

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-216-8-110-115>

Блеббинг плазматической мембраны лимфоцитов как маркер эндотелиальной дисфункции при развитии пострезекционной недостаточности у пациентов с очаговыми образованиями печени

Дунаевская С. С., Малиновская Н. А., Косик А. А.

ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, (ул. Партизана Железняка, д. 1, г. Красноярск, 660022, Россия)

Для цитирования: Дунаевская С. С., Малиновская Н. А., Косик А. А. Блеббинг плазматической мембраны лимфоцитов как маркер эндотелиальной дисфункции при развитии пострезекционной недостаточности у пациентов с очаговыми образованиями печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023;216(8): 110–115. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-216-8-110-115

✉ Для переписки:

Дунаевская

Светлана

Сергеевна

vikto-potapenk

@yandex.ru

Дунаевская Светлана Сергеевна, д.м.н., профессор, профессор кафедры общей хирургии им. проф. М. И. Гультмана
Малиновская Наталья Александровна, д.м.н., заведующий кафедрой биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии
Косик Арина Александровна, аспирант кафедры общей хирургии им. проф. М. И. Гультмана

Резюме

Цель исследования. Оценить интенсивность блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов и образования микрочастиц лимфоцитарного происхождения у больных с пострезекционной печеночной недостаточностью.

Материал и методы. В проведенном исследовании принимали участие 54 пациента с очаговыми заболеваниями печени. В исследовании участвовало 32 (59%) женщины, 22 (41%) мужчины. Средний возраст составил 59,5 [49,75; 66,00]. Пациенты были разделены на группы, 1 группа — 10 пациентов с развившейся острой печеночной недостаточностью и 2 группа — 44 пациентов с благоприятным течением послеоперационного периода. Были выполнены следующие оперативные вмешательства: 36 (67%) пациентам была выполнена операция — лапаротомия, сегментарная резекция печени, 10 (18%) — левосторонняя гемигепатэктомия и 8 (15%) — правосторонняя гемигепатэктомия.

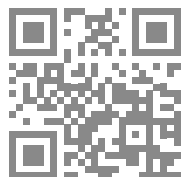
Результаты. Предикторами развития печеночной недостаточности в раннем послеоперационном периоде являются снижение показателя начального блеббинга и увеличение показателей терминального блеббинга и свободных микрочастиц лимфоцитарного происхождения.

Выводы. Таким образом, изменения в показателях блеббинга лимфоцитов и наличия свободных микрочастиц лимфоцитарного происхождения, обусловлены развитием эндотелиальной недостаточности и апоптоза лимфоцитов в условиях развития печеночной недостаточности и определяются сниженной функцией остаточного объема печени.

Ключевые слова: печеночная недостаточность, блеббинг лимфоцитов, резекция печени, очаговые заболевания печени, микрочастицы лимфоцитарного происхождения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: QQPXVV





Blebbing of the plasma membrane of lymphocytes as a marker of endothelial dysfunction in the development of post-resection insufficiency in patients with focal liver lesions

S. S. Dunayevskaya, N. A. Malinovskaya, A. A. Kosik

Prof. V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, (1, Partizan Zheleznyak str., Krasnoyarsk, 660022, Russia)

For citation: Dunayevskaya S. S., Malinovskaya N. A., Kosik A. A. Blebbing of the plasma membrane of lymphocytes as a marker of endothelial dysfunction in the development of post-resection insufficiency in patients with focal liver lesions. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023;216(8): 110–115. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-216-8-110-115

✉ **Corresponding author:**

Svetlana S. Dunayevskaya
vikto-potapenk
@yandex.ru

Svetlana S. Dunayevskaya, MD, professor, professor of department of the general surgery of the prof. M. I. Gulman;
ORCID: 0000–0003–2820–4737

Natalia A. Malinovskaya, Dr. Med.Sci., head of the department, Professor V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; ORCID: 0000–0002–0033–3804

Arina A. Kosik, graduate student, Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V. F. Voino-Yasenetsky;
ORCID: 0000–0002–5276–7874

Summary

Purpose of the study. To evaluate the intensity of blebbing of the plasma membrane of lymphocytes and the formation of microparticles of lymphocytic origin in patients with postresection hepatic failure.

Material and methods. The study involved 54 patients with focal liver diseases. The study involved 32 (59%) women, 22 (41%) men. The average age was 59.5 [49.75; 66.00]. Patients were divided into groups, 1 group — 10 patients with developed acute liver failure and 2 group — 44 patients with a favorable course of postoperative period. The following surgical interventions were performed: 36 (67%) patients underwent surgery — laparotomy, segmental liver resection, 10 (18%) — left-sided hemihepatectomy and 8 (15%) — right-sided hemihepatectomy.

Results. Predictors of early postoperative hepatic failure are a decrease in initial blebbing and an increase in terminal blebbing and free microparticles of lymphocytic origin.

Conclusions. Thus, changes in lymphocyte blebbing and the presence of free microparticles of lymphocytic origin are due to the development of endothelial insufficiency and apoptosis of lymphocytes in the context of liver failure and are determined by the reduced function of residual liver volume.

Keywords: liver failure, lymphocyte blebbing, liver resection, focal liver diseases, microparticles of lymphocytic origin

Conflict of interest. The Authors declare no conflict of interest.

Введение

Заболеваемость первичным и метастатическим раком печени, паразитарными заболеваниями значительно увеличилась за последние годы. Это связано как с ростом онкозаболеваемости, так и с улучшением качества диагностики и внедрением методов обследования, которые позволяют выявить патологические очаги на ранних стадиях и предварительно оценить их резектабельность. В последние годы существенно расширился контингент оперируемых больных, увеличился их возраст. Резекции печени проводятся также пациентам, которым ранее было бы отказано в операции в силу распространенности поражения печени или тяжести сопутствующих

заболеваний. У лиц, перенесших резекцию печени, наиболее значима проблема прогноза, профилактики и лечения послеоперационной печеночной недостаточности [1–4].

Использование новых эффективных методов современной диагностики патологических состояний, обладающих высокой информативностью, является неотъемлемой частью оказания медицинской помощи и залогом успешной терапии пациентов. Предметом изучения является возможность регистрации блеббинга клеточной стенки лимфоцита в ответ на наличие окислительного стресса, ведущего к развитию эндотелиальной

недостаточности. Эндотелиальная дисфункция приводит к нарушению процесса регенерации остаточного объема печени за счет снижения пролиферация всех типов клеток печени, и в частности непаренхиматозных клеткок (эндотелиальных, клеток Купфера и желчных протоков) [5–8].

Под блеббингом (англ. *blebbing*) принято понимать полную либо частичную дислокацию билипидного слоя клеточной стенки от цитоскелета, вследствие взаимодействия с большим количеством АФК. Блеббинг – это универсальный биологический феномен, одно из основных начальных проявлений гибели клетки. Кроме того, он является морфологическим проявлением повреждения клетки, вызванного гипоксией и интоксикацией. Необходимо отметить, что блеббинг – потенциально обратимое состояние. Выделяют начальный блеббинг, который занимает до $\frac{1}{3}$ радиуса клетки,

и терминальный блеббинг – более $\frac{1}{3}$ радиуса клетки, а также апоптоз (некротизированные лимфоциты). В дальнейшем возможно определение количества свободных микрочастиц образовавшиеся в связи с разрушенными лимфоцитами [9, 10].

Таким образом, изучение механизмов формирования эндотелиальной дисфункции должно носить комплексный характер, что позволит понять последовательность патогенеза нарушения функции эндотелия и выявить триггерные точки, воздействие на которые будет способствовать предупреждению возникновения эндотелиальной дисфункции или ее обратному развитию [11].

Цель: оценка интенсивности блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов и образование микрочастиц лимфоцитарного происхождения у больных с пострезекционной печеночной недостаточностью.

Материалы и методы

Изучены результаты оперативного лечения 54 пациентов с очаговыми заболеваниями печени различной этиологии, оперированных путем выполнения лапаротомии, резекции печени в хирургическом отделении Федерального Сибирского научно-клинического центра ФМБА России и в абдоминальном отделении Красноярского краевого клинического онкологического диспансера им. А. И. Крыжановского.

По половому составу разделение было следующее: 32 (59%) женщины, 22 (41%) мужчины. Средний возраст составил 59,5 [49,75; 66,00]. ИМТ у пациентов составлял 26,6 [22,3; 30,5]. Средняя длительность (количество дней) нахождения пациентов в стационаре составила 14 [10,25; 25]. Обследованные пациенты имели такие патологии печени: первичный рак печени 15 (28%), метастатические поражения печени 29 (54%), паразитарные заболевания печени 3 (5%), доброкачественные образования печени 7 (13%).

Пациенты были разделены на две клинические группы: 1 группа – пациенты без осложнений в послеоперационном периоде 44 (81%), 2 группа с развившейся в послеоперационном периоде ППН 10 (19%).

Обследованным пациентам выполнялись различные виды операций: 36 (67%) пациентам была выполнена операция – лапаротомия, сегментарная резекция печени, 10 (18%) – левосторонняя гемигепатэктомия и 8 (15%) – правосторонняя гемигепатэктомия.

Исследовали показатели блеббинга лимфоцитов и образование свободных микрочастиц до операции и на третьи сутки после операции в ла-

боратории на базе НИИ молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России. Выделение лимфоцитов осуществлялось по стандартному протоколу при центрифугировании гепаринизированной крови по градиенту плотности со средой Lympholyte H CL5010 фирмы “Cedarlane Laboratories Limited” (Канада). Фазово-контрастная микроскопия (при увеличении $\times 80$) выполнялась на микроскопе Olympus BX-41, снимки сделаны с помощью камеры Olympus DP72. Оценивали такие показатели, как число лимфоцитов в состоянии начального блеббинга (мелкие везикулы на мембране – до $\frac{1}{3}$ радиуса клетки), число клеток в состоянии терминального блеббинга (крупные пузыри мембраны – более $\frac{1}{3}$ радиуса), суммарный блеббинг – сумму числа лимфоцитов в состоянии начального и терминального блеббинга в процентах от общего числа клеток (при анализе не менее 10 полей зрения, подсчет велся на 100 клеток).

Статистическая обработка данных проводилась при помощи статистической программы STATISTICA 7.0, Stat Soft. Описание данных представлено в виде процентов (%) и в виде медианы 25; 75 перцентилей Me [Q1; Q3]. Для оценки связи между количественными признаками использовался непараметрический коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для оценки статистической значимости различий между группами применялся точный критерий Фишера. Статистически значимыми считались различия при уровне значимости меньше 0,05.

Результаты

Анализируя представленные данные было выявлено, что начальный блеббинг плазматической мембраны лимфоцитов составил 302,5 [289; 323,25] и суммарный блеббинг плазматической мембраны лимфоцитов был 377 [356,5; 403,25] у пациентов 1

группы до операции, однако после проведения оперативного вмешательства показатели увеличились и составили 457,5 [420,5; 475,25] и 469 [437; 483,25] соответственно. В то время как терминальный блеббинг плазматической мембраны лимфоцитов

Таблица 1.	Медиана показателей блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов и образования микрочастиц у пациентов 1 клинической группы.	Показатели	1 группа (без ПНН) до операции	1 группа (без ПНН) после операции	p ¹
Примечание:	p ¹ – статистическая значимость показателей у пациентов 1 группы до и после операции.	Блеббинг начальный	302,5 [289; 323,25]	457,5 [420,5; 475,25]	0,001
Table 1.	Median lymphocyte plasma membrane blebbing and microparticle formation in patients of clinical group 1.	Блеббинг терминальный	75 [65,75; 83]	10 [9; 11]	0,001
Note:	p ¹ – the statistical significance of patients in Group 1 before and after surgery.	Блеббинг суммарный	377 [356,5; 403,25]	469 [437; 483,25]	0,001
		Свободные микрочастицы	356,5 [338,25; 374,25]	78 [64,5; 100,25]	0,001

Таблица 2.	Медиана показателей блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов и образования микрочастиц у пациентов 2 клинической группы	Показатели	2 группа до операции	2 группа после операции	p ²
Примечание:	p ² – статистическая значимость показателей у пациентов 2 группы до и после операции.	Блеббинг начальный	304 [280; 333]	180 [171,5; 187,5]	0,005
Table 1.	Median lymphocyte plasma membrane blebbing and microparticle formation in patients of clinical group 2.	Блеббинг терминальный	81 [76,25; 87,75]	160 [159; 169,75]	0,005
Note:	P ² – the statistical significance of patients in Group 2 before and after surgery.	Блеббинг суммарный	392,5 [360,5; 423,25]	334 [320; 346,5]	0,007
		Свободные микрочастицы	393,5 [371,5; 402,25]	538,5 [514; 564]	0,005

и микрочастицы лимфоцитарного происхождения уменьшились с 75 [65,75; 83] до 10 [9; 11], а микро-частицы с 356,5 [338,25; 374,25] до 78 [64,5; 100,25]. Можно предположить, что изменения показателей обусловлены активацией иммунной системы на фоне операционного стресса в раннем послеоперационном периоде и являются благоприятными прогностическими маркерами. Данные представ-лены в табл. 1.

Представленные данные таблицы 2 свидетель-ствуют о том, что у пациентов 2 клинической груп-пы, отмечается повышение показателей терми-нального блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов, после операции с 81 [76,25; 87,75] до 160 [159; 169,75] и микрочастиц с 393,5 [371,5; 402,25] до 538,5 [514; 564], а начальный и суммарный блеб-бинг плазматической мембраны лимфоцитов сни-жается после операции с 304 [280; 333] до 180 [171,5; 187,5] и с 392,5 [360,5; 423,25] до 334 [320; 346,5]. Увеличение показателя терминального блеббинга позволяет предположить развитие апоптоза лим-фоцитов и как следствие возрастание свободных микрочастиц лимфоцитарного происхождения. В свою очередь микрочастицы являются актуа-торами развития эндотелиальной недостаточности, что приводит к снижению функции остаточного объема печени и развитию ППН.

В дальнейшем был проанализирован показатель начального блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов до операции в обеих группах, кото-рый находился в практически равных значениях

302,5 [289; 323,25] и 304 [280; 333]. Однако, после операции у пациентов 1 группы отмечается уве-личения показателя 457,5 [420,5; 475,25], в то время как у пациентов 2 группы отмечается тенденция к снижению показателя 180 [171,5; 187,5].

Терминальный блеббинг плазматической мем-браны лимфоцитов показал обратную связь, до операции показатели в обеих группах практиче-ски не имели различий 75 [65,75; 83] и 81 [76,25; 87,75], а после операции в 1 группе показатель снизился до 10 [9; 11], а во второй группе наобо-рот произошло увеличение до 160 [159; 169,75], что свидетельствовало о развитии дисфункции эндотелия при развитии острой печеночной не-достаточности.

Суммарный блеббинг плазматической мембра-ны лимфоцитов в 1 и 2 группе до операции нахо-дился практически в равных значениях 377 [356,5; 403,25] и 392,5 [360,5; 423,25], после операции у па-циентов 1 группы показатель увеличился 469 [437; 483,25], а во 2 группе после операции значительно снизился 334 [320; 346,5].

При анализе образования микрочастиц выяв-лено, что у 1 и 2 группы пациентов до операции количество микрочастиц было практически оди-наковое, но после операции в 1 группе отмечается снижение количества микрочастиц до 78 [64,5; 100,25], однако, во 2 группе наблюдается проти-воположная картина после операции, отмечается значительное увеличение до 538,5 [514; 564]. Данные представлены в табл. 3.

Таблица 3. Медиана показателей блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов и образования микрочастиц у пациентов 1 группы и 2 группы до и после операции. р³ – статистическая значимость показателей пациентов 1 и 2 группы до операции; р⁴ – статистическая значимость показателей пациентов 1 и 2 группы после операции.

Примечание: р³ – статистическая значимость показателей пациентов 1 и 2 группы до операции; р⁴ – статистическая значимость показателей пациентов 1 и 2 группы после операции.

Table 3. Median lymphocyte plasma membrane blebbing and microparticle formation in Group 1 and Group 2 patients before and after surgery.

Note: р³ – statistical significance of patients of groups 1 and 2 before surgery; р⁴ – statistical significance of the indicators of patients of groups 1 and 2 after surgery.

Показатели	1 группа до операции	2 группа до операции	1 группа после операции	2 группа после операции	р
Блеббинг начальный	302,5 [289; 323,25]	304 [280; 333]	457,5 [420,5; 475,25]	180 [171,5; 187,5]	р ³ 0,902 р ⁴ 0,001
Блеббинг терминальный	75 [65,75; 83]	81 [76,25; 87,75]	10 [9; 11]	160 [159; 169,75]	р ³ 0,030 р ⁴ 0,001
Блеббинг суммарный	377 [356,5; 403,25]	392,5 [360,5; 423,25]	469 [437; 483,25]	334 [320; 346,5]	р ³ 0,290 р ⁴ 0,001
Свободные микрочастицы	356,5 [338,25; 374,25]	393,5 [371,5; 402,25]	78 [64,5; 100,25]	538,5 [514; 564]	р ³ 0,005 р ⁴ 0,001

При сравнительном анализе показатели блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов и микрочастиц лимфоцитарного происхождения были зарегистрированы отличия в показателях между группами. Предикторами развития ППН в раннем послеоперационном периоде после перенесенной резекции печени являются снижение показателя начального блеббинга и увеличение показателей терминального блеббинга и свободных микрочастиц лимфоцитарного происхождения.

Изменение данных показателей может служить ранним диагностическим критерием развития ППН. Таким образом, блеббинг как начальная форма апоптоза является чувствительным маркером развития эндотелиальной дисфункции. Доказано, что показатели терминального блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов и образование микрочастиц при острой пострезекционной недостаточности коррелируют с прогрессирующим течением заболевания.

Выводы

Таким образом, изменения в показателях блеббинга лимфоцитов и наличия свободных микрочастиц лимфоцитарного происхождения, были зафиксированы в раннем послеоперационном периоде. Это

обусловлено тем, что развитие эндотелиальной недостаточности и апоптоза лимфоцитов в условиях развития ППН определяется сниженной функцией остаточного объема печени.

Литература | References

1. Burlaka A. P., Burlaka A. A., Virko S. V., Ganusevich I. I. Molecular mechanisms of oxidation damage and liver cell dysfunction in patients with metastatic colorectal cancer. *Exp Oncol.* 2019 Dec;41(4):328–334. doi: 10.32471/exp-oncology.2312–8852.vol-41-no-4.13796.

2. Akhaladze D. G., Rabaev G. S., Merkulov N. N. Search threshold values of future liver remnant function and volume for extensive resections in children. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of HPB Surgery.* 2021;26(3):104–111. (In Russ.) doi: 10.16931/1995–5464.2021–3–104–111.

Ахаладзе Д. Г., Рабаев Г. С., Меркулов Н. Н. Поиск пороговых значений функции и объема будущего остатка печени при обширных резекциях у детей. *Анналы хирургической гепатологии.* 2021;3(26):104–111. doi: 10.24110/0031–403X-2021–100–2–219–225.

3. Berlin P., Barrantes I., Reiner J. Dysbiosis and reduced small intestinal function are required to induce intestinal insufficiency in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2023 Jan 1;324(1): G10–G23. doi: 10.1152/ajpgi.00201.2022. Epub 2022 Nov 8.

4. Govil S. Pringle manouever and post-hepatectomy liver failure: chicken or egg? *HPB (Oxford).* 2021 Aug;23(8):1297. doi: 10.1016/j.hpb.2021.04.023.

5. Tomassini F., Giglio M. C., De Simone G. Hepatic function assessment to predict post-hepatectomy liver failure: what can we trust? A systematic review. *Updates Surg.* 2020 Dec;72(4):925–938. doi: 10.1007/s13304–020–00859–7. Epub 2020 Aug 4.

6. Konishi T., Schuster R. M., Lentsch A. B. Liver repair and regeneration after ischemia-reperfusion injury is associated with prolonged fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2019 Mar 1;316(3): G323–G331. doi: 10.1152/ajpgi.00154.2018.

7. Sparrelid E., Gilg S., van Gulik T. M. Systematic review of MARS treatment in post-hepatectomy liver failure. *HPB (Oxford).* 2020 Jul;22(7):950–960. doi: 10.1016/j.hpb.2020.03.013.

8. Andreev A. A., Ostroushko A. P., Laptiyova A. Yu., Glukhov A. A. Reparative liver regeneration after segmental resection (Literature review). *Aspirantskiy*

- Vestnik Povolzhiya*. 2018;(5–6):183–190. (in Russ.) doi: 10.17816/2072–2354.2018.18.3.183–190
- Андреев А. А., Остроушко А. П., Лаптиева А. Ю., Глухов А. А. Репаративная регенерация печени после сегментарной резекции (литературный обзор). Аспирантский вестник Поволжья. 2018;(5–6):183–190. doi: 10.17816/2072–2354.2018.18.3.183–190.
9. Dyabkin E. V., Dunaevskaya S. S., Vinnik Yu. S. The state of the immune system in liver pathology. *News of surgery*. 2011;19(1):112–116. (in Russ.)
Дябкин Е. В., Дунаевская С. С., Винник Ю. С. Состояние иммунной системы при патологии печени. *Новости хирургии*. 2011;19,1:112–116.
 10. Evseenko D. A., Dundarov Z. A., Nadyrov E. A., Kondrachuk A. N., Chelnokova I. A. Blebbing of the cell wall of lymphocytes in patients with cirrhosis of the liver with acute blood loss. *Surgery. Eastern Europe*. 2020;3(9):237–249. (in Russ.) doi: 10.34883/PI.2020.9.3.021.
Евсеенко Д. А., Дундаров З. А., Надыров Э. А., Кондрачук А. Н., Челнокова И. А. Блеббинг клеточной стенки лимфоцитов пациентов с циррозом печени острой кровопотерей. *Хирургия. Восточная Европа*. 2020;3(9):237–249. doi: 10.34883/PI.2020.9.3.021.
 11. Yoshino K., Yoh T., Taura K. A systematic review of prediction models for post-hepatectomy liver failure in patients undergoing liver surgery. *J.HPB (Oxford)*. 2021 Sep;23(9):1311–1320. doi: 10.1016/j.hpb.2021.05.002.