

oncoprocess. Activities of cathepsin-D- and cathepsin-L-like proteinases, matrix metalloproteinase-2, trypsin-like proteinase and carboxypeptidase A determined by development of oncoprocess and does not depend on age of women.

Key words: cathepsin H, tumor, mammary gland, substrate specificity.

УДК 616.329-001.37-053

Т. Коваль, асп, Т. Ішук, канд. біол. наук, Я. Расцька, канд. біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ЗМІНИ БІЛКОВОГО СКЛАДУ СИРОВАТКИ КРОВІ ТА ГОМОГЕНАТУ СТРАВОХОДУ ПРИ РОЗВИТКУ КИСЛОТНОГО ОПІКУ СТРАВОХОДУ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ

За останні десятиріччя спостерігається стабільне збільшення кількості хімічних опіків стравоходу. У дитячому віці кислотні опіки стравоходу найчастіше зустрічаються у віці від 1 року до 8 років. У місці локалізації хімічної травми збільшуються процеси синтезу і деградації білків. Рубцеві зміни стравоходу, що розвиваються в результаті опіку, залишаються однією з найбільш складних проблем. Незважаючи на багаточисельні дослідження, недостатньо вивчені питання загоєння та процесів рубцювання на клітинному та молекулярному рівні. Нами було показано кількісні зміни білкового складу за умов розвитку кислотного опіку стравоходу. Подальше дослідження процесів загоєння може бути корисним для створення ефективних підходів для профілактики утворення рубцевих змін стравоходу.

Ключові слова: опік стравоходу, білкові фракції, електрофорез.

Вступ. Кількість хімічних опіків стравоходу і рубцевих стенозів не має тенденції до зменшення, що зумовлено значним збільшенням використання в побуті рідин побутової хімії, що містять кислоти і луги, здатних викликати важкі опіки стравоходу і шлунка. Опіки стравоходу займають одне із перших місць серед усіх захворювань стравоходу, та викликають важкий патологічний стан, який супроводжується глибокими місцевими і нерідко незворотними загальними змінами в організмі. Ступінь вираженості опіку залежить від характеру, кількості та концентрації хімічної речовини, тривалості її контакту зі слизовою оболонкою, термінів, що пройшли з моменту травми, а також від індивідуальних особливостей організму і, частково, від заходів невідкладної допомоги. Механізм дії кислот на біологічні тканини добре вивчений. При попаданні кислоти на шкіру вона викликає коагуляцію білків з подальшим їх перетворенням в кислі альбумінати. Відомо, що інтенсивність ураження кислотою залежить від концентрації водневих іонів, а також від ліпофільності, тобто здатності розчинятися в жирах. При контакті з кислотами іони водню викликають зневоднення клітин епітелію, що призводить до утворення струпа і розвитку коагуляційного некрозу. Виникають набряк і почервоніння, відшарування епідермісу слизової оболонки, виразка і омертвіння тканин. Аніони, які утворюються при дисоціації кислот, діють як нуклеофільні агенти, ще сильніше пошкоджуючи тканини. В місці локалізації травми посилюються процеси синтезу та деградації білків. Визначення присутності тих чи інших білкових фракцій може бути використано для оцінки стану організму як у нормі, так і за умов різних патологій. За допомогою методу електрофорезу можна оцінити якісний білковий склад крові, гуморальної ланки імунітету, що може допомогти проаналізувати процеси, які відбуваються в організмі. Детальне вивчення зміни вмісту білкових фракцій може свідчити про метаболічні порушення в організмі та, можливо, дасть змогу не лише розширити уявлення про механізми патогенезу опікової хвороби стравоходу, а й розробити нові підходи до діагностики та лікування даної патології.

Метою даної роботи було дослідити зміни білкового складу сироватки крові та гомогенату стравоходу за умов моделювання кислотного опіку стравоходу (КОС) у статевонезрілих щурів.

Матеріали та методи. У досліджах використовували білих нелінійних статевонезрілих щурів (1-місячних) масою 90-110 г (відповідають 3-4-х річному віку дітей), із дотриманням загальних етичних принципів експери-

ментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), інших міжнародних угод та національного законодавства в цій галузі. Усіх тварин, яких було використано в досліді, утримували на стандартному раціоні віварію. Тваринам експериментально моделювали опік стравоходу розчином 30 % CCl_3COOH , що відповідає опіку II ступеня [3]. Матеріал для дослідження відбирали на 1, 7, 15, 21 доби опікової хвороби [4]. Методом виведення тварин із досліді була цервікальна дислокація. Сироватку крові ссавців отримували з цільної крові. Кров залишали при 37°C на 40 хвилин для відокремлення фібриногену та супутніх білків і центрифугували протягом 40 хв. при 2000 g. Отриману сироватку переносили в епендорфи та заморожували при -20°C до подальшого використання. Вилучений стравохід розрізали та промивали фізіологічним розчином. Верхній шар клітин зішкрібали та гомогенізували у скляних гомогенізаторах Поттера, потім центрифугували при 2500 g 25 хв. Отриманий супернатант заморожували при -20°C до подальшого використання.

Розділення білкових фракцій сироватки крові щурів проводили методом диск електрофорезу у 10 % поліакриламідному гелі (ПААГ) за наявності додецилсульфату натрію (ДСН) за модифікованим методом Леммлі [7]. Електрофорез проводили у апараті для вертикального препаративного диск-електрофорезу (BioRad). Концентрування зразків у верхньому гелі відбувалось протягом години при силі струму 10 мА, розділення білкових фракцій проводили при силі струму 20 мА впродовж 2,5 годин. Фарбування розділених білків здійснювали протягом 30 хв. при кімнатній температурі у розчині, що містив Кумассі діамантовий синій G250 – 0,2 %, етанол – 33,3 %, оцтову кислоту – 3,3 %. Гелі відмивали до зникнення фону у розчині, що містив оцтову кислоту – 0,8 % впродовж однієї години при кімнатній температурі. Для оцінки результатів електрофорезу використовували програму Total Lab 2.01.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та кореляційного аналізу з використанням комп'ютерної програми Excel. Для визначення достовірності відмінностей між двома вибірками використовували критерій Стюдента (t). При цьому достовірними вважались різниці $p < 0,05$.

Результати. Електрофоретичний аналіз складу білків сироватки крові експериментальних тварин продемонстрував у всіх досліджених зразках, як у контролі так і за умов кислотного опіку стравоходу, наявність білкових фракцій з молекулярною масою від 15 до

168 кДа (Табл. 1). Електрофоретичний аналіз білкового складу гомогенату стравоходу піддослідних тварин показав наявність білкових фракцій з молекулярною ма-

сою від 34 до 126 кДа (Табл. 2). Проведені дослідження не виявили якісних змін вмісту білка, але при цьому необхідно відзначити кількісні зміни.

Таблиця 1. Відносний вміст білкових фракцій у сироватці крові щурів за розвитку кислотного опіку стравоходу, (мкг/мг білку) $M \pm m$, n=5

Білкові фракції м.м.(кДа)	контроль	1-ша доба	7-ма доба	15-доба	21-ша доба
168	86,8 \pm 2,5	101,6 \pm 0,8*	143,0 \pm 6,9*	80,8 \pm 3,8*	106,0 \pm 4,2*
150	156,7 \pm 3,7	152,7 \pm 5,9	203,9 \pm 7,9*	247,0 \pm 8,1*	323,0 \pm 12,9*
130	449,2 \pm 28,9	548,9 \pm 20,3*	468,4 \pm 16,4	231,6 \pm 7,1*	115,9 \pm 3,2*
113	60,8 \pm 2,8	66,0 \pm 3,4	58,5 \pm 2,3	69,4 \pm 2,8*	30,6 \pm 1,4*
103	185,2 \pm 11,7	61,2 \pm 2,5*	42,8 \pm 1,7*	25,7 \pm 1,02*	46,6 \pm 1,9*
89	126,0 \pm 9,1	96,9 \pm 1,4*	84,0 \pm 0,2*	98,0 \pm 0,4*	46,0 \pm 1,8*
67	325,3 \pm 16,7	287,4 \pm 11,5*	189,3 \pm 7,6*	216,0 \pm 16,9*	270,0 \pm 10,8*
55	221,0 \pm 9,7	122,6 \pm 4,9*	130,1 \pm 5,2*	97,8 \pm 3,9*	118,2 \pm 4,7*
40	145,0 \pm 0,9	53,7 \pm 2,1 *	48,3 \pm 1,9*	37,2 \pm 0,69*	34,1 \pm 0,96*
25	79,8 \pm 3,1	40,4 \pm 1,7*	39,1 \pm 2,6*	20,3 \pm 0,4*	26,2 \pm 0,05*
15	74,5 \pm 1,9	53,2 \pm 2,1*	18,1 \pm 0,72 *	18,5 \pm 0,74 *	21,2 \pm 0,85 *

* $p < 0,05$ по відношенню до контролю.

Так, нами було показано зростання вмісту фракцій з молекулярною масою (М.м.) ~168 кДа у сироватці крові на 1, 7 та 21-шу добу моделювання КОС у 1,17; 1,65 та 1,22 рази, відповідно, а також зниження вмісту на 15 добу у 1,07 рази. Крім того, встановлено збільшення вмісту фракції з М.м. ~150 кДа на 7, 15 та 21-шу добу експерименту у 1,3; 1,58 та 2,06 рази відповідно, порівняно з контрольними значеннями. Дані білкові фракції сироватки крові відповідають фракції IgG. Вміст імуноглобулінів збільшується внаслідок збільшенням концентрації антитіл за опікової хвороби. Згідно літературних даних у пацієнтів з опіками спостерігається підвищення рівнів імуноглобулінів в перші тижні після опіку. Авторами також відзначається пряма пропорційна залежність кількості В-лімфоцитів та підвищенням рівня імуноглобулінів від глибини та ступеня опікового ураження [6]. Вміст білкової фракції сироватки крові з М.м. ~ 130 кДа зростає у 1,22 рази лише на 1-шу добу експерименту, на 15 та 21-шу доби даний вміст знижувався у 2 та 4 рази відповідно, порівняно з контрольними значеннями. Підвищення вмісту фракції з М.м. ~ 113 кДа на 1 та 15-ту доби після моделювання КОС у 1,1 та 1,15 рази, відповідно, може свідчити про гостру фазу запалення, оскільки дана фракція може відповідати С-реактивному білку [4]. Підвищений рівень цієї фракції може вказувати на приєднання бактеріальної інфекції або запального процесу. Встановлено різке зниження вмісту фракції з М.м. ~ 103 кДа за розвитку КОС, вже на 1-шу добу даний вміст знижувався у 3 рази порівняно з контрольними значеннями. Також знижувався вміст фракції з М.м. ~ 89 кДа

за розвитку КОС на 1-шу добу у 1,3 рази і у 2,7 рази на 21-шу добу після опіку. Зниження вмісту альбумінової (~67 кДа) та преальбумінової фракції (~55 кДа) після моделювання КОС може вказувати на дисфункцію печінки, нирок або інших органів. Так, показано зниження вмісту альбумінової фракції з М.м. ~67 кДа на 1; 7 та 15-ту добу у 1,13; 1,7 та 1,5 рази, відповідно. І встановлено зниження вмісту фракції з М.м. ~ 55 кДа після моделювання кислотного опіку на 1, 7, 15 та 21-шу доби у 1,8; 1,7; 2,3 та 1,9 рази відповідно, порівняно з контрольними значеннями. Результати досліджень показали, що у експериментальних тварин після моделювання КОС вміст постальбумінової фракції з М.м. ~ 40 кДа знижувався впродовж експерименту у 3-4 рази. Вміст фракцій М.м. ~ 25 кДа так само знижувався протягом всього експерименту у 2-4 рази після опіку. Такі ж зміни відмічені для фракції з М.м. ~15 кДа. Спостерігається зниження у 1,4-4 рази вмісту зазначеної фракції відносно контрольних значень. Кількісні зміни постальбумінових фракцій в сироватці крові пов'язані із зниженням синтезу альбуміну функціонально неспроможними гепатоцитами, що свідчить про порушення роботи печінки. Отже, отримані дані вказують на активацію гуморальної ланки імунної системи та запальний процес.

Молекулярні механізми процесу загоєння після опікових ран вивчені недостатньо. Тому певний теоретичний та практичний інтерес становить дослідження білкових фракцій слизової оболонки стравоходу після опіку, які можуть відкрити нові перспективи для лікування опікових ран та профілактики рубцювання (Табл.2).

Таблиця 2. Відносний вміст білкових фракцій у гомогенаті стравоходу щурів при розвитку кислотного опіку стравоходу, (мкг/мг білку) $M \pm m$, n=5

Білкові фракції м.м.(кДа)	Контроль	1-ша доба	7-ма доба	15-доба	21-ша доба
126	4,79 \pm 0,1	2,13 \pm 0,1*	5 \pm 0,1	2,37 \pm 0,1*	5,39 \pm 0,1*
110	3,45 \pm 0,1	1,93 \pm 0,1*	4,87 \pm 0,1*	3,57 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1
87	8,97 \pm 0,2	2,01 \pm 0,1*	7,2 \pm 0,2*	8,39 \pm 0,2*	8,56 \pm 0,2
74	5,87 \pm 0,1	6,13 \pm 0,2	17,83 \pm 0,5*	2,79 \pm 0,1*	2,52 \pm 0,1*
55	4,54 \pm 0,1	2,67 \pm 0,1*	8,44 \pm 0,3*	8,13 \pm 0,2*	4,51 \pm 0,1
52	2,91 \pm 0,1	1,85 \pm 0,1*	4,93 \pm 0,1*	7,75 \pm 0,2*	6,47 \pm 0,2*
34	3,7 \pm 0,1	3,23 \pm 0,1*	16,92 \pm 0,5*	5,35 \pm 0,1*	8,18 \pm 0,2*

Примітка: * – $p < 0,05$ щодо контролю.

Було показано зниження вмісту фракцій гомогенату стравоходу з М.м. ~126 кДа на 1-шу та 15 доби у 2,25 та 2 рази відповідно, відносно контролю. На 7 та 21-шу добу вміст даної фракції підвищувався у 1,05 та 1,13 рази відповідно. Дана фракція 126 кДа може відпо-

відати центросомному білку, який відіграє вирішальну роль в основних клітинних функціях, таких як ділення клітин та внутрішньоклітинний транспорт. Зміни в рівнях вмісту даної фракції напевно пов'язані з пошкодженням або загоєнням внутрішньої поверхні страво-

ходу. Вміст фракції з М.м. ~110 кДа зменшувався на 1-шу добу після опіку у 1,8 раза відносно контрольних значень. На 7-му добу вміст даної фракції вище за контроль у 1,4 раза, а на 15 та 21-шу добу знижується до контрольних показників. Подібна тенденція спостерігалась для фракції з М.м. ~87 кДа. На 1-шу добу після КОС відбувалось суттєве зниження вмісту фракції у 4,5 раза, на 7 добу вміст фракції нижче контрольного значення у 1,25 раза, а на 15 та 21-шу добу даний показник на рівні контрольних значень. Показано підвищення вмісту фракції з М.м. ~ 74 кДа на 7-му добу в 3 рази за розвитку опіку. На 15 та 21-шу добу експерименту вміст зазначеної фракції різко знижувався і був у 2,1 та 2,35 раза нижче від контрольних значень. Нами зроблено припущення, що фракція з М.м. ~ 74 може відповідати білку теплового шоку Hsp70. З літературних даних відомо, що вміст зазначеного білка корелює зі ступенем опіку. Підвищення вмісту Hsp70, можливо, пов'язано з основною здатністю зазначених білків зв'язувати пошкоджені денатуровані білки в результаті деструктивної дії речовин, та захистом процесів біосинтезу білків. Hsp білки мають модуляторну дію на лейкоцитарні клітини, залучені в каскади гострого запалення, вони обмежують інтенсивність гострого запалення і формування гострих органних дисфункцій [2]. Аналіз електрофореграм показав зміни вмісту фракції з М.м. ~55 та 52 кДа за розвитку КОС. В результаті досліджень встановлено підвищення вмісту фракції з М.м. ~55 на 7 та 15-ту доби у 1,86 та 1,8 раза відповідно, тоді як на 1-шу добу цей показник нижче контрольного у 1,7 раза. Показано також підвищення вмісту білкової фракції з М.м. ~ 52 кДа на 7, 15 та 21-шу добу у 1,7; 2,7 та 2,2 раза, відповідно. На 1-шу добу вміст даної фракції також нижче контрольного показника у 1,6 раза. Фракції з М.м. ~ 52 кДа та ~55 кДа можуть відповідати білкам кератинам. Базальними кератиноцитами експресуються кератин 5 (58 кДа) та кератин 14 (50 кДа). Процес реепітелізації опікової рани супроводжується посиленою міграцією базальних кератиноцитів до дистальних ділянок епідермісу ушкоджених тканин та посиленням синтезом кератинів [5,8]. Підвищення фракції з М.м. ~50 та ~58 кДа, ймовірно, свідчить про активний процес епітелізації опікової травми. Результати досліджень показали, що у експериментальних тварин після моделювання хімічного опіку стравоходу підвищується вміст фракції з М.м. ~ 34 кДа на 7, 15 та 21-шу доби експерименту у 4,6; 1,5 та 2,2 раза, відповідно, відносно контролю. Білкова фракція з М.м. ~34 кДа, може відповідати фактору росту ендотелію судин (VEGF). VEGF належить до VEGF/PIGF суперродини, є глікопротеїном та володіє потужним мітогенним потенціалом для клітин ендотелію судин, стимулює їх проліферацію, викликає міграцію ендотеліоцитів та розвиток нових кровоносних судин [1].

Висновок. Отже, метод електрофорезу дозволяє розділити білки на основні фракції, що дає змогу оцінити якісний білковий склад тканин за КОС, оскільки будь-яка хвороба супроводжується змінами білкового складу організму. При цьому відбуваються кількісні зміни білків, особливо в тих тканинах, в яких розвивається патологія. Нами було показано зміни вмісту білкових фракцій в сироватці крові та гомогенаті стравоходу за розвитку кислотного опіку. Таким чином, актуальним є дослідження білкових фракцій з М.м. нижче 20 кДа та вище 120 кДа для розуміння участі білків та факторів росту у процесі загоєння та/або рубцювання після хімічних опіків стравоходу.

Список використаних джерел

1. Кузнецова О. М. Фактор роста эндотелия сосудов: особенности секреции в костной ткани в норме и при патологии / О. М. Кузнецова, Н. Е. Кушлинский, Т. Т. Березов // Биомедицинская химия, 2003. – № 49. – С. 60–373.
2. Мухомедова Т.В. Протеины теплового шока в противоинфекционной и полиорганной защите / Т.В. Мухомедова, О.В. Жидкова // Патология кровообращения и кардиохирургия, 2010. – № 4. – С. 69–73.
3. Експериментальна модель лужного опіку I та II-го ступеню стравоходу у статевонезрілих щурів/ Я.Б. Раєцька, Т.В. Ішук, О.М. Савчук, Л.І. Остапченко // Наук. вісн. Чернівецького нац. ун-ту імені Юрія Федьковича. Біологія, 2014. – Т. 6. – С. 129–132.
4. Комбустиология : учебник / Э. Я. Фисталь, Г. П. Козинец, Г. Е. Самойленко и др. – Донецк, 2005.
5. Real-time monitoring of keratin 5 expression during burn re-epithelialization / K. Bruen, C. Campbell, W. Schooler et al // J. of Surgical Research, 2004. – № 120. – P. 12–20.
6. Disorders of the immune system in severely burned patients / A. D. Fayazov, S. I. Shukurov, B. I. Shukurov et al. // Ann Burns Fire Disasters, 2009. – № 22. – P. 121–130.
7. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U. K. Laemmli // Nature, 1970. – № 227. – P. 680–685.
8. Ramakrishnan Expression of keratin in post burn scars and keloids / O. Ramakrishnan, V. Prathiba, K. Sridhar et al. // Annals of Burns and Fire Disasters, 1995. – № 8. – P. 6–9.

References

1. Кузнецова О. М., Кушлинский Н. Е., Березов Т. Т. Фактор роста эндотелия сосудов: особенности секреции в костной ткани в норме и при патологии. Биомедицинская химия. 2003; №49: 60–373.
2. Мухомедова Т.В., Жидкова О.В. Протеины теплового шока в противоинфекционной и полиорганной защите. Патология кровообращения и кардиохирургия. 2010; №4: 69-73.
3. Раєцька Я.Б., Ішук Т.В., Савчук О.М., Остапченко Л.І. Експериментальна модель лужного опіку I та II-го ступеню стравоходу у статевонезрілих щурів. Науковий вісник Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича. Біологія. 2014; Т.6: 129-132.
4. Фисталь Э.Я., Козинец Г.П., Самойленко Г.Е. и др. Комбустиология. Учебник: Донецк. 2005: 315 с.
5. Bruen K., Campbell C., Schooler W. et al. Real-time monitoring of keratin 5 expression during burn re-epithelialization. Journal of Surgical Research. 2004; №120: 12–20.
6. Fayazov A. D., Shukurov S. I., Shukurov B. I. et al. Disorders of the immune system in severely burned patients. Ann Burns Fire Disasters. 2009; №22: 121–130.
7. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 1970; №227: 680–685.
8. Ramakrishnan O., Prathiba V., Sridhar K. et al. Expression of keratin in post burn scars and keloids. Annals of Burns and Fire Disasters. 1995; №8: 6–9.

Надійшла до редколегії 13.03.17

T. Koval, T. Ischuk, Ph. D., Ya. Raetska, Ph. D.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

THE PROTEIN CONTENT CHANGES OF BLOOD SERUM AND ESOPHAGEAL HOMOGENATE UNDER ACID BURN DEVELOPMENT IN IMMATURE RATS

The steady increase of the number of chemical esophagus burns is noted over the past tenth anniversary. The esophageal acid burns are seen frequently in children ages 1 to 8 years. The chemical injuries sights are characterized by increase synthesis and degradation of proteins and scar formation. The cicatricial changes of the esophagus, developing as a result of burns, remain one of the most difficult problems of physiological functions maintaining. Despite of numerous studies, there are many insufficiently studied issues of esophagus burn healing and scarring process at the cellular and molecular level. Further study of the esophageal burns healing process would be useful to create effective approaches to prevention of scarring formation in esophagus.

Keywords: burn the esophagus, protein fraction, electrophoresis.

Т. Коваль, Т. Ищук, канд. биол. наук, Я. Раецкая, канд. биол. наук,
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВОГО СОСТАВА СЫРОВАТКИ КРОВИ И ГОМОГЕНАТА ПИЩЕВОДА ПРИ РАЗВИТИИ КИСЛОТНОГО ОЖОГА ПИЩЕВОДА НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС

За последние десятилетия отмечается стабильное увеличение числа химических ожогов пищевода. В детском возрасте кислотные ожоги пищевода чаще всего встречаются в возрасте от 1 года до 8 лет. В месте локализации химической травмы увеличиваются процессы синтеза и деградации белков. Рубцовые изменения пищевода, развивающиеся в результате ожога, остаются одной из наиболее сложных проблем. Несмотря на многочисленные исследования, недостаточно изучены вопросы заживления и процессов рубцевания на клеточном и молекулярном уровне. Показаны количественные изменения белкового состава в условиях развития кислотного ожога пищевода. Дальнейшее исследование процессов заживления может быть полезным в создании эффективных подходов для профилактики образования рубцовых изменений пищевода.

Ключевые слова: ожог пищевода, белковые фракции, электрофорез.

UDK 616.34-002-02-092+616.833

A. Prysiazniuk, Ph. D. stud., T. Dovbynychuk, Ph. D., B. Kopyiak, Ph. D., G. Tolstanova, D. Sci.,
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

THE ROLE OF CENTRAL AND PERIPHERAL D2R RECEPTORS IN THE MECHANISM OF COLONIC VASCULAR PERMEABILITY DURING EXPERIMENTAL COLITIS IN RATS

We investigated the involvement of central and peripheral D2 dopaminergic receptors in the mechanism of vascular permeability in rat's colon during experimental ulcerative colitis. Ulcerative colitis was induced in male white inbred rats by 6 % iodoacetamide enema. For the investigation of central and peripheral D2R, separate and joint injections of D2R antagonist domperidone (2 mg/100 g, per os) and D2R agonist quinpirole (1 mg/100 g, per os) were applied. Central D2R were destroyed by neurotoxin injection – 6-OHDA. Colonic vascular permeability was measured by colonic extravasation of 1,5 % Evans blue. It was observed that blockade of peripheral D2R decreased colonic vascular permeability, while simultaneous activation of central D2R and inhibition of peripheral D2R have additive positive effect in prevention of increased colonic vascular permeability during experimental colitis.

Key words: D2 dopamine receptors, vascular permeability, ulcerative colitis.

Introduction. Inflammatory bowel diseases (IBD) development in human, as well as in animal models, is usually supported by increase of vascular permeability, which leads to the tissue edema. Number of mediators such as angiotenin, chemokines (IL-8, IL-10), coagulation factors, cytokines (IFN- γ , IL-13) and growth factors, mainly vascular endothelial growth factor (VEGF), affect vascular permeability and angiogenic balance. Endothelial cells produce proinflammatory mediators in response to the activation of immune cells and changes in tissue microenvironment. Many of the cytokines, deregulated during IBD pathogenesis, are pro-angiogenic: e.g., IL-17, which is synthesized by invasive Th17 cells and TNF α , which is synthesized by macrophages, monocytes and endothelial cells [1].

It should be mentioned that endothelium of colonic blood vessels is more permeable than vascular endothelium in brain and less penetrative comparing to the endothelium of liver and spleen blood vessels, which is related to the different amount of connections between the cells of endothelium [2]. Three different types of vascular permeability were previously defined: basal vascular permeability of normal tissues, acute vascular hyperpermeability, chronic hyperpermeability, which is typical for pathological angiogenesis. While basal permeability is most typical for capillaries because of their structure, acute vascular hyperpermeability appears in postcapillary venules in response to single or short-term influence of VEGF, histamine, serotonin etc. Most of them are present in tissue mast cells under normal conditions and may be released under the influence of mast cell degranulation factors. The increase in permeability in this case is performed through the contraction of endothelial cells, which leads to the 'channel' appearance between them. Under the constant influence of permeability-increasing factors, deep changes in venules structure and functioning appear, which lead to the chronic hyperpermeability and pathologic angiogenesis [3].

Dopamine is a neurotransmitter, which is responsible for the happiness state and acts through two classes of

dopamine receptors – D1 class, which consist of D1 and D5 subtypes and D2 class, which consists of D2, D3 and D4 subtypes. Expression of D1, D2, D3 and D5 dopamine receptors was found in mucosal layer of upper (stomach) and lower (small intestine and colon) parts of the gastrointestinal tract.

There is direct and indirect evidence that disruption of dopaminergic system might have an influence in IBD pathogenesis. We showed that patients with schizophrenia, which is characterized by hyperdopaminergic activity, have less susceptibility to IBD development [4]. Meanwhile during Parkinson's disease, which is characterized by destroyed dopaminergic neurons in central nervous, the increased risk of IBD development was observed [5]. Previously we determined changes in D2R expression in colon mucosa of patients with IBD and experimental colitis [6]. D2R activation facilitated healing of experimental colitis lesions via decreasing of endothelial permeability and, as a result, reduction of colonic inflammation [7].

The aim of this work to determine whether central or peripheral D2 dopamine receptors affect vascular permeability in rat's colon during experimental UC.

Materials and methods. Animals. Male white inbred rats (170-200 g, n=25) were housed under standard vivarium conditions. All animals had unlimited access to tap water and Purina chow. These studies were approved by Bioethical Committee of 'Institute of Biology and Medicine', Taras Shevchenko National University of Kyiv (Kyiv, Ukraine), protocol №1 from 20.02.2017.

Iodoacetamide-Induced Colitis Model. Experimental UC in rats was induced by 6 % IA injection. IA is a widely used SH-alkylator [8]. This model of chemically induced UC is advantageous due to sufficient colonic lesions induction; during first 1-2 hours after IA enema such parameters as increased vascular permeability, massive mucosal edema etc can be seen with further erosions and ulcer formation (6-12 h) and acute and chronic inflammation (7-14 d). In brief, 0.1 ml of 6 % IA (Sigma, USA) dissolved in 1 % methylcellulose (Sigma, USA) or 0.1 ml of 1 % methylcellulose (MC) was given through rubber catheter