

Particularitățile reglării citokinelor și indicatorii intoxicației endogene în tuberculoza pulmonară multirezistentă

Liliya Todoriko*^{1†}, Inga Ieremenchuk^{1†}

¹Departamentul de Ftiziologie și Pulmonologie, Universitatea de Stat de Medicină din Bucovina, Cernăuți, Ucraina

Autor corespondent

Liliya Todoriko, dr. șt. med, prof. univ.
Departamentul de Ftiziologie și Pulmonologie,
Universitatea de Stat de Medicină din Bucovina,
Str. I. Bohuna, nr. 18, Cernăuți, Ucraina
e-mail: pulmonology@bsmu.edu.ua

Features of cytokine regulation and indicators of endogenous intoxication in multidrug-resistant pulmonary tuberculosis

Liliya Todoriko*^{1†}, Inga Ieremenchuk^{1†}

¹Department of Phthisiology and Pulmonology, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

Corresponding author

Liliya Todoriko, PhD, university professor
Department of Phthisiology and Pulmonology
Bukovinian State Medical University
18, I. Bohuna street, Chernivtsi, Ukraine
e-mail: pulmonology@bsmu.edu.ua

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Rămâne neelucidat rolul citokinelor în instalarea rezistenței micobacteriilor față de preparatele antimicobacteriene. De asemenea, nu au fost, deocamdată, identificați markerii care reflectă progresarea procesului patologic în cazul tuberculozei multirezistente și nu a fost stabilit rolul lor predictiv în evaluarea reușitei programelor standardizate chimioterapie antituberculoasă.

Ipoteza de cercetare

Luarea în considerație a profilului citokinic și a indicatorilor de intoxicație endogenă ar permite ameliorarea rezultatelor tratamentului antituberculos la pacienții cu forme rezistente ale maladiei.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

S-a constatat că profilul citokinic al pacientului este important în favorizarea dezvoltării rezistenței la antimicobacteriene. Există o corelație dintre evoluția concentrației interleukinelor proinflamatorii versus cele antiinflamatorii în formele rezistente de tuberculoză.

What is not known yet, about the topic

It remains unclear the role of cytokines in the development of resistance of mycobacteria to anti-TB-drugs. Also, are not yet identified markers that reflect the progression of pathological process in multidrug-resistant tuberculosis, and was not set their predictive role in assessing the success of anti-tuberculosis chemotherapy in standardized programs.

Research hypothesis

Considering cytokine profiles as indicators of endogenous intoxication would improve TB treatment outcomes in patients with resistant forms of the disease.

Article's added novelty on this scientific topic

It was found that the cytokine profile of the patient is important in furthering development of anti-mycobacterial resistance. There is a correlation between the evolution of the concentrations of pro-inflammatory and anti-inflammatory interleukins versus resistant forms of tuberculosis.

Rezumat

Introducere. Tuberculoza (TBC) rămâne o problemă globală a omenirii. Una dintre caracteristicile contemporane ale TBC este creșterea rezistenței micobacteriilor (MB) la preparatele antimicobacteriene (AMBP), cu reducerea, în consecință, a eficienței tratamentului și creșterea mortalității [5, 8]. În octombrie 2013, 92 de țări ale lumii au raportat noi cazuri de TBC cu rezistență sporită (TBCRS). Tot în octombrie 2013, serviciul de supraveghere epidemiologică al OMS a constatat

Abstract

Introduction. Tuberculosis (TB) remains a global threat of mankind. One of the features of modern TB is the increase in the prevalence of drug-resistant mycobacteria (MBT) to TB drugs, which leads to a decrease of quality of care and, as a consequence, to increase of mortality [5, 8]. In October 2013, 92 countries have reported new cases of extensively drug resistant TB (XDR). In October 2013, a global WHO survey stated that among all new TB cases 3.6% are multidrug-resistant tu-

că dintre toate cazurile noi de TBC în lume, 3,6% este tuberculoza multirezistentă (TBCMR); în 9,6% (8,1-11,2%) din cazurile TBCMR se înregistrează TBCRS. Șaizeci de procente din cazurile de TBCMR din lume au fost diagnosticate în Brazilia, China, India și Africa de Sud [4, 8, 9]. O frecvență mai mare de 6,5% a cazurilor multirezistente primar-depistate s-au înregistrat în Kazahstan, Rusia (regiunea Tomsk), Uzbekistan, Estonia, Israel, China (provincia Liaoning și Henan), Letonia, Lituania și Ucraina (regiunea Donețk).

Materiale și metode. În studiu au fost incluși 116 de pacienți, dintre care: cu tuberculoză pulmonară primar-depistată (TBCPPD) și sensibilitate păstrată la AMBP – 41 de persoane; cu TBCMR, definită ca rezistentă la cel puțin trei medicamente din seria I (HRS) – 63 de persoane, cu TBCRS – 12 persoane. Lotul de control a constituit din 20 de persoane practic sănătoase. Metode de diagnostic aplicate: imagistice, biochimice, microscopice, microbiologice, imunologice. Statistica: testul de corelare Pearson, analiza variațională.

Rezultate. A fost testată corelarea dintre nivelele citokinelor proinflamatorii și cele antiinflamatorii conform metodei Pearson. La pacienții cu TBCMR, un coeficient de corelare negativ, de grad redus, s-a constatat între nivelele IL-6/IL-10 și IL-18/IL-10 ($r = -0,22$; $p < 0,0001$ și, respectiv, $r = -0,16$, $p < 0,001$). Sinteza de IL-6 și IL-10 pacienții cu TBC, indiferent de rezistența MB, crește ca răspuns la sinteza crescută de endotoxine micobacteriene, la progresarea intoxicației endogene și hipoxiei citotoxice și creează premise pentru dezvoltarea rezistenței. Dezechilibrul raportului IL-18/IL-10 denotă agravarea stării pacientului, răspândirea inflamației pulmonare și căpătarea rezistenței la AMBP; de asemenea, dezechilibrul menționat denotă avantajarea limfocitelor T-helper de tip 2 (CD4+), care indică la un defect marcat al imunității celulare și a unui răspuns antiinflamator estompat.

Concluzii. Evaluarea indicatorilor integrați ai intoxicației endogene și a nivelului plasmatic de citokine pro- și antiinflamatorii la pacienții cu TBCMR a reflectat un grad moderat de intoxicație endogenă, precum și epuizarea imunității celulare, cauzată de prezența condițiilor de instalare a rezistenței MB, urmată de creșterea hipoxiei citotoxice și de activarea răspunsului inflamator sistemic. Dozarea IL-6, IL-10 și IL-18 în plasma pacienților cu TBC a constatat, că nivelul lor depinde de tipul rezistenței MB și corelează cu răspândirea procesului specific în plămâni.

Cuvinte cheie: tuberculoză, multirezistență, interleukine, intoxicație endogenă.

Introducere

TBC este, în esență, o imunodeficiență interleukin-dependență, cu modificări pronunțate în rețeaua de citokine [1]. În pofida progreselor semnificative în controlul TBC, rămâne neelucidat rolul citokinelor (CK) în instalarea rezistenței MB față de AMBP. De asemenea, nu au fost, deocamdată, identificați markerii care reflectă progresarea procesului patologic în cazul TBCMR și nu a fost stabilit rolul lor predictiv în evaluarea reușitei programelor standardizate chimioterapie antituberculoasă.

berculosis (MDR); in 9.6% (8,1-11,2%) of all MDR cases, XDR is reported; 60.0% of all MDR cases in the world are diagnosed in Brazil, China, India and South Africa [4, 8, 9]. The high level of primary MDR TB, exceeding 6.5%, was registered in Kazakhstan, Russia (Tomsk region), Uzbekistan, Estonia, Israel, China (Liaoning and Henan Province), Latvia, Lithuania, Ukraine (Donetsk region).

Materials and methods. The study included 116 patients with pulmonary tuberculosis, with newly diagnosed pulmonary tuberculosis (NDTB), with preserved sensitivity to TB drugs; MDR and XDR TB patients. Clinical, radiological, biochemical, microscopic, microbiological, immune-enzymatic and statistical study (ANOVA and Pearson correlation) methods were used.

Results. Pearson correlation analysis between pro- and anti-inflammatory cytokines showed that in patients with MDR TB there is a weak, negative correlation between the levels of IL-6/IL-10 and IL-18/IL-10 ($r = -0.22$, $p < 0,001$, and $r = -0.16$, $p < 0.001$, respectively). Production of IL-6 and IL-10 in TB patients is independent of drug resistance, but increases in response to increased synthesis of endotoxins by MBT; the magnitude of endogenous intoxication and cytotoxic hypoxia creates prerequisites for the development of drug resistant strains. The IL-18/IL-10 ratio in these patients characterizes the increase in severity of the patient's state, the spread of inflammation processes in the lungs and the development of drug resistance; there is a significant bulk of the T_H-lymphocyte type 2 (CD4+), which indicates the development of deep gap in cell-mediated immune response and prevalence of an ineffective anti-inflammation immune activation.

Conclusions. Comprehensive assessment of integral indices of endogenous intoxication and level of certain pro- and anti-inflammatory cytokines in the blood plasma of patients with MDR TB show a moderate endogenous intoxication, break down of the cellular component of the immune reactivity due to the formation conditions for the development of MBT resistance MBT, by increase of cytotoxic hypoxia and activation of „systemic inflammatory response” syndrome. Analysis of plasma concentration of IL-6, IL-10 and IL-18 in patients with multidrug-resistant TB proved, that their level depends on the nature of the resistance of MBT and correlate with the spread of the specific process in the lungs.

Key words: tuberculosis, multidrug-resistant, interleukins, endogenous intoxication.

Introduction

TB refers to interleukin-dependent immunodeficiency with pronounced changes in cytokine system [1]. Despite significant progress achieved in TB control, the role of individual cytokines (CK) in the development of drug resistant forms of TB remains unclear; the issues of identification of integrated markers of progression of the pathological process in MDR TB is unsolved; as well as the impact of their role in prognostic of the effectiveness of standard anti-TB treatment programs are not studied.

În același timp, TBC se referă și la bolile, care sunt însoțite de intoxicație endogenă (EI), adică de acumularea în organism a metaboliților finali și intermediari de pe urma dereglării schimbului de substanțe în timpul răspunsului inflamator [2, 3, 6]. Contribuie la generarea intoxicației endogene hipoxia citotoxică, modificarea homeostaziei intracelulare, formarea masivă, urmată de resorbția rapidă a produselor de degradare tisulară, dezechilibrul imuno-citokinic și cel hormonal etc [1, 7].

Ținând cont de cele menționate mai sus, se argumentează necesitatea dozării nivelurilor plasmatică a unor citokine izolate la pacienții cu TBCMR în funcție de profilul de rezistență. În rezultat, s-ar putea reflecta gradul de severitate a manifestărilor locale și sistemice ale inflamației specifice și particularitățile reglării imuno-citokinice, cu posibilitatea optimizării programului de tratament al pacienților.

Prin urmare, scopul studiului a fost de a evalua parametrii care reflectă gradul de intoxicație endogenă, de a stabili particularitățile reglării citokinice la pacienții cu tuberculoză pulmonară multirezistentă, în funcție de tipul rezistenței micobacteriilor și determinarea rolului lor în răspunsul inflamator sistemic.

Materiale și metode

Design-ul studiului: tip caz-control. Au fost incluși 116 de pacienți cu diagnosticul de tuberculoză pulmonară, care au fost repartizați în trei loturi: lotul 1 (n=41), constituit din pacienți cu tuberculoză pulmonară primar-diagnosticată (TBCPPD) și sensibilitate păstrată la AMBP, denumit TBCPPD-AMBP^{sens}; lotul 2 (n=63), constituit din pacienți cu TBCMR la cel puțin trei medicamente din seria I (HRS); lotul 3 (n=12) – pacienți cu TBCRS. Drept grup de control au fost luate 20 de persoane practic sănătoase.

Au fost efectuate investigații imagistice, biochimice, microscopice, microbiologice, imuno-enzimatice, rezultatele cărora au fost analizate statistic. Dozarea plasmatică a interleukinelor (IL) IL-6, IL-10, IL-18, a fost realizată cu ajutorul analizatorului *Sunrise* (seria nr. 511000120, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria) prin tehnologia ELISA, utilizând seturile de reagenți (JSC Vector-Best, Novosibirsk, Rusia) și instrucțiunile date de producător.

Gradul de endotoxemie a fost evaluat prin calculul indexului leucocitar de intoxicație endogenă (ILIE), după Ostrovski V. K. (Formula 1), indexului Krebs (IK) (Formula 2), indexului nuclear de endotoxicoză (INE) (Formula 3) și raportului leucocite/VSH (RLVSH) (Formula 4).

$$ILIE = \frac{(S+PMN+T+Mi+Pl)}{(Ly+Mo+Eo+Ba)} \quad \text{valori de referință: } 1,5 \pm 0,5 \quad (1)$$

$$IK = \frac{(S\%)+N(\%)}{(Ly(\%))} \quad \text{valori de referință: } 1,8 \pm 0,46 \quad (2)$$

$$INE = \frac{(Mo+T+PMN)}{S} \quad \text{valori de referință: } 0,05 \pm 0,08 \quad (3)$$

$$RLVSH = \frac{(Le \times VSH)}{100} \quad \text{valori de referință: } 1,87 \pm 0,76 \quad (4)$$

TB refers to diseases that are accompanied by endogenous intoxication (EI), i.e. accumulation in the body of final and intermediate products of metabolism, due to violation of metabolism by inflammatory response [2, 3, 6]. Pathways for development of EI in TB are cytotoxic hypoxia, violation of intracellular homeostasis, massive generation and further resorption of tissue decay products, immuno-cytokine and hormonal imbalances etc [1, 7].

As a result of all mentioned above, there is a need to study indicators of certain plasma CK concentrations in patients with MDR TB depending on the resistance profile, which may reflect the severity of local and systemic nature of the specific inflammation, especially immuno-cytokine regulation in order to improve treatment programs.

The aim of this study was to estimate the parameters of endogenous intoxication, to determine the features of cytokine regulation in patients with multi drug resistant pulmonary tuberculosis, related to the profile of resistance of mycobacteria and their role in development of the systemic inflammatory response.

Material and methods

Study design – open randomized observation study (case-control). Were enrolled 116 patients with pulmonary TB. All subjects were randomized in 3 study cohorts: cohort 1 (41 subjects) were included patients with newly diagnosed pulmonary TB, with preserved sensibility to TB drugs; cohort 2 (63 subjects) were included MDR TB patients with confirmed resistance to at least 3 first line TB drugs (HRS), cohort 3 (12 subjects) were included patients with XDR TB, control group (20 subjects) were included healthy humans.

Clinical, radiological, biochemical, microscopic, microbiological, immune-enzymatic and statistical study methods were used. ELISA assessment of CK plasma concentrations, particularly interleukins (IL) IL-6, IL-10, IL-18 was performed with the analyzer *Sunrise* (series nr. 511000120, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria), using kits of reagents (JSC Vector-Best, Novosibirsk, Russia) for determining the concentration of human CK in human biological fluids (blood plasma of patients with TB), according to the manufactures instructions.

The degree of endotoxemia was evaluated by calculation of the integral indices of endogenous intoxication (IEI) [2, 3], using formulas: leukocyte intoxication index, modified by Ostrovsky V.K (OLII) (Equation 1), Krebs index (KI) – the ratio of the entire amount of the percentage content of neutrophils to the same number of lymphocytes (Equation 2), nuclear index of endotoxemia (NIE) (Equation 3) and the index of leukocytes and ESR (L/ESR) ratio (Equation 4).

$$ILII = \frac{(S+PMN+T+Mi+Pl)}{(Ly+Mo+Eo+Ba)} \text{ reference (normal) values: } 1.5 \pm 0.5 \quad (1)$$

$$KI = \frac{(S\%)+N(\%)}{(Ly(\%))} \quad \text{reference (normal) values: } 1.8 \pm 0.46 \quad (2)$$

$$NIE = \frac{(Mo+Y+B)}{S} \quad \text{reference (normal) values: } 0.05 \pm 0.08 \quad (3)$$

$$L/ESR = \frac{(L \times ESR)}{100} \quad \text{reference (normal) values: } 1.87 \pm 0.76 \quad (4)$$

Notă: descifrarea abrevierilor și notațiilor convenționale sunt prezentate în secțiunea respectivă, la sfârșitul articolului.

Rezultate

Analiza indicatorilor de intoxicație endogenă, prezentați în Tabelul 1, reflectă că la pacienții din lotul 2 (TBCMR) s-a observat o scădere semnificativă, de 1,4 ori ($p_1 < 0,001$), a valorii ILIE, comparativ cu lotul 1 (TBCPPD+AMBP_{sens.}), însă ne semnificativă față de lotul de control ($p_1 < 0,1$).

Tabelul 1

Valorile indicatorilor integrați de intoxicație endogenă la pacienții cu forme sensibile și rezistente de tuberculoză

Indicatorii integrați de intoxicație endogenă	Lot control (persoane practic sănătoase) (n=20)	Lotul 1 (TBCPPD+AMBP _{sens.}) (n=41)	Eroarea medie cu 99%CI a lotului 1 (p=0,01)	Lot 2 (TBCMR) (n=63)	Eroarea medie cu 99%CI a lotului 2 (p=0,01)
ILIE*	1,5±0,5	2,6±0,33 p<0,001	0,42	1,8±0,15 p<0,001 p ₁ >0,1	0,19
IK†	1,8±0,46	3,6±0,52 p<0,001	0,66	2,4±0,23 p<0,001 p ₁ <0,001	0,29
INE‡	0,05±0,08	0,4±0,1 p<0,001	0,21	0,3±0,04 p<0,001 p ₁ <0,001	0,05
RLVSH§	1,87±0,76	2,2±0,6 p<0,1	0,84	3,9±0,94 p<0,001 p ₁ <0,001	1,2

Notă: Datele sunt prezentate drept medie și eroare standard (M±m). * – indexul leucocitar de intoxicație endogenă; † – indexul Krebs; ‡ – indexul nuclear de endotoxicoză; § – raportul leucocite-viteza de sedimentare a hematiilor; p – semnificația statistică dintre lotul de control și loturile 1 și 2; p₁ – semnificația statistică dintre loturile 1 și 2.

Analizând valorile Indexului Krebs din lotul 2 (TBCMR), se observă scăderea lui semnificativă, de 1,5 ori, în raport cu lotul 1 (TBCPPD+AMBP_{sens.}) ($p_1 < 0,001$) și o creștere a acestui indice din gr. 2 față de grupul de control (persoane practic sănătoase) de 1,3 ori ($p < 0,001$).

S-a constatat, că INE în lotul 2 (TBCMR) a crescut 6 ori, comparativ cu grupul de control, constituit din persoane practic sănătoase ($p_1 < 0,001$), dar a scăzut de 1,3 ori vs. lotul 1 (TBCPPD+AMBP_{sens.}) ($p_1 < 0,1$).

De asemenea, a fost demonstrat, că indicatorul RLVSH în lotul 2 (TBCMR) este de 1,8 ori mai mare, comparativ cu valoarea lui din lotul 1 (TBCPPD+AMBP_{sens.}) ($p_1 < 0,001$) și de 2,1 ori – comparativ cu grupul persoanelor practic sănătoase (lotul de control) ($p < 0,1$).

Valorile INE la pacienții cu TBCMR indică, probabil, la o intoxicație endogenă de gravitate medie a pacienților. Reducerea semnificativă a indicatorilor ILIE și IK la pacienții cu TBCMR, dar pe fundalul unei intoxicații endogene moderate nu reflectă un pronostic favorabil ci, mai degrabă, o epuizare a reactivității imune celulare prin crearea condițiilor pentru dezvoltarea multirezistenței și reducerii rezistenței organismului [5]

Note: deciphering of abbreviations and conventional notations are presented in respective section, at the end of the article.

Results

Analysis of IEI (Table 1) shows that there is a 1.4 fold, significant decrease ($p_1 < 0.001$) of NIE in group 2 vs. group 1, and there was no significant differences between control group and group ($p_1 > 0.1$).

Table 1

Features of integral indices of endogenous intoxication in patients with sensitive and resistant pulmonary tuberculosis

Integral indices of intoxication	Control group (n=20)	Group 1 (n=41)	The average error with 99%CI in group 1 (p=0.01)	Group 2 (n=63)	The average error with 99%CI in group 2 (p=0.01)
OLII*	1.5±0.5	2.6±0.33 p<0.001	0.42	1.8±0.15 p<0.001 p ₁ >0.1	0.19
KI†	1.8±0.46	3.6±0.52 p<0.001	0.66	2.4±0.23 p<0.001 p ₁ <0.001	0.29
NIE‡	0.05±0.08	0.4±0.1 p<0.001	0.21	0.3±0.04 p<0.001 p ₁ <0.001	0.05
L/ESR§	1.87±0.76	2.2±0.6 p<0.1	0.84	3.9±0.94 p<0.001 p ₁ <0.001	1.2

Note: Data are presented as average and standard error (M±m). * – leukocyte intoxication index, modified by Ostrovsky V. K.; † – Krebs index; ‡ – nuclear endotoxemia index; § – index of leukocytes and erythrocyte sedimentation rate; p – significance level between control group, group 1 and group 2; p₁ – significance level between group 1 and 2.

Analysis of KI showed a 1.5 fold, significant decrease ($p_1 < 0.001$) in group 2 vs. control group, as well as a 1.3 fold increase in group 2 vs. control group ($p < 0.001$).

It was found that NIE in group 2 there a 6 fold significant increase compared to control group ($p < 0.001$), and a 1.3 fold reduction of this indicator compared to control group ($p_1 < 0.1$).

It was proved that the L/ESR ratio in group 2 was 1.8 fold increase compared to group 1 ($p_1 < 0.001$) and 2.1 fold increased related to control group ($p < 0.1$).

Assessment of NEI in patients with MDR TB, probably, indicates a moderate of intoxication syndrome. However, a significant reduction of LIIO and IR in patients with multi resistance, in the presence of a moderate endogenous intoxication is not a favorable prognostic predictor, as serve as evidence in favor of exhaustion of cell immune response, due to the formation of conditions for the development of resistance to MBT and reduced body's resistance [5]. Accordingly, an increased L/ESR ratio in MDR TB evidence in favor of development of systemic endogenous intoxication syndrome, and presence in these patients of a profound secondary immunodeficiency syndrome.

Respectiv, un RLSH crescut în TBCMR este indicatorul unei intoxicații endogene sistemice și a unei imunosupresii secundare exprimate.

Cu ajutorul analizei de varianță au fost testate influența indicatorilor integrați de intoxicație endogenă asupra leucogramei – influență, care ar putea fi luată în considerație în estimarea eficienței programelor de tratament (Tabelul 2); în acest caz, pragul de semnificație statistică al testului $F_{crit.}=3,92$ (pentru un interval de încredere de 95%).

Tabelul 2

Influența indicatorilor integrați de intoxicație endogenă asupra leucogramei

Indicatorii integrați de intoxicație endogenă	Lotul 1 (TBCPPD+AMBP _{sens.}) (n=41)			Lotul 2 (TBCMR) (n=63)		
	Segmen-tate	PMN**	Limfocite	Segmen-tate	PMN	Limfo-cite
ILIE [†]	94,2% (H ₁)	57,9% (H ₁)	82,5% (H ₁)	95,2% (H ₁)	57,3% (H ₁)	89,2% (H ₁)
IK [†]	93,8% (H ₁)	52,5% (H ₁)	80,1% (H ₁)	95,1% (H ₁)	53,9% (H ₁)	88,7% (H ₁)
INE [‡]	94,6% (H ₁)	66,2% (H ₁)	-	95,5% (H ₁)	65,3% (H ₁)	-
RLVSH [§]	Leucocite	VSH [¶]	-	Leucocite	VSH	-
	58,8% (H ₁)	29,3% (H ₁)	-	37,1% (H ₁)	44,4% (H ₁)	-

Notă: * – indexul leucocitar de intoxicație endogenă; † – indexul Krebs; ‡ – indexul nuclear de endotoxicoză; § – raportul leucocite-viteza de sedimentare a hematiilor; || – influență semnificativă asupra indicatorului de rezultat; ** – polimorfonucleare; ¶ – viteza de sedimentare a hematiilor. Test statistic: analiza varianței (ANOVA).

Rezultatele analizei varianței au arătat că indicatorii integrați de intoxicație endogenă în 95% dintre cazuri au o influență semnificativă asupra leucogramei, indiferent de forma de rezistență a TBC.

Analiza comparativă a nivelelor plasmatice a citokinelor pro- și antiinflamatorii (Tabelul 3) a demonstrat că în cazul tuberculozei, acestea sunt crescute comparativ cu nivelele la persoanele practic sănătoase; mai mult decât atât, se prefigurează o dependență a concentrațiilor de profilul de rezistență al micobacteriilor.

Astfel, nivelele de IL-6 în toate loturile de pacienți cu TBC erau semnificativ crescute vs. lotul de control: în lotul 1 (TBCPPD+AMBP_{sens.}), nivelul de IL-6 a crescut de 11,08 ori, în lotul 2 (TBCMR) – de 13,9 ori și în lotul 3 (TBCRS) – de 4 ori ($p<0,001$). Statistic semnificativă a fost diferența dintre loturi a concentrației de IL-6 în sângele pacienților cu TBC sensibilă vs. rezistentă (Tabelul 3). Așadar, nivelul IL-6 în Lot 2 (TBCMR) a fost de 1,7 ori mai mare decât în lotul 1 (TBCPPD+AMBP_{sens.}) ($p_1<0,01$). Însă, la pacienții din lotul 3 (TBCRS) s-a constatat o reducere de 2,8 ori a concentrației plasmatice de IL-6, comparativ cu lotul 1 (TBCPPD+AMBP_{sens.}) și de 3,5 ori – comparativ cu lotul 3 (TBCRS) ($p_2<0,001$ și, respectiv, $p_3<0,001$).

Conform opiniei noastre, nivele reduse de IL-6 la pacienții cu TBC multirezistentă, poate conduce la un portaj cronic intra-

Using variance analysis, we examined the effect of NEI on the indices of peripheral blood, which can serve in future as criterion for the effectiveness of treatment regimen (Table 2).

For the number of patients included in the study, statistical significance threshold in ANOVA test ($F_{crit.}$)=3.92 (for a confidence interval of 95%).

The results of variance analysis show that the NEI (95% of cases) have a significant effect on the peripheral blood indices in patients with sensitive and resistant TB.

Table 2

Analysis of variance of the degree of influence of the integral indices of endogenous intoxication of the peripheral blood

Integral indices of intoxication	Group 1 (n=41)			Group 2 (n=63)		
	Segmented cells	Bands	Lymphocytes	Segmented cells	Bands	Lymphocytes
OLII [†]	94.2% (H ₁)	57.9% (H ₁)	82.5% (H ₁)	95.2% (H ₁)	57.3% (H ₁)	89.2% (H ₁)
KI [†]	93.8% (H ₁)	52.5% (H ₁)	80.1% (H ₁)	95.1% (H ₁)	53.9% (H ₁)	88.7% (H ₁)
NEI [‡]	94.6% (H ₁)	66.2% (H ₁)	-	95.5% (H ₁)	65.3% (H ₁)	-
L/ESR [§]	Leucocytes	ESR [¶]	-	Leucocytes	ESR	-
	58.8% (H ₁)	29.3% (H ₁)	-	37.1% (H ₁)	44.4% (H ₁)	-

Note: * – leukocyte intoxication index, modified by Ostrovsky V. K.; † – Krebs index; ‡ – nuclear endotoxemia index; § – index of leucocytes and erythrocyte sedimentation rate; || – significant influence on resulting indicator; ** – erythrocyte sedimentation rate. Statistics: analysis of variance (ANOVA).

We carried out a comparative analysis of certain pro- and anti-inflammatory cytokines (Table 3) that shows a significant increase in the plasma concentration of cytokines in TB groups vs. control group, and we determined the probability of the dependence of these parameters upon the resistance profile of the MBT.

So, the blood concentrations of IL-6 in all groups TB groups were significantly increased compared to control group, there was a 11.08 fold increase in group 1, 13.9 fold increase in group 2, and 4 fold increase in group 3 of IL-6 level ($p<0.001$). A significant intergroup difference was found of plasma concentration of IL-6 between patients with sensitive and resistant TB (Table 3). Thus, the level of IL-6 in group 2 was 1.7 fold increased, compared to group1 ($p_1<0.01$). However, in patients of group 3 marked reduction in IL-6 concentration was compared to group1 – 2.8 fold ($p<0.001$) and group 2 – 3.5 fold ($p_3<0.001$).

Low values of IL-6 in patients XDR TB, in our opinion, can lead to chronic carrier of intracellular infection, rapidly progressive course of the inflammatory process, which poorly responds to anti-TB treatment and, probably, is one of the factors producing their own XDR TB forms due to prevalence of humoral immune responses [1, 4, 5].

A pronounced activation of all phases of the inflammatory

celular al infecției, la o evoluție rapidă a sindromului inflamator. Consecința este căpătarea multirezistenței la chimioterapeutice și, în acest caz, IL-6 reprezintă un indicator al formării unei micobacterii multirezistente din cauza predominării răspunsului imun umoral [1, 4, 5].

Tabelul 3

Concentrațiile plasmatice ale unor citokine în formele sensibile și rezistente de tuberculoză pulmonară

Citokine	Lot control (practic sănă- toși) (n=20)	Lotul 1 (TBCPPD+ AMBP _{sens.}) (n=41)	Lotul 2 (TBCMR) (n=63)	Lotul 3 (TBCRS) (n=12)
IL-6 (pg/ml)	1,708±0,015	18,92±14,17 p<0,001	23,70±13,39 p<0,001 p ₁ <0,01	6,84±5,4 p<0,001 p ₂ <0,01 p ₃ <0,001
IL-10 (pg/ml)	1,79±0,127	4,2±0,75 p<0,05	3,38±0,79 p<0,001 p ₁ >0,001	3,55±0,23 p<0,001 p ₂ <0,01 p ₃ >0,4
IL-18 (pg/ml)	268,34±101,74	537,67±276,67 p<0,001	329,32±148,10 p<0,1 p ₁ <0,001	194,11±81,89 p<0,05 p ₂ <0,001 p ₃ >0,05

Notă: Datele sunt prezentate drept medie și eroare standard (M±m). p – semnificația diferenței valorilor celorlalte loturi vs. lotul de control; p₁ – semnificația diferenței valorilor lotului 1 vs. 2; p₂ – semnificația diferenței valorilor lotului 1 vs. 3; p₃ – semnificația diferenței valorilor lotului 2 vs. 3. * – interleukină.

Despre o activare marcată a inflamației la pacienții cu TBC, comparativ cu persoanele practic sănătoase, ne comunică creșterea probabilă a nivelului IL-10, care este o interleukină anti-inflamatorie (Tabelul 3). Astfel, față de control, IL-10 era în concentrații de 2,3 ori, de 1,8 ori și de 1,9 ori mai mare în loturile 1 (TBCPPD+AMBP_{sens.}), 2 (TBCMR) și 3 (TBCRS), p<0,001.

Faptul indică la inhibarea imunității celulare și, probabil, la cronicizarea procesului inflamator specific. Conținutul de IL-10 la pacienții cu TBC sensibilă la tratament era de 1,2 ori mai mare comparativ cu pacienții loturilor 1 (TBCPPD+AMBP_{sens.}) și 3 (TBCRS), p₁<0,001 și, respectiv, p₂<0,01. Nu au fost constatate diferențe semnificative pentru acest parametru între loturile 2 și 3 (p₃>0,4).

IL-18 asigură creșterea rezistenței față de agenții patogeni intracelulari și joacă un rol important în formarea imunității antituberculoase dobândite; nivelul ei crește semnificativ la pacienții cu forme sensibile și rezistente de tuberculoză. Astfel, în lotul 1 (TBCPPD+AMBP_{sens.}) IL-18 a crescut de 2 ori (p<0,001), iar în lotul 2 (TBCMR) – de 1,2 ori (p<0,1). Însă, la pacienții cu TBCMR, IL-18 are un trend de scădere sub limitele înregistrate la persoanele sănătoase. Nivelul de IL-18 în lotul 3 (TBCRS) s-a redus de 1,4 ori față de control (p<0,05) (Figura 1).

A fost demonstrată o diferență semnificativă a concentrațiilor de IL-18 între loturile cu TBC sensibilă și rezistentă. Astfel, în lotul 2 (TBCMR), nivelul de IL-18 era de 1,6 ori mai redus decât în lotul 1 (TBCPPD+AMBP_{sens.}), p₁<0,001; reducerea ni-

process in all study cohorts compared to control group, probably, is indicated by the increase in the level of anti-inflammatory IL-10 (Table 3). Thus, in group 1 level of IL-10 increased by 2.3 folds, in group 2 – 1.8 folds, in group 3 – by 1.9 folds (p<0.001), this indicate on inhibition of cellular immunity

Table 3

Plasma concentrations of certain cytokines in sensitive and resistant pulmonary tuberculosis patients

Cyto- kines	Control group (n=20)	Group 1 (n=41)	Group 2 (n=63)	Group 3 (n=12)
IL-6 (pg/ml)	1.708±0.015	18.92±14.17 p<0.001	23.70±13.39 p<0.001 p ₁ <0.01	6.84±5.4 p<0.001 p ₂ <0.01 p ₃ <0.001
IL-10 (pg/ml)	1.79±0.127	4.2±0.75 p<0.05	3.38±0.79 p<0.001 p ₁ >0.001	3.55±0.23 p<0.001 p ₂ <0.01 p ₃ >0.4
IL-18 (pg/ml)	268.34±101.74	537.67±276.67 p<0.001	329.32±148.10 p<0.1 p ₁ <0.001	194.11±81.89 p<0.05 p ₂ <0.001 p ₃ >0.05

Note: Data are presented as average and standard error (M±m). p – significance level related to control group; p₁ – significance level between group 1 and 2; p₂ – significance level between group 1 and 3; p₃ – significance level between group 2 and 3. * – interleukine.

and perhaps the beginning of specific chronic inflammatory process. The plasma concentration of IL-10 in sensitive TB patients has increased by 1.2 folds compared to group 2 and 3 (p₁<0.001, p₂<0.01). There were no statistically significant differences in concentration of IL-10 in group 2 and 3 (p₃>0.4).

The activity of IL-18, whose role is to improve the resistance to intracellular pathogens and is essential for the formation of anti-TB acquired immunity, significantly increased in sensitive and MDR TB patients compared to control group. For example, in group 1 there is a 2 fold IL-18 increase (p<0.001), respectively, in group 2 – 1.2 fold (p<0.1). However, in patients XDR TB there is a tendency to reduce the plasma concentration of this cytokine below the level of control group. The level of IL-18 in group 3 decreased by 1.4 folds in comparison with control group (p<0.05) (Fig. 1). Intergroup difference of plasma concentration of IL-18 in sensitive and MDR TB patients was proved. Thus, in group 2 vs. group 1 there is a 1.6 folds decrease of IL-18 (p₁<0.001), IL-18 decrease in group 3 vs. group 1 was of 2.7 folds (p₂<0.001). Also, there is a decrease of IL-18 concentration in group 3 of 1.7 folds compared to group 2 (p₃<0.05). The difference in plasma concentration of IL-18 in sensitive and MDR TB patients is on the ultimate level of statistical significance (p_{1,2}<0.001).

A comparative analysis of plasma concentration of cytokines in MDR TB patients was done, depending on the profile of resistance. It was found that elevated levels of certain pro- and

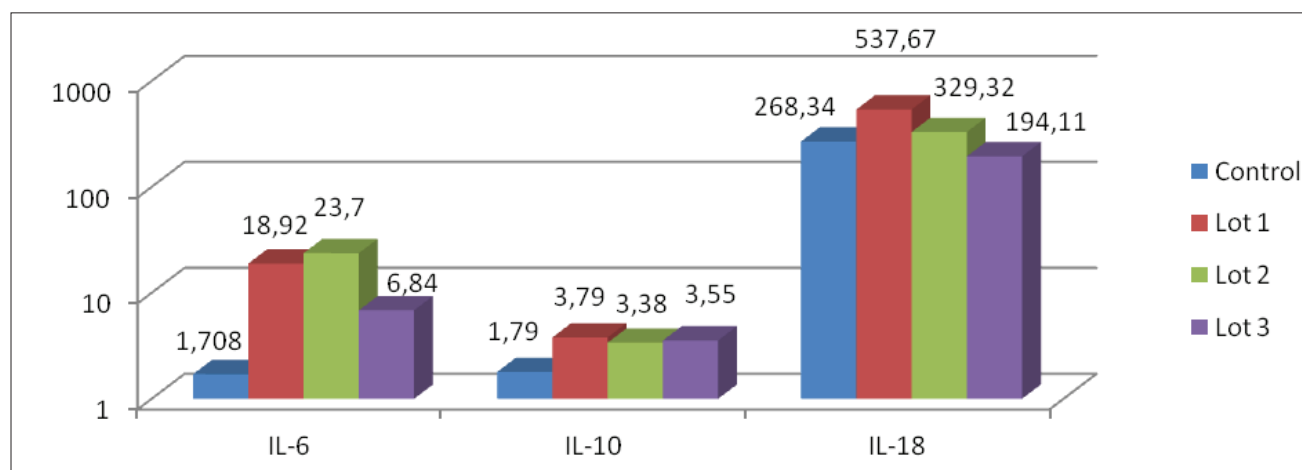


Fig. 1 Valorile concentrației plasmatice (pg/ml) a unor citokine pro- și anti-inflamatorii în formele sensibile și rezistente de tuberculoză pulmonară

Fig. 1 Changes in the level of pro- and anti-inflammatory cytokines (pg/ml) in sensitive and MDR TB

velului de IL-18 de 2,7 ori la pacienții din lotul 3 vs. lotul 1 ($p_2 < 0,001$). De asemenea, se observă o reducere de 1,7 ori a nivelelor plasmatice de IL-18 în lotul 3 (TBCRS), comparativ cu lotul 2 (TBCMR), $p_3 < 0,05$.

Diferențele concentrațiilor de IL-18 în plasma pacienților bolnavi de forme sensibile și rezistente de tuberculoză sunt vădit statistic semnificative ($p_{1,2} < 0,001$).

A fost efectuată o analiză comparativă a concentrațiilor plasmatice de citokine la pacienții cu forme rezistente de tu-

anti-inflammatory cytokines depends on the number anti-TB drugs to which MBT is (Table 4).

The analysis plasma concentration of certain IL in MDR TB patients showed the presence of significant differences comparative to control group. Thus, IL-6 in group 2 has a 3.7 fold increased, in group 2B – 19.4 folds, in group 2C – 16.8 fold related to control group ($p < 0,001$) (Table 4). The concentration of anti-inflammatory IL-10 in group 2 has increased by 1.9 folds; in group 2B – 2.1 folds, in group 2C – 1.6 folds ($p < 0,001$).

Tabelul 4

Concentrațiile plasmatice ale unor citokine în funcție de rezistența micobacteriilor

Citokine	Lot control (practic sănătoși) (n=20)	Profilul de rezistență al micobacteriilor				
		Lotul 2 (TBCMR) (n=48)		Lotul 3 (TBCRS) (n=12)		
		Sublot 2A (HRS) (n=23)	Sublot 2B (HR-SEZKm/Et) (n=14)	Sublot 2C (HRSE/Z) (n=11)	Sublot 3A (HRSEOf/Km)	Sublot 3B (HRSEOf/Et)
IL-6 (pg/ml)	1,708±0,015	6,27±2,8 p<0,001	34,11±4,53 p<0,001 $p_1 < 0,001$	28,65±9,84 p<0,001 $p_1 < 0,001$	6,74±3,48 p<0,001 $p_1 < 0,001$	6,82±2,56 p<0,001 $p_2 > 0,1$
IL-10 (pg/ml)	1,79±0,127	3,46±1,29 p<0,001	3,66±0,27 p<0,001 $p_1 > 0,1$	2,89±0,51 p<0,001 $p_1 > 0,1$	3,54±0,16 p<0,001	3,48±0,16 p<0,001 $p_2 > 0,1$
IL-18 (pg/ml)	268,34±101,74	313,11±88,19 p>0,1	345,67±48,81 p<0,05 $p_1 > 0,1$	328,92±48,98 p<0,1 $p_1 > 0,1$	191,49±84,1 p<0,1 $p_1 < 0,05$	198,18±87,76 p<0,001 $p_2 > 0,1$

Notă: Datele sunt prezentate drept medie și eroare standard ($M \pm m$). * – interleukine; H – isoniazidă, R – rifampicină, S – streptomycină, E – ethambutol, Z – pyrazinamidă, Km – kanamicină, Of – ofloxacină, Et – ethionamidă. p – semnificația diferenței valorilor celorlalte loturi vs. lotul de control; p_1 – semnificația diferenței valorilor dintre subploturile 2A, 2B, 2C; p_2 – semnificația diferenței valorilor dintre subploturile 3A și 3B.

Table 4

Plasma levels of certain cytokines depending on the profile of resistance of *Mycobacterium tuberculosis*

Cytokines	Control group (n=20)	Profile of resistance				
		Group 2 (n=48)		Group 3 (n=12)		
		Group 2A (HRS) (n=23)	Group 2B (HR-SEZKm/Et) (n=14)	Group 2C (HRSE/Z) (n=11)	Group 3A (HRSEOf/Km)	Group 3B (HRSEOf/Et)
IL-6 (pg/ml)	1,708±0,015	6,27±2,8 p<0,001	34,11±4,53 p<0,001 $p_1 < 0,001$	28,65±9,84 p<0,001 $p_1 < 0,001$	6,74±3,48 p<0,001 $p_1 < 0,001$	6,82±2,56 p<0,001 $p_2 > 0,1$
IL-10 (pg/ml)	1,79±0,127	3,46±1,29 p<0,001	3,66±0,27 p<0,001 $p_1 > 0,1$	2,89±0,51 p<0,001 $p_1 > 0,1$	3,54±0,16 p<0,001	3,48±0,16 p<0,001 $p_2 > 0,1$
IL-18 (pg/ml)	268,34±101,74	313,11±88,19 p>0,1	345,67±48,81 p<0,05 $p_1 > 0,1$	328,92±48,98 p<0,1 $p_1 > 0,1$	191,49±84,1 p<0,1 $p_1 < 0,05$	198,18±87,76 p<0,001 $p_2 > 0,1$

Note: Data are presented as average and standard error ($M \pm m$). * – interleukine; H – isoniazid, R – rifampicin, S – streptomycin, E – ethambutol, Z – pyrazinamide, Km – kanamycin, Of – ofloxacin, Et – ethionamide. p – significance level related to control group; p_1 – significance level related between groups 2A and 2B, 2A and 2C; p_2 – significance level related between groups 3A and 3B.

berculoză în funcție de profilul de rezistență. S-a constatat, că un nivel crescut de anumite interleukine pro-și antiinflamatoare este dependent de numărul de medicamente antituberculoase, față de care micobacteriile sunt rezistente (Tabelul 4).

Astfel, față de lotul de control, nivelul de IL-6 fost de 3,7 ori mai mare în lotul 2 (TBCMR), în subplotul 2B – de 9,4 ori, în subplotul 2C – de 16,8 ori ($p < 0,001$) (Tabelul 4). Nivelul interleukinei antiinflamatorii IL-10 în lotul 2 a crescut de 1,9 ori, în subplotul 2B – de 2,1 ori, în subplotul 2C – de 1,6 ori ($p < 0,001$). Nivelul IL-18 în lotul 2 (TBCMR) a crescut de 1,2 ori față de control ($p > 0,1$); respectiv, în subplotul 2B – de 1,3 ori ($p < 0,05$), iar în subplotul 2C – de 1,2 ori ($p < 0,1$).

Comparând diferențele indicatorilor între subploturi, în funcție de profilul de rezistență, s-a constatat că nivelul de IL-6 în lotul 2 (TBCMR) a fost de 5,4 mai redus vs. subplotul 2B ($p < 0,001$) și de 4,6 ori – vs. subplotul 2C ($p_1 < 0,001$). Se notifică creșterea nivelului de IL-10 la pacienții cu TBCMR în funcție de gradul de rezistență; astfel, în subplotul 2B, nivelul de IL-10 a fost de 1,1 ori mai mare decât în subplotul 2A ($p_1 > 0,1$) și de 1,3 ori mai mare decât în subplotul 2C ($p_1 > 0,1$). S-a constatat că nivelul de IL-18 are o tendință de creștere nesemnificativă în subploturile menționate anterior; astfel, în subplotul 2B, nivelul de IL-10 a fost mai înalt de 1,1 ori decât în subploturile 2A ($p_1 > 0,1$) și 2C ($p_1 > 0,1$).

Comparând nivelele citokinelor pro- și antiinflamatorii la pacienții cu TBCMR (Tabelul 4), se observă, de asemenea, o creștere semnificativă vs. control, independent de profilul de rezistență. Astfel, nivelul de IL-6 în subplotul 3A și 3B a crescut de 4 ori ($p < 0,001$). Nivelele interleukinei antiinflamatoare IL-10 în subploturile 3A și 3B au crescut de 2 ori ($p < 0,001$). Menționăm scăderea concentrației de IL-18 în subploturile 3A și 3B de 1,4 ori față de control ($p < 0,1$). La pacienții cu TBCMR, nu s-au identificat diferențe statistic semnificative în funcție de profilul de rezistență ($p_2 > 0,1$).

Discuții

Aplicând testele de corelare după Pearson pentru relația concentrațiilor plasmatice a interleukinelor pro- și antiinflamatoare, s-a constatat, că la pacienții cu TBCCPD, gradul de corelare dintre nivelele IL-6 vs. IL-10 și IL-18 vs. IL-10 este negativ și neînsemnat ($r = -0,23$, $p < 0,001$ și, respectiv, $r = -0,08$, $p < 0,001$). La pacienții cu TBCMR, gradul de corelare dintre nivelele IL-6 vs. IL-10 și IL-18 vs. IL-10 este, de asemenea, negativ și neînsemnat ($r = -0,22$, $p < 0,001$ și, respectiv, $r = -0,16$, $p < 0,001$). Însă, la bolnavii de TBCCRS a fost constatată o corelație inversă semnificativă dintre IL-6 și IL-10 ($r = -0,92$, $p < 0,05$), pe când între IL-18 și IL-10 a fost constatată o corelare pozitivă, de grad mediu ($r = -0,34$, $p < 0,001$).

În opinia noastră, producția de IL-6 și IL-10 crește odată cu sinteza endotoxinelor micobacteriene, independent de rezistența lor la AMBT, și odată cu creșterea intoxicației endogene și a leziunilor hipoxice. Nu putem explica, deocamdată, lipsa corelației în celelalte cazuri, însă, situația nu este principală, deoarece un criteriu pronostic mai valoros este raportul dintre IL-18/IL-10. Odată cu agravarea stării pacientului și instalării rezistenței, crește semnificativ proporția de limfocite T-helperi de tipul 2 (CD4+), care reprezintă imunitatea umorală

The level of IL-18 in group 2 has increased by 1.2 folds compared to control group ($p > 0,1$); respectively, group 2B – 1.3 folds ($p < 0,05$), in group 2C – 1.2 folds ($p < 0,1$).

By comparing the intergroup differences in the indices in MDR patients, according to the profile of resistance the level of IL-6 in group 2 was 5.4 folds lower than group 2B with a wide profile ($p_1 < 0,001$), respectively, there was a 4.6 fold decrease in the level of IL-6 4.6 group 2C ($p_1 < 0,001$). We noticed an increased levels of anti-inflammatory IL-10 in MRD TB patients, depending on the resistance profile, so in group 2B level of IL-10 was 1.1 folds increase compared to group 2A ($p_1 > 0,1$) and 1.3 folds – compared to group 2C ($p_1 > 0,1$). The concentration of IL-18 has a non-significant tendency to increase in the analyzed groups, so the increase in group 2B was of 1.1 folds, compared to group 2A ($p_1 > 0,1$) and group 2C ($p_1 > 0,1$).

Also, we were able to prove the increase in plasma concentration of pro- and anti-inflammatory cytokines in XDR TB patients compared to control group, non-related to the profile of resistance (Table 4) Thus, there was a 4 folds increase in the concentration of IL-6 in group 3A and group 3B. The concentration of anti-inflammatory IL-10 showed a 2 folds increase in group 3A and 3B ($p < 0,001$). We want to stress on 1.4 folds decrease in plasma concentration of IL-18 in group 3A and group 3B compared to control group ($p < 0,1$). In XDR TB patients no significant differences were found related to the resistance profile ($p_2 > 0,1$).

Discussion

Based on Pearson correlation analysis between pro- and anti-inflammatory cytokines we were able to show, that in newly diagnosed TB patients there is a weak, negative correlation between plasma concentrations of IL-6/IL-10 and IL-18/IL-10 ($r = -0,23$, $p < 0,001$, respectively $r = -0,08$, $p < 0,001$).

In MDR TB patents there is a weak, negative correlation between the levels of IL-6/IL-10 and IL-18/IL-10 ($r = -0,22$, $p < 0,001$; $r = -0,16$; $p < 0,001$). However, in XDR TB patients a strong, negative correlation was found between the level of IL-6/IL-10 ($r = -0,92$, $p < 0,05$), while between IL-18/IL-10 there is a positive, medium power, correlation ($r = 0,34$, $p < 0,001$).

In our opinion, the production of IL-6 and IL-10 in TB patients, regardless of resistance, raise in response to increased synthesis of MBT endotoxins, increase of endogenous intoxication and cytotoxic hypoxia, all these create prerequisites for the development of resistance. What caused the lack of correlation between the IL is not yet clear, however, this fact is not crucial, as the most important prognostic criterion is the imbalance in the IL-18/IL-10 ratio; with an increase in the severity of the patient's condition, the spread of inflammation processes in the lungs and the development of drug resistance; there is a significant bulk of the T_H-lymphocyte type 2 (CD4+), which indicates the development of deep gap in cell-mediated immune response and prevalence of an ineffective anti-inflammation immune activation.

The increase in IL-6 plasma concentration, probably, indicates a high activity of systemic inflammatory response, which is maximally expressed in MDR TB patients (23.70 ± 13.39). This cytokine plays a key role in the development of inflam-

și reflectă o ineficiență a activării mecanismului imuno-inflamator și a apărării imunocelulare.

Creșterea semnificativă a IL-6 în plasmă denotă un proces inflamator sever, maximal manifestat în cazul TBCMR ($23,70 \pm 13,39$ pg/ml). IL-6 joacă un rol important în dezvoltarea procesului inflamator; răspunsului imun la infecție, în leziunea pulmonară masivă, atestată la pacienții studiați. Interleukinei date i se atribuie rolul de „factor activator al hepatocitului”, care este „impus” să sintetizeze proteinele de fază acută a reacției inflamatorii. Faptul are ca consecință ieșirea din limitele plămânului a fenomenelor inflamatorii specifice, care devin sistemice.

Nivelul înalt al IL-10 la pacienții cu TBC pulmonară este un factor de pronostic favorabil, deoarece produce acțiuni antiinflamatoare, reduce sinteza proteinelor de fază acută, blochează apoptoza macrofagelor și monocitelor, care joacă un rol important în formarea și localizarea răspunsului inflamator specific în limitele parenchimului bronho-pulmonar. Luând în considerație faptul că în TBCMR și TBCRS nivelele de IL-10 sunt reduse, semnificativ mai joase decât în cazul TBCPPD, la acești pacienți predomină formele diseminate ale TBC vs. infiltrative (raportul de 2:1).

Concluzii

1. Indicatorii integrați ai intoxicației endogene la pacienții cu forme multirezistente de TBC reflectă o intoxicație endogenă moderat exprimată și o epuizare a imunoactivității celulare; aceasta din urmă creează condiții favorabile instalării rezistenței micobacteriene, urmată de progresarea intoxicației endogene sistemice și aprofundarea imunosupresiei secundare.
2. Analiza variațională a indicatorilor a permis stabilirea faptului, că în 95% dintre cazuri, parametrii integrați ai intoxicației endogene au o influență semnificativă asupra leucogramei atât la pacienții cu forme sensibile, cât și rezistente, de TBC.
3. Analiza nivelului plasmatic al IL-6 la pacienții cu TBCMR a constatat creșterea lui semnificativă, de 1,7 ori ($p_1 < 0,01$) față de formele sensibile de TBC; în mod similar, s-a constatat scăderea semnificativă a concentrațiilor plasmatice de IL-10 și de IL-18 (de 1,2 vs. formele sensibile, $p_1 < 0,001$), fapte ce reflectă progresarea intoxicației endogene, hipoxiei citotoxice și activarea sindromului de răspuns inflamator sistemic.
4. Prin analiză comparativă, s-a constatat că la pacienții cu forme rezistente de tuberculoză, nivelul citokinelor pro- și antiinflamatorii este dependent de spectrul de rezistență al micobacteriilor la AMBT. Nivelele semnificativ reduse de IL-10 la pacienții cu TBCMR și TBCRS față de valorile normale, de referință, și față de cele atestate la pacienții cu forme sensibile de TBC, corelează cu predominarea formelor diseminate de tuberculoză asupra celor infiltrative (raport 2:1) în cazul formelor rezistente ale maladiei.

Abrevieri și notații convenționale: S – segmentate, PMN – polimorfonucleare, T – forme tinere, Mi – mielocite, Pl – plasmocite, Ly – limfocite, Mo – monocite, Eo – eozinofile, Ba – ba-

mation, immune response to infectious factor and lung tissue damage with the formation of massive destructive changes that were present in patients groups assessed by us. IL-6 plays a special role as „hepatocyte activating factor”, which induce the synthesis of acute-phase proteins in the framework of systemic inflammatory response that leads to emerge of specific inflammation process outside the pulmonary tissue and activation of systemic inflammatory response syndrome.

High levels of IL-10 in patients with pulmonary TB have a favorable prognostic impact, because multifunctional properties of IL-10, ability to inhibit the synthesis of most pro-inflammatory cytokines and block apoptosis of macrophages and monocytes play an important role in the formation of a limited specific inflammation in the broncho-pulmonary parenchyma. Given the fact, those in MDR TB and XDR TB patients' levels of IL-10 is not too high and are definitely lower than in newly diagnose TB patients, in such patients widespread, disseminated TB forms dominate over infiltrative forms (ratio 1:2).

Conclusions

1. A comprehensive assessment of integral intoxication indices MDR TB patients indicates a moderate endogenous intoxication and the depletion of the cellular component of the immune response due to the formation of conditions for the development XDR TB forms and a subsequent development of systemic endogenous intoxication syndrome and enhancement of secondary immunodeficiency.
2. The variance analysis revealed that in 95% of cases the integral indices of endogenous intoxication have significant impacts on parameters of the peripheral blood both in sensitive and MDR TB patients.
3. Assessment of IL-6 plasma concentration in pulmonary MDR TB vs. sensible TB patients revealed a significant 1.7 folds increase ($p_1 < 0.01$), and, respectively, a significant 1.2 folds decrease in the level of IL-10 and IL-18 ($p_1 < 0.001$), these confirm the strengthening of endogenous intoxication, cytotoxic hypoxia and activation „systemic inflammatory response” syndrome.
4. Assessment of plasma concentration of certain pro- and anti-inflammatory cytokines in MDR TB patients showed that it is dependent on the profile of MBT resistance to anti-TB drugs. Plasma concentration of IL-10 in MDR and XDR TB patients is significant lower than in sensible TB patients and correlates with the prevalence in MDR TB patients of widespread/disseminate TB forms over infiltrative TB forms (1:2 ratio).

Conventional abbreviations and notations: S – segmented cells, B – bands, Y – young forms, My – myelocytes, Pl – plasmocytes, Ly – lymphocytes, Mo – monocytes, Eo – eosinophils, B – basophils, TB – tuberculosis, MBT – *Mycobacterium tuberculosis*, MDR – multidrug resistant tuberculosis, XDR – extensive resistant tuberculosis, WHO – world health organization, NDTB – newly diagnosed pulmonary tuberculosis, IL – interleukine, CK – cytokine, IEI – integral indices of

zofile, VSH – viteza de sedimentare a hematiilor, ILIE – indexul leucocitar de intoxicație endogenă, IK – indexul Krebs de intoxicație endogenă, INE – indexul nuclear de endotoxicoză, IL – interleukine, RLVSH – raportul leucocite-viteză de sedimentare a hematiilor, TBCPPD – tuberculoză pulmonară primar depistată, TBC – tuberculoză, MB – micobacterii, AMBT – preparate antimicobacteriene, TBCMR – tuberculoză multi-rezistentă, TBCRS – tuberculoză cu rezistență sporită, CK – citokine, Le – leucocite.

Contribuția autorilor:

Ambii autori au contribuit în mod egal la efectuarea cercetării și la scrierea manuscrisului.

Declarația de conflict de interese:

Autorii declară lipsa conflictului de interese financiare sau non-financiare.

endogenous intoxication, OLII – leukocyte intoxication index, modified by Ostrovsky V. K., KI – Krebs index, NIE – nuclear index of endotoxemia, ESR – erythrocyte sedimentation ratio; HRS – isoniazid-rifampicin-streptomycin.

Authors' contribution:

Both authors contributed equally to the writing of this manuscript.

Declaration of conflicting interests:

Authors declare no financial or non-financial conflicts of interest.

Referințe / references

1. Бережная Н.М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы. *Цитокины и воспаление*, 2007; 6(2): 26-34.
2. Воробьева О.А. Взаимосвязь клинических проявлений и уровня эндогенной интоксикации больных туберкулезом легких. *Туберкулез в России: материалы VIII Российского съезда фтизиатров*. М.: ООО «Идея», 2007; с. 170.
3. Островский В.К. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях. В: Островский В.К., Мащенко А.В., Янголенко Д.В., Макаров С.В. *Клин. лаб. Диагностика*, 2006; 6: 50-53.
4. Тодоріко Л.Д. Особливості еволюції імунопатогенезу лікарсько-стійкого туберкульозу. В: Тодоріко Л.Д. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*, 2014; 3 (спецвипуск): 16-20.
5. Тодоріко Л.Д. Резистентність мікобактерій туберкульозу: міфи та реальність. В: Тодоріко Л.Д., Петренко В.І., Гришин М.М. *Туберкульоз. Легеневі хвороби. ВІЛ-інфекція*, 2014; 1(16): 60-67.
6. Kulpraneet M., Sukwit S., Sumransurp K. *et al.* Cytokine production in NK and NKT cells from *Mycobacterium tuberculosis* infected patients. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health*, 2007; 38(2): 370-375.
7. El-Masry S., Lotfy M., Nasif W.A. *et al.* Elevated serum level of interleukin (IL)-18, interferon (IFN)-gamma and soluble Fas in patients with pulmonary complications in tuberculosis. *Acta Microbiol. Immunol. Hung*, 2007; 54(1): 65-77.
8. Todoriko L. D., Boiko A. V., Yeremenchuk I. V. *et al.* Establishing risk groups of multidrug-resistant tuberculosis and planning its therapeutic approach. *Бук. мед. вісник*, 2011; 2: 173-178.
9. Idh J., Mckonnen M., Abate E. *et al.* Resistance to first-line anti-TB drugs is associated with reduced nitric oxide susceptibility in *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoSOne*, 2012; 7(6): 39891.

Optimizarea diagnosticului prenatal al bolilor congenitale și ereditare

Volodymyr Artyomenko*¹

¹Universitatea Națională de Medicină din Odessa, Odessa, Ucraina

Autor corespondent:

Dr. Volodymyr Artyomenko, MD,
Universitatea Națională de Medicină din Odessa
2, Valikhovsky Lane, Odessa, 65000, Ucraina
e-mail: VArtyomenko2008@yandex.ru

Prenatal diagnostics optimization of congenital and hereditary diseases

Volodymyr Artyomenko*¹

¹Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Corresponding author:

Volodymyr Artyomenko, MD,
Odessa National Medical University
2, Valikhovsky Lane, Odessa, 65000, Ukraine
e-mail: VArtyomenko2008@yandex.ru

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Cu toate că implementarea în practica clinică cotidiană a *screening*-ului ecografic prenatal a condus la îmbunătățirea substanțială a diagnosticului precoce a maladiilor congenitale și ereditare, este necesară studierea plus-valorii aduse de parametrii clinici și a celor de laborator, adăugați la parametrii relevanți, obținuți prin ecografie.

Ipoteza de cercetare

Integrarea într-un model decizional și de conduită a datelor clinice, a rezultatelor de laborator relevante și a informației obținute de la *screening*-ul ecografic prenatal la termeni precoce de sarcină permite creșterea capacității diagnostice și prognostice a maladiilor congenitale și ereditare.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

A fost optimizată detectarea anomaliilor congenitale și ereditare, utilizând, în complex, datele ecografiei transvaginale prenatale la termeni precoce de sarcină, a parametrilor clinici și a celor de laborator (profilul hormonal).

What is not known yet, about the topic

Although implementation in everyday clinical practice of prenatal ultrasound screening has led to substantial improvements in early diagnosis of congenital and hereditary diseases, it is necessary to investigate the added value brought by the clinical and laboratory parameters, in conjunction with relevant parameters obtained by ultrasound.

Research hypothesis

Integration in a distinct decision-making model of clinical data, laboratory results and relevant information, obtained from prenatal ultrasound screening in early pregnancy terms, leads to improving diagnostic and prognostic capacity of congenital and hereditary malformations.

Article's added novelty on this scientific topic

It was optimized hereditary and congenital anomaly detection approach, using complex data, brought by prenatal transvaginal ultrasound examination in early terms of pregnancy, in conjunction with clinical and laboratory (hormonal profile) data.

Rezumat

Introducere. Metoda de bază utilizată pentru diagnosticul prenatal al anomaliilor ereditare și congenitale este ecografia efectuată la 10-14 săptămâni de sarcină, urmată de utilizarea protocolului de evaluare a dezvoltării structurilor anatomice fetale.

Materiale și metode. Investigațiile s-au efectuat în 2 etape. La prima etapă au fost examinate 100 de femei; 50 dintre acestea, cu avorturi spontane în anamneză, au fost alocate în lotul 1. La etapa a doua al studiului, la 5498 de femei li s-a efectuat ecografie transvaginală la termenul de 11-14 săptămâni de sarcină. La 55 dintre acestea au fost constatate anomalii congenitale și ereditare la făt sau nou-născut. Aceste 55

Abstract

Introduction. The main method of congenital and hereditary diseases prenatal diagnostics is ultrasound at 10-14 weeks of pregnancy, continuing with the protocol development for fetal anatomical structures early pregnancy screening assessment.

Materials and methods. Investigations were performed into two phases. At the first stage, 100 women were examined. Fifty women with perinatal loss in history were allocated to study group I. At stage 2, the screening-mode ultrasound was conducted in a period of 11 to 14 weeks of pregnancy in 5498 patients; of these, 55 patients with registered fetal and newborn various congenital and hereditary diseases were al-