

DOI 10.17516/1997-1389-0327

УДК 611.98:616-089.811

## **Blebbing of the Lymphocyte Plasma Membrane as a Pathogenetic Marker of Critical Ischemia of the Lower Extremities**

**Yuriy S. Vinnik,  
Svetlana S. Dunaevskaya and Dar'ya A. Antyufrieva\***  
*V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University  
Krasnoyarsk, Russian Federation*

Received 22.04.2018, received in revised form 23.09.2019, accepted 23.09.2020

**Abstract.** The increasing interest in studying obliterating atherosclerosis of vessels of the lower extremities (OAVLE) has been triggered by the growing incidence of the disease and the need for a multidisciplinary approach to diagnostics and treatment of OAVLE. Patients with OAVLE had the following tests: lipid profile, the state of the coagulation component of hemostasis, total homocysteine, the state of arterial lumens, and blebbing of the lymphocyte plasma membrane. The patients were divided into two groups: Group 1 (30 patients) – patients with class IIB ischemia, according to Pokrovsky-Fontaine's classification, and Group 2 (30 patients) – patients with critical ischemia of the lower extremities. The tests revealed a strong positive correlation between the total blebbing of lymphocytes and the development of critical ischemia ( $r_s=0.85$ ,  $p<0.001$ ) and a very strong positive correlation between the number of lymphocytes in the state of terminal blebbing and the development of critical ischemia ( $r_s=0.96$ ,  $p<0.001$ ). Other significant factors were a decrease in LPHD, an increase in total homocysteine, and development of hypercoagulation. The data obtained in the present study confirm the importance of assessing the blebbing of the lymphocyte plasma membrane in patients with critical ischemia of the lower extremities.

**Keywords:** atherosclerosis, ischemia, lymphocytes, blebbing, homocysteine.

Citation: Vinnik Yu.S., Dunaevskaya S.S., Antyufrieva D.A. Blebbing of the lymphocyte plasma membrane as a pathogenetic marker of critical ischemia of the lower extremities. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2020, 13(3), 270-279. DOI: 10.17516/1997-1389-0327

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

\* Corresponding author E-mail address: antyufrievadaria@gmail.com

ORCID: 0000-0002-8995-2862 (Vinnik Yu.); 0000-0003-2820-4737 (Dunaevskaya S.)

## **Блеббинг плазматической мембраны лимфоцитов как патогенетический маркер критической ишемии нижних конечностей**

**Ю.С. Винник, С.С. Дунаевская, Д.А. Антюфьева**  
*Красноярский государственный медицинский университет  
им. В.Ф. Войно-Ясенецкого  
Российская Федерация, Красноярск*

**Аннотация.** Возрастающий интерес к изучению облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей связан с увеличением заболеваемости и необходимостью мультидисциплинарного подхода к диагностике и лечению данного заболевания. У пациентов с атеросклерозом был исследован липидный профиль, состояние коагуляционного звена гемостаза, уровень общего гомоцистеина, состояние просвета артерий и блеббинг плазматической мембраны лимфоцитов. Больные были разделены на две группы: 1-я группа (30 пациентов) с ишемией II В степени по классификации Покровского-Фонтейна и 2-я группа (30 пациентов) с критической ишемией нижних конечностей. Выявили высокую положительную корреляцию между суммарным блеббингом лимфоцитов и развитием критической ишемии ( $rS=0,85$ ,  $p<0,001$ ) и очень высокую положительную корреляцию между числом лимфоцитов в состоянии терминального блеббинга и развитием критической ишемии ( $rS=0,96$ ,  $p<0,001$ ). Кроме того, значимую роль играет снижение ЛПВП, повышение уровня общего гомоцистеина и развитие гиперкоагуляции. Полученные данные свидетельствуют о важности оценки блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов у пациентов с критической ишемией нижних конечностей.

**Ключевые слова:** атеросклероз, ишемия, лимфоциты, блеббинг, гомоцистеин.

Цитирование: Винник, Ю.С. Блеббинг плазматической мембраны лимфоцитов как патогенетический маркер критической ишемии нижних конечностей / Ю.С. Винник, С.С. Дунаевская, Д.А. Антюфьева // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2020. 13(3). С. 270-279. DOI: 10.17516/1997-1389-0327

### **Введение**

Возрастающий интерес к изучению облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей (ОАСНК) связан с увеличением заболеваемости и необходимостью мультидисциплинарного подхода к диагностике и лечению этого заболевания (Gallino et al., 2014). В настоящее время прогресс заболевания и развитие критической ишемии являются одной из наиболее важных про-

блем сосудистой хирургии (Lambert, Belch, 2013; Харазов и др., 2016). Для успешного лечения необходимо понимать, что прогрессирование атеросклеротического поражения сосудов зависит от множества факторов: состояния липидного обмена, свертывающей и противосвертывающей системы крови, а также клеточных механизмов повреждения эндотелия сосудов (Lu, Daugherty, 2015). Активация лимфоцитов и их взаимодействие

с эндотелиальными клетками приводят к развитию асептического воспаления в стенке артерии, провоцируя образование атеросклеротической бляшки (Libby, 2012). При усилении внутриклеточных сигнальных систем лимфоцита за счет блеббинга плазматической мембраны формируется активный рецепторный полюс, который взаимодействует с эндотелиоцитом. В результате блеббинга образуются микрочастицы лимфоцитарного происхождения, взаимодействующие с эндотелиальными клетками, что приводит к асептическому воспалению и является пусковым моментом формирования атеросклеротической бляшки в стенке сосуда. Кроме того, постоянная стимуляция эндотелиоцитов приводит к апоптозу и слущиванию эндотелия, усиливая его дисфункцию (Martinez et al., 2005; Veum et al., 2008; Inzhutova et al., 2012). Дисфункция эндотелия запускает каскад патологических реакций, провоцирующих формирование атеросклеротических бляшек, нарушает баланс между антитромбогенными и тромбогенными факторами, вазоконстрикторами и вазодилататорами (Шабров и др., 2016). Важность оценки блеббинга лимфоцитов как маркера эндотелиальной дисфункции была доказана для многих сердечно-сосудистых заболеваний, таких как гипертоническая болезнь и ишемическая болезнь сердца, в патогенезе которых значимую роль играет формирование атеросклеротических бляшек (Инжутова и др., 2010; Зимницкая и др., 2015). Это обуславливает интерес к исследованию состояния активации лимфоцитов и блеббинга плазматической мембраны у пациентов с ОАСНК.

Целью исследования являлась оценка диагностической значимости блеббинга лимфоцитов в диагностике и прогнозировании критической ишемии сосудов нижних конечностей.

## Материалы и методы

Когортное проспективное исследование, включавшее пациентов с ОАСНК, находившихся на лечении в хирургическом отделении СНКЦ ФМБА России, проводили с 2015 по 2017 г. Исследование одобрено на заседании локального этического комитета ГБОУ ВПО КрасГМУ, протокол 57/2014 от 29.10.2014. На основании анамнестических данных (длительность заболевания, дистанция безболевой ходьбы, уменьшение дистанции безболевой ходьбы в течение года, наличие болей в покое, длительность сохранения эффекта от консервативного лечения) и данных объективного осмотра (состояние кожных покровов, пульсация магистральных артерий нижних конечностей, наличие трофических расстройств и признаков формирующегося некроза) были сформированы две группы пациентов: 1-я группа (30 пациентов) с ишемией II В степени по классификации Покровского-Фонтейна и 2-я группа (30 пациентов) с критической ишемией нижних конечностей. В соответствии с «Национальными рекомендациями по ведению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей», разработанными Российским обществом ангиологов и сосудистых хирургов, ассоциацией сердечно-сосудистых хирургов России, Российским научным обществом рентгенэндоваскулярных хирургов и интервенционных радиологов, Всероссийским научным обществом кардиологов и Ассоциацией флебологов России (Москва, 2013 г.), под критической ишемией понимали синдром декомпенсации хронической артериальной недостаточности конечности вследствие заболевания артерий нижних конечностей, основными клиническими признаками которого являются боль в покое, не купируемая наркотическими анальгетиками, и (или) наличие язвенно-некротического процесса стопы. Для объективизации

ишемии оценивали лодыжечное артериальное давление, лодыжечно-плечевой индекс, пальцевое артериальное давление, транскутанное напряжение кислорода в пальцах стопы. Характер гемодинамики и мультифокальное поражение артерий нижних конечностей было подтверждено инструментальными методами исследования (УЗДГ артерий нижних конечностей, КТ-ангиографией). Обе группы пациентов были сравнимы по возрастному и половому составу: в группах все пациенты являлись мужчинами, возраст пациентов в 1-й группе составил 68 [57; 74] лет, во 2-й – 70 [56; 73] лет. В качестве контрольной группы выступали 15 практически здоровых добровольцев мужского пола, сопоставимые с исследуемыми группами пациентов по возрасту, который составил 67 [55; 74] лет, без признаков ОАСНК.

В рамках исследования были использованы физикальные, лабораторные и инструментальные методы. Для объективизации оценки состояния магистральных артерий при поступлении в стационар всем пациентам выполнили ультразвуковую доплерографию артерий нижних конечностей и по показаниям компьютерную ангиографию.

Исследование блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов проводили на базе НИИ молекулярной медицины и патофизиологии ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России. Забор крови осуществляли при поступлении в стационар до начала терапии. Лимфоциты периферической крови выделяли по стандартному протоколу. Центрифугировали гепаринизированную кровь по градиенту плотности со средой Lympholyte H CL5010 (Cedarlane Laboratories Limited, Канада). Полученные клетки оценивали при помощи фазово-контрастной микроскопии (увеличение  $\times 80$ ) на универсальном микроскопе Olympus

BX-41 (Olympus, Япония), цифровые снимки сделаны с помощью камеры Olympus DP72 (Olympus, Япония). Оценивали число лимфоцитов в состоянии начального блеббинга (мелкие везикулы на плазматической мембране, занимающие до 1/3 радиуса клетки), число лимфоцитов в состоянии терминального блеббинга (крупные множественные везикулы плазматической мембраны, занимающие более 1/3 радиуса), суммарный блеббинг – сумма клеток в состоянии начального и терминального блеббинга – в процентах от общего числа лимфоцитов (не менее 10 полей зрения, при этом подсчет вели на 100 выделенных лимфоцитов).

Уровни общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов (ТГ) и индекса атерогенности (ИА) были использованы для оценки состояния липидного обмена. Исследование проводили с помощью гомогенного энзиматического колориметрического теста. Оценивали коагулограмму: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ), тромбиновое время (ТВ), международное нормализованное отношение (МНО) и уровень фибриногена с использованием автоматического анализатора параметров свертывающей системы ACL TOP 700 (Instrumentation Laboratory Werfen, США). Уровень общего гомоцистеина определяли методом твердофазного хемилюминесцентного иммуноферментного анализа с помощью анализатора Architect i2000 с хемилюминесцентной технологией Chemiflex (Abbott Laboratories, США).

Описательная статистика представлена в виде медианы 25; 75 перцентилей  $Me [Q_1; Q_3]$ . Характер распределения полученных величин оценивали на основании теста Шапиро-Уилка. Большинство величин не соответ-

ствовавали нормальному распределению, для попарного сравнения в группах применяли непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Критический уровень статистической значимости при проверке нулевой гипотезы считали равным 0,05.

С помощью множественного регрессионного анализа и коэффициентов корреляции Спирмена ( $r_s$ ), Гамма и Кендалл-Тау установили взаимосвязи между отдельными парами признаков.

## Результаты

У пациентов с ОАСНК регистрировали значимые изменения в плазматической мембране лимфоцитов (табл. 1). В 1-й группе с ишемией II В степени суммарный блеббинг составил 18,2 [12,6; 20,6], что было выше показателя практически здоровых лиц 10,6 [7,2; 11,5] ( $p_1 < 0,001$ ), при этом преобладали клетки в состоянии начального блеббинга 13,3 [8,4; 15,7], а число клеток в состоянии терминального блеббинга было относительно невелико 6,3 [5,2; 8,7]. При развитии критической ишемии активация лимфоцитов происходила значительно интенсивнее. Суммарный блеббинг при критической ишемии составил 48,4 [32,7;

50,4], что более чем в 4 раза превышало показатель контрольной группы ( $p_1 < 0,001$ ) и более чем в 2 раза показатель в группе пациентов с ишемией II В степени ( $p_2 < 0,001$ ). Кроме того, при критической ишемии преобладало число клеток в состоянии терминального блеббинга 26,4 [19,6; 29,3] в сравнении с числом лимфоцитов в стадии начального блеббинга (табл. 1).

Нарушение липидного обмена играет важную роль в течении ОАСНК. Уровень общего холестерина был значимо повышен у пациентов обеих групп в сравнении с группой контроля, но при этом не имел значимых отличий между группами ( $p_2 = 0,461$ ) и составил 6,30 [6,10; 7,20] ммоль/л для пациентов 1-й группы и 5,50 [4,80; 5,90] ммоль/л – для 2-й группы (табл. 2). Уровень ЛПНП, обладающих атерогенными свойствами, был высоким у пациентов в обеих группах и составил у пациентов со II В стадией ишемии 3,85 [3,10; 4,20] ммоль/л, а у пациентов с критической ишемией – 4,78 [4,10; 6,75] ммоль/л, при этом значимого различия показателей между группами выявлено не было ( $p_2 = 0,603$ ). Уровень «хорошего холестерина» ЛПВП значимо отличался у пациентов и был выше в 1-й груп-

Таблица 1. Блеббинг плазматической мембраны лимфоцитов в зависимости от степени ишемии

Table 1. Blebbing of the lymphocyte plasma membrane as dependent on the degree of ischemia

Показатели	Контрольная группа (n=15)	1-я группа (n=30)	2-я группа (n=30)
Лимфоциты в состоянии начального блеббинга, в пересчете на 100 клеток	7,2 [5,4; 7,9]	13,3 [8,4; 15,7] $p_1 < 0,001$	19,5 [16,8; 21,4] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Лимфоциты в состоянии терминального блеббинга, в пересчете на 100 клеток	2,5 [1,0; 3,3]	6,3 [5,2; 8,7] $p_1 < 0,001$	26,4 [19,6; 29,3] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Суммарный блеббинг лимфоцитов, в пересчете на 100 клеток	10,6 [7,2; 11,5]	18,2 [12,6; 20,6] $p_1 < 0,001$	48,4 [32,7; 50,4] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примечание:  $p_1$  – значимость различий группы по сравнению с контролем (U-критерий Манна-Уитни),  $p_2$  – значимость различий между 1-й и 2-й группами (U-критерий Манна-Уитни).

Таблица 2. Липидный профиль в зависимости от степени ишемии

Table 2. Lipid profile as dependent on the degree of ischemia

Показатели	Контрольная группа (n=15)	1-я группа (n=30)	2-я группа (n=30)
Общий холестерин, ммоль/л	4,30 [4,20; 4,70]	6,30 [6,10; 7,20] $p_1 < 0,001$	5,50 [4,80; 5,90] $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,461$
ЛПНП, ммоль/л	2,60 [2,40; 2,88]	3,85 [3,10; 4,20] $p_1 < 0,001$	4,78 [4,10; 6,75] $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,603$
ЛПВП, ммоль/л	1,10 [1,00; 1,22]	1,80 [1,40; 2,35] $p_1 < 0,001$	0,95 [0,75; 1,10] $p_1 = 0,408$ $p_2 < 0,001$
Триглицериды	0,85 [0,80; 0,98]	1,56 [1,00; 2,20] $p_1 = 0,188$	2,15 [1,78; 2,60] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Индекс атерогенности	2,05 [1,80; 2,70]	2,32 [1,85; 2,99] $p_1 = 0,611$	3,92 [3,78; 5,06] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Общий гомоцистеин, мкмоль/л	8,4 [7,0; 10,3]	13,9 [11,9; 15,1] $p_1 < 0,001$	32,1 [29,3; 37,0] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примечание:  $p_1$  – значимость различий группы по сравнению с контролем (U-критерий Манна-Уитни),  $p_2$  – значимость различий между 1-й и 2-й группами (U-критерий Манна-Уитни).

пе – 1,80 [1,40; 2,35] ммоль/л по сравнению со 2-й – 0,95 [0,75; 1,10] ммоль/л ( $p_2 < 0,001$ ). Дисбаланс между «плохим» и «хорошим» холестерином нашел свое отражение в индексе атерогенности, который у пациентов с критической ишемией был выше – 3,92 [3,78; 5,06] ( $p_2 < 0,001$ ), что способствовало прогрессии патологического процесса и усилению ишемии нижних конечностей. Особый интерес представлял уровень общего гомоцистеина как вещества, являющегося маркером повреждения эндотелия. У пациентов с ОАСНК наблюдали повышение этого показателя в сравнении с практически здоровыми лицами ( $p_1 < 0,001$ ). При этом при критической ишемии уровень гомоцистеина был в 3 раза выше, чем у пациентов 1-й группы, и составил 32,1 [29,3; 37,0] мкмоль/л ( $p_2 < 0,001$ ) (табл. 2).

Одно из проявлений нарушений функционального состояния эндотелия – разви-

тие гиперкоагуляции. У пациентов с критической ишемией наблюдали значимое укорочение ПВ до 11,3 [9,9; 11,9] с ( $p_1 < 0,001$ ,  $p_2 < 0,001$ ), у пациентов с ишемией II В степени этот показатель оставался в пределах нормальных значений (табл. 3). При критической ишемии регистрировали укорочение ТВ до 12,0 [11,4; 12,3] с ( $p_1 < 0,001$ ,  $p_2 < 0,001$ ). Уровень фибриногена был выше значений контрольной группы у всех пациентов с ОАСНК и в 1-й группе составлял 3,9 [3,7; 4,2] г/л ( $p_1 < 0,001$ ), а во 2-й – 5,2 [4,9; 6,4] г/л ( $p_1 < 0,001$ ,  $p_2 < 0,001$ ) (табл. 3).

Для объективной оценки сохраненного просвета артерий нижних конечностей целесообразно выполнение современных методов визуализации. Мультиэтажное поражение артерий нижних конечностей делает невозможными реконструктивные операции у этой категории больных. При критической

Таблица 3. Показатели коагуляционного звена гемостаза в зависимости от степени ишемии

Table 3. Parameters of the coagulation component of hemostasis as dependent on the degree of ischemia

Показатели	Контрольная группа (n= 15)	1-я группа (n=30)	2-я группа (n=30)
АЧТВ, с	36,4 [35,2; 37,2]	35,4 [32,6; 37,4] $p_1=0,323$	34,7 [31,2; 35,1] $p_1=0,018$ $p_2=0,499$
ПВ, с	13,8 [12,3; 16,2]	13,5 [12,7; 14,4] $p_1=0,588$	11,3 [9,9; 11,9] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
ТВ, с	15,6 [14,2; 16,9]	14,7 [13,6; 15,1] $p_1=0,399$	12,0 [11,4; 12,3] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
МНО	0,84 [0,67; 0,95]	1,03 [0,95; 1,18] $p_1=0,712$	0,76 [0,65; 1,10] $p_1=0,506$ $p_2=0,822$
Фибриноген, г/л	2,4 [2,1; 3,0]	3,9 [3,7; 4,2] $p_1<0,001$	5,2 [4,9; 6,4] $p_1<0,001$ $p_2<0,001$

Примечание: АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, ПВ – протромбиновое время, ТВ – тромбиновое время, МНО – международное нормализованное отношение,  $p_1$  – значимость различий группы по сравнению с контролем (U-критерий Манна-Уитни),  $p_2$  – значимость различий между 1-й и 2-й группами (U-критерий Манна-Уитни).

ишемии сохраненный просвет поверхностной бедренной артерии (ПБА) составил 21,4 [16,0; 23,5] %, что значимо ниже, чем просвет при ишемии II В 30,4 [27,9; 37,6] % ( $p_2<0,001$ ) (табл. 4). Было выявлено поражение подколенной артерии (ПА) – сохраненный просвет в 1-й группе составил 28,19 [15,4; 34,8] %, а во 2-й всего 14,9 [10,3; 18,4] % ( $p_2<0,001$ ). Наибольшую проблему при критической ишемии представляет практически полная окклюзия передней большеберцовой (ПББА) и задней большеберцовой артерий (ЗББА). Нами не было выявлено статистически значимых различий между сохраненным просветом ПББА в исследуемых группах. Сохраненный просвет ПББА в 1-й группе равнялся 20,0 [14,6; 32,7] %, а во 2-й – 9,7 [6,4; 16,8] % ( $p_2=0,085$ ). При этом разница между клиническими проявлениями ишемии была обусловлена возможностью коллатерального кровотока из системы ЗББА, просвет которой у пациентов

с ишемией II степени был равен 23,5 [19,4; 36,4] %, в то время как у пациентов с критической ишемией – всего 11,7 [5,2; 20,4] % ( $p_2<0,001$ ). При этом у троих пациентов во 2-й группе кровотока в бассейне ЗББА отсутствовал полностью. Группы пациентов значимо различались по показателю лодыжечно-плечевого индекса (табл. 4).

Была выявлена высокая положительная корреляция между суммарным блеббингом лимфоцитов и развитием критической ишемии ( $rS=0,85$ ,  $p<0,001$ ) и очень высокая положительная корреляция между числом лимфоцитов в состоянии терминального блеббинга и развитием критической ишемии ( $rS=0,96$ ,  $p<0,001$ ). Кроме того, значимую роль играет снижение ЛПВП, коэффициент корреляции между уровнем ЛПВП и развитием критической ишемии составил  $rS= - 0,78$ , ( $p<0,001$ ). Коэффициент корреляции между развитием критической ишемии

Таблица 4. Сохранный просвет артерий нижних конечностей в зависимости от степени ишемии

Table 4. The preserved arterial lumens of the lower extremities as dependent on the degree of ischemia

	1-я группа (n=30)	2-я группа (n=30)
ОБА, %	60,2 [52,3; 70,4]	50,8 [48,1; 53,6] $p_2=0,112$
ПБА, %	30,4 [27,9; 37,6]	21,4 [16,0; 23,5] $p_2<0,001$
ГБА, %	68,4 [65,2; 78,3]	52,9 [42,6; 59,4] $p_2=0,031$
ПА, %	28,19 [15,4; 34,8]	14,9 [10,3; 18,4] $p_2<0,001$
ЗББА, %	23,5 [19,4; 36,4]	11,7 [5,2; 20,4] $p_2<0,001$
ПББА, %	20,0 [14,6; 32,7]	9,7 [6,4; 16,8] $p_2=0,085$
Комплекс Интима-медиа, мм	0,84 [0,82; 0,89]	0,87 [0,85; 0,92] $p_2=0,660$
Лодыжечно-плечевой индекс	0,62 [0,58; 0,84]	0,38 [0,35; 0,46] $p_2<0,001$

Примечание: ОБА – общая бедренная артерия, ПБА – поверхностная бедренная артерия, ГБА – глубокая бедренная артерия, ПА – подколенная артерия, ЗББА – задняя большеберцовая артерия, ПББА – передняя большеберцовая артерия,  $p_2$  – значимость различий между 1-й и 2-й группами (U-критерий Манна-Уитни).

Таблица 5. Коэффициенты корреляции между развитием критической ишемии и основными показателями

Table 5. Coefficients of correlation between the development of critical ischemia and the key parameters

Показатель	Коэффициент корреляции
Индекс атерогенности	$rS=0,74, p<0,001$
Уровень общего гомоцистеина, мкмоль/л	$rS=0,87, p<0,001$
Уровень ЛПВП, ммоль/л	$rS= - 0,78, p<0,001$
ТВ, сек.	$rS= - 0,64, p<0,001$
Фибриноген, г/л	$rS=0,57, p<0,001$
Суммарный блеббинг лимфоцитов	$rS=0,85, p<0,001$
Лимфоциты в состоянии терминального блеббинга	$rS=0,96, p<0,001$

Примечание:  $rS$  – коэффициент корреляции Спирмана,  $p$  – двусторонняя значимость коэффициента корреляции Спирмана, считается достоверной при  $p \leq 0,01$ .

и уровнем общего гомоцистеина –  $rS=0,87, p<0,001$  (табл. 5).

Коэффициенты корреляции между лабораторными и инструментальными показателями на фоне критической ишемии даны в таблице (см. материал, размещенный на сайте).

## Обсуждение

Высокий уровень суммарного блеббинга и преобладание терминального блеббинга при критической ишемии свидетельствуют об интенсивности активации лимфоцитов и повреждении эндотелия сосудов нижних конечностей.



Формирующиеся в результате блеббинга микрочастицы лимфоцитарного происхождения взаимодействуют с эндотелиальными клетками сосудов и приводят к повреждению эндотелия. Доказана высокая корреляция клеточных показателей, таких как блеббинг лимфоцитов и формирование микрочастиц лимфоцитарного происхождения с гуморальными показателями повреждения эндотелия, в частности, уровнем sPECAM-1 и антителами к фосфолипидам (Петрова и др., 2007). Повреждение эндотелия приводит к прогрессированию и образованию новых атеросклеротических бляшек, что достоверно отражается на снижении сохраненного просвета сосудов у пациентов. Снижение просвета сосудов вызывает снижение кровотока в тканях нижних конечностей, обуславливая нарушение перфузии и развитие критической ишемии нижних конечностей. Таким образом, лимфоцитарная активация является косвенным маркером облитерации просвета артериального сосуда, что согласуется с данными ранее проведенных исследований (Martinez et al., 2005; Inzhutova et al., 2012; Emeryanchik et al., 2017). В ходе нашей работы впервые оценена корреляция между уровнем клеток в различных фазах блеббинга и развитием критической ишемии.

Активность лимфоцитарных микрочастиц, формирующихся в результате блеббин-

га плазматической мембраны, также приводит к дисбалансу между антитромбогенными и тромбогенными факторами, что нашло свое отражение в выявленных признаках гиперкоагуляции у пациентов с критической ишемией и согласуется с литературными данными (Martinez et al., 2005; Шабров и др., 2016).

Проведенные исследования доказывают значимую роль гомоцистеина в повреждении эндотелиальных клеток и его влияние на процессы фибринолиза и коагуляции. Повышение уровня гомоцистеина среди прочего приводит к развитию гиперкоагуляции и тромбоза (Malinowska et al., 2012), что также подтверждается полученным в нашей работе высоким коэффициентом корреляции между развитием критической ишемии и уровнем общего гомоцистеина.

### Заключение

Суммарный блеббинг и число лимфоцитов в состоянии терминального блеббинга объективно отражают интенсивность поражения эндотелия и являются перспективными маркерами развития критической ишемии нижних конечностей при облитерирующем атеросклерозе. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важности оценки блеббинга плазматической мембраны лимфоцитов у пациентов с критической ишемией нижних конечностей.

### Список литературы / References

Зимницкая О.В., Малиновская Н.А., Петрова М.М., Салмина А.Б. (2015) Мобилизация эндотелиальных прогениторных клеток у пациентов с гипертонической болезнью II-III стадии. *Сибирское медицинское обозрение*, 5: 40-44 [Zimnitskaya O.V., Malinovskaya N.A., Petrova M.M., Salmina A.B. (2015) Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with hypertensive disease stage II-III. *Siberian Medical Review* [Sibirskoe meditsinskoe obozrenie], 5: 40-44 (in Russian)]

Инжутова А.И., Ларионов А.А., Салмина А.Б., Петрова М.М. (2010) Молекулярно-клеточные механизмы эндотелиальной дисфункции различного генеза (сообщение 1). *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*, 96(5): 85-88 [Inzhutova A.I., Larionov A.A., Salmina A.B., Petrova M.M. (2010) Molecular and cellular mechanisms of endothelial dysfunction

in different pathology. Report 1. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)* [Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)], 96(5): 85-88 (in Russian)]

Петрова М.М., Салмина А.Б., Инжутова А.И. (2007) Современные подходы к диагностике эндотелиальной дисфункции у больных гипертонической болезнью. *Сибирское медицинское обозрение*, 4: 17-20 [Petrova M.M., Salmina A.B., Inzhutova A.I. (2007) Modern approach to diagnostics of endothelial dysfunction in patients with hypertension. *Siberian Medical Review* [Sibirskoe meditsinskoe obozrenie], 4: 17-20 (in Russian)]

Харазов А.Ф., Каляев А.О., Исаев А.А. (2016) Распространенность симптомной ишемии нижних конечностей в Российской Федерации. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*, 7: 58-61 [Kharazov A.F., Kalyev A.O., Isaev A.A. (2016) PAD prevalence in Russian Federation. *Pirogov Russian Journal of Surgery* [Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova], 7: 58-61 (in Russian)]

Шабров А.В., Апресян А.Г., Добкес А.Л., Ермолов С.Ю., Ермолова Т.В., Манасян С.Г., Сердюков С.В. (2016) Современные методы оценки эндотелиальной дисфункции и возможности их применения в практической медицине. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*, 12(6): 733-742 [Shabrov A.V., Apresyan A.G., Dobkes A.L., Ermolov S.U., Ermolova T.V., Manasyan S.G., Serdyukov S.V. (2016) Current methods of endothelial dysfunction assessment and their possible use in the practical medicine. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology* [Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii], 12(6): 733-742 (in Russian)]

Beum P.V., Lindorfer M.A., Beurskens F., Stukenberg P.T., Lokhorst H.M., Pawluczkoysz A.W., Parren P.W.H.I., van de Winkel J.G.J., Taylor R.P. (2008) Complement activation on B lymphocytes opsonized with rituximab or ofatumumab produces substantial changes in membrane structure preceding cell lysis. *Journal of Immunology*, 181(1): 822-832

Emeryanchik E.Y., Vol'f N.G., Vesemiller O.A., Salmina A.B. (2017) Functional state of vascular endothelium in patients with pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart diseases. *Kardiologiya*, 57(8): 40-46

Gallino A., Aboyans V., Diehm C., Cosentino F., Stricker H., Falk E., Schouten O., Lekakis J., Amann-Vesti B., Siclari F., Poredos P., Novo S., Brodmann M., Schulte K.L., Vlachopoulos C., De Caterina R., Libby P., Baumgartner I. (2014) Non-coronary atherosclerosis. *European Heart Journal*, 35(17): 1112-1119

Inzhutova A.I., Larionov A.A., Petrova M.M., Salmina A.B. (2012) Theory of intercellular communication in the development of endothelial dysfunction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 153(2): 201-205

Lambert M.A., Belch J.J.F. (2013) Medical management of critical limb ischaemia: where do we stand today? *Journal of Internal Medicine*, 274(4): 295-307

Libby P. (2012) Inflammation in atherosclerosis. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 32(9): 2045-2051

Lu H., Daugherty A. (2015) Atherosclerosis. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 35(3): 485-491

Malinowska J., Kolodziejczyk J., Olas B. (2012) The disturbance of hemostasis induced by hyperhomocysteinemia; the role of antioxidants. *Acta Biochimica Polonica*, 59(2): 185-194

Martinez M.C., Tesse A., Zobairi F., Andriantsitohaina R. (2005) Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells in regulating vascular function. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 288(3): H1004-H1009