

## ВПЛИВ СЕЛЕКТИВНИХ МОДУЛЯТОРІВ ЕСТРОГЕНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ НА СИСТЕМУ ГЛУТАТІОНУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

У статті наведено експериментальні дані щодо здатності селективних модуляторів естрогенових рецепторів (SERM) впливати на систему глутатіону в умовах експериментальної ішемії головного мозку. Курсове призначення тамоксифену та лівіалу в дозі 1 мг/кг призводило до підвищення вмісту глутатіону, зниження концентрації нітротирозину, нормалізації активності глутатіонредуктази та глутатіон-S-трансферази.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** селективні модулятори естрогенових рецепторів, система глутатіону, нейропротекція, ішемія головного мозку.

**ВСТУП.** Відомо, що нейродеструкція ішемічного генезу супроводжується розвитком патобіохімічних каскадів у нейроні, а саме інтенсифікацією процесів вільнорадикального окиснення (ВРО), дисбалансу тіол-дисульфідної системи, розвитком енергетичного дефіциту. За деякими даними, співвідношення тіол-дисульфідної рівноваги в умовах ішемії головного мозку є визначальним фактором у розвитку мітохондріальної дисфункції. На сьогодні продемонстровано значущу роль глутатіону – головного інтермедіата тіол-дисульфідної системи у фізіологічних процесах нейрональної клітини (транспітерна, антиоксидантна, детоксикаційна, антіапоптична) [2, 7].

Вищесказане зумовлює перспективність розгляду системи глутатіону як перспективної мішені фармакокорекції при патології ЦНС.

Останнім часом інтерес у фармакологів викликають так звані селективні модулятори β-естрогенових рецепторів (SERM), які впливають на функціонування вищих мозкових функцій та регулюють глобальні фактори транскрипції, рівень нейроантиоксидантів (мелатонін, карнозин) [5]. У зв'язку з цим, актуальним та перспективним напрямком нейрофармакології є пошук нейропротекторів серед SERM.

Метою даного дослідження було вивчити вплив дії SERM (тамоксифену цитрат; лівіал) на систему глутатіону в головному мозку та оцінити їх нейропротекторну дію в умовах моделювання ішемічного інсульту.

© С. В. Павлов, 2011.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Порушення мозкового кровообігу моделювали шляхом односторонньої оклюзії сонної артерії у монгольських пісчанок-самців (*Meriones unculatus*) масою 65–70 г [4]. Тамоксифену цитрат (1-[пара-[2-(діаметиламіно)-етоксі]-феніл]-транс-1,2-дифеніл-1-бутен) та лівіал ((17α,17α)-17-Оксі-7-метил-19-норпрегн-5(10)-ен-20-ін-3-он) призначали щоденно протягом 4 діб у дозі 1 мг/кг (доза, в якій ці SERM проявляють агоністичну активність відносно β-естрогенових рецепторів) внутрішньочеревно [1]. На 4 добу тварин виводили з експерименту під наркозом (етамінал натрію 40 мг/кг). Головний мозок швидко витягали та гомогенізували в рідкому азоті.

Стан системи глутатіону вивчали за флуориметричним визначенням концентрації у гомогенаті головного мозку глутатіону окисного (глут. окис.), глутатіону відновленого (глут. відн.) та за рівнем активності ферментів тіол-дисульфідної системи – глутатіон-S-трансферази (GST) та глутатіонредуктази (GR) [4].

Інтенсивність оксидативного стресу досліджували за рівнем нітротирозину в гомогенаті головного мозку, який визначали за допомогою імуноферментного аналізу [4].

Результати дослідження оброблено із застосуванням пакета статистичних програм "SPSS 16", "Microsoft Excel 2003", "STATISTICA® for Windows 7.0" (StatSoft Inc.), для всіх видів аналізу статистично значимими вважали відмінності при рівні значущості не менше 0,05.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Моделювання ішемії головного мозку супроводжувалось суттєвим порушенням функціонування системи глутатіону в тканинах головного мозку. Так, як видно з таблиці 1, на 4 добу експерименту спостерігались зменшення концентрації відновленої форми глутатіону (на 59 %), підвищення концентрації його окисної форми (на 75,5 %), зниження рівня активності GST та GR. Як відомо, глутатіон відіграє важливу роль в забезпеченні антиоксидантного захисту нейрона, бере участь у захисті клітин, що дегенерують, та інактивації цитотоксичних карбонільних дериватів [3, 6]. Таким чином, зниження концентрації глутатіону на 4 добу ішемії свідчить, на нашу думку, про “зрив” клітинних компенсаторних реакцій. Напруженість цих процесів досить велика, оскільки на 4 добу експерименту реєстрували накопичення цито- та геномотоксичного маркера оксидативного стресу – нітротирозину більш ніж на 82 % відносно інтакту.

Курсове призначення тамоксифену (1 мг/кг) та лівіалу (1 мг/кг) призводило до покращення функціонування системи глутатіону, а саме до підвищення рівня активності GR – на 40,8 та 16,8 %; GSP – на 43,6 та 33,3 % відповідно. Паралельно з підвищенням активності ен-

зимів спостерігалось збільшення концентрації глутатіону – в середньому на 47 % на тлі зменшення вмісту окисної форми, в середньому на 51 %. Такий вплив досліджуваних препаратів на систему глутатіону є, на нашу думку, їх ключовим механізмом дії. Відомо, що з патобіохімічних позицій збільшення функціонування системи глутатіону протидіє оксидативному стресу, який відіграє вирішальну роль у перебігу інсульту. Зареєстрована нами здатність SERM підвищувати активність GST та GR сприяє захисту клітини від активних форм кисню та продуктів пероксидації, дозволяє певною мірою встановити рівновагу та покращити редокс-регуляцію. На користь такої інтерпретації свідчать отримані нами дані щодо здатності SERM зменшувати накопичення нітротирозину в головному мозку монгольських пісчанок (табл. 1).

Аналіз отриманих даних свідчить про те, що дія тамоксифену та лівіалу на систему глутатіону була односпрямованою, але, як видно з таблиці 1, тамоксифен статистично вірогідно перевищував за всіма досліджуваними показниками лівіал. На нашу думку, це пояснюється більш вираженим агоністичним ефектом тамоксифену щодо  $\beta$ -естрогенових рецепторів [1, 5].

Таблиця 1 – Вплив SERM на показники системи глутатіону в головному мозку на 4 добу ішемії

Група тварин (n=10)	Глут. окис., ммоль/г ткан.	Глут. відн., ммоль/г ткан.	GST, у.о./мг білка	GR, у.о./мг білка	Нітротирозин, у.о./мг білка
Інтакт	1,2±0,12	4,2±0,34	12,1±0,33	16,2±0,3	1,5±0,15
Контроль, ішемія, 4 доба	4,9±0,14	1,7±0,22	5,8±0,11	8,4±0,24	8,5±0,13
Тамоксифен, 1 мг/кг	2,0±0,14*§	3,6±0,28*§	10,3±0,39*§	14,2±0,21*§	3,4±0,11*§
Лівіал, 1 мг/кг	2,9±0,18*	2,8±0,2*	8,7±0,25*	10,1±0,17*	4,5±0,13*

Примітка. \* –  $p \leq 0,05$  відносно контролю; § –  $p \leq 0,05$  відносно лівіалу.

**ВИСНОВКИ.** 1. Моделювання ішемії головного мозку супроводжувалось значним порушенням системи глутатіону в тканинах головного мозку.

2. Призначення SERM – тамоксифену та лівіалу призводило до підвищення активності ключових ферментів системи глутатіону – GST та GR, концентрації відновленого глутатіону та

зменшення вмісту його окисної форми. Статистичний аналіз показав перевагу тамоксифену над лівіалом.

3. Механізм дії SERM пояснюється їх прямою антиоксидантною активністю та здатністю впливати на глобальні фактори транскрипції, тим самим підвищуючи експресію генів, що кодують антиоксидантні ферменти.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Беленичев И. Ф. Нейропротективная активность модуляторов эстрогеновых рецепторов при депривации системы глутатиона *in vitro* / И. Ф. Бе-

леничев, С. В. Павлов // Нейронауки. – 2010. – 6, № 1. – С. 12–17.

2. Калинина Е. В. Участие тио-, перокси- и глу-

таредоксинов в клеточных редокс-зависимых процессах / Е. В. Калинина, Н. Н. Чернов, А. Н. Сап-рин // Успехи биологич. химии. – 2008. – **48**. – С. 319–358.

3. Окисленный глутатион вызывает активацию рецептора эпидермального фактора роста и MAP-киназ ERK 1, 2 / К. П. Василенко, Е. Б. Бурова, В. Г. Антонов, Н. Н. Никольский // Цитология. – 2006. – **48**, № 6. – С. 800–807.

4. Чекман И. С. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов / И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев. – К. : ДФЦ МОЗ Украины, 2010. – 81 с.

5. Dykens Mitochondria Play a Central Role in Estrogen-Induced Neuroprotection / James W. Simpkins, Jian Wang, Xiaofei Wang [et al.] // Current Drug Targets – CNS & Neurological Disorders. – 2005. – № 4. – P. 69–83.

6. Filomeni G. Cell signaling and the glutathione redox system / G. Filomeni, G. Rotilio, M. R. Ciriolo // Biochem. Pharmacol. – 2002. – № 64. – P. 1057–1064.

7. Glutathione deficiency is associated with impaired survival in HIV disease / Leonore A. Herzenberg, Stephen C. De Rosa, J. G. Regson Dubs [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. – **94**. – P. 1967–1972.

**С. В. Павлов**

ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

## ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ МОДУЛЯТОРОВ ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА СИСТЕМУ ГЛУТАТИОНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

### Резюме

В статье приведены экспериментальные данные о способности селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов (*SERM*) в условиях экспериментальной ишемии головного мозга влиять на систему глутатиона. Курсовое назначение тамоксифена и ливиаля в дозе 1 мг/кг приводило к повышению содержания глутатиона, снижению концентрации нитротирозина, нормализации активности глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов, система глутатиона, нейропротекция, ишемия головного мозга.

**S. V. Pavlov**

ZAPORIZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

## INFLUENCE OF THE SELECTIVE MODULATORS OF THE ESTROGEN RECEPTORS ON THE GLUTATHIONE SYSTEM AT EXPERIMENTAL BRAIN ISCHEMIA

### Summary

There are presented experimental data on ability of the estrogen receptors to influence on the glutathione system in experimental brain ischemia. Prescription of the tamoxifen and livial in the dose of 1 mg/kg leads to the increasement of the glutathione level, decrease of the nitritirosin concentration, normalization of the glutathionreductase and glutathione-S-reductase activity.

KEY WORDS: selective modulators of the estrogene receptors, glutathione system, neuroprotection, brain ischemia.

Отримано 03.10.11

Адреса для листування: С. В. Павлов, Запорізький державний медичний університет, просп. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.