DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-176-4-96-99

УДК 616.37–002–074:612.13

Особенности экспрессии молекулы сосудистой адгезии при остром панкреатите IA фазы*

Винник Ю. С., Дунаевская С. С., Деулина В. В.

ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, 660077, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка 1, Россия

Peculiarities of the expression of the vascular adhesion molecule in acute IA phase pancreatitis*

Yu. S. Vinnik, S. S. Dunaevskaya, V. V. Deulina

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V. F. Voyno- Jaseneckiy Ministry of Health RF, 660077, Russia, г. Krasnoyarsk, street. Partizana Zsheleznyazka, 1

Для цитирования: Винник Ю. С., Дунаевская С. С., Деулина В. В. Особенности экспрессии молекулы сосудистой адгезии при остром панкреатите IA фазы. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;176(4): 96–99. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-176-4-96-99

For citation: Vinnik Yu. S., Dunaevskaya S. S., Deulina V. V. Peculiarities of the expression of the vascular adhesion molecule in acute IA phase pancreatitis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;176(4): 96–99. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-176-4-96-99

✉ Corresponding author:

Дунаевская

Светлана Сергеевна

Svetlana S. Dunaevskaya

Vikto-potapenk@yandex.ru

Винник Юрий Семенович, кафедра общей хирургии им. проф. М. И. Гульмана, заведующий кафедрой, д.м.н., профессор
Дунаевская Светлана Сергеевна, кафедра общей хирургии им. проф. М. И. Гульмана, профессор кафедры, д.м.н., профессор
Деулина Вера Валерьевна, очный аспирант кафедры.

Yurii S. Vinnik, Doctor of Medicine, professor, the head of the department of the general of surgery of the prof. M. I. Gulman;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8995-2862>

Svetlana S. Dunaevskaya, Doctor of Medicine, professor, professor of general surgery's department named after prof. M. I. Gulman;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2820-4737>

Vera V. Deulina, the graduate student of general surgery's department named after prof. M. I. Gulman;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7515-0500>

Резюме

Цель: оценить экспрессию молекулы сосудистой адгезии PECAM-1 (CD31) у пациентов с острым панкреатитом различной степени тяжести в IA фазу развития заболевания.

Материалы и методы. Работа имеет клинический характер и основана на проспективном анализе наблюдения и лечения 135 пациентов с острым панкреатитом разной степени тяжести. Пациенты были разделены на три группы, в зависимости от степени тяжести заболевания: 1 группа — 45 пациентов с легким острым панкреатитом, 2 группа — 45 пациентов со среднетяжелым острым панкреатитом, 3 группа — 45 пациентов с тяжелым острым панкреатитом. Забор крови для исследования осуществляли при поступлении до начала терапии. Фенотипирование лимфоцитов проводилось методом непрямой иммунофлюоресценции с помощью мышиных моноклональных антител к молекулам CD31-рецепторов лимфоцитов.

Результаты. Полученные данные свидетельствуют о том, что процент CD31-экспрессирующих лимфоцитов зависит от тяжести острого панкреатита. При исходно тяжелой форме заболевания, происходило усиление процесса трансэндотелиальной миграции лимфоцитов в очаг формирования некроза в ткани поджелудочной железы. В нашем исследовании значимо ($p < 0,001$, $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$) увеличивался процент CD31-экспрессирующих лимфоцитов до 13,21 [12,50; 5,76].

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что существует взаимосвязь между экспрессией PECAM1, как маркера межклеточных взаимодействий и степенью тяжести острого панкреатита.

Ключевые слова: острый панкреатит, тяжелый острый панкреатит, молекула сосудистой адгезии

* Иллюстрации к статье – на цветной вклейке в журнал.

* Illustrations to the article are on the colored inset of the Journal.

Summary

Purpose: to estimate the expression of a molecule of vascular adhesion of PECAM-1 (CD31) at patients with acute pancreatitis of varying severity in IA phase diseasedevelopment.

Materials and methods. Work has clinical character and is based on the prospective analysis of observation and treatment of 135 patients with acute pancreatitis of various degrees of severity. Patients were divided into three groups, depending on severity of a disease: 1 group — 45 patients with slight acute pancreatitis, the 2nd group — 45 patients with medium-weight acute pancreatitis, the 3rd group — 45 patients with heavy acute pancreatitis. Blood sampling for a research was carried out at receipt prior to therapy. Phenotyping of lymphocytes was carried out by method of an indirect immunofluorescence by means of mouse monoclonal antibodies to the molecules CD31 receptors of lymphocytes.

Results. The obtained data demonstrate that the percent of CD31-expressing of lymphocytes depends on weight of acute pancreatitis. At initially severe form of a disease, there was strengthening of process of transendothelial migration of lymphocytes in the center of forming of a necrosis in pancreas tissue. In our research significantly ($p < 0.001$, $p_1 < 0.001$, $p_2 < 0.001$) the percent of the CD31-expressing lymphocytes to 13.21 increased [12.50; 5.76].

Conclusion. The obtained data demonstrate that there is an interrelation between PECAM1 expression as a marker of intercellular interactions and severity of acute pancreatitis.

Keywords: sharp pancreatitis, heavy sharp pancreatitis, molecule of vascular adhesion

Актуальность острого панкреатита обусловлена сохраняющимися лидирующими позициями в структуре ургентной хирургической патологии и увеличением частоты развития тяжелой формы. Острый панкреатит – это первично асептическое воспаление поджелудочной железы, с поражением окружающих тканей, отдаленных органов и систем. Основная роль в патогенезе развития заболевания отводится ферментам поджелудочной железы, которые приводят к развитию и прогрессированию окислительного стресса, липидного дистресс-синдрома, ацидоза, гипоксии, диссеминированному тромбозу, повреждению мембран клеток [1–5].

Одним из звеньев патогенеза является миграция форменных элементов крови из периферических сосудов в межтканевое пространство. Данный процесс является многоэтапным и включает в себя: прилипание, качение, плотную адгезию и трансэндотелиальную миграцию клеток через стенки сосудов. В этапе плотной адгезии участвуют молекулы межклеточной адгезии ICAM, сосудистая молекула клеточной адгезии 1 VCAM-1, тромбоцитарно-эндотелиальная адгезионная молекула 1 PECAM-1

(CD31). Функция их в основном заключается в адгезии лейкоцитов при воспалении, под воздействием факторов некроза опухоли α и интерферона γ экспрессия PECAM-1 в области клеточных контактов снижается [6, 7].

PECAM-1 присутствует на поверхности как эндотелиальных клеток, так и лейкоцитов. При взаимодействии этой молекулы усиливается адгезия лейкоцитов к эндотелиальным клеткам, что приводит к трансэндотелиальной миграции лейкоцитов. Взаимодействие PECAM-1 лейкоцитов и клеток эндотелия является важным фактором адгезии моноцитов, нейтрофилов, Т-лимфоцитов и NK-клеток к монослою эндотелия [8]. Механизм повреждения панкреатоцитов запускается воспалительными цитокинами, которые воздействуют на эндотелий сосудов и лейкоциты, приводя к усилению экспрессии молекул адгезии и трансмиграции лейкоцитов в ткань, приводя к ее повреждению [9].

Цель исследования: оценить экспрессию молекулы сосудистой адгезии PECAM-1 (CD31) у пациентов с острым панкреатитом различной степени тяжести в IA фазу развития заболевания.

Материалы и методы исследования

Работа имеет клинический характер и основана на проспективном анализе наблюдения и лечения 135 пациентов с ОП (разной степени тяжести), была выполнена в период с 2016 по 2018 гг. на базе кафедры общей хирургии им. проф. М. И. Гульмана (заведующий – д.м.н., проф. Винник Ю. С.) и хирургическом и реанимационного отделений КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 7» города Красноярск. Фазово-контрастная микроскопия выполнена на базе НИИ молекулярной медицины и патобиохимии Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого (заведующий – д.м.н., профессор Салмина А. Б.). Пациенты были

разделены на три группы, в зависимости от степени тяжести заболевания: 1 группа – 45 пациентов с легким острым панкреатитом, 2 группа – 45 пациентов со среднетяжелым острым панкреатитом, 3 группа – 45 пациентов с тяжелым острым панкреатитом.

Диагноз заболевания устанавливали на основе клинико-лабораторных показателей в условиях приемного покоя хирургического стационара, подтверждали инструментальными методами исследования и оценивали тяжесть заболевания. Применяли классификацию ОП в соответствии с НКР МЗ России по острому панкреатиту (2015 г.), разработанную на основе рекомендаций Российского Общества Хирургов (2014 г.), с учётом классификации

Атланта-92 и её модификаций, предложенных в г. Кочин (2011 г.) (Международная Ассоциация Панкреатологов, International Association of Pancreatology) и Международной рабочей группой по классификации острого панкреатита (Acute Pancreatitis Classification Working Group) (2012 г.). Для оценки тяжести ОП и прогноза развития заболевания применяли шкалу критериев первичной экспресс-оценки тяжести острого панкреатита (СПБ НИИ СП имени И. И. Джанелидзе) (2006 г.).

Все данные в ходе проведения клинических, лабораторных и инструментальных исследований были занесены в электронную базу и затем структурированы в таблицы.

Участие в исследовании подтверждали информированным добровольным согласием на проведение диагностических и лечебных мероприятий.

Забор крови для оценки числа лимфоцитов осуществляли при поступлении до начала терапии. Лимфоциты выделяли по стандартной методике: центрифугированием гепаринизированной крови по градиенту плотности с использованием среды Lympholyte H CL5010 производства «Cedarlane Laboratories Limited» (Канада). Подсчет проводили

на основе фазово-контрастной микроскопии с помощью микроскопа Olympus BX-41 (Olympus, Япония).

Фенотипирование лимфоцитов проводилось методом непрямой иммунофлюоресценции с помощью мышиных моноклональных антител к молекулам CD31-рецепторов лимфоцитов. Было исследовано не менее 30 полей зрения в ультрафиолете и зеленом фильтре, при этом подсчет велся не менее, чем на 100 лимфоцитов. Рассчитывали процент лимфоцитов, экспрессирующих CD31, от общего числа лимфоцитов, ядра которых окрашены DAPI.

Полученные результаты были обработаны статистически. По критерию Шапиро–Уилка, исследуемые параметры не подчинялись нормальному распределению. Частота поражения поджелудочной железы и забрюшинной клетчатки представлены в виде абсолютных значений, их процентных долей и средней ошибки относительного показателя p ($P \pm m\%$). Описательная статистика для уровня микрочастиц представлена в виде медианы (Me) и 25, 75 перцентилей (Q_1 ; Q_3). Для оценки различия между группами применяли метод непараметрической статистики – U-критерий Манна–Уитни.

Результаты

Проведено исследование процента CD31-экспрессирующих лимфоцитов. CD31 экспрессируется не только на эндотелиоцитах, но и на лимфоцитах, участвует в трансэндотелиальной миграции лимфоцитов из периферической крови в очаг воспаления. Доказано, что взаимодействие лейкоцитов с PECAM1 (CD31) важно для успешной адгезии моноцитов, нейтрофилов, Т-лимфоцитов к монослою эндотелия, что является первым этапом трансэндотелиальной миграции. У пациентов легкой формой заболевания показатель не отличался значимо с группой контроля и составлял $7,11(6,52; 8,47)$ $p=0,902$. Полученные данные, вероятнее всего, обусловлены либо отсутствием зоны некротического очага в ткани поджелудочной железы, либо ее небольшими размерами при данной

форме острого панкреатита. Среднетяжелая форма острого панкреатита характеризуется формированием мелко- и среднеочагового панкреонекроза, процент CD31-экспрессирующих лимфоцитов при этом составил $8,50(5,67; 9,37)$, однако различия с контролем и легкой формой заболевания не были значимыми.

При исходно тяжелой форме заболевания, с формированием крупноочагового или тотального панкреонекроза, происходит усиление процесса трансэндотелиальной миграции лимфоцитов в очаг формирования некроза в ткани поджелудочной железы. В нашем исследовании значимо ($p < 0,001$, $p^1 < 0,001$, $p^2 < 0,001$) увеличивался процент CD31-экспрессирующих лимфоцитов до $11,21(12,50; 5,76)$. Данные представлены в таблице № 1 и на рисунке № 1.

Обсуждение

Возникновение и прогрессирование острого панкреатита связано с активацией ряда воспалительных клеток, в частности нейтрофилов и моноцитов. Тучные клетки играют критическую роль в активации лейкоцитов при развитии тяжелого острого панкреатита и повреждения легких при усилении активности молекул адгезии. Данный патологический процесс сопровождается усилением экспрессии PECAM1 на циркулирующих клетках лейкоцитарного звена и легочных нейтрофилах, приводя к развитию синдрома полиорганной недостаточности [10].

По данным Yang F. et al., 2014 выявлена обратная корреляция между PECAM1 на лейкоцитах периферической крови и микроциркуляцией поджелудочной железы, что позволило предположить необходимость в ингибировании экспрессии PECAM1 при «обрыве» панкреонекроза. Повреждение тканей и развитие дис-

функции органов сопровождается эндотелиальной недостаточностью, которая активируется воздействием молекул адгезии, межклеточных сигналов и взаимодействия лейкоцитов с эндотелиальными клетками [11].

По данным Wang X. et al., 1999 экспериментально моделированный острый панкреатит сопровождается развитием дисфункции эндотелия кишечника. Ингибирование фактора активации тромбоцитов, молекул межклеточной адгезии и молекул адгезии тромбоцитарных эндотелиальных клеток достигнуто путем введения антагонистов факторов активации тромбоцитов и моноклональных антител против ICAM-1 и PECAM1 [12].

В представленном исследовании впервые получены данные о взаимосвязи экспрессии PECAM1, как маркера межклеточных взаимодействий и степени тяжести развития острого панкреатита.

Показатели	Группа контроля	1 группа	2 группа	3 группа
Лимфоциты активированные CD31 в пересчете на 100 клеток	7,69 [6,72; 8,90]	7,11 [6,52; 8,47] p = 0,902	8,50 [5,67; 9,37] p = 0,592 p ¹ = 0,760	11,21 [12,50; 5,76] p < 0,001 p ¹ < 0,001 p ² < 0,001

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что существует взаимосвязь между экспрессией PECAM1, как маркера межклеточных взаимодействий и степенью тяжести острого панкреатита. Дисбаланс

медиаторов межклеточных взаимодействий при развитии и прогрессировании острого панкреатита является одним из патогенетических звеньев заболевания.

Литература | References

1. Kim Y.J., Kim D. B., Chung W. C., Lee J. M., Youn G. J., Jung Y. D., Choi S., Oh J. H. Analysis of factors influencing survival in patients with severe acute pancreatitis Scand J Gastroenterol. 2017;7:1–5. doi: 10.1080/00365521.2017.1310291

2. Кочетова Л.В., Дунаевская С. С. Метаболическая коррекция в комплексном лечении пациентов с тяжелым острым панкреатитом. Казанский медицинский журнал. 2011;3:315–318.
Kochetova L.V., Dunaevskaya S. S. Metabolicheskaya korraktsiya v kompleksnom lechenii patsientov s tyazhelym ostrym pankreatitom [Metabolic correction in integrated treatment of patients with severe acute pancreatitis]. Kazanskiy meditsinskiy zhurnal – Kazan medical magazine, 2011; no. 3, pp. 315–318.

3. Garcia-Hernandes V., Sarmiento N., Sanches-Bernal C. Modulation in the expression of SHP-1, SHP-2 and PTP1B due to the inhibition of MARKs, cAMP and neutrophils early on in the development of cerulean-induced acute pancreatitis in rats Biochimica et biophysica acta-molecular basis of disease. 2014; 1842.2:192–201.

4. Rathnakar S.K., Vishnu V.H., Muniyappa S., Prasath A. Accuracy and Predictability of PANC-3 Scoring System over APACHE II in Acute Pancreatitis: A Prospective Study J Clin Diagn Res. 2017;11(2):10–13. doi: 10.7860/JCDR/2017/23168.9375

5. Винник Ю.С., Булыгин Г. В., Дунаевская С. С. Эффективность применения глутоксима в комплексном лечении больных острым панкреатитом. Сибирское медицинское обозрение. 2002; 2(22):29–32.
Vinnik Yu.S., Bulygin G. V., Dunaevskaya S. S. Effektivnost' primeneniya glutoksima v kompleksnom lechenii bol'nykh ostrym pankreatitom [Effectiveness of glutoxime application in complex treatment of patients with acute pancreatitis]. Sibirskoe meditsinskoe obozrenie – Siberian medical review. 2002, no. 2(22), pp. 29–32.

6. Ягода А.В., Корой П. В., Сляднев С. А. Положительная корреляция уровня молекул суперсемейства иммуноглобулинов ICAM-1, VCAM-1 и PECAM-1с показателями индекса фиброза при неалкогольной

жировой болезни печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2017; 2(138):45–51.

Yagoda A. V., Koroy P. V., Slyadnev S. A. Polozhitel'naya korrelyatsiya urovnya molekul supersemeystva immunoglobulinov ICAM-1, VCAM-1 i PECAM-1s pokazatelyami indeksa fibroza pri nealkogol'noy zhirovoy bolezni pecheni [Positive correlation of the level of molecules of superfamily immunoglobulins icam-1, vcam-1 and pecam-1 with the index of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease]. Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya – Experimental and Clinical Gastroenterology. 2017, no. 2(138), pp. 45–51.

7. Abraham V., Cao G., Parambath A., Lawal F., Handumrongkul C., Debs R., DeLisser H. M. Involvement of TIMP-1 in PECAM-1-mediated tumor dissemination. Int J Oncol. 2018;53(2):488–502. doi: 10.3892/ijo.2018.4422.

8. Toda N., Mori K., Kasahara M., Koga K., Ishii A., Mori K. P., Osaki K., Mukoyama M., Yanagita M., Yokoi H. Deletion of connective tissue growth factor ameliorates peritoneal fibrosis by inhibiting angiogenesis and inflammation. Nephrol Dial Transplant. 2018;33(6):943–953. doi: 10.1093/ndt/gfx317.

9. Guo F., Si C., Zhou M., Wang J., Zhang D., Leung P. C.K., Xu B., Zhang A. Decreased PECAM1-mediated TGF-β1 expression in the mid-secretory endometrium in women with recurrent implantation failure. Hum Reprod. 2018;33(5):832–843. doi: 10.1093/humrep/dey022.

10. Villar J., Zhang H., Slutsky A. S. Lung Repair and Regeneration in ARDS: Role of PECAM1. Chest. 2019;155(3):587–594. doi: 10.1016/j.chest.2018.10.022.

11. Yang F., Xie J., Wang W., Xie Y., Sun H., Jin Y., Xu D., Chen B., Andersson R., Zhou M. Regional arterial infusion with lipoxin A4 attenuates experimental severe acute pancreatitis. PLoS One. 2014;9(9): e108525. doi: 10.1371/journal.pone.0108525.

12. Wang X., Sun Z., Börjesson A., Andersson R. Inhibition of platelet-activating factor, intercellular adhesion molecule 1 and platelet endothelial cell adhesion molecule 1 reduces experimental pancreatitis-associated gut endothelial barrier dysfunction. Br J Surg. 1999;86(3):411–6.

Таблица 1.
Показатели блеббинга лимфоцитов в зависимости от тяжести острого панкреатита

Примечание:
p – достоверность различия с показателями контрольной группы.
p¹ – достоверность различия с показателями группы острого панкреатита лёгкой степени тяжести.
p² – достоверность различия с показателями группы острого панкреатита лёгкой степени тяжести.

Table 1.
Lymphocyte blebbing scores depending on severity of acute pancreatitis

Note:
p – is the validity of the difference with the indicators of the control group.
p¹ – is the validity of the difference with the values of the group of acute pancreatitis of mild severity.
p² – is the validity of the difference with the values of the group of acute pancreatitis of mild severity.

К статье

Особенности экспрессии молекулы сосудистой адгезии при остром панкреатите IA фазы (стр. 96–99)

To article

Peculiarities of the expression of the vascular adhesion molecule in acute IA phase pancreatitis (p. 96–99)

Рисунок 1.
Figure 1.

CD31-экспрессирующий лимфоцит (конфокальная микроскопия, оптическое увеличение $\times 60$):

слева – окраска ядра DAPI,

в центре CD31-экспрессирующий блебнирующий лимфоцит (белая стрелка), рядом – CD31-экспрессирующая микрочастица (красная стрелка),

справа – фазово-контрастная микроскопия

CD31-expressing lymphocyte (confocal microscopy, optical increase of $\times 60$):

left – DAPI nucleus colour,

in the center of CD31-expressing blebbing lymphocyte (white arrow), nearby – CD31-expressing microparticle (red arrow),

right – phase-contrast microscopy.