

LIZATELE BACTERIENE TOPICE ÎN TERAPIA DE RECUPERARE A AFECȚIUNILOR RESPIRATORII LA COPII

EFFICACY OF BACTERIAL LYSATE IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

Rodica Selevestru, dr. med., asist. univ., **Svetlana Șciuca**, dr. hab. med., prof. univ., șef Clinică Pneumologie
Clinica Pneumologie, Departamentul Pediatrie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

Rezumat

În studiu au participat două loturi: lotul de bază – 46 elevi (clasa I-IV) cu astm bronșic comorbid cu infecții respiratorii și ORL, și lotul control – 40 elevi considerați sănătoși. Evaluarea concentrației IgA secretorie în secrețiile nazale pe fondul tratamentului cu lizate bacteriene locale la elevii din lotul de bază a constatat o creștere evidentă a nivelului de sIgA de la $161,5 \pm 18,9$ mg/L până la $265 \pm 28,1$ mg/L, ($p < 0,001$). La elevii lotului maror, care nu au urmat tratament de redresare imună concentrația sIgA din secrețiile nazale a fost apreciată la aceleași valori medii egale cu $178,4 \pm 23,1$ mg/L, ($p > 0,05$). Deci, până la tratamentul imunomodulator, în ambele loturi au fost constatate concentrații joase a sIgA în secrețiile nazale, ce confirmă persistența unui conflict imunologic umoral antiinfecțios alterat în cazul inflamației alergice cronice. Concentrația mult mai sporită peste trei săptămâni în lotul de bază, care au primit tratament imunomodulator, este interpretată ca rezultatul de redresare imună la contactul cu doze mici și continue ale lizatelor bacteriene. Mecanismele infecțios-alergice cronice din astmul bronșic asociat cu infecțiile respiratorii și ORL afectează sistemul imun umoral, care se manifestă prin imaturitatea factorilor de protecție locală. Lizatele bacteriene sunt capabile să contribuie la restabilirea barierei imunologice locale cu stimularea secreției sIgA în secrețiile nazale la acești elevii.

Summary

The study consisted of two lots: the basic group – 46 pupils (class I-IV) with comorbid bronchial asthma with respiratory infections and ENT and the control group – 40 students considered healthy. In the study group, the determination of the concentration of sIgA in nasal secretion revealed an increased concentration of sIgA levels after the administration of bacterial lysates $161,5 \pm 18,9$ mg/L – $265 \pm 28,1$ mg/L, ($p < 0,001$). In schoolchildren from the control group, which did not receive a local treatment with immunomodulators, the average value of sIgA in nasal secretion was equal to $178,4 \pm 23,1$ mg/L ($p > 0,05$). So, before the immunomodulator treatment, in both groups, the levels of sIgA in nasal secretion was below the norm. This fact proves the presence of humoral immunologic disorders, in case of chronic allergic inflammation. After 3 weeks of immunomodulator treatment, the higher concentration of sIgA in the control group is evaluated as an immune rehabilitation, at a low and continuous dose contact of bacterial lysates. A non-allergic mechanism in BA, in association with respiratory infection and pathology ENT, affects humoral immune system. This is manifested by the underdevelopment of the factors of the local protection. Bacterial lysates possess the ability to restore the local immunological barrier by stimulating the sIgA in nasal secretion in schoolchildren.

Introducere

IgA secretorie constituie un dimer din două molecule legate cu componentul secretor. Funcția acestei imunoglobuline este de a menține bariera imunologică locală primară la nivelul mucoaselor. Are capacitatea a se lega cu toxinele efectuând neutralizarea lor, preîntâmpină adezia microorganismelor în celulă cu ulterioara inhibiție a replicării virale.

Studiile de specialitate confirmă diminuarea activității factorilor de protecție nespecifici ai organismului și ai imunității locale în patologia respiratorie alergică cronică în funcție de condițiile habituale ale acestor copii. Prin confirmarea unui teren imun local alterat la acești copii este binevenită implementarea noilor tactici terapeutice. Conform recomandărilor internaționale, abordarea măsurilor de profilaxie prevede 3 nivele: primară, secundară și terțiară.

Profilaxia secundară subînțelege un complex de măsuri medicale, sociale, sanitar-igienice, psihologice îndreptate spre un diagnostic precoce al astmului bronșic la copiii cu

persistența sensibilizării alergice în scopul preîntâmpinării evoluției maladiei. Profilaxia secundară este îndreptată spre depistarea precoce a maladiei, când intervențiile asimptomatice precoce pot opri evoluția bolii sau intervenția după ce boala este detectată și care poate schimba cursul normal al bolii. Determinismul etiopatogenetic infecțios impune aprecierea factorilor exogeni, responsabili de exacerbarea maladiei [3].

Studiile din ultimii ani au definit astmul bronșic ca un grup de boli multifactoriale, în care etiopaogeneza este influențată semnificativ de mecanismele imunologice, inflamatorii și clinica este transformată sub influența alergenilor, declanșatorilor și/sau infecțiilor [2, 7, 8].

Un factor suplimentar care predispune sensibilizării sunt infecțiile respiratorii care perturbă funcțiile de barieră ale epiteliului tractului respirator, conducând la o creștere a permeabilității și a hipersensibilității receptorilor iritanți în stratul submucosal al bronhiilor. Utilizarea terapiei imunotropice și a lizatelor bacteriene la copiii cu astm bronșic

are drept scop restabilirea factorilor de protecție respiratorie naturală, dezvoltarea imunității adaptive la cele mai frecvente infecții respiratorii și scăderea semnificației declanșatoare a acestora din urmă [1, 5].

Prezența diferitelor variante fenotipice, semnificația declanșării și semnificației etiologice în implementarea bolii, în absența unor abordări unificate în evaluarea fezabilității și eficacității utilizării lizatelor bacteriene în terapia complexă a astmului bronșic la copii au determinat relevanța și scopul acestui studiu.

Obiectiv

Aprecierea efectului imunomodulator al lizatelor bacteriene prin testarea IgA secretorie din secrețiile nazale la elevii cu astm bronșic comorbid cu infecții respiratorii și ORL.

Materiale și metode

Eșantionul de studiu constituit din lotul de bază (experimental) – 46 de elevi cu astm bronșic de diferit grad de severitate comorbid cu infecția căilor respiratorii și patologia ORL. Grupul de control au constituit 40 de elevi ce nu se află la evidența medicului de familie cu maladii cronice (fișa medicală de ambulator – F112/e), iar examenul obiectiv nu a constatat schimbări patologice din partea organelor și sistemelor.

Selectarea loturilor de bază și de control a fost efectuată randomizat. Tratamentul copiilor cu astm bronșic a fost efectuat conform criteriilor GINA, iar tratamentul antibacterian a fost implicat după indicații, în funcție de maladia asociată (sinuzită, amigdalită, traheobronșită acută). Diferența dintre loturi a fost implicarea tratamentului cu lizate bacteriene locale (IRS₁₉ - Franța, Solvay Pharmaceuticals), câte un puf în fiecare nară de două ori pe zi, pe parcursul a 3 săptămâni, în remisiunea astmului bronșic, concomitent cu tratamentul de bază al astmului bronșic.

Determinarea IgA secretorie din secrețiile nazale a fost realizată analogic prin metoda imunoenzimatică „BECT” (Rusia). Principiul de lucru este identic cu determinarea altor Ig serice prin metoda fermentativă. Secrețiile nazale se colectau timp de 5 minute după prelucrarea cavității nazale cu 3 ml sol. salină 2%. Secrețiile colectate se centrifugau la viteza de 3000 rotații/min timp de 15 minute și se păstrau la temperatura – 20°C. După decongelare secrețiile nazale se diluau cu sol. NaCl 0,9% 1:1, apoi urma diluția 1:2000 cu soluția standardizată, pentru ca concentrația IgA secretorie în analit să nu depășească 20 mg/L. Cantitatea IgA secretorie se exprimă în mg/L.

Baza de date a materialului acumulat a fost procesat statistic operând tehnici electronice de evaluare computerizată a gradului de relaționare între parametrii de sănătate a elevilor din eșantionul de studiu, utilizând programele *Microsoft Excel*, *Epi Info* – 3,5 și *EpiMax Table*.

Rezultate și discuții

Concentrația sIgA din secrețiile nazale la copiii cu astm bronșic din studiu este de 169,5±16,3 mg/L, comparativ cu concentrația sIgA la copiii sănătoși – 295±20,9 mg/L, (p<0,001). Datele obținute permit a constata că bariera imunologică primară, la contactul cu infecția, la copiii cu astm bronșic, suportă schimbări grave comparativ cu copiii sănătoși. Probabil dereglările imunologice cu predominarea limfocitelor T2 la copiii cu astm bronșic favorizează perturbarea răspunsului antiinfecțios local, manifestat prin micșorarea concentrației de sIgA din secrețiile nazale (figura 1).

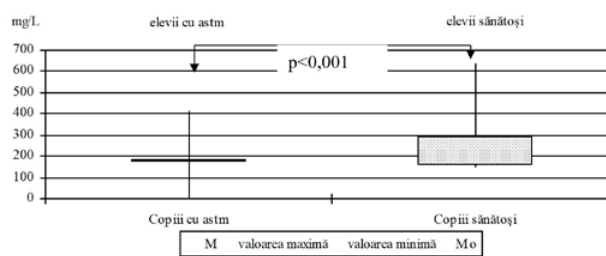


Fig. 1. Aprecierea concentrației IgA secretorii din secrețiile nazale la elevii din studiu

Aprecierea utilității determinării concentrației sIgA din secrețiile nazale, pentru evidențierea elevilor cu modificări imunologice locale, a fost preconizată prin realizarea curbei ROC (receiver operator characteristics), care este o modalitate excelentă de comparare a testelor de diagnostic.

Tabelul 1

Valorile tabelului 2 x 2 ale modificărilor imunologice locale în funcție de concentrația sIgA din secrețiile nazale [6]

Valoarea nivelului micșorat al sIgA (mg/L)	Sensibilitatea, %	Specificitatea, %	VPP, %	VPN, %
<100	34,8 (27,8-42)	100	100	57,1
<150	45,7 (38,4-53)	92,5 (88,3-96,7)	87,5	59,7
<200	69,6 (62,8-76,4)	70 (62,8-77,2)	72,7	66,7
<250	73,9 (67,5-80,3)	52,5 (44,6-60,4)	64,2	63,6
<300	87,9 (83,1-92,7)	40 (32,3-47,7)	62,5	72,7
<350	93,5 (89,9-97,1)	32,5 (25,1-39,9)	61,4	81,3
<400	97,8 (95,6-100)	20 (13,7-26,3)	58,4	88,9
<450	100	12,5 (7,3-17,7)	56,8	100

Atunci când sensibilitatea testului este egală cu 34,8%: 95%CI, 27,8-42, pentru un nivel limită al sIgA mai mic de 100 mg/L, specificitatea este maximă, egală cu 100%, ce confirmă concentrații mai mari de 100 mg/L la toți copiii din lotul de control. Astfel, 1-specificitatea, care crește paralel cu sporirea sensibilității (tabelul 1) determină concentrația sIgA mai mică de 100 mg/L la nici un copil condiționat sănătos. De menționat că doar la 7,5±4,2% elevi din lotul de control s-a confirmat nivelul sIgA mai mic de 150 mg/L. Deci, concentrația scăzută a sIgA relativ mai frecvent întâlnită la elevii lotului de control este la un nivel limită mai mic de 200 mg/L, pentru care se observă, respectiv, creșterea sensibilității egală cu 69,6%: 95%CI, 62,8-76,4, ce denotă probabilitatea crescută a prezenței acestei concentrații la elevii lotului de bază (la 32 din 46 elevi). Consecutivitatea interpretărilor ulterioare ale modificărilor imunologice locale conform tabelului 2 x 2 relatează o sensibilitate maximă a testului la concentrația sIgA mai mică de 450 mg/L. Acronimul acestui nivel limită al sIgA este *SnNO*ut, care confirmă că nici un elev cu astm bronșic nu are concentrații mai mari de 450 mg/L și *viceversa*, specificitatea egală cu 12,5%: 95%CI, 7,3-17,7 constată numărul elevilor din lotul de control care au concentrații mai mari de 450 mg/L. Astfel, repercusiunile inflamației cronice ale sistemului respirator la elevii din lotul de bază induc o imunodeficiență locală manifestată prin nivelul scăzut al concentrației sIgA din secrețiile nazale, ceea ce nu este observat la elevii lotului fără astm bronșic, la care sistemul imun este capabil să mențină o barieră imună locală funcțională la contact cu nocivitățile din mediu.

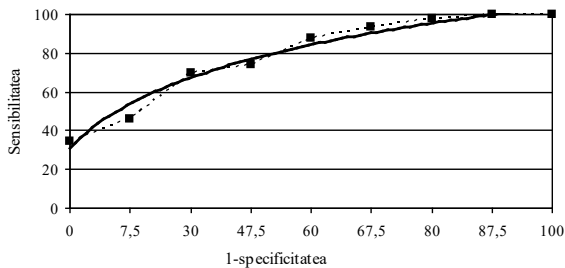


Fig. 2. Curba ROC a modificărilor imunologice locale în funcție de concentrația sIgA din secrețiile nazale [6]

O reflectare a identificării modificărilor locale în funcție de concentrația sIgA din secrețiile nazale poate fi suprafața situată mai jos de nivelul curbei ROC egală cu 0,72. În studiul nostru rezultatele obținute denotă nivelul inițial al unui test corect (figura 2).

Imunoreactivitatea nespecifică ca parte componentă a unui sistem foarte complex, realizează manifestări mai puțin specifice. Tentativa de a realiza mecanismele de protecție induce, adesea, imperfecțiuni de recuperare cu posibilități minime de selectare ale unei tactici reușite.

Confirmarea infecției la copiii cu astm bronșic impune a suspecta rolul ei în agravarea maladiei sau posibil rolul de *trigger* în apariția acceselor de astm bronșic la elevi. În acest scop a fost realizată selecția aleatorie proporțională a elevilor cu astm bronșic și comorbiditate infecțioasă respiratorie superioară și ORL. În studiu a fost utilizat remediul imunomodulator din lizatele bacteriene cu proprietăți antigenice ale florei pneumotrope (IRS₋₁₉), administrat aerol nazal a câte un spre de două ori pe zi, pe parcursul a trei săptămâni.

Lizatele bacteriene atenuate prin mecanismul imunomodulator favorizează dezvoltarea memoriei imunologice. La interacțiunea macroorganismului cu dozele mari de alergeni, în cazul contactului direct cu antigenul viu, dezvoltă răspunsul imunologic propriu-zis, cu implicarea limfocitelor T. Scopul studiului, însă, preconizează a supune copiii cu astm bronșic la un contact repetat în doze mici (lizate bacteriene atenuate), pentru o implicare maximală a limfocitelor B și dezvoltarea ulterioară a memoriei imunologice. Concentrația maximă a limfocitelor B specifice antigenilor din lizatele bacteriene se acumulează la 3 săptămâni. Răspunsul imun Ag-Ac este realizat anume la nivelul poarta de intrare. Și pentru realizarea unui

răspuns complet este binevenită funcționarea satisfăcătoare a sistemului imun celular și umoral [4].

Evaluarea concentrației IgA secretorie în secrețiile nazale pe fundalul tratamentului cu lezate bacteriene locale la elevii din lotul experimental a constatat o creștere evidentă a nivelului de sIgA de la $161,5 \pm 18,9 \text{ mg/L}$ până la $265 \pm 28,1 \text{ mg/L}$, ($p < 0,001$). La elevii lotului martor, care nu au urmat tratamentul de redresare imună, concentrația sIgA din secrețiile nazale a fost apreciată peste 3 săptămâni la aceleași valori medii egale cu $178,4 \pm 23,1 \text{ mg/L}$, ($p > 0,05$) (figura 3). Aprecierea inițială a concentrației sIgA la elevii cu astm bronșic din loturile de studiu a stabilit o diferență ce poate fi neglijată.

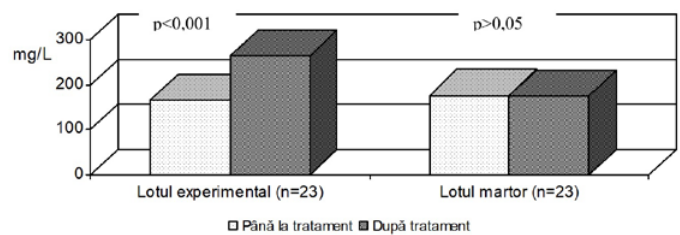


Fig. 3. Aprecierea concentrației sIgA din secrețiile nazale, la elevii cu astm, în funcție de tratamentul cu lizate bacteriene

Concentrația inițială a sIgA foarte scăzută la copiii cu astm din ambele loturi se poate aprecia ca o reacție compensatorie, dar care denotă imaturitatea factorilor de protecție în cazul inflamației alergice cronice. Secreția mult mai sporită, peste trei săptămâni, în lotul de elevi care au primit tratament, este interpretată ca o redresare treptată continuă în doze mici a imunității locale, care contribuie la restabilirea barierei imunologice locale capabile.

Concluzii

Aprecierea concentrației IgA secretorii din secrețiile nazale este o metodă utilă în aprecierea modificărilor imune locale la copiii cu astm bronșic. Mecanismele infecțios-alergice cronice din astmul bronșic asociat cu infecțiile respiratorii și ORL afectează sistemul imun umoral, care se manifestă prin imaturitatea factorilor de protecție locală. Lizatele bacteriene sunt capabile să contribuie la restabilirea barierei imunologice locale cu stimularea secreției sIgA în secrețiile nazale la acești elevii.

Bibliografie

- BELLOU A, SCHAUB B, TING L, FINN W. Toll receptor mediated allergic responses: Interaction with dendritic cells, T cells and mast cells. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003; 3 (6): 487–494
- SULTANOVA N. Citokine și inflamații 2011, 10 (1), 18–23.
- HOLGATE S.T. Lesson learnt from epidemic of asthma. *QJ Med.* 2004, vol. 97, p. 247–257
- MARTIN L.D., ROCHELLE L.G., FISHER B.M.. Airway epithelium as an effector of inflammation: molecular regulation of secondary mediators. *Eur. Respir. J.*, 1997, vol.10, p.2139–2146
- MATRICARDI P., BJORKSTEN B., BONINI S. et al. Microbial products in allergy prevention and therapy. *Allergy* 2003; 58: 461–471
- SELEVESTRU R. Evoluția și controlul astmului bronșic la copiii de vârstă școlară. *Teză de doctor în medicină.* 2010. Chișinău, 172 p.
- STEWART J., LEVINE MD, SALLY E., WENZEL MD *Ann Intern Med.* 2010, 152 (4), 232–237
- TRUYEN E., COTEUR L., DILISSEN E. et al. *Thorax* 2006, 61, 202–208.