოჯანმრთელებით მთავრდება, ხოლო მწვავე და მძიმე ფორმები მკურნალობის გარეშე (ან დაგვიანებული მკურნალობით) ლეტალურად მთავრდება. მსუბუქი ფორმებისას შესაძლებელია სპონტანური გამოჯანმრთელება.

კალა–აზარი ანთროპოზონია. დაავადების წყაროს დაავადებული ადამიანი წარმოადგენს, რომელიც გამომწვევს ატარებს კანის შიგნით, პოსტ–კალა–აზარული კანის ლეიშმანიოიდის ჩამოყალიბების შემდეგ. დაავადების უდიდესი წილი მოდის 5–9 ასაკის ბავშვებზე. მეორე ძირითად ჯგუფს მოზარდები წარმოადგენენ. დაავადების გადამტანი –*Phlebotomus*– ის გვარის მწერებია.

ინდოეთის გარდა კალა–აზარი რეგისტრირდება ბანგლადეშში ნეპალში და შესაძლებელია პაკისტანშიც. ვისცერული ლეიშმანიოზი, რომელიც კლინიკურად ინდური კალა–აზარის მსგავსია, გავრცელებულია ჩინეთის სამხრეთ–აღმოსავლეთ

რეგიონში, სადაც გამომწვევის ვექტორია *P.chinensis* და *P. longiductus*. ანთროპონოზული ვისცერული ლეიშმანიოზი, რომელსაც იწვევს *L. donovani*, გავრცელებულია აგრეთვე აფრიკის კონტინენტზე –კენია, სუდანი, უგანდა, ეთიოპია, სადაც გადამტანია *P. martini* და არაბეთის ბახევარკუნძულზე –საუდის არაბეთის ჩრდილო–დასავლეთით და იემენის მთიან რაიონებში (გადამტანები *P. arabicus*, *P. orientalis*) (E M Moore and D N Lockwood, 2010).

ლეიშმანიოზის რეზერვუარები

როგორც ავღნიშნეთ, ლეიშმანიოზს ორ დიდ კატეგორიად ყოფენ: ზოონოზური ლეიშმანიოზი, რომლის დროსაც ინფექციის წყაროს ცხოველები წარმოადგენენ და ანთროპონოზური, რომლის შემთხვევაშიც რეზერვუარი თვითონ ადამიანია.

გარეგნული სიმპტომები ლეიშმანიოზით დაავადებულ ცხოველებში (სახლისა და ტყის სახვადასხვა ძუძუმწოვრები), ყოველთვის არ ვლინდება. ხშირად, მათ ორგანიზმში უჯრედშიდა ფორმების -ამასტიგოტების რაოდენობა კანსა და შინაგან ორგანოებში შედარებით მცირე რაოდენობითაა. თუმცა ზოგიერთი ინფიცირებული ძუძუმწოვარი, მაგალითად ძაღლები, რომლებიც ვიცერული ლეიშმანიოზის ძირითად რეზერვუარებს წარმოადგენენ, უმეტეს შემთხვევაში იღუპებიან ძლიერი ინფექციის გამო. ძაღლებში პარაზიტები დიდი რაოდენობით არიან ლოკალიზებული შინაგან ორგანოებსა და კანში, საიდანაც იოლად აითვისებიან გადამტანი მწერების მიერ.

უნდა აღინიშნოს, რომ ძაღლების დასნებოვნება ძირითადად *L. infantum* -ით ხდება (Ferroglio E., et al. 2005). ექსპერიმენტულმა დაკვირვებებმა აჩვენა, რომ *L. infantum* -ით დასნებოვნებული ძაღლები, ინფექციის გამომწვევებს იოლად გადაცემენ გადამტან მწერებს. მსოფლიო ჯანმრთელობის ორგანიზაციის მიხედვით (WHO), ლეიშმანიოზით დაავადებული ძაღლების 50% უსიმპტომო მტარებლები არიან, რაც მეტყველებს ინფექციის ტრანსმისიაში მათი მნიშვნელოვანი როლის შესახებ. დაფიქსირებულია მწერის მონაწილეობის გარეშე ძაღლიდან ძაღლზე ინფექციის გადაცემის ფაქტები,

თუმცა ასეთი ფაქტების მნიშვნელობა დღეისათვის შეუსწავლელი რჩება. ძაღლების გარდა სხვადასხვა გეოგრაფიულ არეალში დადგენილია ლეიშმანიოზის სხვა რეზერვუარებიც, რომლებიც განსხვავებულ როლს თამაშობენ დაავადების ტრანსმისიაში, მაგალითად: ცხენი, ვირი, ბოცვერი, დიდი ზომის მღრღნელები, ტურა, მელია და სხვ.

ლეიშმანიოზის ვექტორები



სურათი 9. ვისცერული ლეიშმანიოზის გადამტანი (*Phlebotomus*)

ლეიშმანიების გვრცელებისა და მათი ცირკულირების არეალის თავისებურებები, მჭიდრო კავშირშია დაავადების ენდემურ ტერიტორიებზე არსებული გადმტანების ეკოლოგიასთან.

მაგალითად: ძველი სამყაროს ლეიშმანიოზები

გავრცელებულია მშრალ ტერიტორიებზე, უდაბნოებში, ნახევარუდაბნოებსა და ოაზისებში მაშინ, როდესაც ახალ სამყაროში იგი (იშვიათი გამონაკლისების გარდა) ტენიანი ტროპიკული ტყის დაავადებას წარმოადგენს. ძველი სამყაროს ლეიშმანიოზების გადამტანებს *Phlebotomus* - ის გვარის მწერები წარმოადგენენ, ხოლო ახალი სამყაროს ლეიშმანიოზების ვექტორებად *Lutzomyia* -ს გვარის მწერები გვევლინებიან.

ლეიშმანიოზის ვექტორები გავრცელებული არიან სუბტროპიკულ და ტროპიკულ ზონების ქვეყნებში, დასახლებულ პუნქტებსა და ბუნებრივ ბიოტოპებში. დასახლებულ პუნქტებში ისინი მრავლდებიან იატაკქვეშა ადგილებში, ნაგავ საყრდენებზე და კლდოვან ნაპრალებში.

ბუნებრივ ბიოტოპებში მოსკიტების გამრავლების ადგილებს წარმოადგენენ მღრღნელების სოროები, ფრინველთა ბუდეები, გვირაბები, კლდოვანი ნაპრალები, ხის ფულუროები და ა. შ (Lawyer PG, et al. 1991). მოსკიტები სიცოცხლის 4 სტადიას გადიან:

კვერცხი, მატლი, ჭუპრი და იმაგო ანუ ზრდასრული მწერი. მდედრი მოსკიტები თავიანთი სიცოცხლის განმავლობაში 2–3 კვირის მანძილზე იკვებებიან სისხლით და კვერცხებს მხოლოდ 2 ან 3 –ჯერ დებენ (Lawyer PG, et al. 1991).

ხშირ შემთხვევაში, კონკრეტული სახეობის ლეიშმანია, კონკრეტული სახეობის მოსკიტს გადააქვს. დღეისათვის მთელს მსოფლიოში, მოსკიტების 800 სახეობაა ცნობილი, რომლებიც 2 ძირითად გვარში ერთიანდებიან, ხოლო დაავადების ტრანსმისიაში დაახლოებით 50 სახეობა იღებს მონაწილეობას.

მოსკიტების სახეობრივი იდენტიფიკაცია, ძირითადად მათი მორფოლოგიური ნიშნების მიხედვით წარმოებს. თუმცა გენეტიკის განვითარებასთან ერთად, ბოლო დროს მათი განხვავება მოლეკულური მარკერების გამოყენებითაც ხდება, რომელიც დაფუძნებულია ე.წ დნმ-ის ბარ-კოდინგის მეთოდზე (DNA barcoding).

დნმ ბარ-კოდინგი ტაქსონომიის მოლეკულურ მეთოდს წარმოადგენს, რომლის დროსაც მცირე ზომის მარკერები გამოიყენება, იმისათვის, რომ მოხდეს კონკრეტული სახეობის იდენტიფიკაცია მისი დნმ-ის სხვადასხვა ფრაგმენტის მიხედვით.

რადგანაც ლეიშმანიოზი სამ წევრიანი დაავადებაა (გადამტანი, რეზერვუარი, მასპინძელი), მისი გავრცელება მრავალ გარემო ფაქტორზეა დამოკიდებული. ლეიშმანიოზისთვის დამახასიათებელია მკვეთრად განსაზღვრული სეზონურობა. დაავადების ტრანსმისიის პერიოდი რეგიონების მიხედვით ცვალებადობს და მისი ხანგრძლივობა სხვადასხვა ფაქტორებით რეგულირდება. მაგალითად საქართველოში, ვისცერული ლეიშმანიოზის ბუნებრივ კერებში, ინფექციის ტრანსმისია ინვისის მეორე ნახევარში იწყება და გრძელდება აგვისტოს ბოლომდე, სწორედ მაშინ, როდესაც მაღალია მოსკიტების აქტიურობა. არც თუ ისე ხშირად, ტრანსმისიის პერიოდი შესაძლოა სექტემბრის მეორე ნახევრამდეც გაგრძელდეს, რაც უმეტეს წილად დამოკიდებულია კლიმატურ პირობებზე. აღსანიშნავია სხვა ფაქტორებიც, რომლებიც დიდ გავლენას ახდენენ ინფექციის ტრანსმისიაზე, მაგალითად: პარაზიტის სახეობა, კერის ეკოლოგიური თავისებურებები, მოსახლეობის სიმჭიდროვე და ქცევითი ჩვევები, რეზერვუარების ტიპი, ძუძუმწოვრების სახეობები და სხვა.

ძალიან დიდი მნიშვნელობა აქვს გადამტანთა პოპულაციურ რიცხოვნობას ტრანსმისიის მთლიანი პერიოდის განმავლობაში. როგორც წესი მოსკიტები სითბოსა და ტენიანობის მოყვარულ მწერებს მიეკუთვნებიან, მაგრამ ამავდროულად ისინი ძალიან მგრძნობიარე არიან მაღალი ტემპერატურისა და ქარიან ამინდების მიმართ.

საქართველოს კლიმატის პირობებში, მოსკიტებისთვის დამახასიათებელია რიცხოვნობის ორი პიკი, პირველი ივლისის შუა რიცხვებში, ხოლო მეორე აგვისტოს მეორე ნახევარში. მაგალითის სახით, სურათზე 10 მოცემულია 2006-2008 წლებში მიღებული კვლევის შედეგები:

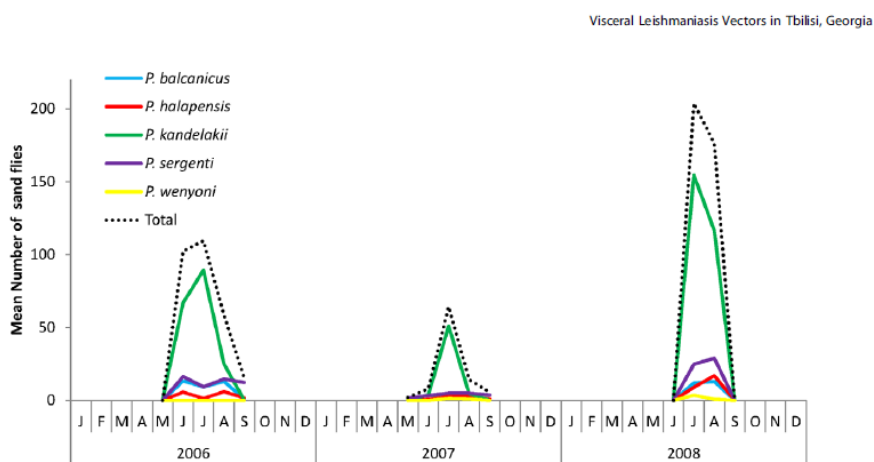


Figure 3. Seasonal distribution of sand fly species collected from Vake and Mtatsminda districts, 2006-2008.

სურათი 10. მოსკიტების სეზონური განაწილება სახეობების მიხედვით, თბილისი

ვიცერული ლეიშმანიოზის დიაგნოსტიკა და გენოტიპირება

დღეისათვის ვიცერული ლეიშმანიოზის დიაგნოსტიკის მრავალი მეთოდი არსებობს.

- პარაზიტოლოგიური (ქსოვილის ასპირატებისგან მიღებული, პარაზიტის ამასტიგოტური ფორმების ვიზუალიზაცია მიკროსკოპის მეშვეობით, კონფირმაციული ტესტის კლასიკური მეთოდი)

- ლაბორატორიული (იზოლატის მიღება);
- სეროლოგიური ანუ ლეიშმანიოზის საწინააღმდეგო ანტისხეულების აღმოჩენა (აგლუტინაციის რეაქცია, იმუნოფერმენტული და იმუნოქრომატოგრაფიული ანალიზები);
- მიკრობის ანტიგენის დეტექცია (ფლუორესცენტული მიკროსკოპირება);
- დნმ-ის დეტექცია (მოლეკულური მეთოდები);

შესაბამისად, ეს მეთოდები გამოიყენება, როგორც კლინიკური, ასევე გარემო ნიმუშებისთვის. ვიცერული ლეიშმანიოზის შემთხვევის შეფასების სამი კრიტერიუმი არსებობს:

- შესაძლო -ინფექციასთან კონტაქტისა და კლინიკური სიმპტომების ერთობლიობა.
- სავარაუდო -კლინიკური ნიშნები, დადებითი პასუხი ანტისხეულებზე.
- დადასტურებული -პუნქტატში პარაზიტების აღმოჩენა, კულტურის მიღება, დნმ-ით დადასტურება, ან ანტიგენის აღმოჩენა.

ვისცერული ლეიშმანიოზის დიფერენციული დიაგნოზი კეთდება მალარიასთან, გრიპთან, სეფსისთან, ლეიკოზთან, ლიმფოგრანულომატოზთან (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010). წინასწარი დიაგნოზის დასმა შესაძლებელია კლინიკური სიმპტომების საფუძველზე, კერძოდ დიაგნოზის დასმაში ძალიან გვეხმარება ჰიპერგამაგლობულინემიის გამოვლენის უბრალო რეაქცია, რომელიც ჩვეულებრივ დამახასიათებელია ვისცერული ლეიშმანიოზით დაავადებულთათვის. (40% ფორმალინის შერევით შრატთან ეს უკანასკნელი იძენს თეთრ შფერილობას გამაგლობულინების მაღალი კონცენტრაციის გამო –ნეიპირის რეაქცია) (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

იმ შემთხვევაშიც კი, როდესაც დაავადება მძიმედ მიმდინარეობს, სისხლში ამასტიგოტების აღმოჩენა ძალიან იშვიათია, ამიტომ სისხლის ტესტირება მასში ლეიშმანიების აღმოჩენის მიზნით უშედეგოა. ლეიშმანიების აღმოსაჩენად ყველაზე გავრცელებულ მეთოდებს ძვლის ტვინის, ელენთისა და ღვიძლის პუნქტატის ნაცხი წარმოადგენს. პუნქტატების შემდგომი ტესტირება რომანოვსკი–გიმზას მეთოდით ხდება.

ასევე ეფექტურია კლინიკური ნიმუშების (პუნკტატების) კულტივირების მეთოდი სხვადასხვა ნიადაგზე. ამასტიგოტური ფორმების კულტივირება მიმდინარეობს თხევად RPMI ნიადაგზე $+37^{\circ}\text{C}$ ზე, ხოლო უჯრედგარე პრომასტიგოტების პირველადი კულტურის მიღება სხვადასხვა ნიადაგზე ხდება $+26-27^{\circ}\text{C}$ პირობებში (Evans modified Tobie medium, Schneider Drosophila medium, USAMRU medium, NNN bephasic medium). ძალიან მნიშვნელოვანია კულტურის ალიქვოტის შენახვა, რაც შეიძლება მოკლე დროში პირველი იზოლატის მიღებიდან. გაყინულ ნიმუშს სტაბილატს უწოდებენ. როგორც წესი *Leishmania* -ს კულტურას კრიოპრეზერვაციისთვის თხევად აზოტში -196°C -ზე ინახავენ. თუმცა შესაძლებელია მოკლე ვადით -76°C -ზეც შენახვა. ასეთ ტემპერატურებზე პარაზიტის უჯრედების სტაბილიზაციისთვის გამოიყენება დიმეთილსულფოქსიდი (DMSO).

სეროლოგიური დიაგნოსტიკუმიებიდან აღსანიშნავია პირდაპირი აგლუტინაციის ნეიტრალიზაციის რეაქცია, და იმუნოფერმენტული ანალიზი. ბოლო დროს ფართო გამოყენება ჰპოვა ე.წ. rK39 იმუნოქრომატოგრაფიულმა სწრაფმა ტესტმა. აღნიშნული ტესტი წარმოადგენს K39 რეკომბინატული ანტიგენის ერთჯერად ტესტს, რომელიც გამოირჩევა მაღალი სპეციფიურობითა ($>93\%$) და სენსიტიურობით ($>95\%$). აღნიშნული ტესტი გვიჩვენებს მიმდინარე ინფექციას და ერთ-ერთი საუკეთესოა ფართომასშტაბიანი სკრინინგის ჩასატარებლად. იგი ძირითადად დამხმარე (არა კონფირმაციული) ტესტირების მეთოდად მიიჩნევა, თუმცა ზოგიერთ ქვეყანაში (მაგ: ინდოეთი, ბანგლადეში), სადაც ლეიშმანიოზის მაღალი პრევალენტობაა, კონფირმაციულ ტესტად ითვლება. ამ ტესტის გამოყენება ვისცერული ლეიშმანიოზით დაავადებულ იმ პაციენტებში, რომლებიც აივ ვირუსით კო-ინფიცირებულები არიან, გამოუსადეგარია, რადგანაც ასეთ შემთხვევაში, ტესტი ცრუ დადებით შედეგს იძლევა.

შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას ბიოცდა ზაზუნების დასნებოვნებითაც. ყველა სეროლოგიურ ტესტს ორი ძირითადი შეზღუდვა გააჩნია: პირვრლ რიგში აღსანიშნავია, რომ სისხლში დაავადების გადატანიდან რამოდენიმე წლის განმავლობაში სპეციფიური ანტისხეულები ისევ ცირკულირებენ. ამიტომ

განმეორებადი დაავადების -რეციდივის შემთხვევის დადასტურება სეროლოგიურად შეუძლებელია. ამასთან, ენდემურ რაიონებში მცხოვრები ადამიანების დიდ ნაწილს, რომელთაც ანამნეზში არ აქვთ ვისცერული ლეიშმანიოზი, მოეპოვებათ ამ დაავადების ანტისხეულები, რაც განპირობებულია დაავადების უსიმპტომოდ მიმდინარეობით. ამიტომ, ანტისხეულების აღმოჩენი დიაგნოსტიკუმები, ყოველთვის გამოიყენება კონფირმაციულ სადიაგნოსტიკო ტესტებთან კომბინაციაში.

ისეთი ე. წ სკრინინგ ტესტები, როგორიცაა ლეიშმანიის კანის ტესტი -LST, ფართოდ გამოიყენება ლეიშმანიოზის ენდემურ კერებში. აღიშნული ტესტი დამზადებულია ლიოფილიზირებული *L. major* -ის პრომასტიგოტებისგან და იგი საშუალებას იძლევა მოხდეს არა მხოლოდ კანის ლეიშმანიოზის, არამედ ვისცერული ლეიშმანიოზის ასიმპტომატური და გადატანილი შემთხვევების გამოვლენა (Kemp M., et al. 1994). აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ იმ პაციენტებში, რომლებსაც ლეიშმანიოზის მიმდინარე ინფექცია აქვთ, LST ტესტი უარყოფით შედეგს იძლევა, რაც განპირობებულია ძლიერი ჰუმორული იმუნური პასუხით (WHO, TRS 701, 1984 Geneva). ამგვარად, LST ტესტი ჩვეულებრივ გამოიყენება არა ავადობის შესასწავლად, არამედ ინფექციის გავრცელების -პრევალენტობის შესაფასებლად ადამიანთა პოპულაციებში (Kurtzhals JA, et al. 1994). LST ტესტის მგრძნობელობა დაახლოებით არის 88%.

პარაზიტების ნუკლეინის მჟავების დეტექცია მოლეკულური დიაგნოსტიკის მეთოდებით, განსაკუთრებით კი PCR მეთოდით (ცხრილი 2), საგრძნობლად აუმჯობესებს დიაგნოსტიკის მგრძნობელობასა და *Leishmania* -ს სახეობების იდენტიფიკაციას. რასაკვირველია, ეს უკანასკნელი განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია იმ რეგიონებისთვის, სადაც ერთდროულად გავრცელებულია ლეიშმანიოზის რამოდენიმე სახეობა (მაგ. ახალი სამყარო). გელ-ელექტროფორეზზე დამყარებული PCR ტესტების უმეტესობა, მცირე რიბოსომული სუბერთეულის, რიბონუკლეინის მჟავების გენის (SSU rRNA) დეტექციისათვის გამოიყენებოდა (Cruz et al., 2002). ათი წლის შემდეგ შემუშავებულმა Nested PCR მეთოდმა, რომელიც დეტექციას იგივე გენის აღმოჩენით ახდენს, საგრძნობლად გაზარდა სპეციფიკურობა და მიკრობის დეტექციის

შესაძლებლობა ისეთ ნიმუშებში, სადაც პარაზიტის რაოდენობა სავარაუდოდ ძალიან დაბალია (Cruz et al., 2002).

აღნიშნული SSU rRNA გენი კონსერვატიულია *Leishmania* -ს გვარის ყველა სახეობისთვის, რაც შესაბამისად, სხვადასხვა კლინიკურ ნიმუშებში მათი დეტექციის საშუალებას იძლევა. Nested PCR მეთოდი ორ ეტაპად მიმდინარეობს Nested 1 და Nested 2. პირველი ეტაპი -Nested 1, რომლის დროსაც მიიღება შედარებით დიდი ფრაგმენტი (630 bp), არ წარმოადგენს *Leishmania* -ს გვარისთვის სპეციფიურს და შესაბამისად კონფირმაციისთვის საჭიროებს მეორე ეტაპს Nested 2, რომლის დროსაც გამოიყენება სახეობა სპეციფიური პრაიმერები (მოსალოდნელი ფრაგმენტის სიგრძე 353 bp).

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (PCR) დიაგნოსტიკა გამოიყენება ლეიშმანიების ფილტრის ქაღალდზე აღებული სისხლის მშრალ წვეთში აღმოსაჩენად. სისხლის ნიმუშის აღების დროს არ უნდა იყოს გამოყენებული ჰეპარინი, რომელმაც შესაძლოა PCR ინჰიბირება გამოიწვიოს.

ცხრილი 2. ბუდობრივი PCR მეთოდით *Leishmania* -ს სახეობების დადგენა (Cruz et al., 2002)

Assay primer sequence 5' to 3'	Product size (bp)	
	Leishmania detection by Region of the SSUrRNA gene	
Primers used	<i>L. donovani</i> - <i>infantum</i>	bp
R221 (R1): 5'- GGT TCC TTT CCT GAT TTA CG - 3'		630
R332 (R2): 5'- GGC CGG TAA AGG CCG AAT AG - 3'		
R223 (R3): 5'- TCC CAT CGC AAC CTC GGT T - 3'		
R333 (R4): 5'- AAA GCG GGC GCG GTG CTG - 3'		353

Leishmania-ს გენომი და მოლეკულური ტიპირების მეთოდები

დავიწყოთ იმით, რომ *Leishmania*-ს გენომი სხვადასხვა სახეობებში 35 ან 36 ქრომოსომისგან შეგება და იგი მდიდარია GC ნუკლეოტიდური წყვილებით (დაახ. 63%). ქრომოსომების ზომა განსხვავებულია და 250 Kb -დან (კილობაზა) 4 Mb -მდე (მეგაბაზა) მერყეობს. საინტერესოა ის ფაქტი, რომ ძველი სამყაროს ლეიშმანიების სახეობებს *L. major*, და *L. infantum* 36 ქრომოსომა გააჩნიათ, მაშინ როდესაც, ახალი სამყაროს

ლეიშმანიების სახეობებს, მხოლოდ 34 ან 35 ქრომოსომა აქვთ (Junqueira et al 1996). 2005-2008 წლებში ივენსმა (Ivens) კოლეგებთან ერთად, *Leishmania* -ს სამი სახეობის (*L. major*, *L. infantum* and *L. braziliensis*) გენომი დაასექვენირა. შედეგად გამოვლენილი იქნა 8300 ცილა-მაკოდირებელი და 900 რნმ გენი (Ivenns et al 2005). გენების დაახლოებით 40% გაერთიანდა 662 ოჯახში, რომლებიც ორიდან 500 წევრს მოიცავს. მცირე გენების ოჯახების დიდი ნაწილი, წარმოადგენენ ერთიდან სამამდე ტანდემურად განლაგებულ გენებს (TAGs - Tandemly arrayed genes), მაშინ როდესაც დიდი გენების ოჯახები ხშირად ტანტემურ კლასტერებად არიან მიმოფანტულები მთლიანი გენომის სხვადასხვა ლოკუსებზე. პარაზიტის თითოეული ქრომოსომა, დნმ -ის ერთსა და იმავე ჯაჭვზე, მოიცავს 10 დან 100 მდე კლასტერებად განლაგებულ მცირე ზომის გენებს. აღნიშნული გენების კლასტერები შესაძლოა ორი მიმართულებით განლაგდნენ: რთმანეთის მოპირდაპირედ (დივერგენტულად) ან ურთიერთსაწინააღმდეგოდ (კონვერგენტულად). ცილა-მაკოდირებელი გენების ტრანსკრიპციაც შესაბამისად ორივე მიმართულებით მიმდინარეობს. *Leishmania* -ს ტელომერები შედარებით მოკლე ზომისაა და რამდენიმე განსხვავებული ტიპის თანმიმდევრობებს შეიცავს. კვლევებმა აჩვენეს, რომ *L. major* და *L. infantum* -ის გენომები შეიცავენ ინაქტივირებული (ამორთული) *Ingi/L1Tc* - ელემენტების (DIREs - degenerated inactive *Ingi/L1Tc*-related elements) მხოლოდ ~50 ასლს, მაშინ როდესაც, *L. braziliensis* გენომი შეიცავს, როგორც *Ingi/L1Tc*, ასევე რამდენიმე TATEs (telomere-associated transposable elements) და SLACs (spliced leader-associated retroelements) ელემენტებსაც. ჩატარებულმა კვლევებმა ასევე აჩვენეს, რომ *Leishmania* -ს გენომი შეიცავს კონსერვატიულ ძირითად ცილა-მაკოდირებელ ~6200 მდე გენს, რმოელიც საერთოა ტრიპანოსომასწავრთა ოჯახისთვის. აღნიშნული გენებიდან, დაახლოებით ~1000 წარმოადგენს მხოლოდ *Leishmania* -სთვის დამახასიათებელ, სპეციფიურ LSGs გენებს (*Leishmania*-specific genes), რომლებიც მიმოფანტულია მთლიან გენომში.

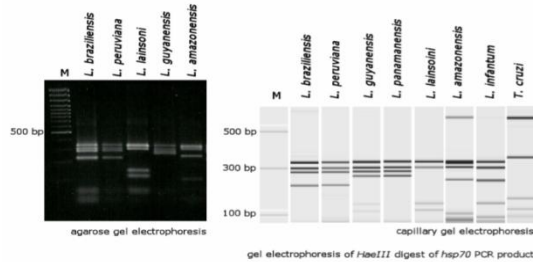
სექვენირებული *Leishmania* -ს სამი სახეობის გენომში აღმოჩენილია დაახლოებით ~200 მდე სახეობა-სპეციფიური გენები. თუმცა, როგორც აღმოჩნდა, გენების ~8%

სრულიად განსხვავებულია ამ სამ სახეობაში და შესაძლოა, რომ ეს ფენომენი დაავადების გასწვავებულ პათოლოგიასთან იყოს ასოცირებული (Peter John Myler and Nicolas Fasel 2008). ასევე აღსანიშნავი და ძალიან საინტერესოა ის ფაქტიც, რომ ცილა-მაკოდირებელი გენების ~65%-ს არ გააჩნიათ ფუნქციური დანიშნულება (Peter John Myler and Nicolas Fasel 2008).

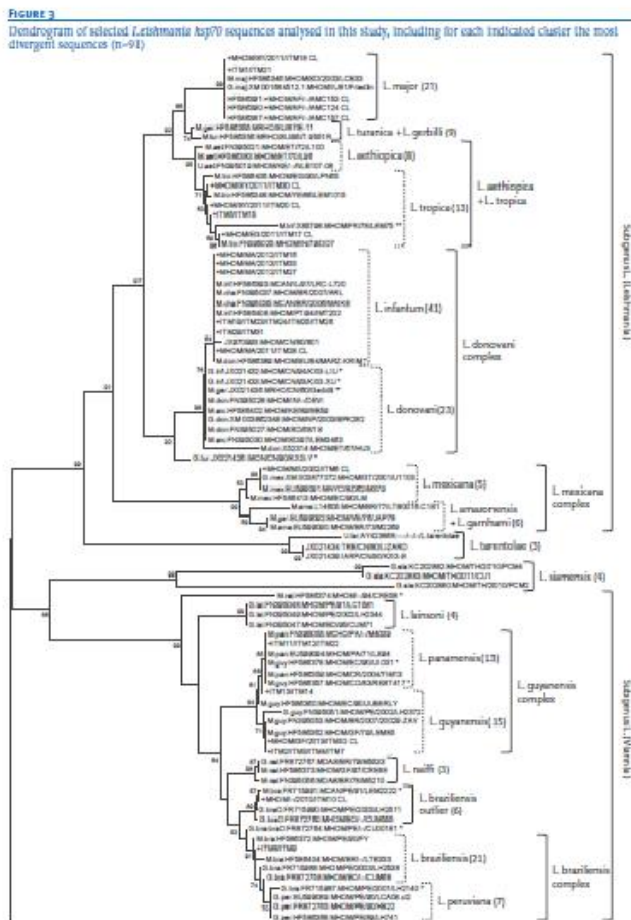
დღეისათვის შეიძლება ითქვას, რომ სინამდვილეში *Leishmania* -ს გენომის შესახებ ცოტა რამ არის ცნობილი და ბევრი რამ ამოუცნობი და შესასწავლია. ამასთან ძალიან ცოტა ინფორმაცია მოიპოვება ამ ორგანიზმის წამლის მიმართ რეზისტენტობის მექანიზმების შესახებ, რაც გლობალურ პრობლემას წარმოადგენს.

Leishmania -ს მოლეკულური სუბტიპირებისთვის რამოდენიმე მეთოდი გამოიყენება. ერთ-ერთი მათგანი რესტრიქციული ფრაგმენტის სიგრძის პოლიმორფიზმია (PCR-RFLP). აღნიშნული მეთოდის დანიშნულებაა მუტაციების აღმოჩენა დნმ-ის სამიზნე უბნის თანმიმდევრობაში. დნმ-ის საჭირო მონაკვეთის ამპლიფიცირების შემდეგ, მიღებული პროდუქტის დამუშავება ხდება სპეციფიური ფერმენტებით (მაგ *HaeIII*), რომლებსაც რესტრიქტაზები ეწოდება. ამ ფერმენტებს აქვთ უნარი შეიცნონ დნმ-ს ძალიან მოკლე თანმიმდევრობა და მოახდინონ მისი დაჭრა. გელ-ელექტროფორეზის ჩატარების შემდეგ, ვლუბულობთ დაჭრილი დნმ-ის გარკვეული ზომის მონაკვეთებს. მუტაციის შემთხვევაში, შესაძლებელია რესტრიქტაზების სამიზნე უბნის გაქრობა. ამგვარად, სურათი შეიცვლება და ფერმენტის მიერ დაჭრილი მონაკვეთები გელზე აღარ გამოჩნდება. შესაძლებელია მუტაციის შედეგად ახალი სამიზნეების წარმოქმნაც, რაც ასევე აისახება ელექტროფორეზის სურათზე (სურათი 12). *Leishmania* -ს შემთხვევაში ადგილი აქვს ენდონუკლეაზური *HaeIII* ფერმენტით 120 bp (კონსერვატიული) უბნის *hsp70* (70 kilodalton heat shock proteins) შთანთქმას, ამისათვის გამოიყენება სხვადასხვა კლინიკური ნიმუშებიდან გამოყოფილი *Leishmania* -ს კინეტოპლასტიდური დნმ (kDNA). აღნიშნული *hsp70* გენი აკოდირებს ძირითად ანტიგენს და ამით იმ მოლეკულების გენეტიკური ცვალებადობის განსაზღვრის საშუალებას იძლევა, რმლებიც სავარაუდოთ დაავადების იმუნოპათოლოგიაში იღებენ

მონაწილეობას. ტიპირების ამ მეთოდისთვის გამოიყენება პრაიმერების რამოდენიმე წყვილი: HSP70FOR 5' GACGGTGCCTGCCTACTTCAA 3' და HSP70REV 5' CCGCCCATGCTCTGGTACATC 3' 10 pmol/μl 10 კონცენტრაციით. (Degrave W et al., 1994; Medeiros AR et al., 2008).



სურათი 11. hsp70 PCR-RFLP ტიპირების შედეგების ვიზუალიზაცია გელზე (Dujardin JC et al.,)



სურათი 12. hsp70 PCR-RFLP ტიპირების ტიპირებული შტამების შედარებით აგებული *Leishmania* -ს ფილოგენეტიკური ხე (Auwera GV et al., 2013).

ასევე წარმატებით გამოიყენება MLMT (მრავლობითი ლოკუსების მიკროსატელიტური ტიპირება) მეთოდი. მიკროსატელიტები ტადემურად განმეორებად მოკლე ნუკლეოტიდურ მოტივებს წარმოადგენენ (დაახ 1-6 bp), რომლებიც ეუკარიოტული გენომის ყველა ქრომოსომაშია გავრცელებული. მიკროსატელიტური უბნების არსებობა განსაკუთრებით *Leishmania* -ებისთვის არის დამახასიათებელი შედარებით მაღალი სიხშირით. მიკროსატელიტები მუტაციას 5-6 ჯერ უფრო მეტი სიხშირით განიცდიან, ვიდრე დნმ-ის დანარჩენი ნაწილი. მიკროსატელიტური ლოკუსებისთვის ასეთი ვარიაბელურობა უმეტესად განპირობებულია ალელების სიგრძივი ვარიაციებით. აღნიშნული მეთოდისთვის 30 მდე წყვილი პრაიმერი გამოიყენება და შედეგების ინტერპრეტაცია, კაპილარული სექვენატორის ფრაგმენტული ანალიზის მეშვეობით ხდება.

მაღალი დონის შიდა სახეობრივი და სახეობათშორისი ვარიაციები აღმოჩენილი იქნა ძველი და ახალი სამყაროს *Leishmania*-ს სახეობების, დნმ-ის შიდა ტრანსკრიპციულ უბნებში (Internal Transcribed Spacers ITS1 და ITS2), რომლებიც მრავალი ასლით არიან წარმოდგენილი რიბოსომულ ოპერონებში (Peter John Myler and Nicolas Fasel 2008). დღეისათვის, ITS გენის სექვენირება, *Leishmania* -ს შიდა-სახეობრივი განსხვავებებისა და მრავალფეროვნების აღმოჩენის ერთერთი საუკეთესო მეთოდია. ფართოდ გამოიყენება ამ მეთოდით მიღებული შედეგების, მიკროსატელიტური ანალიზის საფუძველზე ფილოგენეტიკური კავშირების დადგენაც. თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ დღითიდღე იზრდება ახალი თაობის სექვენატორების შესაძლებლობები და შესაბამისად წარმოუდგენელი სისწრაფით მატულობს მოპოვებული ინფორმაციის რაოდენობაც.

პრობლემის აქტუალობა

ვისცერული ლეიშმანიოზი საქართველოში

პირველად საქართველოში და ქავკასიის რეგიონში, ლეიშმანიოზის შემთხვევა 1913 წელს, კახეთში, ლაგოდეხის რაიონში, საქართველო-აზერბაიჯანის სასაზღვრო ჯარის ნაწილში დაფიქსირდა (Chubabria et al. 2003). მას შემდეგ აღმოსავლეთ საქართველოს ტერიტორიაზე ლეიშმანიოზის რამდენიმე დიდ აფეთქებასა და მთელ რიგ სპორადულ შემთხვევებს ჰქონდა ადგილი. მათ შორის უნდა აღინიშნოს ვისცერული ლეიშმანიოზის 1954 წლის პირველი მასშტაბური აფეთქება კახეთისა და შიდა ქართლის 6 რაიონს/ქალაქსა და 164 სოფელში, რომლის დროსაც 540 შემთხვევა იქნა გამოვლენილი (Maruashvili 1961; Bardjadze 1966). დაავადება თანდათან გავრცელდა კახეთის დასავლეთით და 1990 წელს თბილისში ლეიშმანიოზის პირველი სპორადული შემთხვევები დაფიქსირდა.

აღსანიშნავია, რომ მე-20 საუკუნის 20 -ანი წლებიდან 50 -ანი წლების ჩათვლით, ვისცერულ ლეიშმანიოზთან ერთად, საქართველოში მალარიაც მძვინვარებდა. ამასთან დაკავშირებით, 1960 წლებში „საქართველოს საბჭოთა რესპუბლიკის“ მთლიან ტერიტორიაზე, ჩატარებული იქნა მალარიის გადამტანი კოლოების წინააღმდეგ მიმართული პროფილაქტიკური ღონისძიებები, რომელთა შორის იყო ქიმიური ინსექტიციდ/პესტიციდის დდტ -ს (dichlorodiphenyltrichloroethane -DDT) მასიური ქაფრქვევა (Maruashvili et al 1961). სავარაუდოდ ამ ფაქტს უნდა უკავშირდებოდეს ვისცერული ლეიშმანიოზის ვექტორების, პოპულაციური რიცხოვნობისა და დაავადების შემთხვევების შემცირება, ასეულებიდან სპორადულამდე. მხოლოდ 40 წლის შემდეგ - 1990 წელს, ვისცერულმა ლეიშმანიოზმა ისევ იჩინა თავი და რამოდენიმე სპორადული შემთხვევა კახეთის რეგიონში დაფიქსირდა. შემდგომ წლებში დაავადება გავრცელდა თბილისის მიმართულებით, სადაც 1995 წელს პირველი შემთხვევა იქნა დარეგისტრირებული (Chubabria et al.).

ასევე საინტერესოა ის ფაქტი, რომ 2007 წელს პირველად დასავლეთ საქართველოში, ქუთაისში დაფიქსირდა ლეიშმანიოზის პირველი შემთხვევა (Babuadze et al 2014). საინტერესოა, რომ 2007 წლამდე დასავლეთ საქართველოში ვიცერული ლეიშმანიოზის არცერთი შემთხვევა არ ყოფილა რეგისტრირებული. შესაბამისად, ამ რეგიონში არასოდეს ჩატარებულა საველე სამუშაოები და არ ყოფილა დადგენილი ვექტორებისა და რეზერვუარების შესაძლო რგოლები.

დღეისათვის, საქართველოში ყოველწლიურად, ვიცერული ლეიშმანიოზის 100-200 შემთხვევა რეგისტრირდება, მ. შ. ზოგიერთი ლეტალური გამოსავლით (დკსჯეც -ის ოფიციალური სტატისტიკური მონაცემები). დაავადების ძირითადი წილი 1 დან 4 წლამდე ბავშვებშია გავრცელებული. თუმცა, ბოლო 7 წლის მანძილზე, დადასტურებულ შემთხვევათა მეტი წილი მოზრდილ ადამიანებზე მოდის (დკსჯეც -ის ოფიციალური სტატისტიკური მონაცემები). ბოლო 15 წლის (2005-2015) განმავლობაში, საქართველოში ვიცერული ლეიშმანიოზის 2370 შემთხვევა დაფიქსირდა, აქედან 1228 შემთხვევა თბილისში იქნა რეგისტრირებული.

ლ. საყვარელიძის სახელობის საქართველოს დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი (დკსჯეც) თავისი 85-წლიანი ისტორიის მანძილზე მუდმივად აწარმოებდა სხვადასხვა ინფექციების, მათ შორის პარაზიტული დაავადებების (მალარია, ლეიშმანიოზი) ბუნებრივი კერების მონიტორინგს. 1996 წლიდან სადღემდე, ქართველოს ტერიტორიაზე ლეიშმანიოზის რამოდენიმე ბუნებრივი კერა იქნა გამოვლენილი, რომელთა ძირითადი ნაწილი აღმოსავლეთ საქართველოში მდებარეობს –თბილისი, რუსთავი, მცხეთა-მთიანეთი, ქვემო-ქართლი, შიდა-ქართლი, კახეთი, ქუთაისი.



სურათი 13. ვისცერული ლეიშმანიოზის ბუნებრივი კერები საქართველოში

აღსანიშნავია, რომ 1997 წლიდან თბილისში ვისცერული ლეიშმანიოზი, მხოლოდ მტკვრის მარცხენა (აღმოსავლეთ) სანაპიროზე იყო გავრცელებული, ხოლო 2005 წლიდან კი, დაავადება მდინარე მტკვრის მარჯვენა სანაპიროზეც გამოჩნდა. აღნიშნულ კერებში, ძირითად რეზერვუარებს სახლისა და მაწანწალა ძაღლები წარმოადგენენ. ისტორიული მონაცემებით საქართველოში, ვისცერული ლეიშმანიოზის ბუნებრივ კერებში, დაავადების გადამტანების 14 სახეობაა გავრცელებული (Chubabria et al). თუმცა, ჩვენს მიერ ჩატარებულმა კვლევებმა მოსკიტების, მხოლოდ 5 სახეობა გამოავლინა, რომელთაგან დაავადების ტრანსმისიაში 3 მათგანი მონაწილეობს (Babuadzed et al 2014).

ცხრილი 3. ვისცერული ლეიშმანიოზის კერები, რეზერვუარები და გადამტანები საქართველოში

კერები	სიმაღლე ზღვის დონიდან (მ)	ძირითადი რეზერვუარი/ძაღლი	ძირითადი ვექტორი
ვისცერული ლეიშმანიოზის ბუნებრივი კერები			
<u>თბილისი</u>			
ვაკე-საბურთალო		სახლის მაწანწალა	<i>P.(Larroussius) kandelakii</i> <i>P. (Adlerius) halepensis</i> <i>P.(Adlerius) balcanicus</i> <i>P.(Paraphlebotomus) sergenti</i>

			<i>P. (Larroussius) wenyoni</i>
დიდუბე-ჩუღურეთი		სახლის მაწანწალა	<i>P.(Larroussius) kandelakii</i> <i>P. (Adlerius) halepensis</i> <i>P.(Adlerius) balcanicus</i> <i>P.(Paraphlebotomus) sergenti</i>
გლდანი-ნაძალადევი		სახლის მაწანწალა	<i>P.(Larroussius) kandelakii</i> <i>P. (Adlerius) halepensis</i> <i>P.(Adlerius) balcanicus</i> <i>P.(Paraphlebotomus) sergenti</i> <i>P. (Larroussius) wenyoni</i>
თბილისის შემოგარენი		მელა ტურა	-
<u>კახეთის რეგიონი</u>			
საგარეჯო		სახლის	<i>P.(Larroussius) kandelakii</i> <i>P.(Adlerius) balcanicus</i>
ყვარელი		სახლის	<i>P.(Larroussius) kandelakii</i> <i>P.(Adlerius) balcanicus</i> <i>P.(Paraphlebotomus) sergenti</i>
<u>შიდა ქართლი</u>			
კასპი		სახლის	<i>P.(Larroussius) kandelakii</i> <i>P. (Adlerius) halepensis</i> <i>P.(Adlerius) balcanicus</i> <i>P.(Paraphlebotomus) sergenti</i>
გორი		სახლის	<i>P.(Larroussius) kandelakii</i> <i>P. (Adlerius) halepensis</i> <i>P.(Adlerius) balcanicus</i> <i>P.(Paraphlebotomus) sergenti</i>
ცხინვალი			-
<u>მცხეთა-მთიანეთი</u>			
მცხეთა		სახლის მაწანწალა	<i>P.(Larroussius) kandelakii</i> <i>P. (Adlerius) halepensis</i> <i>P.(Adlerius) balcanicus</i>
<u>ქუთაისი</u>			
საფიჩხია		სახლის მაწანწალა	<i>P. (Adlerius) halepensis</i> <i>P.(Adlerius) balcanicus</i> <i>P.(Paraphlebotomus) sergenti</i>
გორა		სახლის მაწანწალა	<i>P. (Adlerius) halepensis</i> <i>P.(Adlerius) balcanicus</i> <i>P.(Paraphlebotomus) sergenti</i>

დღესდღეობით დკსჯეც-ის კოლექციაში *Leishmania* -ს 1 კულტურა და 150-მდე იზოლატი ინახება, რომელთა ნატიფი მოლეკულური მეთოდების გამოყენებით გენოტიპირება, მათზე ახალი *Leishmania*-ციდური ქიმური კომპონენტების გამოცდა და საერთო მონაცემთა ბაზის შექმნა მოცემული სამუშაოს უმთავრეს ამოცანას წარმოადგენდა. გარდა ამისა, ზოგიერთი ამ მეთოდის რუტინულ პრაქტიკაში დანერგვა, შესაძლებელს გახდიდა ახლად მიღებული *Leishmania*-ს იზოლატების, (კლინიკური და გარემო ნიმუშებიდან) წარმომავლობისა და გენეტიკური კავშირების დადგენასა და ამით გარემოსა და ადამიანს შორის პათოგენის ცირკულაციაზე დაკვირვების საშუალებას მოგვცემდა. ამიტომაც, დაავადების ეტიოლოგიიდან გამომდინარე შესწავლილი იქნა ვიცერული ლეიშმანიოზის ეპიდემიოლოგიაც.

ყოველივე ზემო-აღნიშნული აძლიერებს ინტერესს ამ ინფექციის მიმართ და მისი დიაგნოსტიკისა, მოლეკულური ტიპირების გაუმჯობესების და მისი გავრცელების უფრო დეტალური კვლევის გაგრძელების აუცილებლობაზე მიგვითითებს.

კვლევის მიზანი

ადამიანებსა და ხერხემლიან რეზერვუარებში ვიცერული ლეიშმანიოზის ინფექციის სეროპრევალენტობის განსაზღვრა, გადამტანების ბიოლოგიისა და დაავადების ტრანსმისიაში მათი როლის შესწავლა, მოცირკულირე *Leishmania* -ს სახეობის იდენტიფიკაცია, ასევე მოპოვებული იზოლატების (ცხრილი -4) მოლეკულური ტიპირება, მათი ეპიდემიოლოგიური დაჯგუფება, გლობალურ ფილოგენეტიკურ ხეზე განთავსება, და ასევე საქართველოში მოცირკულირე შტამების საერთო მონაცემთა ბაზის შექმნა მოცემული სამუშაოს უმთავრეს ამოცანას წარმოადგენდა;

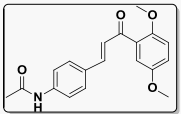
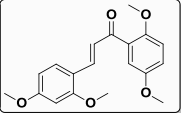
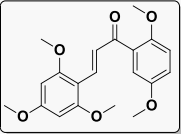
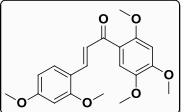
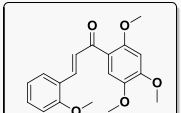
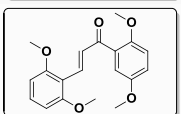
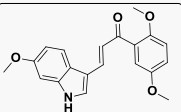
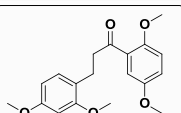
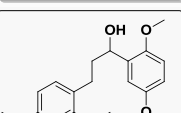
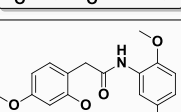
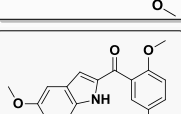
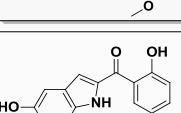
ცხრილი 4. სექვენირებისთვის გამოყენებული დესაჟეც -ის კოლექციაში არსებული *Leishmania* -ს იზოლატების ზოგადი მონაცემები,

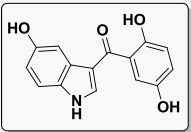
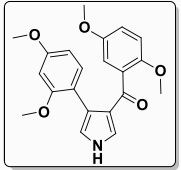
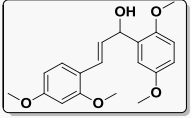
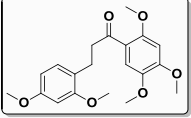
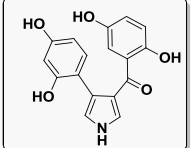
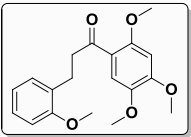
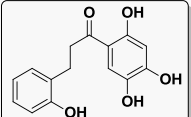
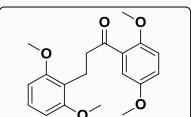
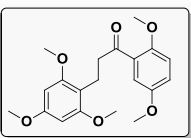
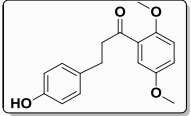
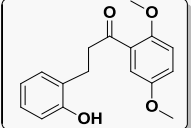
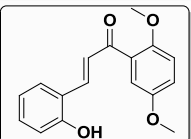
ნიმუში	ტიპი	გეოგრაფიული წარმომადგენლობა	მიღების წელი	ITS გენის უბანი	გენ-ბანკის ნომერი
კლინიკური	დნმ	გარდაბანი	2013	ITS1/2	MM201501
კლინიკური	დნმ	ცხინვალი	2014	ITS1/2	MM201502
კლინიკური	დნმ	ბოლნისი	2014	ITS1/2	MM201503
ძალდი	დნმ	ყვარელი	2014	ITS1/2	MM201504
ძალდი	დნმ	საგარეჯო	2014	ITS1/2	MM201505
ძალდი	დნმ	საგარეჯო	2014	ITS1/2	MM201506
კლინიკური	დნმ	რუსთავი	2014	ITS1/2	MM201507
ძალდი	დნმ	საგარეჯო	2014	ITS1/2	MM201508
ძალდი	კულტურა	თბილისი	2014	ITS1/2	MM201509
ძალდი	დნმ	თბილისი	2012	ITS1/2	MM201511
ძალდი	დნმ	თბილისი	2012	ITS1/2	MM201512
ძალდი	დნმ	თბილისი	2012	ITS1/2	MM201513
ძალდი	დნმ	თბილისი	2012	ITS1/2	MM201514
კლინიკური	დნმ	თბილისი	2012	ITS1/2	MM201515
<i>P.balcanicus</i>	დნმ	თბილისი	2012	ITS1/2	MM201516
<i>P.balcanicus</i>	დნმ	თბილისი	2012	ITS1/2	MM201517
კლინიკური	დნმ	ზაქათალა	2014	ITS1/2	MM201519
ძალდი	დნმ	თბილისი	2013	ITS1/2	MM2015120
ძალდი	დნმ	თბილისი	2013	ITS1/2	MM2015121

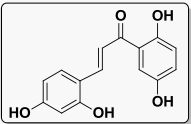
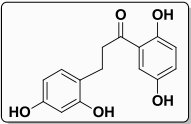
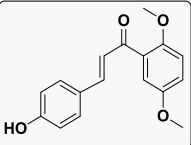
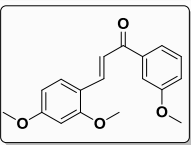
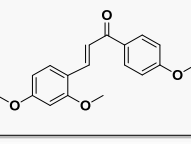
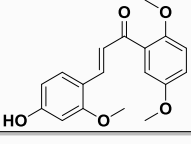
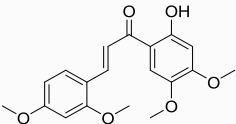
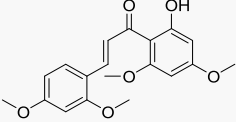
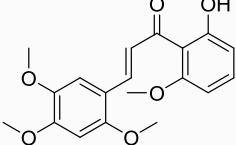
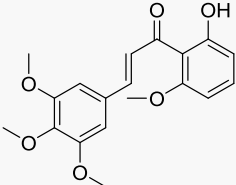
ამას გარდა, საჭირო იყო სწრაფი გენოტიპირების მეთოდის შემუშავება, რომელიც შესაძლებელს გახდიდა ახლად იზოლირებული *Leishmania* -ს სახეობების, გენეტიკური კავშირების დადგენას.

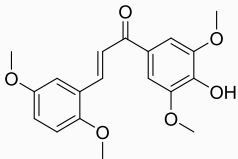
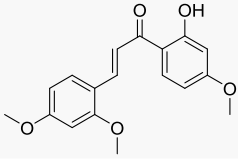
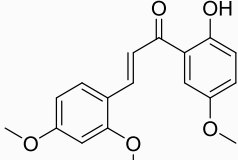
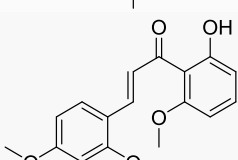
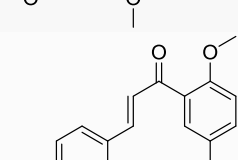
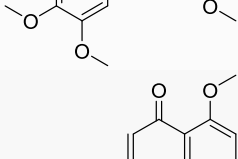
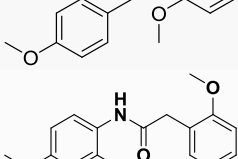
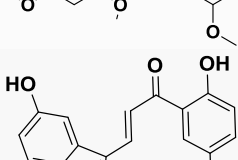
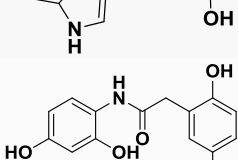
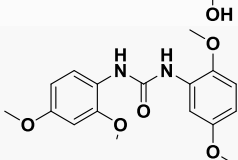
მოცემული ნაშრომის ერთ-ერთ ძირითად მიზანს, ესპანეთის ერთ-ერთი საერთაშორისო ფარმაცევტული კომპანიის მიერ მოწოდებული, ახალი წამლების გამოცდა წარმოადგენდა. კერძოდ, ჩვენს მიერ შესაწავლილი იქნა, არომატული კეტონების - ჩალკონების (Chalcones) ჯგუფის *Leishmania* -ციდური 49 ახალი ფორმულა (ცხრილი-5), ციტოტოქსიურობაზე, პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზაციასა და მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაციაზე (Rivas L. et al. 2010).

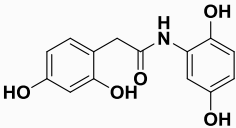
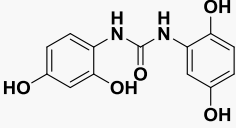
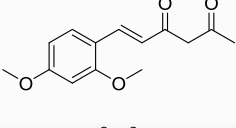
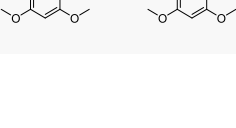
ცხრილი 5. ფარმაცევტული კომპანიის მიერ მოწოდებული, ექსპერიმენტული პრეპარატების ჩამონათვალი

კოდი	ფორმულა	მოლეკულური მასა	რაოდენობა (მგ)	გამხსნელი
BB-236/2 #01		325,36	1,09	DMSO
BB-240 #02		328,36	3,10	DMSO
BB-310 #03		358,39	2,72	DMSO
BB-326 #04		358,39	3,86	DMSO
BB-327 #05		328,36	3,02	DMSO
BB-328 #06		328,36	2,59	DMSO
BB-335 #07		337,37	1,07	DMSO
BB-336F4-8 #08		330,37	2,71	DMSO
BB-336F11-16 #09		332,39	1,67	DMSO
BB-341 #10		331,36	2,93	DMSO
BB-368B #11		311,33	2,96	DMSO
BB-370B #12		269,25	2,78	DMSO

BB-378 #13		269,25	2,25	DMSO
BB-398B #14		367,14	1,24	DMSO
BB-399B #15		330,37	2,50	DMSO
BB-402 #16		360,40	1,91	DMSO
BB-407 #17		311,29	0,4	DMSO
BB-409 #18		330,30	1,25	DMSO
BB-410 #19		274,27	2,53	DMSO
BB-414 #20		330,30	2,46	DMSO
BB-415 #21		360,40	2,20	DMSO
BB-422 #22		286,32	2,78	DMSO
BB-425 #23		286,32	2,30	DMSO
SG-102 #24		284,31	3,94	DMSO

BB-243 #25		272,25	2,53	DMSO
BB-377 #26		274,27	2,02	DMSO
SG-101 #27		284,31	2.75	DMSO
SG-103 #28		298,34	0.96	DMSO
SG-104 #29		298,34	2.85	DMSO
BB-437 #30		314,34	2.54	DMSO
BB-310 #31	არ მოიძებნა	358.36	3,06	DMSO
PQ-66 #32		344.36	4.22	DMSO
PQ-67 #33		344.36	9.73	DMSO
PQ-68 #34		344.36	5.92	DMSO
PQ-71 #35		344.36	8.66	DMSO

PQ-74 #36		344.36	4.5	DMSO
PQ-77 #37		314.33	5.51	DMSO
PQ-78 #38		314.33	4.64	DMSO
PQ-79 #39		314.33	5.07	DMSO
PQ-92 #40		328.36	4.42	DMSO
PQ-93 #41		298.33	5.67	DMSO
BB-338 #42		331.36	3.16	DMSO
BB-339B #43		295.29	2.25	DMSO
BB-342 #44		275.26	3.28	DMSO
BB-344 #45		332.35	1.87	DMSO

BB-345 #46		275.26	3.09	DMSO
BB-354 #47		276.24	2.55	DMSO
MX-110 #48		248.27	2.26	DMSO
MX-115 #49		396.43	3.74	DMSO

კვლევის მეთოდები

კვლევის დიზაინი

კვლევაში მონაწილე კონტიგენტის შესარჩევად, რეპრეზენტატიული მონაცემების უზრუნველსაყოფად, გამოყენებულ იქნა მრავალსაფეხურიანი კლასტერული შერჩევის დიზაინი.

თბილისში შეირჩა 30, ხოლო ქუთაისში, ყვარლის და საგარეჯოს რაიონებში 10-10 კლასტერი. თითოეული კლასტერის ზომა შეადგენდა 30 ფიზიკურ პირს (6 თვიდან 75 წლამდე ასაკის). თბილისში, ქუთაისში, ყვარლის და საგარეჯოს რაიონებში მცხოვრები მოსახლეობის რაოდენობის მონაცემების საფუძველზე შეიქმნა ოთხი ცხრილი, თითოეული ქალაქისა და რაიონისთვის ცალ-ცალკე.

თბილისის და ქუთაისის შემთხვევებში აღნიშნული ცხრილების პირველ სვეტში ეწერა ყოველი რაიონის (უბნის) დასახელება, ყვარლის და საგარეჯოს რაიონების შემთხვევაში კი დასახლებული პუნქტების (ქალაქის და სოფლების).

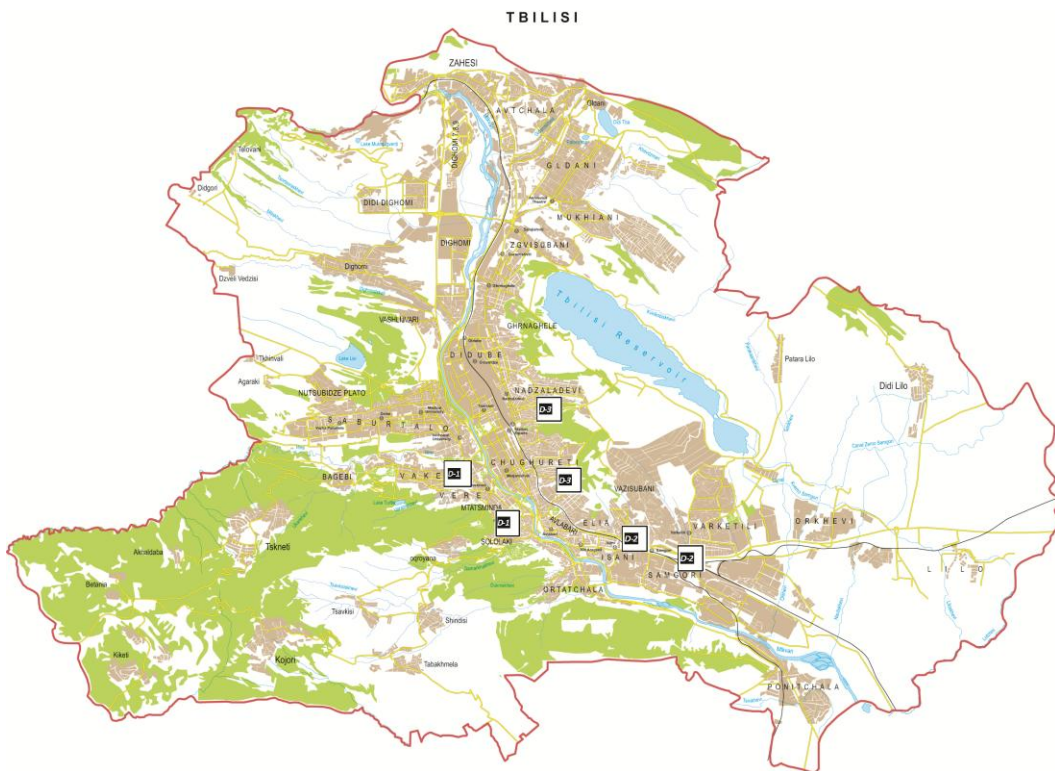
მეორე სვეტში რაიონებში (დასახლებულ პუნქტებში) მოსახლეობის რაოდენობა, მესამეში კი მოსახლეობის კუმულაციური ჯამური რაოდენობა, რომელიც მიიღება აღნიშნულ რაიონში მოსახლეობის რაოდენობას დამატებული აღნიშნული რაიონის ზემოთ ყველა ჩამოთვლილ რაიონებში მოსახლეობის რაოდენობის ჯამი. კვლევისთვის შერჩევის ინტერვალი (k) მივიღეთ მოსახლეობის რაოდენობის გაყოფით კლასტერების საერთო რაოდენობაზე. ათვლის წერტილად 1-დან k -მდე დიაპაზონში ავირჩიეთ შემთხვევითი რიცხვი (x), შემთხვევითი რიცხვების ცხრილის გამოყენებით. კვლევაში მონაწილეობისათვის შევარჩიეთ ის რაიონები, სადაც ცხოვრობდა x მოსახლე, $(x+n)$ მოსახლე, $(x+2n)$ მოსახლე და ა.შ.

შერჩევის მეორად ერთეულს წარმოადგენდა ოჯახი, რომლებიც თითოეული კლასტერის შიგნით შეირჩა შემთხვევითი შერჩევის მეთოდით. თითოეული შერჩეული ოჯახიდან კვლევაში მონაწილეობდა მხოლოდ ერთი პირი. ბავშვიან ოჯახებში შეირჩა ყველაზე უმცირესი ასაკის ბავშვი, ხოლო იმ ოჯახებში, სადაც არ ჰყავდათ ბავშვი,

ოჯახის ზრდასრული წევრებიდან შერჩევა მოხდა ლესლი კიშის მიერ შემუშავებული ცხრილის საშუალებით.

თბილისში შერჩეული კონტიგენტიდან კვლევაში მონაწილეობაზე თანხმობა განაცხადა (არასრულწლოვანის შემთხვევაში მშობელმა) 76.4% (688/900), ქუთაისში - 95.3% (286/300), ყვარლის რაიონში - 96.0% (288/300), საგარეჯოს რაიონში კი - 70.0% (210/300). თბილისში შერჩეული მოსახლეობა პირობითად დაყავით სამ ჯგუფად:

1. მოსახლეობა, რომელიც ცხოვრობს თბილისის ცენტრალურ უბნებში, რომლებიც განლაგებულია მდინარე მტკვრის მარჯვენა (დასავლეთ) სანაპიროზე. აღნიშნული უბნები უშუალოდ ესაზღვრებიან პარკებსა და ტყეებს. 1997 წლიდან ყოველწლიურად რეგისტრირდება ვისცერული ლეიშმანიოზის შემთხვევები;
2. მოსახლეობა, რომელიც ცხოვრობს მდინარე მტკვრის მარცხენა (აღმოსავლეთ) სანაპიროზე მდებარე უბნებში. 2000 წლიდან რეგისტრირდება ვისცერული ლეიშმანიოზის შემთხვევები (ნაკლები, ვიდრე #1 ჯგუფის მოსახლეობაში);
3. თბილისის დანარჩენი მოსახლეობა. 2000 წლიდან რეგისტრირდება



სურათი 14. თბილისის რუკა აღნიშნული პირობითად დაყოფილი უბნებით D#1, D#2 და D#3

ვისცერული ლეიშმანიოზის შემთხვევები, მაგრამ გაცილებით ნაკლები, ვიდრე #1 და #2 ჯგუფების მოსახლეობაში.

ქალაქ ქუთაისში, ყვარელსა და საგარეჯოს რაიონებში კი მოსახლეობა შეირჩა იმ დასახლებულ პუნქტებსა და მის ახლო მდებარე უბნებში (3-5 კმ რადიუსით), სადაც 2000 წლიდან ვისცერული ლეიშმანიოზის შემთხვევები ფიქსირდებოდა. უნდა აღინიშნოს, რომ ქუთაისი შერჩეული იქნა, როგორც ახალი კერა, სადაც 2007 წლამდე, ვისცერული ლეიშმანიოზის არცერთი შემთხვევა არ დაფიქსირებულა. თბილისსა და ქუთაისში შერჩეული კონტიგენტების კვლევა გახორციელდა ლეიშმანიოზის კანის - LST ტესტების გამოყენებით, ხოლო ყვარელსა და საგარეჯოს რაიონებში, სადაც კვლევები შედარებით მოგვიანებით ჩატარდა (2014 წ.), გამოყენებული იქნა rK39 იმუნოქრომატოგრაფიული სწრაფი ტესტები (WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

აღნიშნული კვლევების ჩასატარებლად, შემუშავებული იქნა კითხვარი და კვლევაში მონაწილეობის თანხმობის ფორმები. კვლევის ნებართვა *IRB00002150* გაცემული იქნა სსიპ ლ. საყვარელიძის სახ. დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრის, სამედიცინო ეთიკის კომისიის მიერ.

ძუძუმწოვარ რეზერვუარებში ლეიშმანიოზის სეროპრევალენტობის შესწავლის მიზნით, კვლევაში ჩართულნი იქნენ შერჩეული ოჯახების შინაური ძაღლები (პატრონის თანხმობის შემთხვევაში) და ის მაწანწალა ძაღლები, რომლებიც დაჭერილი იქნენ შერჩეული კლასტერის ტერიტორიაზე. ამასთან საჭიროდ მივიჩნიეთ ძაღლისებრთა ოჯახის გარეული ცხოველების -მელა, ტურა -შესწავლა, რომლებიც ცნობილია, რომ წარმოადგენენ ლეიშმანიოზის რეზერვუარებს, ამ დაავადების ე.წ დროებით კერებში. ამ მიზნით, საქართველოს გარემოს დაცვის სამინისტროს ნებართვის საფუძველზე, თბილისის შემოგარენში გამოკვლეული იქნა 77 გარეული ცხოველი, რისთვისაც სპეციალურად ძაღლისებრთა ოჯახისთვის დამზადებული rK39 ტესტები გამოვიყენეთ.

ზემო-აღნიშნულ, კერებში შესწავლილი იქნა ვისცერული ლეიშმანიოზის გადამტანი მწერების სახეობრივი შემადგენლობა და მმათი დაინფიცირების პროცენტული მაჩვენებელი.

კვლევის ყველა ეტაპი ტარდებოდა თანამედროვე მეთოდების გამოყენებით.



სურათი 15. დადებითი LST ტესტის შედეგი

ლაბორატორიული სამუშაოები ჩატარდა ბიოუსაფრთხოების მეორე დონის სტანდარტების დაცვით. მიუხედავად იმისა, რომ *Leishmania* არ განეკუთვნება განსაკუთრებით საშიში პათოგენების რიცხვს, შესაბამისად პროცედურები კლინიკურ და გარემო ნიმუშებზე მიმდინარეობდა ბიოუსაფრთხოების მეორე დონის (BSL-2+) კაბინეტში, პირადი დაცვის აღჭურვილობის (PPE) თანხლებით. სამუშაოები წარმოებდა ჯანმრთელობის მსოფლიო ორგანიზაციის (WHO) რეკომენდაციების საფუძველზე შემუშავებული ალგორითმის მიხედვით

(WHO Guideline on Control of The Leishmaniasis 2010).

LST ტესტირება

LST ტესტირების სამუშაოები ჩატარდა ვისცერული ლეიშმანიოზის ტრანსმისიის პერიოდში კერძოდ 2012 წლის ივნისი-აგვისტოს თვეებში. ტესტირებისას დაცული იქნა ჰიგიენისა და ბიოუსაფრთხოების ყველა საერთაშორისო ნორმები. პაციენტებს, 70% ეთანოლის, თერთჯერადი გამოყენების დეზინფექტანდებით უმუშავდებოდათ ინოკულაციის აგლილი წინა მხრის არეში. რის შემდეგაც წარმოებდა *Leishmania* პრომასტიგოტების სტანდარტული რაოდენობის შემცველი 0.1 მლ ანტიგენის შეყვანა კანში, ინსულინის ერთჯერადი შპრიცების გამოყენებით. კანის ტესტის შედეგების (შესიაბა) ნახვა ხდებოდა ე. წ კალმის წვერის მეთოდით 48 და 72 საათის შემდეგ (WHO

TRS-949 2010). შესიებული ინოკულაციის ადგილები იზომებოდა სახაზავით. შედეგები დადებითად მიიჩნეოდა თუ კი შესიებული ადგილის დიამეტრი სულ მცირე 6 მმ იყო.

სეროპრევალენტობის შესწავლა ადამიანებში rK39 ტესტის გამოყენებით

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ყვარელსა და საგარეჯოს რაიონებში კვლევა ჩატარდა 2014 წელს ივლისი-აგვისტოს თვეებში. სისხლის ნიმუშების შეგროვება წარმოებდა 3 მლ ერთჯერადი შპრიცების მეშვეობით, რომლებიც მომენტალურად იღვრებოდა, სპეციალურ შრატის გამომყოფ სისტემებში (ვაკუტაინერ სინჯარებში). აღებული ნიმუშები თავსდებოდა $+4^{\circ}\text{C}$ პირობებში და 2 დღის განმავლობაში ხდებოდა მათ ტრანსპორტირება დესჯეც -ის ცენტრალურ კვლევით ლაბორატორიაში. ტესტირება და ტესტის შედეგების წაკითხვა ხდებოდა მწარმოებლის მიერ მოწოდებული ინსტრუქციის მიხედვით. კერძოდ, სტერილური 96 ფოსოიან სეროლოგიური თევზების ცალკეულ ფოსოში, თავსდებოდა თითო rK39 ტესტი, რომელზეც ერთ-ერთ ბოლოში ვაწვეთებდით 20 მკ შრატს. შემდეგ ხდებოდა 200 მკ კონიუგატის დამატება. ტესტირების შედეგი დადებითად მიიჩნეოდა მაშინ, როდესაც მასზე 10 წუთის განმავლობაში ქრომატოგრაფიულად გამოსახებოდა ტესტის კონტროლისა და დადებითი მინუშის მაჩვენებელი ხაზები.

სეროპრევალენტობის შესწავლა რეზერვუარებში

სულ ყველა საკვლევ არეალში, გამოკვლეული იქნა 1023 სახლის და 670 მაწანწალა ძაღლი. აქედან 1571 თბილისსა (623 სახლის, 670 მაწანწალა) და 201 ქუთაისში (151 სახლის, 50 მაწანწალა). ყვარელსა და საგარეჯოში სულ გამოკვლეული იქნა 600 სახლის ძაღლი (329 ყვარელი, 271 საგარეჯო). გარდა ამისა, თბილისის შემოგარენში მოხდა 77 გარეული ცხოველის (38 მელა და 39 ტურა) გამოკვლევა. ცხოველებიდან შეგროვილი სისხლის ნიმუშების კვლევა განხორციელდა rK39 ტესტების მეშვეობით (Papadopoulou C, et al. 2001).

ძაღლების ნიმუშების შეგროვება ჩატარდა იგივე უბნებში, სადაც LST და rK39 კვლევა იქნა განხორციელებული. სისხლის ნიმუშები აღებული იქნა უბანში არსებული თითქმის ყველა ძაღლიდან, გარდა რამოდენიმე გამონაკლისისა, მფლობელის მხრიდან თანხმობის არ მოცემის გამო. მაწანწალა ძაღლებიდან ნიმუშების აღება მოხერხდა, თბილისისა და ქუთაისის მუნიციპალიტეტების, საგანგებო და გადაუდებელ სიტუაციათა მართვის სამსახურების დახმარებით. გარეული ცხოველებიდან (მელიებისა და ტურების) ნიმუშების მოპოვება ხდებოდა მათი ცოცხლად დაჭერის შემდეგ, რისთვისაც წინასწარ მოპოვებული იქნა გარემოს დაცვისა და ბუნებრივი რესურსების სამინისტროს სპეციალური წერილობითი ნებართვა. ხდებოდა მოპოვებული ძაღლებისა და გარეული ცხოველების ნიმუშების სპეციალურ ვაკუტაინერებში მოთავსება, რომლებიც ინახებოდა 4°C ზე. ცოტა მოგვიანებით კი ხდებოდა მათი ტესტირება rK39 იმუნოქრომატოგრაფიული ტესტების მეშვეობით.

ვისცერული ლეიშმანიოზის ვექტორების შესწავლა

მოსკიტების შეგროვება წარმოებდა CDC -მინიატურული სინათლის ხაფანგების მეშვეობით (John W. Hock Company, Gainesville, FL 32606, USA), ივნისიდან ოქტომბრამდე. სულ ყველა საკვლევ ტერიტორიაზე, შეგროვილი იქნა 1104 მოსკიტი (თბილისი -656, ქუთაისი -217, ყვარელი -162, საგარეჯო -69). თითო მოსახლის ტერიტორიაზე მონტაჟდებოდა თითო სინათლის ხაფანგი საცხოვრებელი სახლების გარე ეზოებში. სინათლის ხაფანგების მონტაჟი წარმოებდა საღამოს 7 საათზე, ხოლო დემონტაჟი ხდებოდა დილის 7 საათზე.

გასუფთავების მიზნით, შეგროვილი მდედრი მოსკიტები ირეცხებოდა 10-20% საპნიანი წყლით, რასაც მოსდევდა სტერილურ წყალში გავლება და საბოლოოდ 1% ნატრიუმის ჰიპოქლორატის ხსნარში მოთავსება 10 წუთით. მოსკიტების გაკვეთა წარმოებდა სტერილურ პირობებში. გაკვეთისას წარმოებდა მოსკიტის სპერმატეკისა და ნაწლავების გამოცალკავება. სპერმატეკისა და სხვა მორფოლოგიური განმასხვავებელი ნიშნის მიხედვით, ხდებოდა *Phelobotomus* -ბის (მოსკიტების) სახეობრივი

იდენტიფიკაცია, ხოლო ნაწლავებზე კი წარმოებდა მიკროსკოპული დათვალიერება ლეიშმანიების არსებობაზე X40 გადიდებით. პარაზიტის აღმოჩენისას ხდებოდა მათი შეტანა NNN -ორ ფაზიან საკულტივაციო არეში.

კულტივირება

გარდა საველე სამუშაოების შედეგად მოპოვებული მასალებისა, პარალელურად ხდებოდა კლინიკური ნიმუშების კვლევა (ვისცერული ლეიშმანიოზით დაავადებული პაციენტების ძვლის ტვინი), რომლებიც მოწოდებული იქნა თბილისის ვირსალადის სახელობის, სამედიცინო პარაზიტოლოგიისა და ტროპიკული მედიცინის ინსტიტუტის მიერ. პირველადი კულტურის მისაღებად გამოიყენებოდა NNN ორ ფაზიანი ნიადაგი. ამისათვის ახლად აღებული ადამიანისა და ძაღლებიგსან აღებული ძვლის ყტვინი, ზავდებოდა 50-100 მლკ სტერილურ ნატრიუმის ჰიდროფოსფატის შემცველ 1% PBS ბუფერში, რომელიც შეგვქონდა ოთახის ტემპერატურაზე წინასწარ გამთბარ ორ ფაზიან NNN ნიადაგში. მიღებულ კულტურებზე დაკვირვება წარმოებდა სასაგნე მინაზე დაწვეთებით ყოველ V დღეს. კულტურის მიღების შემთხვევაში, ხდებოდა უჯრედების გადათესვა იგივე ნიადაგში 4 დღეში ერთხელ. ასეთი 4-5 გადათესვის შემდეგ, ხდებოდა უჯრედების გადატანა თხევად RPMI 1640 საკვებ არეზე. აღნიშნულ საკვებ არეს წინასწარ ემატებოდა 20% სტერილური ხარის შრატი, 1% სტერილური პენიცილინისა და სტრეპტომიცინის ნარევი და 1,5% გლუტამინი. ამის შემდეგ ხორციელდებოდა მიღებული სუსპენზიის pH -ის დარეგულირება 7.2-7.3 -ის ფარგლებში, რის შემდეგაც ხდებოდა მისი გაფილტვრა ნანო ფილტრზე ვაკუუმის მეშვეობით. პრომასტიგოტების კულტივირება ხდებოდა თერმოსტატში +26.7°C ტემპერატურის თანაობისას.

მოლეკულური დიაგნოსტიკა

დნმ-ის ექსტრაქცია

დნმ-ის ექსტრაქცია ხდებოდა როგორც კლინიკური (ვისცერული ლეიშმანიოზით დაავადებული პაციენტის ძვლის ტვინი) და გარემო ნიმუშიდან (დაავადებული ძაღლების თვალის ნაცხი, ძვლის ტვინი, ელენთის პუნქტატი), ასევე მიღებული იზოლატებიდან (*Leishmania* კულტურა). კულტურის შემთხვევაში, ხდებოდა *Leishmania* პრომასტიგოტების ცენტრიფუგირება 1 000 x g ზე, 10 წუთის განმავლობაში +4°C ზე.

ექსტრაქციის მიზნით გამოიყენებოდა დნმ-ის გამომყოფი ნაკრები –DNA Mini Kit, Qiagen. პროცედურა ტარდებოდა ნაკრების მწარმოებლის ინსტრუქციის შესაბამისად:

1. 200 მკლ ნიმუშს (ტკიპებისა და სხვა ექტოპარაზიტების ემულსია, მღრღნელების ორგანოების ჰომოგენატი, პაციენტის ბუბონის შიგთავსი, 200 მკლ ბუფერში სუსპენდირებული იზოლატი) ემატებოდა 20 მკლ პროტეინაზა-K და 200 მკლ ლიზისის ბუფერი (AL); ნარევის შენჯღრევის შემდეგ ხდებოდა მისი ინკუბაცია 56°C-ზე 10წთ-ის განმავლობაში.
2. ინკუბაციის შემდეგ ნარევის ემატებოდა 200 მკლ ეთილის სპირტი, ხდებოდა მისი გადატანა მემბრანაიან სვეტზე და ცენტრიფუგირება 8000 ბრ/წთ, 1 წთ. ამის შედეგად საკვლევი ნიმუშის დნმ რჩებოდა დაკავშირებული სვეტის მემბრანასთან;
3. ლიზატის მინარევების მოშორების მიზნით სვეტს ემატებოდა 500 მკლ პირველი გამრეცხი ბუფერი (AW1) და ხდებოდა ცენტრიფუგირება 8000 ბრ/წთ, 1 წთ;
4. შემდეგ ეტაპზე სვეტს ემატებოდა 500 მკლ მეორე გამრეცხი ბუფერი (AW2) და ცენტრიფუგირდებოდა მაქსიმალურ სიჩქარეზე 14000 ბრ/წთ, 3 წთ;
5. სუფთა სინჯარში გადატანის შემდეგ სვეტს ემატებოდა 200 მკლ ელუციის (გამხსნელი) ბუფერი (AE), ინკუბირდებოდა ოთახის ტემპერატურაზე 1 წთ და ცენტრიფუგირდებოდა 8000 ბრ/წთ, 1 წთ; მიღებული ექსტრაქტი შეიცავდა სუფთა დნმ-ს, რომელიც ხანგრძლივად ინახებოდა -20°C-ზე.

ბუდობრივი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია - Nested PCR

ბუდობრივი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია ორ ნაწილად მიმდინარეობდა: რეაქცია -1 და რეაქცია -2.. პირველი რეაქციის შედეგად მიღებული პროდუქტი -25 მკლ (ამპლიკონები) ზავდებოდა 1 მლ სტერილურ წყალში. რეაქციისათვის გამოიყენებოდა Biotools -ის მიერ წარმოებული რეაგენტები (ცხრილი 6, 7). 10 მკლ დნმ ემატებოდა წინასწარ გამზადებულ სარეაქციო არეს, რომელიც შეიცავდა ამპლიფიკაციისათვის აუცილებელ Mg+2-ის იონებს, *Taq*-პოლიმერაზასა და სპეციფიკური უბნის პრაიმერებს - რ1:R221 (R1): 5' - GGT TCC TTT CCT GAT TTA CG - 3' R332 (R2): 5' - GGC CGG TAA AGG CCG AAT AG - 3' და რ2: R223 (R3): 5' - TCC CAT CGC AAC CTC GGT T - 3' R333 (R4): 5' - AAA GCG GGC GCG GTG CTG - 3'.

ცხრილი 6. PCR Nested 1 სარეაქციო ნარევის მომზადების ცხრილი

რეაქტივი	საწყისი კონცენტრაცია	მოცულობა 1 რეაქციაზე	საბოლოო კონცენტრაცია
H ₂ O	-- --	30.6 მკლ	-- --
PCR სარეაქციო არე დნმ პოლიმერაზა	10 ჯერადი 1U/მკლ	5.0 მკლ	1 ჯერადი
dNTP ნარევი	10 მკმოლი	1 მკლ	1 მკმოლი
ფორვარდ და რევერს პრაიმერების ნარევი	10 მკმოლი	2 მკლ	1 მკმოლი
საკვლევი დნმ		10 მკლ	
სარეაქციო არეს ჯამური მოცულობა:		50 მკლ	

ცხრილი 7. PCR Nested 1 სარეაქციო ნარევის მომზადების ცხრილი

რეაქტივი	საწყისი კონცენტრაცია	მოცულობა 1 რეაქციაზე	საბოლოო კონცენტრაცია
H ₂ O	-- --	10.55 მკლ	-- --
PCR სარეაქციო არე დნმ პოლიმერაზა	10 ჯერადი 1U/მკლ	2.5 მკლ	1 ჯერადი
dNTP ნარევი	10 მკმოლი	0.5 მკლ	1 მკმოლი

ფორვარდ და რევერს პრაიმერების ნარევი	10 მკმოლი	0.75 მკლ	1 მკმოლი
საკვლევი დნმ		10 მკლ	
სარეაქციო არეს ჯამური მოცულობა:		25 მკლ	

ნიმუშისა და სარეაქციო არეს ნარევი იდგმებოდა თერმოციკლერში შემდეგი სარეაქციო პირობებით:

რეაქცია 1

საწყისი დენატურაცია	94°C	5 წთ	30 ციკლი
დენატურაცია	94°C	30 წმ	
ამპლიფიკაცია	60°C	30 წმ	
ამპლიფიკაცია	72°C	30 წმ	
საბოლოო გაგრძელება	72°C	5 წთ	

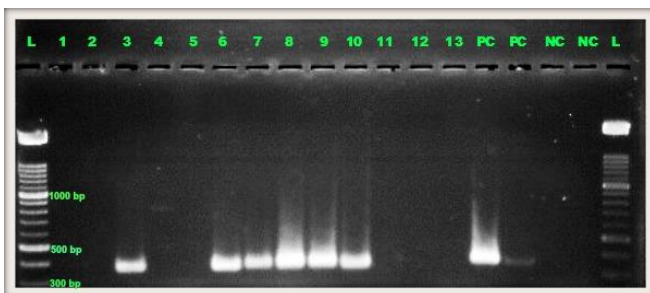
პირველი რეაქციის შედეგად მიიღებოდა 603 bp სიგრძის ფრაგმენტები.

რეაქცია 2

საწყისი დენატურაცია	94°C	5 წთ	30 ციკლი
დენატურაცია	94°C	30 წმ	
ამპლიფიკაცია	60°C	30 წმ	
ამპლიფიკაცია	72°C	30 წმ	
საბოლოო გაგრძელება	72°C	5 წთ	

პროდუქტის მოსალოდნელი სიგრძე 353 bp.

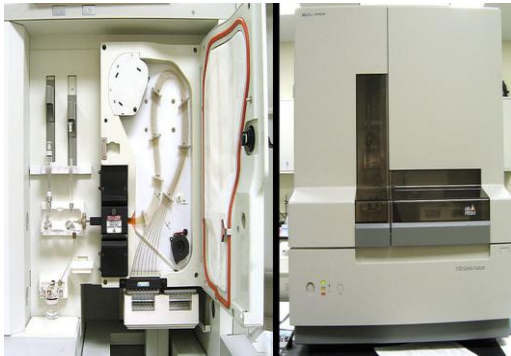
შედეგების ვიზუალიზაცია ხდებოდა გელ-ელექტროფორეზის მეშვეობით.



სურათი 16. *Leishmania* ბუდობრივი PCR -ის ვიზუალიზაციის ნიმუში გელ-ელექტროფორეზის მეშვეობით

სექვენირება სანგერის მეთოდით

სექვენირების ეს მეთოდი, პირველად გამოყენებული და შემუშავებული იქნა ფრედ სანგერის (Fred Sanger) მიერ 1977 წელს. მაღალი სიზუსტისა და სიმარტივის გამო ეს მეთოდი ათწლეულების მანძილზე წარმატებით გამოიყენებოდა. მიუხედავად იმისა, რომ ტექნოლოგიები იხვეწება და დღეისათვის ახალი თაობის სექვენირება სულ უფრო



და უფრო წამყვან როლს იკავებს ბიოლოგიურ მეცნიერებაში, სანგერის მეთოდით სექვენირება კლასიკური მეთოდია და მას დღესაც დიდი გამოყენება აქვს ბიოლოგიურ მეცნიერებასა და სამედიცინო მიმართულებებში. სექვენირება ლაბორატორიული კვლევების ფუნდამენტური მიდგომაა და ამჟამად ფართოდ გამოიყენება მედიცინის სხვადასხვა დარგებში, ასევე

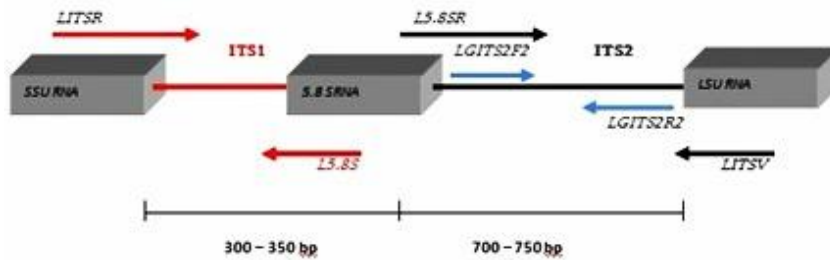
სხვადასხვა სამეცნიერო თუ კვლევით ლაბორატორიებში. დნმ სექვენირების ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მიმართულებას ორგანიზმებს შორის ფილოგენეტიკური კავშირებისა და განსხვავებების დადგენა წარმოადგენს. იგი გულისხმობს ფლუორესცენტული საღებავებით მონიშნული ნუკლეოტიდების ქიმიური ანალოგების (დიდეზოქსინუკლეოტიდები A, C, T, G) გამოყენებას ფერმენტ დნმ-პოლიმერაზას ინჰიბირებისთვის. ამ გზით კი იწვევენ დნმ-ის სხვადასხვა ზომის ფრაგმენტების დიდი რაოდენობით მიღებასა და მისივე მზარდი ჯაჭვის ტერმინაციას. სექვენირება იწყება PCR სტანდარტული ციკლებით, რასაც მოსდევს მიღებული პროდუქტების ქიმიური გაწმენდა და რეაქციის გაგრძელება კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემაზე, სადაც მაღალი ძაბვის ქვეშ მიმდინარეობს დნმ ფრაგმენტების განცალკავება. პროდუქტები ზომების შესაბამისად განლაგდებიან და კაპილარული ელექტროფორეზის სისტემაში გავლის შემდეგ მათ ბოლოზე არსებული ფლუორესცენტული სიგნალი ლაზერის

სურათი 17. ABI კაპილარული სექვენატორი

მეშვეობით აღიქმება. მიღებული შედეგები მუშავდება სპეციალური პროგრამული უზრუნველყოფით.

სექვენირებისათვის წინასწარ შერჩეული იქნა 19 იზოლატი, რომელთაგან 18 შეგროვილი იქნა საქართველოს სახვადასხვა ტერიტორიაზე, ხოლო ერთი მათგანი კი აზერბაიჯანის ტერიტორიაზე, კერძოდ ზაქათალას დასახლებიდან. ნიმუშების წყარო,

და გეოგრაფიული წარმომავლობა მოცემულია ცხრილში 4.



Region	Primer pair	Product size	Primer sequence
Whole ITS region	LITSR/LITSV	950-1130	5' CTGGATCATTTCCGATG 3' 5'ACACTCAGGTCGTAAC 3'
ITS1	LITSR/LS.8S	300-350	5' CTGGATCATTTCCGATG 3' 5' TGATACCACTTATCGCACTT 3'
ITS2	LS.8SR/LITSV	700-750	5' AAGTGCATAAGTGGTA 3' 5'ACACTCAGGTCGTAAC 3'
ITS2 internal	LGITS2F2/LGITS2R2	372-450	5' GCA TGC CAT ATT CTC AGT GTC 3' 5'GGC CAA CGC GAA GTT GAA TTC 3'

სექვენირებისათვის შერჩეული იქნა რიბოსომული დნმ -ის შიდა ტრანსკრიპციული უბნის გენი -ITS (Kuhls K, et al. 2005; Almeida ME, et al. 2011).

სექვენირება მადრიდის კარლოს მესამის სახელობის, მიკრობიოლოგიის ეროვნული ცენტრისა და აშშ-ს დაავადებათა კონტროლისა და პრევენციის ცენტრების (CDC) მიერ მოწოდებული

სურათი 18. ტრანსკრიპციული უბნისა და გამოყენებული პრაიმერების სქემა

პროტოკოლების მიხედვით

ხდებოდა. შერჩეული ITS უბნის ამპლიფიკაცია PCR რეაქციაში ხდებოდა შემდეგნაირად: 3-10 ნგ დნმ -ი ემატებოდა სარეაქციო არეს, რომელიც შეიცავდა 10x dNTP's ბუფერს, 0,2 მკმ ცალკეულ პრაიმერს, ნუკლეაზასგან გათავისუფლებულ წყალს და 2 ერთეულ *Taq* პოლიმერაზას. ნიმუშები და სარეაქციო არე ერთმანეთს ერეოდა 96 ფოსოიან პლანშეტის შესაბამის ფოსოებში. ამპლიფიკაცია ტარდებოდა თერმოციკლერში TC-5000, Techne, შემდეგი პირობებით:

საწყისი დენატურაცია 94°C 2 წთ

დენატურაცია	94°C	30 წმ	40 ციკლი
პრაიმერ-სუბსტრატის დაკავშირება	55°C	30 წმ	
ამპლიფიკაცია	70°C	1 წთ	
საბოლოო ელონგაცია	72°C	10 წთ	
დაყოვნება	4°C		

მიღებული პროდუქტის ხარისხის შესამოწმებლად ხდებოდა მისი ვიზუალიზაცია გელ ელექტროფორეზის მეშვეობით. ამპლიკონების გაწმენდა წარმოებდა საყინულეში გაციებული ჯერ 100%, ხოლო შემდგომ 70% იზოპროპანოლით პრეციპიტაციით: პლანშეტის ყველა ფოსოში მრავალარხიანი პიპეტით შეგვქონდა 150 მკლ 100%, ხოლო შემდგომ 70% იზოპროპანოლი. პლანშეტს ზემოდან ეფარებოდა ფირი და თითოეულ ჯერზე ხდებოდა ცენტრიფუგირება 4100 rpm ბრუნზე 30 წთ-ის განმავლობაში +4°C ზე. ბოლოს ხდებოდა ცარიელი პლანშეტის ამობრუნებულ მდგომარეობაში დატრიალება 1 წთ 185 გ ბრუნზე. პურიფიკაციის ამ ბოლო ეტაპის შემდეგ ამპლიკონები იხსნებოდა 10 მკლ ნუკლეაზასგან გასუფთავებულ წყალში.

შემდეგ ეტაპზე ხდებოდა ორი Big Dye სარეაქციო არეს მომზადება ცალკე ფორვარდ და ცალკე რევერს პრაიმერისთვის შემდეგნაირად: Big Dye Terminator v3 -1 მკლ, პრაიმერების ნარევი (10 პმოლ/მკლ) -0,3 მკლ და 7,7 მკლ H₂O. ამპლიფიკაცია ტარდებოდა თერმოციკლერში TC-5000, Techne, შემდეგი პირობებით:

საწყისი დენატურაცია	96°C	1 წთ	25 ციკლი
დენატურაცია	96°C	10 წმ	
ამპლიფიკაცია	50°C	5 წმ	
ელონგაცია	60°C	4 წთ	
დაყოვნება	4°C		

მიღებული პროდუქტის პურიფიკაცია წარმოებდა ისევ იზოპროპანოლის მეშვეობით იგივენაირად, როგორც ეს ამპლიკონების პირველი გაწმენდისას ხდებოდა. თუმცა განსხვავდებოდა ბოლო ეტაპი, კერძოდ, ამპლიკონების გახსნა ხდებოდა 10 მკლ

ფორმამდში, რომლის შემდეგაც პლანშეტს კათავსებდით თერმოციკლერში 2 წთ 94°C - ზე შემდგომი დენატურაციისთვის. დენატურირებული ამპლიკონები გადაგვქონდა ახალ, სპეციალურ 96 ფოსოიან ABI პლანშეტზე და ვიწყებდით სექვენირებას Hi-di გელისა და 50 სმ სიგრძის კაპილარების გამოყენებით.

მიღებული მონაცემების პროგრამული დამუშავება და კონტიგების აწყობა ხდებოდა Sequencher 5.0 ში, ხოლო მიკროსატელიტების ანალიზი და ფილოგენეტიკური ხის აწყობა მოხდა MEGA 6 პროგრამის მეშვეობით. სულ მოხდა 19 ქართული იზოლატის რნმ -ის ITS1 და ITS2 სექვენსის აწყობა, პროგრამული დამუშავება და გენეტიკური მანძილების გამოთვლა ხორციელდებოდა MEGA 6 პროგრამის მეშვეობით (Jukes TH, Cantor CR. Evolution of protein molecules). რნმ -ის ITS1 და ITS2 უბნების სექვენსები მიღებული იქნა ცალკეული ამ უბნისთვის შექმნილი პრაიმერების მეშვეობით. NCBI გენ ბანკის ბაზაში, ბლასტ (BLAST) ოფციის გამოყენებით, შერჩეულ იქნა 51 სექვენსი, რომლებიც საუკეთესო კანდიდატები აღმოჩნდნენ ქართულ იზოლატებთან, ძირითადი მსგავსების კრიტერიუმის მიხედვით. გენეტიკური კავშირების დადგენის მიზნით, Akaike Information (AIC) და Bayesian Information (BIC) შემფასებელი კრიტერიუმების გამოყენებით, საუკეთესო მოდელად შერჩეულ იქნა ML ალგორითმი. ამავე შემფასებელი კრიტერიუმების მიერ, შერჩეულ იქნა JC მოდელი. უბნებს შორის, სექვენსის ვარიაციების სისწრაფის არაერთგვაროვნება, გამოთვლილ იქნა დისკრეტული გამა განაწილების მეთოდის მეშვეობით (Gamma distribution (+G)). ცალცალკე დასექვენირებული ITS1 და ITS2 უბნების, ნუკლეოტიდებზე დაფუძნებული ფილოგენეტიკური ანალიზი, ჩატარდა Neighbor joining (NJ) და Maximum Likelihood (ML) მეთოდების ალგორითმების და ბუტსტრაპის (bootstrap) მეთოდის (1000 რეპლიკა) გამოყენებით (Kuhls K, et al. 2005). უბნებს-შორისი ვარიაციები მოდელირებულ იქნა გამა განაწილების მეშვეობით (Gamma distribution shape parameter = 1) წყვეტილი უბნების ნაწილობრივი დელეციით. ანალიზი სულ მოიცავდა 68 ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას.

ჩალკონების (Chalcones) ჯგუფის *Leishmania* -ციდური მოქმედების შესწავლა

Leishmania -ციდური მოქმედების შესწავლა განხორციელებული იქნა მადრიდის ბიოლოგიურ კვლევათა ცენტრში. კვლევაში აღწერილი ექსპერიმენტები ჩატარდა ლაბორატორიის ხელმძღვანელის ლუის რივასა და ხუან რომან ლუკე-ორტეგას მიერ შემუშავებული მეთოდოლოგიის გამოყენებით (Juan Roman Luque-Ortega and Luis Rivas, Characterization of the Leishmanicidal Activity of Antimicrobial Peptides, Chapter 25).

Leishmania უჯრედების მომზადება: აღნიშნული ექსპერმენტისთვის შერჩეული იქნა *L. donovani* შტამი MHOM/SD/00/1S-2D და მისგან მიღებული სპეციალური უჯრედული ხაზი 3-Luc, რომელშიც ჩაშენებული იყო ფლუორესცენტულად მნათი ციცინათელას გენი ლუციფერაზა *Photinus pyralis* luciferase. უჯრედები იზრდებოდა +26°C RPMI 1640 თხევად საკვებ არეში, რომელიც გამდიდრებული იყო 10% გაცხელებით ინაქტივირებული ხარის შრატით. პარალელურად ხდებოდა რეფერენს შტამის *L. pifanoi* -ის სუფთა ამასტიგოტების გაზრდა +32°C ზე, 199 (Gibco-BRL) თხევად არეში, რომელიც გამდიდრებული იყო 20% გაცხელებით ინაქტივირებული ხარის შრატითა და 50 მკგ/მლ ჰემინით. პერიტონეალური მაკროფაგების მიღება ხდებოდა 8 კვირის Balb/C ხაზის თეთრი თაგვებისგან, მათში, ევთანაზიამდე სამი დღით ადრე პერიტონეალურად 1 მლ 10% -ანი ნატრიუმის თიოგლიკოლატის ინექციით. მაკროფაგების აღება წარმოებდა ე.წ. პერიტონეალური გარეცხვის მეთოდით, რისთვისაც გამოიყენებოდა გლუკოზით (HBSS-Glc) გამდიდრებული ჰანკს (HANK's) ბუფერი. თაგვის ევთანაზიის შემდეგ მიღებული მაკროფაგები ირეცხებოდა 50 მლ HBSS-Glc არეში, 2 000 g ბრუნზე ცენტრიფუგირების მეშვეობით. გარეცხილი უჯრედები მზადდებოდა ტოქსიკურობის ტესტისთვის.

ტოქსიკურობის ტესტი

ქიმიური კომპონენტების *Leishmania* -ციდური და ციტოტოქსიკური აქტიურობის შესაფასებლად, რომელიც ხდებოდა 96 ფოსოიან პლანშეტზე, პარაზიტები პრომასტიგოტები და ამასტიგოტები გაზრდილი იქნა გვიან ლოგარითმულ ფაზამდე. HBSS-Glc არეში გარეცხვის შემდეგ, პარაზიტული უჯრედები ზავდებოდა ახლად

დამზადებულ საკვებ არეში, შემდეგი თანაფარდობით: 2×10^6 უჯრედი/მლ, ხოლო მაკროფაგები კი 5×10^5 (საბოლოო სიმჭიდროვე 10^5 თითო ფოსოში) რომლებსაც ემატებოდა განხვავებული კონცენტრაციის ჩალკონი, სადაც უმაღლესი კონცენტრაცია 50 მკმ, ხოლო უმცირესი 0,78 მკმ იყო. პარაზიტული პრომასტიგოტების ინკუბაცია (პროლიფერაცია) ჩალკონების თანაობისას ხდებოდა 72 საათით $+26^{\circ}\text{C}$ ზე, ამასტიგოტების 32°C ზე 96 საათით, ხოლო მაკროფაგების $+37^{\circ}\text{C}$ -ზე CO_2 -ის თანხლებით 48 საათის განმავლობაში. ინკუბაციის დამთავრების შემდეგ, პროლიფერაციის დონის განსაზღვრა ხდებოდა MTT სუბსტანციის დამატების მეშვეობით, (საბოლოო კონცენტრაცია 0,5 მგ/მლ). MTT სუბსტანციის დამატების შემდეგ, მისი კარგი სოლუბილიზაციისთვის ხდებოდა ინკუბაცია მომდევნო 2 საათის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე, ბნელ გარემოში. შედეგის ნახვა წარმოემდა 610 Bio-Rad პლანშეტურ წამკითხველში 590 ნმ სხივის შთანთქმით. უნდა აღინიშნოს, რომ თითოეული ექსპერიმენტი გამეორებულ იქნა ორჯერ, ხოლო ყოველი ნიმუში კი სამმაგი რაოდენობით (ტრიპლიკატი) იქნა აღებული. განსაზღვრული იქნა IC_{50} , სტატისტიკური პროგრამის Sigma Plot v. 11.0 -ის გამოყენებით. ციტოტოქსიკურობის ექსპერიმენტის შედეგებიდან გამომდინარე, მომავალი კვლევებიდან გამორიცხულ იქნა ყველა ის კომპონენტი, რომლებიც ხასიათდებოდნენ მაღალი ციტოტოქსიკურობით.

პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზაცია

ტოქსიკურობის ექსპერიმენტის შედეგად, მომდევნო კვლევებისათვის მოხდა ჩალკონების 4 საუკეთესო კანდიდატის შერჩევა, რომლებიც შემდგომ შემოწმებულ იქნა პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზაციაზე. ამ ექსპერიმენტისთვის *Leishmania* პრომასტიგოტები იზრდებოდნენ გვიან ლოგარითმულ ფაზამდე. უჯრედები ორჯერ ირეცხებოდა 50 მლ HBSS-Glc საკვებ არეში (10 წთ 200 rpm სიჩქარის ბრუნზე 4°C). უჯრედების საბოლოო სიმჭიდროვე იყო 2×10^6 უჯრედი/მლ, რომლებიც განაწილდა 96 ფოსოიან პლანშეტზე (საბოლოო მოცულობა 100 მკლ/ფოსოში). პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზურობა შეფასებული იქნა მემბრანა გაუმტარი ფლუორესცენტული

საღებავით SYTOX green (მოლეკულური წონა = 600), რომელიც უჯრედის შიგნით უკავშირდება ნუკლეინის მჟავებს, მას შემდეგ, მოხვდება რაც მემბრანა დაზიანებული პარაზიტული უჯრედის შიგნით. შესაბამისად იგი გამორიცხავს დაუზიანებელ პარაზიტებს. 96 ფოსოიან პლანშეტზე წინასწარ მზადდებოდა შერჩეული კომპონენტების სხვადასხვა განზავებები (50მკმ -0,78 მკმ). პრომასტიგოტებს, რომელთა სიმჭიდროვე იყო 2×10^7 უჯრედი/მლ, ემატებოდა 500 მკმ SYTOX green, რომლის საბოლოო კონცენტრაციაც 1მკმ უტოლდებოდა. ამასთან ცალკე მზადდებოდა ექპერიმენტის 2 კონტროლი, რომელიც მოიცავდა ერთ სუფთა პრომასტიგოტებსა და ორ -0,1% Triton x 100 ($C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$) -ის დასამატებლად გამზადებულ ფოსოს. კანდიდატი კომპონენტების დამატების შემდეგ, SYTOX green საღებავის შესვლის მონიტორინგი ხორციელდებოდა დაზიანებულ უჯრედებში ფლუორესენციის ზრდით, რომლის განსაზღვრაც Polarstar Galaxy Microwell Reader -ის მეშვეობით ხდებოდა (ფლუორესენციის გაზომვის პარამეტრები: $\lambda_{exc} = 504 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 524 \text{ nm}$). შედეგების შედარება კონტროლებთან მიმართებაში ხდებოდა პროცენტული გამოთვლით.

L. donovani პრომასტიგოტებში, უჯრედშიდა თავისუფალი ატფ-ის დონის ცვლილების მონიტორინგი რეალურ დროში

თავისუფალი ციტოპლაზმური ატფ დონის ცვლილება ცოცხალ პარაზიტებში, შესწავლილ იქნა ლუმინესცენტული მეთოდის მეშვეობით, რისთვისაც გამოყენებული იყო უჯრედული ხაზი 3-Luc. ამისათვის აღნიშნული ხაზის *Leishmania* უჯრედები იზრდებოდა გვიან ლოგარითმულ ფაზამდე RPMI 1640 თხევად არეში. შემდგომ ხდებოდა პრომასტიგოტების გადატანა HBSS-Glc გლუკოზიან არეში და ნაწილდებოდა შავი ფერის 96 ფსოიან პლანშეტზე. უჯრედებს ემატებოდა DMNP-*D*-luciferine (სბოლოო მოცულობა 100 მკლ თითო ფოსოში: 2×10^7 პრომასტიგოტი მლ-ზე, 25 მკმ DMNP-*D*-luciferine), რომელიც წარმოადგენს ლუციფერაზას სუბსტრატს და მას გააჩნია უჯრედული მემბრანის გადალახვის უნარი მის დაუზიანებლად. როდესაც

ლუმინესცენტური ნათება აღწევდა პიკს, მაშინ უჯრედებს ემატებოდა შესაბამისი კანდიდატი კომპონენტი -ჩალკონი ($t = 0$, luminescence = 100%), რის შემდეგაც მიმდინარეობდა ლუმინესცენტური ვარიაციების მონიტორინგი BMG Polarstar Galaxy microwell reader-ზე 30 წუთის განმავლობაში, რომელიც გამოითვლებოდა ლუმინესცენტური პროცენტული მაჩვენებლით $t = 0$ და აისახებოდა გრაფიკის სახით.

მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაცია

მიტოქონდრიის შიდამემბრანული პოტენციალის $-\Delta\Psi_m$ ვარიაციების შეფასება ხდებოდა პარაზიტული უჯრედების (საბოლოო სიმჭიდროვე 2×10^7) კანდიდატ კომპონენტთან 4 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ. ასეთ უჯრედებს ემატებოდა ახლად მომზადებული Rhodamine123 საღებავი (Invitrogen), რომელიც ზავდებოდა HBSS-Glc არეში საბოლოო კონცენტრაციით 0.3 მკგ/მლ. სუნბსტრატის დამატების შემდეგ ხდებოდა უჯრედების ინკუბაცია 37°C ზე 10 წთ წყლის აბაზანაში, რის შემდეგაც უჯრედები ირეცხებოდა HBSS-Glc არეში. შედეგების წაკითხვა ხდებოდა FC500 Coulter ციტოფლუორომეტრში. რეაქციის კონტროლად გამოიყენებოდა პრომასტიგოტები, რომელთაც მიტოქონდრიული მემბრანა სრულად ჰქონდათ დეპოლარიზებული, რაც ხელოვნურად იქნა გამოწვეული, პარაზიტების 10 მმოლი კალიუმის ციანიდთან (KCN) 30 წუთიანი ინკუბაციით საღებავის დამატებამდე.

კონფოკალური მიკროსკოპირება

ზემოთ აღწერილი ექსპერიმენტების შედეგად, ჩვენს მიერ შერჩეულ იქნა ქიმიური კომპონენტების 2 საუკეთესო კანდიდატი. თუმცა საჭირო იყო კიდევ დამატებითი ორი ექსპერიმენტი -კონფოკალური და ელექტრო მიკროსკოპირება.

L. donovani პრომასტიგოტები ერეოდა 0,05 მკმ MitoTracker Red -ს 10 წუთის განმავლობაში 26°C ზე, რის შემდეგაც უჯრედები ორჯერ ირეცხებოდა HBSS-Glc არეში. ამის შემდეგ მოხდა უჯრედების ინკუბაცია შერჩეულ 25 მკმ კანდიდატ კომპონენტებთან ბნელ ოთახში 4 საათით 26°C ზე, რის შემდეგაც ხდებოდა კონფოკალური სურათების მიღება Leica TCS-SP2-AOBS-UV ულტრასპექტრული კონფოკალური მიკროსკოპის მეშვეობით. ფლუორესცენტულ პარამეტრებს MitoTracker Red -ისთვის წარმოადგენდა $\lambda_{exc} = 543 \text{ nm}$ და $\lambda_{em} = 599 \text{ nm}$.

ელექტრო მიკროსკოპირება

ელექტრონული მიკროსკოპირება წარმოადგენდა საბოლოო ექსპერიმენტს, რათა თვალთ გვეჩვენა, ჩვენს მიერ შერჩეული საუკეთესო კანდიდატი კომპონენტის *Leishmani* ცილური მექანიზმი. კერძოდ, იყო თუ არა ამ კომპონენტის ეს ეფექტი გამოწვეული, პარაზიტული ამასტიგოტების, მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაციით და ჰქონდა თუ არა უნარი ამ კომპონენტის მოლეკულებს, უჯრედული მემბრანის დაუზიანებლად შეეღწიათ პარაზიტის ციტოპლაზმაში.

ამ ექსპერიმენტისთვის გამოიყენებოდა *L. donovani* -ის პრომასტიგოტები. ხდებოდა პარაზიტული უჯრედების ინკუბაცია კომპონენტთან 24 საათის განმავლობაში. მეორე დღეს უჯრედები, რომლებიც დაფიქსირებული იყო 5% (w/v) გლუტარალდეჰიდში, ორჯერ ირეცხებოდა 1 მლ HBSS-Glc არეში. ამის შემდეგ ხდებოდა უჯრედების ინკუბაცია 2.5 % (w/v) ოსმიუმის ტეტროქსიდში (OsO_4) 1 საათით. ინკუბაციის შემდეგ უჯრედებს უტარდებოდა თანდათანობითი დეჰიდრატაცია ეთანოლით [30, 50, 70, 90, და 100% (v/v); 30 წთ თითო]. ბოლო დეჰიდრატაცია ტარდებოდა პროპილენის ოქსიდით 1 საათის განმავლობაში. დეჰიდრატირებული უჯრედების დაფიქსირება ხდებოდა სპეციალურ ცილინდრულ მიკრო სინჯარებში Epon 812 resin -ის მეშვეობით. შედეგების ნახვა წარმოებდა Jeol-1230 ელექტრო მიკროსკოპში.

მიღებული შედეგები

ზოგადი ეპიდემიოლოგიური სურათი

LST ტესტირება, ვისცერული ლეიშმანიოზის ინფექცია ადამიანებში თბილისსა და ქუთაისში

ლეიშმანიოზის LST ტესტების შედეგები მოცემულია ცხრილში 7. როგორც ცხრილიდან ჩანს, კვლევებმა აჩვენა LST ტესტ დადებითების მაღალი პრევალენტობა 5-9, 15-24 და 25-59 ასაკობრივ ჯგუფებში თბილისის ცენტრალურ უბნებში რომლებიც განლაგებულია მდინარე მტკვრის მარჯვენა (დასავლეთ) სანაპიროზე (District #1) (22.2%, 37.5% და 19.5%). იგივე ასაკობრივ ჯგუფებში გაცილებით ნაკლები პრევალენტობა მივიღეთ ქუთაისში 0% ($P = 0.0062$), 3.2% ($P = 0.0018$) და 5.2% ($P = 0.0017$; ყველა X2 test). მთლიანმა სხვაობამ პრევალენტობაში შეადგინა 19.3% 7.3% -ის წინააღმდეგ, რომლის მნიშვნელობაც ასევე მაღალი აღმოჩნდა ($P = 0.00016$).

ცხრილი 8. ვისცერული ლეიშმანიოზის პრევალენტობა ასაკობრივი ჯგუფებისა და რაიონების მიხედვით

Age group	District #1 (Tbilisi)			District #2 (Tbilisi)			Kutaisi			Other Tbilisi			Tbilisi Totals			Pvalue
	N	Positive	(%)	N	Positive	(%)	N	Positive	(%)	N	Positive	(%)	N	Positive	(%)	X2 test
1 - 4	9	0	0.0	51	4	7.8	35	5	14.3	23	5	21.7	83	9	10.8	NS
5-9	18	4	22.2	70	14	20.0	31	0	0	12	0	0	100	18	18	0.0131
10-14	20	3	15.0	21	6	28.6	44	4	9.1	18	3	16.7	59	12	20.3	NS
15-24	16	6	37.5	30	5	16.7	31	1	3.2	30	5	16.7	76	16	21.1	0.0371
25-59	77	15	19.5	157	15	9.6	116	6	5.2	61	6	9.8	295	36	12.2	0.034
60plus	21	3	14.2	34	5	14.7	29	5	17.2	20	1	5.0	75	9	12.0	NS
Total	161	31	19.3	363	49	13.5	286	21	7.3	164	20	12.2	688	100	14.5	0.0019

ასევე მნიშვნელოვანი შედეგები მივიღეთ თბილისის, მდინარე მტკვრის მარცხენა (აღმოსავლეთ) სანაპიროზე მდებარე უბნებსა (District #2) და დანარჩენ მოსახლეობაში (District #3), სადაც მაღალი სეროპრევალენტობა დაფიქსირდა 10-14 (28.6%; n= 21) და 1-4 ასაკობრივ ჯგუფებში (21.7%; n= 23). აღსანიშნავია, რომ ქუთაისში სეროპრევალენტობის მაჩვენებელმა 60 და <60 ასაკობრივ ჯგუფებში 17.4% შეადგინა.

ცხრილი 9. ლეიშმანიოზის პრევალენტობის მაჩვენებელი სეროდადებითებში ასაკობრივი ჯგუფებისა და სქესის მიხედვით

Age group (years)	Male			Female			Total		
	N	Positive	(%)	N	Positive	(%)	N	Positive	(%)
1-4	65	6	9.2	53	8	15.1 ¹	118	14	11.9
5-9	66	12	18.2	72	13	18.1 ¹	138	25	18.1
10-14	50	7	14.0	53	9	17.0 ¹	103	16	15.5
15-24	44	6	13.6	63	11	17.5 ¹	107	17	15.9
25-59	117	19	16.2	294	23	7.8 ²	411	42	10.2
60 & above	34	7	20.6	70	7	10.0 ¹	104	14	12.5
Total	376	57	15.2	605	71	11.7 ¹	981	128	13.5

მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ პრევალენტობა თბილისის რაიონებს შორის მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება ერთმანეთისგან ($P>0.05$), მაშინ როდესაც საერთო პრევალენტობის მაჩვენებლით თბილისსა და ქუთაისს შორის დიდი სხვაობაა ($P=0.0019$, X^2 test; ცხრილი 7). შემდგომში, როდესაც ჩვენ შევადარეთ LST ტესტ დადებითები ქალებსა და მამაკაცებში, ერთიდაიგივე ასაკობრივ ჯგუფებში, ვნახეთ, რომ პრევალენტობა მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა (15.2% მამაკაცები, 11.7% ქალები). შედარებით განსხვავებული იყო მხოლოდ 25-59 ასაკობრივი ჯგუფი, სადაც მამაკაცებში დადებითი 16.2%, ხოლო ქალებში კი 7.8% იყო ($P=0.011$) (ცხრილი 8). ეს შესაძლოა განპირობებული იყოს ქცევით ჩვევებისა და სოციალური თავისებურებებით, კერძოდ მამაკაცები სადამოლობით (დრო, როდესაც აქტიურდებიან გადამტანი მწერები)

გაცილებით მეტ დროს ატარებენ ბალებსა თუ ქუჩებში, ვიდრე ქალები, განსაკუთრებით კი კერძო დასახლებებში.

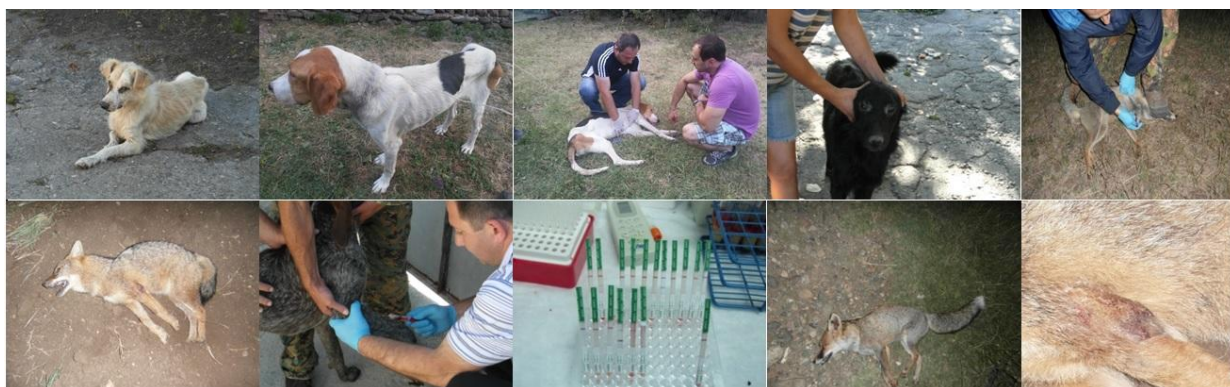
rK39 ტესტირების შედეგები ვისცერული ლეიშმანიოზის ინფექცია ყვარელსა და საგარეჯოში

გამოკვლეულთა შორის (190 მამაკაცი და 323 ქალი) გამოვლენილი იქნა 7 rK39 ტესტ დადებით ინდივიდუმი (საშუალო ასაკი 22.7 წელი, ასაკის მედიანა 9 წელი). ტესტ დადებით ადამიანებიდან უმრავლესობა (5/7) იყვნენ ყვარლის რაიონის მაცხოვრებლები. მათგან 6 ახალი შემთხვევა, ხოლო 1 (56 წლის მამაკაცი) განმეორებითი ინფექცია - რეციდივი იყო, რომელიც წინათ ნამკურნალები იყო ამბიზომით (AmBisome®). მოპოვებული ადამიანური ნიმუშები სპეციალურ ვაკუტაინერებში თავსდება, რომლებიც ინახებოდა 4°C ზე. ცოტა მოგვიანებით კი (მაქსიმუმ 3-4 დღის ვადაში) ხდებოდა მათი ტესტირება rK39 იმუნოქრომატოგრაფიული ტესტების მეშვეობით (InBios International Inc, Seattle, USA), მწარმოებლის მიერ მოცემული ინსტრუქციების მიხედვით. აღსანიშნავია, რომ მიღებული ექვსი დადებითიდან 4 შემთხვევა უსიმპტომოთ მიმდინარეობდა, მაშინ როდესაც ორს მსუბუქი სიმპტომები აღენიშნებოდა, როგორიცაა ცხელება და ანემია. ყველა პაციენტს ჩაუტარდა ამბიზომის მკურნალობის სრული კურსი სამედიცინო პარაზიტოლოგიისა და ტროპიკული მედიცინის ინსტიტუტში.

სეროპრევალენტობა რეზერვუარებში

rK39 ტესტირების შედეგებზე დაყრდნობით, შეგვიძლია ვთქვათ, რომ თბილისში, სეროდადებითი ძალების ყველაზე მაღალი წილი მოდის მდინარე მტკვრის მარცხენა (აღმოსავლეთ) მარჯვენა (დასავლეთ) სანაპიროზე განლაგებულ ცენტრალურ უბნებში (District #2; District #1). აქედან D#2 -ში 292 მოპოვებული ნიმუშიდან 82 ტესტ დადებით აღმოჩნდა (28.1%), ხოლო D#1 -ში შეგროვილი 89 ნიმუშიდან დადებითი 24 იყო (27%).

თბილისის დანარჩენ უბნებში (D#3) დადებითი ძაღლების პროცენტული მაჩვენებელი 21.5% იყო (52/242). მაღალი სეროპრევალენტობა დაფიქსირდა ქუთაისშიც, სადაც 150 სახლის ძაღლიდან 26 ტესტ დადებით იყო (17%). შედეგებმა ასევე აჩვენა, რომ სეროდადებითი ძაღლების მაჩვენებელი მნიშვნელოვნად მაღალია ყვარლის რაიონში (19.5%; 64/329), ვიდრე საგარეჯოში (11.4%; 19/51).



სურათი 19. კლინიკურად გამოხატული ლეიშმანიოზი გამოვლენულ ცხოველებში და ნიმუშების აღება-ტესტირების პროცესები

ცხრილში 10 მოცემულია თბილისსა და ქუთაისში გამოვლენული სეროდადებითი ცხოველების პროცენტული განაწილება, როგორც სახლისა და მაწანწალა ძაღლებში, ასევე თბილისის შემოგარენში მოპოვებულ გარეული ცხოველების ნიმუშებში. შედეგების მიხედვით, ცხოველებში rK39 ტესტ დადებითი შემთხვევების პროცენტული მაჩვენებელი სტატისტიკურად სარწმუნოა ($P=5.3 \times 10^{-7}$; 3-way X^2 test). ძაღლებისგან განსხვავებით გარეულ ცხოველებში ტესტ დადებითების მაჩვენებელმა 2.7% შეადგინა. მონაცემთა შემდგომმა სტატისტიკურმა ანალიზმა, რომლის დროსაც შედარებული იქნა კავშირი, სახლის ძაღლების ასაკსა და ჯიშს შორის, აჩვენა, რომ ამ ორ ცვლადს სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი გავლენა ჰქონდა ტესტის დადებით შედეგების ალბათობაზე ($P<0.001$). ცხრილი 10 განსაკუთრებით ხაზს უსვამს, რომ ძაღლების ასაკი გაცილებით მნიშვნელოვანი დეტერმინანტია ვიდრე მათი ზომა ან ჯიში, ანუ ძაღლების ასაკთან ერთად მატულობს ინფექციის მაჩვენებელიც.

ცხრილი 10. rK39 ტესტის შედეგები, სახლის, მაწანწალა ძაღლებსა და გარეულ ცხოველებში თბილისსა და მის შემოგარენში. ნაპოვნია სტატისტიკური სარწმუნოება ძაღლების ასაკს, ჯიშსა და დადებითი ტესტების პროცენტულ მაჩვენებელს შორის ($P < 0.001$; χ^2 test).

Breeds	Small			Medium			Large			Pets	Stray	Wild
	ages ≤ 1.5	ages 1.5 - 5	age > 5	ages ≤ 1.5	ages 1.5 - 5	age > 5	ages ≤ 1.5	ages 1.5 - 5	age > 5			
Total	69	84	48	75	123	56	110	137	73	775	720	77
Positive	11	23	14	11	37	20	7	37	24	184	115	2
(%)	15.9	27.4	29.2	14.7	30.1	35.7	6.4	27.0	32.9	23.7	16.0	2.6

ლეიშმანიოზის ვექტორების კვლევისას თბილისში, *Phlebotomus*-ის გვარის მოსკიტების 5 სახეობა იქნა გამოვლენილი (ცხრილი 10). მაშინ როდესაც, ქუთაისსა და ყვარლის რაიონებში ამ სახეობათაგან მხოლოდ 3, ხოლო საგარეჯოში კი 2 სახეობა იქნა დადგენილი (ცხრილი 11). თბილისში გამოვლენილი 5 სახეობიდან ყველაზე გავრცელებული (მაღალი პოულაციური რიცხოვნობით) *P. kandelakii* (მთლიანი რაოდენობის 45%) და *P. sergenti* (მთლიანი რაოდენობის 43%) აღმოჩნდა.

ცხრილი 11. *Phlebotomus*-ის გვარის მოსკიტების პროცენტული განაწილება და ინფიცირების მაჩვენებელი

Species	District #1 (Tbilisi)			District #2 (Tbilisi)			Kutaisi			Other Tbilisi		
	N	Positive	(%)	N	Positive	(%)	N	Positive	(%)	N	Positive	(%)
<i>P.(Adlerius) halepensis</i>	7	0	0.0	2	0	0.0	66	1	1.5	1	0	0.0
<i>P.(Adlerius) balcanicus</i>	7	0	0.0	3	1	33.3	86	1	1.2	3	0	0.0
<i>P.(Paraphlebotomus)sergenti</i>	28	0	0.0	94	0	0.0	2	0	0.0	34	0	0.0
<i>P.(Larrousius) wenyoni</i>	19	0	0.0	1	0	0.0	0	0	0.0	0	0	0.0
<i>P.(Larrousius) kandelakii</i>	157	9	5.7	0	0	0.0	0	0	0.0	6	0	0.0
Total	218	9	4.1	100	1	1.0	154	2	1.3	44	0	0.0

Species	Kvareli district				Sagarejo district			
	Male	Female	Positive	% of female	Male	Female	Positive	% of female
<i>P.(Adlerius) balcanicus</i>	24	29	2	6.9	10	9	0	0.0
<i>P.(Paraphlebotomus)sergenti</i>	14	22	0	0.0	0	0	0	0.0
<i>P.(Larrousius) kandelakii</i>	46	27	0	0.0	23	27	0	0.0
Total	84	78	2	2.6	33	36	0	0.0

აღსანიშნავია, რომ ინფიცირების მაჩვენებელმა *P. kandelakii*-ის სახეობებში 5.5% შეადგინა. თბილისის ცენტრალურ უბნებში (D#1), რომლებიც განლაგებულია მდინარე მტკვრის მარჯვენა (დასავლეთ) სანაპიროზე, ყველაზე გავრცელებული სახეობა *P. kandelakii*-ია (69.8%), მაშინ როდესაც მდინარე მტკვრის მარცხენა (აღმოსავლეთ) სანაპიროზე მდებარე უბნებში (D#2), 2 გამოვლენილ სახეობას შორის, ყველაზე გავრცელებული *P. sergenti* იყო (91.8%). რაც შეეხება თბილისის დანარჩენ უბნებს (D#3) იქაც *P. sergenti* (84%) აღმოჩნდა ყველაზე გავრცელებული სახეობა.

Phlebotomus -ის გვარის მოსკიტების სახეობები და მათი როლი ლეიშმანიოზის ტრანსმისიაში

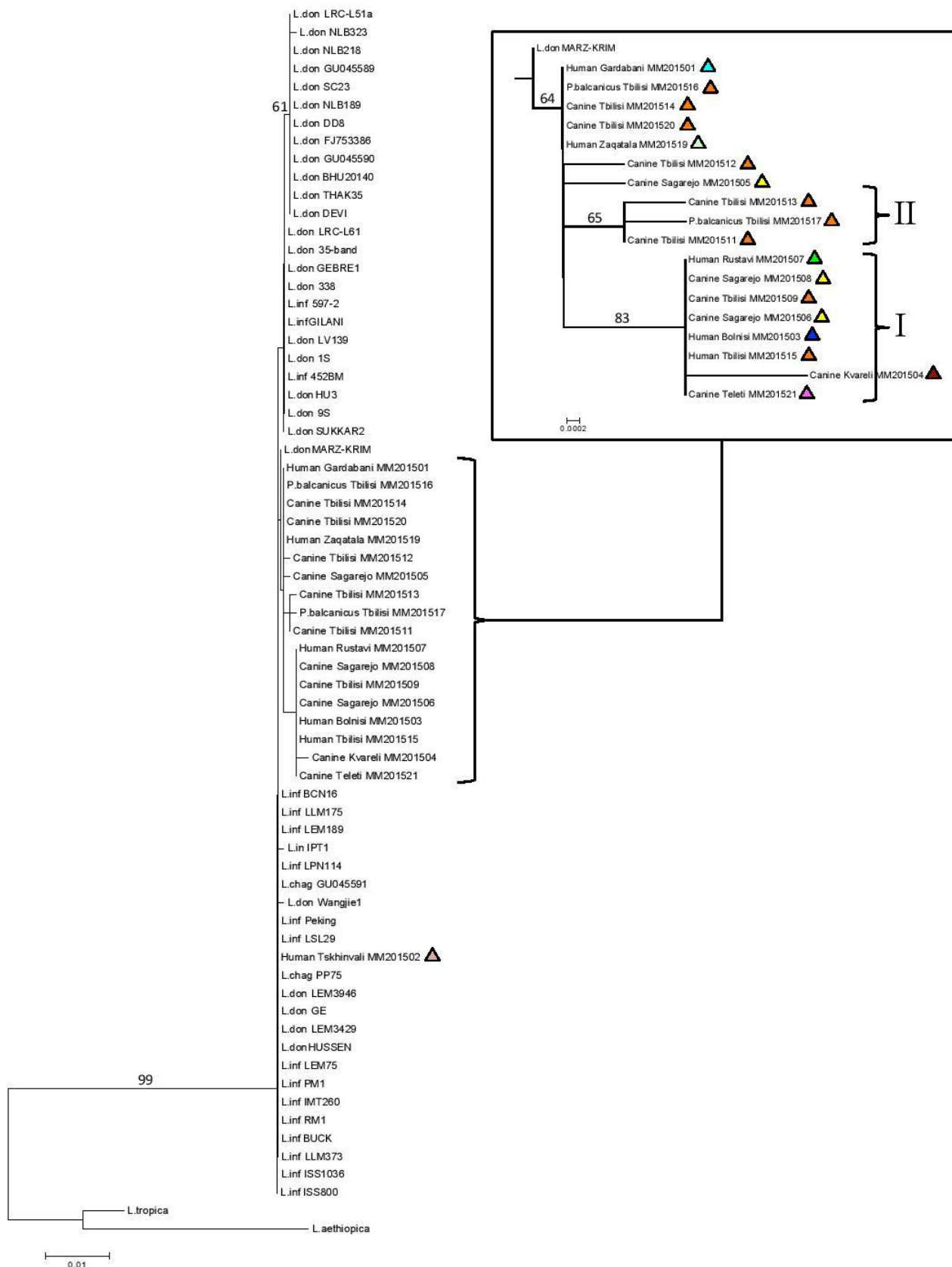
ქუთაისში, როგორც აღინიშნა სულ 3 სახეობა იქნა ნაპოვნი, რომელთაგან ყველაზე გავრცელებული *P. balcanicus* და (53.5%) *P. halepensis* (45.8%) აღმოჩნდა. ყვარლის რაიონში ნაპოვნი 3 სახეობიდან ყველაზე გავრცელებული *P. balcanicus* -ია (37.2%). რაც შეეხება საგარეჯოს რაიონს, სულ 2 სახეობა იქნა ნაპოვნი, რომელთაგან უფრო გავრცელებული *P. kandelakii* იყო (69.2%). ლეიშმანიებით დაინფიცირებული მოსკიტები ნაპოვნი იქნა თბილისში, ქუთაისსა და ყვარლის რაიონში. თბილისში მოსკიტების ინფიცირების მაჩვენებელმა 5.5%, ხოლო ქუთაისში 1.3% შეადგინა. ყვარელში იგივე მაჩვენებელი 2.6% -ია. საგარეჯოს რაიონში ლეიშმანიებით დაინფიცირებული მოსკიტები არ იქნა ნაპოვნი, რაც შესაძლოა აიხსნას კვლევის მომენტში, შეგროვილი მოსკიტების მცირე რაოდენობით.

ფილოგენეტიკა

ქართული იზოლატების, ITS1/2 უბნის სექვენირებისა და ფილოგენეტიკური ანალიზის შედეგად, დადგენილია, მათი მჭიდრო გენეტიკური კავშირები არსებულ *L. donovani*-ის კომპლექსის წარმომადგენლებთან. ანალიზის შედეგად გამოიკვეთა ერთი მონოფილეტური ჯგუფი, რომელიც შედგება იზოლატების განსხვავებული შემადგენლობისგან (სურათი 13, Group I). როგორც დენდოგრამაზეა ნაჩვენები, ჩვენს მიერ აგებულ Neighbor joining (NJ) და Maximum Likelihood (ML) ხეზე 19 დან 8 ქართული იზოლატი ერთ მონოფილეტურ ძლიერი bootstrap-ის მქონე (83 და 86%) ქვეჯგუფში განთავსდა, რომელიც ხეზე მონიშნულია, როგორც Group I (სურათი 13), ხოლო ჯგუფში (Group II) გაერთიანებულია მხოლოდ 3 იზოლატი, რომელთაც შედარებით დაბალი bootstrap-ი გააჩნიათ (65 NJ და 61% ML).

აღსანიშნავია, რომ ორივე გენეტიკურმა ჯგუფმა, შესაბამისი ფილოგენეტიკური ალგორითმის მიხედვით, ალტერნატიული ტოპოლოგიური განლაგება აჩვენა. მნიშვნელოვანია ისიც, რომ მხოლოდ II ჯგუფში განლაგებული ქართული იზოლატები იზიარებენ ITS1 -ის პოლი A ტრაქტის A28G ვარიაციას, მიუხედავად იმისა, რომ მაღალი bootstrap მხარდაჭერა არ იქნა მიღებული. აღნიშნული A28G ვარიაცია დამახასიათებელი აღმოჩნდა, მხოლოდ ამ სამი ქართული იზოლატისთვის და იგი არ გვხვდება არა მხოლოდ დანარჩენ სხვა ქართული იზოლატის სექვენსში, არამედ, დღემდე დასექვენირებულ სხვა *Leishmania*-ს შტამებშიც კი. ამასთან, სწორედ ეს სამი იზოლატი, განსხვავდება დანარჩენი ქართული იზოლატებისგან იმითაც, რომ 34 პოზიციაზე მათ გააჩნიათ თითო A ჩანართი.

ML ანალიზის მიღებული შედეგების საფუძველზე, შეგვიძლია ვთქვათ, რომ I მონოფილეტურ ქვეჯგუფში (Group I) განლაგებული ქართული იზოლატები, სხვა არა I ჯგუფში განთავსებულ იზოლატებთან პარაფილეტურ დამოკიდებულებაში იმყოფებიან, ანუ შესაძლოა, რომ მათ არ ჰყავდათ საერთო წინაპარი.



სურათი 20. *L. donovani* კომპლექსის ფილოგენეტიკური კავშირები ორნამ -ის ITS გენის სექვენირებაზე დაყრდნობით. დედნოგრამაში, თითოეულ ობოლატთან არსებული ფერადი სამკუთხედი მიუთითებს მათ გეოგრაფიულ გავრცელებას, რომელიც ნაჩვენებია სურათში 14.



სურათი 21. ქართული იზოლატების გეოგრაფიული გავრცელება

I ჯგუფში გაერთიანებულია 8 კლინიკური და ერთი ძალისგან მიღებული იზოლატი, თბილისიდან, საგარეჯოდან, რუსთავიდან, ყვარელიდან, ბოლნისიდან და თელეთიდან (BS=81), რაც მიუთითებს აღნიშნული გენოტიპის აღმოსავლეთ საქართველოში ფართო გავრცელებასა, და შესაძლოა, მათი საერთო წინაპრის არსებობაზე. რაც შეეხება II ჯგუფში (Group II) გაერთიანებულ გენეტიკურად მსგავს (მაგრამ სხვა იზოლატებისაგან განსხვავებულ) იზოლატებს, სამივე მათგანი გამოყოფილია თბილისში და ეს გენოტიპი არ გვხვდება არცერთ სხვა ქართულ იზოლატში. მიკროსატელიტურ ანალიზზე დაყრდნობით, ქართულ იზოლატებში ნაპოვნი იქნა 7 შემთხვევითი განსხვავებული უბანი (Diversity Region), DR1-7. ნუკლეოტიდური ვარიაციები მოიცავდა ერთ-ნუკლეოტიდურ პოლიმორფიზმს (SNP), რომელიც შეიცავდა ჩანართებს, დელეციებსა და მიკროსატელიტური ასლების რაოდენობრივ ვარიაციებს, რომლებიც დამახასიათებელია *L. donovani-infantum* -ის კომპლექსისათვის.

***Leishmania* -ციდური ეფექტის შეფასება**

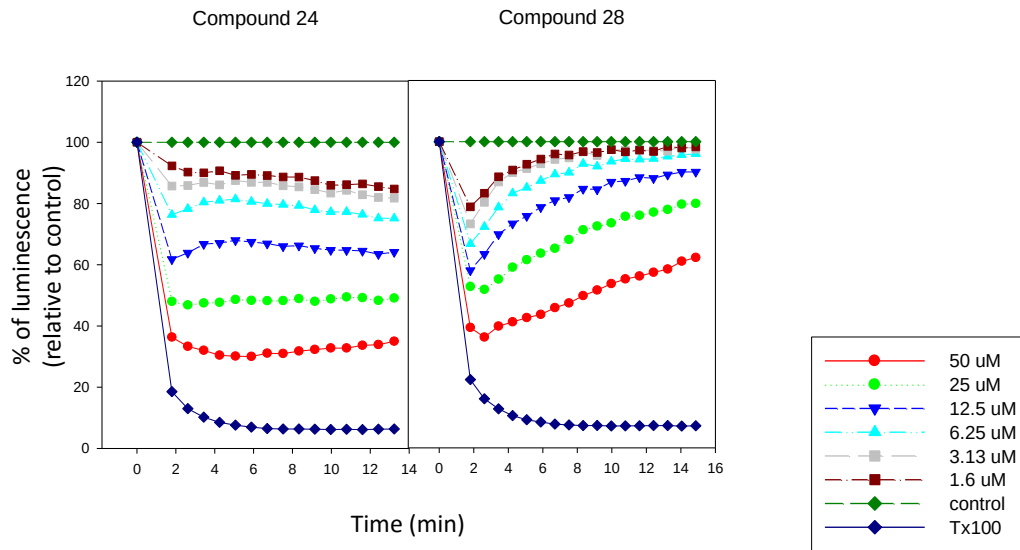
მთელი რიგი ექსპერიმენტების ჩატარების შედეგად, შერჩეულ იქნა ქიმიური ფორმულების საუკეთესო კანდიდატები (ცხრილი 11).

ცხრილი 12. *Leishmania* -ციდური და ტოქსიკურობის მაჩვენებელი

კომპონენტის #	პრომასტიგოტები <i>L. donovani</i> IC ₅₀ (μM)	ამასტიგოტები <i>L. pifanoi</i> IC ₅₀ (μM)	პერიტონეალური მაკროფაგები IC ₅₀ (μM)
1	>50	4	>50
4	>50	15	8.5
6	31	12	21.1
24	4	3.5	14.2
28	20	18	>50
32	>50	21	>25
38	>50	>50	>25
40	13.3	2.1	20
41	>50	12.4	>50
46	>50	>50	>50
47	>50	>50	>50

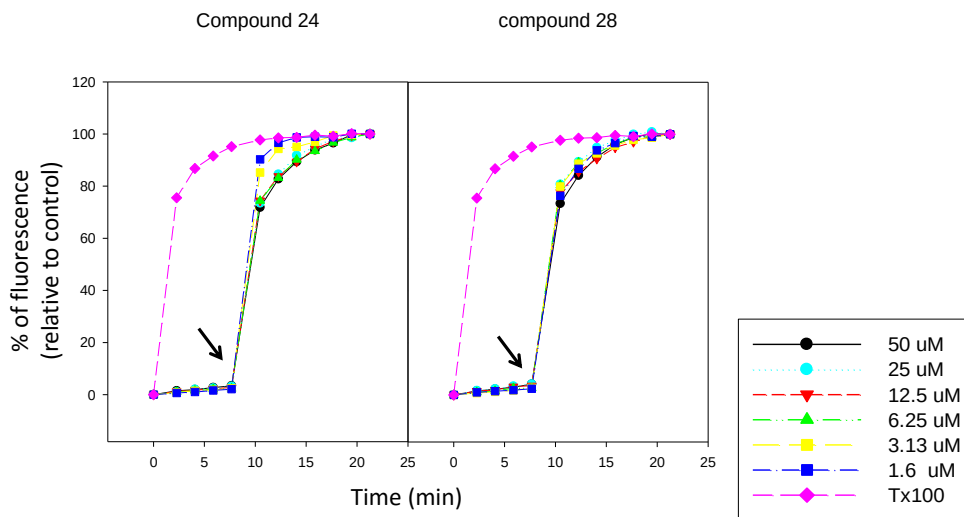
როგორც ცხრილიდან ჩანს, საცდელი კომპონენტებიდან საუკეთესო კანდიდატად შირჩა ორი მათგანი: კომპონენტი #24 და #28. პირველ რიგში შეფასებული იქნა, ახალი ქიმიური ფორმულების მიერ გამოწვეული, უჯრედშიდა თავისუფალი ატფ -ის დონის ცვლილება, რომლისთვისაც გამოყენებული იქნა *L. donovani*-ის 3-Luc პრომასტიგოტები. ამ უჯრედებში ჩაშენებული ლუციფერაზას გენი, მასზე დამატებულ DMNP-luciferin-ის სიბსტრატთან ერთად, იძლევა ფლუორესცენტულ ნათებას ატფ -დამოკიდებული ბიოლუმინესცენტური რეაქციის შედეგად, რომელიც გვიჩვენებს უჯრედშიდა

თავისუფალი ატფ -ის დონეს. ორივე კომპონენტმა გამოიწვია ლუმინესცენციის ვარდნა ცონცენტრაცია-დამოკიდებული წესის მიხედვით (სურათი 23)



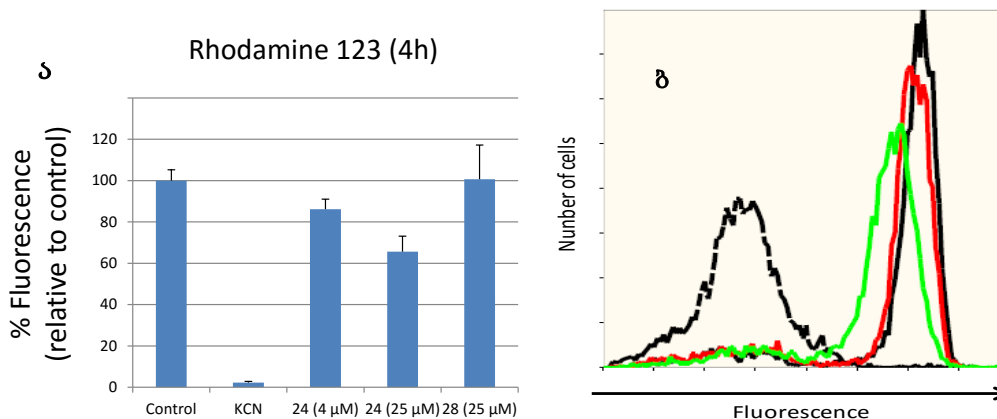
სურათი 22. კომპონენტების დამატების შედეგად გამოწვეული ლუმინესცენციის ინჰიბირება (თავისუფალი ციტოპლაზმური ატფ), 3-Luc *L. donovani* -ის პრომასტიგოტებში.

პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზაციის შესწავლისას, უჯრედებთან 4 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ, გაირკვა, რომ შერჩეულ კომპონენტებს (#24 და #28) შეეძლოთ გადაელახათ უჯრედების მემბრანული ბარიერი, მის დაუზიანებლად (სურათი 24).



სურათი 23. *L. donovani* პრომასტიგოტების პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზაცია კომპონენტებთან 4 სთ ინკუბაციის შემდეგ, SYTOX Green დამატებული იქნა ინკუბაციის ბოლოს (ისარი მიუთითებს Triton X100-ის დამატებას).

შერჩეული კომპონენტები ასევე გამოცდილი იქნა მიტოქონდრიების დეპოლარიზაციის ეფექტზე, რომელიც გაზომილი იქნა Rhodamine 123-ის გამოყენებით, ხოლო გაანალიზებული იქნა Flow cytometry-ის მეშვეობით. ამ ექსპერიმენტმა აჩვენა, რომ კომპონენტი #24 შესწევდა უნარი მოეხდინა პარაზიტული უჯრედების, მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაცია, რითაც ცვლიდა მემბრანულ პოტენციალს და შესაბამისად ამ მიზეზით იწვევდა სამიზნე უჯრედების აპოპტოზს. მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაციის ეფექტი ნაჩვენებია სურათზე 25.

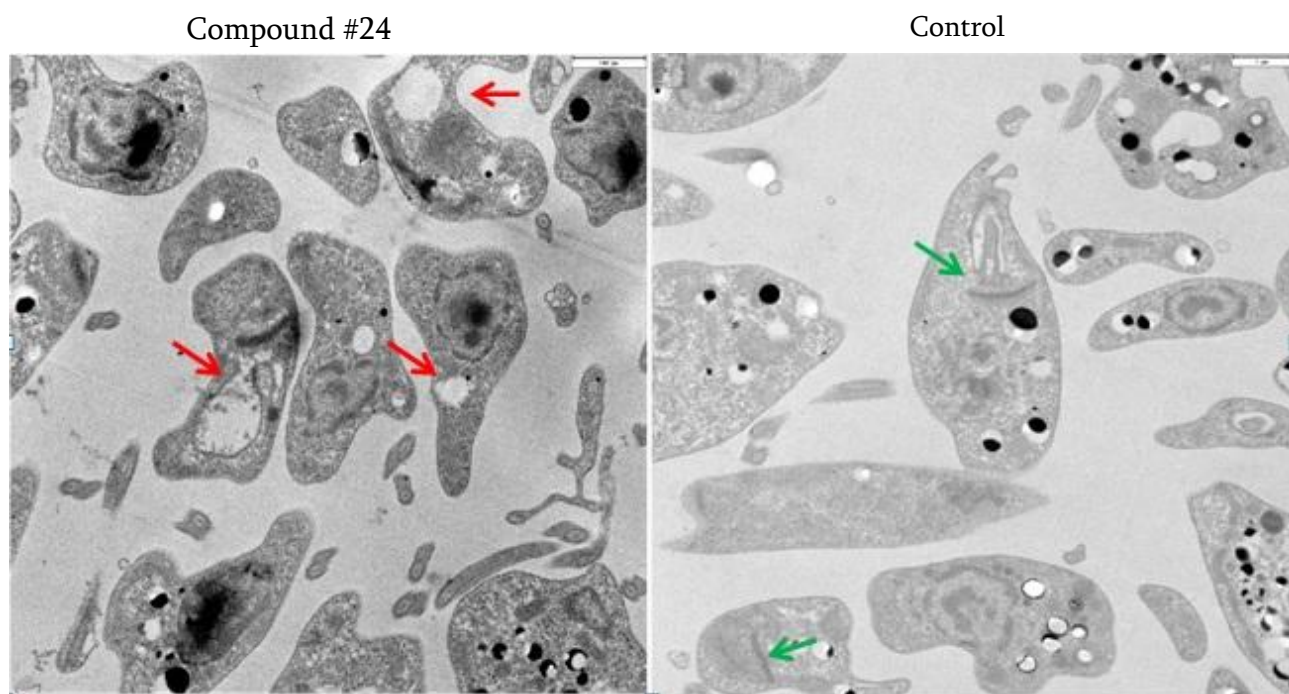


სურათი 24. ა). მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაცია, უჯრედების #24 კომპონენტთან 4 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ. უჯრედების შესაღებად გამოყენებული იქნა Rhodamine 123; ბ). მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაცია, უჯრედების Flow cytometry ჰისტოგრამა.

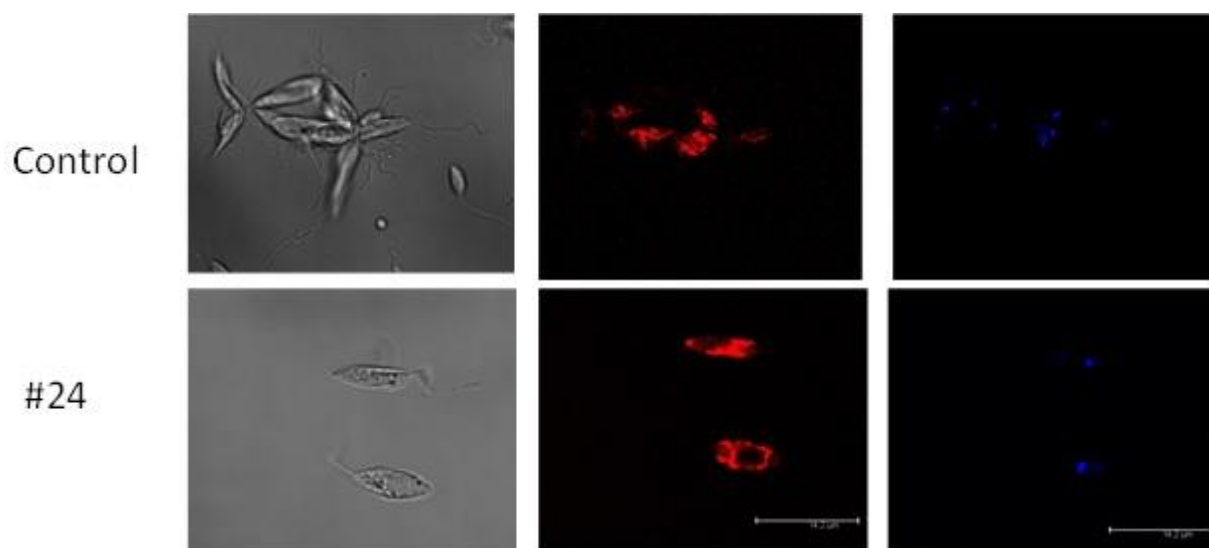
ჩატარებული ექსპერიმენტების შედეგად, საბოლოოდ შერჩეული იქნა ერთი საუკეთესო *Leishmania*-ციდური კანდიდატი; კომპონენტი #24 (ცხრილი 5). აღნიშნული კომპონენტი გამოირჩეოდა მაკროფაგების მიმართ ნაკლები ტოქსიკურობით, ხოლო პარაზიტული უჯრედების მიმართ კი პირიქით, მაღალი ტოქსიკურობით. გარდა ამისა, გარკვეული იქნა აღნიშნული კომპონენტის *Leishmania*-ციდური ეფექტი, რომელიც გამოწვეულ იყო, კომპონენტის მიერ მიტოქონდრიის დაზიანების უნარით. შესაბამისად, იმისათვის, რომ დავრწმუნებულიყავით მიღებული შედეგების სისწორეში, საჭირო გახდა მათი გადამოწმება, ელექტრონული და კონფოკალური მიკროსკოპებით.

სურათში 26 მოცემულია ელექტრონული მიკროსკოპირების შედეგები, სადაც წითელი ისრით ნაჩვენებია დაზიანებული მიტოქონდრიები, ხოლო მწვანე ისრით,

საკონტროლო უჯრედების დაუზიანებელი მიტოქონდრიები. სურათზე 27, მოცემულია კონფოკალური მიკროსკოპის შედეგები, სადაც ნათლად ჩანს კომპონენტი #24 ით დამუშავებული, პარაზიტული უჯრედების გაფართოებული (დაზიანებული) მიტოქონდრიები.

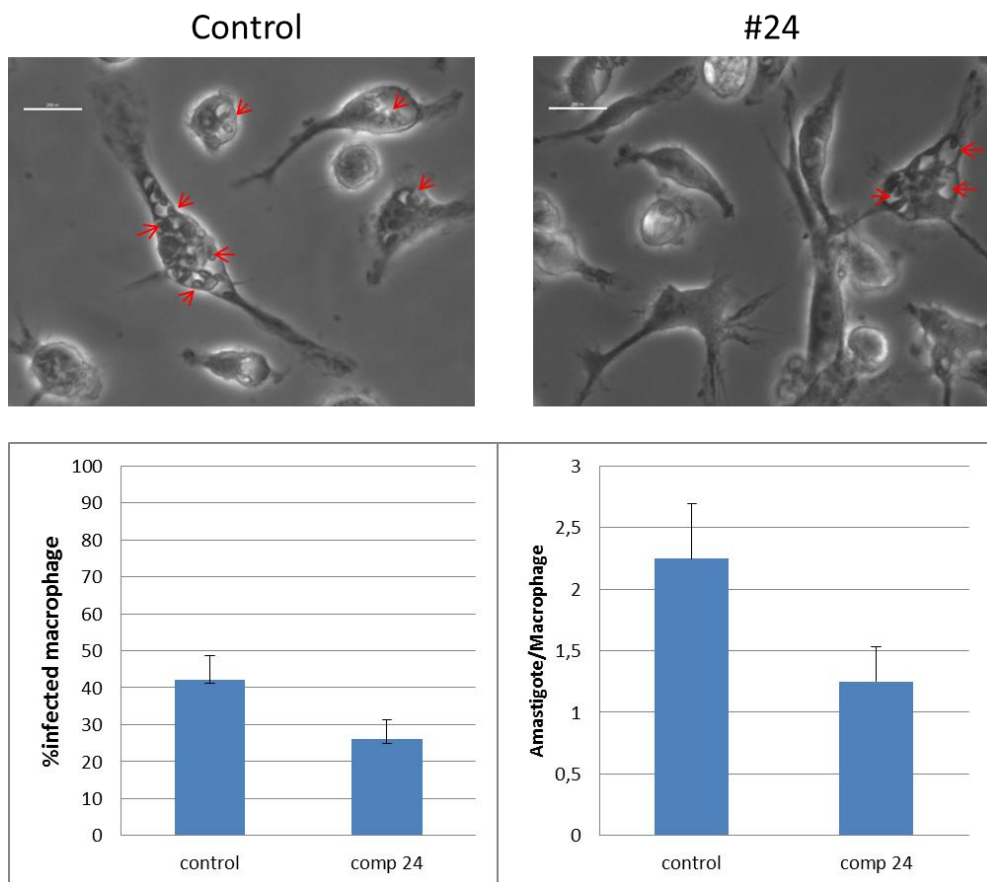


სურათი 25. მიტოქონდრიის დაზიანება *L. donovani*-ის უჯრედებში, ელექტრონული მიკროსკოპი



სურათი 26. *L. donovani* პრომასტიგოტები კომპონენტთან #24 4 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ. ინკუბაციამდე უჯრედებს დაემატა 0.05 მკმ Mitotracker Red ფლუორესცენტული საღებავი. კონფოკალური მიკროსკოპირება.

სხვა კომპონენტებს შორის, #24 საუკეთესო აღმოჩნდა ასევე პერიტონიალური მაკროფაგების, უჯრედული მემბრანის დაუზიანებლად გადალახვასა და მასში შეჭრილი ამასტიგოტების რაოდენობრივ შემცირებაში, რაც დადასტურდა კონფოკალური მიკროსკოპის მეშვეობით. სურათზე 28 ნაჩვენებია *L. pifanoi* ამასტიგოტების რაოდენობის შემცირება მაკროფაგებში 2.2 დან (მაკროფაგზე) 1.3 მდე, #24 კომპონენტთან 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ.



სურათი 27. კონფოკალური მიკროსკოპირება, *L. pifanoi* ამასტიგოტებით დასნეზოვებული, Balb/C თაგვებიდან მიღებული პერიტონელური მაკროფაგები, #24 კომპონენტთან ინკუბაციის შემდეგ. ისრები მიუთითებენ პარაზიტოფორულ ვაკუოლებში მყოფ ამასტიგოტებზე (მონაცემი წარმოდგენილია MEAN $\pm$ SE). უჯრედშიდა ინფექციის რაოდენობრივი ანალიზი.

შედეგების ინტერპრეტაცია

ჩვენს მიერ საქართველოსში პირველად განხორციელდა ვისცერული ლეიშმანიოზის მოლეკულურ-ეპიდემიოლოგიური კვლევა. კერძოდ, მოხდა დაავადების პრევალენტობის შესწავლა თბილისის, ქუთაისის, ყვარელისა და საგარეჯოს ბუნებრივ კერებში, როგორც ადამიანებში, ასევე ხერხემლიან რეზერვუარებში. შესწავლილი და განსაზღვრული იქნა ვისცერული ლეიშმანიოზის გადამტანი მწერების სახეობები და მათი ინფიცირების ხარისხი. აგრეთვე პირველად განხორციელდა *Leishmania donovani* კომპლექსის, საქართველოს სხვადასხვა რეგიონებიდან მიღებული იზოლატების, ITS გენზე დაფუძნებული გენოტიპირება. კვლევაში აღწერილია *Leishmania* -ციდური, ახალი თაობის ქიმიური ფომულების შესწავლა, როგორც პარაზიტის უჯრედგარე პრომასტიგოტებზე, ასევე შიდაუჯრედულ ამასტიგოტებზე.

ისტორიული და უახლესი კლინიკური მონაცემები გვიჩვენებენ, რომ ვისცერული ლეიშმანიოზი ძირითადად აღმოსავლეთ საქართველოშია გავრცელებული, ყველაზე მეტად კი ქვეყნის დედაქალაქში. ამ ტენდენციას ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევების შედეგებიც ეთანხმება, რომლის დროსაც მიღებული იქნა ინფექციის გავრცელების მნიშვნელოვანი სხვაობა თბილისსა და ქუთაისში. მთლიანობაში, ინფექციის პრევალენტობა, რომელიც შეფასებული იქნა LST ტესტის გამოყენებით, ორჯერ მაღალი აღმოჩნდა თბილისში, ვიდრე ქუთაისში ($P=0.0019$). ეს შედეგი სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი აღმოჩნდა ასაკობრივი ჯგუფების უმეტესობისათვის. ზოგიერთი ასაკობრივი ჯგუფისთვის, სტატისტიკურად უმნიშვნელო შედეგები მიღებული იქნა ქუთაისში, ჩატარებული ტესტების არასაკმარისი რაოდენობის გამო. ამასთან უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ LST ტესტ არ ახდენს ინფექციის ყველა შემთხვევის 100% დეტექციას, განსაკუთრებით კი ეს ეხება კლინიკურად მიმდინარე დაავადებას, რომელიც პოტენციურად ცრუ დადებით რეაქციას იძლევა. თუმცა, მიუხედავად ამისა, LST ტესტების დიდი ხნის გამოყენების პრაქტიკამ აჩვენა, რომ იგი ძალიან მცირე რაოდენობის ცრუ დადებით შედეგებს იძლევა. ტესტირების შედეგებიდან და ყოველივე ზემო-აღნიშნულიდან გამომდინარე, შეგვიძლია ვთქვათ, რომ კვლევისას მიღებული

რიცხვები, სავარაუდოდ უფრო შემცირებულია, ვიდრე გადამეტებული, ანუ ლეიშმანიოზის პრევალენტობა საქართველოში გაცილებით მაღალია, ვიდრე ამას ტესტის შედეგები აჩვენებს.

საგანგაშო ციფრები იქნა მიღებული მოსკიტებს შორის ინფექციის პროვენტული მაჩვენებლის შესახებ, რომელიც საკმაოდ მაღალი იყო როგორც ქუთაისში (1.3%), ასევე თბილისსა (2.8%) და ყვარლის რაიონებში (2.6%) (საგარეჯოს რაიონში ინფიცირებული მოკიტი არ იქნა ნაპოვნი). აღსანიშნავია გადამტანების განსხვავებული შემადგენლობაც თითოეულ საკვლევ არეალში. ამასთან, უნდა აღინიშნოს, რომ არ არსებობს არცერთი ისტორიული ჩანაწერი თუ ცნობა ქუთაისში ლეიშმანიოზის შემთხვევების ან მოსკიტების გავრცელების შესახებ, თუმცა ცნობილია, რომ მოსკიტების ბოლო კვლევა, დასავლეთ საქართველოში ჩატარებული იქნა 1956 წელს ქუთაისიდან 30 მკ-ის სამხრეთ-აღმოსავლეთით, კერძოდ ზესტაფონის რაიონის სოფელ ზედა საქარაში (Lemer MK, 1956, Sand flies in Western Georgia). ხმელთაშუაზღვის ლეიშმანიოზისთვის, პამპიგლიონეს (Pampiglione) მოდელის გამოყენებით (Pampiglione S et al. 1975; Michel G, 2001), ქუთაისში, დაბალი სეროდადებითი შედეგები გამოიკვეთა 15-24 და 25-59 ასაკობრივ ჯგუფებში 1-4 და 10-14 ასაკობრივ ჯგუფებთან შედარებით, რაც ადასტურებს თეორიას, რომ აღნიშნული კერა შედარებით ახალგაზრდაა, რადგანაც ძველ კერებში, ასაკთან ერთად მატულობს დადებით ტესტების რაოდენობაც.

თბილისში მაღალი პრევალენტობა LST დადებით სუბიექტებში დაფიქსირებული იქნა მდინარე მტკვრის მარჯვენა სანაპიროზე, ქალაქის ცენტრალურ ნაწილში (D#1). თბილისში, ზრდასრულ ქალებთან შედარებით ზრდასრულ მამაკაცებში მაღალი LST პრევალენტობა შესაძლოა აიხსნას მათი უფრო ხშირი კონტაქტით გადამტან მწერებთან, რაც განპირობებულია სოციალური ქცევის თავისებურებებით.

ისევე, როგორც ხვა ქვეყნებში ჩატარებულმა მსგავსმა კვლევებმა აჩვენეს (Martí 'n-Sa 'nchez J, et al. 2009), რომ სახლის ძაღლებში სეროდადებითობა პირდაპირპროპორციული იყო მათ ასაკთან მიმართებაში. სეროპრევალენტობა ასევე მაღალი იყო მაწანწალა ძაღლებშიც, თუმცა გაცილებით ნაკლები, ვიდრე სახლის

მაღლებში ($P=0.00017$), რაც მიუთითებს პარაზიტების გადაცემის შიდა ციკლზე. აქედან გამომდინარე, მაწანწალა მაღლებში შედარებით დაბალი სეროპრევალენტობა განპირობებულია მათი ხშირი მიგრაციით, თუმცა აღნიშნული ფაქტი ხელს უწყობს ინფექციის გავრცელებას სხვა უბნებშიც, თუ კი ხელსაყრელი პირობები არსებობს (გადამტანი, დაავადებული რეზერვუარი/მასპინძელი).

გარეულ ცხოველებში დაავადების გავრცელება იმდენად დაბალია, რომ ლეიშმანიოზით დაავადებული ასეთი ცხოველები (მელა, ტურა) არ წარმოადგენენ პოტენციურ გამავრცელებლებს მათ ეკოლოგიურ ნიშასთან ახლო მდებარე ურბანულ დასახლებებში. ამასთან, შესაძლოა ვივარაუდოთ, რომ ბუნებრივი გადარჩევის პროცესში, დაავადებული ცხოველები სწრაფად გაიცხრილებიან, რაც გამოორიცხავს, დროებით კერებში დაავადების ფართო არეალებზე გავრცელებას.

ჩვენს მიერ, სხვადასხვა გეოგრაფიული არეალიდან მოპოვებული ქართული და 1 აზერბაიჯანული (ზაქათალა) *Leishmania* იზოლატების, ITS გენის გენოტიპირების შედეგად, ნაპოვნი იქნა ორი მნიშვნელოვანი განმასხვავებელი უბანი ITS2 -ში (Distinguished Residue) DR6 და DR7. ITS2 გენის ამ უბნებში ნაპოვნი ეს ცვლილებები მთლიანად უნიკალური აღმოჩნდა ჩვენს მიერ შესწავლილი ქართული და ერთი აზერბაიჯანული იზოლატებისთვის, რასაც არ იზიარებს, დღემდე დასექვენირებული და საერთაშორისო გენბანკის მონაცემთა ბაზაში წარმოდგენილი არცერთი შტამი. წარმოდგენილი მოლეკულური კვლევის შედეგები, რომელიც მოცემულია ფილოგენეტიკურ ხეზე (სურათი 13), გვიჩვენებს, რომ თბილისსა და საქართველოს ლეიშმანიოზის სხვა ბუნებრივ კერებში, როგორც ადამიანებში, ასევე ხერხემლიან რეზერვუარებში, ლეიშმანიოზის ინფექციის წყაროს, *L. donovani* კომპლექსის გენეტიკურად მრავალფეროვანი ქვეტიპები წარმოადგენენ.

ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა, არომატული კეტონების - ჩალკონების (Chalcones) ჯგუფის *Leishmania* -ციდური 49 ახალი ფორმულა (ცხრილი-5), რომლის დამკვეთიც ერთ-ერთი ესპანური ფარმაცევტული კომპანია იყო. მთელმა რიგმა ექსპერიმენტებმა საშუალება მოგვცა გამოგვევლინა ერთ-ერთი საუკეთესო კანდიდატი SG-102 #24,

რომელმაც საუკეთესო შედეგი აჩვენა ციტოტოქსიურობაზე, პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზაციასა და მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაციაზე. აღნიშნული ქიმიური კომპონენტს შესწევს უნარი თავისაუფლად გადალახოს მაკროფაგული უჯრედის მემბრანა, ისე, რომ არ გამოიწვიოს ამ უკანასკნელის დაზიანება. ასეთვე წარმატებით ახერხებს იგი მაკროფაგებში ლოკალიზებული *Leishmania* ამასტიგოტებში შეღწევას, სადაც იწვევს მათ აპოპტოზს, პარაზიტული უჯრედების, მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაციის შედეგად. ამ შედეგებზე დაყრდნობით, შეიძლება ითქვას, რომ, ჩვენს მიერ შერჩეული ქიმიური ფორმულა, სამომავლოდ გამოყენებული იქნება, როგორც ახალი თაობის პრეპარატი ვისცერული ლეიშმანიოზის სამკურნალოდ. მიღებული შედეგები გადაეცა დამკვეთ ფარმაცევტულ კომანიას.

დასკვნები

1. თბილისი წარმოადგენს ლეიშმანიოზის აქტიურ კერას, სადაც ინფექციის პრევალენტობა მაღალია, როგორც რეზერვუარებში, ასევე ადამიანებშიც. ასევე შეინიშნება დაავადების ქვეყნის აღმოსავლეთიდან დასავლეთის მიმართულებით გავრცელების ტენდენცია.

2. ლეიშმანიოზის გადამტან მწერებს შორის დაინფიცირების ხარისხის მაჩვენებელი მაღალია ყველა გამოკვლეულ რეგიონში, რაც ერთ-ერთი მთავარი რისკფაქტორია დაავადების გავრცელებაში. დაავადების გადაცემის რისკს აძლიერებს აგრეთვე ლეიშმანიოზის კერებში არსებული მიკროკლიმატი.

3. საქართველოში ვისცერული ლეიშმანიოზი წარმოადგენს საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის მნიშვნელოვან პრობლემას და მოსახლეობის დიდი ნაწილი, (განსაკუთრებით კი 1-4 წლამდე ასაკობრივი ჯგუფი) ვისცერული ლეიშმანიოზით დაავადების მაღალი რისკის ქვეშ იმყოფება.

4. ადგილობრივ იზოლატებზე პირველად ჩატარდა გენოტიპირება ITS გენის მიხედვით. სხვადასხვა გეოგრაფიული არეალიდან მოპოვებული ქართული და 1 აზერბაიჯანული (ზაქათალა) *Leishmania* იზოლატების, ITS გენის გენოტიპირების შედეგად, მიღებული იქნა ორი მონოფილეტური ჯგუფი, რომლებიდანაც, განსაკუთრებით I ჯგუფი ფილოგენეტიკურად უნიკალური აღმოჩნდა, რასაც განაპირობებს ორი მნიშვნელოვანი განმასხვავებელი უბანი ITS2 გენში (Distinguished Residue) DR6 და DR7. ITS2 გენის ამ უბნებში არსებული ეს ცვლილებები მთლიანად უნიკალურია ჩვენს მიერ შესწავლილი ქართული და ერთი აზერბაიჯანული იზოლატებისთვის და არ გვხვდება *L. donovani* კომპლექსის არც ერთ სხვა შტამში.

5. მიღებული მონაცემები სრულყოფილ წარმოდგენას იძლევიან, ამ პათოგენის გენეტიკურ სტრუქტურაზე ევროპისა და აზიის გასაყარზე მყოფ გეოგრაფიულ არეალში, რაც მნიშვნელოვან როლს ითამაშებს მომავალ კვლევებში, რომლებიც პათოგენის ქვეტიპების რეგიონალურ დახასიათებასა და დაავადების ეპიდემიოლოგიაზე გავლენის შესწავლაზე იქნება მიმართული.

6. დღეისათვის მსოფლიოში ვისცერული ლეიშმანიოზის მხრივ მთავარ პრობლემას, უსაფრთხო სამკურნალო წამლების დეფიციტი და მათ მიმართ არსებული რეზისტენტობა წარმოადგენს. მოპოვებულ მონაცემებს გარკვეული მნიშვნელობა ექნება ვისცერული ლეიშმანიოზის სამკურნალო ახალი, ადამიანისთვის ნაკლებ უსაფრთხო, არომატული კეტონების ჯგუფის, ქიმიური ფორმულის ვალიდაციაში.

აბსტრაქტი

XIX საუკუნის მიწურულს (1884-1891) კუნინგჰემმა (Cunningham), ბოროვსკიმ (Borovsky), დონოვანმა (Donovan), რაითმა (Wright), ლინდერბერგმა (Linderberg) და ვიანამ (Vianna) ერთმანეთისგან დამუკიდებლად აღმოაჩინეს ლეიშმანიოზის გამომწვევი პარაზიტი, რომელსაც როსმა (Ross) მიანიჭა გვარობრივი სახელი „ლეიშმანია“ (*Leishmania*). აღნიშნული სახელი როსმა შემოიღო ბრიტანელი მეცნიერის, ქირურგის უილიამ ბუგ ლეიშმანის – W. B. Leishman (1865–1926) საპატივცემულოდ, რომელმაც პირველმა გამოყო ლეიშმანიოზის გამომწვევის შტამი 1901 წელს

1904 წელს კათოირმა (Cathoire) და ლევერანმა (Leveran) *Leishmania* აღმოაჩინეს ახალშობილ ბავშვებში, თანდაყოლილი ელენთის ანემიით, რომელსაც ნიკოლმა (Nicolle) ლეიშმანია ინფანტუმი - *L. infantum* უწოდა. მის მირვე 1908 წელს ტუნისში, დადგენილი იქნა, რომ ამ დაავადების რეზერვუარებს ძაღლები წარმოადგენდნენ. მოგვიანებით 1922 წელს ინდოელმა მეცნიერმა ბრაჰმაჩარიმ (Brahmachari) პირველმა აღწერა პოსტ-კალა-აზარული-დერმატული ლეიშმანიოზი ინდოეთში. ლეიშმანიოზების გადატანის აღმოჩენაში, რომლებსაც ფლემბოტომუსის (*Phlebotomus*) გვარის მწერები - მოსკიტების წარმოადგენენ, მნიშვნელოვანი წვლილი მიუძღვით ავამინატს, შორტსა და ანდერსონს ონდოეთში (Awaminath, Shortt and Anderson), ხოლო ადლერსა და ბერს (Adler and Ber) პალესტინაში.

ლეიშმანიოზის სახეობების გენეტიკის შესწავლა შესაძლებელი გახდა 1980 -ანი წლების დასაწყისში, დნმ -ჰიბრიდიზაციის მეთოდის გამოგონების შემდეგ.

ლეიშმანიოზები ადამიანის ტრანსმისიულ დაავადებათა ჯგუფს განეკუთვნებიან, რომლებიც უმეტესად ზოონოზური ბუნებისაა და რომლის მასობრივი გავრცელება განისაზღვრება როგორც ბუნებრივი ისე სოციალური ფაქტორებით. „ლეიშმანიოზების სახელწოდების ქვეშ გაერთიანებულია დაავადებათა ჯგუფი, რომელთაგან ზოგი ანთროპონოზურ დაავადებას წარმოადგენს, ზოგი ზოონოზურს და ზოგიც ანთროპონოზურ-ზოონოზურს

ჯანმრთელობის მსოფლიო ორგანიზაციის მონაცემებით, დაავადებათა ეს ჯგუფი გავრცელებულია მსოფლიოს 98 ქვეყანაში, მათ შორის საქართველოშიც და დაახლოებით 310 მილიონი ადამიანი იმყოფება დაავადების რისკ ქვეშ. მთელი მსოფლიოს მასშტაბით, ყოველწლიურად ლეიშმანიოზის დაახლოებით 3 მილიონი ახალი შემთხვევა რეგისტრირდება, მათ შორის დაახლოებით 20 000 ლეტალურად მთავრდება. ლეიშმანიოზს ტროპიკულ პათოლოგიათა შორის ერთ-ერთი მთავარი ადგილი უჭირავს.

ლეიშმანიოზის თითოეული ფორმა ძუძუმწოვარ რეზერვუართა მრავალფეროვნებით ხასიათდება, რომელთაც ძირითადად ძაღლისებრთა და მღრნელისებრთა ოჯახები წარმოადგენენ. მრავალფეროვანია დაავადების გადამტანთა სახეობებიც, რომელთა გავრცელებადობა განისაზღვრება გეომორფოლოგიური, კლიმატური და ლანდშაფტური თავისებურებებით

ლეიშმანიოზებისათვის დამახასიათებელია კლინიკური ფორმების დიდი მმრავალფეროვნება, რომელებიც თავიანთი სპეციფიური ეპიდემიოლოგიური თავისებურებებით ახასიათდებიან და რომელებიც სპეციფიურ მკურნალობასა თუ პროფილაქტიკას საჭიროებენ. ეს უკანასკნელი დაფუძნებულია მედიკამენტოზურ მკურნალობაზე (ვაქცინა ამ დაავადებისათვის დღესდღეისობით არ არსებობს).

ლეიშმანიების საციცოცხლო ციკლი მიმდინარეობს მასპინძელთა ცვალებადობით: ხერხემლიანი ცხოველები, ადამიანი და მოსკიტები (*Diptera:Psychodidae; Phlebotominae*). მოსკიტები პატარა, 1,2–3,7 სმ სიგრძის ორფრთიანი მწერებია. მათი დასნებოვნება *Leishmania* ამასტიგოტებით ხდება ხერხემლიან ცხოველზე სისხლით კვებისას.

ვისცერულ ლეიშმანიოზს იწვევენ *L. donovani* – *L. infantum*-ის კომპლექსის პარაზიტები, უპირატესად - *L. infantum*. გადამტანი მოსკიტის კბენიდან რამდენიმე დღის შემდეგ, კანზე ფორმირდება ჰისტოციტომა, რომელიც შედგება მაკროფაგების, რეტიკულური, ეპითელური, გიგანტური და სხვა უჯრედებისგან (ე. წ. პირველადი აფექტი). შემდეგ იწყება პროცესის გენერალიზება.

პირველად საქართველოში და ქავკასიის რეგიონში, ლეიშმანიოზის შემთხვევა 1913 წელს, კახეთში, ლაგოდეხის რაიონში, საქართველო-აზერბაიჯანის სასაზღვრო ჯარის

ნაწილში დაფიქსირდა (Chubabria et al. 2003). მას შემდეგ აღმოსავლეთ საქართველოს ტერიტორიაზე ლეიშმანიოზის რამდენიმე დიდ აფეთქებასა და მთელ რიგ სპორადულ შემთხვევებს ჰქონდა ადგილი. მათ შორის უნდა აღინიშნოს ვისცერული ლეიშმანიოზის 1954 წლის პირველი მასშტაბური აფეთქება კახეთისა და შიდა ქართლის 6 რაიონს/ქალაქსა და 164 სოფელში, რომლის დროსაც 540 შემთხვევა იქნა გამოვლენილი. დაავადება თანდათან გავრცელდა კახეთის დასავლეთით და 1990 წელს თბილისში ლეიშმანიოზის პირველი სპორადული შემთხვევები დაფიქსირდა.

1960 -ან წლებში „საქართველოს საბჭოთა რესპუბლიკის“ მთლიან ტერიტორიაზე, ჩატარებულმა მალარიის გადამტანი კოლოების წინააღმდეგ მიმართულმა პროფილაქტიკურმა ღონისძიებებმა, რომელთა შორის იყო ქიმიური ინსექტიციდ/პესტიციდის დდტ -ს (dichlorodiphenyltrichloroethane -DDT) მასიური ქაფრქვევა, სავარაუდოდ დიდი გავლენა იქონია, ვისცერული ლეიშმანიოზის ვექტორების, პოპულაციური რიცხოვნობისა და დაავადების შემთხვევების შემცირებაზე, ასეულებიდან სპორადულამდე. მხოლოდ 40 წლის შემდეგ -1990 წელს, ვისცერულმა ლეიშმანიოზმა ისევ იჩინა თავი და რამოდენიმე სპორადული შემთხვევა კახეთის რეგიონში დაფიქსირდა. შემდგომ წლებში დაავადება გავრცელდა თბილისის მიმართულებით, სადაც 1990 წელს პირველი შემთხვევა იქნა დარეგისტრირებული. ასევე აღსანიშნავია, რომ 2008 წელს, პირველი 2 შემთხვევა დაფიქსირდა ვისცერული ლეიშმანიოზის კო ინფექცია აივ-პაციენტებში.

ასევე საინტერესოა ის ფაქტი, რომ 2007 წელს პირველად დასავლეთ საქართველოში, ქუთაისში დაფიქსირდა ლეიშმანიოზის პირველი შემთხვევა (Babuadze et al 2014). საინტერესოა, რომ 2007 წლამდე დასავლეთ საქართველოში ვისცერული ლეიშმანიოზის არცერთი შემთხვევა არ ყოფილა რეგისტრირებული. შესაბამისად, ამ რეგიონში არასოდეს ჩატარებულა სავსე სამუშაოები და არ ყოფილა დადგენილი ვექტორებისა და რეზერვუარების შესაძლო რგოლები.

დღეისათვის, საქართველოში ყოველწლიურად, ვისცერული ლეიშმანიოზის 100-200 შემთხვევა რეგისტრირდება, მ. შ. ზოგიერთი ლეტალური გამოსავლით (დესჯეც -ის

ოფიციალური სტატისტიკური მონაცემები). დაავადების ძირითადი წილი 1 დან 4 წლამდე ბავშვებშია გავრცელებული. თუმცა, ბოლო 7 წლის მანძილზე, დადასტურებულ შემთხვევათა მეტი წილი მოზრდილ ადამიანებზე მოდის (დკსჯეც -ის ოფიციალური სტატისტიკური მონაცემები). ბოლო 15 წლის (2005-2015) განმავლობაში, საქართველოში ვისცერული ლეიშმანიოზის 2370 შემთხვევა დაფიქსირდა, აქედან 1228 შემთხვევა თბილისში იქნა რეგისტრირებული.

კვლევის მიზანი

ადამიანებსა და ხერხემლიან რეზერვუარებში ვისცერული ლეიშმანიოზის ინფექციის სეროპრევალენტობის განსაზღვრა, გადამტანების ბიოლოგიისა და დაავადების ტრანსმისიაში მათი როლის შესწავლა, მოცირკულირე *Leishmania* -ს სახეობის იდენტიფიკაცია, ასევე მოპოვებული იზოლატების (ცხრილი -4) მოლეკულური ტიპირება, მათი ეპიდემიოლოგიური დაჯგუფება, გლობალურ ფილოგენეტიკურ ხეზე განთავსება, და ასევე საქართველოში მოცირკულირე შტამების საერთო მონაცემთა ბაზის შექმნა მოცემული სამუშაოს უმთავრეს ამოცანას წარმოადგენდა; ამას გარდა, საჭირო იყო სწრაფი გენოტიპირების მეთოდის შემუშავება, რომელიც შესაძლებელს გახდიდა ახლად იზოლირებული *Leishmania* -ს სახეობების, გენეტიკური კავშირების დადგენას.

მოცემული ნაშრომის ერთ-ერთ ძირითად მიზანს, ესპანეთის ერთ-ერთი საერთაშორისო ფარმაცევტული კომპანიის მიერ მოწოდებული, ახალი წამლების გამოცდა წარმოადგენდა. კერძოდ, ჩვენს მიერ შესაწავლილი იქნა, არომატული კეტონების - ჩალკონების (Chalcones) ჯგუფის *Leishmania* -ციდური 49 ახალი ფორმულა (ცხრილი-5), ციტოტოქსიურობაზე, პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზაციასა და მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაციაზე.

კვლევის მეთოდები

მოსახლეობაში სეროპრევალენტობის შესავლის მიზნით ჩატარებული იქნა LST ტესტირება თბილისსა და ქუთაისში, ხოლო საგარეჯოსა და ყვარლის რაიონებში კი ამ მიზნით გამოყენებული იქნა rK39 სწრაფი, იმუნოქრომატოგრაფიული ტესტი. სახლისა და მაწანწალა ძაღლებში, ასევე გარეულ ცხოველებში (მელა, ტურა) სეროპრევალენტობის განსაზღვრის მიზნით გამოყენებული იქნა rK39 სწრაფი ტესტი ძაღლებისათვის (rK39 rapid test for Canids).

ვისცერული ლეიშმანიოზის ვექტორების -მოსკიტების შეგროვება განხორციელდა CDC მინიატურული, სტანდარტული სინათლის ხაფანგების შვეობით. მოსკიტების ინფიცირება შესწავლილ იქნა მიკროსკოპითა და ბუდობრივი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეშვეობით.

რიბოსომული დნმ -ის შიდა ტრანსკრიპციული უბნის გენის ITS1/2 სექვენირებისათვის, წინასწარ შერჩეული იქნა 19 იზოლატი, რომელთაგან 18 შეგროვილი იქნა საქართველოს სახვადასხვა ტერიტორიაზე, ხოლო ერთი მათგანი კი აზერბაიჯანის ტერიტორიაზე, კერძოდ ზაქათალას დასახლებიდან.

ამ მიზნით გამოყენებული იქნა სექვენირება სანგერის მეთოდით, რომლის დროსაც მთლიანი ITS უბნის დაახლოებით 1030 bp თანმიმდევრობა იქნა მიღებული. მიღებული მონაცემების პროგრამული დამუშავება და კონტიგების აწყობა ხდებოდა Sequencher 5.0 ში, ხოლო მიკროსატელიტების ანალიზი და ფილოგენეტიკური ხის აწყობა მოხდა MEGA 6 პროგრამის მეშვეობით. სულ მოხდა 19 ქართული იზოლატის რნმ -ის ITS1 და ITS2 სექვენსის აწყობა, პროგრამული დამუშავება და გენეტიკური მანძილების გამოთვლა ხორციელდებოდა MEGA 6 პროგრამის მეშვეობით (Jukes TH, Cantor CR. Evolution of protein molecules). რნმ -ის ITS1 და ITS2 უბნების სექვენსები მიღებული იქნა ცალკეული ამ უბნისთვის შექმნილი პრაიმერების მეშვეობით. NCBI გენ ბანკის ბაზაში, ბლასტ (BLAST) ოფციის გამოყენებით, შერჩეულ იქნა 51 სექვენსი, რომლებიც საუკეთესო კანდიდატები აღმოჩნდნენ ქართულ იზოლატებთან, ძირითადი მსგავსების კრიტერიუმის მიხედვით. გენეტიკური კავშირების დადგენის მიზნით, Akaike

Information (AIC) და Bayesian Information (BIC) შემფასებელი კრიტერიუმების გამოყენებით, საუკეთესო მოდელად შერჩეულ იქნა ML ალგორითმი. ამავე შემფასებელი კრიტერიუმების მიერ, შერჩეულ იქნა JC მოდელი. უბნებს შორის, სექვენსის ვარიაციების სისწრაფის არაერთგვაროვნება, გამოთვლილ იქნა დისკრეტული გამა განაწილების მეთოდის მეშვეობით (Gamma distribution (+G)). ცალცალკე დასექვენირებული ITS1 და ITS2 უბნების, ნუკლეოტიდებზე დაფუძნებული ფილოგენეტიკური ანალიზი, ჩატარდა Neighbor joining (NJ) და Maximum Likelihood (ML) მეთოდების ალგორითმების და ბუტსტრაპის (bootstrap) მეთოდის (1000 რეპლიკა) გამოყენებით (Kuhls K, et al. 2005). უბნებს-შორისი ვარიაციები მოდელირებულ იქნა გამა განაწილების მეშვეობით (Gamma distribution shape parameter = 1) წყვეტილი უბნების ნაწილობრივი დელეციით. ანალიზი სულ მოიცავდა 68 ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობას.

ჩალკონების *Leishmania* -ციდური მოქმედების შესაფასებლად, ჩატარდა მონიტორინგი პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზაციისა და პარაზიტის ბიოენერგეტიკულ პარამეტრებზე. აგრეთვე განხორციელდა მოხდა პარაზიტის უჯრედის, სტრუქტურული დაზიანების ვიზუალიზაცია, კონფოკალური და ელექტრომიკროსკოპის მეშვეობით.

მიღებული შედეგები /ინტერპრეტაცია

ვისცერული ლეიშმანიოზის პრევალენტობა თბილისის ქუთაისისა და კახეთის რეგიონის მოსახლეობაში, LST და rK39 ტესტირების მიხედვით

ისტორიული და უახლესი კლინიკური მონაცემები გვიჩვენებენ, რომ ვისცერული ლეიშმანიოზი ძირითადად აღმოსავლეთ საქართველოშია გავრცელებული, ყველაზე მეტად კი ქვეყნის დედაქალაქში. ამ ტენდენციას ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევების შედეგებიც ეთანხმება, რომლის დროსაც მიღებული იქნა ინფექციის გავრცელების მნიშვნელოვანი სხვაობა თბილისსა და ქუთაისში. მთლიანობაში, ინფექციის პრევალენტობა, რომელიც შეფასებული იქნა LST ტესტის გამოყენებით, ორჯერ მაღალი აღმოჩნდა თბილისში, ვიდრე ქუთაისში ($P=0.0019$). ეს შედეგი სტატისტიკურად

მნიშვნელოვანი აღმოჩნდა ასაკობრივი ჯგუფების უმეტესობისათვის. ზოგიერთი ასაკობრივი ჯგუფისთვის, სტატისტიკურად უმნიშვნელო შედეგები მიღებული იქნა ქუთაისში, ჩატარებული ტესტების არასაკმარისი რაოდენობის გამო. ყვარლისა და საგარეჯოს რაიონებში 513 გამოკვლეული ადამიანიდან, გამოვლენილი იქნა 7 rK39 ტესტ დადებითი ინდივიდუმი, მსუბუქი სიმპტომებით მიმდინარე ინფექციით. აღნიშნული ფაქტიდან გამომდინარე მიგვაჩნია, რომ შემთხვევების აქტიური გამოვლინება აუცილებელია, იმისათვის, რომ თავიდან იქნას აცილებული დაავადების შემდგომი გავრცელება.

სეროპრევალენტობა რეზერვუარებში

ძუძუმწოვარ რეზერვუარებში ლეიშმანიოზის სეროპრევალენტობის შესწავლის მიზნით სულ გამოკვლეული იქნა 2171 სახლისა და მაწანწალა ძაღლი. ასევე 77 გარეული ცხოველი (ტურა, მელა). კვლევისათვის გამოყენებული იქნა rK39 იმუნოქრომატოგრაფიული სწრაფი ტესტები. რაც მიუთითებს პარაზიტების გადამცემის შიდა ციკლზე. აქედან გამომდინარე, მაწანწალა ძაღლებში შედარებით დაბალი სეროპრევალენტობა განპირობებულია მათი ხშირი მიგრაციით. აღნიშნული ფაქტი ხელს უწყობს ინფექციის გავრცელებას სხვა უბნებშიც, თუ კი ხელსაყრელი პირობები არსებობს (გადამტანი, დაავადებული რეზერვუარი/მასპინძელი).

გარეულ ცხოველებში დაავადების გავრცელება იმდენად დაბალია, რომ ლეიშმანიოზით დაავადებული ასეთი ცხოველები (მელა, ტურა) არ წარმოადგენენ პოტენციურ გამავრცელებლებს მათ ეკოლოგიურ ნიშასთან ახლო მდებარე ურბანულ დასახლებებში. ამასთან, შესაძლოა ვივარაუდოთ, რომ ბუნებრივი გადარჩევის პროცესში, დაავადებული ცხოველები სწრაფად გაიცხრილებიან, რაც გამორიცხავს, დროებით კერებში დაავადების ფართო არეალებზე გავრცელებას.

ვექტორების შესწავლა

კვლევის არეალში, ჩვენს მიერ დადგენილი იქნა ფლემბოტომუსების 5 სახეობა (*P. kandelakii*, *P. sergenti*, *P. balcanicus*, *P. halepensis* and *P. wenyoni*). ხანგრძლივმა დაკვირვებებმა აჩვენეს, რომ საქართველოში მოსკიტების სეზონი იწყება ივნისის ბოლო კვირას ან ადრე ივლისის თვეში და მთავრდება სექტემბრის შუა რიცხვებში. მოსკიტების პოპულაციური რიცხოვნობის მაღალი პიკი დაფიქსირდა ივლისის შუა რიცხვებში, რომელიც კლებას იწყებს აგვისტოს თვის მეორე ნახევარში. აღსანიშნავია, რომ მოსკიტების რიცხოვნობა დამოკიდებულია კლიმატურ და გარემო პირობებზე.

ფილოგენეტიკა

ჩვენს მიერ, სხვადასხვა გეოგრაფიული არეალიდან მოპოვებული ქართული და 1 აზერბაიჯანული (ზაქათალა) *Leishmania* იზოლატების, ITS გენის გენოტიპირების შედეგად, ნაპოვნი იქნა ორი მნიშვნელოვანი განმასხვავებელი უბანი ITS2 -ში (Distinguished Residue) DR6 და DR7. ITS2 გენის ამ უბნებში ნაპოვნი ეს ცვლილებები მთლიანად უნიკალური აღმოჩნდა ჩვენს მიერ შესწავლილი ქართული და ერთი აზერბაიჯანული იზოლატებისთვის, რასაც არ იზიარებს, დღემდე დასექვენირებული და საერთაშორისო გენბანკის მონაცემთა ბაზაში წარმოდგენილი არცერთი შტამი.

Leishmania -ციდური ეფექტის შეფასება

ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა, არომატული კეტონების - ჩალკონების (Chalcones) ჯგუფის *Leishmania* -ციდური 49 ახალი ფორმულა (ცხრილი-5), რომლის დამკვეთიც ერთ-ერთი ესპანური ფარმაცევტული კომპანია იყო. მთელმა რიგმა ექსპერიმენტებმა საშუალება მოგვცა გამოგვევლინა ერთ-ერთი საუკეთესო კანდიდატი SG-102 #24, რომელმაც საუკეთესო შედეგი აჩვენა ციტოტოქსიურობაზე, პლაზმური მემბრანის პერმეაბილიზაციასა და მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაციაზე. აღნიშნული ქიმიური კომპონენტს შესწევს უნარი თავისაუფლად გადალახოს მაკროფაგული უჯრედის მემბრანა, ისე, რომ არ გამოიწვიოს ამ უკანასკნელის დაზიანება. ასეთვე

წარმატებით ახერხებს იგი მაკროფაგებში ლოკალიზებული *Leishmania* ამასტიგოტებში შეღწევას, სადაც იწვევს მათ აპოპტოზს, პარაზიტული უჯრედების, მიტოქონდრიული მემბრანის დეპოლარიზაციის შედეგად. ამ შედეგებზე დაყრდნობით, შეიძლება ითქვას, რომ, ჩვენს მიერ შერჩეული ქიმიური ფორმულა, სამომავლოდ გამოყენებული იქნება, როგორც ახალი თაობის პრეპარატი ვისცერული ლეიშმანიოზის სამკურნალოდ. მიღებული შედეგები გადაეცა დამკვეთ ფარმაცევტულ კომანიას.

დასკვნები

თბილისი წარმოადგენს ლეიშმანიოზის აქტიურ კერას, სადაც ინფექციის პრევალენტობა მაღალია, როგორც რეზერვუარებში, ასევე ადამიანებშიც. ასევე შეინიშნება დაავადების ქვეყნის აღმოსავლეთიდან დასავლეთის მიმართულებით გავრცელების ტენდენცია. ამასთან, საქართველოში ვისცერული ლეიშმანიოზი წარმოადგენს საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის მნიშვნელოვან პრობლემას და მოსახლეობის დიდი ნაწილი, (განსაკუთრებით კი 1-4 წლამდე ასაკობრივი ჯგუფი) ვისცერული ლეიშმანიოზით დაავადების მაღალი რისკის ქვეშ იმყოფება.

ლეიშმანიოზის გადამტან მწერებს შორის დაინფიცირების ხარისხის მაჩვენებელი მაღალია ყველა გამოკვლეულ რეგიონში, რაც ერთ-ერთი მთავარი რისკფაქტორია დაავადების გავრცელებაში. დაავადების გადაცემის რისკს აძლიერებს აგრეთვე ლეიშმანიოზის კერებში არსებული მიკროკლიმატი.

სხვადასხვა გეოგრაფიული არეალიდან მოპოვებული ქართული და 1 აზერბაიჯანული (ზაქათალა) *Leishmania* იზოლატების, ITS გენის გენოტიპირების შედეგად, მიღებული იქნა ორი მონოფილეტური ჯგუფი, რომლებიდანაც, განსაკუთრებით I ჯგუფი ფილოგენეტიკურად უნიკალური აღმოჩნდა, რასაც განაპირობებს ორი მნიშვნელოვანი განმასხვავებელი უბანი ITS2 გენში.

მიღებული მონაცემები სრულყოფილ წარმოდგენას იძლევიან, ამ პათოგენის გენეტიკურ სტრუქტურაზე ევროპისა და აზიის გასაყარზე მყოფ გეოგრაფიულ არეალში, რაც მნიშვნელოვან როლს ითამაშებს მომავალ კვლევებში,

დღეისათვის მსოფლიოში ვისცერული ლეიშმანიოზის მხრივ მთავარ პრობლემას, უსაფრთხო სამკურნალო წამლების დეფიციტი და მათ მიმართ არსებული რეზისტენტობა წარმოადგენს. მოპოვებულ მონაცემებს გარკვეული მნიშვნელობა ექნება ვისცერული ლეიშმანიოზის სამკურნალო ახალი, ადამიანისთვის ნაკლებ უსაფრთხო, არომატული კეტონების ჯგუფის, ქიმიური ფორმულის ვალიდაციაში.

Ilia State University

Giorgi Babuadze

Molecular and Epidemiological Characterization of *Leishmania donovani-infantum*

Complex Spread in Georgia,

PhD Thesis

Summary

Introduction

At the turn of the nineteenth century, Cunningham, Borovsky, Leishman, Donovan, Wright, Lindenberg and Vianna each independently identified the parasite that causes leishmaniasis, to which Ronald Ross gave the generic name *Leishmania* in honor of Sir William bug Leishman (1865-1926), who was the first scientist isolated the *Leishmania* parasite in 1901. In 1904, Cathoire and Laveran found *Leishmania* in children with infantile splenic anaemia. Nicolle named the parasite *L. infantum* identified its reservoir in dogs in Tunis in 1908. Bramachari described PKDL in India in 1922. In the early 1940s, Swaminath, Shortt and Anderson in India and Adler and Ber in Palestine demonstrated the transmission of *L. donovani* and *L. tropica*' (probably *L. major*) by phlebotomine sand flies. Genetic speciation had to wait for the introduction of DNA hybridization in the early 1980s.

The human leishmaniasis are caused by approximately 17 species belonging to the genus *Leishmania*, protozoan parasites transmitted by the bite of female insects of the genus *Phlebotomus* or *Lutzomyia*. Leishmaniasis currently threatens people and cause 1 - 1.5 million cases in 98 countries and 3 territories around the world. The leishmaniasis are parasitic diseases with a wide range of clinical symptoms: coetaneous, muco-coetaneous and visceral. In recent years reports have emerged of increased leishmaniasis transmission in Europe, drug resistant leishmaniasis has spread further, and the spread of HIV/leishmaniasis co-infection is a trend of particular concern. Visceral Leishmaniasis (VL) is mainly caused by two species of parasites, the anthroponotic *L. donovani* and the zoonotic *L. infantum*, for which a variety of canids serve as

the animal reservoir. Most infections are asymptomatic, although longitudinal follow-up has shown that some infected individuals eventually develop clinical visceral leishmaniasis. Malnutrition and immune suppression, notably HIV infection, predispose to clinical disease, and children are especially affected. Zoonotic VL occurs in many former Soviet Union countries and presents one of the most serious public health concerns in the Country of Georgia. Several natural VL foci have been identified in the country where various species of *Phlebotomus* and canine reservoirs facilitate the transmission.

The first four cases of VL in Georgia were described in 1913, which to the best of our knowledge was the first report about this disease in the entire Caucasus region. The first well-described outbreaks (540 cases) of VL were reported in eastern Georgia in 1954. All cases were registered in 6 cities and 164 villages, mainly in the east of the country, in the Shida Kartli and Kakheti regions.

Malaria control efforts in Eastern Georgia in the sixties included massive spraying campaigns with the insecticide dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), which is believed to have also caused a significant reduction in the sand fly population, as during the next 40 years, until the 1990s, only sporadic VL cases were registered, and only in the extreme eastern part of the country. Since 2005, 19 VL fatal cases have been registered in Georgia. VL mostly affects the 1-5 age groups. However in the last 5 years a relatively high number of adults have been among the reported VL cases, indicating that the disease may be re-emerging as an epidemic instead of the previously endemic situation.

The first VL cases in Tbilisi were registered in 1990 (1 case) [8]. Two cases of *Leishmania*/HIV co-infection were diagnosed in 2008; for both cases the outcome was fatal [official disease records, NCDC 2008]. Coetaneous leishmaniasis is less frequent: 125 CL cases were registered in the period 1928-1964, of which 110 (88.0%) occurred in Tbilisi and villages situated in the western part of the Mtkvari river valley –Shida Kartli region, 56 km west from Tbilisi. After a long interval without registered cases, new cases of CL started to appear, and mandatory registration of CL started in 2001. Between 2001 and 2007, 1-5 cases of CL were

reported in most years, which increased to 12 cases in 2008-2009, 8 of them in Tbilisi. Both CL and VL are underreported, due to their relatively recent re-emergence, a consequent lack of awareness in the population, and the lack of a leishmaniasis training program for medical doctors. In Kutaisi the first VL cases were only registered as recently as 2007 (3 cases) in which year also the first sand flies of the *Phlebotomus* genus were identified in this area. During the last two decades, the annual number of clinical VL cases has remained persistently high, and varies between 122 and 189 for entire country.

Aim of the study

The aim of this study was to study disease molecular epidemiology of leishmaniasis in old and newly recognised natural focus of Visceral Leishmaniasis in Georgia. We also aimed to perform the phylogenetic characterization of 19 *Leishmania* isolates obtained from clinical and environmental samples in Georgia and 1 from Azerbaijan and to place these isolates into an existing global phylogeographic framework.

One of the main goals of this work was to study a Leishmanicidal Activity of 49 new chemical formulas of aromatic ketones –Chalcons, provided by one of the Pharmaceutical Company in Spain.

Methods

For seroprevalence among of population Leishmanin Skin Test (LST) in Tbilisi and Kutaisi and rK39 rapid diagnostic tests in districts Kvareli and Sagarejo were used. To determine the seroprevalence among of pet and stray dogs as well as in wild canids (Jackals and Foxes) rK39 rapid diagnostic tests were used.

For identification of VL vectors CDC standard light traps were used for specimen collection. Sand fly infection was determined by microscopy and nested PCR assay fro VL.

For phylogenetic analysis of the ITS1/2 sequences obtained 18 Georgian and 1 Azerbaijan isolates were used. At this end sequencing by Sanger method was applied and approximately 1030 bp of sequence for whole ITS region was obtained. The best fit model was determined using the ML method based on Akaike Information Criterion (AIC) and Bayesian Information Criterion (BIC) values implemented in MEGA v6. The Jukes-Cantor (JC) model was recommended by both AIC and BIC. Non-uniformity of evolutionary rates among sites was modeled by using a discrete Gamma distribution (+G). Phylogenetic analysis based on the nucleotide sequences of concatenated Leishmania ITS1 and ITS2 sequences was performed using Neighbor joining (NJ) and Maximum Likelihood (ML) algorithms performed in MEGA v6 software. The rate variation among sites was modelled with a gamma distribution (shape parameter = 1) with partial gap deletion. The analysis involved 68 nucleotide sequences. The bootstrap method was used to assess branch support (1000 replicates).

For the assessment of leishmanicidal activity monitoring of plasma membrane permeabilization and monitoring of bioenergetic parameters of the parasite, also visualization of structural damage by confocal and transmission electron microscopy were performed.

Results & Discussions

Prevalence of Leishmania infection in the human populations of Tbilisi, Kutaisi and in Kakheti region as assessed by Leishmanin Skin Test and rK39 test

Historical records as well as more recent clinical records show that leishmaniasis is more prevalent in the Eastern parts of the country. Consistent with this trend, we find highly significant differences in infection rates between the Eastern city of Tbilisi and the Western city of Kutaisi. Overall prevalence of infection, as measured by the standard LST test, was double the rate in Tbilisi ($P=0.0019$); this was significant for most age groups and where it did not reach significance, this was mostly due to smaller sample sizes in Kutaisi. Seven new human sub-clinical cases, with at most mild symptoms, were thus identified in Kvareli and Sagarejo districts by rK39 tests, out of 513 individuals screened. This confirms that active case finding is necessary

to avoid further increases in advanced clinical VL, and as reported for other regions including southern European countries, asymptomatic carriers contribute to the transmission cycle.

Seroprevalence study of reservoirs

For this survey a total of 2171 stray and pet dogs and 77 wild canids (Jackals and Foxes) were investigated by rK39 test in all targeted areas. The seropositivity among pet dogs was found to be proportionate to their age as previously reported in other countries. Seroprevalence was also high among stray dogs, however much less than in pet dogs ($P = 0.00017$), which means that the cycle is typically domestic. The present study also reports for the first time that apparent VL being positive in the rK39 test was observed in wild foxes and jackals in Georgia. This appears to prove the hypothesis of Bardjadze, who suggested that these animals (especially the fox) are the reservoirs in non-permanent VL foci in this country.

Vector survey

We determined 5 *Phlebotomus* species (*P. kandelakii*, *P. sergenti*, *P. balcanicus*, *P. halepensis* and *P. wenyoni*) in the selected districts. The sand fly season starts in the last weeks of June or early July and ends in the middle of September. The sand fly population peaks in the middle of July and starts to come down after the middle of August. The number of these vectors is strongly dependent on climate and environmental conditions. All 5 species were found in Tbilisi, while only 3 of them were found in Kutaisi, 3 in Kvareli and only 2 in Sagarejo district. Infectivity rate among of sand flies was observed to be very high in all areas except of Sagarejo, where no infected sand flies were determined.

Phylogenetic study

The distinguishing residues observed in DR 6 and 7 (ITS-2) are entirely unique to the 18 Georgian (and one Azerbaijani) strains reported here, and are not shared by other international isolates currently represented in the GenBank database. Such data provide further insights into the genetic structure of this pathogen in Eurasia and may inform future comparative studies focused on delineating regional subtypes and any impact on the epidemiology of disease.

Study of Leishmaniacidal activity

For assessment of Leishmaniacidal activity a number of different experiments were performed including: 1) macrophage toxicity test, 2) plasma membrane permeabilization assay, 3) Real-time monitoring of the variation in the levels of intracellular free- ATP depletion in living *L. donovani* promastigotes, 4) mitochondrial membrane depolarization, 5) *In vitro* macrophage infection, 6) confocal microscopy and 7) transmission electron microscopy (TEM).

Leishmanicidal activity was assessed on both forms of the parasite, extracellular promastigotes and intracellular amastigotes. Cytotoxicity on mammalian cells was carried out on murine peritoneal macrophages as obligate host cells for *Leishmania* in mammalian cell. The best candidate compound was determined as #24 (Table 5).

Conclusions

The comprehensive survey described in this work has for the first time documented the very significant risk to the Georgian population from visceral leishmaniasis, and that the disease is spreading to the west of the country. This study shows that Tbilisi is an active focus for VL with very high infection prevalence in pets, in stray dogs and in humans.

In total 5 *Phlebotomus* sand fly species was identified in investigated VL focus of Georgia. The infectivity rate in sand flies is also high all investigated areas, consistent which is one of the main risk factors for disease transmission in Country. With that The microclimate of this city and the social behavior of the population create conditions that are very favorable for the sand flies and for the spread of the infection.

The study shows that VL is a most serious public health concern and most of the Georgian population is at risk from VL (especially representatives of 1-4 age group).

We performed the first genotyping of *Leishmania* isolates in the Caucasus region, reporting here ITS-based molecular patterns in *L. donovani* complex samples originating from different geographical areas of eastern Georgia and one isolate from the village Zakatala of Azerbaijan. We report the first ITS-based detection of *Leishmania* strains in the Caucasus

region and show that these strains are part of the *L. donovani* complex with selected genotypes that are unique to the region.

The available treatment options for visceral leishmaniasis (VL) have problems relating to efficacy, adverse effects, resistance and cost, making treatment a complex issue. Without findings we believe that obtained results will contribute into the validation of a new compound, which will be much safer for humans, more cost-effective and much better for the VL treatment.

პუბლიკაციები

სტატიები

Epidemiology of Visceral Leishmaniasis in the Country of Georgia, Babuadze G, Alvar J, Argaw D, Koning HP, Iosava M, Kekelidze M, Tsertsvadze N, Tsereteli D, Chakhunashvili G, Mamatsashvili T, Beria N, Kalandadze I, Ejov M, Imnadze P., PLOS Neglegted Tropical Diseases. March 6, 2014. 8(3): e2725.

Seroepidemiology and molecular diversity of Leishmania donovani complex in Georgia, Giorgi Babuadze, Jason Farlow, Harry P. de Koning, Eugenia Carrillo, Giorgi Chakhunashvili, Mari Murskvaladze, Merab Kekelidze, Irakli Karseladze, Nora Kokaia, Irine Kalandadze, David Tsereteli, Ivane Markhvashvili, Ketevan Sidamonidze, Gvantsa Chanturia, Ekaterine Adeishvili and Paata Imnadze., Parasites & Vectors 13 May (2016) 9:279.

გამოყენებული ლიტერატურა:

Alvar J, Velez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, et al. (2012). Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. *PLoS One* 7: e35671.

Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, Den Boer M, Canavate C, et al. (2008). The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev* 21: 334–359.

Almeida ME, Steurer FJ, Koru O, Herwaldt BL, Pieniazek NJ, da Silva AJ., (2011). Identification of *Leishmania* spp. by molecular amplification and DNA sequencing analysis of a fragment of rRNA internal transcribed spacer 2. *Journal of Clin Microbiol.* 49: 3143–3149.

Alasdair C. Ivens, Christopher S. Peacock, Elizabeth A. Worthey, Lee Murphy, Gautam Aggarwal., et al. (2005). The Genome of the Kinetoplastid Parasite, *Leishmania major*. *Science*. 309-436;

Bardjadze BG., (1966) Some questions about visceral leishmaniasis in Georgia. *Sabchota Medicina* 2: 28–32. [Georgian].

Babuadze G, Alvar J, Argaw D, Koning HP, Iosava M, Kekelidze M., (2014). Epidemiology of Visceral Leishmaniasis in the Country of Georgia. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 8(3): e2725.

Cruz I, Caiavate C, Rubio JM, Morales MA, Chicharro IC, Laguna F, et al. (2002). A nested polymerase chain reaction (Ln-PCR) for diagnosing and monitoring *Leishmania infantum* infection in patients co-infected with human immunodeficiency virus. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. S1/185-S1/189.

Chubabria G, Zenaishvili O. (2003). Modern concepts of visceral leishmaniasis in Georgia. *Med Parasitol (Moscow)* 2: 27–30. [Russian].

Claborn DM, (2010). The Biology and Control of Leishmaniasis Vectors. *Journal of Global Infectious Disease*, 2(2): 127–134.

Control of The Leishmaniasis, WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, March (2010).

Degrave W, Fernandes O, Campbell D, Bozza M, Lopes U., (1994). Use of Molecular Probes and PCR for Detection and Typing of *Leishmania* –a Mini-Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 89(3): 463-469.

Ferroglio E, Maroli M, Gastaldo S, Mignone W, and Rossi L. (2005) Canine leishmaniasis, Italy. *Emerg Infect Dis* 11: 1617-1620.

Junqueira ACV, Chiari E, Wincker P., (1996). Comparison of the polymerase chain reaction with two classical parasitological methods for the diagnosis of Chagas disease in an endemic region of north-eastern Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 90: 129-132.

Kurtzhals JA, Hey AS, Jardim A, Kemp M, Schaefer KU, Odera EO, et al (1994). Dichotomy of the human T cell response to *Leishmania* antigens. II. Absent or Th2-like response to gp63 and Th1-like response to lipophosphoglycan-associated protein in cells from cured visceral leishmaniasis patients. *Journal of Clinical Exp Immunology* 96(3):416-21.

Kuhls K, Mauricio IL, Pratlong F, Presber W, Schönián G., (2005). Analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences of the *Leishmania donovani* complex, *Microbes Infect.* 7: 1224–1234.

Lewis DJ, and Ward RD (1987) Transmission and vectors. In: The leishmaniasis in Biology and Medicine. Vol I. *Biology and Epidemiology*. (W. . Peters, R. . Killick-Kendrick, eds). Academic Press, London, pp 235–262.

Lawyer PG, Young D, (1991) Diapause and quiescence in *Lutzomyia diabolica* (Diptera:Psychodidae). *Parassitologia Suppl.* 1:353–60.

Moore EM and Lockwood DN, (2010). Treatment of Visceral Leishmaniasis. *Journal of Global Infectious Diseases.* 2(2): 151–158.

Myler PJ and Fasel N (2008). *Leishmania After the Genome*, Book, *Caister Academic Press*. ISBN: 978-1-904455-28-8.

Medeiros AR, Silva WA, Roselino AM., (2008). DNA Sequencing Confirms the Involvement of *Lishmania (L.) amazonensis* in American Tegumentary LeishmaniasisS in the State of Sao Paulo, Brazil. *Journal of Clinics.* 64:451-6.

Maruashvili GM., (1961). About types of visceral leishmaniasis foci. *Med Parasitol (Moscow)* 30: 188–190. [Russian].

Peruhype-Magalhães V1, Martins-Filho OA, Prata A, Silva Lde A, Rabello A., et al. (2005). Immune response in human visceral leishmaniasis: analysis of the correlation between innate immunity cytokine profile and disease outcome. *Scandinavian Journal of Immunology*, 62(5):487-95.

Papadopoulou C, Kostoula A, Dimitriou D, Panagiou A, Bobojianni C, et al. (2005). Human and canine leishmaniasis in asymptomatic and symptomatic population in Northwestern Greece. *Journal of Infection* 50: 53–60.

Ready PD. (2010) Leishmaniasis emergence in Europe. *Euro Surveill* 15: 19505.

Rivas L, Luque-Ortega JR, Fernandez-Reyes M, Andreu D., (2010). Membrane-active peptides as anti-infectious agents. *Journal of Applied Biomedicine*. No 3, p 159-167.

Sadeghian G, Ziaei H, Bidabadi LS, Nilforoushzadeh MA. (2013) Evaluation of leishmanin skin test reaction in different variants of cutaneous leishmaniasis. *Indian Journal Dermatol*. 58:239.

WHO TRS 701, The Leishmaniases, report of a WHO Expert Committee (1984) Geneva.

WHO TRS-949, WHO Library Cataloguing-in-Publication Data (2010): Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Exper Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22–26 March.