

## Антиоксидантні та кардіопротективні властивості тамоксифену цитрату за умов гіпоксичного пошкодження кардіоміоцитів

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** гіпоксія, кардіоміоцити, тамоксифену цитрат, цитопротекція

Серцево-судинні захворювання ви-кликають майже 40 % усіх випадків смертей серед населення більшості розвинутих країн Європи. Сьогодні в Україні хвороби системи кровообігу зумовили понад 64 % випадків усіх смертей [1]. Ці обставини зумовлюють актуальність пошуку нових високо-ефективних кардіопротективних лікарських засобів. Перспективним напрямом у створенні нових цитопротективних препаратів, що застосовуються при гіпоксичному ураженні клітин, є пошук сполук, здатних індукувати фактори ендогенної цитопротекції (HSP та HIF- білки, NO) [2, 3]. Низкою експериментальних робіт останнього десятиріччя продемонстровано здатність естрогенів проявляти цитопротективні ефекти в нервових клітинах, гепатоцитах та кардіоміоцитах за умов їхнього ішемічного пошкодження. Важливо зазначити, що протягом останніх десяти років активно розвивається концепція щодо впливу статевих стероїдів на функціональний стан усіх органів і систем, у тому числі на серцево-судинну систему, що сприяє подальшому та поглибленому вивченню протективних ефектів стероїдних гормонів на серцево-судинну систему за умов різноманітних патологічних станів [4–6].

Так, низкою експериментальних досліджень встановлено здатність естрогенів за умов гіпоксичного пошкодження серцевого м'яза *in vitro* та *in vivo* підсилювати синтез усіх фракцій РНК, підвищувати кількість рибосом, стимулюючи тим самим синтез білка в кардіоміоцитах [4, 6, 7]. Паралельно з цим встановлено енерготропні ефекти

естрогенів, а також їхню здатність обмежувати розвиток мітохондріальної дисфункції та активувати компенсаторний малат-аспартатний шунт продукції енергії в разі гіпоксичного ураження клітин. Крім того, за джерелами літератури, естрогени відносять до «прямих» антиоксидантів, які здатні безпосередньо інактивувати радикали  $RO^2$  та обмежувати розвиток оксидативного та нітрозуючого стресу [8, 9]. Подібні біологічні ефекти естрогенів, на нашу думку, є важливими, оскільки здатні обмежувати розвиток патобіохімічних змін при типових патологічних процесах у клітинах. Дані щодо антиоксидантної активності саме модуляторів естрогенових рецепторів натепер не систематизовані, та попередні дослідження мали поодинокий характер.

Враховуючи те, що застосування естрогенів для фармакокорекції патології серцево-судинної системи обмежене їхньою прямою гормональною активністю, принциповим є дослідження вищезазначених ефектів у селективних модуляторів естрогенових рецепторів (SERM) порівняно з природним агоністом естрогенових рецепторів – естрадіолу валератом.

**Мета дослідження** – оцінити антиоксидантні та цитопротективні ефекти тамоксифену цитрату за умов гіпоксичного пошкодження кардіоміоцитів *in vitro*.

**Матеріали та методи.** Експериментальна частина виконана на статевозрілих білих нелінійних щурах самця масою 190–230 г. Тварини отримані з ПП «Біомодельсервіс», м. Київ. Усі маніпуляції з тваринами виконувалися під тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг/кг внутрішньочеревинно) [10, 11]. Гіпоксію *in vitro* моделювали шляхом внесення в суспензію кардіоміоци-

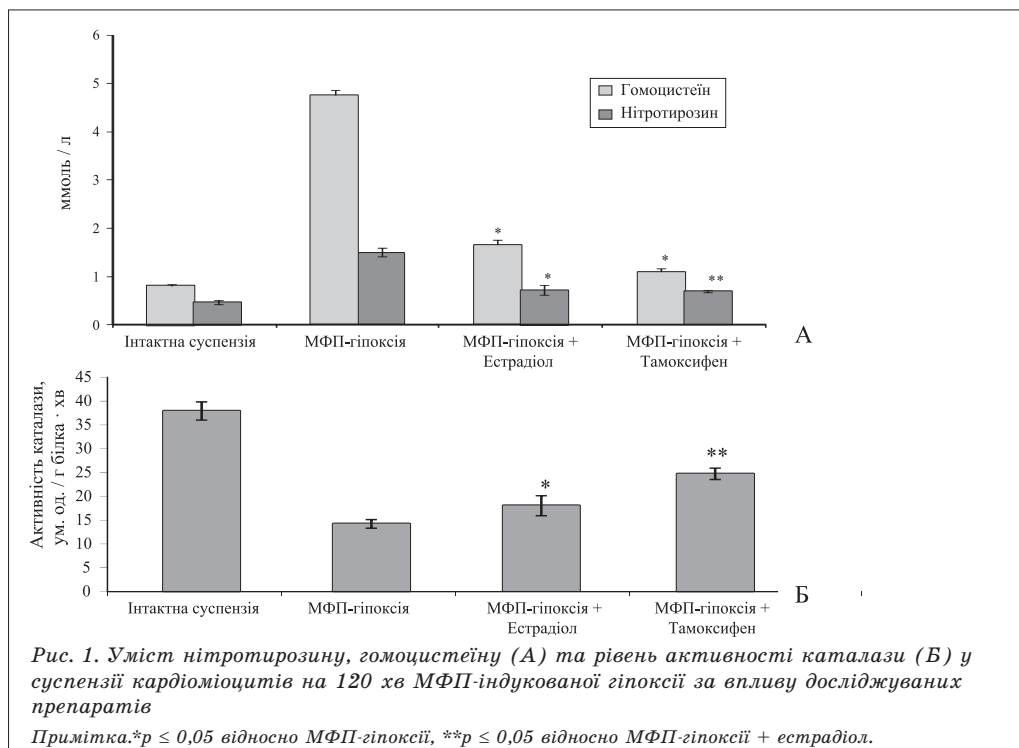
тів роз'єднувача тканинного дихання – 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридину (МФП) у концентрації 0,6 мкмоль/л [11]. З цієї метою подрібнені шматочки міокарда розміром 1–2 мм<sup>3</sup> вносили в буферний розчин об'ємом 7 мл, який містив 0,3 моль/л сахарози, 250 мкмоль/л ЕДТА, 5 ммоль/л трис, рН 7,4, додавали 0,6 мкмоль/л МФП та інкубували 120 хв при температурі 20 °С. Досліджувані препарати – селективний модулятор естрогенових рецепторів тамоксифену цитрат («Гаунг Фарма Амарег Гмбх», Німеччина, серія № 52093Д) та агоніст естрогенових рецепторів естрадіолу валерат («Дельфарм Лілль С.А.С.», Франція, серія № EF3300) вносили в інкубаційне середовище в концентрації  $ES_{50} = 10^{-7}$  моль/л, яка була встановлена в наших попередніх дослідженнях [5, 6, 9]. Стан прота антиоксидантної системи оцінювали за допомогою імуоферментного визначення вмісту нітротирозину «Nitritirosin» (ELISA Kit «Nucult biotechnology b.v.»), гомоцистеїну «Homocysteine» («Axis-Shield Diagnostics») та спектрофотометричного визначення активності каталази [10, 11]. Оцінку цитопротективних ефектів препаратів проводили за допомогою електронно-мікроскопічних досліджень. Суспензію кардіоміоцитів фіксували в 3 % розчині глутаральдегіду та за стандартною схемою заливали в епоксидну смолу Епон-812 та робили серійні ультратонкі зрізи.

Експериментальні серії суспензій:

- інтактна (інкубація суспензії кардіоміоцитів 120 хв без додавання МФП),  $n = 10$ ;
- контрольна (120-хв інкубація з МФП),  $n = 10$ ;
- МФП-гіпоксія + естрадіолу валерат (120-хв інкубація з МФП з додаванням  $10^{-7}$  моль/л естрадіолу),  $n = 10$ ;
- МФП гіпоксія + тамоксифену цитрат (120-хв інкубація з МФП з додаванням  $10^{-7}$  моль/л тамоксифену),  $n=10$ .

Статистичну обробку результатів проводили з використанням програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). Достовірність відмінностей проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента [12].

**Результати та їх обговорення.** Проведеними експериментальними дослідженнями встановлено, що моделювання гіпоксії кардіоміоцитів *in vitro* призводило до інтенсифікації оксидативного та нітрозуючого стресів, про що свідчить суттєве збільшення вмісту маркера оксидативного пошкодження білків – нітротирозину (більше ніж на 68 %) та цитотоксичної сполуки – гомоцистеїну (на 83 %). Важливо зазначити, що ці процеси проходили на тлі значного (понад 63 %) падіння активності ключового ензиму антиоксидантного захисту – каталази (рис. 1). Подібна зміна активності каталази пояснюється зривом компенсаторно-приспосувальних механізмів клітини на 120 хв гіпоксії, що є характерним для цієї моделі гіпоксії та співпадає з даними інших дослідників. Патобіохімічні реакції за умов МФП-індукованої гіпоксії супроводжувалися деструктивними ультраструктурними змінами. Так, на 120 хв гіпоксії *in vitro* кардіоміоцити вміщували багато органел, пошкоджених за вакуолярно-літичним типом (рис. 2). Органели парануклеарної локалізації були представлені низькоенергетичними мітохондріями невеликого розміру зі світлим матриксом та невпорядкованими кристами. Серед змінених органел зустрічалися мітохондрії з ознаками перевантаження: ділянки нерівномірного просвітлення матриксу, з явищами руйнування крист. Основна частина мітохондрій була представлена органелами з незворотними пошкодженнями, з явищами перевантаження. Іноді зустрічалися мітохондрії гігантських розмірів за рахунок різкого набряку матриксу. Крім того, було зареєстровано невелику кількість міжмітохондріальних контактів протяжністю від 50 до 150 нм (рис. 2). Подібна вираженість морфологічних змін кардіоміоцитів безпосередньо пов'язана, на нашу думку, зі значним приростом вмісту гомоцистеїну, оскільки широко відома роль цього маркера в процесах трансметилування ДНК, білків. Наслідками гіпометилування ДНК є нестабільність хромосом, що сприяє мутагенезу, порушенню генної експресії та запуску процесів загибелі клітини. У свою чергу гіпометилування білкових



молекул призводить до зміни функціональної активності білків, особливо білків дихального ланцюга мітохондрій, призводячи до розвитку вторинної мітохондріальної дисфункції та стійкого енергодефіциту кардіоміоцитів, що теж вносить певний внесок у процеси клітинної загибелі [13–15].

Відомо, що за умов ішемічного пошкодження клітин порушується експресія генів шаперонів та фолдинг білків. Регуляторні протеїни клітини, особливо мітохондріальні, внаслідок їхньої окисної модифікації змінюють свою конформацію, що призводить до порушення функціонування білкового апарату мітохондрій, циклу окисного фосфорилювання, порушення імпорту мітохондріальних білків з цитоплазми та до ще більшого накопичення АФК [16, 17]. Внесення до інкубаційного середовища тамоксифену цитрату та естрадіолу валерату призводило, як видно на рисунку 1, до зменшення інтенсивності оксидативного стресу, що проявлялося зменшенням умісту в суспензії кардіоміоцитів нітротирозину – у середньому на 53 % та гомоцистеїну – у середньому на 70 % відносно суспензії з МФП-індукованою гіпоксією. Разом з цим від-

бувалася нормалізація активності каталази, особливо на тлі внесення тамоксифену, що, на нашу думку, зумовлено здатністю досліджуваних препаратів зменшувати накопичення гомоцистеїну, нормалізуючи тим самим процеси метилювання білків. Позитивна дія досліджуваних препаратів на стан антиоксидантної системи кардіоміоцитів проявлялася покращанням морфологічних характеристик клітин. Так, на тлі внесення в суспензію кардіоміоцитів естрадіолу та тамоксифену були зафіксовані мітохондрії з вакуолярним типом

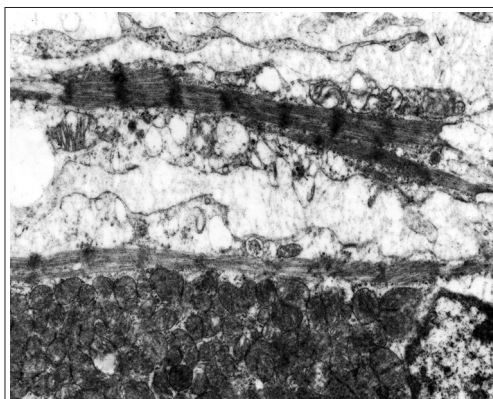


Рис. 2. Ділянка кардіоміоциту з МФП-індукованою гіпоксією *in vitro*, 120 хв. Електронограма  $\times 6000$

пошкодження, без ознак руйнування зовнішніх мембран, з помірним кристалізом та електронно-світлим матриксом. Паралельно з цим було зафіксовано значно активніше, ніж у серії з МФП-індукованою гіпоксією *in vitro*, новоутворення мікромітохондрій. У структурі зовнішньої мембрани пошкоджень не спостерігали. Крім того, було виявлено невелику кількість набряклих мітохондрій зі зруйнованими кристами та зонами просвітлення матриксу. Органели клітин мали помірний електронно-щільний матрикс. Міжмітохондріальні контакти виявлялися у значній кількості. Важливо зазначити, що при внесенні в суспензію кардіоміоцитів тамоксифену спостерігали велику кількість мікромітохондрій високоенергетичного типу, на відміну від серії кардіоміоцитів з внесенням естрадіолу, в якій реєстрували виключно низькоенергетичні новоутворені органели (рис. 3).

Раніше нами було встановлено антиоксидантну та церебропротективну дію модуляторів естрогенових рецепторів – тамоксифену цитрату та естрадіолу валерату, що реалізується, у першу чергу, за рахунок їхньої прямої антиоксидантної дії [6, 9]. Разом з тим, естрадіол та тамоксифен здатні підвищувати вміст у клітинах HSP-білків, що пов'язано з їхніми геномними та позагеномними ефектами. Відомо, що за умов гіпоксії HSP-білки здатні обмежувати молекулярні порушення у клітині шляхом дезагрегації аномальних білкових агрегатів та знищувати незворотно пошкоджені білки. HSP-білки підвищують потужність антиоксидантних ферментів та зменшують пошкоджуючі ефекти надлишку кальцію в клітині за рахунок зв'язування рецептора до кальцію – кальмодуліну [4, 6, 9]. Крім того, почали з'являтися дані щодо можливості HSP-білків блокувати гіперпродукцію оксиду азоту. Значущість цього ефекту HSP визначається тим, що гіперпродукція NO зумовлює розвиток нітрозуючого стресу та накопичення цито- та геномотоксичного продукту нітрозуючого пошкодження білків – нітротирозину [6, 18, 19]. Більш виражена дія тамоксифену цитрату пояснюється певним чином його здатністю впливати на експресію

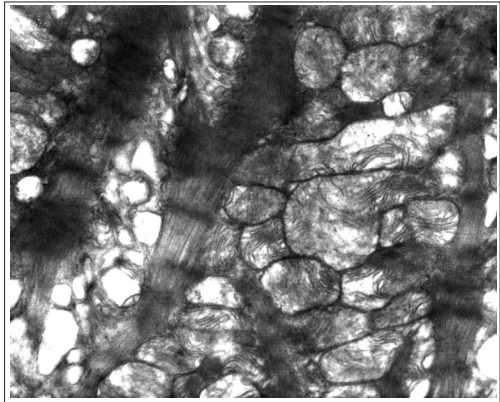


Рис. 3. Ділянка кардіоміоциту з МФП-індукованою гіпоксією *in vitro* та внесенням тамоксифену цитрату ( $10^{-7}$  моль/л), 120 хв. Електронограма  $\times 12000$

глобальних факторів транскрипції, зокрема AP-1, який є відповідальним за синтез ключових ензимів антиоксидантної та тіол-дисульфідної систем, що було продемонстровано вітчизняними та закордонними дослідниками [4, 6].

Таким чином, встановлені нами ефекти модуляторів естрогенових рецепторів зумовлюють подальшу перспективність досліджень у цьому напрямі з метою встановлення молекулярних механізмів їхньої цитопротективної дії.

## Висновки

1. Моделювання гіпоксії кардіоміоцитів *in vitro* супроводжувалося характерними для гіпоксичного пошкодження клітини патобіохімічними (збільшення вмісту нітротирозину та гомоцистеїну; падіння активності каталази) та морфологічними змінами.
2. Внесення в інкубаційне середовище тамоксифену цитрату та естрадіолу валерату призводило до обмеження розвитку оксидативного та нітрозуючого стресів, відновлення активності каталази. Нормалізація біохімічних процесів у клітинах за умов гіпоксії сприяла покращанню морфологічних характеристик кардіоміоцитів.
3. За умов гіпоксії кардіоміоцитів дія досліджуваних препаратів була односпрямованою, але за силою ефектів тамоксифену цитрат статистично вірогідно перевищував показники естрадіолу валерату.

1. Коваленко В. М. Хвороби системи кровообігу у структурі смертності населення України: міфи і реальність / В. М. Коваленко, Ю. М. Сіренко А. П. Дорогой // Матеріали XIV Національного конгресу кардіологів України. – Київ, 2013.
2. Мойбенко О. О. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца / О. О. Мойбенко, В. Э. Досенко, О. М. Пархоменко. – Киев : Наук. думка, 2008. – 520 с.
3. Мохорт М. А. Препаративне лікування міокарда (огляд літератури) / М. А. Мохорт, Ю. М. Кутувий // Журнал НАМН України. – 2014. – Т. 20, № 2. – С. 160–171.
4. Павлов С. В. Вплив естрогенів та селективних модуляторів естрогенових рецепторів на серцево-судинну систему / С. В. Павлов, К. В. Левченко // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Вип. 2, Т. 130. – С. 40–43.
5. Беленичев И. Ф. Антиоксидантные и митотропные аспекты нейропротективного действия модулятора ER- $\beta$ -эстрогеновых рецепторов – тамоксифена в условиях острого нарушения мозгового кровообращения / И. Ф. Беленичев, С. В. Павлов // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2009. – Т. 5, № 1–2. – С. 18–23.
6. Pavlov S. Molecular and Biochemical Aspects of the Neuroprotective Effect of the Selective Estrogen Receptor Modulator Tamoxifen in a Model of Acute Cerebral Ischemia / S. Pavlov, I. Belenichev // Neurochemical Journal. – 2014. – V. 8, № 1. – P. 28–32.
7. Complex actions of sex steroids in adipose tissue, the cardiovascular system, and brain: Insights from basic science and clinical studies / J. L. Turgeon, M. C. Carr, P. M. Maki [et al.] // Endocrine reviews. – 2006. – V. 27. – P. 575–605.
8. The role of estrogen in cardiovascular disease / L. Baler, K. Meldrum, M. Wang [et al.] // J. Surg. Res. – 2003. – V. 115 (2). – P. 325–44.
9. Павлов С. В. Вплив селективних модуляторів естрогенових рецепторів на систему глутатіону при експериментальній ішемії головного мозку / С. В. Павлов // Медична хімія – 2011. – Т. 13 (49), №4. – С. 16–18.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) ; за ред. О. В. Стефанова. – Київ : ВД «Авіцена», 2002. – 527 с.
11. Чекман И. С. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов / И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев. – Киев : ДФЦ МОЗ Украины, 2010. – 81 с.
12. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : МОРИОН, 2002. – 640 с.
13. Павлов С. В. Вплив Цереброкуруину, тіотриазоліну та емоксипіну на глутатіоновий ланцюг тіол-дисульфідної системи мозку в умовах експериментального порушення мозкового кровообігу / С. В. Павлов, І. Ф. Беленічев // Медична хімія. – 2009. – № 3, Т. 11. – С. 26–33.
14. Павлов С. В. Мітопротективна дія тіольних антиоксидантів в умовах моделювання нітрозуючого стресу *in vitro* / С. В. Павлов // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2011. – № 2. – С. 95–97.
15. Coetzee W. A. Multiplicity of effectors of the cardioprotective agent, diazoxide / W. A. Coetzee // Pharmacol. Ther. – 2013. – V. 140, № 2. – P. 167–175.
16. Hypoxia-inducible factor 1 is required for remote ischemic preconditioning of the heart / Z. Cai, W. Luo, H. Zhan, G. L. Semenza // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013. – V. 110, № 43. – P. 17462–17467.
17. Malate-Aspartate Shunt in Neuronal Adaptation to Ischemic Conditions: Molecular–Biochemical Mechanisms of Activation and Regulation / I. Belenichev, Yu. Kolesnik, S. Pavlov, N. Bukhtiyarova // Neurochemical Journal. – 2012. – V. 6, № 1. – P. 22–28.
18. Беленичев И. Ф. Нейропротективный профиль селективного модулятора эстрогеновых рецепторов на модели острого нарушения мозгового кровообращения / И. Ф. Беленичев, С. В. Павлов // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 6 (25). – С. 10–14.
19. The Neuroprotective Activity of tamoxifen and Tibolone during Glutathione Depletion *in vitro* / I. Belenichev, O. Odnokoz, S. Pavlov [et al.] // Neurochemical Journal. – 2012. – V. 6, № 3. – P. 202–212.

### **С. В. Павлов, К. В. Левченко**

#### **Антиоксидантні та кардіопротективні властивості тамоксифену цитрату за умов гіпоксичного пошкодження кардіоміоцитів**

Сьогодні активно розвивається концепція щодо впливу статевих стероїдів на функціональний стан усіх органів і систем, у тому числі на серцево-судинну систему.

*Мета дослідження* – оцінка антиоксидантних та цитопротективних ефектів селективного модулятора естрогенових рецепторів тамоксифену цитрату за умов гіпоксичного пошкодження кардіоміоцитів *in vitro*.

Експериментальну частину виконано на статевозрілих білих нелінійних щурах-самцях масою 190–230 г. Гіпоксію *in vitro* моделювали шляхом внесення в суспензію кардіоміоцитів роз'єднувача тканинного дихання – 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридину (МФП) у концентрації 0,6 мкмоль/л. Час інкубації – 120 хв. Досліджувані препарати (тамоксифену цитрат та естрадіолу

валерат) вносили в інкубаційне середовище в концентрації  $10^{-7}$  моль/л. Стан антиоксидантної системи оцінювали за допомогою імуноферментного визначення вмісту нітротирозину, гомоцистеїну та спектрофотометричного визначення активності каталази. Дослідження цитопротективних ефектів препаратів проводили за допомогою електронно-мікроскопічних досліджень.

Проведеним дослідженням встановлено, що моделювання гіпоксії кардіоміоцитів *in vitro* призводило до інтенсифікації оксидативного та нітрозуючого стресів, про що свідчило суттєве збільшення вмісту маркера оксидативного пошкодження білків – нітротирозину (більш ніж на 68 %), гомоцистеїну (на 83%) та зменшення активності ключового ферменту антиоксидантного захисту – каталази. Патобіохімічні реакції за умов МФП-індукованої гіпоксії супроводжувалися деструктивними ультраструктурними змінами.

Внесення до інкубаційного середовища тамоксифену цитрату та естрадіолу валерату призводило до зменшення інтенсивності оксидативного стресу, що проявлялося зменшенням вмісту в суспензії кардіоміоцитів нітротирозину – у середньому на 53 % та гомоцистеїну – у середньому на 70 % відносно суспензії з МФП-індукованою гіпоксією. Разом з цим відбувалася нормалізація активності каталази, особливо на тлі внесення тамоксифену, що, на нашу думку, зумовлено здатністю досліджуваних препаратів зменшувати накопичення гомоцистеїну, нормалізуючи тим самим процеси метилювання білків. Позитивна дія препаратів на стан антиоксидантної системи кардіоміоцитів проявлялася покращанням їхніх морфологічних характеристик. Так, на тлі внесення в суспензію кардіоміоцитів естрадіолу та тамоксифену були зафіксовані мітохондрії з вакуолярним типом пошкодження, без ознак руйнування зовнішніх мембран з помірним кристолізисом та електронно-світлим матриксом.

Встановлені ефекти модуляторів естрогенових рецепторів обумовлюють перспективність подальших досліджень у цьому напрямі з метою встановлення молекулярних механізмів їхньої цитопротективної дії.

*Ключові слова: гіпоксія, кардіоміоцити, тамоксифену цитрат, цитопротекція*

**С. В. Павлов, Е. В. Левченко**

### **Антиоксидантні та кардиопротективні властивості тамоксифену цитрату в умовах гіпоксического пошкодження кардіоміоцитів**

Сьогодні активно розвивається концепція про вплив полових стероїдів на функціональний стан органів та систем, в тому числі на серцево-судинну систему.

*Ціль дослідження* – оцінка антиоксидантної та цитопротективної ефектів селективного модулятора тамоксифену цитрату в умовах гіпоксического пошкодження кардіоміоцитів *in vitro*

Експериментальна частина виконана на половозрілих білих нелінійних мишах-самцях масою 190–230 г. Гіпоксію *in vitro* моделювали шляхом внесення в суспензію кардіоміоцитів розбавителя тканинного дихання – 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридину (МФП) в концентрації 0,6 мкмоль/л. Час інкубації – 120 хв. Досліджувані препарати (тамоксифену цитрат та естрадіолу валерат) вносили в інкубаційну середовище в концентрації  $10^{-7}$  моль/л. Стан антиоксидантної системи оцінювали за допомогою імуноферментного визначення вмісту нітротирозину, гомоцистеїну та спектрофотометричного визначення активності каталази. Дослідження цитопротективного ефекту препаратів проводили за допомогою електронно-мікроскопічних досліджень.

Проведеними дослідженнями встановлено, що моделювання гіпоксії кардіоміоцитів *in vitro* призводило до інтенсифікації оксидативного та нітрозуючого стресів, о чому свідчувало суттєве збільшення вмісту маркера оксидативного пошкодження білків – нітротирозина (більш ніж на 68 %), гомоцистеїну (на 83 %) та зменшення активності ключового ферменту антиоксидантної захисту – каталази. Патобіохімічні реакції в умовах МФП-індукованої гіпоксії супроводжувалися деструктивними ультраструктурними змінами.

Внесення в інкубаційну середовище тамоксифену цитрату та естрадіолу валерату призводило до зменшення інтенсивності оксидативного стресу, що проявлялося зменшенням вмісту в суспензії кардіоміоцитів нітротирозина – в середньому на 53 % та гомоцистеїну – в середньому на 70 % порівняно з суспензією з МФП-індукованою гіпоксією. При цьому відбувалася нормалізація активності каталази, особливо на фоні внесення тамоксифену, що, на нашу думку, обумовлено здатністю досліджуваних препаратів зменшувати накопичення гомоцистеїну, нормалізуючи тим самим процеси метилювання білків. Позитивний вплив досліджуваних препаратів на стан антиоксидантної системи кардіоміоцитів проявлялося покращанням їхніх морфологічних характеристик. Так, на фоні внесення в суспензію кардіоміоцитів естрадіолу та тамоксифену були зафіксовані мітохондрії з вакуолярним типом пошкодження, без ознак руйнування зовнішніх мембран, з помірним кристолізисом та електронно-світлим матриксом.

Встановлені ефекти модуляторів естрогенових рецепторів обумовлюють перспективність подальших досліджень у цьому напрямі з метою встановлення молекулярних механізмів їхньої цитопротективної дії.

*Ключові слова: гіпоксія, кардіоміоцити, тамоксифену цитрат, цитопротекція*

---

**S. V. Pavlov, K. V. Levchenko**

**Antioxidant and cardioprotective properties of the tamoxifen citrate in cardiomyocytes hypoxic damage**

Currently a concept is being developed regarding the influence of sex steroids on the functional state of all the organs and systems including the cardio-vascular system.

*The purpose of this research* is the assessment of tamoxifen citrate (selective estrogen modulator) antioxidant and cytoprotective effects in cardiomyocyte hypoxic damage *in vitro*.

The experimental part has been accomplished on the viripotent white nonlinear male rats weighing 190–230 g. Hypoxia *in vitro* was simulated by the placement into the cardiomyocyte suspension of the tissue breath uncoupler – 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin (MPTP) in the concentration of 0,6 μM. The incubation time was 120 min. The study medication (tamoxifen citrate and estradiol valerate) were introduced into the incubation medium in the concentration of 10<sup>-7</sup> M. The state of the antioxidant system was assessed by the immunoenzyme evaluation of nitrotyrosine and homocysteine concentrations, and by spectrophotometric evaluation of catalase activity level. The cytoprotective properties of the medication agents were investigated by electron-microscopic analysis.

It has been specified by the experimental research that simulating of cardiomyocyte hypoxia *in vitro* caused the oxidative and nitrosating stress intensification, which became evident from the essential increase of nitrotyrosine – protein oxidative damage marker – (by more than 68 %), homocysteine (by 83 %) and catalase activity decrease – the key antioxidant protective enzyme. The intensity and direction of pathobiochemical reactions under MPTP-induced hypoxia were accompanied by destructive ultrastructure changes.

Placement of tamoxifen citrate and estradiol valerate into the incubation medium resulted in the reduction of the oxidative stress, which was shown in the decrease of nitrotyrosine cardiomyocytes concentration in the suspension – by 53 % on average, and homocysteine – 70 % on average, as related to the MPTP-induced hypoxia. Catalase activity recovery followed, especially under tamoxifen, which, in our opinion, responds to the ability of study medication to reduce homocysteine amount and thus normalizing the process of protein methylation. The positive effect of the study medication on the cardiomyocyte antioxidant system state was manifested in the improvement of the cellule morphological characteristics. Thus under the introducing of estradiol and tamoxifen into the cardiomyocytes suspension, mitochondria with vacuolar type of damage were found, without any sign of external membrane damage, with moderate cristolysis and electron-lucent matrix.

The effects of estrogen receptor modulators stated in the present research determine further research prospects aimed at the investigation of the molecule mechanisms of their cytoprotective properties.

*Key words:* hypoxia, cardiomyocytes, tamoxifen citrate, cytoprotection

Надійшла: 26 жовтня 2016 р.

---

**Контактна особа:** Павлов Сергій Васильович, доктор біологічних наук, доцент, кафедра клінічної лабораторної діагностики, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя. Тел.: + 38 0 97 797 08 84. Електронна пошта: zsmu.smu@yandex.ua