

Современные аспекты лабораторной диагностики у больных с хроническими лимфатическими отеками нижних конечностей

Клиника и кафедра госпитальной хирургии Самарского государственного медицинского университета

e-mail: yarovenko_galina@mail.ru

Реферат

С целью оптимизации лабораторной диагностики у 142 больных вторичной лимфедемой нижних конечностей проведена оценка показателей цитокинового профиля при различной степени проявления заболевания. Изучены изменения показателей цитокинов сыворотки крови: интерлейкина-1, интерлейкина-6, интерлейкина-10 и фактора некроза опухоли (ФНО α).

Изменения уровней цитокинов опережают изменения других клинико-лабораторных показателей и являются предикторами прогрессирования вторичной лимфедемы нижних конечностей. Динамика показателей интерлейкина-1 наилучшим образом свидетельствует о течении патологического процесса и эффективности проводимого лечения.

Ключевые слова: вторичная лимфедема нижних конечностей, диагностика, цитокины сыворотки крови.

Yarovenko G. V., Zhukov B. N., Katorkin S. E., Myshentsev P. N.

Modern aspects of a laboratory diagnostics of patients with chronic lymphatics oedema of low extremities

Samara State Medical University

e-mail: yarovenko_galina@mail.ru

Abstract

With the aim of optimization a laboratory diagnostics of 142 patients with secondary lymphedema of low extremities laboratories diagnostics, the mark of showing of cytokin profile with any kind of diseases is made. The changes of showing cytokins serum of blood: IL-1, IL-6, IL-10 and factor necrosis of tumor have been studied.

The changes of cytokins level pass ahead of the other changes of clinic-laboratories showing and they are predictors of secondary lymphedema of low extremities progress. The dynamics of IL-1 showing is the best evidence of pathologic process flow and efficiency of treatment which is conducted.

Keywords: secondary lymphedema of low extremities, diagnostics, cytokins serum of blood.

Введение

Вторичная лимфедема нижних конечностей — хроническое заболевание, которое ведет к выработке антител, экспрессирующихся на поверхностной мембране В-лимфоцитов и способствующих синтезу иммуноглобулинов, идентичных поверхностному рецептору лимфоцита с формированием иммунного ответа организма на патологическое воздействие [7]. Лимфатические узлы являются составляющей лимфотетивулярной ткани, участвующей в иммунном ответе организма [3, 6]. Т-лимфоциты до 36–60 % составляют клеточный состав лимфатического узла [1]. Определение интерлейкина-1 (ИЛ-1) необходимо при проведении иммуномодулирующей терапии, так как, контролируя уровни провоспалительных цитокинов при местных воспалительных процессах в ходе про-

водимой терапии, с его помощью можно оценить эффективность проводимого лечения и прогнозировать исход воспалительного процесса [2]. Интерлейкин-6 (ИЛ-6) играет ключевую роль в развитии воспаления и иммунного ответа на инфекцию или повреждение тканей и имеет большое значение при оценке иммунного статуса организма. Интерлейкин-10 (ИЛ-10) обладает мощным противовоспалительным, иммуномодулирующим, иммуносупрессивным эффектом. Его главная роль — ингибирование избыточного синтеза провоспалительных цитокинов. Цитокин альфа-ФНО, как и другие цитокины, является важным низкомолекулярным медиатором межклеточных взаимодействий и также имеет большое значение при оценке иммунного статуса организма [4, 5].

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Цель исследования

Оптимизация диагностики больных вторичной лимфедемой нижних конечностей за счет оценки цитокинового профиля при различной степени проявления заболевания.

Материалы и методы исследования

Проведено изучение цитокинового профиля у 142 больных со вторичной лимфедемой нижних конечностей. Поражение левой нижней конечности выявлено в 67 (47,2 %), правой — в 47 (33,1 %) наблюдениях, а двухстороннее поражение отмечалось у 28 (19,7 %) пациентов.

Все больные разделены на 2 группы: 1 группа — больные вторичной лимфедемой нижних конечностей 1–2 степени и 2 группа — больные вторичной лимфедемой нижних конечностей 3–4 степени.

Нами изучены изменения показателей цитокинов сыворотки крови: интерлейкина-1, интерлейкина-6, интерлейкина-10 и фактора некроза опухоли (ФНО α). Для сравнения взяты показатели цитокинов сыворотки крови у здоровых лиц. Метод определения

всех используемых нами интерлейкинов основан на твердофазном «сэндвич»-анализе — варианте иммуноферментного анализа. Специфическими реагентами являются моноклональные антитела к ИЛ-1бета, ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО.

Результаты исследования и их обсуждение

Содержание цитокинов сыворотки крови у больных вторичной лимфедемой отличалось от нормы. Анализ уровней провоспалительных (ИЛ-1, ФНО α , ИЛ-6) и противовоспалительного (ИЛ-10) цитокинов в сыворотке крови больных данной патологией показал, что в зависимости от выраженности клинических проявлений, таких как величина отека, явления индуративного целлюлита, кратность перенесенных рожистых воспалений, цитокиновый профиль меняется. Особенно характерны изменения для пациентов 1 группы. У большинства обследованных пациентов показатель ФНО α превышал нормативные значения или находился на верхней границе нормы. Показатели цитокинов крови больных вторичной лимфедемой 1–2 степени представлены на диаграммах в

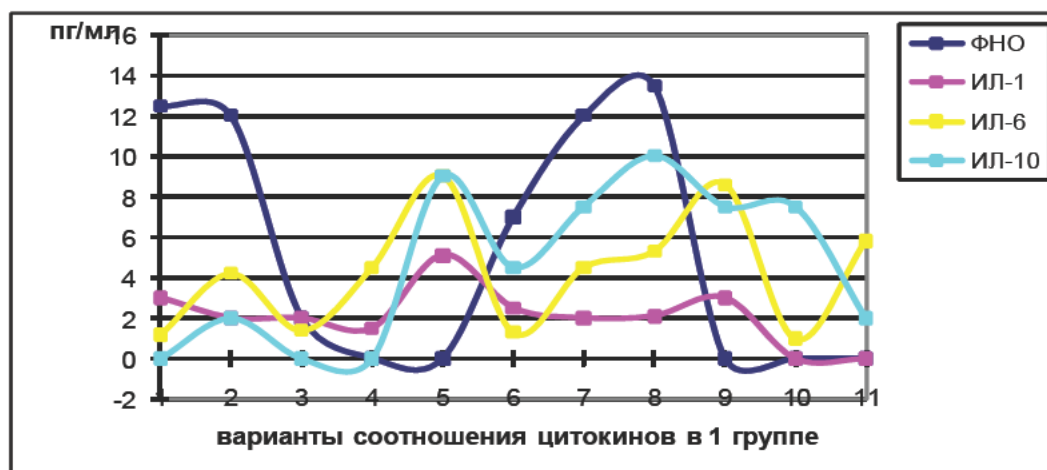


Рис. 1. Соотношение цитокинов крови у больных вторичной лимфедемой нижних конечностей 1–2 степени

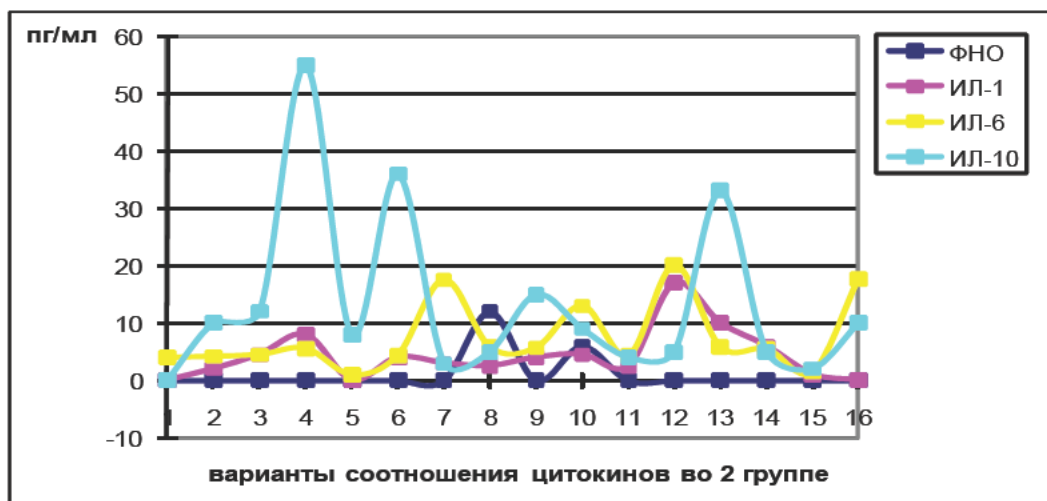


Рис. 2. Соотношение цитокинов крови у больных вторичной лимфедемой нижних конечностей 3–4 степени

сравнении с данными, полученными у больных 3–4 степени вторичной лимфедемой (рис. 1; 2).

Отмечается повышение уровня ИЛ-10 более чем в 6 раз у пациентов 2 группы с низкими значениями ФНО α , что характерно для хронического процесса, причем в состоянии ремиссии. В результате исследований установлено, что количество лейкоцитов и лимфоцитов в крови варьировало в пределах физиологической нормы в обеих группах и составляло $5,97 \times 10^9/\text{л} \pm 0,52$ и $30,19 \times 10^9/\text{л} \pm 3,49$ % для 1 группы и $6,58 \times 10^9/\text{л} \pm 0,52$ и $33,29 \times 10^9/\text{л} \pm 1,91$ % для 2 группы больных соответственно. Данные показателей периферической крови приведены в табл. 1.

Из полученных результатов обращает на себя внимание повышенное содержание в крови больных вторичной лимфедемой нижних конечностей 1–2 степени фактора некроза опухоли (ФНО α). Однако показатели всех прочих исследованных интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-10) у пациентов вторичной лимфедемой нижних конечностей 3–4 степени выше аналогичных у больных в 1 группе более чем в 2 раза. Так, у 40 % пациентов 1 группы (30 человек) с умеренно выраженными клиническими проявлениями (преходящим отеком) перед проведением консервативного или оперативного лечения было выявлено значительное, более чем в 4 раза, повышение спонтанного уровня ФНО α в сыворотке крови по сравнению с пациентами 2 группы (41 человек) и здоровыми лицами. Увеличение содержания цитокина не зависело от соответствующих изменений формулы крови, свидетельствующих о выраженности воспалительной реакции (коэффициенты корреляции с количеством лейкоцитов, лимфоцитов, СОЭ были минимальными), и наблюдалось как у пациентов с выраженным лимфоцитозом, так и у больных с повышенным содержанием нейтрофильных гранулоцитов в крови. В среднем уровень ФНО α в сыворотке крови в 1 группе составил $5,36 \pm 1,81$ пг/мл. В противоположность этому, у большинства больных 2 группы уровень ФНО α выявлялся на уровне минимальных значений и был снижен даже по сравнению с группой здоровых лиц ($2,5 \pm 0,7$ пг/мл), составляя в среднем $1,12 \pm 0,82$ пг/мл. Содержание ФНО α было высоким только у одной пациентки 2 группы, перенесшей

эритематозную форму острого рожистого воспаления. При этом отмечалось повышенное содержание лимфоцитов в крови, достигающее 12 пг/мл. В целом содержание цитокинов в сыворотке крови у больных 2 группы слабо коррелировало с изменениями лейкоформулы и СОЭ ($r=0,35$).

Изменение уровня другого провоспалительного цитокина – ИЛ-1 – в сравниваемых группах имело противоположный характер. В 1 группе содержание ИЛ-1 в сыворотке крови составило $2,11 \pm 0,43$ пг/мл. Это не отличалось от показателей здоровых лиц ($2,71 \pm 0,5$ пг/мл). Уровень ИЛ-1 был повышен лишь у одной больной с явлениями гипостатической экземы на фоне вторичной лимфедемы левой нижней конечности. Корреляция между изменениями уровней цитокина и лейкоформулы была низкой ($r=0,11$).

У больных 2 группы отмечалось статистически значимое повышение уровня ИЛ-1, концентрация которого составила в среднем $4,31 \pm 1,1$ пг/мл. Максимальные значения показателя ИЛ-1 во 2 группе пациентов превышали таковые у здоровых лиц и в группе 1 в 6–8 раз. При этом содержание ИЛ-1, как и в группе 1, не зависело от изменений формулы крови ($r=0,01$).

Концентрация ИЛ-6, также являющегося провоспалительным цитокином, изменялась подобно ИЛ-1 и зависела от степени клинических проявлений.

В группе 1 уровень ИЛ-6 не отличался от показателей здоровых лиц ($4,25 \pm 0,86$ пг/мл и $4,3 \pm 1,0$ пг/мл соответственно), а в группе 2 был статистически значимо повышен и составлял $7,53 \pm 1,5$ пг/мл. При этом одновременный подъем уровней ИЛ-1 и ИЛ-6 отмечался у одних и тех же пациентов, у которых наблюдались частые рецидивы рожистого воспаления нижних конечностей с наличием трофических расстройств. Необходимо отметить, что была выявлена умеренная отрицательная корреляция между содержанием ИЛ-6 и показателями лейкоформулы в 1 группе ($r=-0,38$).

Показатели противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в сыворотке крови пациентов сравниваемых групп были следующими. При вторичной лимфедеме нижних конечностей, независимо от тяжести заболевания, наблюдали статистически значимое, по

Соотношение показателей периферической крови и цитокинов у больных вторичной лимфедемой нижних конечностей 1–2 и 3–4 степени

Таблица 1		
Показатель	Больные вторичной лимфедемой нижних конечностей 1–2 степени (n=30), M $\pm$ m	Больные вторичной лимфедемой нижних конечностей 3–4 степени (n=41), M $\pm$ m
Лейкоциты	$5,97 \times 10^9/\text{л} \pm 0,52$	$6,58 \times 10^9/\text{л} \pm 0,52$
Лимфоциты (%)	$30,19 \pm 3,49$	$33,29 \pm 1,91$
СОЭ (мм/ч)	$7 \pm 1,16$	$13 \pm 2,44$
Интерлейкин-1 (пг/мл)	$2,11 \pm 1,42$	$4,31 \pm 1,1$
Интерлейкин-6 (пг/мл)	$4,25 \pm 0,86$	$7,53 \pm 1,49$
Интерлейкин-10 (пг/мл)	$4,54 \pm 1,17$	$13,25 \pm 3,77$
Фактор некроза опухоли (пг/мл)	$5,36 \pm 1,81$	$1,12 \pm 0,81$

Таблица 2

Показатель	ФНО α		ИЛ-1		ИЛ-6		ИЛ-10	
	1 группа	2 группа	1 группа	2 группа	1 группа	2 группа	1 группа	2 группа
ФНО α (1 гр.)	–		0,13		–0,28		0,05	
ФНО α (2 гр.)	0,28	–		–0,09		0,04		–0,17
ИЛ-1 (1 гр.)	0,13		–		0,44		0,26	
ИЛ-1 (2 гр.)		–0,09	–0,49	–		0,41		0,32
ИЛ-6 (1 гр.)	–0,28		0,44		–		0,48	
ИЛ-6 (2 гр.)		0,04		0,41	–0,24	–		–0,16
ИЛ-10 (1 гр.)	0,05		0,26		0,48		–	
ИЛ-10 (2 гр.)		–0,17		0,32		–0,16	–0,31	–

сравнению со здоровыми лицами, повышение уровня ИЛ-10 в крови. При этом по мере нарастания клинических проявлений содержание ИЛ-10 возрастало. Так, в группе 2 уровень ИЛ-10 составил $13,25 \pm 3,77$ пг/мл, превысив средние значения показателя в группе 1 ($4,55 \pm 1,17$ пг/мл) в 3 раза, а относительно группы здоровых доноров ($2,2 \pm 0,6$ пг/мл) – в 6 раз. Максимальные значения уровня ИЛ-10 прослеживалось перед проведением лечения у пациентов вторичной лимфедемой 3–4 степени и достигало значений 40–55 пг/мл. Во 2 группе корреляции между содержанием ИЛ-10 и изменениями формулы крови не было выявлено ($r=0,05$). В 1 группе больных отмечалась отрицательная корреляция с показателями лимфоцитов периферической крови ($r=-0,35$).

Учитывая взаимозависимость выработки провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, мы провели корреляционный анализ Пирсона между уровнями исследуемых цитокинов в сравниваемых группах (табл. 2). В 1 группе пациентов исследуемые цитокины прямо коррелировали между собой в виде возрастания от ИЛ-1 ($r=0,13$) до ИЛ-6 ($r=0,44$) и ИЛ-10 ($r=0,48$). Причем изменение ИЛ-1 влечет за собой возрастание последующих, что подтверждает их взаимосвязь, более тесную между ИЛ-6 и ИЛ-10. И только между ИЛ-6 и ФНО α получен отрицательный результат ($r=-0,28$), т.е. обратная связь. Для второй группы больных корреляционный анализ

показал очень слабую обратную связь для ФНО α ($r=-0,09$), ИЛ-6 ($r=-0,16$) и ИЛ-10 ($r=-0,17$). Наиболее взаимосвязаны изменения между ИЛ-1 и ИЛ-6 с коэффициентом корреляции между ними ($r=0,41$). Это особенно выражено наблюдается у пациентов 2 группы. При проведении корреляционного анализа между показателями цитокинов в обеих группах больных получены данные о положительном коэффициенте только для ФНО α ($r=0,28$). Для остальных цитокинов результат отрицательный. При этом более выражен для ИЛ-1 ($r=-0,49$), менее выражен для ИЛ-10 ($r=-0,31$) и минимальное значение для ИЛ-6 ($r=-0,24$). Это свидетельствует о степени выраженности взаимосвязи последних. То есть, только ИЛ-1 для обеих групп является критерием эффективности проводимого лечения.

Выводы

Таким образом, изменения уровней цитокинов опережают изменения других клинико-лабораторных показателей и являются предикторами прогрессирования вторичной лимфедемы нижних конечностей. Динамика показателей интерлейкина-1 наилучшим образом свидетельствует о течении патологического процесса и эффективности проводимого лечения.

В современной лабораторной диагностике у больных с хроническими лимфатическими отеками оптимальным является использование цитокинов сыворотки крови.

Литература

1. Бобова, Л. П. Гистофизиология крови и органов кроветворения и иммуногенеза / Л. П. Бобова, С. Л. Кузнецов, В. П. Сапрыкин. — М.: Новая волна, 2003. — 156 с.
2. Сапин, М. Р. О месте и роли лимфатической системы в организме человека / М. Р. Сапин // Материалы III съезда лимфологов России. — М., 2008. — С. 12.
3. Barrett, T. Imaging of the lymphatic system: new horizons / T. Barrett, P. L. Choyke, H. Kobayashi // Contrast Media Mol Imaging. — 2006. — № 1 (6). — P. 230–245.
4. Carr, I. Лимфорецикулярные болезни / I. Carr [et al]. — М.: Медицина, 1980. — 278 с.
5. Jurisic, G. Lymphatic endothelium in health and disease / G. Jurisic, M. Detmar // Cell Tissue Res. — 2009. — № 335 (1). — P. 97–108.
6. Pecking, A. P. Tests and imaging of the lymphatic system / A. P. Pecking [et al] // Rev. Med. Interne. — 2002. — № 23. — Suppl. 3. — P. 391s–397s.
7. Roitt, I. М. Основы иммунологии / I. М. Roitt. — М.: Мир, 1991. — 327 с.