

CZU: [616.233-007.64-022.7:579.873.21]

DOI: <https://doi.org/10.52692/1857-0011.2025.3-83.09>

FAGOCITOZA ÎN TUBERCULOZA PULMONARĂ ASOCIATĂ CU INFECȚIA COVID-19

Tatiana OSIPOV^{1,2}, asistent universitar, doctorandă

¹Disciplina de pneumologie și alergologie,

IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"

²IMSP Institutul de Pneumologie "Chiril Draganiuc", Chișinău, Republica Moldova

Rezumat.

În contextul persistenței pandemiei cauzate de infecție cu SARS-CoV-2, devine esențial studiul impactului infecției COVID-19 asupra evoluției tuberculozei (TB) pulmonare atunci când cele două patologii coexistă. Scopul cercetării a fost studierea caracteristicilor indicilor ai fagocitozei și ai activității microbicide a fagocitelor la pacienții cu TB pulmonară asociată cu COVID-19. În studiu au fost incluși 42 de pacienți: a) lotul de studiu (LS) – 21 de pacienți cu TB pulmonară și COVID-19, b) lotul de referință (LR) – 21 de pacienți cu TB pulmonară. Au fost evaluate: activitatea funcțională a neutrofilelor (AFN) prin testul NBT, indicele fagocitar (IF) și numărul fagocitar (NF), precum și activitatea fosfatazei acide și alcaline. Modificările activității funcțional-metabolice a granulocitelor neutrofile la pacienții cu TB pulmonară asociată cu COVID-19 se datorează reducerii activității fosfatazei acide și alcaline, a parametrilor testului NBT, a NF și a IF. Diminuarea acestor parametri în neutrofilele segmentate poate constitui un marker al suprainfecției virale, precum infecția cu COVID-19.

Cuvinte cheie: tuberculoză pulmonară, COVID-19, imunologie, fagocitoză, fosfatază acidă și alcalină.

Summary. Phagocytosis in pulmonary tuberculosis associated with COVID-19 infection.

In the context of the persistence of the pandemic caused by the new coronavirus infection, it becomes essential to study the impact of COVID-19 infection on the evolution of pulmonary tuberculosis (TB) when the two pathologies coexist. The aim of the research was to study the characteristics of indices of phagocytosis and microbicidal activity of phagocytes in patients with COVID-19-associated pulmonary TB. The study included 42 patients: a) research group – 21 patients with pulmonary TB and COVID-19, b) control group – 21 patients with pulmonary TB. In these patients, the functional activity of neutrophils used NBT test, phagocytic index (PI) and phagocytic number (PN), as well as the activity of acid and alkaline phosphatase were evaluated. Changes in the functional-metabolic activity of neutrophil granulocytes in patients with COVID-19-associated pulmonary TB were due to reduced acid and alkaline phosphatase activity, NBT test parameters, PN and PI. The reduction of these parameters in segmented neutrophils may be a marker of viral superinfection, such as COVID-19 infection.

Keywords: pulmonary tuberculosis, COVID-19, immunology, phagocytosis, acid and alkaline phosphatase.

Резюме. Фагоцитоз при туберкулезе легких в сочетании с COVID-19.

В связи с продолжающейся вспышкой новой коронавирусной инфекции приобретает большое значение исследование влияния инфекции COVID-19 на течение ТБ легких при совместном их сочетании. Цель исследования – изучить характеристики показателей фагоцитоза и микробицидной активности фагоцитов при туберкулезе легких в сочетании с COVID-19. В исследование включены 42 больных, которые составили: а) опытную группу – 21 пациент с туберкулезом легких в сочетании с COVID-19, и б) контрольную группу – 21 пациент с туберкулезом легких. У больных исследовали функциональную активность нейтрофилов в НСТ-тесте, фагоцитарное число и фагоцитарный индекс, активность кислой и щелочной фосфатазы. В основе сдвигов функционально-метаболической активности нейтрофильных гранулоцитов у больных туберкулезом лёгких в сочетании с COVID-19 лежат угнетение активности кислой и щелочной фосфатазы, показателей НСТ-теста, фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса. Снижение активности щелочной и кислой фосфатазы, и показателей НСТ-теста, фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса в сегментоядерных нейтрофилах крови при туберкулезе легких может быть признаком присоединившихся вирусных инфекций, таких как COVID-19.

Ключевые слова: туберкулез легких, COVID-19, иммунология, фагоцитоз, кислая и щелочная фосфатаза.

Introducere.

La sfârșitul anului 2019, un nou tip de virus a fost detectat în China, care poate provoca un focar de pneumonie virală. Apariția unui nou coronavirus confirmă faptul că bolile cauzate de acest grup de virusuri reprezintă o amenințare la adresa sănătății globale, datorită căreia necesită o monitorizare atentă [1,5,11]. SARS-CoV-2 afectează, la fel ca și TB practic toate organele și țesuturile, deoarece receptorii ACE2 de pe suprafața celulelor sunt amplasate în aproape toate tipurile de țesuturi. Infecția COVID-19 contribuie la o scădere a numărului de limfocite, deși mecanismul acestei reduceri nu a fost încă stabilit. A fost raportată, de asemenea, și o creștere a numărului de leucocite. Stările imunodeficienței secundare, un factor contributiv pentru dezvoltarea TB, au o relevanță semnificativă datorită creșterii accentuate a numărului de pacienți cu COVID-19. Imunopatogenia TB are multe în comun cu astfel de infecții virale, inclusive COVID-19. Prin urmare, cursul imunodeficienței secundare la pacienții cu TB pe fundal al infecțiilor virale poate fi semnificativ agravat. Imunodeficiențele secundare pot fi declanșate prin acțiunea următorilor factori: fizici, chimici, biologici (viruși, microorganisme) și psihosociali (stress, etc.). În prezent, pentru a trata în mod eficient pacientul, stabilirea în timp util a tipului de imunodeficiență secundară și a gradului de severitate este necesară. Infecția cu SARS-CoV-2 declanșează un răspuns imun local cu implicarea macrofagelor și monocitelor, care răspund la infecție, eliberând citokine și favorizând răspunsurile imune primare adaptive ale celulelor T și B. În unele cazuri apare un răspuns imun disfuncțional care poate provoca patologii pulmonare sau chiar sistemice severe [7]. La pacienții cu evoluție severă de COVID-19 a fost identificat un nivel semnificativ crescut de monocite periferice CD14+ și CD16+ comparativ cu bolnavii cu evoluție ușoară. Aceste celule secretă citokine inflamatorii, inclusiv MCP1, IP-10 și MIP1 α , care contribuie la dezvoltarea unui răspuns numit „furtună de citokine” [8]. În prezent, informația despre răspunsul imun înăscut la pacienții cu COVID-19 este limitată. Se presupune că manifestarea cheie a activării imune înăscute în COVID-19 este rezultatul creșterii numărului total de neutrofile, IL-6 și a proteinei C reactive (CRP) în sânge. Nivelul crescut de neutrofile în sângele periferic este asociate cu un prognostic nefavorabil pentru pacienții cu COVID-19. Activitatea neutrofilelor se caracterizează printr-o rată rapidă de fagocitoză, o intensitate sporită de generare a metaboliților activi care conțin oxigen. Neutrofilele eliberează o gamă destul de largă de enzime în spațiul extracelular care pot provoca distrugerea țesuturilor

[2,6,9]. Celulele imune (fagocitele) în procesul de fagocitoză, recunosc organismele patologice, determină caracteristicile antigenului, înglobează și digeră micobacteriile sau alți agenți patogeni. După intrarea în fagocitosum a *M. tuberculosis* are loc procesul de digestie cu ajutorul unui număr de enzime prezente în fagocit. Există două tipuri de granule în granulocitele neutrofile: cele primare care conțin fosfatază acidă și cele secundare care conțin fosfatază alcalină. Granulele secundare (specifice) fuzionează mai repede cu fagozomii. Fosfataza neutrofilă alcalină joacă un rol semnificativ în funcția antimicrobiană a neutrofilelor, facilitând migrarea și formarea formelor de oxigen active (specii reactive de oxigen), și accelerarea apoptozei în neutrofile. Datele publicate privind studierea stării sistemului fagocitar la bolnavii cu TB pulmonară în asociere cu infecțiile virale sunt limitate, în abordarea acestei problemă și reprezintă o premiză pentru studii detaliate în acest domeniu.

Scopul cercetării.

Studierea caracteristicilor indicilor ai fagocitozei și activității microbicide a fagocitelor la pacienții cu TB pulmonară asociată cu COVID-19.

Material și metode.

A fost realizat un studiu care a inclus 42 de pacienți: lotul de studiu (LS) – 21 de pacienți cu TB pulmonară în asociere cu COVID-19 și lotul de referință (LR) – 21 de pacienți cu TB pulmonară. În calitate de obiect al cercetărilor au fost utilizate limfocitele, neutrofilele și serul pacienților. LR a fost constituit din persoane practic sănătoase de gen și vârstă diferite. Pacienții au fost examinați înainte de faza intensivă a tratamentului pe baza următoarelor teste: 1) pentru aprecierea activității funcționale a neutrofilelor (AFN), în testul cu tetrazoliu-nitro-blue (NBT) s-a utilizat metoda propusă și modificată de B.H. Park [4]; 2) determinarea capacității de fagocitare a neutrofilelor s-au utilizat indicile fagocite (IF), numărul fagocitar (NF) [12]; 3) evaluarea enzimelor - fosfataza acidă (FAC) și alcalină (FAL) definită de A. I. Bodansk. Datele obținute au fost prelucrate utilizând programul Statistica (Criteriul Student, variația alternativă) și prezentate sub formă textuală și tabelară.

Rezultate și discuții.

În fiecare grup al studiului au fost incluși 21 pacienți, raportul bărbați:femei 1,1:1 printre care 10 femei și 11 bărbați, 11 pacienți au fost diagnosticați cu TB pulmonară infiltrată, 5 pacienți cu TB pulmonară diseminată. Vârsta medie a pacienților în LR a fost 41,0 \pm 2,95 ani, în LS - 39,9 \pm 2,83 ani. Durata medie a bolii în LR a fost 0,7 \pm 0,63 ani, iar în LS – 2,7 \pm 0,80 ani.

În LR au predominat cazurile noi de TB – 20 bolnavi, în LS – 9 pacienți caz nou. Numărul de leucocite la pacienții din ambele loturi a fost semnificativ crescut comparativ cu cei sănătoși ($p < 0,001$). Nivelul de neutrofile nucleare a fost semnificativ scăzut la pacienții din LR, comparativ cu cei sănătoși și din LS ($p < 0,05$). Nivelul de neutrofile nesegmentate la pacienții din LR a fost redus semnificativ comparativ cu cei sănătoși (tabelul 1)

Nivelul de eozinofile la pacienții din LR a fost semnificativ mai mare comparativ cu cei sănătoși ($p < 0,05$). Nivelul de limfocite la pacienții din LS a fost în mod fiabil redus semnificativ comparativ cu cei sănătoși și cei din LR ($p < 0,05$). Nivelul de monocite la pacienții din LR a fost crescut semnificativ comparativ cu cei sănătoși ($p < 0,01$) și la pacienții din LS ($p < 0,05$) (tabelul 1). Astfel, pentru pacienții cu co-infecția TB/COVID-19, a fost confirmată o scădere pronunțată a nivelului de limfocitelor și o deviere pronunțată a formulei leucocitare spre stânga. Datele obținute sunt în concordanță cu rezultatele altor studii [5,7], care de asemenea au raportat că manifestarea cheie a activării imunității înăscute în COVID-19 reprezintă o creștere a neutrofilelor totale, iar o evoluție severă a infecției este condiționată de limfocitopenie. Activitatea funcțională a neutrofilelor în testul NBT la pacienții din LS a fost semnificativ

mai mică ($p < 0,01$) decât la sănătoși și în mod fiabil mai mică decât la pacienții din LR ($p < 0,01$). Numărul de neutrofile la pacienții din LS a fost semnificativ mai mic ($p < 0,001$) decât la sănătoși și semnificativ mai mic decât LR ($p < 0,01$). IF al neutrofilelor la pacienții din LS a fost în mod semnificativ mai mic ($p < 0,001$) decât la sănătoși și semnificativ mai mic decât la pacienții din LR ($p < 0,01$). La pacienții cu co-infecția TB/COVID-19 există o scădere pronunțată a activității funcționale a neutrofilelor și a capacității de fagocitoză (tabelul 2).

Rata FAC la pacienții cu co-infecția TB/COVID-19 a fost de $41,8 \pm 1,30$ mcg/ml/oră, fiind semnificativ mai mică ($p < 0,05$) comparativ cu cei sănătoși. Rata FAC la pacienții din LR a fost mai mare – $47,6 \pm 1,59$ mcg/ml/oră și nu a fost diferită de cei sănătoși. Rata FAL la pacienții cu co-infecția TB/COVID-19 a fost de $31,6 \pm 0,66$ mcg/ml/oră, este în mod semnificativ mai mic ($p < 0,05$) decât la sănătoși. La pacienții cu TB, rata FAL a fost mai mare – $36,1 \pm 1,23$ mcg/ml/oră și nu diferă mult de rata la persoanele sănătoase. Investigarea conținutului componentelor sistemului microbicid, cum sunt FAC și FAL și activitatea funcțională și metabolică a neutrofilelor (testul NBT) la pacienții cu co-infecția TB/COVID-19 permite o evaluare a stării de rezistență nespecifică a organismului la diferite grupuri de pacienți.

Tabelul 1.

Formula leucocitară la pacienții examinați.

	Sănătoși (n-100)	LR (n-21)	LS (n-21)
Leucocite (x10 ⁹ /l)	6,0±0,12	8,3±0,56□	9,0±0,92□
N.segmentate (%)	65,3±0,33	56,9±2,68□	67,6±3,11●
N.nesegmentate (%)	1,8±0,11	1,1±0,30□	4,1±1,19●
Eozinofile (%)	1,8±0,10	3,9±0,71□	2,1±0,65□
Limfocite (%)	25,6±0,39	27,3±2,35	19,4±2,83□●
Monocite (%)	5,4±0,23	10,1±1,02□	6,5±1,13●

Nota: □ – diferență semnificativă între sănătoși și bolnavi

● - diferență semnificativă între grupurile de bolnavi

Tabelul 2.

Caracteristicile fagocitozei neutrofilelor la pacienții examinați.

	Sănătoși (n-50)	TB (n-21)	TB+COVID-19 (n-21)
NBT test (u. c.)	0,14±0,006	0,13±0,006	0,10±0,007●□
Numărul fagocitar (NF) (%)	76,9±0,86	73,9±1,80	61,1±2,63●□
Indicele fagocitar (IF) (u. c.)	4,61±0,17	5,3±0,56	3,2±0,27●□
FAC (mcg/ml/ora)	48,5±3,24	47,6±1,59	41,8±1,30●
FAL (mcg/ml/ora)	35,2±2,86	36,1±1,23	31,6±0,66●

Nota: □ – diferență semnificativă între sănătoși și bolnavi

● - diferență semnificativă între grupurile de bolnavi

Concluzii.

1. La baza modificărilor activității funcționale și metabolice a granulocitelor neutrofile la pacienții cu co-infecția TB/COVID-19 se află suprimarea activității fosfatazei acide și alcaline, indicatorilor testului NBT, a NF și a IF.

2. Scăderea activității FAL, FAC și indicatorilor testului NBT, NF și IF a neutrofilelor din sânge periferic în TB pulmonară pot servi drept markeri ai infecțiilor virale asociate, de exemplu, SARS-CoV-2.

Bibliografie.

1. Cui J., Li F., Shi Z. *Origin and evolution of pathogenic coronaviruses*. Nature Reviews Microbiology. 2019;17:181–92.
2. Genschmer K.R., Russell D.W. et al. *Activated PMN Exosomes: Pathogenic Entities Causing Matrix Destruction and Disease in the Lung*. Cell. 2019;176(1-2):113–126.
3. Ghinda S., Șincariova T., etc. *Micrometoda de determinare a activității catalitice a aldolazei în celule imune*. 1997. cnaa.md
4. Park B.H. et al. *Infection and Nitroblue-tetrazolium Reduction by Neutrophils*. The Lancet, 1968;11:532–534.
5. Song Z., Xu Y., Bao L., et al. *From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight*. Viruses. 2019;11(1):59.
6. Liu Y., Yang Y., Zhang C., et al. *Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury*. Sci China Life Sci. 2020;63(3):364–374.
7. Tay M.Z., Poh C.M., Rénia L., et al. *The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention*. Nat Rev Immunol. 2020;20(6):363-374.
8. Zhou Y., et al. *Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe COVID-19 patients*. Natl Sci. Rev. 2020;7(6):998–1002.
9. Абатуров О.С., Агафонова О. *Патогенез COVID-19. Здоров'я дитини*, 2020;15(2):133-144.
10. Вознесенский В.Л. *Первичная обработка экспериментальных данных*. Наука, 1968;84.
11. Горенков Д.В. и др. *Вспышка нового инфекционного заболевания COVID-19: β-коронавирусы как угроза глобальному здравоохранению*. Профилактика, диагностика, лечение. 2020;20(1):6–20
12. Павлович С.А. *Основы иммунологии*. Минск. Высшая школа. 1998: 114