

Д.Е.Данилов, И.А.Карпов, Л.П.Титов

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ И ФАКТОР НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ ПРИ ГНОЙНЫХ МЕНИНГИТАХ

Исследованы концентрации IL-1b, IL-6, TNF-α в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости 30 больных гнойными менингитами, находившихся на лечении в инфекционной клинической больнице г.Минска.

Проведено комплексное изучение динамики провоспалительных цитокинов, выявлены взаимосвязи между особенностями клинического течения и выраженностью синдрома интоксикации при бактериальных менингитах различного генеза.

Ключевые слова: бактериальный гнойный менингит провоспалительные цитокины, фактор некроза опухолей, цереброспинальная жидкость, синдром интоксикации.

D. E. Danilov, I. A. Karpov, L. P. Titov.

ANTIINFLAMMATORY CYTOKINES AND TUMOR NECROSIS FACTOR IN SUPPURATIVE MENINGITIS

Serum and CSF concentrations of IL-1b, IL-6 and TNF-α from 30 patients with bacterial purulent meningitides, taking place on treatment in infectious clinical hospital of Minsk was investigated. The complex study of dynamics of levels proinflammatory cytokines is carried out, the interrelations between clinical features and expressed the inflammation syndrome are revealed at bacterial meningitides various genesis.

Key words: bacterial purulent meningitis, proinflammatory cytokines, tumors necrosis factor, cerebrospinal fluid, inflammation syndrome.

Гнойные менингиты по-прежнему остаются одной из актуальных проблем мирового здравоохранения. Это обусловлено высокой заболеваемостью и значительной летальностью, достигающей до 25%, а у больных старше 60 лет до 60%. В Республике Беларусь заболеваемость гнойными менингитами составляет примерно 6,5 человек/100000 населения. Следует отметить, что гнойные менингиты вместе с менингококковой инфекцией определяют основную летальность от инфекционных заболеваний в Республике Беларусь, составляя в некоторые годы до 40% от числа умерших.

Воспаление является основным синдромом при бактериальных гнойных менингитах. Молекулярной основой ответной реакции организма на воспаление являются цитокины. Выделяют две группы цитокинов: провоспалительные и противовоспалительные [9]. К провоспалительным цитокинам относят IL-1a, IL-1b, TNF-α, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, IL-18, IFN-α. Противовоспалительные цитокины представляют альтернативу провоспалительным, их эффекты носят антагонистический характер, угнетая выработку последних. К таким цитокинам относятся IL-4, IL-10, IL-13, TGF-β (трансформирующий фактор роста), IL-1Ra [1,4,8,13].

Наибольшее значение в реализации изменений, наблюдаемых в ходе острофазового ответа, имеют IL-6, IL-1, TNF-α. Вспомогательную роль в развитии острофазового ответа играют также IFN-α, IL-11, OSM (онкостатин M) [7,11,12,15].

Исследование концентраций интерлейкинов является важным направлением в изучении острых бактериальных заболеваний [2,14], поскольку медикаментозное воздействие на цитокиновый каскад при тяжелых бактериальных инфекциях представляется перспективным компонентом патогенетической терапии [3,5,6,16].

В последние годы много внимания уделяется исследованию концентраций цитокинов в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) и сыворотке крови в диагнозе и дифференциальной диагностике бактериальных гнойных менингитов. В исследованиях уровней содержания IL-6 в ЦСЖ и

сыворотке крови пациентов с бактериальным менингитом отмечено их увеличение по сравнению с асептическим менингитом [5,17], хотя некоторые исследователи наблюдали увеличение концентраций IL-6 в ЦСЖ при асептическом менингите по сравнению с группой контроля [10].

Целью настоящей работы является комплексное изучения динамики провоспалительных цитокинов при бактериальных гнойных менингитах, а также выявление взаимосвязи между особенностями клинического течения, выраженностью синдрома интоксикации при бактериальных менингитах различного генеза.

Материалы и методы

Были исследованы концентрации IL-1b, IL-6, TNF-α в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости 30 больных гнойными менингитами, находившихся на лечении в инфекционной клинической больнице г.Минска.

В соответствии с задачами исследования пациенты были разделены на следующие группы:

I группа (12 пациентов) – больные с бактериальным гнойным менингитом, вызванным грамотрицательными микроорганизмами (*N.meningitidis*, *H.influenzae*, *K.pneumoniae*).

II группа (10 пациентов) – больные бактериальным гнойным менингитом, вызванным грамположительными микроорганизмами (*Str.pneumoniae*, *S.aureus*, *S.epidermidis*, *Str.faecalis*, *Str.agalactice*).

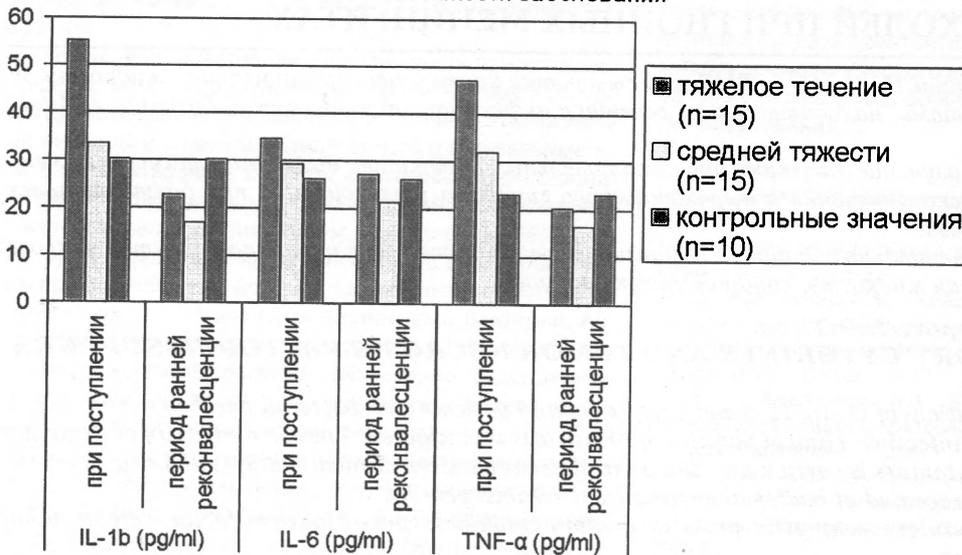
III группа (8 пациентов) – больные бактериальным гнойным менингитом неустановленной этиологии.

Контрольную группу составили 10 практически здоровых людей.

Забор цереброспинальной жидкости производился в стандартных условиях проведения спинномозговой пункции. Заборы крови осуществлялись из локтевой вены в количестве 5 мл в стерильную пробирку без добавления антикоагулянтов. Через 20-30 мин кровь подвергалась центрифугированию, сыворотка помещалась в пробирки и замораживалась при t=-25°C. Анализы крови и цереброспинальной жидкости проводились в динамике: первый забор – при поступлении больных в стационар, по-

Диаграмма 1

Концентрации исследуемых цитокинов и TNF- α в сыворотке крови в зависимости от степени тяжести заболевания



ния в стационаре. Санация ЦСЖ наступала к 7-10 суткам лечения. Больные выписывались из стационара на 18-21 день лечения при отсутствии жалоб.

Течение заболевания расценивалось как тяжелое при поступлении больных в стационар в состоянии сопора или комы. Синдром раздражения мозговых оболочек ярко выражен. Патологические рефлексы сохранялись более трех суток. Исчезновение энцефалитического синдрома отмечалось позже 10-го дня лечения. Динамика клинико-лабораторных проявлений заболевания отличалась волнообразностью, сроки наступления санации ликвора превышали двухнедельный срок. Пациенты выписывались после 21 дня лечения, у некоторых больных на момент выписки сохранялись жалобы астеноневротического характера или неврологические последствия перенесенного заболевания.

Уровни содержания провоспалительных цитокинов в зависимости от клинического течения болезни отражены в диаграммах 1-2.

Концентрации IL-1b, IL-6, TNF- α в сыворотке крови в группе с тяжелым течением были достоверно выше ($p < 0,05$), чем у пациентов со средней тяжестью заболевания, как при поступлении, так и в период ранней реконвалесценции. Отмечалось существенное снижение

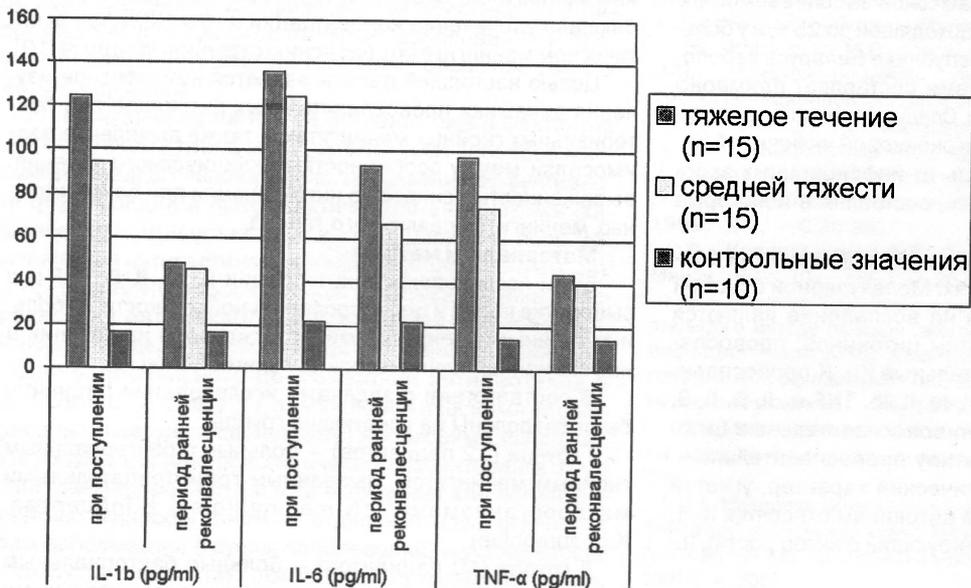
удельных показателей цитокинов у пациентов с тяжелым течением заболевания по мере выздоровления (диаграмма 1).

При поступлении достоверно большие концентрации IL-1b, IL-6, TNF- α отмечались в ликворе больных с тяжелым течением ($p < 0,05$ при сравнении с группой средней степени тяжести). В период ранней реконвалесценции уровни IL-6 в группе с тяжелым течением заболевания были выше ($p < 0,05$). Для IL-1b и TNF- α достоверной разницы со сравниваемыми группами не выявлено ($p > 0,05$). Ни один из исследуемых показателей в цереброспинальной жидкости в период ранней реконвалесценции не снизился до контрольных значений (диаграмма 2).

Содержание IL-1b, IL-6, TNF- α в зависимости от этиологии представлено в таблицах 1, 2.

Диаграмма 2

Концентрации IL-1b, IL-6, TNF- α в цереброспинальной жидкости в зависимости от степени тяжести заболевания



вторно – после стабилизации клинической картины заболевания (обычно выраженное улучшение состояния на 7-8 день болезни). В исследовании концентрации интерлейкинов в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости использовались методики количественного ферментного твердофазного определения исследуемых показателей (Medgenix ELISA™ kit, Belgium) [18].

Результаты и их обсуждение

Течение заболевания считалось среднетяжелым при поступлении пациентов с сохраненным сознанием или с явлениями заторможенности, оглушенности. Синдром раздражения мозговых оболочек был умеренным или сомнительным. Патологические рефлексы либо отсутствовали, либо были нестойкими – до трех суток. Выраженность интоксикационных проявлений сохранялась до 7 дня лече-

Таблица 1

Уровни исследуемых цитокинов и TNF-α в сыворотке крови у больных гнойными менингитами в зависимости от этиологического фактора (M±m)

Группа пациентов	IL-1b (pg/ml)		IL-6 (pg/ml)		TNF-α (pg/ml)	
	при поступлении	период ранней реконвалесценции	при поступлении	период ранней реконвалесценции	при поступлении	период ранней реконвалесценции
I (менингит, вызванный грамотрицательным возбудителем) (n=12)	26,13 ±2,54	9,38 ±1,17	29,63 ±1,71	13,50 ±1,03	27,63 ±2,21	17,31 ±2,07
II (менингит, вызванный грамположительным возбудителем) (n=10)	48,00 ±3,31	21,67 ±2,61	32,83 ±2,38	17,50 ±1,33	32,85 ±2,86*	19,17 ±2,14*
III (менингит без бактериологического подтверждения) (n=8)	65,00 ±4,67*	32,33 ±2,40*	34,17 ±2,42*	25,83 ±1,53*	28,04 ±2,13	16,25 ±1,58
контрольные значения (n=10)	30,3±4,7		26,16±6,1		23,3±5,2	

Примечание: p<0,05 при сравнении с другими группами

Таблица 2

Показатели исследуемых цитокинов и TNF-α в цереброспинальной жидкости у больных гнойными менингитами в зависимости от этиологии возбудителя (M±m)

Группа пациентов	IL-1b (pg/ml)		IL-6 (pg/ml)		TNF-α (pg/ml)	
	при поступлении	период ранней реконвалесценции	при поступлении	период ранней реконвалесценции	при поступлении M±m	период ранней реконвалесценции M±m
I (менингит, вызванный грамотрицательным возбудителем) (n=12)	93,1 ±7,7	41,2 ±3,9*	127,3 ±9,0	73,8 ±7,8	61,4 ±5,6	38,2 ±3,4*
II (менингит, вызванный грамположительным возбудителем) (n=10)	133,3 ±8,9*	51,4 ±4,1	135,4 ±11,4*	87,0 ±7,6*	67,3 ±5,2*	43,0 ±3,8
III (менингит без бактериологического подтверждения) (n=8)	105,5 ±8,7	52,0 ±4,5	128,8 ±9,7	79,8 ±6,2	63,2 ±4,9	41,7 ±3,7
контрольные значения (n=10)	16,4±3,7		22,2±3,8		14,1±2,2	

Примечание: p<0,05 при сравнении с другими группами

Наибольшие концентрации IL-1b при поступлении отмечались у больных без бактериологического подтверждения диагноза (65,00±4,67 pg/ml), наименьшие – у пациентов с грамотрицательными возбудителями (26,13±2,54 pg/ml) (p<0,05). После лечения концентрации уменьшались. Наибольший уровень IL-6 при поступлении был отмечен в третьей группе (p<0,05). Достоверной разницы между I и II группами в уровнях IL-6 после лечения не выявлено (p>0,05). Концентрации TNF-α были выше у пациентов с грамположительной этиологией возбудителя, как при поступлении, так и в период ранней реконвалесценции (p<0,05).

При поступлении наибольшая концентрация IL-1b отмечалась в группе пациентов с грамположительной этио-

логией заболевания (133,3±8,9 pg/ml) (p<0,05 при сравнении с другими группами). Концентрации этого цитокина после лечения уменьшались, наибольшее значение отмечалось в группе больных без бактериологического подтверждения диагноза (52,0±4,5 pg/ml) (p<0,05 при сравнении с группой больных с грамотрицательным возбудителем заболевания). Уровни IL-6 и TNF-α также уменьшались в динамике (p<0,05). В группе с грамположительным возбудителем были большие концентрации, как при поступлении, так и после лечения, однако достоверных статистических различий между группами не выявлено (p>0,05).

Уровни исследуемых показателей в зависимости от применяемых антибиотиков представлены в таблицах 3-4.

Концентрации IL-1b при поступлении были наиболее высокими у больных, получавших в качестве этиотропной терапии хлорамфеникол. Однако после проведенного лечения уровень IL-1b значительно уменьшился и не имел достоверных различий с аналогичными концентрациями в сравниваемых группах (p>0,05). Концентрации IL-6 в период ранней реконвалесценции уменьшались во всех группах (p<0,05). Концентрации TNF-α в динамике уменьшались, достоверных отличий между группами найдено не было (p>0,05).

При поступлении наибольшая концентрация IL-1b отмечалась в группе больных, получавших в качестве этиотропного лечения монотерапию бензилпенициллином (p<0,05 при сравнении с другими группами). Уровень IL-6 при поступлении был наибольшим в группе, получавшей терапию хлорамфениколом, однако достоверных отличий не выявлено (p>0,05). После лечения концентрации IL-1b, IL-6, TNF-α были достоверно ниже в группе с применением цефалоспоринов III (p<0,05 при сравнении с другими группами).

Таким образом, при тяжелом течении бактериальных гнойных менингитов уровни IL-1b, IL-6, TNF-α значительно выше, чем в группе со средней тяжестью заболевания. Это справедливо для концентраций исследуемых показателей, как в сыворотке крови, так и в цереброспинальной жидкости.

В сыворотке крови отмечалось существенное снижение содержания IL-1b, IL-6, TNF-α в период ранней реконвалесценции при сравнении с аналогичными показателями при поступлении больных в стационар. В период ранней реконвалесценции концентрации IL-1b, TNF-α были ниже контрольных значений как в группе со средней степенью тяжести заболевания, так и у пациентов с тяжелым течением бактериальных менингитов. Содержание IL-6 в период ранней реконвалесценции в группе с тяжелым течением заболевания было несколько выше, чем в группе контроля, однако достоверных различий для этих показателей найдено не было (p<0,05), концентрация IL-6 в группе со средней тяжестью в период ранней реконвалесценции была ниже контрольных значений.

Таблица 3
Концентрации исследуемых цитокинов и TNF-α в сыворотке крови в зависимости от применяемых антибиотиков (M±m)

Антибиотик или группа антибиотиков	IL-1b (pg/ml)		IL-6 (pg/ml)		TNF-α (pg/ml)	
	при поступлении	период ранней реконвалесценции	при поступлении	период ранней реконвалесценции	при поступлении	период ранней реконвалесценции
пенициллин (n=12)	22,43 ±1,26	14,86 ±2,24	29,29 ±4,69	21,43 ±2,90	16,25 ±2,06*	15,50 ±1,12*
хлорамфеникол (n=8)	43,57 ±12,42*	15,00 ±1,43	47,00 ±5,06*	32,86 ±3,63	18,82 ±3,41	18,36 ±2,34
цефалоспорины III (n=10)	31,67 ±4,44	12,50 ±1,50*	27,50 ±3,81	18,00 ±2,80*	18,25 ±3,20	17,17 ±3,12
контрольные значения (n=10)	30,3±4,7		26,1±6,1		23,3±5,2	

Примечание: p<0,05 при сравнении с другими группами

Таблица 4
Концентрации IL-1b, IL-6, TNF-α в цереброспинальной жидкости в зависимости от применяемых антибиотиков (M±m)

Антибиотик или группа антибиотиков	IL-1b (pg/ml)		IL-6 (pg/ml)		TNF-α (pg/ml)	
	при поступлении	период ранней реконвалесценции	при поступлении	период ранней реконвалесценции	при поступлении	период ранней реконвалесценции
пенициллин (n=12)	123,3 ±9,5*	53,6 ±6,1	123,3 ±9,8	78,5 ±6,0	64,3 ±3,7*	42,1 ±3,6
хлорамфеникол (n=8)	97,6 ±8,7	48,0 ±4,0	140,6 ±11,8*	82,6 ±7,1	56,6 ±4,2	41,6 ±4,4
цефалоспорины III (n=10)	94,3 ±7,1	28,7 ±5,7*	116,1 ±8,0	66,7 ±5,7*	59,8 ±4,3	29,2 ±4,8*
контрольные значения (n=10)	16,4±3,7		22,2±3,8		14,1±2,2	

Примечание: p<0,05 при сравнении с другими группами

В цереброспинальной жидкости ни один из исследуемых показателей в период ранней реконвалесценции не снизился до контрольных значений как в группе пациентов с тяжелым течением бактериальных менингитов, так и у больных со среднетяжелым течением (p<0,05). Это свидетельствует в пользу более длительной регрессии концентраций IL-1b, IL-6, TNF-α в цереброспинальной жидкости по сравнению с сывороткой крови, несмотря на проводимую этиотропную терапию.

Содержание IL-1b, IL-6 в сыворотке крови было достоверно выше в группе без бактериологического подтверждения протекающего заболевания, как при поступлении, так и в период ранней реконвалесценции. Это, вероятно, обусловлено отбором для исследования пациентов с ярко выраженной клинической картиной, что, в свою очередь, повлияло на выраженность ответной реакции организма на воспаление в виде значительного увеличения содер-

жания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у таких больных. Концентрации TNF-α были достоверно выше у пациентов с менингитами, вызванными грамположительными возбудителями (p<0,05). В цереброспинальной жидкости при поступлении наибольшие концентрации для всех исследуемых показателей были выявлены (IL-1b, IL-6, TNF-α) у больных с грамположительной этиологией патологического процесса (p<0,05). В этой же группе больных наибольшие значения IL-6 отмечались и в период ранней реконвалесценции (p<0,05). Все это свидетельствует в пользу более высокого содержания провоспалительных цитокинов у пациентов с бактериальными менингитами, вызванными возбудителями грамположительными.

В период ранней реконвалесценции наименьшие концентрации IL-1b, IL-6 в сыворотке крови отмечались у пациентов, которые в качестве этиотропной терапии получали цефалоспорины III поколения (цефотаксим, цефтриаксон) (p<0,05). Наиболее низкая концентрация TNF-α в этот же период была отмечена в группе с применением пенициллина (p<0,05). Наименьшие концентрации в ликворе всех исследуемых показателей (IL-1b, IL-6, TNF-α) в период ранней реконвалесценции выявлены в группе больных с применением цефалоспоринов III поколения (p<0,05).

Выводы

1. Содержание IL-1b, IL-6 в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости прямо пропорционально тяжести бактериального гнойного менингита. В период ранней реконвалесценции (7-8 день заболевания) концентрации интерлейкинов уменьшаются.

2. Для пациентов, получавших терапию цефалоспорином III поколения, после лечения характерно более быстрое снижение концентраций IL-1b, IL-6, TNF-α в цереброспинальной жидкости.

3. У больных гнойными менингитами с грамположительной этиологией возбудителей отмечены достоверно большие концентрации IL-1b и IL-6 в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости по сравнению с менингитами, вызванными грамотрицательной бактериальной флорой, как при поступлении, так и после проведенной терапии.

Литература

1. Л.П.Титов. Введение в иммунологию. Молекулы иммунной системы. Медицина, №4. 1997. С.32-35.
2. Л.П.Титов. Введение в иммунологию. Цитокины. Медицина. 1998, №1. С.29-33.
3. Л.П.Титов. Введение в иммунологию. Цитокины. Медицина. 1998, №2. С.30-32.
4. Митрейшин В.Ф., Калинина Н.М., Фабричников С.В., Фабричникова Н.И. Цитокины и их роль в развитии типовых патологических процессов. Изд. СПбГМУ, С.-П., 2000. -64с.
5. C.L.S. Leen. Infectious Diseases Unit, Western General Hospital, Edinburgh. Adjunctive Therapy For Bacterial Meningitis. Proc R Coll Physicians Edinb 2000; 30:305-310.

6. Carol A. Feghali, Ph.D., Timothy M. Wright, M.D. Cytokines in acute and chronic inflammation// *Frontiers in Bioscience*. -№1. -1997. -P.12-26

7. Chavanet P, Bonnotte B, Guiguet M, Zeller V, Solary E, Maurice L, Casasnovas O, Caillot D, Waldner A, Kisterman JP, et al. High concentrations of intrathecal interleukin-6 in human bacterial and nonbacterial meningitis. *J Infect Dis* 1992 Aug 166:2 428-31

8. Dinarello C.A Interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist. //Nutrition. -1995. -Vol.11. -Suppl.5 -P. 492-494.

9. Dinarello C.A Role of pro- and anti-inflammatory cytokines during inflammation: experimental and clinical findings// *Journal of Biological Regulation & Homeostatic Agents*. -1997. -Vol.11. -P.91-103

10. Emre Alhan, MD, Dincer Y?ld?zdas, MD, Hayri Levent Y?lmaz, MD, Mustafa Y?lmaz, MD, et al. Serum and Cerebrospinal Fluid Interleukin-6 and Interleukin-8 Levels in Children with Tuberculous, Bacterial and Aseptic Meningitis. /*Ann Med Sci* 2001;10:123-127.

11. Emre Alhan, MD, Dincer Yildizdas, MD, Hayri Levent Yilmaz, MD et al. Serum and Cerebrospinal Fluid Interleukin-6 and Interleukin-8 Levels in Children with Tuberculous, Bacterial and Aseptic Meningitis. *Ann Med Sci* 2001; 10:123-127.

12. Glimaringker M, Kragstjerg P, Forsgren M, Olceacuten P. Tumor necrosis factor-alpha (TNF alpha) in cerebrospinal fluid from patients with meningitis of different etiologies: high levels of TNF

alpha indicate bacterial meningitis. *J Infect Dis* 1993 Apr 167:4 882-9

13. Human macrophage colony-stimulating factor levels in cerebrospinal fluid. /K.Shimoda, S.Okamura, Y. Mizuno et al. //Cytokine. -1999. -№5. -P.250-254.

14. Immunology and Inflammation: Basic Mechanisms & Clinical Consequences /Eds.: L.H.Sigal, Y.Ron.-New York etc.: Mc Graw-Hill, Inc., 1994.-805p.

15. Kepa L, Adamek B, Stolarz W. Diagnostic value of tumor necrosis factor-alpha (TNF-Alpha) determination in cerebrospinal fluid (CSF) in the course of neural infections. *Neurol Neurochir Pol* 1998 May-Jun 32:3 533-42.

16. Kondrusik M; Hermanowska-Szpakowicz T. The assessment of tumor necrosis factor (TNF) alpha and interleukin (IL)-1 beta levels in cerebrospinal fluid (CSF) and serum in patients with purulent meningitis. *Neurol Neurochir Pol*. 1997 Nov-Dec;31(6):1119-31.

17. McCracken GH, Mustafa MM, Ramilo O, Olsen KD, Risser RC. Cerebrospinal fluid interleukin 1-beta and tumor necrosis factor concentrations and outcome from neonatal gram-negative enteric bacillary meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 8:155-159 (1989).

18. Yasuhito Abe, Katsuhiko Kimura, Atsushi Horiuchi and Masazumi Miyake and Shigeru Kimura. Improvement of ELISA sensitivity by allogeneric adsorption of polyclonal antibodies - a technical note for non-experts. *Clin Chim Acta* 224: 103-105, 1994.