

Lucjan Kępa, Barbara Oczko-Grzesik, Anna Boroń-Kaczmarek

STĘŻENIE INTERLEUKINY-6 (IL-6) W PŁYNIE MÓZGOWO-RDZENIOWYM CHORYCH Z ROPNYMI, BAKTERYJNYMI ZAPALENIAMI OPON I MÓZGU – OBSERWACJE WŁASNE

Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Zakaźnych w Bytomiu
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

STRESZCZENIE

CELEM pracy była ocena przydatności oznaczania stężenia interleukiny-6

w płynie mózgowo-rdzeniowym (pmr) w diagnostyce ropnych, bakteryjnych zapaleń opon i mózgu u dorosłych.

MATERIAŁ I METODA. Badania przeprowadzono u 16 chorych leczonych w Oddziale Chorób Zakaźnych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Bytomiu w latach 2008 – 2012 z rozpoznaniem ropnego bakteryjnego zapalenia opon i mózgu. W oparciu o ciężkość stanu klinicznego ocenianego w dniu przyjęcia do Oddziału chorzy zostali podzieleni na dwie grupy: I – chorzy w stanie bardzo ciężkim i II – chorzy w stanie średnio – ciężkim i lekkim. U wszystkich oznaczano w pierwszej dobie hospitalizacji stężenie interleukiny-6 w pmr. .

WYNIKI. U chorych w bardzo ciężkim stanie klinicznym przy przyjęciu (grupa I) średnie stężenie interleukiny-6 w płynie wynosiło 391,54 pg/mL, a u chorych w stanie średnio-ciężkim i lekkim (grupa II) – 110,51 pg/mL. Różnice średnich stężeń tej cytokiny w pmr między grupami chorych były statystycznie znamienne ($p < 0,01$). Nie stwierdzono korelacji między stężeniami interleukiny-6 i innymi parametrami zapalnymi pmr. Badania kontrolne wykonane u 5 chorych grupy I wykazały jedynie nieznaczne obniżenie się stężenia interleukiny-6 w pmr w przypadkach zakończonych zgonem. Natomiast w przypadkach zakończonych wyzdrowieniem stężenia tej cytokiny w pmr były wyraźnie obniżone w porównaniu z badaniem wstępnym.

WNIOSKI. Uzyskane wyniki wskazują na przydatność oznaczania stężenia interleukiny-6 w płynie mózgowo-rdzeniowym w ocenie nasilenia stanu zapalnego toczącego się w przestrzeni podpajęczynówkowej i, pośrednio, ciężkości stanu klinicznego chorego. Wielkość stężenia tej cytokiny w pmr może mieć także pewne znaczenie prognostyczne w ropnych, bakteryjnych zapaleniach opon i mózgu.

Słowa kluczowe : *interleukina-6, płyn mózgowo-rdzeniowy, ropne, bakteryjne zapalenie opon i mózgu*

WSTĘP

Bakteryjne zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN) nadal stanowią istotny problem współczesnej medycyny. Pomimo postępów farmakoterapii i intensywnej opieki medycznej, bakteryjne, ropne zapalenia opon i mózgu pozostają chorobami o niepewnym rokowaniu i stosunkowo wysokiej śmiertelności; w wielu przypadkach dochodzi ponadto do wystąpienia trwałych, neurologicznych następstw pochorobowych (1). Wyniki rutynowo wykonywanych badań płynu mózgowo-rdzeniowego (pmr), tzn. pleocytoza i cytogram, stężenie białka, glukozy, chlorków i, rzadziej, kwasu mlekowego, wydają się nie zawsze w pełni odzwierciedlać rzeczywiste natężenie procesu zapalnego tkanki mózgowej w tych chorobach (1,2).

W patofizjologii procesów zapalnych ośrodkowego układu nerwowego istotną rolę odgrywają cytokiny. Należą do nich między innymi: czynnik martwicy nowotworów- α , interleukina-1 β , a także interleukina-6 (2,3,4).

Interleukina-6 (IL-6) jest wielofunkcyjną cytokiną, wykazującą różnorodne działania, zarówno w stanach fizjologii, jak i patologii. Jest produkowana przez różne komórki, w tym przez monocyty, makrofagi pęcherzyków płucnych, fibroblasty, komórki śródbłonka i mezangium, keratynocyty, limfocyty B i T, eozynofile, a w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) – także przez astrocyty i komórki glejowe. Wytwarzanie IL-6 jest stymulowane przez endotoksyny, wirusy DNA i RNA, niektóre inne cytokiny (interleukinę-1, czynnik martwicy nowotworów, limfotoksynę, PDGF – komórkowy czynnik wzrostu pochodzący z płytek, TGF- β –

czynnik wzrostu limfocytów T). Do najważniejszych aktywności biologicznych IL-6 należą:

- stymulacja limfocytów B do komórek wytwarzających przeciwciała (udział w odpowiedzi humoralnej),
- wpływ na limfocyty T, głównie poprzez indukcję syntezy receptora dla interleukiny-2 (IL-2) oraz stymulację wytwarzania tej cytokiny, w obecności IL-2 IL-6 indukuje proliferację i różnicowanie cytotoksycznych limfocytów T,
- pośredniczenie w oddziaływaniu monocytów na aktywowanie limfocytów T,
- regulacja trombocytopoezy,
- udział w zapoczątkowywaniu reakcji ostrej fazy,
- wywoływanie reakcji gorączkowej poprzez stymulację wytwarzania prostaglandyn (5-10)

Wykazano udział interleukiny-6 w patofizjologii szeregu procesów chorobowych takich jak urazy, oparzenia, reumatoidalne zapalenie stawów, wstrząs septyczny, ostre zapalenie trzustki, stany zapalne w obrębie gałki ocznej, AIDS (8-10).

Celem pracy była próba oceny przydatności oznaczania stężenia interleukiny-6 w płynie mózgowo-rdzeniowym chorych, w diagnostyce ropnych, bakteryjnych zapaleń opon i mózgu.

MATERIAŁ I METODA

Badania przeprowadzono u 16 chorych leczonych w Oddziale Chorób Zakaźnych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Bytomiu w latach 2008 – 2012. W grupie tej było 12 mężczyzn (75%) i 4 kobiety (25%). Najmłodszy chory miał 18 lat, najstarszy – 71; średnia wieku wynosiła około 48 lat. Chorzy byli kierowani do Oddziału z podejrzeniem zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu. Na podstawie wyniku badania pmr w każdym przypadku postawiono rozpoznanie ropnego, bakteryjnego zapalenia opon i mózgu. Jako czynniki etiologiczne zachorowania stwierdzono: *Streptococcus pneumoniae* u 6 chorych (37,5%), *Neisseria meningitidis* w 2 przypadkach (12,5%); u pozostałych 8 chorych (50%) nie udało się ustalić czynnika etiologicznego zapalenia opon i mózgu.

Ze względu na ciężkość stanu klinicznego, ocenianego w dniu przyjęcia do Oddziału, chorzy zostali podzieleni na dwie grupy:

- grupa I – 10 chorych w stanie bardzo ciężkim (7 mężczyzn i 3 kobiety; średnia wieku około 55 lat), u których występowały zaburzenia świadomości, objawy ogniskowego uszkodzenia OUN, uogólnione drgawki (w okresie bezpośrednio poprzedzającym hospitalizację lub w jej pierwszej dobie), liczba punktów w skali śpiączkowej Glasgow (GCS) nie przekraczała 9; czynnikami etiologicznymi były: *Streptococcus pneumoniae* w 4 przypadkach,

w jednym *Neisseria meningitidis*, w pozostałych 5 przypadkach etiologii nie ustalono.

- grupa II – 6 chorych w stanie średnio – ciężkim i lekkim (5 mężczyzn i 1 kobieta; średnia wieku około 40 lat), u których nie występowały istotne zaburzenia świadomości, nie obserwowano objawów ogniskowego uszkodzenia OUN ani drgawek; liczba punktów w skali GCS przekraczała 10; czynniki etiologiczne zapalenia opon i mózgu: *Streptococcus pneumoniae* (2 przyp.), *Neisseria meningitidis* (1 przyp.), w pozostałych 3 przypadkach etiologii nie ustalono.

U wszystkich chorych w dniu przyjęcia do Oddziału wykonano nakłucie lędźwiowe i badanie pmr, które obejmowało oznaczenie pleocytozy i cytogramu, stężenia białka, glukozy i kwasu mlekowego oraz stężenia interleukiny-6 (IL-6).

Do pomiaru stężenia IL-6 metodą immunoenzymatyczną stosowano zestawy Human IL-6 kit Quantikine firmy R&D Systems Inc. (USA).

Ponadto, w 10. dobie leczenia u 5 chorych z grupy I wykonano kontrolne badanie płynu mózgowo-rdzeniowego. Wśród tych pacjentów 2 osoby zostały wyleczone, a 3 chorych – zmarło.

Porównanie średnich wielkości pleocytozy, stężeń białka, glukozy, kwasu mlekowego i interleukiny-6 między badanymi grupami chorych przeprowadzono za pomocą testu t Studenta. W badaniach statystycznych przyjęto poziom istotności $p(\alpha) < 0,05$ i $p(\alpha) < 0,01$. Oceniano także korelacje między parametrami płynu mózgowo-rdzeniowego w obu grupach chorych stosując współczynnik korelacji Pearsona.

WYNIKI

Wyniki badania pmr chorych z ropnymi, bakteryjnymi zapaleniami opon i mózgu uzyskane w dniu przyjęcia do Oddziału przedstawiono w tabeli I.

W grupie I średnia pleocytoza wyniosła 639 komórek w 1 mm^3 , u wszystkich chorych w cytogramie przeważały krwinki białe obojętnochnonne wielojądrowe (od 70% do 100% ogółu komórek), średnie stężenie białka 1820 mg/L, glukozy – 0,56 mmol/L, kwasu mlekowego – 10,75 mmol/L, a stężenie interleukiny-6 – 391,54 pg/mL. Stan tych pacjentów oceniany w chwili przyjęcia i przebieg choroby był bardzo ciężki. W 3 przypadkach doszło do wystąpienia ostrej niewydolności oddechowej, konieczne było zaintubowanie chorych lub wykonanie tracheotomii i stosowanie wentylacji mechanicznej za pomocą respiratora w warunkach oddziału intensywnej opieki medycznej; dwóch z tych chorych zmarło. Ogółem w tej grupie zmarło 3 chorych, a u 3 wystąpiły trwałe neurologiczne następstwa pochorobowe w postaci głuchoty lub niedosłuchu, wy-

leczone 4 pacjentów. Najwyższe stężenia białka i kwasu mlekowego oraz interleukiny-6 w pmr obserwowano w przypadkach zakończonych zgonem.

W grupie II średnia pleocytoza wynosiła 398 komórek w 1 mm^3 , w cytogramie wszystkich chorych dominowały również krwinki białe obojętnochłonne wielojądrzaste (od 65% do 88% ogółu komórek). Średnie stężenia pozostałych parametrów pmr przedstawiały się następująco: białko 841 mg/L, glukoza 0,91 mmol/L, kwas mlekowy 3,24 mmol/L, a stężenie interleukiny-6 – 110,51 pg/mL. Stan chorych i przebieg choroby w tej grupie był średnio-ciężki lub lekki, a wyniki leczenia zdecydowanie lepsze w porównaniu z grupą I; pełne wyleczenie uzyskano w 5 przypadkach, u jednego chorego doszło do wystąpienia niedosłuchu jako następstwa neuroinfekcji. U żadnego chorego w trakcie hospitalizacji nie obserwowano zaburzeń oddychania, żaden z chorych nie zmarł.

Wyniki kontrolnych badań pmr wykonanych u 5 chorych grupy I były następujące: u 2 chorych, którzy zostali wyleczeni, stwierdzono wyraźne obniżenie się stężenia interleukiny-6. We wszystkich przypadkach obserwowano także obniżenie wielkości pleocytozy, stężenia białka i kwasu mlekowego w porównaniu z badaniem wstępnym. Wyniki oznaczania stężenia IL-6: I badanie 852,41 pg/mL, II badanie 131,09 pg/mL w jednym przypadku oraz I badanie 799,11 pg/mL, II badanie 112,00 pg/mL w drugim przypadku. Natomiast u 3 chorych, którzy zmarli, stwierdzono jedynie nieznaczne obniżenie się stężenia interleukiny-6 w pmr: I badanie 1624,31 pg/mL, II badanie 1344,28 pg/mL, I badanie 1311,29 pg/mL, II badanie 1011,21 pg/mL, I badanie 924,68 pg/mL, II badanie 624,36 pg/mL, odpowiednio. We wszystkich tych przypadkach stwierdzono utrzymującą się wysoką pleocytozę wielojądrzastą, wysokie stężenia białka i kwasu mlekowego w płynie. Wyniki kontrolnych oznaczeń interleukiny-6 w pmr w przebiegu choroby u chorych z I grupy przedstawiono w tabeli II.

Różnice średnich wielkości pleocytozy i stężeń glukozy w pmr między badanymi grupami chorych nie były statystycznie istotne. Natomiast stwierdzono istnienie istotnych statystycznie różnic średnich stężeń białka ($p < 0,05$), kwasu mlekowego ($p < 0,01$) oraz interleukiny-6 ($p < 0,01$) w pmr między grupą I i II.

OMÓWIENIE

Podstawowym badaniem w diagnostyce zakażeń ośrodkowego układu nerwowego jest badanie płynu mózgowo-rdzeniowego. W większości laboratoriów rutynowe badanie obejmuje oznaczenie wielkości pleocytozy i cytogramu, stężenia białka, glukozy i chlorków, rzadziej – stężenia kwasu mlekowego (1,2).

Od wielu lat podejmowano próby poszerzenia zakresu badań diagnostycznych w zakażeniach OUN

o oznaczanie dodatkowych parametrów pmr. Oznaczało, między innymi, stężenia lizozymu, immunoglobulin, cytokin zapalnych, chemokin, produktów przemiany kwasu arachidonowego (prostaglandyn, tromboksanów, leukotrienów), prokalcytoniny (PCT), dehydrogenazy mleczanowej (LDH), kinazy kreatynowej (CK) enolazy neuronowo-swoistej (NSE), rzęskowego czynnika neurotropowego (CNTF) i białka S100B. Badania te pozwalały na dokładniejszą ocenę rzeczywistego nasilenia i przebiegu procesu zapalnego toczącego się w przestrzeni podpajęczynówkowej chorego, ale ich wykonanie często wymaga znaczących nakładów finansowych i dobrze wyposażonego laboratorium, dlatego nie są często wykonywane (11-16).

Interleukina-6 jest jedną z ważniejszych cytokin uczestniczących w procesach zapalnych toczących się w obrębie ośrodkowego układu nerwowego. Jest ona produkowana wewnątrz OUN, między innymi przez komórki śródbłonna, astrocyty i komórki glejowe, w odpowiedzi na rozpoczynające się i już trwające zakażenie, wpływ na jej produkcję mają także inne cytokiny, między innymi TNF oraz IL-1. IL-6 wykazuje przeważające działanie prozapalne, indukuje syntezę białek ostrej fazy, odpowiada także za uszkodzenie bariery krew-mózg (17,18). Badania innych autorów wskazują również na możliwość działania przeciwwzapalnego tej cytokiny, co ma przejawiać się hamowaniem migracji leukocytów z krwi do płynu mózgowo-rdzeniowego (19). Niemniej większość badaczy uważa, że w przebiegu bakteryjnych zakażeń OUN dominuje działanie prozapalne IL-6 (3,4,17,18).

Stężenia IL-6 badano w różnych chorobach ośrodkowego układu nerwowego. *Aiba i wsp.* wykazali, że w przebiegu pogrypowej encefalopatii, poziom IL-6 w surowicy ma znaczenie w przewidywaniu przebiegu i zejścia choroby (20). Obserwowano także wzrost stężenia tej cytokiny w pmr w przebiegu pourazowych uszkodzeń mózgu (21). Stężenia tej cytokiny w płynie mózgowo-rdzeniowym, obok innych cytokin (IL- 1β , TNF- α , IL-8), były istotnym markerem diagnostycznym w zakażeniach OUN związanych z zabiegami neurochirurgicznymi (22).

Badania roli interleukiny-6 w przebiegu bakteryjnych zapaleń opon i mózgu były prowadzone głównie w populacji dziecięcej (23-25). W patofizjologii bakteryjnych zakażeń OUN istotne znaczenie dla przebiegu procesu chorobowego ma nasilenie procesu zapalnego toczącego się w przestrzeni podpajęczynówkowej. W procesie tym uczestniczy także interleukina-6, która jest syntetyzowana głównie w obrębie OUN (2,3,26).

Badania przeprowadzone u dzieci z bakteryjnymi zapaleniami opon i mózgu wykazały wzrost stężenia interleukiny-6 w pmr. *Azuma i wsp.* stwierdzili, że poziom IL-6 w pmr jest najlepszym markerem zakażenia OUN u dzieci (22). Większość autorów uważa, że cytokina ta ma znaczenie w różnicowaniu bakteryjnych od wirusowych zapaleń opon i mózgu (23,24), jedynie *Mukai*

i wsp. nie wykazali znamienności statystycznej różnicy stężeń IL-6 w pmr między bakteryjnymi i wirusowymi zapaleniami opon i mózgu (25). Wielkość stężenia tej cytokiny w pmr, we wczesnym okresie choroby korelowała z ciężkością stanu klinicznego chorych. W przypadkach zakończonych wyleczeniem obserwowano obniżanie się stężenia IL-6 w pmr w badaniach kontrolnych (24).

Badania stężenia interleukiny-6 przeprowadzone u dorosłych z ropnymi, bakteryjnymi zapaleniami opon i mózgu wykazały podobne wyniki jak u dzieci; a w szczególności korelację z ciężkością stanu klinicznego chorego i obniżanie się stężenia tej cytokiny w pmr w przypadkach zakończonych wyleczeniem (27-29).

Nie stwierdzono wyraźnej zależności między wielkością stężenia interleukiny-6 w pmr a etiologią bakteryjnego zapalenia opon i mózgu (23,24,27-29). Wśród obserwowanych przez nas chorych także nie stwierdziliśmy takich zależności.

Nie wykazano również istnienia wyraźnych korelacji między stężeniem tej cytokiny w pmr a innymi, rutynowo oznaczanymi parametrami płynu. W przypadkach zakończonych wyleczeniem w badaniach kontrolnych obserwowano spadek stężenia IL-6 równoległe z normalizacją innych parametrów pmr (pleocytozy, białka i glukozy) (23,24,27-29).

Wśród obserwowanych przez nas chorych z grupy I stwierdziliśmy istnienie dodatniej korelacji między stężeniami interleukiny-6 i stężeniem kwasu mlekowego w płynie, nie było natomiast wyraźnej korelacji z wielkością pleocytozy wielojądrzastej, stężeniami białka i glukozy. W grupie II nie obserwowaliśmy korelacji między stężeniami tej cytokiny a innymi parametrami płynu mózgowo-rdzeniowego.

Interesującym zagadnieniem jest zależność stężenia interleukiny-6 w pmr od ciężkości stanu klinicznego chorego z bakteryjnym, ropnym zapaleniem opon i mózgu. Najwyższe stężenia tej cytokiny w pmr stwierdzano u chorych będących w najcięższym stanie klinicznym. Wydaje się to wskazywać na istnienie znacznego nasilenia procesu zapalnego obecnego w przestrzeni podpajęczynówkowej, prowadzącego w konsekwencji do często nieodwracalnego uszkodzenia tkanki mózgowej, będącego następstwem zakażenia bakteryjnego. Natomiast zmiany stężenia tej cytokiny w przebiegu bakteryjnego zapalenia opon i mózgu wykazują pewien związek z dalszym rozwojem i przebiegiem procesu chorobowego. Badania kontrolne wykonywane w trakcie hospitalizacji wykazywały wyraźnie obniżone stężenia interleukiny-6 w pmr u chorych, których stan kliniczny ulegał poprawie, a wyniki rutynowych badań płynu także się normalizowały. Natomiast u chorych, których stan kliniczny nie ulegał poprawie, stężenia tej cytokiny w pmr nadal były wysokie, porównywalne z pierwszym badaniem (24,27-29).

W przeprowadzonych przez nas badaniach obserwowaliśmy najwyższe stężenia interleukiny-6 w płynie

mózgowo-rdzeniowym u chorych w bardzo ciężkim stanie klinicznym (grupa I). Średnie wielkości pleocytozy wielojądrzastej i stężenia glukozy w płynie nie różniły się w sposób statystycznie istotny między grupą I i II. Natomiast najwyższe średnie stężenia białka i kwasu mlekowego obserwowaliśmy u chorych w bardzo ciężkim stanie klinicznym, szczególnie tych, którzy zmarli.

Uzyskane wyniki wskazują, że stężenia IL-6 w pmr wyraźnie korelowały z ciężkością stanu klinicznego chorego w chwili przyjęcia do Oddziału i dalszym przebiegiem choroby. Wykonane badania kontrolne wykazały pewną zależność zachowania się stężenia tej cytokiny w płynie mózgowo-rdzeniowym a zejściem choroby. W przypadkach zakończonych wyleczeniem stężenia interleukiny-6 były obniżone, co u większości chorych poprzedzało poprawę kliniczną i postępującą normalizacją innych parametrów pmr. Natomiast u chorych, którzy zmarli, stężenia tej cytokiny ulegały jedynie niewielkiemu obniżeniu w porównaniu z pierwszym badaniem, równocześnie utrzymywały się wysokie parametry zapalne pmr, a stan kliniczny nie ulegał poprawie. Niewielka stosunkowo liczebność grup badanych chorych utrudnia przeprowadzenie dokładniejszej analizy statystycznej uzyskanych wyników i wyciągnięcie jednoznacznych, dalej idących wniosków, ale może uzasadniać celowość prowadzenia dalszych badań.

PODSUMOWANIE

Stężenie interleukiny-6 w płynie mózgowo-rdzeniowym wydaje się w znacznym stopniu odzwierciedlać natężenie uszkodzenia mózgu wywołanego zakażeniem bakteryjnym. Wzrost jej stężenia w pmr wskazuje na nasilenie procesu zapalnego toczącego się w przestrzeni podpajęczynówkowej chorego, uszkodzenie bariery krew-mózg i w następstwie tych zjawisk, uszkodzenia tkanki mózgowej (2-4,18,26,28-30).

Oznaczanie stężenia interleukiny-6 w płynie mózgowo-rdzeniowym chorych z ropnymi, bakteryjnymi zapaleniami opon i mózgu może zatem mieć znaczenie zarówno w ocenie rzeczywistego nasilenia stanu zapalnego toczącego się w przestrzeni podpajęczynówkowej, mającego znaczenie dla przebiegu i zejścia choroby, jak i w prognozowaniu zejścia tej choroby. Może to okazać się przydatne w monitorowaniu przebiegu i leczenia ropnych zapaleń opon i mózgu i mieć pewne znaczenie rokownicze.

Otrzymano: 3.02.2014 r.

Zaakceptowano do publikacji: 10.09.2014 r.

Adres do korespondencji:

Dr n.med. Lucjan Kępa

Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Zakaźnych

Śląskiego Uniwersytetu Medycznego

Al.Legionów 49, 41-902 Bytom