

ВПЛИВ СИНТЕТИЧНИХ ЕСТРОГЕНІВ НА ПОКАЗНИКИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІВ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ В ДОСЛІДАХ IN VITRO

Т. Ю. ЛИХОЛАТ, О. А. ЛИХОЛАТ

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара,
факультет біології, екології та медицини,
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49010
e-mail: Lykholat2010@ukr.net

Стероїдні гормони синтезуються в усіх живих організмах від рослин до ссавців і є важливими для розвитку і функціонування багатьох органів. Ця дія в основному виникає через регулювання основних генів, які локалізовані в ядрі, але не обмежується цими генами. Крім того, стероїдні рецептори існують поза ядром у багатьох органах і клітинах, із неясним впливом на нормальний розвиток, здоров'я і хвороби. Естрогени – жіночі статеві гормони, за хімічною природою – стероїди. Естрогени мають багатосторонній вплив на обмін речовин. Естрогени поширюються через кров в різні тканини та з-за їх ліпофільного характеру можуть легко дифундувати через клітинні мембрани, а також через гематоенцефалічний бар'єр, справляючи ефекти. В різні вікові періоди життя статеві гормони здійснюють неоднаковий вплив на організм. Найбільш відповідальний період постнатального онтогенезу – це статеве дозрівання, його ще називають пубертатним періодом. Аліментарна експозиція естрогенів спричиняла посилення процесів перекисного окиснення ліпідів в організмі тварин в пубертатному періоді та статевозрілих самиць. Мав місце різний ступінь інтенсифікації пероксидації в залежності від віку та дослідного органу. Метою представленої роботи стало визначення механізмів впливу синтетичних естрогенів на показники прооксидантно-антиоксидантної системи органів щурів різного віку в досліді in vitro. Вік піддослідних тварин складав 4,5 місяці – у пубертатному періоді та 7,5 місяців – статевозрілі. Контрольні групи склали інтактні тварини відповідного віку. В моделі in vitro до дослідних зразків додавали препарат «Сінестрол», який за біологічними і лікувальними властивостями близький до стероїдних естрогенних гормонів, в концентрації 0,5 нмоль/л з подальшою інкубацією протягом 1 години. Матеріалами дослідження слугували сироватка крові, мозок, печінка та нирки щурів. Одержані дані обробляли стандартними методами оцінки варіаційних рядів. Експозиція естрогенів in vitro спричиняла редукцію процесів перекисного окиснення ліпідів в тканинах досліджуваних органів самиць в препубертатному періоді та статевозрілих щурів шляхом активації антиоксидантної системи за рахунок збільшення тіолових груп. У самиць у препубертатному періоді реакція антиоксидантної системи в перевищувала силу відповіді статевозрілих тварин, що пояснюється лабільністю їх біохімічних процесів. Отримані дані свідчать про антиоксидантний механізм захисту естрогену, що не залежить від зв'язування з рецептором: ефекти естрогену на клітинному рівні пов'язані з внутрішньоклітинними сигнальними шляхами і антиоксидантними ензимами.

Ключові слова: синтетичні естрогени, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, досліді in vitro

Вступ. Стероїдні гормони синтезуються в усіх живих організмах від рослин до ссавців і є важливими для розвитку і функціонування багатьох органів: вони впливають на репродуктивний тракт, молочні залози, головний мозок, кістки, жирове диференціювання, регуляцію гіпофізарних гормонів і метаболічні ефекти. Ця дія в основному виникає через регулювання основних генів, які локалізовані в ядрі, але не обмежується цими генами. Крім того, було показано, що стероїдні рецептори існують поза ядром у багатьох органах і клітинах, із неясним впливом на нормальний розвиток, здоров'я і хвороби. Стероїди сприяють розвитку гормон-чутливих пухлин, таких як рак молочної залози, матки і передміхурової залози (Levin, 2015).

Естрогени – жіночі статеві гормони (естрадіол, естріол, естрон), що виробляються фолікулами яєчників, плацентою, частково корою надниркових залоз і насінниками та регулюють специфічні статеві функції. За хімічною природою – стероїди. Синтез і секреція естрогенів регулюються лютеїнізуючим і фолікулостимулюючими гормонами гіпофіза. Основних естрогенів два. Найсильніший з них – естрадіол 17-бета, який переважно синтезується в яєчниках з прогестерону. За хімічною будовою є стероїдним гормоном – $C_{21}H_{30}O_2$ з молярною масою – 314,46 кДа. Менші його кількості можуть походити з тестостерона шляхом ферментативних реакцій. Другий, слабший естроген – естрон, що також синтезується яєчниками. Естрогени поширюються через кров

в різні тканини, в тому числі серцево-судинну, імунну та центральну нервову системи, і з-за їх ліпофільного характеру можуть легко дифундувати через клітинні мембрани, а також через гематоенцефалічний бар'єр, справляючи ефекти (Petronxe, 2014).

Найбільш відповідальний період постнатального онтогенезу – це статеве дозрівання, його ще називають пубертатним періодом. У препубертатному та пубертатному періодах кількість гормонів, які обумовлюють формування жіночого фенотипу і секретуються гіпофізом і яєчниками, поступово збільшується. Стероїдні гормони, перш за все, естрогени, разом з іншими факторами, зокрема, соматотропним гормоном, викликають великі морфофункціональні зрушення в організмі, можуть здійснювати виражений ефект на біохімічні обмінні процеси, підсилювати анаболізм, впливати на функцію різних органів і систем організму: при гіпоестрогенії (концентрація естрогену, що не відповідає віку) розвиваються: остеопороз, гормональна кардіопатія, депресивний стан, сенільні психози; при гіперестрогенії – гіперпластичні процеси і гормонзалежні пухлини (Биохимия..., 2009).

Естрогени мають багатосторонній вплив на обмін речовин. Механізм дії естрогенів, ймовірно, заснований на стимуляції синтезу РНК у клітинах і тканинах репродуктивних органів, що веде до зміни швидкості і обсягу біосинтезу білків. Естрогени в крові циркулюють у вигляді комплексів з білками. Інактивуються в печінці, виділяються з сечею.

В різні вікові періоди життя статеві гормони здійснюють неоднаковий вплив на організм, і це обумовлене не тільки віковим гормональним гомеостазом, але і станом гормонально-залежних органів.

Після проведення досліджень щодо визначення впливу експозиції екзоестрогену на процеси перекисного окиснення ліпідів та стан антиоксидантного захисту в органах шурів різного віку були отримані наступні результати. Аліментарна експозиція естрогенів спричиняла посилення процесів перекисного окиснення ліпідів в організмі тварин в препубертатному періоді та статевозрілих самиць. Мав місце різний ступінь інтенсифікації пероксидації в залежності від віку та дослідного органу: максимальне перевищення контрольних показників відмічене у сироватці крові. Найбільш резистентними до дії екзоестрогенів виявились нирки. В самиць у препубертатному періоді в головному мозку та печінці реакція прооксидантної системи перевищувала силу відповіді в органах статевозрілих тварин.

Знайдене зменшення вмісту відновленого глутатіону в нирках самиць дослідних груп свідчить про ризик розвитку порушень функціонування системи детоксикації. Це може призводити до накопичення вільних радикалів, які є ініціюючими чинниками розвитку проліферативних процесів. Відмічена органна дискретність змін активності ензимів антиоксидантного захисту, яка залежить від віку тварин, що свідчить про розбалансування роботи ензимів системи глутатіону. Зважаючи на залучення системи глутатіону до інактивації естрогенів шляхом їх кон'югації в реакціях, що каталізуються глутатіонтрансферазою, зниження її активності може призводити до накопичення високоактивних проміжних метаболітів та пошкодження внутрішньоклітинних структур, головним чином ДНК (Лихолат та ін., 2014; Лихолат и др. 2015).

Метою представленої роботи стало визначення механізмів впливу синтетичних естрогенів на показники прооксидантно-антиоксидантної системи органів шурів різного віку в дослідах *in vitro*.

Матеріали та методи досліджень. Експерименти були проведені на щурах-самках лінії Вістар. Вік піддослідних тварин складав 4,5 місяці – у пубертатному періоді (група II, n=6) та 7,5 місяців – статевозрілі (група IV, n=6). Контрольні групи склали інтактні тварини відповідного віку (групи I, n=6 та III, n=6).

В моделі *in vitro* до дослідних зразків додавали препарат «Сінестрол», який за біологічними і лікувальними властивостями близький до стероїдних естрогенних гормонів, в концентрації 0,5 нмоль/л з подальшою інкубацією протягом 1 години. До контрольних проб додавали відповідну аліквоту фізіологічного розчину.

Матеріали дослідження: сироватка крові, мозок, печінка та нирки шурів. Об'єктом досліджень були показники процесів пероксидації ліпідів активність ПОЛ визначали за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБКАП) в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) (Коробейникова, 1989), стан антиоксидантного захисту – за рівнем відновленого глутатіону (ВГ) (Owens, Belcher, 1965), активністю глутатіонтрансферази (ГТ) (Переслегина, 1989), глутатіонредуктази (ГР) та глутатіонпероксидази (ГП) (Кругликова, 1976), супероксиддисмутази (СОД) (Чевари, 1985).

Одержані дані обробляли стандартними методами оцінки варіаційних рядів. Обчислення виконували за допомогою програмного продукту STATISTICA 6.0 (фірма StatSoft, США). Різницю між порівнювальними величинами вважали

вірогідною при $p \leq 0,05$ (Лакин, 1990; Лапач и др., 2000).

Результати та обговорення. При дослідженні впливу препарату «Сінестрол» у дослідах *in vitro* в обох дослідних групах спостерігалось уповільнення перекисного окиснення ліпідів, виміряне за рівнем ТБКАП, що збігається з літературними даними (Klinger et al., 2002). У печінці 4,5-місячних щурів рівень ТБК-активних продуктів був нижчим за контрольні параметри на 8,4 %, 7,5-місячних самиць – на 7,8 %. У нирках особин препубертантного віку спостерігався регресія накопичення ТБК-активних продуктів на 6,8 %, у статевозрілих – на 6,3 %. У мозку тварин препубертантного віку вміст ТБК-активних продуктів знижений до контролю на 6,8 %, у дорослих самиць – на 6,6 %. Сироватковий вміст ТБКАП знижений на 8 % (II група) та 6,7 % (IV група) (табл. 1–4).

У нирках та печінці 4,5-місячних самиць спострігалось підвищення загальної антиокисної

активності в середньому на 13,5 %, у 7,5-місячних – на 12,8 % і 11,45 % в порівнянні з контрольними показниками відповідного віку (табл. 1–2). Дослідження головного мозку тварин показало активацію антиокиснаної системи: на 13,5 % у щурів в пубертантному періоді та на 12,8 % у статевозрілих самиць. Антиокисна активність сироватки крові зростала на 12,8 % та 10,7 %, відповідно. Підвищення рівня загальної антиокиснаної активності в тканинах самиць щурів різного віку *in vitro* пояснюється властивістю препарату «Сінестрол», що діє як агоніст ферментної ланки антиокиснаної захисту.

Глутатіон є одним з найпотужніших клітинних неензимних антиокиснаної, що визначає окислювально-відновні сигналізації, має життєво важливе значення в детоксикації ксенобіотиків, а також регулює проліферацію клітин, апоптоз, імунну функцію і фіброгенез (Lu, 2013).

Таблиця 1.
Моделювання впливу естрогенів *in vitro* на біохімічні показники нирок щурів різного віку, $M \pm m$

Показник	I група	II група	III група	IV група
GSH, ммоль/ г тканини	7,38±0,37	7,79±0,39*	7,28±0,36	7,59±0,38*
GR, мкмоль/ хв. х г протеїну	81,63±4,10	86,04±4,30	71,57±3,58	74,22±3,71
GST, мкмоль/ хв. х г протеїну	226,45±11,32	232,27±11,61	247,23±12,36	251,68±12,8
ТБКАП, нмоль/ г протеїну	28,13±1,41	26,17±1,30	16,96±0,85*	15,90±0,80
АОА, ум.од	25,73±1,30	29,20±1,46	26,00±1,30	29,32±1,47*
СОД, опт.од/ хв. х г протеїну	161,50±8,10	182,98±9,15*	158,12±80	173,93±8,6*
ГП, мкмоль/ хв. х г протеїну	48,15±2,40	57,26±4,88*	42,23±2,11	48,64±3,12

Примітка (тут і далі): * — вірогідність змін в порівнянні з контрольними показниками, $p \leq 0,05$

Table 1.
***In vitro* modeling of the estrogen influence on biochemical indexes of different age rats' kidneys, $M \pm m$**

Таблиця 2.
Моделювання впливу естрогенів *in vitro* на біохімічні показники печінки щурів різного віку, $M \pm m$

Показник	I група	II група	III група	IV група
GSH, ммоль/ г тканини	12,99 ± 0,60	14,12 ± 0,70	10,77± 0,53	11,78 ± 0,59
GR, мкмоль/ хв. х г протеїну	214,36±10,72	262,3±13,10*	139,8±7,00	175,7±8,78*
GST, мкмоль/ хв. х г протеїну	487,67±24,44	564,23±28,21*	452,5±22,6	517,2±25,9*
ТБКАП, нмоль/ г протеїну	29,14±1,46	26,70±1,33	23,16±1,16	21,35±1,07
АОА, ум.од	26,47±1,32	30,07±1,54*	36,60±1,83	40,80±2,04*
СОД, опт.од/ хв. х г протеїну	236,54±11,83	280,7±14,04*	254,4±1,70	290,5±14,5*
ГП, мкмоль/ хв. х г протеїну	53,06±2,65	59,25±3,75*	51,83±2,60	58,19 ±4,11*

Table 2.
***In vitro* modeling of the estrogen influence on biochemical indexes of different age rats' liver, $M \pm m$**

За літературними посиланнями, вплив естрогенових сполук може спричиняти як зниження рівня глутатіону на тлі зростання вмісту активних форм кисню (Xin et al., 2014), так і чинити протекторну дію шляхом підвищення концентрації тіолових груп (Dlugosz et al., 2009), що, можливо, пояснюється видом ксеноестрогену та їх дозами. За результатами наших досліджень встановлено зростання рівня відновного глутатіону у печінці молодших самиць на 8,7 %, старших особин – на 9,4 %. У мозку щурів у пубертатному періоді зростання вмісту складало 8,8 % та 7,5 % у статевозрілих самиць.

В тканині нирок щурів дослідних груп зафіксована тенденція щодо збільшення рівня відновного глутатіону. Для сироватки крові щурів II групи характерним було зростання вмісту ВГ на 7,7 % IV групи – на 8,5 %. Знайдене підвищення вмісту відновленого глутатіону є наслідком збільшення вільних SH-груп у реакційному середовищі (Rembacz et al., 2012). До основних антиоксидантних ферментів належать супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази, каталази і глутатіонтрансферази (Borrelli et al., 2014).

Супероксиддисмутаза здійснює інактивацію радикалів кисню, які виникають в ході біологічних реакцій перенесення електронів або за впливу ксенобіотиків. При визначенні активності СОД у печінці нестатевозрілих та статевозрілих щурів спостерігалось зростання на 18,7 % та 14,2 %. У мозку 4,5 місячних щурів спостерігалась підвищення активності СОД на 13,3 %, у дорослих тварин цей показник зростав на 10 %, що співпадає з результатами, отриманими для нирок (Oberley et al., 1994). У сироватці крові 4,5 місячних щурів спостерігалась підвищення активності ферменту на 17,8 %, у дорослих тварин цей показник зростав на 13,3 %.

За визначення активності глутатіонредуктази, що відновлює окисну форму глутатіону, встановлено, що у печінці у тварин віком 4,5 та 7,5 місяців активність ферменту зростала на 22,35 % і на 25,7 %, відповідно. У нирках самиць обох дослідних груп не знайдено вірогідних відмінностей активності ферменту по відношенню до контрольних параметрів. У мозку щурів препубертатного віку активація ферменту складала 15,2 %, у самиць старшого віку – 14,7 %, у сироватці крові, відповідно, 21,4 % та 20,5 %.

У знешкодженні вторинних продуктів пероксидації та інших окиснених речовин головну роль відіграють глутатіонтрансферази. Вони кон'югують з глутатіоном головні й найбільш токсичні продукти переокиснення ліпідів. Відновлення за допомогою глутатіонтрансферази гідропероксидів попереджує прогресування пероксидації та появу її вторинних метаболітів.

При визначенні активності ГТ у печінці спостерігалось зростання активності ферменту у 4,5 місячних особин на 15,7 % в порівнянні з контрольними показниками, у статевозрілих тварин знайдено перевищення контролю на 14,3 %. Не знайдено вірогідних відхилень активності ферменту в нирках та головному мозку. У сироватці крові визначалась активація ГТ, залежна від віку тварин: у самиць в пубертаті – на 14,1 %, статевозрілих – 13,4 %.

Шляхом відновлення перекисів ліпідів у відповідні спирти та розщеплення пероксиду водню до води глутатіонпероксидаза захищає організм від окислювального пошкодження (Mariani et al., 2011). Детермінована активація ГП, ступінь якої залежав від віку самиць. Для самиць віком 4,5 місяці активація ферменту складала у печінці 11,7 %, нирках – 19 %, мозку – 25,7 %, сироватці крові – 17 %; для 7,5 – місячних тварин – 12,3%, 15,2 %, 12 % та 14,5 %.

Таблиця 3.

Модельовання впливу естрогенів *in vitro* на біохімічні показники головного мозку щурів різного віку, $M \pm m$

Показник	I група	II група	III група	IV група
GSH, ммоль/г тканини	221,00±11,05	240,45±12,02*	190,03±9,50	204,19±10,21*
GR, мкмоль/хв. х г протеїну	195,20±9,76	224,9±11,2*	174,01±8,70	199,6±9,9*
GST, мкмоль/хв. х г протеїну	51,14±2,56	53,63±2,68	61,06 ± 3,05	63,69± 3,18
ТВКАП, ммоль/г протеїну	28,61± 1,40	26,66± 1,33*	24,26±0,12	22,66 ± 1,13
АОА, ум.од	34,35± 1,71	38,99±1,95*	27,52±1,38	31,04±1,55*
СОД, опт.од/хв. х г протеїну	888,46±44,4	1006,6±50,3*	543,91±27,23	598,33±29,92*
ГП, мкмоль/хв. х г протеїну	26,94±1,347	33,87±2,58*	32,75±1,64	36,68±1,24*

Table 3.

***In vitro* modeling of the estrogen influence on biochemical indexes of different age rats' brain, $M \pm m$**

Таблиця 4. *In vitro* моделювання впливу естрогенів на біохімічні показники сироватки крові щурів різного віку, $M \pm m$

Показник	I група	II група	III група	IV група
ВГ, ммоль/г тканини	2,61 ± 0,13	2,81 ± 0,14	2,36 ± 0,12	2,56 ± 0,13
ГР ммоль/хв. г тканини	0,42 ± 0,02	0,51 ± 0,03	0,39 ± 0,02	0,47 ± 0,02
ГТ мкмоль/хв. г білка	9,12 ± 0,45	10,41 ± 0,52	8,79 ± 0,96	9,97 ± 0,49
ТВКАП нмоль/г білка	0,75 ± 0,04	0,69 ± 0,03	0,75 ± 0,04	0,70 ± 0,03
АОА ум.од.	39,43 ± 1,97	44,44 ± 2,22*	38,03 ± 2,12	42,10 ± 2,10*
СОД опт.од/хв. г білка	53,18 ± 2,66	62,65 ± 3,13*	55,55 ± 2,78	62,94 ± 3,15*
ГП мкмоль/хв. г білка	0,088 ± 0,004	0,103 ± 0,003*	0,096 ± 0,0048	0,110 ± 0,005*

Висновки. Таким чином, експозиція естрогенів *in vitro* спричиняла редукцію процесів перекисного окиснення ліпідів в тканинах досліджуваних органів самиць в препубертантному періоді та статевозрілих щурів шляхом активації антиокисної системи за рахунок збільшення тіолових груп. Естроген є антиокисдантом, захисні ефекти якого визначаються присутністю повністю ненасиченого фенольного кільця та вільної гідроксильної групи у третьому положенні, і тому при взаємодії з компонентами загальної антиокислювальної системи підвищує рівень активності її компонентів, що приводить до активації ензимів системи захисту від вільних радикалів. У самиць у препубертантному періоді реакція антиокисдантної системи в перевищувала силу відповіді статевозрілих тварин, що пояснюється лабільністю їх біохімічних процесів.

Отримані дані свідчать про антиокисдантний механізм захисту естрогену, що не залежить від зв'язування з рецептором: ефекти естрогену на клітинному рівні пов'язані з внутрішньоклітинними сигнальними шляхами і антиокисдантними ензимами (Howard et al., 2001; Priyanka et al., 2013).

Список літератури:

1. Биохимия: учебник для вузов/ Под ред. Е.С.Северина - 5-е изд., - 2009. - 768 с.
2. Коробейникова Е. Н. Модификация метода определения ТБК-активных продуктов // Лаб.дело. - 1989. - №7. - С. 8-9.
3. Круглікова Г. О., Штутман У. М. Методи визначення активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази // Украинский биохимический журнал. - 1976. - Т. 68, № 2. - С. 223 - 228.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. - М., 1990. - 293 с.
5. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием - К.: Морион, 2000. - 320 с.

6. Лихолат Т. Ю., Лихолат О. А., Недзвецкий В. С., Лактионов В. В. Алиментарні тригери гормонзалежних форм раку молочної залози // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія. - 2014. - 22(1). - С. 33-37.
7. Лихолат Т. Ю., Лихолат О. А., Шевченко Т. Н., Сайфиева Н. П. Состояние антиокисдантной системы в органах крыс разного возраста, подвергшихся воздействию экзоэстрогенов // Ecology and noospherology. - 2015. - Vol. 26, no. 1-2. - С. 116-124.
8. Переслегина И. А. Активность антиокисдантных ферментов слюны здоровых детей // Лаб. дело - 1989. - № 11. - Р. 20 - 23.
9. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. - 1985. - № 11. - С. 678 - 681.
10. Borrelli A., Schiattarella A., Bonelli P. et al. The functional role of MnSOD as a biomarker of human diseases and therapeutic potential of a new isoform of a human recombinant MnSOD // Biomed. Res. Int. - 2014. - S.476-789.
11. Dlugosz A., Roszkowska A, Zimmer M. Oestradiol protects against the harmful effects of fluoride more by increasing thiol group levels than scavenging hydroxyl radicals // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. - 2009. - 105 (6). - P. 366 - 373.
12. Howard S. A., Brooke S. M., Sapolsky R. M. Mechanisms of esrogenic protection against gp120-induced neurotoxicity // Exp. Neurol. - 2001. - 168 (2). - P. 385 - 391.
13. Klinger W., Lupp A., Karge E. et al. Estradiol, testosterone, dehydroepiandrosterone and androstenedione: novel derivatives and enantiomers. Interactions with rat liver microsomal cytochrome P450 and antioxidant/radical scavenger activities in vitro // Toxicol. Lett. - 2002. - 10; 128 (1-3). - P.129 - 144.
14. Levin E. R. Extranuclear steroid receptors are essential for steroid hormone actions // Annu. Rev. Med. - 2015. - 14, 66. - P. 27-280.
15. Lu S. C. Glutathione synthesis // Biochim. Biophys. Acta. - 2013. - 1830 (5). - P.3143 - 3153.

16. Mariani A., Jeandel C., Paris F., Ecochard R. Puberty and pubertal growth dynamics in children with idiopathic short stature // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 24. № 6. – P. 319–325.
17. Oberley T. D., Schultz J. L., Oberley L. W. In vitro modulation of antioxidant enzyme levels in normal hamster kidney and estrogen-induced hamster kidney tumor // *Free Radic. Biol. Med.* – 1994. – 16 (6). – P.741 – 751.
18. Owens W. I., Belcher R. V. A colorimetric micro-method for determination of glutathione // *Biochem.* – 1965. – 94, № 3. – P. 705 – 711.
19. Petronxe A.B., Simpkins J. W., Barr T. L. 17 β -estradiol and inflammation: implications for ischemic stroke // *Aging Dis.* – 2014. – 1;5(5). – P. 340–345.
20. Priyanka H. P., Krishnan H. C., Singh R. V. et al. Estrogen modulates in vitro T cell responses in a concentration- and receptor-dependent manner: effects on intracellular molecular targets and antioxidant enzymes // *Mol. Immunol.* – 2013. – 56 (4). – P. 328 – 339.
21. Rembacz K. P., Sawicka E., Długosz A. Role of estradiol in chromium-induced oxidative stress // *Acta Pol. Pharm.* – 2012. – 69 (6). – P.1372 – 1379.
22. Xin F., Jiang L., Liu X. et al. Bisphenol A induces oxidative stress-associated DNA damage in INS-1 cells // *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* – 2014. – 15 (769). – P. 29 – 33.

References

1. Byokhymyya: uchebnyk dlya vuzov/ Pod red. E.S.Severyna - 5-e yzd., - 2009. - 768 s
2. Korobeynikova E. N. Modyfikatsyya metoda opredelenyya TBA-aktyvnykh produktov // *Lab.delo.* – 1989. – № 7. – S. 8–9.
3. Kruhlikova H. O., Shtutman U M. Metody vyznachennya aktyvnosti hlutationperoksydazy ta hlutationreduktazy // *Ukraynsky byokhymychesky zhurnal.* – 1976. – T. 68, № 2. – S. 223 – 228.
4. Lakyn H.F. Byometryya. – M., 1990. – 293 s.
5. Lapach S. N., Chubenko A. V., Babych P. N. Statystycheskye metody v medyko-byolohycheskykh yssledovanyakh s yspol'zovanyem - K.: Moryon, 2000. – 320 s.
6. Lykholat T. Yu., Lykholat O. A., Nedzvets'kyy V. S., Laktionov V. V. Alimentarni tryhery hormonozaleznykh form raku molochnoyi zalozy // *Visnyk Dnipropetrovs'koho universytetu. Biolohiya, ekolohiya.* – 2014. – 22(1). – S. 33–37.
7. Lykholat T. Yu., Lykholat O. A., Shevchenko T. N., Sayfyeva N. P. Sostoyanye antyoksydantnoy systemy v orhanakh kryv raznoho vozrasta, podverhshykhsvya vozdeystvyyu ekzoestrogenov // *Ecology and noospherology.* – 2015. – Vol. 26, no. 1–2. – C. 116–124.
8. Pereslehyna Y. A. Aktyvnost' antyoksydantnykh fermentov slyunu zdorovykh detey // *Lab. delo.* – 1989. – № 11. – P. 20 – 23.
9. Chevary S., Chaba Y., Sekey Y. Rol' superoksyddysmutazu v oksylytel'nykh protsessakh kletky y metod opredelenyya ee v byolohycheskykh materyalakh // *Lab. delo.* – 1985. – №11. – S. 678 – 681.
10. Borrelli A., Schiattarella A., Bonelli P. et al. The functional role of MnSOD as a biomarker of human diseases and therapeutic potential of a new isoform of a human recombinant MnSOD // *Biomed. Res. Int.* – 2014. – S.476-789.
11. Długosz A., Roszkowska A, Zimmer M. Oestradiol protects against the harmful effects of fluoride more by increasing thiol group levels than scavenging hydroxyl radicals // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* – 2009. – 105 (6). – P. 366 – 373.
12. Howard S. A., Brooke S. M., Sapolsky R. M. Mechanisms of estrogenic protection against gp120-induced neurotoxicity // *Exp. Neurol.* – 2001. – 168 (2). – P. 385 – 391.
13. Klinger W., Lupp A., Karge E. et al. Estradiol, testosterone, dehydroepiandrosterone and androstenedione: novel derivatives and enantiomers. Interactions with rat liver microsomal cytochrome P450 and antioxidant/radical scavenger activities in vitro // *Toxicol. Lett.* – 2002. – 10; 128 (1-3). – P.129 – 144.
14. Levin E. R. Extranuclear steroid receptors are essential for steroid hormone actions // *Annu. Rev. Med.* – 2015. – 14, 66. – P. 27–280.
15. Lu S. C. Glutathione synthesis // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2013. – 1830 (5). – P.3143 – 3153.
16. Mariani A., Jeandel C., Paris F., Ecochard R. Puberty and pubertal growth dynamics in children with idiopathic short stature // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 24. № 6. – P. 319–325.
17. Oberley T. D., Schultz J. L., Oberley L. W. In vitro modulation of antioxidant enzyme levels in normal hamster kidney and estrogen-induced hamster kidney tumor // *Free Radic. Biol. Med.* – 1994. – 16 (6). – P.741 – 751.
18. Owens W. I., Belcher R. V. A colorimetric micro-method for determination of glutathione // *Biochem.* – 1965. – 94, № 3. – P. 705 – 711.
19. Petronxe A.B., Simpkins J. W., Barr T. L. 17 β -estradiol and inflammation: implications for ischemic stroke // *Aging Dis.* – 2014. – 1;5(5). – P. 340–345.
20. Priyanka H. P., Krishnan H. C., Singh R. V. et al. Estrogen modulates in vitro T cell responses in a concentration- and receptor-dependent manner: effects on intracellular molecular targets and antioxidant enzymes // *Mol. Immunol.* – 2013. – 56 (4). – P. 328 – 339.
21. Rembacz K. P., Sawicka E., Długosz A. Role of estradiol in chromium-induced oxidative stress // *Acta Pol. Pharm.* – 2012. – 69 (6). – P.1372 – 1379.
22. Xin F., Jiang L., Liu X. et al. Bisphenol A induces oxidative stress-associated DNA damage in INS-1 cells // *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* – 2014. – 15 (769). – P. 29 – 33.

THE EFFECT OF SYNTHETIC ESTROGEN ON PROOXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM INDEXES ON DIFFERENT AGE RATS' ORGANS IN VITRO

T. Y. Lykholat, O. A. Lykholat

Steroid hormones are synthesized in all living organisms from plants to mammals and that are important for the development and functioning of many organs. This effect mainly arises from the basic regulation of genes that are localized in the nucleus, but are not limited to these genes. Besides, steroid receptors exist outside the nucleus in many organs and cells, with a no clear impact on normal development, health and disease. Besides, steroid receptors exist outside the nucleus in many organs and cells, with a clear impact on normal development, health and disease. Estrogens are female sex hormones, the chemical nature is steroid. Estrogens have multilateral effect on metabolism. Estrogens are spread through the blood to various tissues and because of their lipophilic character can easily diffuse through cell membranes and the blood-brain barrier, exerting effects. In different age periods of life the hormones carry different effects on the body. The most important period of postnatal ontogenesis is puberty, it is called puberty. Nutritional estrogen exposure caused an intensification of lipid peroxidation in animals in pubertal period and mature females. There was a different degree of intensification peroxidation depending on age and investigated organ. The aim of the presented work was to determine the mechanisms of synthetic estrogen influence on the indexes of prooxidant-antioxidant system of different age rats' organs in vitro. Age of experimental animals was 4,5 months - the pubertal period (group II, n = 6) and 7,5 months - mature ones. Control groups were intact appropriate age animals. In vitro model drug "Sinestrol" which for biological and medicinal properties similar to steroid hormones estrogen were added to test samples in concentration of 0,5 nmol per L, followed by incubation for 1 hour. Research materials were used as serum, brain, liver and kidneys of rats. The data were processed by standard methods of assessing the variation series. In vitro estrogen exposure caused a reduction of lipid peroxidation in the tissues of the studied females in pubertal period and mature rats by activating of antioxidant system by thiol groups increasing. In pubertal females antioxidant system response exceeded the mature animals' response of due to their biochemical processes lability. These data suggest antioxidant defense mechanism of estrogen, which is independent of receptor binding: at the cellular level the effects of estrogen are associated with intracellular signaling pathways and antioxidant enzymes.

Keywords: synthetic estrogens, lipid peroxidation, antioxidant system, in vitro

Одержано редколегією 13.01.2015