

В.А. Макарчук, О.В. Зеленюк, Г.О. Ушакова

## Гіалуронатзв'язувальна активність білків мозку та підшлункової залози щурів за умов експериментального хронічного панкреатиту

*Клітинний контакт з гіалуроновою кислотою як компонентом екстрацелюлярного матриксу відіграє важливу роль у розвитку багатьох фізіологічних і патологічних процесів. В експерименті на лабораторних щурах відтворено модель хронічного панкреатиту. Тривала оклюзія панкреатичної протоки підшлункової залози призвела до атрофії ацинарних клітин і поступового фіброзування органа. Встановлено, що розвиток хронічного панкреатиту супроводжується збільшенням у плазмі крові концентрації гіалуронової кислоти як маркера фіброзу підшлункової залози. Відбувся перерозподіл гіалуронатзв'язувальної активності рецепторів у підшлунковій залозі та відділах мозку: мозочку, гіпокампі і таламусі. Найбільш виражений перерозподіл ступеня афінності до гіалуронату спостерігався у мембранній фракції білків: у мозочку та таламусі – зниження, а у гіпокампі – підвищення чутливості до глікозаміноглікана, що може бути сигналом для певних адаптивних процесів у цих відділах головного мозку під впливом факторів, що супроводжують розвиток хронічного панкреатиту.*

*Ключові слова: хронічний панкреатит, підшлункова залоза, мозочок, гіпокамп, таламус, гіалуронова кислота, гіалуронатзв'язувальна активність білків.*

### ВСТУП

За останні роки у всьому світі та Україні спостерігається збільшення захворюваності на хронічний панкреатит [1]. Важливо зрозуміти основні механізми болю, причинами якого є запалення підшлункової залози, протокова аномалія та збільшення тиску в середині паренхіми органа і протоків. Гістологічні та нейрофізіологічні дослідження механізму болю показали його зв'язок з нервовим ушкодженням, що призводить до виникнення вісцеральної гіперчутливості з сенсibiliзацією центральної нервової системи і реорганізацією відділів мозку, які беруть участь в обробці вісцерального болю. Однак механізми, які лежать в основі функціональних та структурних змін, вивчені недостатньо [2, 3].

Нині замало інформації про молекулярні механізми взаємодії глікозаміногліканів міжклітинного матриксу зі специфічними

рецепторами на клітинній поверхні при розвитку багатьох патологій, в тому числі хронічного панкреатиту. Останнім часом активно вивчаються сигнальні механізми за участю глікозаміногліканів та гіалуронової кислоти.

Гіалуронова кислота – це лінійний нессульфатований глікозаміноглікан, який складається із одиниць, що повторюються:  $(\beta,1\rightarrow4)$ -D-глюкуронова кислота- $(\beta,1\rightarrow3)$ -N-ацетил-D-глюкозамін, та синтезується на внутрішній поверхні клітинної мембрани однією з трьох трансмембранних синтаз гіалуронової кислоти, а потім транспортується до міжклітинного матриксу при подовженні ланцюга, сягаючи розмірів  $10^6$  Да [4, 5]. Раніше вважалося, що цей нессульфатований глікозаміноглікан є одним із важливих компонентів сполучної тканини [6]. Але за останні десятиріччя було показано, що в білій речовині центральної нервової системи гіалуронова кислота локалі-

© В.А. Макарчук, О.В. Зеленюк, Г.О. Ушакова

зується навколо мієлінових волокон, а в сірій є однією з основних складових нейрональної сітки, що оточує тіла нейронів. Бере участь у проліферації гліальних клітин та дозріванні й у підтримці астроцитів мозку у стані спокою. Гіалуронова кислота накопичується в центральній нервовій системі при ураженні, де обмежує астрогліоз, але разом з тим пригнічує дозрівання клітин-попередників олігодендроцитів. Взаємодія гіалуронової кислоти з матриксними гіалуронатзв'язувальними протеїнами і рецепторами регулює багато таких аспектів поведінки клітин, як міграція, міжклітинна адгезія та диференціація [4, 5]. Нещодавно було висловлене припущення, що гіалуронова кислота є не лише фундаментальним структурним елементом перинейронального простору, а й безпосередньо впливає на синаптичну пластичність [7].

Існує велика кількість білків екстрацелюлярного матриксу, поверхні клітини, цитоплазми та ядра, що зв'язують гіалуронову кислоту. Білки, які зв'язують цей глікозаміноглікан на поверхні клітини, являють собою рецептори гіалуронової кислоти. Найбільш відомі серед них: трансмембранний глікопротеїн «кластер диференціації» (CD44) та рецептор для гіалуронатопосередкованої рухливості [8].

При хронічному панкреатиті ацинарна тканина заміщується сполучною, яка формується внаслідок збільшення відкладання та дезорганізації білків екстрацелюлярного матриксу, включаючи фібронектин, ламінін, колаген I, III, IV типів, а також гіалуронової кислоти [9].

Оскільки суттєві порушення структури та функцій підшлункової залози призводять до розвитку енцефалопатії [10, 11], метою нашої роботи було визначення зміни вмісту гіалуронової кислоти у плазмі крові щурів і загальної гіалуронатзв'язувальної активності білків (ГЗАБ) у підшлунковій залозі та структурно і функціонально різних відділах головного мозку тварин з експериментальним хронічним панкреатитом.

## МЕТОДИКА

Експеримент проводили на білих лабораторних 6-місячних щурах-самцях (190–220 г) згідно з законом України № 3447-IV від 21.02.06 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження». Щури знаходилися в стандартних умовах із природною зміною освітлення і дотриманням загального раціону віварію. За добу до експерименту тварин не годували, доступ до води був вільним. Для моделювання панкреатиту тваринам під наркозом (кетамін гідрохлорид, 110 мг/кг) здійснювали тривалу оклюзію панкреатичної протоки нерозсмоктуючою лігатурою «Prolene» 5/0 в хвостовій частині органа [12]. Потім операційну рану зашивали пошарово. Тварин було розділено на дві групи по 6 щурів у кожній. До I контрольної групи ввійшли псевдооперовані щури, яким здійснювали лише розтин шкірного покриву на череві й відразу його зашивали; до II – щури з хронічним панкреатитом. Після закінчення експерименту тварин на 30-ту добу декапітували після попереднього введення наркозу (кетамін гідрохлорид, 110 мг/кг). Гепаринизовану кров розділяли на плазму та еритроцити.

Для підтвердження розвитку хронічного панкреатиту проводили морфологічне дослідження тканини підшлункової залози, яке включало стандартну її фіксацію в рідині Буена, зневоднення у спиртах зростаючої концентрації та заливку шматочків тканини в парафінові блоки, приготування зрізів та фарбування їх гематоксиліном-еозином (за загальноприйнятим у гістологічній практиці методом), пікрофуксином (за Ван-Гізеном: дає змогу вибірково фарбувати сполучну тканину в червоний колір) та трикольорове якісне фарбування за Маллорі–Слінченко [13] із подальшим вивченням препаратів методом світлової мікроскопії.

*Отримання білкових фракцій із підшлункової залози та мозку.* Мозок щурів очищали від поверхневої плівки та капілярів, вилучали окремо мозочок, таламус і гіпокамп.

Гомогенізацію тканини підшлункової залози та мозку проводили в буфері А, що містив тріс-НСІ – 25 ммоль/л; рН 7,4; етилендіамінтетраоцет – 1 ммоль/л; в-меркаптоетанол – 2 ммоль/л; фосфометилсульфонілфторид – 0,2 ммоль/л; мертіолят – 0,01 %, у співвідношенні 1:10 при 4°C. Під час послідовних стадій центрифугування були виділені фракції, що містили цитозольні (розчинні) й мембранні білки (інкубація гомогенату в буфері А, що додатково містив тритон Х-100 – 2 %). Після цього осад ресуспендували в розчині буфера А, до складу якого додавали сечовину – 4 моль/л, екстракція проходила протягом 18 год. Подальше центрифугування проводили при 100 000 g протягом 60 хв, супернатант містив сечовиннорозчинні цитоскелетні/екстрацелюлярні білки. Отримані фракції білків використовували для визначення ГЗАБ.

Вміст загального білка у фракціях визначали за методом Бредфорд [14]. Для побудови калібрувальних кривих за стандарт використовували розчини бичого сироваткового альбуміну.

Для дослідження ГЗАБ в отриманих фракціях мозку та підшлункової залози був використаний твердофазний вуглеводферментний аналіз [15], який є модифікацією твердофазного імуноферментного аналізу. Його особливість полягає у використанні кон'югату, що складається з гіалуронової кислоти з нашітою ферментною міткою. Для проведення мікрометоду з різними фракціями мозку та екстрактом із підшлункової залози були підібрані оптимальні умови сорбції та зв'язування сорбованих білків з гіалуронатом. Для побудови калібрувальних кривих використовували розчини гіалуронату з визначеною концентрацією. Для оцінки результатів проводили вимірювання оптичної густини на спектрофотометрі "Anthos 2010" (Фінляндія) при довжині хвилі 492 нм.

Значення ГЗАБ у пробі визначалося як відношення кількості гіалуронової кислоти (ГК), що зв'язалася із сорбованими білками проби, до кількості загального білка (ЗБ) у

даній пробі (нг зв'яз. ГК/мг). Концентрацію гіалуронової кислоти в плазмі крові досліджували за допомогою методу Голда [16].

Для статистичного аналізу даних використовували дескриптивну статистику: порівняння середніх значень змінних здійснювали за допомогою параметричних методів (критерію t Стьюдента) за нормального розподілу цих ознак, що виражені в інтервальній шкалі. Відповідність виду розподілу ознак закону нормального розподілення перевіряли за допомогою методу Шапіто-Уїлка. В інших випадках використовували непараметричний метод (U-критерій Мана-Уїтні). Кореляційний аналіз виконували за Пірсоном (для значень, що виражені в інтервальній шкалі). Відмінності, отримані за методом парних порівнянь, вважали вірогідними при  $P < 0,05$ . Всі вихідні результати, отримані при виконанні роботи, для оптимізації математичної обробки вводили у базу даних, побудовану за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel 2010 на персональному комп'ютері системи Pentium-400 на базі Windows XP. Статистичну обробку результатів здійснювали методами варіаційної статистики, реалізованими стандартним пакетом прикладних програм SPSS for Windows 9.0 [17].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз панкреатобіоптатів із хвостового відділу підшлункової залози тварин з 30-добовою тривалою оклюзією панкреатичної протоки виявив зміни, що характеризують фіброзну стадію хронічного панкреатиту: склероз судин, значну атрофію ацинарної тканини, фіброзне перетворення, гранульоми. Забарвлення за Ван-Гізоном виявило міжчастковий та внутрішньочастковий фіброз. На рис. 1. представлений зразок тканини підшлункової залози, де слід відмітити атрофію ацинарної тканини та значний навколо- і внутрішньочасточковий фіброз органа. Морфологічний аналіз зразків із підшлункової залози щурів контрольної групи змін не виявив:



серед екзокринної тканини розташовувалися острівці Лангерганса різної форми та розміру, ацинарна тканина була без особливостей (рис. 1).

До малоінвазивних методів діагностики фіброзу підшлункової залози можна віднести визначення вмісту молекулярних сполук, що беруть участь у патофізіології процесу утворення позаклітинного матриксу, до яких можна віднести і гіалуронову кислоту. Вміст її в плазмі крові при хронічному панкреатиті відображає ступінь прогресування фіброзу при цій патології. Так, у плазмі крові тварин з оклюзією протоки підшлункової залози спостерігалось достовірне підвищення цього показника на 31,9 % ( $P < 0,05$ ) з  $1,28 \pm 0,06$  (контроль) до  $1,88 \pm 0,11$  мкг/мл.

Як відомо, в патогенезі неврологічних ускладнень при панкреатиті провідну роль відіграє ферментативна дисфункція підшлункової залози, яка супроводжується виділенням великої кількості протеолітичних ферментів і надходження їх в кров'яне русло. Це призводить до розладу водно-електролітного балансу, іноді вуглеводного обміну, загальної інтоксикації. В головному мозку та інших відділах нервової системи

розвивається набряк, дисциркуляторні порушення, а також дистрофічні зміни нервових клітин, глії та мієлінових оболонок. Питання стосовно метаболізму глікозаміногліканів та їх специфічних рецепторів у підшлунковій залозі та головному мозку свавців унаслідок впливу патогенних чинників, викликаних розвитком хронічного панкреатиту, нині майже не вивчено. Важливим було проведення порівняльного аналізу змін загальної ГЗАБ у структурно і функціонально різних відділах мозку та підшлунковій залозі щурів за умов розвитку експериментального хронічного панкреатиту.

Через таку властивість глікозаміногліканів, як великий заряд і вплив на осмолярність міжклітинної рідини з'явилися первинні дані про регуляцію ними міжклітинних контактів. Експериментальні дослідження останніх років значно розширюють діапазон механізму дії глікозаміногліканів міжклітинного матриксу в системі передачі сигналу від однієї клітини до іншої. Важливе місце в цій системі відіграють спряжені групи: глікозаміноглікани та їх відповідні рецептори. Особливо гіалуронова кислота через її безпосередню участь у міжклітинному сигналюванні.

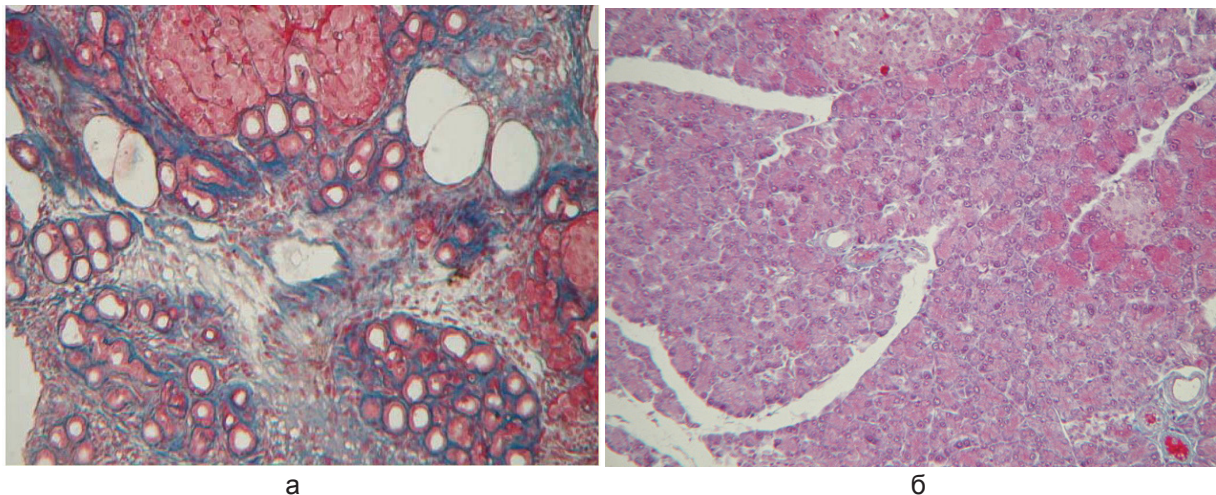


Рис. 1. Зразок тканини підшлункової залози щурів при експериментальному панкреатиті, індукованому тривалою оклюзією панкреатичної протоки (30-та доба). Атрофія ацинарної тканини, гіперплазія острівців, рихлий навколо- та внутрішньочасточковий фіброз (а). Нормальна структура підшлункової залози. У правому куті та у верхній частині зразку знаходяться ендокринні островки середнього розміру, без особливостей. Забарвлення за Маллорі-Слінченко,  $\times 40$  (б)

Наші результати дають змогу порівняти розподіл ГЗАБ у цитозольній (розчинній), мембранній та екстрацелюлярній/цитоскелетній фракціях, що екстраговані із підшлункової залози та різних відділів головного мозку щурів.

Слід відмітити, що при хронічному панкреатиті достовірних змін в активності гіалуронатзв'язувальних білків розчинної фракції, екстрагованої із підшлункової залози, не відбувалося, а у мембранній фракції – спостерігалось зростання на 34,6 % ( $P < 0,05$ ) відносно контролю. В цитоскелетній/екстрацелюлярній фракції достовірних змін активності білків, що зв'язують гіалуронат не було зареєстровано (рис. 2).

Встановлено, що вплив хронічного панкреатиту не призвів до достовірних змін ГЗАБ розчинної фракції, отриманої із мозочка та гіпокампа експериментальних тварин. У таламусі, що відповідає за перерозподіл інформації, яка надходить до його ядер у вигляді імпульсів, активність білків, які зв'язують гіалуронову кислоту, достовірно збільшилася щодо контрольного значення на 11,3 % ( $P < 0,05$ ; рис. 3).

Нині вже ідентифіковано декілька гіалуронатзв'язуючих розчинних білків, характерних лише для нервової тканини. Наприклад, гіалуронектин і гіалуронатзв'язувальний білок

астроглії. В мозкових структурах важливу роль відіграють аутокоїди, що зв'язують гіалуронат (водорозчинні медіатори, що здійснюють переважно коротко дистанційну локальну дію). Проведений кореляційний аналіз у групі щурів з експериментальним хронічним панкреатитом виявив високий прямий зв'язок між ГЗАБ мембранної фракції, екстрагованої із підшлункової залози, та водорозчинної фракції, отриманої із таламуса ( $r = 0,87$ ,  $P < 0,05$ ).

При аналізі активності мембранних рецепторів, що зв'язують гіалуронат, було виявлено значення у мозочку на 41,3 % ( $P < 0,05$ ), у таламусі – на 22,9 % ( $P < 0,05$ ) відносно контролю. У гіпокампі спостерігалось навпаки зростання ГЗАБ на 37,7 % ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з контролем (рис. 3).

Таким чином, мембранні гіалуронатзв'язувальні рецептори (рецептор для гіалуронатопосередкованої рухливості, CD44 тощо) активно зв'язували гіалуронат у гіпокампі, тоді як в мозочку та таламусі цей процес знижувався. Отже, ці зміни свідчили про перерозподіл афінності до гіалуронату між різними відділами мозку: у мозочку та таламусі спостерігалось зниження, а у гіпокампі – підвищення чутливості, що може бути сигналом для певних адаптивних процесів у відділах мозку під час хронізації панкре-

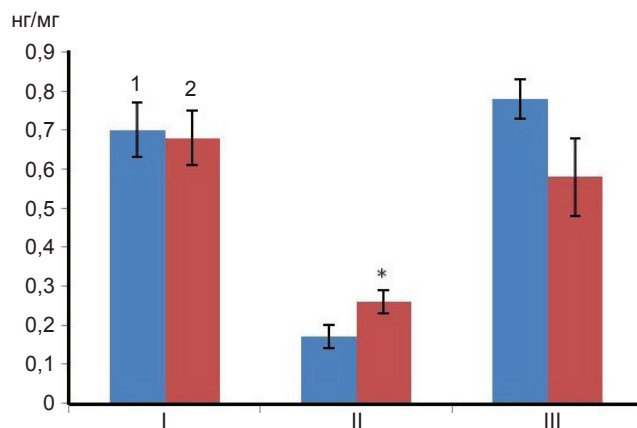


Рис. 2. Зміна гіалуронатзв'язувальної активності білків: I – розчинної, II – мембранної та III – цитоскелетної/екстрацелюлярної фракції із підшлункової залози; 1 – контроль, 2 – щури з експериментально розвиненим хронічним панкреатитом,  $P < 0,05$  порівняно з контролем

атиту. Таким чином, мембранні рецептори виявилися найбільш чутливими до впливу несприятливих факторів, викликаних ушкодженням підшлункової залози під час розвитку хронічного панкреатиту, у порівнянні з розчинними та цитоскелетними/екстрацелюлярними рецепторами.

У результаті впливу хронічного панкреатиту знизилася ГЗАБ цитоскелетної/екстрацелюлярної фракції, екстрагованої з гіпокампа і таламуса, тобто зменшилась афінність рецепторів до гіалуронату (або зниження їх кількості). У гіпокампі зменшилась активність зв'язування гіалуронату порівняно з контролем на 30,6 % ( $P < 0,05$ ), у таламусі – на 37,2 % ( $P < 0,05$ ; див. рис. 3). При проведенному кореляційному аналізі було виявлено, що при зростанні в плазмі крові концентрації гіалуронової кислоти, знижується ГЗАБ цитоскелетної/екстрацелюлярної фракції, екстрагованої з гіпокампа і таламуса ( $r = -0,87$ ,  $P < 0,05$  та  $r = -0,87$ ,  $P < 0,05$  відповідно). Високий зворотний кореляційний зв'язок спостерігався між ГЗАБ розчинної фракції, екстрагованої із підшлункової залози, та білків цитоскелетної/екстрацелюлярної фракції

з таламуса і гіпокампа ( $r = -0,90$ ,  $P < 0,05$  та  $r = -0,81$ ,  $P < 0,05$  відповідно).

Результати нашого експерименту підтверджують важливу роль гіалуронової кислоти і білків, що її зв'язують, у патогенезі хронічного панкреатиту. Накопичення цього глікозаміноглікану часто пов'язане з порушенням експресії гіалуронатзв'язувальних білків під час ураження тканин при патологічному стані. Порушення регуляції експресії гіалуронової кислоти та білків, що її зв'язують, призводить до істотних змін у скоординованому регуляторному процесі, направленому на подолання захворювання, за допомогою клітинних і молекулярних регуляторних механізмів. У багатьох випадках ці компоненти беруть участь у регуляції таких функцій клітин, як вивільнення цитокінів, міграція клітин, апоптоз, регуляція клітинної рухливості, адгезії та активації тощо. Гіалуронова кислота та гіалуронатзв'язувальні білки здатні посилювати сигнал для прискорення імунного захисту. Водночас вони можуть виконувати захисну функцію, перешкоджаючи подальшому ураженню тканини, а також позитивно або негативно впливати на організм залежно

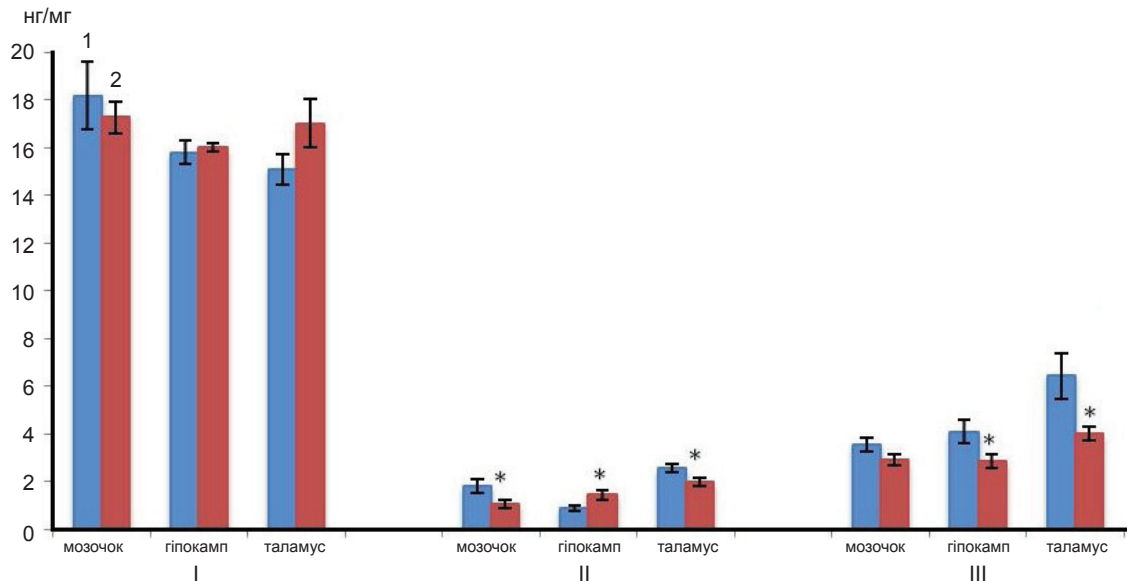


Рис. 3. Зміна гіалуронатзв'язувальної активності білків: I – розчинної, II – мембранної та III – цитоскелетної/екстрацелюлярної фракцій із різних відділів мозку щурів; 1 – контроль, 2 – щури з експериментально розвиненим хронічним панкреатитом,  $P < 0,05$  порівняно з контролем

від їх розташування, розміру гіалуронової кислоти (при високій молекулярній масі має протизапальні властивості, при низькій – прозапальні, проангіогенні) і тривалості накопичення [18–23].

Гіалуронова кислота, як відомо, взаємодіє з різноманітними рецепторами клітинної поверхні, кожен з яких має свої функції. Таким чином, її функції визначаються білками, з якими вона асоціюється. Незважаючи на те, що CD44 зв'язується з різними лігандами екстрацелюлярного матриксу, цей глікозаміноглікан, напевне, його основний ліганд. CD44 впливає на клітину за допомогою регулювання актинового цитоскелета. Гіалуронова кислота існує з високою або низькою молекулярною масою і сигналювання за участю CD44 залежить від того, які ізоформи цього глікозаміноглікана зв'язуються з даним рецептором. Рецептор для гіалуронатопосередкованої рухливості взаємодіє з гіалуроновою кислотою як поза-, так внутрішньоклітинно. Наприклад, позаклітинний рецептор для гіалуронатопосередкованої рухливості відіграє ключову роль у забезпеченні рухливості клітин, зв'язуючись із гіалуроновою кислотою,

а внутрішньоклітинний – тісно пов'язаний з мікротрубочками, що відіграє важливу роль у контролі клітинного циклу і в мітотичному формуванні веретена та стабільності. Чутливий до гіалуронату рецептор лімфатичних судин – мембранний рецептор з високою специфічністю до гіалуронової кислоти. З її допомогою він опосередковує клітинну адгезію і міграцію в лімфатичній системі. Чутливий до гіалуронату рецептор для ендцитозу був вперше ідентифікований Zhou і співавт. в 2000 р., знаходиться в серці, мозку, нирках, епендимальних клітинах, що вистилають шлуночки головного мозку [19, 24, 25].

Порушення в системі «гіалуронатзв'язувальні рецептори–гіалуронова кислота», пов'язані зі зниженням або підвищенням гіалуронатзв'язувальної здатності білків, є результатом токсикації організму внаслідок розвитку хронічного панкреатиту. Нами було встановлено, що при хронізації панкреатиту активність гіалуронатзв'язувальних рецепторів як розчинної, так і цитоскелетної/екстрацелюлярної фракції, які екстраговані із підшлункової залози була приблизно рівна між собою і в середньому в 3,1 раза переви-

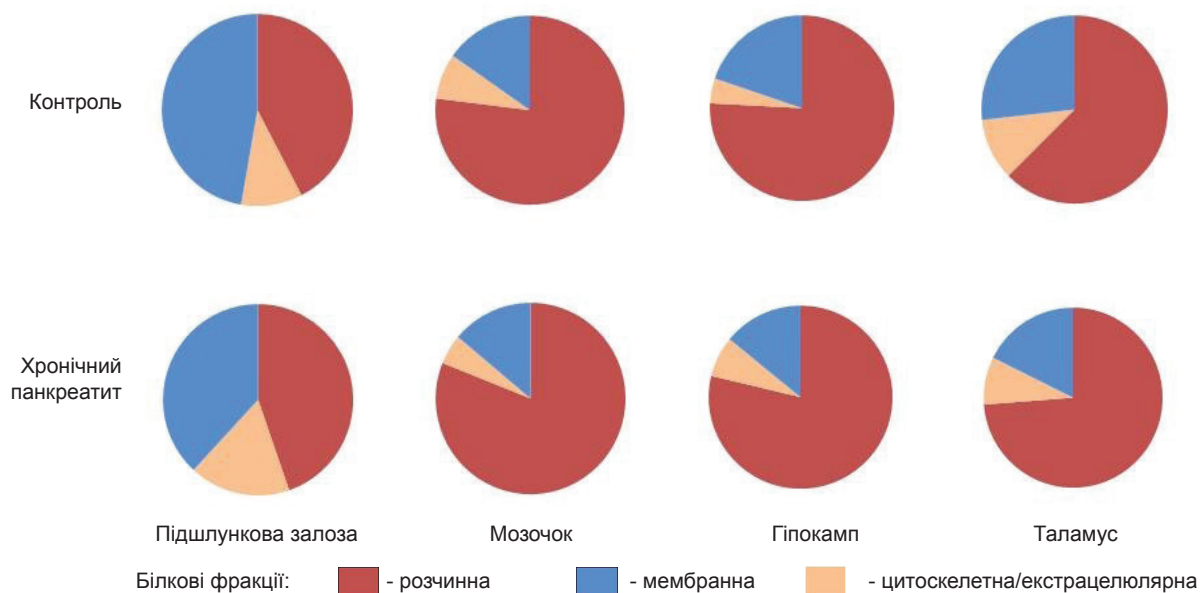


Рис. 4. Співвідношення гіалуронатзв'язувальних білків у різних фракціях, що отримані із підшлункової залози та відділів мозку



щувала активність зв'язування гіалуронату мембранними рецепторами. Слід відзначити чутливу реакцію на несприятливий вплив, викликаний захворюванням підшлункової залози, саме мембранних білків, що проявилось достовірним зростанням ГЗАБ. Характерною особливістю водорозчинних білків-рецепторів, отриманих із досліджуваних відділів мозку, є їх відносно висока активність, яка в середньому (для мозочка, гіпокампа і таламуса) в 10 разів перевищувала активність мембранних та в 4,1 раз – цитоскелетних/екстрацелюлярних білків, які зв'язують гіалуронат. У таламусі відбувалося достовірне підвищення ГЗАБ водорозчинної фракції. Так, активність зв'язування гіалуронату мембранними рецепторами, виділеними із гіпокампа, достовірно зростала, тоді як у мозочку та таламусі ГЗАБ знижувалася, що свідчить про зміни афінності мембранних рецепторів до гіалуронату та про зміни в процесах передачі сигналів від однієї клітини до іншої. Найвища активність зв'язування гіалуронату цими рецепторами відзначалася в таламусі, найнижча – в гіпокампі. Розвиток хронічного панкреатиту викликав зниження ГЗАБ цитоскелетної/екстрацелюлярної фракції, виділеної із мозочка, гіпокампа та таламуса. Найвища гіалуронатзв'язувальна здатність цих білків спостерігалася в таламусі, а найнижча – в мозочку (рис. 4).

Таким чином, підвищений вміст гіалуронової кислоти у плазмі крові на 31,9 % ( $P < 0,05$ ) може бути використаний як непрямий малоінвазивний діагностичний показник рівня запалення та фіброзу підшлункової залози при хронічному панкреатиті. Розвиток експериментального хронічного панкреатиту супроводжувався значним перерозподілом ступеня афінності рецепторів до гіалуронату як в підшлунковій залозі, так і у досліджуваних відділах мозку. Найбільш виражений перерозподіл спостерігався у мембранній фракції білків: у мозочку та таламусі спостерігалось зниження, а у гіпокампі – підвищення чутливості, що може бути сигналом для певних

адаптивних процесів у цих відділах мозку під час розвитку хронічного панкреатиту.

**В.А. Макаруч, А.В. Зеленюк, Г.А. Ушакова**

### **ГИАЛУРОНАТСВЯЗЫВАЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ БЕЛКОВ МОЗГА И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИТА**

Клеточный контакт с гиалуроновой кислотой как компонентом экстрацеллюлярного матрикса играет важную роль в развитии многих физиологических и патологических процессов. В эксперименте на лабораторных крысах воспроизведена модель хронического панкреатита. Длительная окклюзия протока поджелудочной железы вызвала атрофию ацинарных клеток и фиброзирование органа. Установлено, что развитие хронического панкреатита сопровождается ростом в плазме крови концентрации гиалуроновой кислоты как маркера фиброза поджелудочной железы. Происходило перераспределение гиалуронатсвязывающей активности рецепторов в поджелудочной железе и отделах мозга: мозжечке, гиппокампе и таламусе. Наиболее выраженное перераспределение степени аффинности к гиалуронату наблюдалось в мембранной фракции белков: в мозжечке и таламусе происходило снижение, а в гиппокампе – повышение чувствительности к данному гликозаминогликану, что может служить сигналом для определенных адаптивных процессов в этих отделах головного мозга под влиянием факторов, сопровождающих развитие хронического панкреатита.

Ключевые слова: хронический панкреатит, поджелудочная железа, мозжечок, гиппокамп, таламус, гиалуронозная кислота, гиалуронатсвязывающая активность белков.

**V.A. Makarchuk, O.V. Zeleniuk, G.O. Ushakova**

### **THE ACTIVITY OF HYALURONATE-BINDING PROTEINS IN THE BRAIN AND PANCREAS DURING EXPERIMENTAL CHRONIC PANCREATITIS IN RATS**

Cell contact with hyaluronic acid as a component of the extracellular matrix plays an important role in the development of many physiological and pathological processes. In experiments on laboratory rats, the model of chronic pancreatitis was reproduced. Prolonged occlusion of the pancreatic duct caused the pancreatic acinar cells atrophy and pancreatic fibrosis. It was found that the development of chronic pancreatitis accompanied by an increase of concentrations of hyaluronic acid in plasma as a marker of fibrosis of the pancreas. The redistribution of hyaluronate-binding activity of the receptor in the pancreas and the brain: cerebellum, hippocampus and thalamus were observed. The most pronounced redistribution of degree of affinity to hyaluronate was observed in the mem-



brane fraction of proteins: in the cerebellum and thalamus the sensitivity to this glycosaminoglycan was decreased, while in the hippocampus the sensitivity was increased, which may serve as a signal for some adaptive processes in these parts of the brain under the influence of factors that accompany the development of chronic pancreatitis.

Key words: chronic pancreatitis, pancreas, cerebellum, hippocampus, thalamus, hyaluronic acid, hyaluronate-binding activity of the protein.

SI "Institute of Gastroenterology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipropetrovsk;  
Oles Gonchar Dnipropetrovsk National University

## REFERENCES

1. Stepanov YuM, Zaichenko NG. Chronic pancreatitis: biliary mechanism, factors and course. *Zaporozhye Med J.* 2012; 70(1): 46-50.
2. Frøkjær JB, Olesen SS, Gram M, Yavarian Y, Bouwense SA, Wilder-Smith OH, Drewes AM. Altered brain microstructure assessed by diffusion tensor imaging in patients with chronic pancreatitis. *Gut.* 2011; 60(11): 1554-1562.
3. Frøkjær JB, Bouwense SA, Olesen SS, Lundager FH, Eskildsen SF, van Goor H, Wilder-Smith OH, Drewes AM. Reduced Cortical Thickness of Brain Areas Involved in Pain Processing in Patients With Chronic Pancreatitis. *Clin Gastroenterol and Hepatol.* 2012; 10(4): 434-438.
4. Cargill R, Kohama SG, Struve J, Su W, Banine F, Witkowski E, Back SA, Sherman LS. Astrocytes in aged nonhuman primate brain gray matter synthesize excess hyaluronan. *Neurobiol Aging.* 2012; 33(4): 830.e13-830.e24.
5. Choi K.Y., Saravanakumar G., Park J.H., Park K. Hyaluronic acid-based nanocarriers for intracellular targeting: Interfacial interactions with proteins in cancer. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2012; 99: 82-94.
6. Weinstein-Opppenheimer CR, Aceituno AR, Brown DI, Acevedo C, Ceriani R, Fuentes MA, Albornoz F, Henríquez-Roldán CF, Morales P, Maclean C, Tapia SM, Young ME. The effect of an autologous cellular gel-matrix integrated implant system on wound healing. *J Translational Med.* 2010; 8:59.
7. Frischknecht R, Gundelfinger ED. The Brain's Extracellular Matrix and Its Role in Synaptic Plasticity. *Advances in Exp Med and Biol.* 2012; 970: 153-171.
8. Liang J, Jiang D, Jung Y, Xie T, Ingram J, Church T, Degan S, Leonard M, Kraft M, Noble PW. Role of hyaluronan and hyaluronan-binding proteins in human asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128(2): 403-411.
9. Sirenko OYu. Pancreatic stellate cells as a morphological basis for the development of pancreatic fibrosis. *Morphology.* 2010; 4(1): 5-12.
10. Ding Z, Liu J, Lin R, Hou XH. Experimental pancreatitis results in increased blood-brain barrier permeability in rats: A potential role of MCP-1. *J Digestive Diseases.* 2012; 13(3): 179-185.
11. Hornik A, Porcel F, Agha C, Flaster M, Vidal SM, Schneck MJ, Lee J, Biller J. Central and Extrapontine Myelinolysis Affecting the Brain and Spinal Cord. An Unusual Presentation of Pancreatic Encephalopathy. *Frontiers in Neurology.* 2012; 3: 135.
12. Page BJ, Toit DF, Muller C, Mattysen J, Lyners R. An Immunocytochemical Profile of the Endocrine Pancreas Using an Occlusive Duct Ligation Model. *J Pancreas.* 2000; 4(1): 191-203.
13. Sapoznikov A.G., Dorosevich A.E. Histological and microscopical technique: Handbook. – Smolensk: "SAU", 2000: 477 p.
14. Bradford M. Rapid and sensitive methods for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1985; 72(1-2): 248-254.
15. Dolzhenko MI, Lepekhin EA, Berezin VA. A novel methods for evaluation of carbohydrate-binding activity: enzyme-linked carbohydrate-binding assay (ELCBA). *Biochem Mol Biol Intern.* 1994; 34(2): 261-271.
16. Gold EW. The quantitative spectrophotometric estimation of total sulfated glycosaminoglycan levels. *Biochem. et Biophys Acta.* 1981; 673(4): 408-415.
17. The visible statistics in medicine. Edited by A. Petri, KM Syebin: Heotar-Med, 2003: 144 p.
18. Adrych K., Smoczyński M., Sledzinski T., Korczynska J., Goyke E., Swierczynski J. Coordinated increase in serum platelet-derived growth factor-BB and transforming growth factor-β1 in patients with chronic pancreatitis. *Pancreatol.* 2011; 11(4): 434-440.
19. Jackson DG. Immunological functions of hyaluronan and its receptors in the lymphatics. *Immunol Rev.* 2009; 230(1): 216-231.
20. Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol Rev.* 2011; 91(1): 221-264.
21. Johnsson C, Hällgren R, Tufveson G. Role of hyaluronan in acute pancreatitis. *Surgery.* 2000; 127(6): 650-658.
22. Lu XL, Song YH, Fu YB, Si JM, Qian KD. Ascorbic acid alleviates pancreatic damage induced by dibutyltin dichloride in rats. *Yonsei Med. J.* 2007; 48 (6): 1028-1034.
23. Wang CH, Gao ZQ, Ye B, Cai JT, Xie CG, Qian KD, Du Q. Effect of emodin on pancreatic fibrosis in rats. *World J Gastroenterol.* 2007; 13(3): 378-382.
24. Sadowitz B, Seymour K, Gahtan V, Maier KG. The role of hyaluronic acid in atherosclerosis and intimal hyperplasia. *J Surg Res.* 2012; 173(2): 63-72.
25. Sleeman J, Rudy W, Hofmann M, Moll J, Herrlich P, Ponta H. Regulated clustering of variant CD44 proteins increases their hyaluronate binding capacity. *J Cell Biol.* 1996; 135(4): 1139-1150.

ДУ «Ін-т гастроентерології НАМН України», Дніпропетровськ;  
Днепрпетров. нац. ун-т ім. Олесь Гончара  
E-mail:

Матеріал надійшов  
до редакції