

Eugenia Murawska, Zofia Szychowska, Anna Jarno

BETA₂ MIKROGLOBULINA W NEUROINFEKcjACH U DZIECI*

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych Wiekii Dziecięcego Akademii Medycznej
we Wrocławiu

Kierownik: Prof. dr hab. med. Z. Rudkowski

Oznaczano stężenie beta₂ mikroglobuliny (B₂M) w płynie m.-rdz. i osoczu w przebiegu ropnego i surowiczego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych u dzieci metodą fluoroimmunoenzymatyczną (Vidas-bioMerieux). Zaobserwowano podwyższone stężenia B₂M w płynie m.-rdz. we wszystkich okresach ropnego i surowiczego zapalenia opon m.-rdz., spowodowane najprawdopodobniej lokalną produkcją tego białka w ośrodkowym układzie nerwowym w przebiegu neuroinfekcji.

Beta₂ mikroglobulina (B₂M) jest niekowalencyjnie związana z antygenami zgodności tkankowej klasy I, stanowiąc ich integralną część. Poziom B₂M we krwi zdrowych wynosi 0,9–3,0 mg/L, wzrasta natomiast w zakażeniach wirusowych, jak zapalenie wątroby typu A i B, HIV, mononukleozą zakaźną, cytomegalia, grypa, a także w chorobach nerek i płuc (1, 3, 5, 10). Celem pracy jest ocena zachowania się B₂M w osoczu i płynie m.-rdz. dzieci w różnych okresach ropnego i surowiczego zapalenia opon m.-rdz.

MATERIAŁ I METODY

Przebadano 27 dzieci chorych na bakteryjne zapalenie opon m.-rdz. (r.z.o.) w wieku od 1 miesiąca do 4 lat. W 15 przypadkach ustalono czynnik etiologiczny: *N. meningitidis* (8), *H. influenzae* (4), *S. pneumoniae* (2), *E. coli* (1). Wśród surowiczych zapaleń opon wyróżniono wywołane wirusem świnki (50 pacjentów w wieku od 11 miesięcy do 13 lat) oraz wirusami z rodzaju *Enterovirus*, głównie ECHO-30 (23 dzieci w wieku od 1 miesiąca do 7 lat). W grupie dzieci z innymi zaburzeniami OUN znalazło się po jednym dziecku z: ropniem mózgu wywołanym przez *Proteus mirabilis*, opryszczkowym zapaleniem opon m.-rdz. i mózgu wywołanym wirusem HSV-1, wodogłowie, gruźliczym zapaleniem opon m.-rdz. i neuroboreliozą. Grupę odniesienia dla oznaczeń w osoczu stanowiło 17 zdrowych dzieci w wieku 1 miesiąc – 15 lat, natomiast do oznaczeń w płynie m.-rdz. – 46 pacjentów (w wieku 1 miesiąc

* Praca wykonana dzięki Dolnośląskiej Fundacji Rozwoju Ochrony Zdrowia

– 13 lat), chorych na różne choroby gorączkowe, u których podejrzewano, a następnie wykluczono zapalenie opon m.-rdz. Płyn m.-rdz. do badań pobierano przez nakłucie lędźwiowe przy okazji badań diagnostycznych (w momencie przyjęcia dziecka do kliniki) i kontrolnych: w r.z.o. po 24–48 godz. leczenia (okres 2. choroby) oraz przed zakończeniem leczenia (około 10 dnia choroby), u dzieci z wirusowym z.o. – w okresie zdrowienia, około 10 dnia choroby. B_2M oznaczano metodą fluoroimmunoenzymatyczną (ELFA) w automatycznym analizatorze mini Vidas firmy bioMérieux. Wyniki zostały poddane analizie statystycznej w programie komputerowym Super Stat w wersji 2.1. i 4.0. Hipotezy sprawdzano przy stosowaniu zarówno jednostronnych, jak i dwustronnych zbiorów krytycznych. Komputer sam analizował rozkład danych i dobierał odpowiedni do niego test.

WYNIKI

Wyniki przedstawiono w tabelach I–III. Średnie stężenia B_2M w płynie m.-rdz. we wszystkich okresach r.z.o. były istotnie wyższe w porównaniu z grupą odniesienia. Najwyższe stężenie B_2M w płynie m.-rdz. obserwowano w 2 okresie r.z.o. Nie obserwowano statystycznie istotnych różnic pomiędzy stężeniem B_2M w osoczu w żadnym z 3 okresów r.z.o. w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdzono istotnie wyższe stężenia B_2M w płynie m.-rdz. w porównaniu z osoczem w 2 okresie r.z.o. ($p < 0,01$) (tab. I). Średnie stężenie B_2M w płynie m.-rdz. na początku i w okresie zdrowienia świnkowego z.o. było istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną. Średnie stężenie B_2M w osoczu na początku świnkowego z.o. nie różniło się z grupą kontrolną, natomiast w okresie zdrowienia było niższe, choć różnica była mało istotna

Tabela I. Wyniki oznaczeń B_2M w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) i osoczu pacjentów z ropnym z.o. na początku choroby (R1), po 24–48 godz. leczenia (R2) i w okresie zdrowienia (R3) oraz w grupie odniesienia (K).

Parametr	R1	R2	R3	Grupa odniesienia (K)	Istotność statystyczna
B_2M x	2,12	4,99	2,10	1,23	R1:K – p < 0,024*
SD	1,47	3,19	1,28	0,80	R2:K – p < 0,01*
w PMR M	1,56	3,81	1,61	1,08	R3:K – p < 0,01*
n	18	23	25	46	R1:R2 – p < 0,01*
(mg/L) zakres	0,55–4,68	1,94–11,72	0,20–5,14	0,15–3,47	R1:R3 – n.i.s. R2:R3 – p < 0,01*
B_2M x	2,08	2,04	2,37	2,04	R1:K – n.i.s.
SD	0,98	0,84	2,76	1,03	R2:K – n.i.s.
w osoczu M	1,98	1,85	2,39	1,78	R3:K – n.i.s.
n	13	16	13	17	R1:R2 – n.i.s.
(mg/L) zakres	1,00–4,92	1,18–4,18	0,90–3,66	1,09–4,02	R1:R3 – n.i.s. R2:R3 p = 0,096*

x – średnia, SD – odchylenie standardowe, M – mediana,
n – liczebność grupy, n.i.s. – różnice nieistotne statystycznie,
* test Wilcozona

Tabela II. Wartości oznaczeń B₂M w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) i osoczu w grupie chorych na świnkowe z.o. na początku choroby (Ś1) i w okresie zdrowienia (Ś2) oraz w grupie odniesienia (K)

Parametr		Ś1	Ś2	Grupa odniesienia (K)	Istotność statystyczna
B ₂ M w PMR (mg/L)	x	2,06	1,88	1,23	Ś1:K - p<0,01* Ś2:K - p<0,01* Ś1:Ś2 - n.i.s.
	SD	0,95	0,89	0,80	
	M	1,78	1,60	1,08	
	n	44	34	46	
zakres		0,79-4,99	0,65-4,14	0,15-3,47	
B ₂ M w osoczu (mg/L)	x	1,63	1,44	2,04	Ś1:K - n.i.s. Ś2:K - p=0,056* Ś1:Ś2 - n.i.s.
	SD	0,54	0,36	1,03	
	M	1,47	1,42	1,78	
	n	28	28	17	
zakres		0,79-2,80	0,92-2,31	1,09-4,02	

x - średnia, SD - odchylenie standardowe, M - mediana,
n - liczebność grupy, n.i.s. - różnice nieistotne statystycznie,
* test Wilcoxona

Tabela III. Wyniki oznaczeń B₂M w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) i osoczu w grupie chorych na enterowirusowe z.o. na początku choroby (W1) i w okresie zdrowienia (W2) oraz w grupie odniesienia (K)

Parametr		W1	W2	Grupa odniesienia (K)	Istotność statystyczna
B ₂ M w PMR (mg/L)	x	2,41	2,39	1,23	W1:K - p<0,01* W2:K - p<0,01* W1:W2 - n.i.s.
	SD	2,53	3,19	0,82	
	M	1,62	2,30	1,08	
	n	22	13	46	
zakres		0,80-12,0	0,65-3,84	0,15-3,47	
B ₂ M w osoczu (mg/l)	x	2,70	2,92	2,04	W1:K - p=0,014* W2:K - p=0,024* W1:W2 - n.i.s.
	SD	1,15	1,29	1,03	
	M	2,40	2,64	1,78	
	n	15	11	17	
zakres		1,66-6,00	1,55-5,73	1,09-4,02	

x - średnia, SD - odchylenie standardowe, M - mediana,
n - liczebność grupy, n.i.s. - różnice nieistotne statystycznie,
* test Wilcoxona

statystycznie. Zaobserwowano istotnie wyższe wartości stężeń B₂M w płynie m.-rdz. niż w osoczu zarówno na początku, jak i w okresie zdrowienia świnkowego zapalenia opon m.-rdz. (tab. II). Średnie stężenia B₂M w płynie m.-rdz. i w osoczu na początku i w okresie zdrowienia enterowirusowego z.o. były istotnie wyższe w porównaniu z grupą odniesienia (tab. III). Stężenia B₂M w płynie m.-rdz. nie różniły się od jej

stężen w osoczu w żadnym z okresów enterowirusowego zapalenia opon m.-rdz. Najwyższe stężenie B_2M w płynie m.-rdz. obserwowano w 2 okresie r.z.o. Było ono wyższe od górnej granicy przyjętej normy, tj. 2,83 mg/L (wartość średnia w grupie kontrolnej plus 2 odchylenia standardowe) u 15/23 dzieci (65%). Ponadto stężenie B_2M w płynie w tym okresie r.z.o. było istotnie wyższe niż na początku świnkowego i enterowirusowego z.o. W grupie chorych z innymi infekcjami i zaburzeniami OUN najwyższe stężenie B_2M w płynie m.-rdz. stwierdzono na początku choroby u pacjenta z ropniem mózgu (5,79 mg/L) i u pacjenta z opryszczkowym zapaleniem opon m.-rdz. i mózgu (5,77 mg/L). B_2M w płynie m.-rdz. na początku r.z.o. korelowała dodatnio z białkiem C-reaktywnym (wsp. kor. Spearmana – $S=0,71$, $p=0,024$), α_1 globulinami ($S=0,66$, $p=0,037$), α_2 globulinami ($S=0,80$, $p=0,011$) oraz z OB ($S=0,63$, $p=0,011$). W całej populacji chorych B_2M w płynie m.-rdz. na początku choroby korelowała słabo dodatnio z odsetkiem limfocytów w płynie ($S=0,21$, $p=0,056$). Nie stwierdzano korelacji pomiędzy stężeniem B_2M w płynie m.-rdz. i osoczu w żadnej z badanych grup.

OMÓWIENIE

W dostępnej literaturze niewiele jest publikacji, dotyczących zachowania się B_2M w zapaleniach opon m.-rdz., a zwłaszcza w r.z.o. Większość autorów przypuszcza, że B_2M jest produkowana miejscowo w OUN w przebiegu różnych chorób, jak wirusowe zapalenie opon m.-rdz., podostre stwardniające zapalenie mózgu, stwardnienie rozsiane, zakażenie HIV, nowotwory opon. W tych chorobach obserwuje się podwyższone stężenia B_2M w płynie m.-rdz., często wyższe niż we krwi (6, 9, 10, 11). *Glimaker* i wsp. (8) obserwowali podwyższone B_2M w płynie m.-rdz. u 68 ze 143 (48%) pacjentów z surowicznym zapaleniem opon m.-rdz. i u 9 z 14 (64%) z r.z.o. Autorzy ci przyjęli wartość 2,30 mg/L za górną normę stężenia B_2M w płynie m.-rdz., co równało się sumie wartości średniej w grupie kontrolnej plus 2 odchylenia standardowe. W naszych badaniach tak obliczona górna norma stężenia B_2M w płynie m.-rdz. (2,83 mg/L) była nieco wyższa, być może dlatego, że w badaniach własnych grupy odniesienia nie stanowiły ze względów etycznych dzieci zdrowe. *Starman*s i wsp. (11) obserwowali stężenie B_2M powyżej górnej granicy normy u 8/10 pacjentów z ropnym zapaleniem opon m.-rdz. i 2/4 pacjentów z limfocytarnym zapaleniem opon m.-rdz. W obecnych badaniach stwierdzono podwyższone stężenia B_2M w płynie m.-rdz. we wszystkich badanych okresach zapalenia opon, zarówno ropnego, świnkowego, jak i enterowirusowego. Najwyższe stężenie B_2M w płynie m.-rdz. (istotnie wyższe niż na początku wirusowych zapaleń opon m.-rdz.) obserwowano w 2 okresie r.z.o., tj. po 24–48 godz. leczenia. Przypuszczalnie stężenia B_2M w płynie m.-rdz. mogą mieć znaczenie w różnicowaniu przypadków bakteryjnego z.o. rozpoznanych z opóźnieniem i uprzednio leczonych antybiotykami. W 2 okresie ropnego, a także w obu okresach świnkowego z.o., stężenia B_2M w płynie m.-rdz. były istotnie wyższe niż we krwi, co wskazuje na lokalną produkcję B_2M w ośrodkowym układzie nerwowym w zapaleniu opon m.-rdz. o tej etiologii. Również brak korelacji stężenia B_2M w płynie m.-rdz. z jej stężeniem we krwi we wszystkich zapaleniach opon świadczy na korzyść hipotezy o lokalnej produkcji B_2M w płynie m.-rdz. w neuro-

infekcjach, z czym zgadzają się inni autorzy (8, 11). Mechanizm śródołonowej syntezy B₂M nie jest poznany. Prawdopodobnie pochodzi ona z komórek aktywowanych przez cytokiny uwalniane w trakcie zapalenia opon m.-rdz. W r.z.o. wydzielanie B₂M do płynu m.-rdz. przez pobudzone immunologicznie komórki (wykazujące ekspresję antygenów MHC klasy I), może zachodzić pod wpływem TNF α , którego stężenie w płynie m.-rdz. wzrasta na początku r.z.o., natomiast rzadko jest wykrywany w neuroinfekcjach wirusowych (6, 7). W wirusowych zapaleniach opon wzrost B₂M w płynie m.-rdz. może być indukowany działaniem interferonów α i γ . Składniki ściany komórkowej bakterii (np. lipopolisacharyd *H. influenzae*) także mogą indukować uwalnianie interferonów zwiększających ekspresję B₂M na makrofażach i leukocytach (wg 1). Możliwe, że ten mechanizm ma miejsce w ropnym z.o. Na związek podwyższonego stężenia B₂M w płynie m.-rdz. z działaniem sieci zapalnych cytokin świadczy pośrednio stwierdzona przez nas dodatnia korelacja B₂M w płynie m.-rdz. na początku ropnego i enterowirusowego z.o. z CRP oraz z OB w r.z.o. Być może istnieje jakiś związek również pomiędzy B₂M a IL-6 uważaną za marker ostrej fazy (stymuluje m.in. syntezę CRP w wątrobie), która jest wykrywana w płynie m.-rdz. chorych z zapaleniem opon m.-rdz. bakteryjnym i wirusowym (2). Zaobserwowano, że odcięcie B₂M od błon komórkowych wzrasta podczas proliferacji i różnicowania komórek, a także, że działa ona chemotaktycznie wobec komórek limfatycznych (4). Chemotaktyczna aktywność B₂M ma odgrywać rolę w migracji limfocytów do OUN, zatem wzrost lokalnej syntezy B₂M może odzwierciedlać stopniowy wzrost masy limfocytów i/lub ich aktywność w OUN (10). We własnych badaniach stwierdzono istotny wzrost stężenia B₂M w 2 okresie (po 24–48 godzinach leczenia) r.z.o., co może mieć związek z pleocytozą jednojądrzastą, wzrastającą w miarę leczenia r.z.o. (12). *Glimaker* i wsp. (8) obserwowali słabą korelację stężenia B₂M w płynie z pleocytozą jednojądrzastą u chorych z aseptycznym zapaleniem opon m.-rdz, przy czym najwyższe stężenia B₂M w płynie m.-rdz. występowały po 2–3 dniach (kiedy w enterowirusowym z.o. zaczyna przeważać pleocytoza jednojądrzasta). Przypuszcza się, że podwyższone stężenia B₂M w płynie m.-rdz. odzwierciedlają stany patologiczne OUN, skojarzone z martwicą komórek i nadaktywnością komórek limfoidalnych, glejowych i astrocytów (10). Własne badania wskazują na słuszność tego przypuszczenia, bowiem zaobserwowano wysokie stężenie B₂M w płynie m.-rdz. u pacjenta z ropniem mózgu wywołanym przez *Proteus mirabilis*, a więc w stanie związanym z destrukcją tkanki nerwowej oraz u pacjenta z opryszczkowym zapaleniem mózgu, u którego wykazano badaniem obrazowym (tomografią komputerową i rezonansem magnetycznym) zmiany martwiczo-krwotoczne w okolicach skroniowych mózgu. Inni autorzy również stwierdzali znaczny wzrost stężenia B₂M w płynie m.-rdz. u pacjentów z ciężkimi postaciami opryszczkowego zapalenia mózgu (6, 8, 11). W łagodnej postaci tej choroby poziom B₂M pozostawał w normie (11). Wg *Glimakera* (6) wysokie stężenie B₂M w płynie m.-rdz. u chorych z zapaleniem opon m.-rdz. i mózgu o etiologii HSV-2 jest prawdopodobnie wynikiem wzrostu TNF alfa w płynie m.-rdz. Z własnych badań wynika, że stężenie B₂M w płynie m.-rdz. w całej grupie chorych na zapalenie opon m.-rdz. było istotnie wyższe również w okresie zdrowienia w porównaniu z grupą odniesienia, zatem proces normalizacji stężenia B₂M w płynie m.-rdz. w przebiegu neuroinfekcji jest powolny, z czym zgadzają się inni autorzy (11).

WNIOSKI

1. W przebiegu zapaleń opon m-rdz. zarówno bakteryjnych jak i wirusowych u dzieci występują podwyższone stężenia β_2 mikroglubliny w płynie m-rdz., co jest najprawdopodobniej spowodowane wzmożoną miejscową produkcją tego białka w ośrodkowym układzie nerwowym.

2. Stwierdzono istotnie wyższe stężenie β_2 mikroglubliny w płynie m-rdz. po 24–48 godzinach leczenia ropnego zapalenia opon m-rdz. w porównaniu z początkiem zapaleń świnkowych i enterowirusowych, co może być pomocne w diagnostyce różnicowej zapalenia opon m-rdz. u dzieci, szczególnie w przypadkach r.z.o. późno rozpoznanych i uprzednio leczonych antybiotykami.

3. Stężenie β_2 mikroglubliny w osoczu nie zmienia się w przebiegu ropnego i świnkowego z.o. natomiast w enterowirusowym z.o. jest wyższe w porównaniu z grupą odniesienia, zarówno na początku choroby, jak i w okresie zdrowienia.

E. Murawska, Z. Szychowska, A. Jarno

BETA₂ MICROGLOBULIN IN CHILDREN WITH NEUROINFECTIONS

SUMMARY

CSF and plasma β_2 microglobulin (B_2M) concentrations were determined by an enzyme linked fluorescent assay (ELFA) (Vidas-bioMerieux) in children with bacterial (B_2M), viral (mumps and enteroviral) meningitis and in the controls. CSF B_2M concentrations in children with B_2M at admission, at 24–48 hrs of treatment and at recovery (day 10), in children with viral meningitis at admission and at recovery were significantly higher in comparison with the control group of children with non-pleiocytic CSF. The levels of CSF B_2M at 24–48 hrs of treatment of B_2M cases were significantly higher than those at the beginning of both mumps and enteroviral meningitis cases which may be helpful in differential diagnosis of meningitis, especially in cases of retarded diagnosis or partially treated B_2M . Plasma levels of B_2M during bacterial and mumps meningitis did not differ from those in healthy children but in children with enteroviral meningitis were significantly higher. There was a positive correlation between CSF B_2M at the beginning of B_2M and some laboratory findings of inflammatory response (CRP, ERS). The CSF B_2M levels were significantly higher than its plasma levels in patients with B_2M at 24–48 hours (second stage) of disease, mumps meningitis on admission and recovery which may suggest intrathecal production of B_2M during central nervous system infection.

PIŚMIENNICTWO

1. *Carstens J., Andersen P.L.*: Changes in serum neopterin and serum β_2 - microglobulin in subjects with lung infections. *Eur. Respir. J.*, 1994, 7, 1233. – 2. *Chavanet P., Bonnotte B., Guiguet M.* i in.: High concentrations of intrathecal interleukin - 6 in human bacterial and non bacterial meningitis., *J. Infect. Dis.*, 1992, 166, 428. – 3. *Cooper E.H., Forbes M.A., Hambling M.H.*: Serum β_2 -microglobulin and C reactive protein concentrations in viral infections. *J. Clin. Pathol.*, 1984, 37, 1140. – 4. *Dargemont C., Dunon D., Deugnier M.-A.* i in.: Thymotaxin, a chemotactic protein, is identical to β_2 -microglobulin. *Science*, 1989, 246, 803. – 5. *Evrin P.-E., Wibell L.*: The serum levels and urinary excretion of β_2 -microglobulin in apparently healthy subjects., *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*

- 1972, 29, 69. – 6. *Glimäker M.*: Enteroviral meningitis. Diagnostic methods and aspects on the distinction from bacterial meningitis., Doctoral thesis at Uppsala University 1992, Wydawca: Martin Glimaker, Stockholm 1992. – 7. *Glimäker M., Kragshjerg P., Forsgren M., Olcén P.*: Tumor necrosis factor *TNF- α* (TNF α) in cerebrospinal fluid from patients with meningitis of different etiologies: high levels of TNF α indicate bacterial meningitis., *J. Infect. Dis.* 1993, 167, 882. – 8. *Glimäker M., Olcén P., Strannegård Ö.*: Intrathecal production of neopterin and β -2 microglobulin in patients with aseptic meningitis. *Immunol. Infect. Dis.*, 1992, 2, 191. – 9. *McArthur J.C., Nance-Sproson T.E., Griffin D.E.* i in.: The diagnostic utility of elevation in cerebrospinal fluid β ₂-microglobulin in HIV-1 dementia. *Neurology*, 1992, 42, 1707. – 10. *Meillet D., Belec L., Celton N.* i in.: Intrathecal synthesis of β ₂-microglobulin and lysozyme: differential markers of nervous system involvement in patients infected with human immunodeficiency virus typ 1. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 1993, 31, 609.
11. *Starmans J.J.P., Vos J., van der Helm J.*: The β ₂ – microglobulin content of the cerebrospinal fluid in neurological disease. *J. Neurol. Sci.*, 1977, 33, 45. – 12. *Szychowska Z.*: Obserwacja kliniczna zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych u dzieci ze szczególnym uwzględnieniem wybranych funkcji endokrynnych., Praca habilitacyjna, Wrocław 1994.

Adres: Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych Wiekii Dziecięcego
Akademii Medycznej we Wrocławiu