

16. Scott J. W. The olfactory bulb and central pathways // *Experimentia*. – 1986. – V.42. – P.223-232.

**Jaroslav Stepaniuk**

**THE PECULIARITIES OF THE ORGANISATION OF BASIC BULBUS  
OLFACTORIUS AND REGIO PRAEPIRIFORMIS IN INSECTIVORA,  
CHIROPTERA, RODENTIA AND PRIMATES**

The gystological structure of bulbus olfactorius and the front area of the regio praepiriformis of some representatives of Insectivora, Chiroptera, Rodentia and Primates, which belong to different ecological groups, was researched. The comparing was realized for such indicens as density, a size, a volume, a form of the neurons, colour intensity of the cells and nucleouses.

*Павло Каліман, Вікторія Соколік*

**ПОГЛИБЛЕННЯ УРАЖУЮЧОГО ВПЛИВУ ОКСИДАТИВНОГО  
СТРЕСУ ЗА УМОВ БЛОКАДИ  $\beta$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРІВ  
ПРОПРАНОЛОЛОМ**

Нашими попередніми дослідженнями було встановлено, що оксидативний стрес характеризується накопиченням вторинних продуктів ланцюгового переокислення ліпідів (ЛПЛ) та активацією глутатіонзалежної ланки антиоксидантної системи у печінці та нирках тварин [6, с.294, 15, с.53]. Кобальт індукує активацію вільнорадикального окислення ліпідів шляхом витіснення заліза із залізо-зв'язуючих білків, відновлення його до каталітично активної ( $Fe^{+2}$ ) форми та прискорення обох радикалоутворюючих реакцій, а саме: утворення високоактивного гідроксильного радикалу  $OH^{\bullet}$  у Fenton реакції та безпосередня взаємодія йонів заліза з гідроперекисами ліпідів з утворенням алкоксильних радикалів  $RO^{\bullet}$ . Окрім цього кобальт здатний утворювати в організмі стабільні супероксо- та пероксокомплекси з киснем у вигляді йонних пар  $[Co^{3+}O_2^{\bullet-}]$  [19, с.531].

Позаяк у науковій літературі існує думка про те, що процеси ЛПЛ виступають у якості обов'язкового компоненту та первинного медіатору стрес-реакції [16, с.340], механізми подальшої активації ЛПЛ за умов стресу пов'язують з посиленням функціональної активності гіпофізарно-надниркової системи, що призводить до викиду у кров'яне русло катехоламінів і глюкокортикоїдів. У еволюційному плані вільнорадикальні процеси активації утворення гідроперекисів жирних кислот передували ейказаноїдній регуляції і саме через це продукти окислення ліпідів уможливають нейрогуморальні зміни на рівні організму в цілому [14, с.155]. З іншого боку з'ясовано, що у розвитку стресорної реакції провідною патогенетичною ланкою є активація вільнорадикального окислення в мембранах

клітин [3, с.17]. Існує припущення, що активацію вільнорадикальних процесів за дії стресорних кількостей гормонів викликають продукти окислення катехоламінів – семіхінонні радикали адреналіну [1, с.16]. Проте Меерсон Ф.З. і співавт. [12, с. 245] на основі експериментів з  $\beta$ -адреноблокатором пропранололом дійшли висновку, що активація ЛПЛ виникає скоріш за все не як результат інтенсифікації метаболізму самих гормонів, а як наслідок їх взаємодії з відповідними адренорецепторами. На нашу думку, обидва запропоновані механізми послідовно реалізуються за умов розгортання універсальної стрес-відповіді організму на будь-який чинник.

Тому за мету цього дослідження постало розмежувати дві самостійні причини активації ЛПЛ при оксидативному стресі шляхом усунення однієї з них. А саме: запобігти прооксидантного ефекту катехоламінів, заблокувавши  $\beta_1$  і  $\beta_2$  адренорецептори неселективним блокатором пропранололом безпосередньо перед введенням кобальту. Ми спирались на дані про те, що пропранолол здатний запобігати адренергічній активації ЛПЛ у серці при стресі [13, с.122] і що за умов адреналектомії стресорні чинники не викликають інтенсифікації ЛПЛ [5, с.47].

### **Матеріали і методи**

До експерименту були залучені 3-місячні щури-самці лінії Wistar. 0,6% розчин  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  вводили внутрішньочеревинно з розрахунку 3 мг солі кобальту на 100 г ваги тварини. Розчин  $\beta$ -адреноблокатору пропранололу (0,025%) вводили також внутрішньочеревинно з розрахунку 0,15 мг пропранололу на 100 г ваги тварини. Контрольним тваринам вводили відповідний об'єм фізіологічного розчину. Щурів було поділено на наступні групи: 1 група – контрольні тварини;

2 група ( $\text{CoCl}_2$ ) – тварини, яким вводили розчин хлориду кобальту та декапітували через 0,5 год, 2 год та 24 години після ін'єкції;

3 група (пропранолол) – тварини, яким вводили розчин  $\beta$ -адреноблокатору та декапітували через 1 год, 2,5 год та 24,5 год після ін'єкції;

4 група (пропранолол +  $\text{CoCl}_2$ ) – тварини, яким вводили розчин  $\beta$ -адреноблокатору за 0,5 год до ін'єкції хлориду кобальту і декапітували через 0,5 год, 2 год та 24 години після ін'єкції хлориду кобальту.

3 печінки і нирок готували 20% гомогенати тканин на 40 мМ фосфатному буфері (рН 7,4), у яких досліджували:

– вміст ТБК-активних продуктів ЛПЛ [18, с.302];

– вміст білкових і небілкових сульфгідрильних груп [17, с.33];

– активність глутатіонзалежної антиоксидантної системи ферментів: глутатіонпероксидазна активність з гідроперекисом кумолу (ГПК) [10, с.1467], глутатіонредуктазна активність [4, с.90] та глутатіонтрансферазна активність з 1-хлор-2,4-дінитробензолом (2,4 ДНХБ) у якості субстрату [11, с.50].

Вміст загального білка визначали за методом Lowry О.Н. Статистичну обробку результатів проводили у програмі Sg Win. Для аналізу достовірності відмінностей користувались U критерієм Манна-Уїтні.

### Результати та обговорення

Використаний у нашому дослідженні неселективний  $\beta$ -адреноблокатор пропранолол блокує як  $\beta_1$ , так і  $\beta_2$  адренорецептори і володіє цілим рядом специфічних властивостей (таблиця 1) [2, с. 62]. Він входить до складу переліку  $\beta$ -адреноблокаторів дозволених до застосування в Україні.

**Таблиця 1. Фармакокінетичні особливості  $\beta$ -адреноблокатору пропранололу**

Показник	пропранолол
блокада рецепторів	$\beta_1\beta_2$
симпатоміметична активність	---
ліпо/гідрофільність	ліпофільність
абсорбція (% від дози)	90%
біодоступність (%)	30%
зв'язок з білками (%)	90%
печінковий (пресистемний) метаболізм (%)	99%
час досягнення максимальної концентрації (год)	0,75-1,0 год 2,0-3,0 год
період напіввиведення (год)	+
активні метаболіти	
кліренс (%)	100%
печінкою	0%
нирками	

У нашому дослідженні був з'ясований прооксидантний ефект пропранололу у печінці та нирках щурів (таблиця 2).

**Таблиця 2. Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів у печінці і нирках щурів за дії хлориду кобальту, пропранололу та хлориду кобальту під час блокади  $\beta$ -адренорецепторів ( $M \pm m$ ,  $n = 6-7$ ,  $a - 10^{-2}$  нмоль/г тканини)**

Вплив	орган	
	печінка ТБК-активні продукти <sup>а</sup>	нирки ТБК-активні продукти <sup>а</sup>
Контроль	17,00±0,50	28,00±1,55
хлорид кобальту		
0,5 год	25,00±1,30*	33,00±2,27
2,0 год	24,00±1,50*	32,50±2,22
24,0 год	15,00±0,70	34,30±1,38*
Пропранолол + хлорид кобальту		
0,5 год	25,00±1,70*	34,80±1,59*
2,0 год	29,00±2,10*	35,30±2,81*
24,0 год	19,00±0,60*	38,40±1,69*
Пропранолол		
1,0 год	22,00±0,90*	35,30±1,93*

2,5 год	19,00±0,80*	32,50±0,99*
24,5 год	23,00±0,60*	35,50±2,40*

\* – достовірно порівняно до контролю ( $p < 0,05$ )

Про це свідчить збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у печінці щурів за умов блокади  $\beta$ -адренорецепторів, як при введенні кобальту, так і без нього, у всі досліджені відтинки часу (0,5 – 24 год). За умов відсутності блокади  $\beta$ -адренорецепторів на добу впливу хлориду кобальту вміст ТБК-активних продуктів у печінці нормалізувався. У нирках також був відзначений домінуючий прооксидантний вплив пропранололу. Зазначений ефект пропранололу не дав змоги вирішити поставлену на початку дослідження задачу, але ми з'ясували деякі шляхи активації глутатіонзалежних антиоксидантних ферментів під час розвитку оксидативного стресу. Хлорид кобальту викликає підвищення глутатіонпероксидазної і глутатіонтрансферазної активностей печінки на 0,5 год своєї дії (таблиця 3).

**Таблиця 3. Вплив блокади  $\beta$ -адренорецепторів пропранололом на активацію глутатіонзалежної ланки антиоксидантної системи за умов оксидативного стресу хлоридом кобальту ( $M \pm m$ ,  $n = 6-7$ , а – нмоль NADPH/мг білка • хв, б – мкмоль 2,4 ДНХБ/мг білка • хв)**

Вплив	орган	печінка			нирки		
		ГП <sup>а</sup>	ГР <sup>а</sup>	ГТ <sup>б</sup>	ГП <sup>а</sup>	ГР <sup>а</sup>	ГТ <sup>б</sup>
Контроль		124,1±7,97	49,6±6,3	130,0±4,2	52,6±4,4	139±2,9	32,8±2,8
хлорид кобальту							
0,5 год		273±22,5*	54,5±3,64	191±12,8*	67,5±3,7*	148±12,2	38,2±3,6
2,0 год		138,4±18,9	51,0±5,7	122,0±4,3	124±1,0*	116±7,3*	25,9±1,5
24,0 год		104,3±5,9	50,4±5,3	134,0±3,0	103 ±8,4*	148±11,8	51,1±4,2*
Пропранолол + хлорид кобальту							
0,5 год		135,0±10,7	82,5±6,8*	146,0±9,1	74,3±2,8*	157±7,0*	52,8±4,3*
2,0 год		90,3±10,5*	45,9±6,0	96,3±6,5*	124±6,6*	123±7,2	55,4±4,8*
24,0 год		90,4±8,8*	42,8±4,7	99,9±3,8*	86,7±8,8*	140±10,4	53,0±1,3*
Пропранолол							
1,0 год		109,0±12,4	54,6±5,0	142,0±12,9	83,4±1,1*	158±5,1*	23,8±2,8
2,5 год		92,7±8,0*	48,2±4,5	125,0±11,3	74,1±2,4*	103±8,3*	51,8±2,2*
24,5 год		67,0±8,7*	56,0±6,5	130, ±13,2	61,2±2,0	184±7,3*	49,1±3,1*

\* – достовірно порівняно до контролю ( $p < 0,05$ )

ГП–глутатіонпероксидаза, ГР–глутатіонредуктаза, ГТ–глутатіонтрансфераза

За умов блокади  $\beta$ -адренорецепторів пропранололом у печінці щурів не виявлено такого підвищення під впливом хлориду кобальту. Більш того глутатіонпероксидазна і глутатіонтрансферазна активності були достовірно знижені в інтервалі 2-24 години. Сам пропранолол знижував лише глутатіонпероксидазну активність у інтервалі 2-24 год, не впливаючи на глутатіонтрансферазну активність. Одержані дані свідчать про регуляцію глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази за терміновими механізмами

і, оскільки підвищення активності цих ферментів блокується пропранололом, можна припустити, що воно відбувається за рахунок фосфорилування сАМФ-залежним шляхом. Це припущення узгоджуються з літературними даними про те, що активність глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази печінки модулюється сАМР-залежними протеїніназами за умов активації  $\beta$ -адренорецепторів стресорним рівнем гормонів при емоційному стресі [7, с.78]. Глутатіонредуктаза не фосфорилується сАМР-залежними протеїніназами. Ми також не виявили змін у активності цього ферменту у печінці шурів.

У нирках пропранолол не тільки не пригнічував активності досліджуваних ферментів, а, навпаки, викликав збільшення їх активності. Позаяк, для ниркових ізоформ глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази не з'ясовано сАМР-залежної активації [8, с.157], ми припускаємо активацію цих ферментів за рахунок їх індукції.

У літературних джерелах обговорюється, що біогенним амінам притаманні здібності підвищувати вміст тіолів взагалі за рахунок білкових сульфгідрильних груп [9, с.131]. У нашому дослідженні було встановлено, що пропранолол не впливає на вміст білкових сульфгідрильних груп, і не перешкоджає зниженню їх концентрації за дії хлориду кобальту в інтервалі 0,5 – 2 год у печінці шурів (таблиця 4).

Таблиця 4. Вплив оксидативного стресу на систему тіолів печінки і нирок шурів за умов блокади  $\beta$ -адренорецепторів ( $M \pm m$ ,  $n = 6-7$ ,  $a$  – ммоль/г тканини)

орган \ Вплив	печінка		нирки	
	небілкові SH-групи <sup>a</sup>	SH-групи білків <sup>a</sup>	небілкові SH-групи <sup>a</sup>	SH-групи білків <sup>a</sup>
Контроль	89,5 $\pm$ 5,6	273,0 $\pm$ 21,6	152,5 $\pm$ 12,1	135,5 $\pm$ 12,4
хлорид кобальту				
0,5 год	173,5 $\pm$ 11,7*	126,0 $\pm$ 7,5*	179,5 $\pm$ 10,5	94,5 $\pm$ 13,3
2,0 год	127,0 $\pm$ 5,1*	232,0 $\pm$ 24,7*	172,5 $\pm$ 7,1	149,5 $\pm$ 5,8
24,0 год	152,5 $\pm$ 10,8*	157,0 $\pm$ 39,1*	135,0 $\pm$ 12,8	148,0 $\pm$ 8,2
Пропранолол + хлорид кобальту				
0,5 год	141,0 $\pm$ 16,3*	237,0 $\pm$ 22,3	142,5 $\pm$ 12,0	117,0 $\pm$ 7,7
2,0 год	133,5 $\pm$ 8,7*	194,5 $\pm$ 17,6*	140,0 $\pm$ 13,5	122,5 $\pm$ 8,4
24,0 год	143,0 $\pm$ 11,2*	255,5 $\pm$ 14,7	152,5 $\pm$ 14,5	137,0 $\pm$ 6,0
Пропранолол				
1,0 год	118,0 $\pm$ 7,1*	233,0 $\pm$ 36,6	138,5 $\pm$ 22,2	115,0 $\pm$ 20,5
2,5 год	173,5 $\pm$ 12,5*	231,0 $\pm$ 15,2	146,5 $\pm$ 6,4	136,5 $\pm$ 19,4
24,5 год	147,5 $\pm$ 15,5*	237,5 $\pm$ 25,5	156,5 $\pm$ 15,3	133,5 $\pm$ 5,1

\* – достовірно порівняно до контролю ( $p < 0,05$ )

Разом з цим, підвищення вмісту небілкових тіолів є наслідком блокади  $\beta$ -адренорецепторів, бо відомо, що фосфорилування ключового ферменту біосинтезу глутатіону –  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетази – корелює з мірою втрати її активності [20, с.326]. Таким чином, пропранолол викликає зниження фосфорилування білків протеїнкіназою А та збільшення швидкості синтезу глутатіону, що, у свою чергу, забезпечує підвищення вмісту небілкових тіолів у печінці щурів. Змін у тіоловій системі нирок у нашому дослідженні не було виявлено.

Одержані результати свідчать про те, що прооксидантний ефект пропранололу у печінці і нирках щурів не дозволяє використовувати його як захисний агент за умов оксидативного стресу, викликаного інтоксикацією хлоридом кобальту.

1. Барабой В.А., Олійник С.А., Хмельський Ю.В. Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр. біохим. журн. – 1994 – Т.66. – №4 – С. 3-18.
2. Лікування та діагностика в таблицях і схемах // Лікування та діагностика. – 2001. – №4 – С.62-64.
3. Бурлакова Е.Б., Губарева А.Е., Архипова Г.В., Рогинский В.А. Модуляция перекисного окисления липидов биогенными аминами в модельных системах // Вопросы мед. химии. – 1991. – №2. – С.17-20.
4. Герасимов А.М., Королева Л.А., Брусов О.С. Ферментативные механизмы торможения перекисного окисления в различных отделах головного мозга крыс // Вопросы мед. химии. – 1976. – №22. – С.89-94.
5. Голиков П.П., Давыдов Б.В., Матвеев С.Б. Механизмы активации перекисного окисления липидов и мобилизации эндогенного антиоксиданта  $\alpha$ -токоферола при стрессе // Вопросы мед. химии. – 1987 – №1. – С.47-50.
6. Калиман П.А., Соколик В.В., Шаби Бони Кристоф Перекисное окисление липидов и система глутатионовой защиты в печени и почках крыс при введении хлорида кобальта // Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии. Труды научн. конференции. – С.-Петербург, 1998. – С.294-299.
7. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И., Манторова Н.С. Регуляция различных изоферментов глутатион-S-трансферазы протеинкиназой А и сАМФ // Укр. біохим. журнал. – 1991. – Т.63. – №2. – С.77-79.
8. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона // Успехи биол. Химии. – 1990. – №31. – С.157-331
9. Кулинский В.И. Исследование механизмов радиозащитного эффекта экзо- и эндогенных биогенных аминов / В кн.: Проблемы природной и модифицированной радиочувствительности. – М.: Наука, 1983. – С.120-134.
10. Ланкин В.З., Тихадзе А.Н., Ковалевская А.Л. Возрастные изменения активности глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы цитозоля печени крыс // Докл. АН СССР. – 1981. – Т.261. – №6. – С.1467-1470.
11. Лемешко В.В., Никитченко Ю.В., Свич И.В. и др. Перекисное окисление липидов биомембран и его ферментативная регуляция при старении крыс // Укр. біохим. журнал. – 1987. – Т.59. – №2. – С.50-57.
12. Меерсон Ф.З., Пшеничников М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина, 1988. – 253 с.

13. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: Концепция долговременной адаптации – М.: Дело, 1993. – 138 с.
14. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Окислительный стресс при воспалении // Успехи соврем. биологии. – 1997. – Т.117. – Вып.2. – С.155-171.
15. Соколик В.В., Баранник Т.В. Активность глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной защиты и НАДФН-генерирующих дегидрогеназ в условиях окислительного стресса, вызванного хлоридом кобальта // Биолог. вестник – 1997. – Т. I. – №1 – С.51-56.
16. Турпаев К.Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов // Биохимия. – 2002. – Т.67. – Вып.3. – С.339-352.
17. Фоловеев В.Ф. Фотокolorиметрический ультрамикрометод количественного определения сульфгидрильных групп белков и небелковых соединений крови // Лабораторное дело. – 1981. – №1. – С.33-35.
18. Minara M., Uchiyama M., Fukuzawa K. Thiobarbituric acid on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl<sub>4</sub> intoxication, and vitamin E deficiency // Bioch. Med. – 1980. – V.23. – №3 – P. 302-311.
19. Sinclair P., Gibbs A.H., Sinclair J.F., De Matteis F. A mechanism for the inhibition of liver haem biosynthesis by inorganic cobalt // Biochem. J. – 1979. – V.178. – P.529-538.
21. Sun W.M., Huang Z.Z., Lu S.C. Regulation of  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase by protein phosphorylation // Biochem. J. – 1996. – V. 320. – Pt. I. – P.321-328.

**Pavlo Kaliman, Viktoria Sokolik**

#### **RECESS OF OXIDATIVE STRESS HITTING OPERATION UNDER ACTION OF $\beta$ -BLOCKER OF PROPRANOLOL**

The research is devoted to the investigation of the oxidative stress, caused by cobalt chloride, under  $\beta$ -blocker. Co-administration propranolol and cobalt chloride does not prevented lipid peroxidation activation in liver and kidneys of animals. It was found, that propranolol influence on the liver antioxidant system is direct and includes probably cAMP-dependent fosforilation of glutathioneperoxidase and glutathionetransferase.  $\beta$ -blocker effects on the thiol system were revealed only in liver of animals.