

CZU: 616.24-002.5

<https://doi.org/10.52692/1857-0011.2022.3-74.23>

PROCEDEU DE DETERMINARE A SEVERITĂȚII ȘI TIPURILOR PERTUBĂRILOR IMUNE LA PACIENȚII CU TUBERCULOZĂ PULMONARĂ ÎN DEPENDENȚĂ DE SPECTRUL REZISTENȚEI MEDICAMENTOASE

Evelina LESNIC¹, dr. în șt. med.,
Serghei GHINDA² dr. hab. în șt.med.,
Elena PRIVALOVA² dr. în șt.med.,

¹IP Catedra de pneumoftiziologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”,
Republica Moldova

²IMPS Institutul de Ftiziopneumologie “Chiril Draganiuc”, Republica Moldova
e-mail: evelina.lesnic@usmf.md

Rezumat.

Scopul studiului a constat în evaluarea perturbărilor imunității mediate celular, rezistenței naturale și imunității umorale imune la pacienții diagnosticați cu TB pulmonară în dependență de spectrul de sensibilitate a agentului etiologic pentru elaborarea unui procedeu de identificare a gradului severității și tipurilor patogenetice. Material și metodologie: a fost realizat un studiu prospectiv, selectiv, de tip caz-control, care a inclus 129 cazuri noi de TB diagnosticate în perioada 2017-2018, distribuite în grupuri în dependență de spectrul rezistenței medicamentoase. Rezultate: deficitul statutului imun este mai evident la pacienții cu TB-MDR, în special la cei cu rezistență secundară, fiind mai evident suprimată imunitatea mediată celular, urmată de rezistența naturală. Hiperfuncția sistemului imun umoral s-a constatat la două treimi din toate grupele evaluate. Procedeu propus poate fi aplicat în evaluarea statutului imun la pacienții cu TB.

Cuvinte-cheie: răspuns imun, tuberculoză, management.

Summary. Method of the assessment of the degree of immune disturbances in patients with pulmonary tuberculosis depending on the spectrum of drug resistance of the etiological agent

The aim of the study was to evaluate the disturbances of cell-mediated immunity, natural resistance and humoral immunity in patients diagnosed with pulmonary tuberculosis depending on the drug susceptibility spectrum of the etiological agent in order to develop a procedure to identify the degree of severity and pathogenetic types. Material and methodology: a prospective, selective, case-control study was performed, which included 129 new cases of tuberculosis diagnosed during 2017-2018, distributed in groups depending on the spectrum of the drug resistance. Results: immune deficiencies were more evident in patients with MDR-TB, especially in those who acquired the resistance, and cell-mediated immunity was more suppressed, followed by natural resistance. Hyperfunction of the humoral immunity was confirmed in two thirds of all groups. The proposed method can be applied in the evaluation of the immune state in TB patients.

Keywords: immunity, tuberculosis, management.

Резюме. Метод определения степени иммунных нарушений у больных туберкулезом легких в зависимости от спектра лекарственной резистентности возбудителя.

Цель исследования — оценить нарушения клеточного иммунитета, естественной резистентности и гуморального иммунитета у больных туберкулезом (ТБ) легких в зависимости от спектра лекарственной чувствительности этиологического агента с целью разработки методики выявления степени тяжести и патогенетических видов. Материал и методология: проведено проспективное выборочное исследование, в которое включено 129 новых случаев ТБ, диагностированных в течение 2017-2018 гг., распределенных по группам в зависимости от спектра лекарственной устойчивости. Результаты: иммунодефицит был более выражен у больных МЛУ-ТБ, особенно у тех, кто приобрел резистентность, клеточный иммунитет был более подавлен и последовала естественная резистентность. Гиперфункция гуморального иммунитета была выявлена в двух третях всех групп. Предлагаемый метод может быть использован при оценке иммунного статуса больных ТБ.

Ключевые слова: иммунитет, туберкулез, лечение

Introducere.

Tuberculoza (TB) reprezintă o prioritate a sistemului de sănătate a Republicii Moldova. Tratamentul standardizat al tuberculozei aparatului respirator determinată de germeni convenţionali sensibili constă din regimuri terapeutice care include cel puţin 4 medicamente de linia întâi cu efect predominant bactericid asupra agentului patogen, administrat cel puţin 6 luni [1]. TB multidrog-rezistentă (TB-MDR) este un specific de rezistenţă, care se defineşte prin rezistenţa tulpinilor micobacteriene la izoniazidă (HIN) şi rifampicină (RIF), fiind primară sau dezvoltată pe durata tratamentului (secundară) [1]. Schema standardizată a tratamentului TB-MDR include medicamente de linia a doua, inclusiv cele noi, cu o administrare pe o durată de 18-24 luni [1]. Tratamentul patogenetic al TB pulmonare indiferent de spectrul de sensibilitate include metode de reducere a intoxicaţiei endogene, de diminuare a reacţiilor inflamatorii şi alergice, de restabilirea a drenajului bronşilor, cât şi de imunocorecţie. În pofida aplicării unui tratament complex rata succesului terapeutic rămâne mult sub cea recomandată (85% pentru TB sensibilă, 75% pentru TB-MDR), iar rata TB-MDR secundară se menţine la nivel înalt (75% la cazurile anterior tratate) [2]. Durata îndelungată a tratamentului antituberculos este adesea însoţită de imunodeficienţa iatrogenă, care duce la diminuarea eficacităţii terapeutice. În prezent, nu există vreo clasificare general acceptată a perturbărilor rezistenţei imune în TB pulmonară, care a constituit premiza studiului actual.

Scopul studiului a constat în evaluarea perturbărilor imunităţii mediate celular, rezistenţei naturale şi imunităţii umorale imune la pacienţii diagnosticaţi cu tuberculoză pulmonară în dependenţă de spectrul de sensibilitate a agentului etiologic pentru elaborarea unui procedeu de identificare a gradului severităţii modificărilor statutului imun. În corepunere cu scopul cercetării au fost stabilite obiectivele:

Identificarea gradului perturbărilor rezistenţei mediate celular, rezistenţei umorale şi rezistenţei na-

turale la pacienţii cu TB pulmonară în dependenţă de spectrul de sensibilitate a *M. tuberculosis*.

Modelarea unui procedeu de identificare a gradului severităţii şi tipului patogenetic a perturbărilor statutului imun cu studierea fezabilităţii implementării.

Material şi metode

A fost realizat un studiu prospectiv, selectiv, de tip caz-control care a evaluat perturbările imunităţii mediate celular, rezistenţei naturale şi imunităţii umorale la 129 pacienţi cazuri noi cu TB pulmonară diagnosticaţi în perioada anului 2017-2018. Criteriile de includere în studiu au fost: caz nou de TB pulmonară infiltrativă, confirmată bacteriologic, cu rezultatele testelor de sensibilitate medicamentoasă valabile, înregistrat în perioada 01.01.2017-31.12.2018. Toţi pacienţii selectaţi au fost diagnosticaţi conform Protocolului Clinic Naţional – 123 „Tuberculoza la adulţi” [3]. Criteriile de diagnostic au fost: clinice, radiologice şi microbiologice. Lotul general format din 129 de pacienţi, a fost distribuit în: 57 de cazuri noi de TB pulmonară sensibilă - incluse în grupul de control (GC) şi 72 de cazuri de TB-MDR, care au fost incluse în grupul de studiu. Grupul de studiu a fost redistribuit în grupul de studiu 1 (GS1) format din 41 de cazuri cu MDR-TB primară şi al 2-lea grup de studiu (GS2) cu 31 de cazuri de MDR-TB secundară. Pentru a evalua activitatea funcţională a imunităţii celulare a fost utilizată reacţia de transformare blastică a limfocitelor (RTBL) la mitogenii fitohemaglutinină (PHA) şi tuberculină (PPD); pentru cuantificarea limfocitelor CD3+ şi CD19+ s-a efectuat fenotiparea celulelor imune. Pentru a evalua rezistenţa naturală, s-au calculat indicii fagocitar (PI) şi numărul fagocitar (PF). Pentru a evalua activitatea funcţională a neutrofilelor, a fost utilizat un test de reducere a sării nitro-albastru-tetrazoliu (NBT). Concentraţia de anticorpi IgE, IgA, IgG, IgM şi antimicobacterieni a fost determinată utilizând testul imunisorbţiei enzimatic.

Rezultate şi discuţii

Distribuind pacienţii în dependenţă de sex a fost stabilit predominarea pacienţilor de sex masculin faţă

Tabel 1.

Distribuţia pacienţilor în dependenţă de sex şi vârstă

Indicatori	GC (N=57)	GS (N=72)	GS1 (N=41)	GS2 (N=31)
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Bărbaţi	34 (59%)	46 (64%)	27 (66%)	18 (58%)
Femei	23 (41%)	26 (36%)	13 (31%)	13 (42%)
18-44 ani	20 (35%)	42 (58%)□	29 (71%)●	10 (32%)◇
≥45 ani	37 (65%)	30 (42%)□	12 (29%)●	21 (67%)◇

Notă: □ - diferenţă semnificativă între GC şi GS; ● - diferenţă semnificativă între GC şi GS1;

◇ - diferenţă semnificativă între GS1 şi GS2.

de cei de sex feminin în toate grupurile, fără diferență semnificativă între grupuri. Distribuind pacienții în grupuri de vârstă am stabilit predominarea pacienților din grupul de vârstă de până la 44 de ani în GS1 29 (71%) cazuri vs. 20 (35%) în GC și 10 (32%) în GS2 ($p < 0,001$), iar cei cu vârstă de peste 45 de ani au predominat fiind în aceeași proporție în GC 37 (65%) și GS2 – 21 (67%) vs. 12 (29%) în GS1, ($p < 0,001$), (Tabel 1).

Ponderea limfocitelor CD3+ a fost semnificativ mai redusă în GS2 vs. GC ($p < 0,001$) și GS1 ($p < 0,05$). Activitatea funcțională a limfocitelor T evaluată prin RTBL la PHA a fost semnificativ mai mică la pacienții din GS2 vs. GS ($p < 0,001$), fără diferențe semnificative între grupuri. RTBL la PPD a stabilit indicatori semnificativ diminuați în GS1 vs. GC ($p < 0,001$) și vs. GS2 ($p < 0,05$), (Tabel 2).

Ponderea limfocitelor B (CD19+) a fost semnificativ mai mare în toate grupurile cu TB-MDR față

de GC ($p < 0,001$ pentru toate grupurile). Concentrația imunoglobulinelor IgG și IgA au variat nesemnificativ în grupurile de studiu comparativ cu GC. Concentrația IgM a fost semnificativ mai mare la pacienții din GS vs. GS1 ($p < 0,05$). Concentrația anticorpilor antituberculoși (AAT) a fost semnificativ mai mare la pacienții în GS2 vs. GC ($p < 0,05$), fără diferențe semnificative între grupuri (Tabel 3).

Numărul de fagocite (NF) a fost semnificativ mai redus în GS2 vs. GC ($p < 0,001$) și GS1 ($p < 0,05$). Activitatea fagocitară a neutrofilelor a fost evaluată prin indicele fagocitar (IF) a fost cel mai diminuat în GS1 vs. GC, ($p < 0,001$) și față de GS2 ($p < 0,01$). Activitatea funcțională a neutrofilelor evaluată conform testului de reducere a sării de nitro-blue-tetrasolium (NBT) a fost aproximativ aceeași în toate grupele de pacienți (Tabel 4).

Tabel 2.

Caracteristica perturbărilor imunității celulare

Indicatori	GC (N=57)	GS (N=72)	GS1 (N=41)	GS2 (N=31)
	M±SD	M±SD	M±SD	M±SD
Limfocitele CD3 %)	61,6±0,96	54,6±0,74□	53,7±1,00●	56,2±1,01○◇
RTBL cu PHA (%)	62,8±0,72	57,8±0,78□	58,0±1,05 ●	60,1±1,16
RTBL cu PPD (%)	5,0±0,34	4,2±0,22□	3,9±0,27●	4,5±0,36◇

Notă: □ – diferență semnificativă între GC și GS; ● - diferență semnificativă între GC și GS1; ◇ - diferență semnificativă între GS1 și GS2.

Tabel 3.

Caracteristica perturbărilor imunității umorale

Indicatori	GC (N=57)	GS (N=72)	GS1 (N=41)	GS2 (N=31)
	M±SD	M±SD	M±SD	M±SD
CD19+ (%)	12,8±0,49	16,0±0,65□	15,6±0,79●	16,6±1,11○
IgG (g/L)	18,0±0,31	17,7±0,24	17,6±0,31	17,5±0,37
IgA (g/L)	3,2±0,11	3,3±0,06	3,4±0,08	3,3±0,09
IgM (g/L)	1,9±0,08	2,0±0,06	1,7±0,07	1,9±0,10 ◇
AAT (u.c.)	4,6±0,15	4,9±0,15	4,9±0,20	5,0±0,23 ◇

Notă: □ – diferență semnificativă între GC și GS; ● - diferență semnificativă între GC și GS1; ○ – diferență semnificativă între GC și GS2; ◇ - diferență semnificativă între GS1 și GS2.

Tabel 4.

Caracteristica perturbărilor rezistenței naturale.

Indicatori	GC (N=57)	GS (N=72)	GS1 (N=41)	GS2 (N=31)
	M±SD	M±SD	M±SD	M±SD
NF (%)	81,2±0,61	73,2±1,10□	72,1±1,20●	75,2±1,96 ○
IF (u.c.)	5,0±0,14	4,4±0,22□	4,1±0,14●	4,7±0,20 ◇
Testul de reducere a NBT (u.c.)	0,12±0,003	0,12±0,003	0,12±0,004	0,12±0,005

Notă: □ – diferență semnificativă între GC și GS; ● - diferență semnificativă între GC și GS1; ○ – diferență semnificativă între GC și GS2; ◇ - diferență semnificativă între GS1 și GS2.

Zemskov A.M. și coaut. (1995) (A.M. Земсков и соавт., 1995) au propus o metodă de evaluare a gradului de severitate a dereglărilor imune: Indicele pacientului/Indicele de referință (IR) pentru persoanele sănătoase - 1×100 [4]. Dacă valoarea calculată este negativă se determină „deficiența imună”, dacă valoarea este pozitivă se determină „hiperfuncția” sistemului imunitar. Plasarea valorilor în intervalul de la 1 la 33% corespunde gradului I (ușor perturbat), în intervalul de la 34 la 66% corespunde gradului II (moderat perturbat) al dereglărilor imune și mai mari de 66% - gradului III (sever perturbat), care necesită administrarea tratamentului imunocorector. În acest context propunem următorul procedeu de evaluarea a gradului perturbărilor rezistenței imune: A) conform duratei evoluției perturbărilor imune: perturbări fiziologice temporare ale reacțiilor imune (PFTRI), cu caracter fiziologic, ceea ce demonstrează capacitatea sistemului imun de a răspunde la antigene prin modificarea stării funcționale a celulelor imune, activității imunității naturale (fagocitoza) și/sau transferul imunității spre rezistența mediată celular cu activarea imunității specifice; deficiența sistemului imun (DSI) condiționată de perturbarea severă a funcționalității celulelor imune când acestea devin deficitare în a răspunde la acțiunea agenților imunostimulatori și au un caracter de durată; hiperfuncția sistemului imunitar (HSI) condiționată de modificarea semnificativă a reactivității imune, în rezultatul căreia funcția imună se intensifică. B) conform severității perturbărilor imune, deficitul se clasifică în: DSI gradul I – indicele este diminuat și variază în intervalul 17-33% față de valoarea medie a IR; DSI gradul II pentru intervalul 34-66% față de valoarea medie a IR; DSI de grad III pentru indicii mai mari de 66% față de valoarea medie a IR. Similar, hiperfuncția a fost clasificată în: HSI de grad I – indicele este mărit în intervalul 17-33% față de IR; HSI gradul II – pentru intervalul valoric 34-66%; HSI gradul III – indicii este mai mare de 66% față de IR. C) conform componentelor sistemului imun și rezistenței naturale implicate: celular, umoral, fagocitar și mixt. În cadrul procedurii descrise am propus stratificarea severității deficitului sistemului imun în: ușoară, fiind *induse* de antigenele micobacteriene, care în „formă pură” se identifică la pacienții pe un fundal premorbid neagravată; gravitate medie, convențional definite *premorbide*, deoarece se manifestă pe un fundal premorbid cu patologii/condiții inunosupresive ușoare; severă-se dezvoltă pe un fundal de inunosupresie gravă, cel mai frecvent *iatrogenă*, care apare sub acțiunea tratamentului cu inunosupresoare, glucocorticoizi sau medicamente antituberculoase. Pentru diferențierea perturbărilor imune am diferențiat hiperfuncția sistemului imun

(HSI) în două tipuri: ușoară, fiind compensatorie, caracterizată prin compensarea deficienței sistemului imun celular prin hiperfuncția sistemelor care conferă rezistență naturală (sistemul fagocitar) și imunității umorale; severă, cel mai frecvent fiind de tip alergic prin apariția manifestărilor de hiperstimulare compensatorie a sistemului imun umoral.

Fezabilitatea procedurii de determinare a gradului severității și tipurilor perturbărilor imune a fost evaluat pe întreg contingentul pacienților selectați. Am stabilit că în GC la 6 (10,5%) pacienți s-au identificat perturbări fiziologice ale reacțiilor imunologice, la 1 (2,4%) caz din GS2 și la 2 (6,5%) pacienți din GS1. Deci, PFSI sunt mai frecvente la pacienții cu TB sensibilă comparativ cu TB-MDR. Deficitul sistemului imun (DSI) s-a identificat la 23 (40,4%) cazuri din GC, la toți de gradul I, la 60 (83,3%) din GS, inclusiv 49 (81,7%) de gradul I, 10 (16,7%) de gradul 2 și la 2 (3,3%) de gradul 3. În GS1 s-a stabilit DSI la 34 (82,9%) pacienți, inclusiv la 27 (79,4%) de gradul 1, 8 (23,5%) de gradul 2 și 2 (5,5%) de gradul 3. În GS2- 26 (88,9%) pacienți au dezvoltat DSI, inclusiv 22 (84,6%) de gradul 1 și 2 (7,7%) de gradul 2. După nivelul de implicare a diferitor componente ale sistemului imun în GC la 21 (91,3%) s-a stabilit supresia sistemului imun celular (conform CD3+), asemenea la 54 (90,0%) din GS, 32 (94,1%) din GS1 și la 22 (84,6%) din GS2. Deficitul sistemului imun umoral (conform CD19+) s-a stabilit la 2 (8,7%) cazuri din GC, la 6 (10,0%) din GS, la 3 (8,8%) din GS1 și la 3 (11,5%) din GS2. Deficitul rezistenței naturale (conform numărului fagocitar) s-a constatat doar la pacienții cu TB-MDR, respectiv la 14 (23,2%) din GS, 9 (26,4%) din GS1 și 5 (19,2%) cazuri din GS2. De asemenea deficitul mixt s-a stabilit doar la pacienții cu TB-MDR, într-o proporție majoritară. Deci, deficiența imună, pe seama celei mediate celular s-a stabilit la majoritatea pacienților fără diferență în dependență de rezultatele TSM, fiind urmat de deficitul rezistenței naturale la fiecare al patrulea caz. Rezultatele confirmă că sistemul de protecție imună pe seama imunității celulare este mai sever suprimat, urmat de sistemul fagocitar și mai puțin impactat a fost sistemul umoral. Evaluând tipurile patogenetice ale DSI am constatat o predominare a pacienților cu DSI indusă în GC 17 (73,9), față de 22 (36,7%) din GS, 6 (17,7%) din GS1 și 16 (61,5%) din GS2. Concomitent DSI premorbid a predominat în GS1 la 20 (58,8%) față de 4 (17,4%) în GC și 6 (23,1%) din GS2. DSI iatrogenă s-a constatat într-o proporție mai mică în toate grupurile cu o pondere mai mare în GS1 8 (23,5%) față de 2 (8,7%) în GC. Starea hiperfuncțională a sistemului imunitar (HSI) s-a constatat la două treimi din toate grupurile cu o pondere mai mare în GS1 32(78,0%) față de 35

(61,4%) cazuri din GC. Gradul 1 al HSI a predominat în GC la 15 (42,9%) cazuri comparativ cu o proporție mult mai mică din celelalte grupuri. Ponderea pacienților cu HSI de gradul 2 nu s-a diferențiat între grupuri, iar cu gradul 3 au predominat la toți pacienții cu TB-MDR față de GC și în toate cazurile a fost activat sistemul umoral. Variantele patogenetice au fost diferit distribuite, cu predominarea celei compensatorii în GC față de toate grupurile cu TB-MDR și a celei alergice în toate grupurile cu TB-MDR față de GC.

ate cu un grad mai avansat la pacienții cu TB-MDR primară, fiind de tip compensator la pacienții cu TB sensibilă și alergică în TB-MDR.

Procedeele de determinare a severității și tipurilor de perturbări imune la pacienții cu TB pulmonară poate fi aplicat în evaluarea statutului imun.

Referințe:

1. World Health Organization. Tuberculosis Report, 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>

Tabel 5.

Caracteristica perturbărilor rezistenței naturale

	GC (N=57)	GS (N=72)	GS1 (N=41)	GS2 (N=31)
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
PFTRI	6 (10,5)	3 (4,2)	1 (2,4)	2 (6,5)
Deficiențele sistemului imun (DSI)				
DSI	23 (40,4)	60 (83,3)	34 (82,9)	26 (88,9)
Gradul I	23 (100,0)	49 (81,7)	27 (79,4)	22 (84,6)
Gradul II	0	10 (16,7)	8 (23,5)	2 (7,7)
Gradul III	0	2 (3,3)	2 (5,5)	0
Deficitul sistemului imun celular	21/ 91,3	54 (90,0)	32 (94,1)	22 (84,6)
Deficitul sistemului imun umoral	2 / 8,7	6 (10,0)	3 (8,8)	3 (11,5)
Deficitul rezistenței naturale	0	14 (23,3)	9 (26,4)	5 (19,2)
Deficitul mixt	0	50 (83,3)	30 (88,2)	20 (76,9)
Tipurile patogenetice ale DSI				
Indusă	17 (73,9)	22 (36,7)	6 (17,7)	16 (61,5)
Premorbidă	4 (17,4)	26 (43,3)	20 (58,8)	6 (23,1)
Iatrogenă	2 (8,7)	12 (20,0)	8 (23,5)	4 (15,4)
Hiperfuncția sistemului imuni (HSI)				
HSI	35 (61,4)	55 (76,4)	32 (78,0)	23 (74,2)
Gradul I	15 (42,9)	9 (16,4)	6 (18,8)	3 (13,0)
Gradul II	11 (31,4)	20 (36,4)	8 (25,0)	9 (39,1)
Gradul III	9 (25,7)	29 (52,7)	18 (56,3)	11 (47,8)
Hiperfuncția sistemului imun celular	0	0	0	0
Hiperfuncția sistemului imun umoral	35 (100,0)	55 (100,0)	32 (100,0)	23 (100,0)
Hiperfuncția rezistenței naturale	0	0	0	0
Hiperfuncția mixtă	0	0	0	0
Variante patogenetice HSI				
Compensatorie	29 (82,9)	29 (52,7)	11 (34,4)	18 (78,3)
Alergic	6 (17,1)	26 (47,3)	21 (65,6)	5 (21,7)

Concluzii:

Deficitul statutului imun este mai evident la pacienții cu TB-MDR, în special la cei cu rezistență secundară. Cele mai expuse factorilor supresivi au fost imunitatea mediată celular, urmată de rezistența naturală, apoi de imunitatea umorală. În TB sensibilă deficitul imunității celulare este mai frecvent indus de antigenele micobacteriene, iar în TB-MDR se dezvoltă pe un fundal premorbid.

Starea hiperfuncțională a sistemului imun umoral s-a constatat la două treimi din toate grupele evalu-

2. Centrul Național de Management în Sănătate. Notă informativă privind situația epidemiologică a tuberculozei, Chișinău, 2020. https://simetb.ifp.md/Download/tbreps_excel/raport_2020

3. Ministerul Sănătății. Protocolul Clinic Național Tuberculoza la adult, 2020. https://msmps.gov.md/wp-content/uploads/2021/02/PCN-123-Tuberculoza_la_adult.pdf

4. А.М.Земсков, В.А.Земскова, Н.В. Трофимова. Иммунология Инфекций. Изд. Кнорус, 2022. 218 с. ISBN: 978-5-406-09964-3.