

REACTIVITATEA IMUNĂ ȘI REZISTENȚA PREIMUNĂ A BOLNAVILOR DE TUBERCULOZĂ PULMONARĂ ASOCIATĂ CU TOXOCAROZĂ ÎN FUNCȚIE DE CAPACITATEA DIGESTIVĂ A NEUTROFILELOR

Angela Guila – doctorand, Serghei Ghinda – dr. hab. în șt. med., prof. cercet.,

Constantin Iavorschi – dr. hab. în șt. med., prof. cercet.,

Elena Privalova – dr. în șt. biol., conf. cercet.,

IMSP Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc”

e-mail: ginda_sergei@mail.ru, tel. 57 23 58

Rezumat

Scopul cercetării: studierea dinamicii unor indici ai fagocitozei și reactivității imune la bolnavii de tuberculoză pulmonară asociată cu toxocaroza în funcție de capacitatea digestivă scăzută a neutrofilelor segmentate. Studiul a fost realizat pe un eșantion de 47 bolnavi de tuberculoză pulmonară asociată cu toxocaroza care au fost divizați în două loturi: de bază – 15 bolnavi la care au fost diminuate nivelele capacității digestive a neutrofilelor (valorile testului NBT mai scăzute de 0,1) și de control – 32 bolnavi la care nivelele capacității digestive a neutrofilelor segmentate au fost în limitele normale (valorile testului NBT – mai mari de 0,1). Tuturor bolnavilor li s-au efectuat investigații imunologice complexe. Indicii ce caracterizează starea reactivității imune (testul NBT, indicele fagocitar și numărul fagocitar, activitatea funcțională a limfocitelor T, B și conținutul lor) cu o veridictate autentică demonstrează o dinamică mult mai eficientă a evoluției maladiei la bolnavii din lotul de control (valorile testului NBT mai mari de 0,1) comparativ cu cei din lotul de bază (valorile testului NBT – mai scăzute de 0,1).

Cuvinte-cheie: imunitatea, tuberculoză, toxocaroza

Summary. The effect of reduced digestive ability of neutrophils to the immunological reactivity of patients with pulmonary tuberculosis in association with toxocariasis.

The objective of our research is to study the influence of decrease digestive ability of segmented neutrophils to the phagocytosis parameters and to the immunological reactivity of patients with pulmonary tuberculosis in association with toxocariasis. The study includes 47 patients with pulmonary tuberculosis in association with toxocariasis, they were divided into two groups: the main group - 15 patients who had reduced digestive ability parameters of segmented neutrophils (NBT-test index below 0.1) and the control group - 32 patients who had normal levels of digestive ability of segmented neutrophils (NBT test reading above 0.1). All patients underwent a complex immunological examination. Parameters of immunological reactivity state (parameters of NBT-test, phagocytic number and phagocytic index, functional activity of lymphocytes (T cells and B cells) and their manifestations) statistically significant show the more effective dynamics of the clinical course disease in the control group (NBT- test index above 0 1) compared with patients of the main group (NBT-test index of below 0.1).

Key words: immunity, tuberculosis, toxocariasis

Резюме. Влияние сниженной переваривающей способности нейтрофилов на иммунологическую реактивность больных туберкулезом легких в ассоциации с токсокарозом

Цель – влияние сниженной переваривающей способности сегментоядерных нейтрофилов на показатели фагоцитоза и иммунологической реактивности больных туберкулезом легких в ассоциации с токсокарозом. Исследование включает 47 больных туберкулезом легких в ассоциации с токсокарозом, которые были поделены на две группы: основная – из 15 больных, у которых были сниженные показатели переваривающей способности сегментоядерных нейтрофилов (показатель НСТ-теста ниже 0,1) и контрольной – из 32 больных у которых были нормальные показатели переваривающей способности сегментоядерных нейтрофилов (показатель НСТ-теста выше 0,1). Всем больным проведено комплексное иммунологическое обследование. Показатели, характеризующие состояние иммунологической реактивности (НСТ-тест, фагоцитарное число и фагоцитарный индекс, функциональная активность лимфоцитов Т, В и их содержание) с достоверностью говорят о более эффективной динамике клинического течения заболевания у больных контрольной группы (показатель НСТ-теста выше 0,1) в сравнении с больными опытной группы (показатель НСТ-теста ниже 0,1).

Ключевые слова: иммунитет, туберкулез, токсокароз

Introducere

La infectarea în masă a populației cu micobacteria tuberculozei, riscului îmbolnăvirii de tuberculoză se supun, totuși, un număr mic de persoane. Acest fapt se explică prin aceea că evoluția și sfârșitul tuberculozei ca maladie depind într-o măsură considerabilă de starea rezistenței preimune. Mecanismele rezistenței preimune prezintă un complex de reacții de apărare care în momentul declanșării mecanismelor de protecție imună, se opun agentului infecțios pătruns în organism [6, 7, 12].

Neutrofilele sunt printre actorii importanți antrenați în procesul infecțios acțiunea cărora este strict specifică, dar poate fi considerată drept una destul de concludentă. Fagocitele circulante (neutrofilele segmentate și monocitele sângelui) de rând cu macrofagele pulmonare reprezintă nucleul sistemului fagocitar. Eliberând un șir de compuși biologic activi, acestea acționează ca agenți de declanșare a mecanismelor regulatorii ale reacțiilor de cascadă ceea ce asigură dezvoltarea inflamației [6, 3, 11].

Titarenco O. T. și coaut. (2012) au demonstrat, pe un eșantion de 60 bolnavi de tuberculoză pulmonară chimiorezistentă, că monocitele și neutrofilele sângelui periferic posedă un nivel înalt al potențialului biocid [15].

Neutrofilele segmentate, fagocitele mononucleare și limfocitele interacționează în strânsă cooperare unele cu altele la realizarea reacțiilor inflamatoare [2, 14].

Prin urmare, procesele de dezvoltare a inflamației și cele de reparație ulterioare se realizează datorită interacțiunii funcționale a neutrofilelor segmentate, fagocitelor mononucleare, limfocitelor, fibroblaștilor drept rezultat al activității cooperante ai sistemelor fagocitare și imune pe de o parte și, a țesutului conjunctiv, pe de altă parte. Acest proces de cooperare este realizat prin intermediul mediatorilor celulari și umorali ai inflamației datorită cărora se efectuează schim-

bul informației între celule și interacțiunea dintre ele. Datele aduse demonstrează că mecanismele care reglează evoluția și sfârșitul tuberculozei ca maladie rămân a fi o problemă științifică importantă. Una din direcțiile de cercetare a acestei probleme este studierea legităților funcționării unor tipuri aparte de fagocite în caz de diverse patologii [6].

Granulocitele neutrofile sunt printre efectorii de bază ai mecanismelor antiinfecțioase ale imunității. În spectrul larg de manifestări ale activității funcționale a neutrofilelor un loc important se atribuie metabolismului oxigeno dependent - sistem unicat de respirație extra mitocondrială a celulelor care crește brusc în procesul activării celulare și de aceea poartă denumirea de „explozie respiratorie”. Acest proces este însoțit de consumul de glucoză și oxigen, precum și de mărirea producției formelor active ale oxigenului: anionul superoxid, peroxidul de hidrogen, radicalul hidroxil și oxigenul singlet. Radicalii de oxigen constituie nu numai baza potențialului antimicrobian al neutrofilelor, ci și reprezintă regulatorii activi ai metabolismului tisular al organismului uman. Unii autori susțin că particularitățile activității metabolice a granulocitelor neutrofile în infecțiile intracelulare sunt, însă, insuficiente [1, 9, 10].

Scopul cercetării: studierea dinamicii unor indici ai fagocitozei și ai reactivității imune la bolnavii de tuberculoză pulmonară asociată cu toxocaroză în funcție de capacitatea fagocitară scăzută a neutrofilelor segmentate.

Material și metode de investigare. Studiul a inclus 47 de bolnavi cu tuberculoză pulmonară asociată cu toxocaroză care au fost divizați în 2 loturi de studiu: lotul de bază – LB, format din 15 bolnavi la care au fost diminuate nivelele capacității digestive a neutrofilelor (valorile testului NBT mai scăzute de 0,1) și lotul de control – 32 bolnavi la care nivelele capacității digestive a neutrofilelor segmentate au fost în limitele normale (valorile testului NBT – mai

mari de 0,1). Lotul de referință a fost constituit din o 100 de persoane sănătoase (controlul de laborator). Investigațiile imunologice aplicate tuturor bolnavilor au inclus executarea testelor: de transformare blastică a limfocitelor [8]; de determinare a conținutului de limfocite CD3, CD19 cu aplicarea citofluorometrului Flow Cytomertrie (Partec PAS I); de determinare a numărului și indicelui fagocitari [13]; testul NBT [4]; de determinare a conținutului imunoglobulinelor A, G, M cu ajutorul analizei imunoenzimatică în fază solidă aplicând kitul firmei „Бекроп-БЕСТ” (Federația Rusă). Analiza statistică a rezultatelor s-a efectuat aplicând criteriul Student, varierea alternativă ș.a. [5] cu utilizarea Windows Excel 2007.

Rezultate și discuții. Conținutul leucocitelor până la tratament a fost semnificativ mai mare în lotul de bază decât în cel de control ($p<0,01$), dar veridic mai scăzute decât la persoanele sănătoase ($p<0,001$ în ambele loturi). În dinamica tratamentului, pentru conținutul total al limfocitelor s-a înregistrat doar o tendință către descreșterea acestui indice în ambele loturi de studiu (Tabelul 1).

Conținutul neutrofilelor segmentate până la tratament nu s-a deosebit între lotul de bază și cel de control și nici între loturile de bolnavi și persoanele sănătoase. După tratamentele aplicate, acest indice la bolnavii din lotul de bază și la cei din lotul de control a prezentat doar o tendință de descreștere a nivelurilor sale.

Conținutul neutrofilelor nesegmentate până la tratament a fost semnificativ mai mare în lotul de bază decât în cel de control ($p<0,01$), dar veridic mai înalt decât la persoanele sănătoase ($p<0,001$ în ambele loturi). În dinamica tratamentului, pentru conținutul ne-

utrofilelor nesegmentat s-a înregistrat doar o tendință către descreșterea acestui indice în ambele loturi de studiu.

Conținutul eozinofilelor până la tratament nu s-a deosebit între loturile de bolnavi, dar a fost veridic mai înalt decât la persoanele sănătoase ($p<0,001$ în ambele loturi). În dinamica tratamentului, pentru conținutul eozinofilelor s-a înregistrat doar o tendință către descreșterea acestui indice în lotul de bază și o tendință de către creștere a lui în lotul de control.

Conținutul limfocitelor până la tratament a avut aproximativ aceleași valori atât în lotul de bază, cât și în cel de control, însă acestea au fost veridic mai scăzute decât la persoanele sănătoase ($p<0,001$ în ambele loturi). În dinamica tratamentului, conținutul limfocitelor a crescut autentic în lotul de control ($p<0,01$), iar în lotul de bază s-a înregistrat doar o tendință către creșterea acestui indice.

Conținutul monocitelor până la tratament nu s-a deosebit între loturile de bolnavi, dar a fost veridic mai înalt decât la persoanele sănătoase ($p<0,01$ în ambele loturi). În dinamica tratamentului, pentru conținutul monocitelor s-a înregistrat doar o tendință către descreșterea acestui indice în ambele loturi de studiu.

În ambele loturi s-au identificat manifestări ale deplasării către „stânga” a formulei leucocitare, precum și o dinamică lentă de normalizare a componentelor acesteia, în special, în lotul de bază.

Valorile testului NBT până la tratament au fost concludent mai scăzute în lotul de bază comparativ cu cel de control. Acest indice a fost veridic mult mai scăzut în lotul de bază comparativ cu persoanele sănătoase ($p<0,001$). În dinamica tratamentului, valo-

Tabelul 1

Dinamica indicilor formulei leucocitare în loturile de bolnavi

Indicii			Persoane sănătoase n=100	Loturile de bolnavi	
				LB, n=15	LC, n=32
Leucocite	10 ⁹ /l	până după	6,0±0,12	11,4±0,99○□ 9,3±0,88	8,4±0,43□ 7,4±0,44
N. segmentate	%	până după	55,4±0,34	52,0±4,02 49,2±2,55	54,0±1,93 50,4±2,68
N. nesegmentate	%	până după	0,5±0,05	5,1±1,21○□ 2,7±0,68	2,1±0,37□ 1,8±0,31
Eozinofilele	%	până după	1,7±0,10	14,9±3,09□ 12,9±2,49	8,4±1,24□ 8,8±1,36
Limfocite	%	până după	36,1±0,33	18,5±2,70□ 25,5±2,74	25,0±1,82□ 30,7±1,50●
Monocite	%	până după	5,4±0,24	9,2±0,89 9,1±0,88	10,3±1,05 8,0±0,66

Notă: Diferențe statistic veridice: ○ – între LB și LC până la tratament; ● – între LB până și după tratament; ■ – între LC până și după tratament; □ – între persoanele sănătoase și bolnavi.

Tabelul 2

Dinamica testului NBT, NF și IF în loturile de bolnavi

Indicii	Persoane sănătoase n =100	Loturile de bolnavi	
		LB, n=15	LC, n=32
Testul NBT un. conv. până după	0,14±0,006	0,09±0,002□ 0,11±0,005●	0,13±0,004 0,15±0,005■
NF % până după	76,9±0,86	72,8±3,14 79,0±2,25	76,4±1,21 83,3±1,11■
IF un. conv. până după	4,6±0,17	4,3±0,83 4,8±0,37	4,7±0,21 5,5±0,14■

Notă: Diferențe statistic veridice: ○ – între LB și LC până la tratament; ● – între LB până și după tratament; ■ – între LC până și după tratament; □ – între persoanele sănătoase și bolnavi.

rule testului NBT au crescut mult mai concludent la bolnavii din lotul de control ($p<0,001$) decât la cei din lotul de bază ($p<0,01$) (Tabelul 2).

Numărul neutrofilelor capabile de a fagocita (NF – numărul fagocitar) până la tratament a fost aproximativ același în ambele loturi de studiu și veridic nu s-a deosebit de numărul fagocitar al persoanelor sănătoase. După tratament la bolnavii din lotul de bază s-a observat doar o tendință de creștere a numărului fagocitar, pe când la cei din lotul de control acest indice a crescut autentic ($p<0,001$).

Activitatea fagocitară a neutrofilelor (IF – indicele fagocitar) până la tratament nu s-a deosebit veridic nici între bolnavii loturilor de studiu, nici comparativ cu persoanele sănătoase). După tratament în lotul de bază activitatea fagocitară a prezentat doar o tendință de creștere a nivelelor sale, iar în cel de control acest indice a crescut veridic ($p<0,01$) (Tabelul 2).

Astfel, indicii fagocitozei: numărul și indicele fagocitar au fost cei mai scăzuți la bolnavii din lotul de bază în comparație cu bolnavii din lotul de control și deci, s-au modificat mai puțin eficient în dinamica tratamentelor aplicate.

Activitatea funcțională a limfocitelor T (Tabelul 3) până la tratament nu s-a deosebit între ambe-

le loturi de studiu și a fost veridic mai descrescută în comparație cu persoanele sănătoase ($p<0,001$). În dinamica activitatea funcțională a limfocitelor T a crescut autentic după aplicarea tratamentului. Totuși, nivelul de concludență pentru acest indice a fost unul mai înalt în lotul de control ($p<0,001$) decât în cel de control ($p<0,05$).

Nivelele limfocitelor T (CD-3) până la tratament nu s-au deosebit între loturile de studiu, dar au fost veridic mai scăzute decât la persoanele sănătoase ($p<0,01$). În dinamica tratamentului s-a observat o creștere a conținutului de limfocite T (CD-3), însă doar în lotul de bază a avut o tendință de creștere continuă, iar în lotul de control această creștere a fost veridică ($p<0,001$).

Conținutul limfocitelor T – helper (CD-4) până la tratament în lotul de bază a fost veridic mai înalt decât în cel de control ($p<0,01$) și concludent mai scăzut decât la persoanele sănătoase ($p<0,001$). După tratament s-a observat o tendință de diminuare a conținutului de limfocite CD-4 la bolnavii din lotul de bază și de creștere a acestui indice la bolnavii din lotul de control.

Nivelele limfocitelor T (CD-8) până la tratament nu s-au deosebit între loturile de studiu, dar au fost

Tabelul 3

Indicii cantitativi și funcționali ai limfocitelor T în loturile de bolnavi

Indicii	Persoane sănătoase n =100	Loturile de bolnavi	
		LB, n=15	LC, n=32
TTBL+PHA % până după	79,9±1,16	58,2±1,54□ 63,2±1,59●	59,5±0,96□ 66,5±0,86■
CD-3 % până după	67,4±0,53	56,9±1,63□ 60,9±1,52●	55,8±1,36□ 63,2±1,41■
CD-4 % până după	38,3±0,59	43,0±1,00□○ 41,6±1,38	38,2±1,15 41,0±1,15
CD-8 % până după	29,6±0,75	16,3±1,50□ 19,9±1,44	18,6±0,86□ 21,3±0,84■

Notă: Diferențe statistic veridice: ○ – între LB și LC până la tratament; ● – între LB până și după tratament; ■ – între LC până și după tratament; □ – între persoanele sănătoase și bolnavi.

Tabelul 4

Indicii cantitativi și funcționali ai limfocitelor B în loturile de bolnavi

Indicii			Persoane sănătoase n =100	Loturile de bolnavi	
				LB, n=15	LC, n=32
CD-19 %	până după		11,8±0,48	12,9±1,52 10,0±1,19	11,9±0,81 9,0±0,79■
IgG g/l	până după		14,7±0,55	18,8±0,31□ 17,9±0,42	18,2±0,46□ 16,8±0,46■
IgA g/l	până după		1,8±0,12	3,4±0,15□ 3,1±0,15	3,4±0,14□ 3,0±0,20
IgM g/l	până după		1,4±0,08	2,1±0,12□ 1,9±0,20	2,1±0,11□ 1,7±0,12■

Notă: Diferențe statistic veridice: ○ – între LB și LC până la tratament; ● – între LB până și după tratament; ■ – între LC până și după tratament; □ – între persoanele sănătoase și bolnavi.

veridic mai scăzute decât la persoanele sănătoase ($p<0,001$). În dinamica tratamentului s-a observat o creștere a conținutului de limfocite T (CD-8), însă doar în lotul de bază a avut o tendință de creștere continuă, iar în lotul de control această creștere a fost veridică ($p<0,05$).

Prin urmare, atât activitatea funcțională, cât și conținutul limfocitelor CD-3, CD-4, CD-8 în dinamica tratamentului, s-au supus unor schimbări pozitive și mult mai eficiente în lotul de control, comparativ cu cel de bază.

Conținutul B (CD-19) până la tratament nu s-a deosebit între loturile de bolnavi și între loturile de bolnavi și persoanele sănătoase (Tabelul 4). În dinamica tratamentului, la bolnavii din lotul de bază s-a înregistrat doar o tendință de descreștere a acestui indice, iar la bolnavii din lotul de control s-a înregistrat descreșterea veridică a conținutului de limfocite B ($p<0,05$).

Titrele IgG, IgA, IgM au fost în ambele loturi de bolnavi până la tratament veridic mai înalte decât la persoanele sănătoase ($p<0,001$ în ambele loturi). După tratament, în lotul de bază titrul IgG a avut doar o tendință de diminuare a nivelului sale, în lotul de control acest indice s-a micșorat veridic ($p<0,05$). În dinamica tratamentului, titrul IgA la bolnavii lotului de bază și la cei din lotul de control a avut doar o tendință de descreștere. În dinamica tratamentelor aplicate titrele IgM s-au diminuat veridic în lotul de control ($p<0,05$), iar în lotul de bază acestea au avut doar o tendință de descreștere a nivelurilor acestui indice.

Se poate rezuma deci, că activitatea funcțională și conținutul limfocitelor B se supun unei dinamici pozitive mult mai eficiente în lotul de control constituit din bolnavii care au indicii NBT normale, comparativ cu lotul de bază în care au fost incluși bolnavii care au fost indicii NBT supresate.

Concluzie. Analiza rezultatelor acestui studiu permite a deduce concluzia, că indicii ce caracterizează starea reactivității imune și cea a rezistenței

preimune a organismului bolnavilor de tuberculoză pulmonară asociată cu toxocaroză (numărul și indicii fagocitar, activitatea funcțională și conținutul limfocitelor T și B) cu un nivel înalt al veridicității statistice demonstrează o dinamică pozitivă și mult mai eficientă a evoluției maladiei la bolnavii din lotul de control (valorile testului NBT în limite normale) în comparație cu bolnavii din lotul de bază (valorile testului NBT supresate).

Bibliografie

1. Ghinda S., Rudic V., Chiroșca V. și al., *Studiul acțiunii preparatului din spirulină Ferriblior asupra activității funcționale a neutrofilelor in vitro*. Sănătate publică, economie și management în medicină, Chișinău, 5(26)2008, p.138-142.
2. Knight J.A. Review: *Free radicals, antioxidants and the immune system*. Ann. Clin. Lab. Sci., 2000, vol. 30, nr 2, p. 145-158.
3. Lee I.T., Yang C.M. *Role of NADPH oxidase/ROS in pro-inflammatory mediators-induced airway and pulmonary diseases*. Biochem. Pharmacol., vol. 84, nr 5, p. 581-590.
4. Park B., Hfikring S. & Simthwick E. *Infection and nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils*. Lancet, 1968; 2:532-34.
5. Spinei L., Lozan O., Badan V. *Biostatistica*. Chișinău. 2009, 186 p.
6. Абдулаев Р.Ю., Каминская Г.О., Комисарова О.Г. *Бактерицидная активность легочных и циркулирующих фагоцитов при туберкулезе легких*. Туберкулез и болезни легких, 2014, № 12, с.8-24.
7. Бердюгина О.В., Скорняков С.Н., Медвинский И.Д. и др. *Функционально-метаболические изменения иммунокомпетентных клеток при туберкулезе легких (обзор литературы)*. Урал. мед. ж., 2013, № 2, с. 121-127.
8. Гинда С.С. *Модификация микрометода реакции бласттрансформации лимфоцитов*. Лабораторное дело, 1982, № 2, с. 23-25.
9. Гинда С., Рудик В., Кирошка В. и др., *Сравнительное исследование влияние препаратов BioR^{Sp} и BioR^{Se} на функциональную активность нейтрофилов в*

НСТ-тесте. Тезисы VI съезда аллергологов и иммунологов СНГ, Аллергология и иммунология, 2006, том 7, № 3, с. 300-301.

10. Зинкин В. Ю. *Фотометрический НСТ-тест с нейтрофилами крови человека и его клинико-иммунологическая зависимость у больных с травмой опорно-двигательного аппарата*. Автореф. дисс. к.м.н., Москва. 2005. 24 с.

11. Лядова И.В., Цыганов Е.Н., Костокевич М.В. *Нейтрофилы при туберкулезе: протекция или патология?* Туберкулез, 2012, № 7, с. 12-21.

12. Каминская Г.О., Абдулаев Р.Ю., Мартынова Е.В. и др. *Синдром системного воспалительного от-*

вета при туберкулезе легких. Туберкулез, 2009, № 11, с. 40-48.

13. Павлович С.А. *Основы иммунологии*. Минск. Высшая школа. 1998. 114 с.

14. Плеханова Н.Г., Дробот Е.И., Сомова Л.М. *Реактивность фагоцитирующих клеток при инициации инфекционно-воспалительных процессов*. Успехи совр. биол., 2011, № 1, с. 37-49.

15. Титаренко О.Т., Дьякова М.Е., Эсмедяева Д.С. и др. *Особенности функциональной активности фагоцитирующих клеток при разных формах лекарственно-устойчивого туберкулеза легких*. Биомед. химия., 2012, том 58, вып. 4, с. 467-474.