

EVALUAREA IMUNOHISTOCHEMICĂ A FACTORILOR REZISTENȚEI CELULARE, UMORALE ȘI PREIMUNE LA NIVELUL BARIEREI LIMFO-EPITELIALE LA COPII CU AMIGDALITĂ CRONICĂ

Ion Ababii¹ – prof. univ., dr. hab. șt. med., acad. AȘM,
Lucian Danilov¹ – conf. univ., dr. hab. șt. med.,
Mihail Maniuc¹ – prof. univ., dr. hab. șt. med.,
Lilian Șaptefrați² – conf. univ., dr. hab. șt. med.,
Valeriu David² – conf. univ., dr. șt. med.,
Veaceslav Fulga² – conf. univ., dr. șt. med.,
Serghei Ghinda³ – conf. univ., dr. hab. șt. med.,
Polina Ababii¹ – conf. univ., dr. șt. med.,
Svetlana Diacova¹ – conf. univ., dr. șt. med.,
Alexandru Didencu¹ – secundar clinic

¹Catedra de otorinolaringologie,

²Catedra de histologie, citologie și embriologie,
IP USMF „Nicolae Testemițanu”,

³Laboratorul de imunologie și alergologie,
Institutul de Ftziopneumologie „Chiril Draganiuc”
tel.: +373 22 725200, danilovlucian@yahoo.com

Rezumat

În prezent sunt necesare noi strategii în elaborarea metodelor de diagnosticare a formelor de amigdalită cronică la copii pentru tratamentul eficient. *Material și metode.* Prin metoda imunohistochemică au fost studiați markerii CD3, CD4, CD8, CD20cy, CD56, CD68, plasma cells la nivelul criptelor amigdaliene în diferite forme ale amigdalitei cronice. *Rezultate.* În caz de amigdalită cronică compensată constatăm suprimarea densității limfocitelor T-CD3⁺, T-CD4⁺ și T-CD8⁺ în zonele CG al nodulului limfoid și partea periferică a lui, scăderea limfocitelor B-CD20cy⁺ și celulelor plasmactice, killerilor naturali CD56⁺, macrofagelor CD68⁺, creșterea densității celulelor T-CD3⁺ și T-CD4⁺ în epiteliul criptal amigdalian. În amigdalita cronică decompensată cu recidive de angini depistăm activarea imunității celulare în CG și în epiteliul criptal, decreșterea titrelor CD56⁺ în epiteliul criptal, scăderea densității macrofagelor CD68⁺ în CG și în partea periferică a lui. În amigdalita cronică decompensată cu recidive de angini și complicații reumatoide depistăm activarea imunității celulare în partea periferică a CG și epiteliul criptal, număr scăzut de celule plasmactice în zonele CG și în părțile periferice ale CG, densitate majorată a limfocitelor B-CD20⁺ în epiteliul criptal, creșterea titrelor CD56⁺ în CG, decreșterea numărului de macrofage CD68⁺ în zonele CG și în părțile periferice a CG și creșterea conținutului lor în epiteliul criptal. *Concluzie.* Analiza imunohistochemică a amigdalelor palatine la diferite niveluri limfoepiteliale a determinat elaborarea modelului nou de diagnostic al particularităților imunității locale și aprecierea gravității evoluției procesului inflamator.

Cuvinte-cheie: amigdalita cronică, copii, metoda imunohistochemică

Summary. Immunohistochemical evaluation of cellular, humoral and preimmune resistance factors of lympho-epithelial barrier level in children with chronic tonsillitis

Nowadays were require new strategies in the development of methods diagnosing various forms of chronic tonsillitis in children, to effectively treat them. *Material and Methods.* The immunohistochemistry method was used to study CD3, CD4, CD8, CD20cy, CD56, CD68 markers, and plasma cells in the tonsillar crypts in various forms of chronic tonsillitis. *Results.* In case of compensated chronic tonsillitis we found a suppressed density of T-CD3⁺ T-CD4⁺ and T-CD8⁺ lymphocyte sin the areas of CG lymphoid node and its peripheral part, the decrease of B-CD20cy⁺ lymphocyte sand plasma cells, CD56⁺ natural killer, CD68⁺ macrophages, the increase of density of T-CD3⁺ and T-CD4⁺ cell sin the tonsillar epithelium crypt. In decompensated chronic tonsillitis with recurrent angina we revealed the activation of cellular immunity in CG and epithelium crypt, the decrease of CD56⁺ titers in the epithelium crypt, as well as the decrease of CD68⁺ macrophages density in CG and its peripheral part. In decompensated chronic tonsillitis with recurrent angina and rheumatoid complications we detected the activation of cellular immunity in the peripheral part of CG and epithelium crypt, low plasma cells in CG areas and in the peripheral parts of CG, increased density of B-CD20⁺ in the crypt epithelium, increased CD56⁺ titers in CG, decreased number of CD68⁺ macrophages in the peripheral areas of CG and increased contents in the epithelium crypt. *Conclusion.* Immunohistochemical analysis of tonsils on different lympho-epithelial levels determined the development of a new model of diagnosing the local immunity peculiarities and assessing the severity of the inflammatory process development.

Key words: chronic tonsillitis, children, immunohistochemical method

Резюме. Иммуногистохимическая оценка резистентности клеточного, гуморального и преиммунного факторов на уровне лимфо-эпителиального барьера у детей с хроническим тонзиллитом

В настоящее время нужны новые стратегии в разработке методов диагностики форм хронического тонзиллита (ХТ) у детей для более эффективного лечения. *Материалы и методы.* Иммуногистохимическим методом были изучены маркеры CD3, CD4, CD8, CD20су, CD56, CD68, плазматические клетки на уровне крипт миндалин в различных формах ХТ. *Результаты.* В случае компенсированного ХТ наблюдаем подавление плотности лимфоцитов T-CD3⁺ T-CD4⁺ и T-CD8⁺ в области зародышевого центра лимфатического узла и его периферической части, уменьшение лимфоцитов B-CD20су⁺ и плазматических клеток, естественных киллеров CD56⁺, макрофагов CD68⁺, увеличение плотности клеток T-CD4⁺ и T-CD3⁺ в эпителии крипт миндалин. При декомпенсированном ХТ с рецидивами ангин наблюдаем активирование клеточного иммунитета в области зародышевого центра лимфатического узла и эпителия крипт, уменьшение титров CD56⁺ в эпителии крипт, снижение плотности макрофагов CD68⁺ в зародышевом центре и его периферии. При декомпенсированном ХТ с рецидивами ангин и ревматоидными осложнениями обнаруживаем активацию клеточного иммунитета в периферической части зародышевого центра и эпителии крипт, увеличение плотности лимфоцитов B-CD20⁺ в эпителии крипт, увеличение титров CD56⁺ в зародышевом центре, уменьшение количества макрофагов CD68⁺ в зародышевом центре и его периферии и их увеличение в эпителии крипт. *Выводы.* Иммуногистохимический метод исследования небных миндалин на разных уровнях лимфоэпителиальной системы определил разработку новой модели диагностики особенностей местного иммунитета и оценки серьезности развития воспалительного процесса.

Ключевые слова: хронический тонзиллит, дети, иммуногистохимический метод

Introducere. Particularitățile imunologice ale copilului în creștere necesită o abordare mai mare în elaborarea noilor criterii de diagnosticare și tratament a amigdalitei cronice la copii de diferită vârstă [1,2].

Amigdalita cronică, în otorinolaringologia pediatrică, reprezintă o problemă actuală în medicina contemporană unde se dezvoltă o dereglare a imunității generale și locale [3,4,5].

Funcția principală a amigdalelor palatine este de a recunoaște și de a neutraliza activitatea patogenă a agenților microbieni cu ajutorul imunității sistemice [6].

Se cunoaște, că amigdalita cronică apare din cauza afectării structurilor epiteliale amigdaline datorită prezenței microflorei patogene [7]. Prin urmare, această patologie se dezvoltă datorită proceselor inflamatoare locale, care duc la schimbări imuno-histochimice [8].

Zona de simbioză limfoepitelială este un compartiment al imunității locale care funcționează în mod activ, de aceea studiul ei prezintă importanță la interpretarea parametrilor imunității locale.

Scopul lucrării. Cercetarea imunohistochimică ale amigdalelor palatine la copii pentru depistarea unor aspecte etiopatogenetice a proceselor inflamatoare în amigdale și elaborarea noilor criterii de diagnostic clinico-imunologic pentru optimizarea tratamentului diferențiat.

Obiectivele lucrării:

1. Caracteristica imunohistochimică a amigdalelor palatine în amigdalita cronică compensată la copii.

2. Evaluarea imunohistochimică a amigdalelor palatine la copii cu amigdalita cronică decompensată și recidive de angini.

3. Evaluarea imunohistochimică a amigdalelor

palatine în amigdalita cronică decompensată cu recidive de angini și complicații reumatoidale.

Material și metode. Cercetarea materialului clinic a avut loc la catedra de otorinolaringologie, în secția de otorinolaringologie pediatrică, clinica „Em. Coțaga” a IMSP Institutul Mamei și Copilului. Investigațiile imunohistochimice s-au efectuat la Catedra de histologie, citologie și embriologie a IP USMF “Nicolae Testemițanu”.

S-au efectuat cercetări imunohistochimice ale amigdalelor palatine de la 10 copii cu amigdalită cronică, forma compensată (ACC - lotul 1) și 20 copii cu forma decompensată, împărțită în două loturi. lotul I ACD - amigdalită cronică decompensată cu recidive de angine fără complicații la distanță (n=10) și lotul II ACD PR - amigdalită cronică decompensată cu recidive de angine cu complicație reumatoidă (n=10). În studiu au fost supuse cercetării 9 amigdale palatine care prezentau aspect macro-microscopic convențional normal cu scop de determinare a particularităților imunomorfologice ale amigdalelor neafectate inflamator.

Procesarea primară. Procesarea primară a materialului a fost efectuată prin fixarea timp de 12-24 ore în formalină tamponată 10%, pH 7,2-7,4, cu fasonarea în bloc de parafină conform procedurii standard.

Din fiecare bloc s-au realizat secțiuni seriate cu grosimea de 3 μm, care au fost montate pe lame histologice uzuale în cazul colorațiilor histologice convenționale. În cercetările imunohistochimice, secțiunile au fost etalate pe lame silanate (Dako, Denmark).

Metoda histologică. Toate secțiunile au fost colorate inițial prin metoda clasică convențională cu hematoxilină-eozină.

Metoda imunohistochimică. Toate procedee-

le de deparafinare, demascare și vizualizare au fost efectuate prin procedeul manual, utilizând metoda IHC cu sistemul de vizualizare EnVision™ FLEX, High ph, (Link), cod K8000. *deparafinarea* prin două băi succesive. prima baie a durat 60 min în termostat la temperatura de 59°C, iar următoarea era efectuată la temperatura camerei timp de 5 min. După deparafinare a urmat înlăturarea solventului prin amplasarea probelor în băi succesive de toluen+alcool etilic în raport 1.1 timp de 5 min, alcool etilic de 96% în două prize, fiecare etapă a câte 5 min, și două prize de spălare cu apă distilată a câte 10-15 min fiecare; *demascarea* s-a făcut prin încălzire în baie cu apă fierbinte, temperatura soluției de demascare Target Retrieval pH înalt (Dako Cytomation Denmark) atingea 95-96 °C, timpul demascării fiind de 20 min, cu un timp suplimentar de pre- și post-tratare de 60 min.; *blocarea* activității peroxidazei endogene a fost efectuată prin tratarea secțiunilor timp de 5 minute cu peroxid de hidrogen (Dako Cytomation Denmark); *vizualizarea* s-a efectuat prin aplicarea cromogenul 3',3-diaminobezidina (DAB, Dako Cytomation Denmark) timp de 3 min. Contracolorarea nucleilor s-a efectuat cu hematoxină Mayer prin tratarea secțiunilor timp de 1,5 minute. Ulterior, testele histologice au fost dehidratate manual în alcool etilic, clarificate cu xilen și montate cu balsam de Canada. Evaluarea imunohistochimică a inclus markeri. CD3, CD4, CD8, CD20cy, CD56, CD68, Plasma cells.

Centrul germinativ al nodulului limfatic, coroana

centrului germinativ și epiteliul criptei au servit zonele în calitate de reper de studiu.

Rezultate. Conform datelor prezentate în Tabelul 1, densitatea limfocitelor CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ în CG al nodulului limfoid amigdalian la copiii cu ACC a fost mai mică în comparație cu lotul de control (p<0,01 pentru ambele loturi). Valorile raportului CD4⁺/CD8⁺ la copiii lotului 1 au prevalat de 3,4 ori asupra valorilor raportului CD4⁺/CD8⁺ determinate în lotul de control.

Densitatea limfocitelor CD3⁺ în partea periferică a nodulului limfoid la ACC a fost doar cu o tendință de descreștere în comparație cu lotul de control. În lotul de control densitatea limfocitelor CD4⁺ a fost mai mică ca la copiii din lotul 1 (p<0,001). Densitatea subpopulației limfocitelor CD8⁺ în partea periferică a nodulului limfoid în lotul I a fost mai scăzută decât în lotul de control (p<0,001). Raportul CD4⁺/CD8⁺ la cei din lotul I a fost de 4,5 ori mai majorat față de lotul de control.

Densitatea limfocitelor CD3⁺, CD4⁺ din epiteliul criptelor în lotul 1 a fost mai mare comparativ cu lotul de control (p<0,001; p<0,05 corespunzător). Densitatea celulelor CD8⁺ din epiteliul criptelor la cei din lotul 1 a fost mai mică (p<0,05) comparativ cu lotul de control. La copiii lotului I raportul CD4⁺/CD8⁺ a fost mai înalt ca în lotul de control.

Conform rezultatelor analizei densității limfocitelor CD20⁺ în CG al nodulului limfoid atât în lotul de control, cât și în lotul 1 de studiu a predominat în tot

Tabelul 1

Nivelurile de densitate a indicilor imunității celulare în CG al nodulului limfoid, partea periferică al nodulului limfoid și epiteliul criptal amigdalian în caz de amigdalită cronică compensată

Indicii	Lotul de control - amigdale neafectate inflamator (n=9)	Lotul 1 - copii cu amigdalită cronică compensată – ACC (n=10)
<i>CG al nodulului limfoid amigdalian</i>		
CD3 ⁺	542±25,5	421±19,4◇
CD4 ⁺	444±37,0	379±10,9◇
CD8 ⁺	59±13,5	15±0,4◇
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	7,5	25,3
<i>Partea periferică al nodulului limfoid amigdalian</i>		
CD3 ⁺	368±26,8	325±20,9
CD4 ⁺	237±20,9	340±14,5◇
CD8 ⁺	156±16,0	50±1◇
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,5	6,8
<i>Epiteliul criptal amigdalian</i>		
CD3 ⁺	143±11,3	188±6◇
CD4 ⁺	112±15,2	144±2,8◇
CD8 ⁺	87±13,9	51±3,3◇
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,3	2,8

Notă. Diferențe statistic semnificative. ◇ - între lotul de control și bolnavi

Tabelul 2

Nivelurile de densitate a indicilor imunităţii umorale în CG al nodulului limfoid, partea periferică al nodulului limfoid și epiteliul criptal amigdalian în caz de amigdalită cronică compensată

Indicii	Lotul de control - amigdale neafectate inflamator (n=9)	Lotul 1 - copii cu amigdalită cronică compensată – ACC (n=10)
<i>CG al nodulului limfoid amigdalian</i>		
CD20cy ⁺	Predominare în tot câmpul de vedere	Predominare în tot câmpul de vedere
Plasmacell	255±10,4	122±5,4◇
<i>Partea periferică al nodulului limfoid amigdalian</i>		
CD20cy ⁺	Predominare în tot câmpul de vedere	Predominare în tot câmpul de vedere
Plasmacell	52±6,1	41±7,2
<i>Epiteliul criptal amigdalian</i>		
CD20cy ⁺	589±45,7	446±38,2◇
Plasmacell	-	-

Notă. Diferențe statistic semnificative. ◇ - între lotul de control și bolnavi

câmpul de vedere și nu a putut fi cuantificată. Numărul plasmocitelor în CG al nodulului limfoid în lotul I de studiu a fost mai mic în comparație cu lotul de control ($p<0,001$) (Tabelul 2).

Densitatea limfocitelor CD20cy⁺ în epiteliul criptelor a fost mai mic în comparație cu lotul de control ($p<0,05$). Din cauza răspunsului imunohistochimic pozitiv din partea celulelor epiteliale, nivelul plasmocitelor în epiteliul criptelor nu s-a investigat.

Macrofagele CD68⁺ în lotul I erau mai scăzute comparativ cu copiii din lotul de control ($p<0,001$) (Tabelul 3). Densitatea macrofagelor CD68⁺ în lotul I era mai mică comparativ cu lotul de control ($p<0,001$).

Densitatea celulelor CD56⁺ în epiteliul criptelor era mai mare în lotul I de copii, dar fără diferențe statistic semnificative. Numărul macrofagelor CD68⁺ în epiteliul criptelor a fost în lotul I mai înalt decât lotul de control ($p<0,01$).

În amigdalita cronică decompensată fără complicații la distanță (lotul I, ACD), densitatea limfocitelor T-CD4⁺ în CG al nodulului limfoid a fost mai mare la copiii lotului I ($p<0,01$), comparativ cu lotul II. Ex-

presia limfocitelor T-CD4⁺ în lotul I, de asemenea a fost mai înaltă ($p<0,05$) față de lotul de control (Tabelul 4).

În lotul I densitatea celulelor T-CD8⁺ a fost mai mică ($p<0,05$) față de lotul de control. Raportul CD4⁺/CD8⁺ la copiii din lotul I a fost mai mare față de raportul CD4⁺/CD8⁺ în lotul de control cu mai mult de 2 ori, iar în lotul II cu mai puțin de 2 ori.

În regiunea coroanei nodulului limfoid, s-a depistat o creștere a densității limfocitelor CD4⁺ în lotul II ($p<0,05$). Raportul CD4⁺/CD8⁺ la copiii lotului I a fost de 1,7 mai mare decât la copiii lotului de control, iar la copiii din lotul II de 1,9 mai mare. Densitatea limfocitelor CD3⁺ în epiteliul criptelor în loturile I și II a fost mai înaltă față de lotul de control ($p<0,01$; $p<0,001$). Nivelurile limfocitelor CD4⁺ în ambele loturi de cercetare au fost mai mari comparativ cu lotul de control ($p<0,001$).

Densitatea celulelor CD8⁺ în epiteliul criptelor a fost mai mică în lotul I, comparativ cu lotul II ($p<0,05$). În lotul I raportul CD4⁺/CD8⁺ a fost de 2,5 mai mare față de lotul de control, iar în lotul II – de 2,1 ori mai mare.

Tabelul 3

Nivelurile de densitate a indicilor rezistenței preimune în CG al nodulului limfoid, partea periferică al nodulului limfoid și epiteliul criptal amigdalian în caz de amigdalită cronică compensată

Indicii	Lotul de control - amigdale neafectate inflamator (n=9)	Lotul 1 - copii cu amigdalită cronică compensată – ACC (n=10)
<i>CG al nodulului limfoid amigdalian</i>		
CD56 ⁺	5±1,6	7±1,2
CD68 ⁺	96±6,0	57±1,3◇
<i>Partea periferică al nodulului limfoid amigdalian</i>		
CD56 ⁺	3±0,6	3±0,5
CD68 ⁺	75±6,3	49±3,8◇
<i>Epiteliul criptal amigdalian</i>		
CD56 ⁺	15±3,1	26±4,9
CD68 ⁺	73±4,10	66±0,3◇

Notă. Diferențe statistic semnificative. ◇ - între lotul de control și bolnavi

Tabelul 4

Nivelurile de densitate a unor indici ai imunității celulare în CG al nodulului limfoid, partea periferică al nodulului limfoid și epiteliul criptal amigdalian în caz de ACD și ACD PR

Indicii	Lotul de control - amigdale neafectate inflamator (n=9)	Lotul I, ACD (n=10)	Lotul II, ACD PR (n=10)
<i>CG al nodulului limfoid amigdalian</i>			
CD3 ⁺	542±25,5	539±50,3	492±24,2
CD4 ⁺	444±37,0	563±30,6◇	453±17,4●
CD8 ⁺	59±13,5	29±6,4◇	34±3,2
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	7,5	19,4	13,3
<i>Partea periferică al nodulului limfoid amigdalian</i>			
CD3 ⁺	368±26,8	381±30,2	381±29,7
CD4 ⁺	237±20,9	318±30,2	342±18,8◇
CD8 ⁺	156±16,0	124±22,9	118±17,5
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,5	2,6	2,9
<i>Epiteliul criptal amigdalian</i>			
CD3 ⁺	143±11,3	239±27,4◇	248±11,8◇
CD4 ⁺	112±15,2	212±18,1◇	239±13,2◇
CD8 ⁺	87±13,9	67±15,5●	117±18,9
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,3	3,2	2,0

Notă. Diferențe statistic semnificative. ● – între loturile I și II; ◇ - între lotul de control și bolnavi

Densitatea limfocitelor B-CD20cy⁺ în epiteliul criptelor a fost mai mică (p<0,001) în lotul I comparativ cu lotul II.

Densitatea plasmocitelor pozitive în CG al nodu-

lului limfoid a fost mai mare (p<0,01) în lotul I, față de lotul II. Acest indice a descrescut (p<0,001) în lotul II, comparativ cu lotul de control. Plasmocitele în partea periferică a nodulului limfoid au avut un nivel

Tabelul 5

Nivelurile de densitate a indicilor imunității umorale în CG al nodulului limfoid, partea periferică al nodulului limfoid și epiteliul criptal amigdalian în caz de ACD și ACD PR

Indicii	Lotul de control - amigdale neafectate inflamator (n=9)	Lotul I, ACD (n=10)	Lotul II, ACD PR (n=10)
<i>CG al nodulului limfoid amigdalian</i>			
Plasmacell	255±10,4	210,4±32,2●	91±5,7◇
<i>Partea periferică al nodulului limfoid amigdalian</i>			
Plasma cell	52±6,1	57±6,6●	29±3,7◇
<i>Epiteliul criptal amigdalian</i>			
CD20cy ⁺	589±45,7	482,3±37,9●	656,6±20,5

Notă. Diferențe statistic semnificative. ● – între loturile I și II; ◇ - între lotul de control și bolnavi

Tabelul 6

Nivelurile de densitate a indicilor rezistenței preimune în CG al nodulului limfoid, partea periferică al nodulului limfoid și epiteliul criptal amigdalian în caz de ACD și ACD PR

Indicii	Lotul de control, amigdale neafectate inflamator, (n=9)	Lotul I, ACD (n=10)	Lotul II, ACD PR (n=10)
<i>CG al nodulului limfoid amigdalian</i>			
CD56 ⁺	5±1,6	5±1,8●	19±3,3◇
CD68 ⁺	96±6,0	67±3,7◇	66±2,8◇
<i>Partea periferică al nodulului limfoid amigdalian</i>			
CD56 ⁺	3±0,6	3±0,8	3±0,4
CD68 ⁺	75±6,3	53±9,0◇	58±3,0◇
<i>Epiteliul criptal amigdalian</i>			
CD56 ⁺	15±3,1	8±1,5◇	8±1,4◇
CD68 ⁺	73±4,10	78,6±4,9●	104,7±3,6◇

Notă. Diferențe statistic semnificative. ● – între loturile I și II; ◇ - între lotul de control și bolnavi

mai mic ($p < 0,01$) în lotul II, față de lotul I și lotul de control ($p < 0,01$).

Densitatea killerilor naturali CD56⁺ în CG al nodulului limfoid a fost mai mare ($p < 0,01$) în lotul II decât în lotul I. În lotul II, titrele killerilor naturali-CD56⁺ în CG al nodulului limfoid au fost statistic veridic mai mari ($p < 0,01$) în comparație cu lotul de control. În loturile I și II, densitatea celulelor CD68⁺ a fost mai mică față de lotul de control ($p < 0,001$ în ambele cazuri) (Tabelul 6).

În partea periferică a nodulului limfoid, ca și în CG, macrofagele CD68⁺ au fost mai scăzute comparativ cu lotul de control ($p < 0,05$ în ambele cazuri).

Nivelurile killerilor naturali CD56⁺ în epiteliul criptelor amigdalei palatine au fost mai mici față de lotul de control ($p < 0,05$ în ambele cazuri). Densitatea macrofagelor CD68⁺ în epiteliul criptei a fost mai mare ($p < 0,01$) în lotul II, față de lotul I. Densitatea acestor celule în lotul II a fost mai mare ($p < 0,001$) față de lotul de control.

Discuții. Mai mulți autori au încercat să explice de ce și cum o modificare în echilibrul dintre funcția imună locală a gazdei și agenții infecțioși ar duce la un proces clinic, caracterizat prin evenimente inflamatoare recurente [9,10,11,12]. Djamaludinov I. (2008) a demonstrat că celulele CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD20⁺, imunoglobulinele IgG, IgA și IgM - producătoare sunt atestate în stratul epitelial al amigdalelor palatine cu efectele imune corespunzătoare la copii după amigdalectomie [13]. Passali D. și colab. (2004) au analizat aspectele structurale și imunologice ale amigdalelor copiilor supuși adenoamigdalectomiei. Examinarea imunohistochimică a scos în evidență o hiperplazie persistentă a limfocitelor B și o scădere relativ constantă a celulelor T. Inflamația cronică a structurilor din inelului limfatic Waldeyer rezultă în inhibarea sau scăderea producerii de imunoglobuline secretoare A. Modificările observate pot fi consecința dereglării conexiunilor intercelulare normale care, la rândul lor, pot fi cauzate de infiltrarea intraepitelială a limfocitelor provenite din centrele germinale [14]. Alejandro V. (2012) cercetând limfocitele B purificate (CD19+B limfocite), obținute din amigdalele palatine după amigdalectomie la copii de 3-7 ani a obținut rezultate noi, care demonstrează că limfocitele B activate de citokine ar putea fi o sursă importantă de IL-17A și IL-17F, dovadă că aceste celule participă activ la răspunsurile imune prin mecanisme alternative, pe lângă eliberarea clasică de anticorpi. Relevanța sau importanța fiziologică a IL-17 secretată de celulele B în afecțiunile autoimune necesită investigații suplimentare [15]. Carmen A. (2008) și colab. au cercetat 112 amigdale palatine rezectate de la 56 de pacienți. Centrul germinal clar al foliculilor limfoizi a fost ocu-

pat preponderent de către limfocitele B. Limfocitele T păreau plasate în principal la periferia foliculilor limfoizi, în corticala foliculară, dar și în infiltratul inter-și perifolicular limfocitar. Celulele CD68 pozitive au fost mai numeroase în epiteliul criptelor amigdalene, probabil din cauza microorganismelor și acumulării uzurii celulare [16]. Sada-Ovalle I. (2012) a demonstrat, că 80-83% din celulele B exprimă CD38 și IgD (markeri în concordanță cu celulele B de memorie) din țesutul limfoid al amigdalei palatine. Această frecvență mare de celule B de memorie poate reprezenta un mecanism extrem de eficient, care asigură o protecție rapidă împotriva infecțiilor predominante din amigdale [17]. Paliciun V. și colab. (2013) atrag atenția că anume diagnosticarea patologiilor concomitente stă la baza stabilirii formei amigdalitei cronice, deci și a alegerii tacticii de tratament conservator sau chirurgical. Astfel, diagnosticul amigdalitei cronice se stabilește nu numai prin analiza anamnesticalui clinic, semnelor locale de inflamație, datelor analizelor de laborator, dar obligatoriu cu cercetarea manifestărilor toxico-alergice amigdalene și a patologiilor concomitente. S-a constatat că patologiile sistemice concomitente cu amigdalita cronică, pot să se manifeste numai după suportarea unei singure angine cu schimbări minime locale a procesului inflamator în amigdală [18]. În cazurile în care intensitatea agresiunii microbiene este slabă, predomină rolul de apărare, realizându-se în final distrugerea antigenului. Când agresiunea este de intensitate mare și de lungă durată, se produc efecte distructive asupra structurilor organismului. Martori ai acestor antagonisme sunt macrofagele. Factorul de inhibare a migrării macrofagelor apreciază gradul de intensitate al sensibilizării [19].

Având în vedere cele relatate, se atestă, că majoritatea cercetărilor imunohistochimice s-au efectuat pe amigdale exterpate în caz de amigdalită cronică decompensată, mai puține sunt relatate datele asupra imunității locale la copiii sănătoși și în starea compensată a procesului inflamator, fapt ce necesită o cercetare mai detaliată a proliferărilor celulelor imunocompetente și corelațiilor dintre populațiile și subpopulațiile lor în diferite zone a sistemului limfo-epitelial al amigdalelor palatine în diferite forme de amigdalită cronică.

Finalizând rezultatele cercetării în articolul prezentat putem rezuma următoarele:

În caz de amigdalită cronică compensată

- suprimarea expresivă a densității limfocitelor T-CD3⁺, T-CD4⁺ și T-CD8⁺ cu dereglări ale raportului CD4⁺/CD8⁺ are loc în zonele CG al nodulului limfoid, în partea periferică a nodulului limfoid;
- scăderea esențială a imunității umorale prin im-

plicarea limfocitelor B-CD20^{cy+} și plasmocitelor și a imunității preimune - killerii naturali CD56⁺, macrofagele CD68⁺ are loc în aceste zone;

- se apreciază o creșterea densității celulelor T-CD3⁺ și T-CD4⁺ în epiteliul criptelor amigdalei.

- la nivelul tuturor zone ale amigdalelor palatine s-a depistat micșorarea densității limfocitelor T-CD8⁺.

Pentru ACD cu recidive de angini sunt caracteristice:

- în CG al nodulului limfoid și în epiteliul criptelor amigdalei s-a apreciat scăderea titrelor killerilor naturali CD56⁺ și activarea expresivă a imunității celulare;

- scăderea densității macrofagelor CD68⁺ în CG și în partea periferică a CG al nodulului limfoid.

Pentru ACD cu recidive de angină și complicații reumatoide sunt caracteristice:

- activarea expresivă a imunității celulare în partea periferică a CG al nodulului limfoid și epiteliul criptelor;

- un număr scăzut de celule plasmatică în zonele centrului germinativ și în părțile periferice ale CG al nodulului limfoid;

- densitatea majorată a limfocitelor B-CD20⁺ în epiteliul criptelor;

- creșterea titrelor killerilor naturali CD56⁺ în CG al nodulului limfoid;

- descreșterea numărului de macrofage CD68⁺ și creșterea conținutului lor în epiteliul criptelor în zonele CG și în părțile periferice a CG al nodulului limfoid.

Concluzii

În caz de ACD are loc un răspuns imun mai pronunțat al celulelor imunocompetente, în ACD PR se depistează un dezechilibru mare al celulelor imunocompetente. Cercetarea imunohistochimică a determinat gravitatea evoluției procesului inflamator în amigdalele palatine, evidențierea precoce a factorilor de risc, care favorizează dezvoltarea complicațiilor la distanță. Rezultatele și concluziile obținute permit personalizarea evidenței clinico-imunologice a copiilor cu amigdalită cronică și optimizarea tratamentului conservator sau chirurgical.

Bibliografie

1. Ababii I., Șciuca S., Maniuc M., Turcu O., Vișnevșchii-Rusnac L. Esențialul în otorinolaringologia copilului. Chișinău, 2011.

2. Абабий И. Детская оториноларингология. В. Научно-практический медицинский журнал. Москва, 2013, № 2. с.7-11.

3. Danilov L. Amigdalita cronică la copil. Chișinău. CEP Medicina, 2014. 210 p.

4. Гарашенко Т. И. Тонзиллярная проблема в педиатрии. В. Рос. ринол., 1999, № 1, с. 68-71.

5. Danilov L. Aspecte etio-patogenetice și optimizarea tratamentului conservator în amigdalita cronică la copii. Autoreferatul tezei de doctor habilitat în științe medicale. Chișinău, 2016.

6. Canessa C. et al. The immunity of upper airways. In. Int J Immunopathol Pharmacol, 2010, vol. 23. Suppl 1. 8-12.

7. Passali D. et al. Structural and immunological characteristics of chronically inflamed adenotonsillar tissue in childhood. In. Clin Diagn Lab Immunol, 2004, vol. 11, nr. 6, p. 1154-1157.

8. Mansson A., Adner M., Cardell L.O. Toll-like receptors in cellular subsets of human tonsil T cells. altered expression during recurrent tonsillitis. In. Respir Res, 2006, vol. 7, nr. 1, p. 36.

9. Al-Mazrou K. A., Al-Khattaf A. S. Adherent biofilms in adenotonsillar diseases in children. In. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2008, vol. 134, nr.1, p. 20-23.

10. Brandtzaeg P., Halstensen T.S. Immunology and immunopathology of tonsils. In. Adv. Oto-rhino-laryngol, 1992, vol. 47, p. 64-75.

11. Cho K. A. et al. Tonsil-derived mesenchymal progenitor cells acquire a follicular dendritic cell phenotype under cytokine stimulation. In. Cytokine, 2012, vol. 59, nr.2, p. 211-214.

12. Sada-Ovalle I., Talayero A., Chavéz-Galán L. Functionality of CD4⁺ and CD8⁺ T cells from tonsillar tissue. In. Clin Exp Immunol, 2012, vol. 168, nr.2, p. 200-206.

13. Saad C. et al. Antistreptolysin O titer profile in acute rheumatic fever diagnosis. In. Jurnal Pediatr. Rio J, 2001, vol.77, nr.2, p.105-111.

14. Brandtzaeg P. Immune functions of nasopharyngeal lymphoid tissue. In. Adv Otorhinolaryngol, 2011, vol. 72, p. 20-24.

15. Tikhomirova I. Allergy as a stage of forming ENT chronic diseases in children. In. 8th International Conference of the European Society of Paediatric Otorhinolaryngology. 2008. Book of abstracts, p.129.

16. Tikhomirova I., Chasnyk V., Yanov Y. Programming development of chronic ORL pathology in children. In. IXth International Congress of the European Society of Paediatric Otorhinolaryngology, 2006, Book of abstracts, p.132.

17. Van der Auwera I. et al. First International consensus of the methodology of lymphangiogenesis quantification in solid human tumours. In. Br. J. Cancer, 2006, vol. 95, nr. 12, p. 1611-1625.

18. Бадальянц Э. Е. Клинико-иммунологическая характеристика респираторных инфекций у часто болеющих детей и эффективность иммунокорректирующей терапии. Автореф. диссертации на соискание ученой степени канд. медицинских наук. Ростов-на-Дону, 2009, 183 с.

19. Cho K. A. et al. Tonsil-derived mesenchymal progenitor cells acquire a follicular dendritic cell phenotype under cytokine stimulation. In. Cytokine, 2012, vol. 59, nr.2, p. 211-214.