

УДК: 616.831.9 - 002.3-07:612.824

## ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОКІНОВОГО БАЛАНСУ У ХВОРИХ НА ГОСТРИ ВІРУСНІ МЕНІНГІТИ

Нартов П. В.

Харківська медична академія післядипломної  
освіти

У хворих з гострими вірусними менінгітами в динаміці захворювання відзначається збільшення рівня прозапальних (ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ ) та протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10) цитокінів в цереброспінальній рідині у порівнянні з контролем. Представлені результати порівняльного аналізу підтверджують збалансованість (нормокомпенсація) цитокінів та наявність закономірностей нейроінфекційного процесу, обумовленого збудником.

**Ключові слова:** гострий вірусний менінгіт, цереброспінальна рідина, цитокіни.

Актуальність проблеми менінгітів вірусної етіології зумовлена високою частотою тяжких форм хвороби, значним рівнем летальності, розширенням спектра етіопатогенів, складністю диференційної діагностики. Найбільш частими етіологічними агентами вірусних менінгітів вважаються ентеровіруси та віруси сімейства герпесвірусів [1-3].

За сучасними уявленнями провідна роль у патогенезі нейроінфекцій відводиться патологічним процесам, що відбуваються в забар'єрній зоні, тобто за гематоенцефалічним бар'єром. Розпал запального синдрому у хворих гострими менінгітами пов'язують із проникненням в цереброспінальна рідина (ЦСР) інфекційного патогена або молекулярних патернів, які виступають у ролі тригера клітин імунного реагування та призводять до змін інтратекального гомеостазу. Активація клітин імунного реагування зумовлює запуск складного цитокінового (ЦК) каскаду та вивільненню протизапальних ЦК. Характер запалення, результат взаємодії між патогеном і механізмами захисту макроорганізму в значній мірі залежить від спектру та рівня продукуючих ЦК [4-6].

Мета роботи – оцінка кінетичного вмісту ЦК (інтерлейкінів (ІЛ) – 1, 2, 4, 6, 10 та фактор некрозу пухлин альфа (ФНП- $\alpha$ )) в ЦСР хворих на гострий вірусний менінгіт (ГВМ).

### Матеріали та методи

Обстежено 26 пацієнтів з діагнозом ГВМ, які поступили в екстреному порядку в обласну клінічну інфекційну лікарню м. Харкова. Вік хворих коливався в межах від 17 до 65 років, причому переважали особи молодше 40 років (середній вік жінок –  $37 \pm 3,4$  років, а чоловіків –  $25 \pm 2,5$  років). У більшості хворих на ГВМ була встановлена ентеровірусна та герпесвірусна етіологія захворювання: у 9 хворих був діагностований ентеровірусний менінгіт, а у 12 пацієнтів герпесвірусний менінгіт (HSV-1/2–7, VZV–

1, EBV–1, CMV–2, HHV–6–1). В 5 випадках вірусний етіологічний чинник не був ідентифікований.

Діагноз захворювання верифікований на підставі клініко-лікворологічних даних, а етіологічний чинник захворювання встановлювався за результатами полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), імуноферментного аналізу – герпес-антиген та ІgM та ІgG – маркерів реплікативної активності. Бактеріальна етіологія недиференційованих ГВМ була виключена за допомогою SLP-тесту (silkworm larvae plasma), заснованого на каскаді реакцій в гемолімфі личинок тутового шовкопряда [7]. Матеріалом дослідження була ЦСР хворих на ГВМ, яку отримали в першу добу та на 10-14 день захворювання. В контрольну групу увійшли 11 пацієнтів з нормальними показниками ліквору (цитоз  $0-6,0 \times 10^6$ /л клітин), люмбальна пункція яким проводилася у зв'язку з підозрою на менінгіт.

Для оцінки в ЦСР рівня цитокінів ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, використовували тест-системи ООО "Протеиновый контур" (Санкт-Петербург, Росія), а для ФНП- $\alpha$  – ООО "Цитокин" (Санкт-Петербург, Росія), користуючись інструкцією виробника. Дослідження виконувались в лабораторії молекулярної діагностики та клітинних біотехнологій «Вірола» при Харківській медичній академії післядипломної освіти.

Результати оброблені статистично на комп'ютері за допомогою стандартних програм Excel і Statistica 6

### Результати та обговорення

Згідно даних табл. 1 у гострому періоді захворювання, у хворих на ГВМ вміст ЦК, що досліджувались були достеменно вищими порівняно з показниками контрольної групи: ФНП- $\alpha$  – в 8,7 рази ( $p < 0,05$ ), ІЛ-1 – в 6,7 рази ( $p < 0,05$ ), ІЛ-2 – в 10,4 рази ( $p < 0,05$ ), ІЛ-4 – у 3,5 рази ( $p < 0,05$ ), ІЛ-6 – в 2,3 рази ( $p < 0,05$ ) та ІЛ-10 – в 4,4 рази ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 1.-Вміст ЦК в ЦСР хворих на ГВМ в гострий період захворювання (M  $\pm$  m)

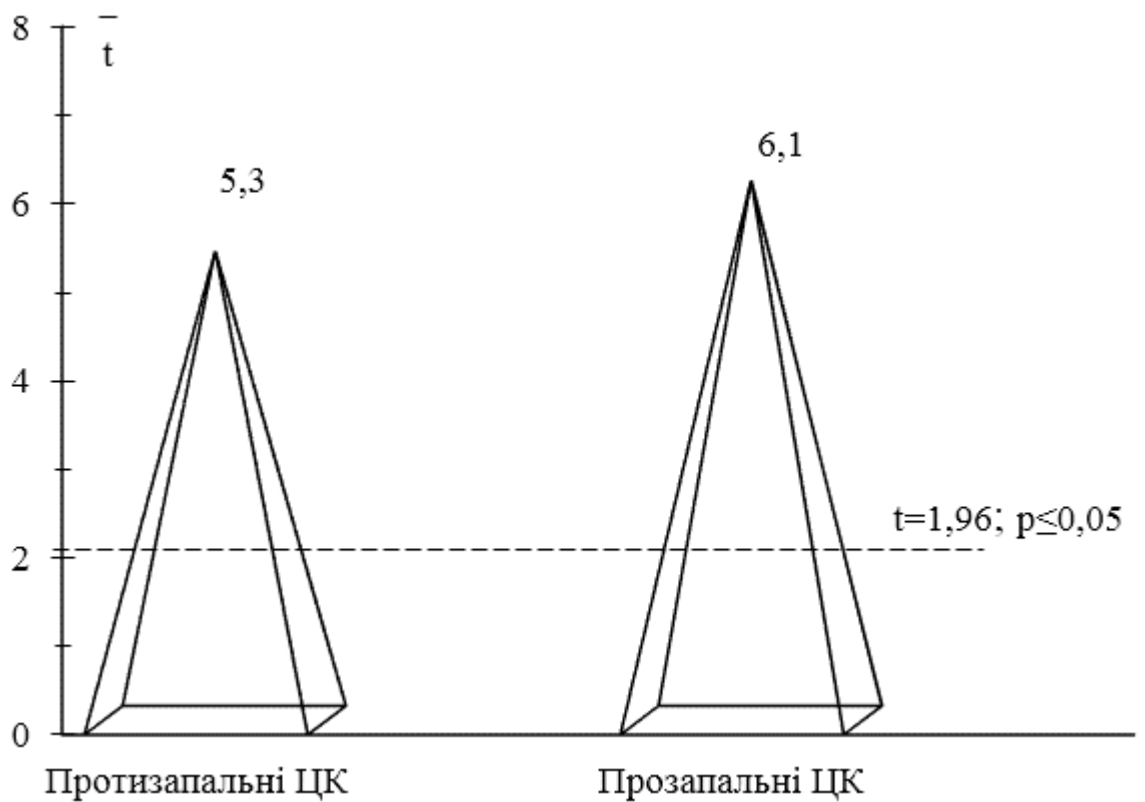
Показники	Контроль (n=11)	ГВМ (n=26)	p
ФНП- $\alpha$ , пг/мл	40,6 $\pm$ 6,5	356,4 $\pm$ 50,3	p<0,05
ІЛ-1, пг/мл	39,9 $\pm$ 3,8	266,6 $\pm$ 34,5	p<0,05
ІЛ-2, пг/мл	13,0 $\pm$ 1,5	135,0 $\pm$ 16,6	p<0,05
ІЛ-4, пг/мл	43,2 $\pm$ 5,3	152,2 $\pm$ 18,9	p<0,05
ІЛ-6, пг/мл	66,8 $\pm$ 3,98	154,3 $\pm$ 27,5	p<0,05
ІЛ-10, пг/мл	51,8 $\pm$ 2,8	229,4 $\pm$ 34,8	p<0,05

Що стосується концентрації ЦК в ЦСР хворих на ГВМ в період реконвалесценції (табл. 2), то для всіх показників вона виявилася вірогідно вищою, ніж у контролі. При цьому рівень ФНП- $\alpha$  перевищував контрольні значення в 5,8 рази ( $p < 0,05$ ), ІЛ-1 – в 3,7 рази ( $p < 0,05$ ), ІЛ-2 – в 6,2 рази ( $p < 0,05$ ), ІЛ-4 – у 2,7 рази ( $p < 0,05$ ), ІЛ-6 – в 2,2 рази ( $p < 0,05$ ), ІЛ-10 – в 2,7 рази ( $p < 0,05$ ).

**Таблиця 2. Вміст ЦК в ЦСР хворих на ГВМ в період реконвалесценції (M±m)**

Показники	Контроль (n=11)	ГВМ (n=26)	p
ФНП-α, пг/мл	40,6±6,5	210,6±41,8	p<0,05
ІЛ-1, пг/мл	39,9±3,8	146,6±23,7	p<0,05
ІЛ-2, пг/мл	13,0±1,5	80,4±10,4	p<0,05
ІЛ-4, пг/мл	43,2±5,3	115,6±16,4	p<0,05
ІЛ-6, пг/мл	66,8±3,98	147,0±27,7	p<0,05
ІЛ-10, пг/мл	51,8±2,8	138,7±27,9	p<0,05

Вірогідні односпрямовані відхилення показників цитокінового балансу (табл. 1, 2) у вигляді підвищення вмісту як прозапальних, так і протизапальних ЦК від контрольних значень в



**Рис. 1. Комплексна оцінка ступеня відхилення від контролю рівня прозапальних та протизапальних ЦК у хворих на ГВМ в гострий період.**

Для розуміння компенсаторних можливостей цитокінового балансу у період реконвалесценції був також оцінена активність прозапальних і протизапальних ЦК (рис. 2): активність прозапальних ЦК ( $\bar{t} = 4,44$ ;  $p < 0,05$ ) незначно (на 15,9%) перевищувала показники прозапальних ЦК ( $\bar{t} = 3,83$ ;  $p < 0,05$ ).

Отже, прозапальні та протизапальні ЦК у ЦСР хворих на ГВМ в періоді реконвалесценції також збалансовані, а їх функції перебувають в режимі нормокompенсації. Таким чином, незважаючи на клінічне одужання (період реконвалесценції) у хворих на ГВМ концентрація ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10 та

динаміці захворювання не дають відповіді про характер компенсаторних механізмів ЦК. З огляду на те, що ЦК мають різні ступені відхилення від контролю, їх необхідно нормувати. Для складання ступеня відхилення від контролю рівня ЦК в ЦСР в гострий період захворювання та період реконвалесценції був використаний нормований показник – t-критерій.

З рис. 1 видно, що ступінь активності прозапальних ЦК ( $\bar{t} = 6,1$ ;  $p < 0,05$ ) у гострий період захворювання виявився лише на 15% вищим порівняно з показниками протизапальних ЦК ( $\bar{t} = 5,3$ ;  $p < 0,05$ ). Це свідчить про збалансованість обох класів ЦК та про функціонування цитокінового балансу у напрямку нормокompенсації.

ФНП-α в ЦСР достовірно перевищувала показники контрольної групи, відповідно незначний лімфоцитарний цитоз, що зберігався після закінчення комплексної терапії, є причиною гіперпродукції ЦК лімфоцитами ЦСР.

### Висновки

За допомогою статистичного аналізу встановлено, що у хворих на ГВМ в періоді розпаду хвороби та реконвалесценції має місце достовірне збільшення рівня прозапальних та протизапальних ЦК по відношенню до показників контрольної групи. Отримані результати свідчать про збалансованість прозапальних і протизапальних ЦК як в гострий період, так і в період реконвалесценції, що

підтверджує компенсаторний режим функціонування без повної нормалізації.

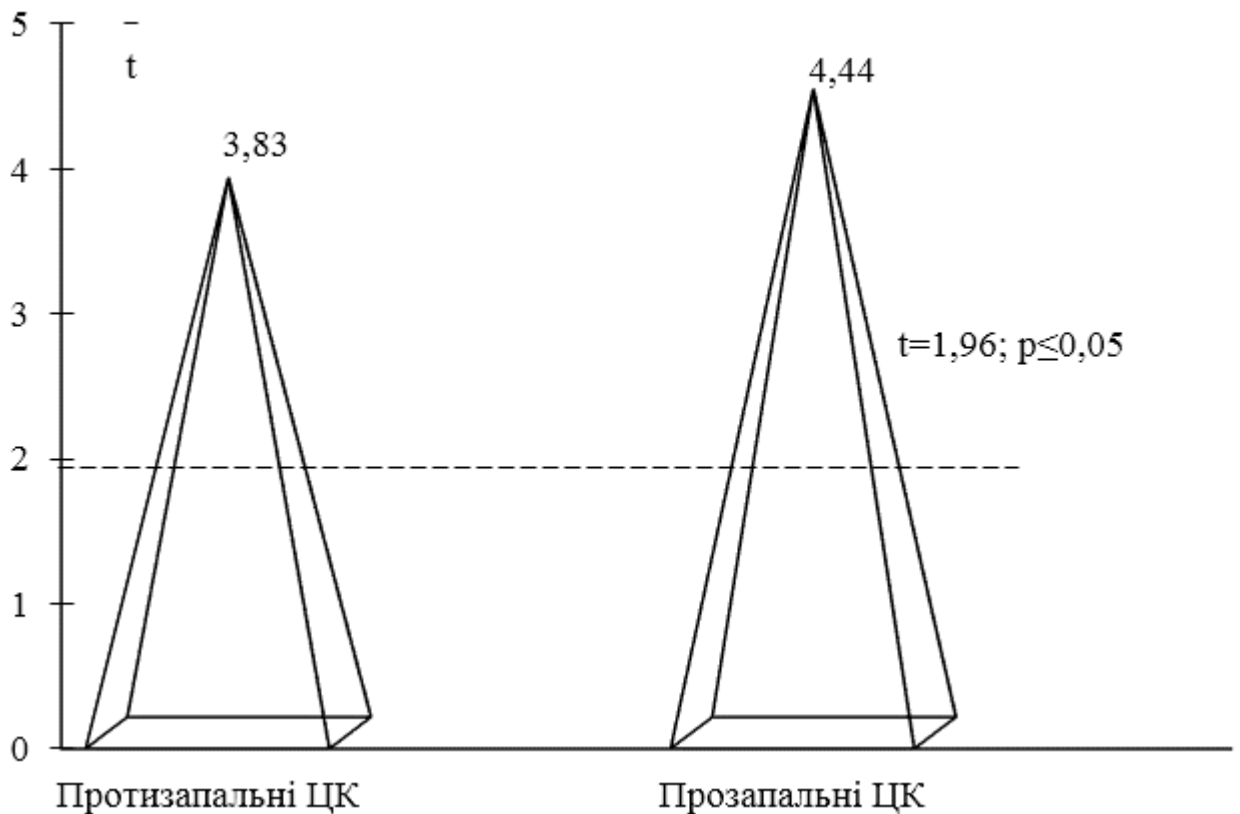


Рис. 2 Комплексна оцінка ступеня відхилення від контролю рівня прозапальних і протизапальних ЦК хворих на ГВМ у періоді реконвалесценції

#### References

1. Pikul K.V. Children's meningitis [Text] / K.V. Pikul, N.I. Gasyuk, V.I. Ilchenko [et al.] // *The world of medicine and biology* – 2013. – N 1. – P. 161-169.
2. Novruzova A.A. The state of immune system of patients with serous meningitis and meningitis, associated with myocarditis, caused by Coxsackie B3 and B5 viruses [Text] / A.A. Novruzova, Z.O. Karayev // *Ukrainian Journal of Clinical and Laboratory Medicine* – 2013. – Vol. 8, N 1. – P. 262-266.
3. Varicella-zoster virus CNS disease—viral load, clinical manifestations and sequels [Text] / A. Persson, T. Bergström, M. Lindh [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2009. – Vol. 46, N 3. – P. 249-253.
4. Brouwer M.C. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis [Text] / M.C. Brouwer, A.R. Tunkel, D. van de Beek // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2010. – Vol. 23, N 3. – P. 467-492.
5. Cerebrospinal fluid TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-8 in children with bacterial meningitis [Text] / R. Prasad, R. Kapoor, R. Srivastava [et al.] // *Pediatr. Neurol.* – 2014. – Vol. 50, N 1. – P. 60-65.
6. Lymphocytes modulate innate immune responses and neuronal damage in experimental meningitis [Text] / O. Hoffmann, O. Rung, J. Held [et al.] // *Infect. Immun.* – 2015. – Vol. 83, N 1. – P. 259-267.
7. Nartov P.V. Biomedical technology and the first steps to create a new test to determine bacterial endotoxin

[Text] / P.V. Nartov, V.A. Yakushchenko, A.F. Piminov, T.D. Hubchenko // *Ukrainian medical almanac.* - 2012. - T.15, №5. - P. 252-255.

#### FEATURE CYTOKINE BALANCE IN PATIENTS WITH ACUTE VIRAL MENINGITIS

Nartov P. V.

**Introduction.** The urgency of the problem of viral meningitis etiology is due to the high frequency of severe forms of the disease, significant levels of mortality, spread ethiopathogenesis spectrum, the difficulty of differential diagnosis. The leading role in the pathogenesis of CNS is given to pathological processes that occur in Sabar mi area, i.e. the blood-brain barrier and causes changes intrathecal homeostasis. The height of the inflammatory syndrome and release of anti-inflammatory cytokines (CK), as well as alternative Pro-inflammatory patients of acute viral meningitis (AVM) associated with the penetration into CSF infectious pathogen or molecular patterns, which act as trigger cells of the immune response.

**Material and methods.** 26 patients were examined with a diagnosis of GUM who was admitted on an emergency basis in regional clinical infectious diseases hospital, Kharkov. The age of patients ranged from 17 to 65 years, and was dominated by persons younger than 40 years (the average age of women was 37 years, and 25 for men). The majority of patients with GUM was identified

enterovirus and herpesvirus etiology of the disease: in 9 patients were diagnosed with enteroviral meningitis, and 12 patients herpesviruses meningitis (HSV-1/2-7, VZV-1, EBV-1, CMV-2, HHV-6-1). The diagnosis was verified on the basis of clinical and laboratory, serological and molecular genetic studies. The research material was cerebrospinal fluid (CSF) of patients GUM which was received in early disease and in the recovery period. The concentration of GC (IL-1, 2, 4, 6, 10 and TNF- $\alpha$ ) in CSF were determined by ELISA method. The control group consisted of 11 individuals with intact CSF. The results are statistically processed on a computer using standard computer programs (Excel and Statistica 6).

**Results and discussion.** In the acute period of the disease, patients AVM GC content that were studied, were significantly higher compared with the control group: TNF- $\alpha$  – 8.7-fold ( $p < 0.05$ ), IL-1 – 6.7-fold ( $p < 0.05$ ), IL-2 – 10.4 times ( $p < 0.05$ ), IL-4 – 3.5 times ( $p < 0.05$ ), IL-6 – 2.3 times ( $p < 0.05$ ) and IL-10 – 4.4-fold ( $p < 0.05$ ). Regarding the concentration of GC in the period of convalescence: TNF- $\alpha$  was higher than the control value 5.8-fold ( $p < 0.05$ ), IL-1 – 3.7 times ( $p < 0.05$ ), IL-2 – 6.2 times ( $p < 0.05$ ), IL-4 2.7 times ( $p < 0.05$ ), IL-6 2.2 – fold ( $p < 0.05$ ), IL-10 – 2.7 times ( $p < 0.05$ ). In connection with monodirectional changes in cytokines exchange in the form of increased levels of both inflammatory and anti-inflammatory cytokines, to assess the nature of compensatory mechanisms between inflammatory and anti-inflammatory was used normalized indicator – t-test. The degree of activity of inflammatory CK in the acute

period of the disease was only 15% higher in comparison with indicators of the Central Committee of anti-inflammatory. This indicates a balance of both classes of the Central Committee and on the functioning of cytokine exchange in the direction normocapnic. To understand the compensatory capacity of cytokine exchange in the period of convalescence was also assessed the balance between inflammatory and anti-inflammatory activity of the Central Committee of the inflammatory activity of the Central Committee slightly (15.9%) was higher than the rates of inflammatory CK. So, inflammatory and anti-inflammatory CK in CSF of patients GUM in the period of convalescence also balanced, and their functions are normocapnic.

**Conclusion.** Patients with AVM in the dynamics of the disease, the increase in the levels of proinflammatory (IL-1, IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ ) and antiinflammatory (IL-4, IL-10) cytokines compared with control, and also pathogenetic balance (normocapnia) cytokines. The increase in the GA concentration in the acute phase GUM evidence of both the existence of laws neurontina processes and peculiarities, caused by the pathogen, and an increase in the stage of convalescence – preservation of intrathecal inflammation. Research in CSF in the CNS allows not only to clarify the pathogenesis of the disease, but in the long term to make a differential diagnosis between serous and purulent nature of inflammation of the meninges, to predict the severity of disease.

**Key words:** acute viral meningitis, cerebrospinal fluid, cytokines.