

Liuba Neamțu
NIVELUL INTERLEUKINELOR LA COPII ÎN AFECȚIUNILE BRONHOOBSTRUCTIVE ACUTE
DE ETIOLOGIE MICOPLASMICĂ

USMF "Nicolae Testemițanu", Departamentul Pediatrie (director – dr. hab. medicină, prof. univ. N. Revenco)

SUMMARY

SERUM INTERLEUKIN LEVELS OF IN CHILDREN WITH ACUTE M. PNEUMONIAE
BRONHOOBSTRUCTIVE DISEASES

Key words: *Mycoplasma infection, bronchoobstructive diseases, immunological changes.*

Aim of our study was to evaluate changes of the interleukin 2 (IL-2) and interleukin 4 (IL-4) in the peripheral blood of children with *Mycoplasma pneumoniae* bronchoobstructive diseases.

Material and Methods. The study included 33 children, aged 6 months - 7 years, with pneumonia and wheezing. Changes of IL-2 and IL-4 in peripheral blood in acute *Mycoplasma pneumoniae* infection were evaluated. Levels of *Mycoplasma pneumoniae*-specific antibodies (IgM, IgG), the peripheral blood concentrations of IL-2 and IL-4 were determined in serum samples obtained at enrollment from all 33 children that were tested by ELISA.

Results. There were two study visits: first at admission and the second one – after 1 month. Twenty patients completed the study group with *Mycoplasma*-positive infection and 13 children completed the control group - *Mycoplasma*-negative infection. IL-2 levels in children with *Mycoplasma*-positive bronchopulmonary disease was $31,80 \pm 2,26$ pg/ml and in *Mycoplasma*-negative group $39,27 \pm 3,17$ pg/ml, IL-4 levels was $46,92 \pm 2,93$ pg/ml versus $52,36 \pm 2,17$ pg/ml, respectively. After 1 month in *Mycoplasma*-positive group IL-2 levels had increased ($39,68 \pm 6,84$ pg/ml). No significant changes were observed for IL-4 values in the period of one month after the admission ($47,75 \pm 2,19$ pg/ml).

Conclusion. There was observed an imbalance of the immune response with significant decrease of IL-2 levels and to a lesser extent of IL-4 in children with *M. pneumoniae* infection at the acute phase in our study, suggesting necessity of administration of therapeutic program for control of infectious inflammatory process in *Mycoplasma* bronchoobstructive diseases.

РЕЗЮМЕ

УРОВЕНЬ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ БРОНХООБСТРУКТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ
МИКОПЛАЗМЕННОЙ ЭТИОЛОГИИ

Ключевые слова: микоплазменная инфекция, бронхообструктивный синдром, иммунологические изменения.

В исследование были включены 33 ребёнка, в возрасте 6 месяцев-7 лет, с диагнозом пневмония и обструктивный бронхит, для изучения влияния микоплазменной инфекции на уровень ИЛ-2, ИЛ-4. Было предусмотрено обследование пациентов при поступлении и повторное обследование через 1 месяц. Уровень ИЛ-2 в сыворотке крови детей с микоплазменной инфекцией составлял в среднем $31,80 \pm 2,26$ пг/мл, а в группе контроля – $39,27 \pm 3,17$ пг/мл. Значение содержания в крови ИЛ-4 в исследуемой группе было $46,92 \pm 2,93$ пг/мл и в группе контроля – $52,36 \pm 2,17$ пг/мл.

Introducere. Infecțiile acute ale tractului respirator inferior sunt printre cauzele principale care prevalază în structura morbidității la copii, fiind și una din cauzele frecvente în indicele de mortalitate infantilă. Diagnosticul etiologic diferențial al afecțiunilor bronhopulmonare este o problemă actuală a pneumologiei pediatrice, iar rolul infecțiilor atipice constituie un subiect actual al cercetărilor în respirologia contemporană. Numărul mare de cercetări în domeniu, efectuate pe parcursul ultimelor decenii, a evidențiat obiectivul principal de elaborare a programelor de diagnostic și

management în infecțiile respiratorii cu *Mycoplasma*. Morbiditatea înaltă prin infectarea cu *Mycoplasma* se atestă în grupul copiilor de vârstă școlară și adolescenți, iar la copiii sub 5 ani se consideră o infecție cu pondere etiologică minoră. Studii recente au demonstrat că preșcolarii mici sunt expuși în măsură egală ca și copiii de 5-15 ani, infectării și dezvoltării maladiilor sistemului respirator cauzate de *M.pneumoniae* [10]. Procesul infecțios poate fi *trigger*-ul bronhospasmului, iar microorganismele atipice (*M.pneumoniae*) – alergenii cauzal-determinanți, care pot favoriza insta-

larea și persistența hiperreactivității bronșice. Infecția micoplasmică poate induce o anergie imună tranzitorie în stadiul acut al infecției [7]. Pentru eliminarea micoplasmei este necesară activarea compensatorie a imunității umorale. *Mycoplasma* produce nu numai deteriorarea epiteliului bronhial și alveolar, dar și favorizează dezvoltarea reacțiilor imunotisulare în pulmonii. În momentul adsorbției micoplasmei pe suprafețele epiteliului, sistemul imun produce fenomene diverse manifestate prin sinteza anticorpilor specifici și activarea mecanismelor imune celulare care în organismul copilului deseori sunt imperfecte [12].

Veriga principală a patogeniei în afecțiunile pulmonare este dereglarea între imunitatea celulară și cea umorală, ceea ce determină o reacție inflamatorie imperfectă. Infecția micoplasmică se realizează prin inhibiția marcantă a sistemului imun T-celular și mai puțin a proceselor de fagocitoză, prin disfuncții imune și activarea policlonală a limfocitelor, generează procese inflamatorii cronice, astfel contribuind la infecție secundară cu alți germeni și totodată generează o hiperreactivitate bronșică cu producerea bronhospasmului. Se presupune că hiperreactivitatea bronșică poate fi cauzată de inflamația de tip celular cu eliberarea citokinelor locale fără implicarea mecanismelor imunologice IgE-dependente [4,5]. Dezvoltarea răspunsului imun celular sau umoral în cadrul proceselor inflamatorii la copiii cu infecții bronhopulmonare acute este determinată de intensitatea reacțiilor de sinteză a citokinelor.

Diagnosticul precoce al infecției cu agenți atipici are o importanță majoră pentru selectarea tratamentului corect și este o sarcină dificilă cauzată nu numai de accesul redus la metodele disponibile, dar și de interpretarea rezultatelor obținute. Determinarea imunității umorale, celulare în cursul unei infecții cu *Mycoplasma* permite de a studia efectele induse de acest microorganism asupra organismului-gază.

Scopul studiului a fost aprecierea nivelului seric al IL-2, IL-4 la copiii cu infecția micoplasmică în afecțiunile bronhoobstructive acute.

Materiale și metode. Studiul efectuat a inclus 33 copii, având vârsta de la 6 luni până la 7 ani (17 băieți și 16 fete), cu afecțiuni bronhopulmonare acute (pneumonie asociată cu bronșită acută obstructivă). Criterii de excludere au constituit: malformațiile congenitale pulmonare, cardiace, ale sistemului nervos central. Pneumonia a fost confirmată prin efectuarea explorărilor radiologice. Bronșita obstructivă a fost diagnosticată prin prezența episoadelor de *wheezing* declanșate de factori infecțioși, mai rar noninfecțioși la copiii mici și de vârstă preșcolară.

Toți copiii din studiu au fost evaluați la prezența infecției *M.pneumoniae* prin utilizarea metodei „ИФА-Мико-пневмо-IgM și ИФА-Мико-пневмо-IgG, „ЭКОлаб” (metoda imunoenzimatică cantitativă pentru aprecierea nivelului seric al IgM și IgG speci-

ifice antimicoplasmice). Metoda furnizează combinația unică de sensibilitate, specificitate și aplicabilitate practică pentru detecția unor antigeni sau a anticorpilor [9,10,11]. La baza tehnicii stă o înlănțuire de reacții, în care primul element, anticorpul de tip IgM sau tip IgG, respectiv, este imobilizat pe un suport solid – placa de polistiren, iar al doilea element al reacției, la rândul său anticorpul anti-IgM sau IgG, este legat de primul printr-o reacție specifică antigen-anticorp. Ultimul element al reacției este un reactiv marcat enzimatic cu peroxidază în cadrul unui conjugat, care va interacționa cu complexul format din primii doi reactanți, tot printr-o reacție imună specifică. Enzima reținută în godeu acționează degradativ pe un cromogen, în color (tetrabenzidină). Degradarea substratului în care enzima antrenează oxidarea cromogenului care devine un compus colorat în albastru, ce urmează a fi detectat spectrofotometric la o lungime de undă corespunzătoare și se exprimă în DO. În acest caz, există o relație directă între cantitatea de anticorpi din probă și valoarea DO [6].

În studiul nostru nivelul seric al IL-2, IL-4 a fost apreciat prin metoda *ELISA* tip „sandwich” (Интерлейкин-2, Интерлейкин-4 ИФА-Бест, Россия). Concentrațiile IL-2 și IL-4 pot fi determinate prin intermediul curbei standard. La 8 copii cu infecția *M.pneumoniae* pozitivă la o lună după administrarea antibioterapiei cu macrolide a fost reevaluat nivelul IL-2, IL-4.

Rezultate. Studiul a preconizat evaluarea primară și repetată la o lună a pacienților incluși în cercetare. Din numărul total de copii examenul serologic cu studierea anticorpilor specifici la infecția *M.pneumoniae* a confirmat rezultate pozitive în 20 cazuri (lotul de studiu) și lotul martor cu rezultate serologice negative la infecția micoplasmică a inclus 13 pacienți.

La copiii cu maladii bronhoobstructive de etiologie *M.pneumoniae* nivelul valorilor serice ale imunoglobulinelor specifice era semnificativ ($p < 0,01$) majorat, fiind un criteriu etiologic de certitudine pentru această infecție atipică. Astfel, nivelul seric al IgM a constituit $0,73 \pm 0,13$ (cut-off $0,67 \pm 0,02$), iar concentrația IgG specifice a fost de $1,19 \pm 0,13$ (cut-off $0,53 \pm 0,02$) în lotul copiilor cu infecție bronhopulmonară micoplasmică. În lotul martor la copiii cu pneumonie comorbidă cu bronșită obstructivă nivelul seric al anticorpilor specifici antimicoplasmici IgM s-a instalat la valori normale, constituind $0,29 \pm 0,04$ (cut-off $0,66 \pm 0,05$), la fel ca și anticorpii de clasa IgG, care erau sub limitele concentrațiilor diagnostice pentru etiologia studiată – $0,26 \pm 0,04$ (cut-off $0,5 \pm 0,03$) (fig.1).

Nivelul concentrației IL-2 în ser la copiii cu infecția micoplasmică a constituit $31,80 \pm 2,26$ pg/ml, care este micșorat semnificativ ($p < 0,05$) comparativ cu valorile IL-2 la copiii din lotul martor – $39,27 \pm 3,17$ pg/ml. Cercetarea IL-4 la pacienții micoplasma-pozitivi a relevat valori serice de $46,92 \pm 2,93$ pg/ml versus

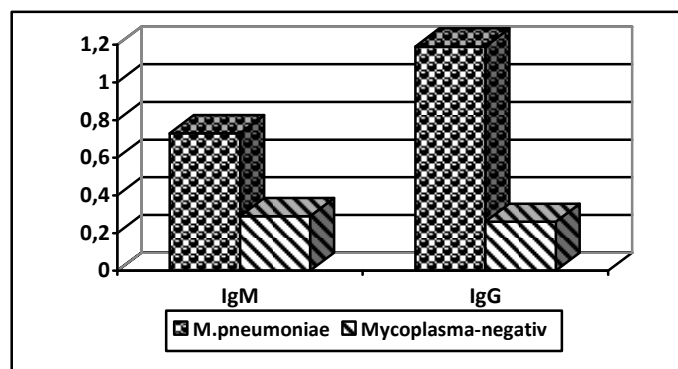
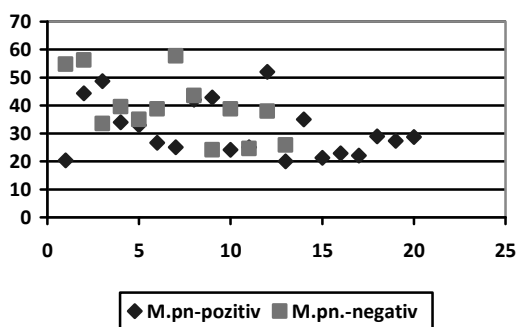


Fig.1. Nivelul anticorpilor specifici la *M.pneumoniae* la copiii cu maladii bronhoobstructive



M.Fig.4 Nivelul seric al IL-4 în infecția *M.pneumoniae*

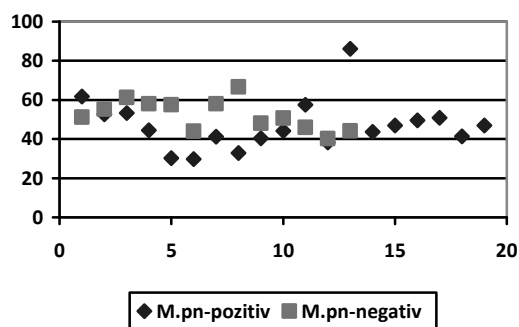


Fig.3 Nivelul seric al IL-2 în infecția pneumoniae

52,36±2,17pg/ml la copiii cu maladii bronhopulmonare de etiologie nonmicoplasmică.

În perioada de reevaluare, după o lună, nivelul seric al IL-2 la copiii cu infecția micoplasmică s-a majorat până la 39,38±6,84 pg/ml, iar valorile IL-4 nu s-au modificat semnificativ și au constituit 47,75±2,19 pg/ml.

Discuții. Studii recente au demonstrat o rată înaltă de îmbolnăvire la copii de diferite vârste (atât copii de vârstă mică cât și copii de 5-15 ani) cu infecții bronhopulmonare inclusiv *M.pneumoniae*. Infecția micoplasmică nu are semne patognomice, ceea ce face diagnosticul clinic foarte dificil de unde rezultă imposibilitatea aplicării tratamentului empiric cu antibiotice specifice. Semnele clinice, datele radiologice poartă un caracter orientativ în suspectarea pneumoniei de etiologie micoplasmică, ceea ce argumentează efectuarea investigațiilor serologice specifice pentru diagnosticul etiologic. Rezultatele studiului au confirmat informativitatea investigațiilor serologice pentru diagnosticul etiologic al infecției cu *M.pneumoniae* la copii cu pneumonie și bronșită obstructivă.

Citokinele inflamatorii sunt implicate cu rol important în fenomenele patogenice din pneumonii, determină intensitatea, calitatea și evoluția proceselor infecțioase. Interleukina 2 este citokina principală implicată în declanșarea unui răspuns imun eficient, fiind și factorul esențial al reglării răspunsului imun. Pneumoniile induse de infecția micoplasmică evoluează cu o reacție inflamatorie inertă a interleukinei IL-2,

ceea ce ar sugera o ineficiență a mecanismelor imunologice celulare T-mediate la copiii din acest studiu. Rezultatele studiului nostru au demonstrat că nivelul IL-2 în infecția micoplasmică este redus, comparativ cu valorile IL-2 la copiii micoplasma-negativi, ceea ce corespunde rezultatelor obținute de Young Yull et al. (nivelul seric al IL-2 la copiii cu infecție micoplasmică a constituit 82,389±pg/ml, la copiii micoplasma-negativi 112,153±42,838pg/ml și la copiii sănătoși – 121,482±46/pg/ml) [11]. Acești autori relatează că nivelul IL-2 la copiii micoplasma-positivi este majorat doar în lavajul bronho-alveolar vs valorile copiilor sănătoși, dar nu comparativ cu grupul de copii care suportă infecții pulmonare de altă etiologie (22,6±7,8pg/ml și 26,2±9,2pg/ml, respectiv).

Rezultatele privind sinteza IL-4 în cadrul proceselor infecțioase la copii sunt controversate. Unii savanți [1] relatează că în stadiul acut al infecției micoplasmice cu *wheezing* nu există o diferență semnificativă a concentrației IL-4 comparativ cu copiii sănătoși, ceea ce corespunde rezultatelor obținute în cadrul studiului prezentat.

Ponderea înaltă a infecției micoplasmice în patologia acută bronhopulmonară pediatrică argumentează necesitatea studierii rolului etiologic al acestui germen patogen pentru elaborarea metodelor eficiente de tratament etiotrop.

Concluzii. Maladiile bronhoobstructive de etiologie micoplasmică la copii sunt marcate printr-un dezechilibru în răspunsul imun cu micșorarea semnificati-

vă a nivelului IL-2 și o reactivitate inertă interleukinei IL-4, care determină producerea unor procese inflamatorii imperfecte cu evoluție persistentă și riscuri de recurențe. Aplicarea antibioterapiei țintite cu macrolide copiilor cu pneumonii de etiologie *M.pneumoniae* asigură un control eficient al proceselor inflamatorii, confirmate prin intensificarea producerii IL-2 la etapele de reconvalescență clinică.

Bibliografie

1. Esposito S., Droghetti R. *Cytokine secretion in children with acute Mycoplasma pneumoniae infection and wheez* Pediatric Pulmonology 2002 August; 34(2):122-127

2. Loens K. et al. *Molecular diagnosis of Mycoplasma pneumoniae respiratory tract infection*. Journal of Clinical Microbiology 2003 Nov; 41(11): 4915-8

3. Neumayr L. et al. *Mycoplasma disease and acute chest syndrome in sickle cell disease*, Pediatrics 2003; 112(1): 86-10

4. Nilson A et al. *Polymerase chain reaction is superior to serology for the diagnosis of acute Mycoplasma pneumoniae infection and reveals a high rate of persistent infection*. BMC Microbiology 2008; 8:93

5. Principi N. et al. *Role of M. pneumoniae and C.pneumoniae in children with community-acquired lower respiratory tract infection*. CID 2001; 32:1281-9

6. Raisanen S. et al. *Serological diagnosis of Myco-*

plasma pneumoniae infection by enzyme immunoassay. Journal of Clinical Pathology 1980; 33, 836-4

7. Stelmach Iwona et al. *Humoral and cellular immunity in children with Mycoplasma pneumoniae infection: 1-year prospectiv study*. Clin Diagn Lab Immunol. 2005 October; 12(10): 1246–1250

8. Tang Lan Fang et al. *The change of asthma-associated immunological parameters in children with Mycoplasma pneumoniae infection*. Journal of asthma. 46: 265-269, 2009

9. Vervolet L. et al. *Infection by M.pneumoniae and its importance as an etiological agent in childhood community-acquired pneumonias*, BJID 2007; 11(5):507-7

10. Waites K., Talkington D. *Mycoplasma pneumoniae and its role as a human pathogen*, Clinical Microbiology Reviews october 2004, p.697-728

11. Young Yull Koh., Yang Parl et all. *Levels of Interleukin-2, Interferon-g, and Interleukin-4 in bronchoalveolar lavage fluid from patients with Mycoplasma pneumoniae: implication of tendency toward increased immunoglobulin E production* Pediatrics. 2001 march; 3 (107): 1-7

12. Мусалимова Г.Г., Саперов В.Н., Карзакова Л.М. *Микоплазменные и хламидийные пневмонии (этиопатогенез, клиничко-иммунологические особенности, диагностика, лечение и иммунотерапия Ронколейкином)*, Методические рекомендации. Чебоксары, 2003. 52 с

© Oxana Turcu, Ala Jivalcovschi, Ana Guragata, Tatiana Macalet

Oxana Turcu¹, Ala Jivalcovschi², Ana Guragata¹, Tatiana Macalet²
**FACTORI NEFAVORABILI MAJORI ÎN DEZVOLTAREA FIZICĂ A PACIENȚILOR
CU FIBROZĂ CHISTICĂ**

¹ USMF "Nicolae Testemițanu", Departamentul Pediatrie
(director – dr. hab. medicină, prof. univ. N. Revenco)

² IMSP SCRC „Em. Coțaga”, secția Malnutriției (director – dr. med., conf. Ș. Gațcan)

SUMMARY

MAJOR RISK FACTORS FOR PHYSICAL DEVELOPMENT IN PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS

Keywords: cystic fibrosis, malnutrition, *Ps.aeruginosa*, F508del mutation, the correlation indices.

Introduction. Malnutrition is one of the most common manifestations of cystic fibrosis described in the literature. Identification of factors with a negative impact on nutritional status and ensuring adequate nutritional status is a major goal in the management of patients with cystic fibrosis.

Material and methods. In the study were evaluated 60 patients with cystic fibrosis with median age 9.08±1.01 years. To assess nutritional status percentile charts for body mass index (BMIp) were applied. Lung impairment was confirmed by the bacteriological examine of sputum aimed to identify chronic lung infection with *Ps.aeruginosa* and computed tomography for detection of the bronchiectasis.

Results. Study results showed the association of the F508del mutation with significant reduction of body mass index