

DOI: 10.21802/artm.2019.1.9.140.

УДК 612.018.2:612.826/.828.062

## ВПЛИВ ЕСТРОГЕНІВ НА ПРООКСИДНО-АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМУ ЛІМБІЧНИХ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗКУ

І.Р. Тимофійчук, С.Б. Семененко, Т.П. Савчук, О.І. Юрків, К.В. Слободян

*Буковинський державний медичний університет, кафедра фізіології імені Я.Д. Кіршенבלата, м. Чернівці, Україна,  
ORCID ID: 0000-0003-2617-9697,  
ORCID ID: 0000-0002-6124-1938,  
ORCID ID: 0000-0002-1782-1812,  
e-mail: inga10051973@ukr.net*

**Резюме.** Процес старіння супроводжується зміною гормонального балансу. Естрогени захищають нейрони від мітохондріальної дисфункції в умовах окисного стресу, а вікове зниження рівня статевих гормонів супроводжується зростанням рівня вільних радикалів, токсична дія яких викликає зниження активності антиоксидантних ферментів. Менопауза у жінок старшої вікової групи сприяє поширеності цукрового діабету, а хронічна гіперглікемія викликає окисний стрес.

**Метою** нашого дослідження було вивчити вплив статевих гормонів на стан прооксидно-антиоксидантної системи у оварієктомованих, старих і щурів з експериментальним цукровим діабетом.

**Матеріали і методи.** Дослідження проводилося на 40 статевозрілих щурах самках 4-5 місяців та 20 місяців. Дослідним групам проводили оварієктомію і відтворювали експериментальний цукровий діабет 2 типу уведенням протамін сульфату. Для оцінки інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів у полях гіпокампу CA<sub>1</sub>, CA<sub>2</sub>, CA<sub>3</sub> визначали вміст дієнових кон'югатів та малонового альдегіду. Стан антиоксидантного захисту оцінювали за активністю супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази.

**Результати.** Оварієктомія викликала зростання рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів і зниження активності антиоксидантних ферментів в усіх полях гіпокампу, з переважанням цих процесів у полі CA<sub>3</sub>. Тенденція до посилення пероксидації зберігалась на тлі розвитку цукрового діабету.

**Висновки.** Отримані дані вказують, що вікове зниження рівня естрогенів на тлі ЦД викликає виснаження прооксидно-антиоксидантної системи і свідчать про перехід на нижчий рівень функціонування.

**Ключові слова:** перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист, естрогени, цукровий діабет.

**Вступ.** Процес старіння супроводжується зміною гормонального балансу і реорганізацією функціональних систем мозку, що забезпечують пристосувальну поведінку, процеси навчання і пам'яті. Когнітивні порушення є результатом фізіологічних вікових змін в організмі. Відомо, що для жінок з передчасною недостатністю яєчників характерний підвищений рівень пошкоджень в мітохондріальній ДНК, зниження числа її копій і підвищення рівня продукції активних форм кисню в клітинах тканини яєчника. Стан хронічного окисного стресу не тільки призводить до порушень овогенезу і зниження ймовірності дозрівання яйцеклітини, але і сприяє розвитку серцево-судинних захворювань, остеопорозу, цукрового діабету та інших віддалених наслідків естрогенного дефіциту при цій патології [1].

**Обґрунтування дослідження.** Із віком відбувається зростання утворення вільних радикалів і накопичення пошкоджених окисленням молекул білків, нуклеїнових кислот і ліпідів, що провокує множинну дисфункцію сигнальних шляхів. Токсична дія вільних радикалів супроводжується зниженням активності антиоксидантних ферментів. Нейрони також відчувають дефіцит енергії внаслідок мітохондріальних порушень і контролюють оптимальний клітинний рівень активних форм кисню [1]. Зміни проникності судинної стінки стимулюють утворення в клітинах карбонільних груп, цистеїну, лізину і гістидину, перекисне

окиснення ліпідів, глікірування ДНК і РНК. При окисненні ліпідів мембран утворюються різноманітні ліпідні пероксиди і альдегіди. Ці зміни є обов'язковим біохімічним компонентом таких нейродегенеративних захворювань, як хвороби Альцгеймера і Паркінсона. Хвороба Альцгеймера виникає в результаті змін протеолітичного процесингу попередника β-амілоїдного пептиду, що призводить до масового утворення довгого β-амілоїдного пептиду, який формує нерозчинні агрегати, генеруючі активний кисень, пошкоджує мембрани клітин і погіршує синаптичну рецепторну передачу сигналів [2, 3].

У клімактеричному періоді відбуваються інволютивні процеси пов'язані із зниженням продукції статевих гормонів. Зниження вироблення статевих стероїдів асоційоване зі зниженням когнітивних здібностей: порушенням процесів формування довготривалої декларативної пам'яті, погіршенням просторової робочої пам'яті і здійсненням виконавчих функцій [3, 4]. Статеві гормони позитивно впливають на нейрони, клітини глії, регулюють трофічну функцію [5]. Дефіцит стероїдогенезу викликає зниження і подальше припинення нейрогенезу в гіпокампі, подальше ремоделювання астроглії в CA<sub>1</sub>-полі гіпокампу, зубчастій звивині [4].

Виявлена нейропротекторна активність естрадіолу є результатом плейотропної дії гормону на клітинні популяції ЦНС, що реалізується через гено-

мні і негеномні механізми, які полягають у впливі на нейрони, функцію мітохондрій; власну антиоксидантну активність; протизапальну дію; стимуляцію нейрогенезу; впливу на нейромедіатори [3].

Мітохондрії регулюють енергетичний баланс нейронів, який необхідний для реалізації спеціалізованих фізіологічних функцій клітини. У мембранах мітохондрій визначені обидва типи естрогенових рецепторів, тому мітохондрії є повноцінною мішенню дії естрогенів. Захисну дію естрогену на мітохондрії включає: вплив на мітохондріальну життєздатність і функціонування, апоптоз і гомеостаз кальцію. Рецептор-незалежний антиоксидантний ефект естрадіолу пояснюється здатністю молекули виконувати функцію пастки вільних радикалів і хелатування окисно-активних іонів металів [1].

Для естрогенів показана позитивна кореляція між пригніченням залізо-індукованого ПОЛ і *in vitro* нейропротекторною активністю. Пригнічення естрогеном хронічного окисного стресу захищає нейрон від мітохондріальної дисфункції і гальмує клітинне старіння. Дефіцит естрогенів викликає дефіцит холінергічної системи, що згідно з останніми дослідженнями розглядається як можливий фактор хвороби Альцгеймера. Експериментальні роботи показали, що естрогени знижують токсичність бета амیلіоїда для нейронів шляхом дії на Н-холінорецептори. Позитивний вплив естрогенів можна пов'язати із антиоксидантним впливом і впливом на експресію нейротрофічного фактору [3].

Головний мозок надзвичайно схильний до ушкоджуючої дії окисного стресу внаслідок низького рівня ферментних антиоксидантних систем і високого вмісту субстрату, який окислюється. Мембрани нервових клітин збагачені поліненасиченими жирними кислотами. У процесі старіння зростає чутливість мозку до окисної деструкції. Збільшення мембранної ригідності, яке зумовлене підвищенням рівня холестеролу і сфінгомеліну, може збільшувати генерацію кон'югованих дієнів, продуктів ПОЛ і розглядається як процес старіння [1, 6].

**Нейропротекторна роль естрогенів при цукровому діабеті.** У жінок, старших 50 років, частота виникнення цукрового діабету значно збільшується і, саме менопауза має певний вплив на підвищення його поширеності серед жінок старшої вікової групи. У літературі описана регулююча роль стероїдних гормонів яєчників в утилізації глюкози в головному мозку, а також контролювання естрогенами неврологічних порушень, індукованих інсуліновою гіперглікемією у оварієктомованих щурів [6].

Хронічна гіперглікемія, яка розвивається при цукровому діабеті, бере участь в патогенезі судинних ускладнень як безпосередньо, так і опосередковано – ініціацією деяких біохімічних процесів, до яких відноситься окислювальний стрес, що розвивається внаслідок автоокислення глюкози при зниженні активності антиоксидантної системи, надлишкове утворення кінцевих продуктів глікірування і їх взаємодія з відповідними рецепторами, підвищене активування протеїнкінази С внаслідок збільшення синтезу діацилглицерилу під впливом надлишку глюкози, запальних процесів і порушення обміну ліпопротеїнів. Порушення вказаних процесів, своєю чергою, супроводжу-

ється розвитком стрес-індукованих молекулярних механізмів і специфічних сигнальних шляхів активування транскрипційного ядерного фактору – капаВ (NF-kB), декількох кіназ, головними із яких є JNK/SAPK і p38-мітоген-активована протеїнкіназа (МАП), а також гексозамінів. Ці процеси визначають розвиток «оксидативного стресу» – загального патогенетичного механізму, що лежить в основі не тільки ЦД, але і хвороби Альцгеймера, хвороби Паркінсона, а також природного старіння організму [7].

Аналіз літератури продемонстрував, що в останнє десятиліття вивчається роль естрогенів у процесах нейродегенерації, але багато питань про вплив стероїдних гормонів на когнітивні функції під час старіння, хірургічної менопаузи та на тлі розвитку цукрового діабету залишаються нез'ясованими.

**Метою** нашого дослідження було вивчити вплив статевих гормонів на стан проокисно-антиоксидантної системи у оварієктомованих, старих і щурів з експериментальним цукровим діабетом.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведено на 40 безпородних статевозрілих самках щурів 4-5 місяців вагою 200-220 гр. і 20 місяців вагою 300-320 гр. Тварини містилися в умовах віварію при звичайному світловому режимі, з вільним доступом до води і стандартному харчовому раціоні. Тварини поділялися на кілька груп: контрольна група 4-5 місячних, які піддавалися хірургічній операції, досліджувані групи: 4-5 місячних оварієктомованих, і з експериментальним цукровим діабетом, тривалістю 2 місяці, і група 20 місячних щурів, у яких відсутні естральні цикли, а також група старих щурів із експериментальним цукровим діабетом.

Оварієктомію проводили за методом Я.М. Кабака. Робили розріз шкіри в ділянці попереку, потім робили надріз в черевну порожнину, через розріз витягали яєчник з яйцепроводом і верхню частину рога матки, після чого видаляли і повторювали цю процедуру з іншого боку [8]. Хірургічне втручання проводилося під загальним каліпсоловим наркозом, 0,75 мг / кг маси тіла вводили внутрішньоочередно.

Експериментальний цукровий діабет 2-го типу відтворювали шляхом внутрішньом'язового введення протаміну сульфату в дозі 15 мг/кг двічі на день протягом 2 тижнів. Через 2 і 4 тижні після закінчення введення протаміну досліджували сироватку крові і встановили наявність гіперглікемії [9].

Для оцінки інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів у гомогенатах досліджуваних структур мозку (поля гіпокампу CA<sub>1</sub>, CA<sub>2</sub>, CA<sub>3</sub>) визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК) та малонового альдегіду (МА). Стан антиоксидантного захисту оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ) та глутатіонпероксидази (ГПО).

Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням пакета прикладних програм ("StatSoft" США та "Stat Graf"). Для оцінки відмінностей середніх величин при нормальному характері розподілу вибірових сукупностей використовували параметричний t-критерій Стьюдента. Статистично достовірними вважали зміни при  $P \leq 0,05$ .

Експериментальні втручання та евтаназія тварин проводилися з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребет-

них тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

#### Результати дослідження та їх обговорення.

Кількісні результати досліджень представлені в таблицях у вигляді значень середніх арифметичних величин та їх стандартних похибок.

У полі гіпокампу СА<sub>1</sub> (Таб.1) у щурів з оварієктомією відбувається достовірне зростання рівня продуктів ПОЛ: рівень ДК зростає в 1,13 рази, а МА – в 1,09 рази на тлі зниження активності СОД в 1,17 рази, КТ – в 1,31. У щурів з оварієктомією в поєднанні з ЦД порівняно з тваринами контрольної групи

зростає рівень ДК і МА в 1,26 і в 1,4 рази, відповідно. Активність ферментів АОЗ знижується: СОД в 1,44 рази, КТ в 2,04 рази. У старих щурів ДК зростають в 1,23 рази, МА в 1,05 рази, у старих щурів на тлі ЦД рівень ДК зростає в 1,32 рази, а рівень МА знижується в 1,22 рази. Активність АОЗ достовірно знижується у старих щурів відносно контрольної групи; СОД і КТ в 1,13 та 1,22 рази, ГПО в 1,3 рази. Цукровий діабет у старих тварин погіршує антиоксидантний захист, рівень КТ знижується в 1,89 рази, а СОД в 1,32 рази, ГПО в 1,59 рази.

Таблиця 1

#### Вплив оварієктомії та цукрового діабету на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у полі СА<sub>1</sub> гіпокампу мозку щурів різного віку (M±m, n=8)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	Дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	Малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	Супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	Каталази (мкмоль/хв·мг білка)	Глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Щури 4-5 місяців хібно оперовані	7,15±0,18	4,89±0,14	7,71±0,35	2,07±0,22	5,36±0,61
Щури 4-5 місяців з оварієктомією	8,14±0,23 P<0,05	5,34±0,14 P<0,05	6,56±0,34 P<0,05	1,57±0,05 p<0,05	4,36±0,46 P<0,01
Щури 4-5 місяців з оварієктомією і з ЦД	9,03±0,34 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	6,89±0,27 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	5,34±0,25 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	1,01±0,06 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	3,51±0,49 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01
Щури 20 місяців	8,83±0,35 P<0,05	5,17±0,19 p<0,005	6,78±0,45 P<0,01	1,69±0,29 P<0,01	4,08±0,24 P<0,01
Щури 20 місяців і з ЦД	9,47±0,34 P<0,005	4,05±0,23 p<0,05	5,89±0,26 p<0,005	1,09±0,29 p<0,005	3,36±0,24 p<0,005

**Примітка:** тут та в інших таблицях – достовірність показників p – відносно тварин хібно оперованих, p<sub>1</sub> – відносно тварин з оварієктомією, p<sub>2</sub> – відносно тварин з оварієктомією та цукровим діабетом, p<sub>3</sub> – відносно тварин 20 місячних.

У полі гіпокампу СА<sub>2</sub> (Таб.2) спостерігаються зростання рівнів продуктів пероксидації і зниження ферментів АОЗ, але ці процеси менш виражені, ніж у полі СА<sub>3</sub>. Оварієктомія та її поєднання з ЦД викликали зростання рівня ДК і МА в 1,13 і 1,40 рази і в 1,67 і 1,71 рази, відповідно, при зниженні активності СОД і КТ в 1,26 і 1,55 рази та 1,6 і 1,84 рази, при незмінній активності ГПО. У старих щурів рівень ДК і МА зро-

став в 1,14 і 1,13 рази, відповідно, а активність СОД та КТ знижувалась в 1,11 і 1,56 рази, відповідно. ЦД у старих щурів викликав виснаження проокисно-антиоксидантної системи і став причиною зниження рівня МА в 1,08 рази при зниженні активності СОД в 1,75, КТ в 2,31 і ГПО 1,65 рази. В усіх групах дослідження дані мали достовірну різницю.

Таблиця 2

#### Вплив оварієктомії та цукрового діабету на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у полі СА<sub>2</sub> гіпокампу мозку щурів різного віку (M±m, n=8)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	Дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	Малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	Супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	Каталази (мкмоль/хв·мг білка)	Глутатіонпероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Щури 4-5 місяців хібно оперовані	8,94±0,42	6,47±0,43	8,91±0,22	2,27±0,12	5,56±0,54
Щури 4-5 місяців з оварієктомією	10,16±0,32 P<0,05	9,12±0,17 P<0,05	7,05±0,15 P<0,05	1,46±0,05 p<0,05	5,01±0,27 P<0,01
Щури 4-5 місяців з оварієктомією і з ЦД	14,95±0,36 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	11,09±0,17 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	5,57±0,42 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	1,23±0,06 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	4,84±0,19 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01
Щури 20 місяців	9,35±0,23 P<0,05	7,34±0,24 p<0,005	7,98±0,45 P<0,01	1,45±0,09 P<0,01	3,98±0,14 P<0,01
Щури 20 місяців і з ЦД	10,34±0,26 P<0,005	6,34±0,12 p<0,005	5,09±0,16 p<0,005	0,98±0,04 p<0,005	3,36±0,17 p<0,005

Найбільше посилення пероксидації і зниження активності ферментів антиоксидантного захисту (АОЗ) спостерігається в полі  $CA_3$  гіпокампу (Таб. 3). У полі  $CA_3$  у щурів з оварієктомією відбувається достовірне зростання рівня продуктів ПОЛ: рівень ДК зростає в 1,29 рази, а МА – в 1,43 рази на тлі вірогідного зниження активності ферментів АОЗ: активність СОД знижується в 1,38 рази, КТ в 1,31 і ГПО в 1,22 рази. У щурів із оварієктомією на тлі розвитку ЦД порівняно з тваринами контрольної групи зростає рівень ДК і МА в 1,62 і в 1,58 рази, відповідно. Активність ферментів АОЗ продовжує тенденцію до дос-

товірного зниження: СОД знижується в 1,58 рази, КТ в 2 рази і ГПО в 1,2 рази. У старих щурів ДК зростають в 1,14 рази, МА в 1,17 рази, у старих щурів на тлі ЦД рівень ДК зростає в 1,26 рази, а рівень МА знижується в 1,08 рази. Активність АОЗ достовірно знижується у старих щурів відносно контрольної групи; СОД і КТ в 1,2 рази, ГПО в 1,5 рази, але ці значення залишаються вищими, ніж у тварин з оварієктомією. Цукровий діабет у старих тварин погіршує антиоксидантний захист, рівень КТ знижується в 2 рази, а СОД в 1,64 рази.

Таблиця 3

**Вплив оварієктомії та цукрового діабету на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у полі  $CA_3$  гіпокампу мозку щурів різного віку ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )**

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	Дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	Маленового альдегіду (нмоль/мг білка)	Супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	Каталази (мкмоль/хв·мг білка)	Глутатіонпероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Щури 4-5 місяців хибно оперовані	9,45±0,23	6,56±0,27	9,71±0,40	2,07±0,22	5,36±0,61
Щури 4-5 місяців з оварієктомією	12,25±0,45 P<0,05	9,39±0,23 P<0,05	7,14±0,23 P<0,05	1,57±0,05 p<0,05	4,36±0,46 P<0,01
Щури 4-5 місяців з оварієктомією і з ЦД	15,23±0,58 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	10,43±0,34 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	6,17±0,45 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	1,01±0,06 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01	3,51±0,49 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,01
Щури 20 місяців	10,82±0,33 P<0,05	7,71±0,16 p<0,005	7,07±0,39 P<0,01	1,69±0,29 P<0,01	4,28±0,24 P<0,01
Щури 20 місяців і з ЦД	11,95±0,53 P<0,005	6,05±0,19 p<0,05	5,89±0,26 p<0,005	1,09±0,29 p<0,005	3,36±0,24 p<0,005

**Обговорення результатів.** Результати дослідження впливу вікового зниження рівня естрогенів на тлі ЦД вказують на виснаження проокисно-антиоксидантної системи і супроводжуються як зниженням рівня МА, так і активності СОД і КТ, і свідчать про перехід на якісно новий нижчий рівень функціонування, в умовах порушеного кровопостачання і зниженого забезпечення киснем [10].

Літературні дані вказують, що активність СОД, яка є ключовим ферментом АОЗ, на ранніх етапах утворення вільних радикалів, після незначного підйому адаптивного характеру знижується майже в 2 рази [10, 11]. У наших дослідженнях рівень СОД знижувався у всіх полях гіпокампу, особливо у полі  $CA_3$ . Це зниження зумовлено інактивацією ферменту із-за його глікірування і фрагментації, і прискоренням функціонального зношування при надлишковій генерації АФК. Із даних літератури відомо, що на відміну від СОД, зменшення активності ГПО відмічається на 90 добу ЦД. ГПО в тканині мозку міститься у всіх тканинних органах і здійснює антиперекисний захист. Зменшення активності ГПО зумовлено окислювальною модифікацією ферменту в умовах некомпенсованого окисного стресу. Вона може лімітуватись наростанням дефіциту глутатіону. Регенерація глутатіону лімітується дефіцитом НАДРН із-за підсилення його використання при активації поліолового шляху метаболізму глюкози при ЦД. Таким чином, в тканині головного мозку за умов розвитку ЦД прогресують прояви окислювального стресу [11]. Активність ГПО в полях гіпокампу мала тенденцію до зниження, але

тривалість експериментального діабету в наших дослідженнях складала 2 місяці, і ці показники були нижчими, ніж зниження КТ і СОД.

Отримані дані про активацію процесів ПОЛ і зниження АОЗ після оварієктомії і вікового зниження естрогенів у старих тварин узгоджуються з даними літератури щодо структурних змін, особливо в полі гіпокампу  $CA_3$ , які виражаються в зниженні щільності розташування нейронів і дегенеративних структурних змінах [12]. Поєднання оварієктомії, віку на тлі розвитку ЦД супроводжується зростанням генерації АФК і підсиленням ПОЛ, ці процеси полегшуються тим, що індуковані гіперглікемією процеси глікірування білків, спряжені з автоокисленням, а зв'язування кінцевих продуктів глікірування з рецепторами відбувається в клітинах нервової системи. Відомо, що саме гіпокамп є відділом мозку, особливо чутливим до ішемічних ушкоджень, травм головного мозку, діабету, ожиріння, гіпертензії [13]. Ультраструктурні дослідження встановили наявність естрогенових рецепторів  $\alpha$  і  $\beta$  в мускарін- і нікотин-чутливих холинєргічних нейронах кори головного мозку і гіпокампу [6, 14].

Наростання пероксидації після оварієктомії і вікове зниження естрогенів пов'язане з антиоксидантною дією естрогенів, яка обумовлена гідроксифенольною структурою. Завдяки здатності віддавати атом водню від фенольної гідроксильної групи пероксирадикала ліпідів естрадіол здатний переривати ланцюг реакцій на фосфоліпідах клітинної мембрани. Другий механізм антиоксидантної дії пов'язаний зі здатністю

естрадіолу стимулювати клітинні антиоксидантні ферменти [3, 15].

При ЦД астроцити пошкоджуються сильніше, хоча є більш стійкими до окислювального стресу за рахунок вмісту глутатіону. Ситуація ускладнюється розвитком в астроцитах дефіциту енергії, який зумовлений порушенням інсулінзалежного транспорту глюкози, на відміну від нейронів, де інсуліннезалежний транспорт глюкози. У нейронах і олігодендроцитатах реалізація процесів цитопатології запізнюється. Досягнення рівня окислення в окремих клітинах змінює окисно-відновний потенціал, що активізує фактори транскрипції (FT  $\kappa\beta$ ) і запускає механізми апоптозу. Одночасно з'являються ознаки некрозу клітин. Пошкодження в нейронах пов'язано із втраченою підтримки їх астроцитами, які сильно залучені в оксидативний стрес [10, 16, 17]. Отримані нами дані щодо впливу оварієктомії і вікових змін на тлі розвитку ЦД узгоджуються з даними літератури і вказують на поглиблення процесів пероксидації.

**Висновки.** Наростання пероксидації після оварієктомії і вікове зниження естрогенів пов'язане з антиоксидантною дією гормонів, яка залежить від здатності естрадіолу стимулювати клітинні антиоксидантні ферменти. Поєднання оварієктомії, віку та цукрового діабету супроводжується підсиленням перекисного окиснення ліпідів і зниженням антиоксидантного захисту. Поєднання вікових змін посиленої пероксидації і зниження антиоксидантного захисту на тлі розвитку цукрового діабету супроводжується виснаженням проокисно-антиоксидантної системи.

#### References:

1. Pozdnyakova AA, Volodina MA, Rshtuni SD, Marchenko LA, Vysokikh MYu. Mitochondrial dysfunction as one of the possible reasons for the development of follicular and steroidogenesis disorders in the ovaries of ovariectomized rats. *Praktykum po endokrinologii*. 2015;41(9):55-65.
2. Waters EM, Mazid S, Dodos M, Puri R, Janssen WG, Morrison JH, McEwen BS, Milner TA. Effects of estrogen and aging on synaptic morphology and distribution of phosphorylated Tyr1472 NR2B in the female rat hippocampus. *Neurobiol Aging*. 2018;73:200-210.
3. Heemann FM, da Silva AC, Salomon TB, Putti JS, Engers VK, Hackenhaar FS, Benfato MS. Redox changes in the brains of reproductive female rats during aging. *Exp Gerontol*. 2017; 87(Pt A):8-15.
4. Antimonova OI, Galkina OV, Morozkina SN, Shavva AG. Steroidnyye estrogeny kak antioksidanty. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta*. 2012;3:79-95.
5. Popkov VA, Plotnikov EYu, Silachev DN, Zorova LD, Pevzner IB, Yankauskas SS, Zorov SD, Babenko VA, Zorov DB. Bolezni i starenije: vliyaniye pola. *Biokhimiya*. 2015;12(80):1817-1829.
6. Almey A, Milner TA, Brake WG. Estrogen receptors in the central nervous system and their implication for dopamine-dependent cognition in females. *Horm Behav*. 2015;74:125-38. doi: 10.1016/j.yhbeh.
6. Kaidah S, Soejono K, Partadiredja G. Exercise improves hippocampal estrogen and spatial memory of ovariectomized rats. *Bratisl Lek Listy*. 2016;117(2):94-9.
7. Kabak YaM. *Praktikum po endokrinologii*. - M.: Izdvo MGU. 1968. P. 25-28.
8. Vit VV, Tsiselskaya OYu, Tsiselskiy YuV, Levitskiy AP. Patologicheskiye izmeneniya setchatki glaza kryz pri eksperimentalnom sakharnom diabete 2 tipa i ikh korraktsiya oralnymi gelyami s biologicheskimi aktivnymi veshchestvami. *Oftalmologiya*. 2013;4(10):49-52.
9. De Felice FG, Ferreira ST. Inflammation, defective insulin signaling, and mitochondrial dysfunction as common molecular denominators connecting type 2 diabetes to Alzheimer disease. *Diabetes*. 2014;(63):2262-72.
10. Slopian R, Wender-Ozegowska E, Rogowicz-Frontczak A, Meczekalski B, Zozulinska-Ziolkiewicz D, Jaremek JD, Cano A, Chedraui P, Goulis DG, Lopes P, Mishra G, Mueck A, Rees M, Senturk LM, Simoncini T, Stevenson JC, Stute P, Tuomikoski P, Paschou SA, Anagnostis P, Lambrinoudaki I. *Maturitas. Menopause and diabetes: EMAS clinical guide*. 2018;117:6-10.
11. Timofiychuk IR, Savchuk TP, Shvets VI, Slobodyan KV, Slobodyan OM. Effect of estrogens on the fluorescence intensity of catecholamines in the limbic-hypothalamic structures of the brain. *Georgian medical news* 2018; 9(282):150-156.
12. Pandey SP, Singh HK, Prasad S. Alterations in Hippocampal Oxidative Stress, Expression of AMPA Receptor GluR2 Subunit and Associated Spatial Memory Loss by Bacopa monnieri Extract (CDRI-08) in Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus Type 2 Mice. 2015;10(7):e0131862.
13. Semenova NV. Okislitelnyy stress i menopauza (obzor literatury). *Byulleten VSNTs SO MNTs RAMN*. 2014;2(96):140-150.
14. Dron AN, Karpova IA, Chernova AM. Effekty polovykh steroidov na svobodnoradikalnoye okisleniye lipidov u zhenshchin. *Meditinskaya nauka i obrazovaniye Urala*. 2013;1:177-180.
15. Ashok Kumar, Linda A. Bean, Asha Rani, Travis Jackson, Thomas C. Foster. Contribution of estrogen receptor subtypes, ER $\alpha$ , ER $\beta$ , and GPER1 in rapid estradiol-mediated enhancement of hippocampal synaptic transmission in mice. *Hippocampus*. 2015;25(12):1556-1566.

УДК 612.018.2:612.826/.828.062

#### ВЛИЯНИЕ ЭСТРОГЕНОВ НА ПРООКСИЛИТЕЛЬНО-АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ ЛИМБИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

И.Р. Тимофийчук, С.Б. Семенов, Т.П. Савчук, О.И. Юрков, К.В. Слободян

*Буковинский государственный медицинский университет, кафедра физиологии имени Я.Д. Кириенблата, г. Черновцы, Украина, ORCID ID: 0000-0003-2617-9697, ORCID ID: 0000-0002-6124-1938, ORCID ID: 0000-0002-1782-1812, e-mail: inga10051973@ukr.net*

**Резюме.** Процесс старения сопровождается изменением гормонального баланса. С возрастом происходит рост образования свободных радикалов, токсическое действие которых сопровождается сни-

жением активности антиоксидантных ферментов. Подавление эстрогеном хронического окислительного стресса защищает нейрон от митохондриальной дисфункции. Менопауза у женщин старшей возрастной группы имеет определенное влияние на повышение распространенности сахарного диабета, а хроническая гипергликемия участвует в патогенезе окислительного стресса. Целью нашего исследования было изучить влияние половых гормонов на состояние проокислительно-антиоксидантной системы у овариэктомированных, старых и крыс с экспериментальным сахарным диабетом.

Исследование проводилось на 40 половозрелых крысах самках 4-5 месяцев и 20 месяцев. Исследуемым группам проводили овариэктомию и воспроизводили экспериментальный сахарный диабет 2 типа введением протамин сульфата. Для оценки интенсивности перекисного окисления липидов в полях гиппокампа CA<sub>1</sub>, CA<sub>2</sub>, CA<sub>3</sub> определяли содержание диеновых конъюгатов и малонового альдегида. Состояние антиоксидантной защиты оценивали по активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы. Овариэктомию вызвала рост уровня продуктов перекисного окисления липидов и снижение активности антиоксидантных ферментов во всех полях гиппокампа, с преобладанием этих процессов в поле CA<sub>3</sub>. Тенденция к усилению пероксидации сохранялась на фоне развития сахарного диабета. Результаты исследования влияния возрастного снижения уровня эстрогенов на фоне СД указывают на истощение проокислительно-антиоксидантной системы и свидетельствуют о переходе на более низкий уровень функционирования в условиях нарушенного кровоснабжения и пониженного обеспечения кислородом.

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, эстрогены, сахарный диабет.

UDC 612.018.2:612.826/828.062

### INFLUENCE OF ESTROGENES ON THE OXIDATIVE-ANTIOXIDANT SYSTEM OF LIMBIC SYSTEM OF THE BRAIN

I.R. Timofiychuk, S.B. Semenenko, T.P. Savchuk,  
O.I. Yurkiv, K.V. Slobodian

*Bukovinian State Medical University, Department of Physiology named after Y.D. Kirsensblatt, Chernivtsi, Ukraine,  
ORCID ID: 0000-0003-2617-9697,  
ORCID ID: 0000-0002-6124-1938,  
ORCID ID: 0000-0002-1782-1812,  
e-mail: inga10051973@ukr.net*

**Abstract.** The aging process is accompanied with changes in hormonal balance and the reorganization of the functional brain systems.

**Substantiation of the topic.** With age there is an increase in the formation of free radicals, which provokes multiple dysfunction of signaling pathways. The toxic

effect of free radicals is accompanied by a decrease in the activity of antioxidant enzymes. Such changes are a necessary biochemical component of neurodegenerative diseases. The inhibition of estrogen by chronic oxidative stress protects the neuron from mitochondrial dysfunction and inhibits cell aging. Menopause in older women has a definite influence on the prevalence of diabetes mellitus, and chronic hyperglycemia is involved in the pathogenesis of oxidative stress.

**The purpose of the study** was to investigate the influence of sex hormones on the state of the prooxidative antioxidant system in ovariectomized, elderly, and rats with experimental diabetes mellitus.

**Materials and methods.** The study was conducted on 40 sexually mature female rats of 4-5 months and 20 months old. Animals were divided into several groups: a control group of 4-5 months, the study groups: 4-5 month ovariectomized, and with experimental diabetes mellitus, and a group of old rats, and with experimental diabetes. Ovariectomy was performed using the method of Y.M. Shynka. Experimental type 2 diabetes mellitus was reproduced by intramuscular administration of 15 mg / kg of protamine sulphate twice daily for 2 weeks.

The content of diene conjugates (DK) and malonic aldehyde (MA) was determined for the evaluation of the intensity of peroxide oxidation of lipids in the homogenates of the brain structures under investigation (the fields of the hippocampus CA<sub>1</sub>, CA<sub>2</sub>, CA<sub>3</sub>). The state of antioxidant protection was assessed by the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (KT) and glutathione peroxidase (GPO).

**Results and discussion.** Ovariectomy caused an increase in the levels of lipid peroxidation and decreased activity of antioxidant enzymes in all areas of the hippocampus, with the predominance of these processes in the field of CA<sub>3</sub>, which is consistent with the literature data on structural changes that are expressed in decreasing the density of the location of neurocytes and degenerative structural changes. The tendency to increase peroxidation was maintained against the backdrop of developing diabetes mellitus. The results of the study of the influence of age on the reduction of estrogen levels on the background of diabetes indicate an extinction of the oxidative-antioxidant system and indicate a transition to a lower level of functioning, in conditions of impaired blood supply and reduced oxygen supply.

**Conclusions.** The increase in peroxidation after ovariectomy and the age-related decrease in estrogen is due to the antioxidant effect of hormones, which depends on the ability of estradiol to stimulate cellular antioxidant enzymes. The combination of ovariectomy, age, and diabetes is accompanied by an increase in lipid peroxidation and a decrease in antioxidant defense. The combination of age-related changes in enhanced peroxidation and the reduction of antioxidant defense against the background of diabetes mellitus is accompanied by depletion of the prooxidation-antioxidant system.

**Keywords:** lipid peroxidation, antioxidant defense, estrogen, diabetes mellitus.

Стаття надійшла в редакцію 22.11.2018.p.