

А. Негеля, асп., В. Нікуліна, канд. біол. наук,  
Н. Сенчило, доц., Є. Торгалло, канд. біол. наук,  
Л. Гарманчук, д-р біол. наук  
ННЦ "Інститут біології та медицини"  
Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

### АДГЕЗІЯ, МІГРАЦІЯ ТА ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗНА АКТИВНІСТЬ КЛІТИН РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ АКТИВАЦІЇ TLR-ЛІГАНДОМ ТЕЙХОЄВОЮ КИСЛОТОЮ

Толл-лайк рецептори – це рецептори клітин, лігандами яких здебільшого є антигени бактерій і вірусів. Їхня активація запускає множинні каскади, що спричиняють імунну реакцію організму. Атипове розташування толл-лайк рецепторів часто спостерігається при різних типах пухлинних захворювань. З огляду на це, розглянуто різноманітні підходи до подання протипухлинної терапії з активацією толл-лайк рецепторів. Зокрема, одним із найпоширеніших є толл-лайк рецептор 4 типу, активатором якого є тейхоєва кислота. У попередньому дослідженні було показано, що комбінована терапія ТА та РО244 підвищує апоптичний рівень клітин LLC та знижує кількість клітин проліферативного пулу клітинного циклу. Одним із найважливіших показників пухлинних захворювань є здатність клітин пухлини до міграції, що характеризує ступінь їх переродження і впливає на здатність до васкуляризації та інвазивності. Ця здатність напряму залежить від адгезивних властивостей пухлинних клітин. Ще однією особливістю пухлинних клітин є зміна біохімічних властивостей, зокрема підвищене споживання глюкози та надмірна активація гліколізу з подальшим зброджуванням її до лактату. Досліджувався ефект TLR-ліганду тейхоєвої кислоти на міграцію, адгезію та лактатдегідрогеназну активність ракових клітин MCF-7 молочної залози за умов 3D та 2D культивування. Було виявлено майже двократне зростання популяції прикріплених клітин MCF-7 під впливом тейхоєвої кислоти. Також було продемонстровано більше ніж двократне зростання швидкості прикріплення клітин за умов довготривалого культивування без заміни середовища, що свідчить про підсилення адгезивних характеристик пухлинних клітин MCF-7 під дією тейхоєвої кислоти. Під впливом тейхоєвої кислоти було виявлено зниження площі міграції пухлинних клітин у 1.5 раза, що може бути проявом зниження здатності до метастазування, та зменшення активності лактатдегідрогенази, що вказує на біохімічні зміни клітин в цілому.

Ключові слова: тейхоєва кислота, клітини MCF-7, адгезивна властивість, LDH-активність

А. Негеля, асп., В. Никулина, канд. биол. наук, Н. Сенчило, доцент.,  
Е. Торгалло, канд. биол. наук, Л. Гарманчук, д-р биол. наук  
УНЦ "Институт биологии та медицины"  
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина.

### АДГЕЗИЯ, МИГРАЦИЯ И ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ АКТИВАЦИИ TLR-ЛИГАНДОМ ТЕЙХОЕВОЙ КИСЛОТЫ

Толл-лайк рецепторы – это рецепторы клеток, лигандами которых в основном являются антигены бактерий и вирусов. Их активация запускает множественные каскады, которые вызывают иммунную реакцию организма. Атипичное расположение толл-лайк рецепторов часто наблюдается при различных типах опухолевых заболеваний. Учитывая это, рассматриваются различные подходы к сочетанию противоопухолевой терапии с активацией толл-лайк рецепторов. В частности, одним из самых распространенных является толл-лайк рецептор 4 типа, активатором которого является тейхоевая кислота. В предыдущем исследовании было показано, что комбинированная терапия ТА и РО244 повышает апоптический уровень клеток LLC и снижает количество клеток пролиферативного пула клеточного цикла. Одним из важнейших показателей опухолевых заболеваний является способность клеток опухоли к миграции, характеризующий степень их перерождения и влияет на способность к васкуляризации и инвазивности. Эта способность напрямую зависит от адгезивных свойств опухолевых клеток. Еще одной особенностью опухолевых клеток является изменение биохимических свойств, в частности повышенное потребление глюкозы и чрезмерная активация гликолиза с последующим сбраживанием ее к лактату. Исследовался эффект TLR-лиганда тейхоевой кислоты на миграцию, адгезию и лактатдегидрогеназную активность раковых клеток MCF-7 молочной железы в условиях 3D и 2D культивирования. Было выявлено почти двукратный рост популяции прикрепленных клеток MCF-7 под влиянием тейхоевой кислоты. Также было продемонстрировано более чем двукратный рост скорости прикрепления клеток в условиях *unfed culture*, что свидетельствует об усилении адгезивных характеристик опухолевых клеток MCF-7 под действием тейхоевой кислоты. Под влиянием тейхоевой кислоты было выявлено снижение площади миграции опухолевых клеток в 1.5 раза, что может быть проявлением снижения способности к метастазированию, и уменьшение активности лактатдегидрогеназы, что указывает на биохимические изменения клеток в целом.

Ключевые слова: тейхоевая кислота, клетки MCF-7, адгезивная способность, LDH-активность

УДК 577.21:612.34:616.33-008.821.14

А. Драницина, канд. біол. наук, О. Блохіна, асп., О. Короткий, канд. біол. наук,  
К. Дворщенко, д-р біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук,  
ННЦ "Інститут біології та медицини"  
Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

### ЕКСПРЕСІЯ ГЕНА PTGS2 У КЛІТИНАХ ХРЯЩОВОЇ ТКАНИНИ КОЛІННОГО СУГЛОБА ЩУРІВ ЗА УМОВ ОСТЕОАРТРОЗУ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ БІОЛОГІЧНО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Остеоартроз – дегенеративно-дистрофічне захворювання суглобів, спричинене різними факторами. На сьогодні немає ефективного лікування, яке б забезпечувало повне одужання від артрозу. Хондропротектори застосовуються в медицині протягом тривалого часу, але сировиною для них є суміш молекул хондроїтинсульфату з різною дожею та варіаціями в положенні сульфатних груп, яка має різні рівні очищення, що спричинює часом різноманітні небажані ефекти. Метою роботи було проаналізувати інтенсивність вільно-радикальних процесів та експресію гена – медіатора запальної відповіді – *Ptgs2* у хрящовій тканині щурів з індукованим моноіодоацетатом натрію артрозом та при введенні біологічно-активних речовин: хондроїтинсульфату, меланіну (поліфенольна сполука з антиоксидантними та протизапальними властивостями) та їх комбінації. Роботу було виконано на білих нелінійних щурах. Використані методи: визначення концентрації органічних гідропероксидів, ЗТ-ПЛР у реальному часі, статистичні методи. Молекулярно-біохімічний аналіз хрящової тканини щурів з індукованим моноіодоацетатом натрію артрозом виявив підвищення рівня експресії гена *Ptgs2* у 8,1 раза ( $p \leq 0,001$ ), посилення вільно-радикальних процесів (збільшення вмісту органічних гідропероксидів у 2 раза ( $p \leq 0,001$ )) порівняно з контрольною групою тварин, що вказує на порушення редокс-балансу клітин, розвиток окисного стресу та активацію запальних та деструктивних процесів у тканині. При використанні препарату на основі хондроїтинсульфату, меланіну та комбінації цих біологічно-активних речовин за тих самих умов рівень експресії цього гена та вміст органічних гідропероксидів наближались до контрольних значень, що вказує на протизапальні й антиоксидантні властивості зазначених препаратів, та про доцільність спільного застосування хондроїтинсульфату та меланіну за умов остеоартрозу щурів, що, у свою чергу, сприяє більш швидкому відновленню структури хрящової тканини та патерну експресії певних генів, гальмуванню дегградації, вільно-радикальних процесів і перекисного окислення ліпідів та пригнічує запалення.

Ключові слова: хрящ, остеоартроз, щури, хондроїтинсульфат, *Ptgs2*, запалення.

Вступ. Оцінка характеру експресії генів дозволяє розширити уявлення стосовно механізмів, що виника-

ють у клітинах організму за тих чи інших патологічних станів. Адже реалізація змін генної експресії в клітинах

унаслідок пошкоджуючого впливу вимагає певного часу і є наслідком тривалої дії стимулятора [1–3].

Остеоартроз (від англ. *osteoarthritis*) – це хронічне дегенеративно-дистрофічне захворювання суглобів, спричинене різними факторами [3–4]. Ця хвороба характеризується запаленням синовіальної оболонки, ерозією хряща та резорбцією субхондральної кістки. Дегенерація хряща починається з біомеханічних і біохімічних патологічних змін: травми, м'язової слабкості, ожиріння, генетичної схильності, вживання естрогенів, активації вільнорадикальних процесів тощо [4–5]. Такі фактори можуть призвести до надлишку синтезу прозапальних цитокінів, наприклад, інтерлейкіну-1-бета (ІЛ-1 $\beta$ ) та фактора некрозу пухлини (TNF $\alpha$ , ФНП), що, у свою чергу, стимулює експресію численних хемокінів [3], а також одного з потужних прозапальних генів – *Ptgs2*, який кодує фермент циклооксигеназу-2 (COX-2) і його продукт – простагландин E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) [3, 6]. Метаболіти й ферменти каскаду арахідонової кислоти, у тому числі COX-2, як відомо, є важливими медіаторами запальної реакції [2, 7]. Показано швидку зміну рівня експресії *Ptgs2* і вмісту прозапальних цитокінів у синовіоцитах та хондроцитах людини в ранньому періоді розвитку остеоартриту [8].

На сьогодні немає ефективного лікування, яке б забезпечувало повне одужання від артрозу. Дія більшості препаратів направлена лише на полегшення симптомів. Тому сьогодні велика увага приділяється пошуку речовин, які б відновлювали рівновагу процесів синтезу й деградації з мінімальними побічними ефектами [12–14]. Нестероїдні протизапальні препарати, імуносупресивні засоби тощо послаблюють активність PGE<sub>2</sub>, але в них відсутній елемент антиоксидантної терапії [15]. Відомо, що на початку захворювання в хондроцитах активуються вільнорадикальні процеси, збільшується утворення активних форм кисню (АФК), значно посилюються процеси окиснення, що призводить до розвитку окисного стресу – ОС (зокрема, перекисне окиснення ліпідів – ПОЛ), які порушують метаболізм клітин [16], ушкоджують ферменти і структурні білки хрящової тканини, що призводить до загибелі хондроцитів і синовіоцитів [15, 17]. Основними структурними білками хрящової тканини, які модифікуються в окисних реакціях є протеоглікани. Відомо, що застосування препаратів на основі хондроїтину, які містять у складі структурні компоненти протеогліканів, сприяє відновленню структури тканини, гальмуванню процесів деградації й перекисного окиснення ліпідів та пригнічує запалення. Хондропротектори застосовуються в медицині протягом тривалого часу, але сировиною для них є суміш молекул хондроїтинсульфату з різною довжиною і варіаціями в положенні сульфатних груп, яка має різні рівні очищення, що спричинює різноманітні ефекти, часом зовсім небажані [12–14].

Меланіни – пігменти шкіри, волосся, райдужки, чорної субстанції мозку тощо. Відомо, що ці поліфенольні сполуки виявляють репаративну, антиоксидантну, протизапальну, ранозагоючу, імуномодулюючу та протипухлинну властивості [18, 19]. У попередніх дослідженнях нами було показано, що меланін, продуцентом якого є антарктичні чорні дріжджеподібні гриби *Nadsoniella nigra*, штам Х1-М, висіяні із зразків вертикальних скель острова Галіндез (Українська антарктична станція "Академік Вернадський"), володіє вираженою цитопротекторною дією та сприяє швидкому загоєнню ран різної етіології [5, 6, 20].

З огляду на вищезазначене метою роботи було проаналізувати інтенсивність вільнорадикальних процесів та експресію гена – медіатора запальної відповіді – *Ptgs2* в хрящовій тканині щурів з індукованим моноіодоацетатом

натрію артрозом та при введенні біологічно-активних речовин: хондроїтинсульфату, меланіну та їх комбінації.

**Матеріали і методи.** Роботу було виконано на білих нелінійних щурах обох статей масою 180–240 г, що утримувались на стандартному раціоні віварію. При роботі з тваринами дотримувались загальних етичних норм проведення експериментів на тваринах відповідно до "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для наукових експериментів або в інших наукових цілях". Позитивний висновок біоетичної комісії отримано на засіданні біоетичної комісії ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка від 29 листопада 2017 р. Кожна група включала по 12 тварин кожної статі.

Експеримент проводили за схемою: як контроль (перша група) використовували щурів, яким в перший день в обидва коліна крізь колінну зв'язку кололи по 50 мкл фізрозчину; тварини другої групи слугували як негативний контроль дії препарату, їм вводили фізрозчин так само, як і контрольним тваринам, і додатково з 8 дня експерименту застосовували внутрішньом'язево 1 мл препарату "Драстоп" ("Артрадол" тощо; активна речовина: хондроїтинсульфат натрію – 100 мг) 1 раз на добу протягом 14 діб; третя група – щури, слугували як негативний контроль дії меланіну, їм вводили фізрозчин так само, як і контрольним тваринам, і додатково з 8 дня експерименту вводили перорально розчинений у воді меланін (продуцентом якого є антарктичні чорні дріжджеподібні гриби *Nadsoniella nigra*, штам Х1-М; 0,3 мг/кг) – 1 раз на добу протягом 14 діб; четверта група – тварини, яким у перший день вводили в праве коліно 3 мг моноіодоацетату натрію (monosodium iodoacetate – MIA), розчиненого в 50 мкл фізрозчину, у ліве коліно – 50 мкл фізрозчину крізь колінну зв'язку; у тварин п'ятої групи остеоартроз моделювали так само, як і в четвертій групі щурів, і вводили препарат "Драстоп" аналогічно другій групі тварин; у щурів шостої групи остеоартроз моделювали так само, як і в четвертій групі, і вводили меланін аналогічно третій групі тварин; у тварин сьомої групи остеоартроз моделювали так само, як і в четвертій групі щурів, і вводили препарат "Драстоп" та меланін аналогічно другій та третій групі щурів. При розрахунку дози препарату для тварин використовували коефіцієнти перерахунку доз (мг/кг) із організму тварини на організм людини [21]. Забіїв щурів проводили на 29 день після початку експерименту. Одразу видаляли гіалінові хрящі колінних суглобів і зберігали при – 20 °С до початку досліджень.

**Визначення концентрації органічних гідропероксидів.** Визначення вмісту гідропероксидів у біологічному матеріалі базується на здатності H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> та органічних гідропероксидів при взаємодії із сорбітолом перетворюватись на пероксильний радикал, який, у свою чергу, конвертує Fe<sup>2+</sup> у Fe<sup>3+</sup> за кислих значень рН. У розчині сульфатної кислоти іони Fe<sup>3+</sup> утворюють забарвлений комплекс із барвником ксиленоловим помаранчевим, який має пік поглинання в діапазоні  $\lambda$  = 540–580 нм [22, 23]. Вміст білка вимірювали за методом Лоурі [24].

**Кількісна ЗТ-ПЛР у реальному часі.** РНК отримували за методом Chomczynski [25]; Синтез кДНК та кількісну полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі (Real-time quantitative RT-PCR, qRT-PCR, кПЛР) проводили за допомогою комерційного набору "Thermo Scientific Verso SYBR Green 1-Step qRT-PCR ROX Mix" ("Thermo Scientific", Литва), використовуючи по 0,4 кмоль/л кожного праймера, проводили за таких, рекомендованих фірмою-виробником, температурних умов: синтез кДНК 50 °С – 30 хв; ініціююча денатурація 95 °С – 15 хв; далі 40 циклів: денатурація ДНК 95 °С –

15 с; гібридизація праймерів 50°C – 35 с; добування ланцюга 72 °C – 30 с.; елонгація ампліфікатів 72 °C – 5 хв.

У реакціях було використано такі послідовності праймерів (підбрано з використанням Primer-BLAST): для *Ptgs2* – прямий – TGCTGTTCCAAACCATGTCA та зворотний – TGTCAGAAACTCAGGCGTAGT; для *Actb* (ген β-актину, що використовується як внутрішній контроль реакції завдяки конститутивній експресії) – прямий – TGGGACGATATGGAGAAGAT та зворотний – ATTGCCGATAGTGATGACCT. Відтворюваність результатів ампліфікації було перевірено в паралельних експериментах шляхом повторення кПЛР на зразках РНК усіх тварин, із кожним праймером не менше трьох разів. Після кожного циклу ампліфікації зчитувалась флуоресценція барвника SYBR Green I, а по закінченні реакції будувалась крива плавлення для контролю утворення димерів праймерів та специфічності реакції. Відносну кількість мРНК обраховували за порівняльним  $C_T$  методом "ΔΔC<sub>T</sub> Method", ефективність ПЛР реакцій була однаковою ( $E_x = (10^{-1/\text{slope}}) - 1$ ,  $\text{slope} < 0,1$ ). Відносний рівень експресії зазначених генів нормалізували до мРНК *Actb* [26].

**Статистична обробка результатів досліджень.** Математичну та статистичну обробку результатів досліджень проводили на комп'ютері з використанням програмного пакета "GraphPad Prism 5.04" ("GraphPad Software Inc.", США). Їх перевіряли на нормальне розподілення за допомогою тесту Шапіро-Уїлка. Подальше обчислення здійснювали за допомогою односпрямованого дисперсійного аналізу (one-way ANOVA) із пост-тестом Тукея. Отримані результати наведені у вигляді середнього арифметичного ± середньоквадратичне відхилення (дисперсія) – SD. Результати вважали значущими при  $p \leq 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** У результаті проведених нами експериментальних дослі-

джень було показано, що вміст органічних гідропероксидів у хрящовій тканині тварин з експериментальним артрозом був вищим у 2 рази ( $p \leq 0,001$ ) порівняно з контролем. Рівні експресії цього гена в першій, другій та третій групах щурів достовірно не відрізнялися. У щурів, при одночасному введенні з MIA препарату "Драстоп" вміст зазначеного показника був у 1,4 раза нижчим ( $p \leq 0,001$ ), ніж у тварин четвертої групи. У групі тварин, яким одночасно вводили MIA та меланін вміст органічних гідропероксидів був у 1,6 раза нижчим ( $p \leq 0,001$ ), ніж у тварин четвертої групи. У щурів, яким одночасно вводили як MIA, так і "Драстоп" та меланін, вміст зазначеного показника був в 1,8 раза нижчим ( $p \leq 0,001$ ), ніж у тварин четвертої групи.

Відомо, що остеоартроз супроводжується інтенсифікацією ПОЛ у різних тканинах організму [2, 4, 5]. Також нами було виявлено істотне підвищення концентрації первинних, вторинних і кінцевих продуктів ПОЛ у хрящевій тканині щурів при експериментальному остеоартрозі і зниження цих показників при одночасному введенні з MIA препарату "Драстоп" [27]. Таким чином, на першому етапі дослідження було показано активування вільно-радикальних процесів у тварин при колінному остеоартрозі, так само як і швидкіше наближення вмісту органічних гідропероксидів до контрольних значень саме при спільній дії хондропротектору та меланіну за тих самих умов.

У результаті подальших експериментальних досліджень було показано, що рівень експресії гена *Ptgs2* у групі тварин з патологією був вищим у 8,1 раза ( $p \leq 0,001$ ) порівняно з контрольними тваринами (рис. 1). Рівні експресії цього гена в першій, другій та третій групах щурів достовірно не відрізнялися.

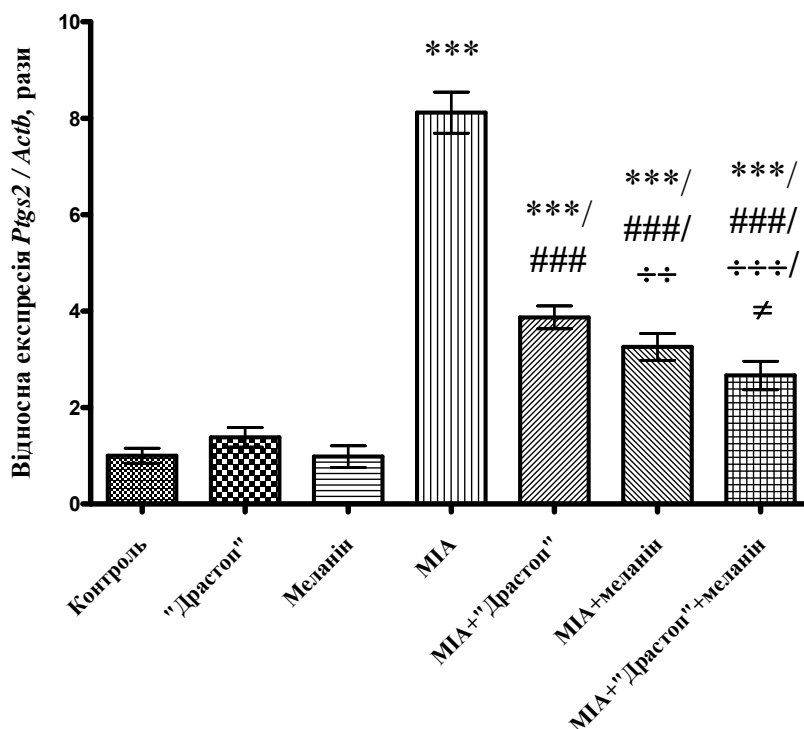


Рис. 1. Рівень експресії мРНК гена *Ptgs2* в клітинах хрящової тканини колінного суглоба щурів за умов остеоартрозу та при введенні біологічно-активних речовин.

1 – контроль; 2 – "Драстоп"; 3 – меланін; 4 – MIA; 5 – MIA + "Драстоп"; 6 – MIA + меланін; 7 – MIA + "Драстоп" + меланін; \*\*\* –  $p \leq 0,001$  відносно контрольних тварин; ### –  $p \leq 0,001$  відносно тварин, яким вводили лише MIA; +++ –  $p \leq 0,001$ , ++ –  $p \leq 0,01$  відносно тварин, яким вводили MIA + "Драстоп"; ≠ –  $p \leq 0,05$  відносно тварин, яким вводили MIA + меланін

Водночас при одночасному введенні з МІА препарату "Драстоп" рівень відповідної мРНК був у 2,1 раза нижчим ( $p \leq 0,001$ ), ніж у тварин третьої групи, проте залишився підвищеним в 3,9 раза ( $p \leq 0,001$ ) порівняно з контролем. У групі тварин, яким одночасно вводили МІА та меланін рівень експресії *Ptgs2* був у 2,5 раза нижчим ( $p \leq 0,001$ ), ніж у тварин четвертої групи, але лишався підвищеним у 3,3 раза ( $p \leq 0,001$ ) порівняно з контрольними тваринами. У щурів, яким одночасно вводили МІА, "Драстоп" і меланін, рівень зазначеного показника був в 3 рази нижчим ( $p \leq 0,001$ ), ніж у тварин четвертої групи, однак залишився підвищеним у 2,7 раза ( $p \leq 0,001$ ) порівняно з контрольними значеннями. Рівні експресії гена *Ptgs2* у 5–7 групах тварин значуще відрізнялися між собою ( $p \leq 0,001$ ,  $p \leq 0,01$ ,  $p \leq 0,05$ ).

Отже, встановлені нами зміни експресії гена *Ptgs2* у хрящах колінного суглобу щурів за умов остеоартрозу свідчать про розвиток патологічних процесів у хрящовій тканині, зокрема дегенерації та запалення. Водночас при застосуванні препарату на основі хондроїтинсульфату, меланіну та комбінації цих біологічно-активних речовин за тих самих умов рівень експресії зазначеного гена наближався до контролю, особливо при спільній дії препаратів.

Дані літератури свідчать, що в суглобовій порожнині пошкоджений і некротичний хрящ, а також кісткові фрагменти піддаються фагоцитозу лейкоцитами при вивільненні медіаторів запалення: АФК (супероксидний аніон ( $O_2^{\bullet-}$ ), гідроксильний радикал ( $\bullet OH$ ), перекис водню ( $H_2O_2$ )) тощо та лізосомальних ферментів, що клінічно виявляються запаленням суглоба та розвитком імунологічних реакцій на продукти розпаду [4, 5, 28]. У хондроцитах АФК регулюють внутрішньоклітинні молекули сигналізації, такі як рецепторні тирозинкінази, MAP-кінази (ERK1/2, JNK, p38), ліпідні шляхи (фосфоліпази, PKC і PI3-кіназа/Akt сигнальний шлях), фосфатази та фактори транскрипції (ядерний фактор-каппа В (NF- $\kappa B$ ), p53 та AP-1), що беруть участь у сигнальних шляхах, які регулюють синтез та деградацію хрящової матриці. АФК можуть сприяти посиленню активності певної регуляторної сітки шляхом зворотної інактивації специфічних фосфатаз. Збільшення рівня АФК, у свою чергу, може активувати катаболічну сигналізацію, спричиняти ОС і пригнічувати анаболічні сигнальні шляхи за рахунок інгібування IGF-1 – залежного синтезу протеогліканів [28, 29].

Показано, що посилення транскрипції генів, відповідальних за синтез COX-2, синтази оксиду азоту (NO синтази), великої кількості хемокінів (CXCL1, CXCL2, CCL2 (C-C motif ligand 2, хемокін ліганд 2) тощо), IL-6 та інших генів, залучених у каскад запальних реакцій, може регулюватися IL-1 $\beta$ , надлишок синтезу якого, у свою чергу, зумовлений різними чинниками, у тому числі ОС (виявлене нами зростання вмісту органічних гідропероксидів), наприклад, при дегенерації хрящової тканини та розвитку запалення [3].

При цьому відбувалося вивільнення прозапальних цитокінів у хондроцитах, зокрема IL-2, IL-8, ФНП, фактора активації тромбоцитів (PAF) тощо на тлі зниження протизапального IL-10 [3, 28, 29]. Вищезазначені цитокіни індукують синтез молекул клітинної адгезії (МКА) на плазматичній мембрані нейтрофілів і ендотеліоцитів, що призводить до міграції нейтрофілів із мікроциркуляторного русла в хондроцити [1–3]. Активація нейтрофілів обумовлює подальше збільшення вироблення прозапальних цитокінів і простагландинів, зростання синтезу МКА, підвищення проникності судин і генерації АФК у хондроцитах. Вивільнення цитокінів і зростання синтезу МКА сприяють подальшій міграції нейтрофілів, рекрутуванню В-клітин та активованих Т-клітин, що зумовлює цикл запалення, наслідком чого стає посилення

генерація АФК, розвиток ОС, зміна метаболізму хондроцитів і збільшення експресії ряду генів, залучених у розвиток запалення, та тих, що кодують матриксні металопротеїнази, (MMP)-1, -8, -13 [1–3, 30]. Також при цьому пригнічувалась експресія матриксних генів, наприклад, COL2A1, який кодує колаген II типу. Було зроблено припущення, що вплив IL-1 $\beta$  на експресію вище зазначених генів може відбуватися за допомогою наступних факторів транскрипції: міоцит-енхансер, що зв'язує фактор-3 (MEF-3), CCAAT/енхансер-зв'язуючий білок (C/EBP) та NF- $\kappa B$  [3].

Відомо, що хондроїтинсульфат є основним компонентом протеогліканів, складовою хрящової матриці. Це сульфатований глікозаміноглікан, який складається з довгих нерозгалужених ланцюгів, що повторюють залишки N-ацетилгалактозаміну та глюкуронової кислоти. Більшість ацетилгалактозаміну мають N-сульфатовані залишки в 4-му та 6-му положеннях. Молекули хондроїтинсульфату беруть участь у процесах транспорту води, амінокислот і ліпідів у безсудинних зонах хряща [13–15, 31]. На деяких тваринних моделях хронічного остеоартиту було показано, що при терапії з використанням хондроїтинсульфату знижувалась експресія та синтез COX-2 і CCL2, пригнічувалась інфільтрація імунними клітинами синовіальної оболонки і зменшувався ступінь проліферації в синовіальній мембрані [15]. Також деякі дослідження *in vivo* показали, що при введенні хондроїтинсульфату в синовіальну тканину знижувалась концентрація IL-1 $\beta$  [32] та інших медіаторів запалення (IL-6, NO синтаза, простагландин E2), крім того, пригнічувалась індукована експресія матриксних металопротеїназ (MMP)-3, -9, -13 у хондроцитах [33]. Хондропротектори захищають клітини, інгібуючи як окислення білків і ліпідів, так і синтез вільних радикалів, перешкоджаючи апоптозу хондроцитів [17]. Стосовно можливих молекулярних механізмів впливу хондроїтинсульфату на патерн експресії певних генів було виявлено, що він пригнічує активацію та ядерну транслокацію фактора NF $\kappa B$  у хондроцитах і синовіоцитах. NF $\kappa B$ , зв'язуючись із промотором відповідного гена, активує транскрипцію прозапальних цитокінів, NO синтази, COX-2, фосфоліпази A2, матриксних металопротеїназ, що, у свою чергу, поглиблює руйнівні процеси в деформованих остеоартритом суглобах. Хондроїтинсульфат пригнічує експресію RANKL і активує синтез остеопротектину, регулюючи таким чином ремоделювання субхондральної кістки [34, 35].

Як було зазначено вище, меланіни захищають організм від ультрафіолетового та рентгенівського опромінення, володіють цитопротекторною, стресопротекторною, антиоксидантною та протизапальною дією [18–20, 36]. Продуcentом меланіну, використаному в нашому дослідженні, є дріжджеподібні гриби, які живуть в екстремальних умовах Антарктичного півострову та використовують меланін для захисту від шкідливого ультрафіолетового випромінювання, перетворюючи енергію на безпечну кількість тепла. Завдяки цій властивості меланін поглинає до 99,9 % ультрафіолету, попереджає утворення вільних радикалів на мінімальному рівні і може бути більш потужним радіопротектором, антиоксидантом тощо порівняно з іншими меланінами [18, 36]. Стосовно можливих механізмів впливу меланіну як поліфенольної сполуки на експресію проаналізованого гена за умов остеоартрозу, перш за все, слід зазначити його виражену цитопротекторну дію: він знижує активність процесів перекисного окиснення ліпідів, збільшує активність ферментів антиоксидантної системи, запобігаючи пошкодженню ДНК; впливає на продукцію цито-

кинів: TNF- $\alpha$ , IL-6, VEGF тощо за рахунок впливу на експресію ядерних рецепторів PPAR [37]; посилює експресію eNOS та виділення протизапальних цитокінів для зниження інтенсивності запалення [2, 18–20, 36].

Таким чином, отримані нами результати можуть свідчити про доцільність спільного застосування хондроїтинсульфату та меланіну за умов остеоартрозу щурів, що, у свою чергу, сприяє більш швидкому відновленню структури хрящової тканини та патерну експресії певних генів, гальмуванню деградації, вільнорадикальних процесів і перекисного окислення ліпідів та пригнічує запалення.

**Висновки.** Показано зростання рівня експресії гена *Ptgs2* у клітинах хрящової тканини колінного суглоба щурів за умов експериментального остеоартрозу на тлі активування вільнорадикальних процесів (зростання вмісту органічних гідропероксидів). При використанні препарату на основі хондроїтинсульфату, меланіну та комбінації цих біологічно-активних речовин за тих самих умов рівень експресії цього гена та вміст органічних гідропероксидів наближались до контрольних значень, що вказує на протизапальні й антиоксидантні властивості зазначених препаратів, та їх більш ефективну дію при спільному застосуванні.

#### Список використаних джерел

1. *The impact of oxidative stress on Par2, Ptgs2 genes expression in rat duodenal epithelial cells under conditions of prolonged gastric hypochlorhydria and with administration of multiprobiotic* / A. Dranitsina, K. Dvorshchenko, D. Grebinyk et al. // *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2016. – Vol. 6, N 12. – P. 162–169. Available from: <http://www.researchgate.net/publication/>
2. *Tgfb1, Ptgs2 genes expression during dynamics of wound healing and with the treatment of melanin* / A. Dranitsina, O. Taburets, K. Dvorshchenko et al. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2017. – Vol. 8, N 1. – P. 2014–2023. Available from: <http://www.rjpbcs.com>
3. *Exuberant expression of chemokine genes by adult human articular chondrocytes in response to IL-1 $\beta$*  / L. Sandell, X. Xing, C. Franz et al. // *Osteoarthritis and Cartilage*, 2008. – Vol. 16. – P. 1560–1571. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
4. *Avocado soybean unsaponifiables (ASU) suppress TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , COX-2, iNOS gene expression, and prostaglandin E 2 and nitric oxide production in articular chondrocytes and monocyte/macrophages* / R. Au, T. Al-Talib, A. Au et al. // *Osteoarthritis and Cartilage*, 2007. – Vol. 15, N 11. – P. 1249–1255. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
5. *Osteoarthritis: new insights. Part 1: the disease and its risk factors* / D. Felson, R. Lawrence, A. Dieppe et al. // *Ann Intern Med.*, 2000. – Vol. 133, N 8. – P. 635–646. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
6. *Goldring S. The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis* / S. Goldring, M. Goldring // *Clin Orthop.*, 2004. N 427. – P. S27–S36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
7. *Wu K. Cyclooxygenase 2 induction: molecular mechanism and pathophysiological roles* / K. Wu // *J Lab Clin Med.*, 1996. Vol. 128. – P. 242–245. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
8. *Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis* / M. Benito, D. Veale, O. FitzGerald et al. // *Annals of the rheumatic diseases*, 2005. – Vol. 64, N 9. – P. 1263–1267. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
9. *Constitutive upregulation of the transforming growth factor- $\beta$  pathway in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts* / P. Dirk, A. Beyer, D. Koczan et al. // *Arthritis Research & Therapy*, 2007. – Vol. 9. – P. 1–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
10. *Transforming growth factor beta 1 induces CXCL16 and leukemia inhibitory factor expression in osteoclasts to modulate migration of osteoblast progenitors* / K. Ota, P. Quint, M. Weivoda et al. // *Bone*, 2013. – Vol. 57, N 1. – P. 1–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
11. *Shi-Wen X. Regulation and function of connective tissue growth factor/CCN2 in tissue repair, scarring and fibrosis* / X. Shi-Wen, A. Leask, D. Abraham // *Cytokine Growth factor Rev.*, 2008. Vol. 19. – P. 133–144. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
12. *Barnes E. Treatment of osteoarthritis* / E. Barnes, N. Edwards // *South. Med. J.*, 2005. – Vol. 98, N 2. – P. 205–209. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
13. *Volpi N. Quality of different chondroitin sulfate preparations in relation to their therapeutic activity* / N. Volpi // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2009. – Vol. 61, N 10. – P. 1271–1280. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
14. *Lauder R. Chondroitin sulfate: a complex molecule with potential impacts on a wide range of biological systems* / R. Lauder // *Complementary Therapies in Medicine*, 2009. – Vol. 17, N 1. – P. 56–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
15. *Largo R. Chondroitin sulfate improves synovitis in rabbits with chronic antigen induced arthritis* / R. Largo, J. Roman-Blas, J. Moreno-Rubio // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2010. – Vol. 18, N 1. – P. 17–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
16. *Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation* / R. Zhang, M. Brennan, Z. Shen et al. // *J. Biol. Chem.*, 2002. – Vol. 277. – P. 46116–46122. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
17. *Alternative therapy of earth elements increases the chondroprotective effects of chondroitin sulfate in mice* / M. Caraglia, S. Beninati, G. Giuberti et al. // *Experimental & Molecular Medicine*, 2005. – Vol. 37. – P. 476–481. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
18. *Agar N. Melanogenesis: a photoprotective response to DNA damage?* / N. Agar, A. Young // *Mutation research*, 2005. – Vol. 571. – P. 121–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
19. *Herbal melanin modulates tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), interleukin 6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF) production* / A. El-Obeid, S. Al-Harbi, N. Al-Jomah, A. Hassib // *Phytomedicine*, 2006. – Vol. 13. – P. 324–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
20. *Effect of melanin on the condition of gastric mucosa and reaction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under acute stress* / D. Golyshkin, T. Falaleeva, K. Neporada et al. // *Physiological journal*, 2015. – Vol. 61, N 2. – P. 65–72. Available from: <http://biph.kiev.ua>
21. *Detection of aggrecanase- and MMP-generated catabolic neopeptides in the rat iodoacetate model of cartilage degeneration* / M. Janusz, C. Little, L. King et al. // *Osteoarthritis Cartilage*, 2004. – Vol. 12, N 9. – P. 720–728. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
22. *Jiang Z. Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation* / Z. Jiang, A. Woollard, S. Wolff // *FEBS Lett.*, 1990. – Vol. 268, N 1. – P. 69–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
23. *Nourooz-Zadeh J. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation – Xylenol Orange assay* / J. Nourooz-Zadeh, J. Tajaddini-Sarmadi, S. Wolff // *Anal. Biochem.*, 1994. – Vol. 220. – P. 403–409. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
24. *Protein measurement with the Folin phenol reagent* / O. Lowry, N. Rosebrough, A. Farr et al. // *J Biol Chem.*, 1951. – Vol. 193, N 1. – P. 265–275. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
25. *Chomczynski P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction* / P. Chomczynski, N. Sacchi // *Anal. Biochem.*, 1987. – Vol. 162, N 1. – P. 156–159. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
26. *Livak K. Analysis of relative gene expression data using real time quantitative PCR and method* / K. Livak, T. Schmittgen // *Methods*, 2001. – Vol. 25. – P. 402–408. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
27. *Prooxidant – antioxidant status and Ptgs2, Nos2 genes expression in rat cartilage with osteoarthritis and after the treatment of chondroitin sulfate* / Y. Tikhova, K. Dvorshchenko, A. Dranitsina et al. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2017. – Vol. 8, N 4. – P. 994–1001. Available from: <http://www.rjpbcs.com>
28. *Kamata H. Redox regulation of cellular signalling* / H. Kamata, H. Hirata // *Cell Signal*, 1999. – Vol. 11. – P. 1–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
29. *IGF-I stimulation of proteoglycan synthesis by chondrocytes requires activation of the PI 3-kinase pathway but not ERK MAPK* / B. Starkman, J. Cravero, M. Delcarlo et al. // *Biochem J.*, 2005. – Vol. 389. – P. 723–729. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
30. *Haringman J. Chemokine and chemokine receptor expression in paired peripheral blood mononuclear cells and synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, and reactive arthritis* / T. Smeets, P. Reinders-Blankert, P. Tak // *Ann Rheum Dis.*, 2006. – Vol. 65. – P. 294–300. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
31. *Biochemical and pharmacological aspects of oral treatment with chondroitin sulfate* / A. Conte, N. Volpi, L. Palmieri et al. // *Arzneimittel Forschung*, 1995. – Vol. 45. – P. 918–925. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
32. *Pelletier J. Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implication for the selection of new therapeutic targets* / J. Pelletier, J. Martel-Pelletier, S. Abramson // *Arthritis & Rheumatology*, 2001. – Vol. 44, N 6. – P. 1237–1247. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
33. *Glucosamine and chondroitin sulfate regulate gene expression and synthesis of nitric oxide and prostaglandin E(2) in articular cartilage explants* / P. Chan, J. Caron, G. Rosa et al. // *Osteoarthritis Cartilage*, 2005. – Vol. 13, N 5. – P. 387–394. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
34. *Chondroitin sulfate inhibits the nuclear translocation of nuclear factor- $\kappa$ B in interleukin-1 $\beta$ -stimulated chondrocytes* / C. Jomphe, M. Gabriac, T. Hale et al. // *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2008. – Vol. 102. – P. 59–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
35. *The differential expression of osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand (RANKL) in human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts is an indicator of the metabolic state of these disease cells* / K. Tat, J. Pelletier, D. Lajeunesse et al. // *Clinical and experimental rheumatology*, 2008. – Vol. 26, N 2. – P. 295–304. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
36. *The Effect of "Melanin-Gel" on the wound healing* / O. Taburets, O. Morgaienko, T. Kondratiuk et al. // *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*, 2016. – Vol. 7, N 3. – P. 2031–2038. Available from: <http://www.rjpbcs.com>
37. *Chrysanthemum morifolium extract attenuates high-fat milk-induced fatty liver through peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ -mediated mechanism in mice* / Y. Cui, X. Wang, J. Xue et al. // *Nutr Res.*, 2014. – Vol. 34. – P. 268–275. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

## References (Scopus)

1. Dranitsina A., Dvorshchenko K., Grebinyk D., Ostapchenko L. The impact of oxidative stress on *Par2*, *Ptgs2* genes expression in rat duodenal epithelial cells under conditions of prolonged gastric hypochlorhydria and with administration of multiprobiotic. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2016;6;(12):162-9.
2. Dranitsina A., Taburets O., Dvorshchenko K., Grebinyk D., Beregova T., Ostapchenko L. *Tgfb1*, *Ptgs2* genes expression during dynamics of wound healing and with the treatment of melanin. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2017;8(1): 2014-23.
3. Sandell L., Xing X., Franz C., Davies S., Chang Li-Wei., Patra D. Exuberant expression of chemokine genes by adult human articular chondrocytes in response to IL-1b. *Osteoarthritis Cartilage*. 2008;16(12):1560-71. PMC2605974.
4. Au R., Al-Talib T., Au AY., Phan P., Frondoza C. Avocado soybean unsaponifiables (ASU) suppress TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , COX-2, iNOS gene expression, and prostaglandin E 2 and nitric oxide production in articular chondrocytes and monocyte/macrophages. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007;15(11):1249-55. PMID: 17845860.
5. Felson D., Lawrence R., Dieppe P., Hirsch R., Helmick C., Jordan J. Osteoarthritis: new insights. Part 1: the disease and its risk factors. *Ann Intern Med*. 2000;133(8):635-46. PMID: 11033593.
6. Goldring S., Goldring M., The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res*. 2004;(427 Suppl):S27-36. PMID: 15480070.
7. Wu K. Cyclooxygenase 2 induction: molecular mechanism and pathophysiologic roles. *Am J Pathol*. 2004; 165(3): 753-61. PMC1618587.
8. Benito M., Veale D., FitzGerald O., van den Berg W., Bresnihan B. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(9):1263-7.
9. Dirk P., Beyer A., Koczan D., Wilhelm T., Thiesen Hans-Jürgen., Kinne R. Constitutive upregulation of the transforming growth factor- $\beta$  pathway in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Res Ther*. 2007; 9(3):R59. PMC2206335.
10. Ota K., Quint P., Weivoda M., Ruan M., Pederson L., Westendorf J., Khosla S., Oursler M. Transforming growth factor beta 1 induces CXCL16 and leukemia inhibitory factor expression in osteoclasts to modulate migration of osteoblast progenitors. *Bone*. 2013 Nov;57(1):68-75. PMID: 23891907.
11. Shi-Wen X., Leask A., Abraham D. Regulation and function of connective tissue growth factor/CCN2 in tissue repair, scarring and fibrosis. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2008 Apr;19(2):133-44. PMID: 18358427.
12. Barnes E., Edwards N. Treatment of osteoarthritis. *South Med J*. 2005;98(2):205-9.
13. Volpi N. Quality of different chondroitin sulfate preparations in relation to their therapeutic activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology. J Pharm Pharmacol*. 2009;61(10):1271-80. PMID: 19814858.
14. Lauder R. Chondroitin sulfate: a complex molecule with potential impacts on a wide range of biological systems. *Complement Ther Med*. 2009;17(1):56-62. PMID: 19114230.
15. Largo R., Roman-Blas J., Moreno-Rubio J. Chondroitin sulfate improves synovitis in rabbits with chronic antigen induced arthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(1):17-23. Reference Number: 18.a55e6cc1.1513693884.57da72d7.
16. Zhang R., Brennan M., Shen Z., MacPherson J., Schmitt D., Molenda C., Hazen S. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18 Suppl 1:S17-23. PMID: 20399901.
17. Caraglia M., Beninati S., Giuberti G., D'Alessandro A., Lentini A., Abbuzzese A. Alternative therapy of earth elements increases the chondroprotective effects of chondroitin sulfate in mice. *Exp Mol Med*. 2005;37(5):476-81. PMID: 16264272.
18. Agar N., Young A. Melanogenesis: a photoprotective response to DNA damage? *Mutat Res*. 2005;571(1-2):121-32. PMID: 15748643.
19. El-Obeid A., Al-Harbi S., Al-Jomah N., Hassib A. Herbal melanin modulates tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), interleukin 6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF) production. *Phytomedicine*. 2006;13:324-33. PMID: 16635740.
20. Golyskhin D., Falaleeva T., Neporada K., Beregova T. Effect of melanin on the condition of gastric mucosa and reaction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under acute stress. *Physiological journal*. 2015;61(2):65-72.
21. Janusz M., Little C., King L., Hookfin E., Brown K., Heitmeyer S., Caterson B., Poole A., Taiwo Y. Detection of aggrecanase- and MMP-generated catabolic neoepitopes in the rat iodoacetate model of cartilage degeneration. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004;12(9):720-8. PMID: 15325638.
22. Jiang Z., Woollard A., Wolff S. Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation. *FEBS Lett*. 1990;268(1):69-71. PMID: 2384174.
23. Nourooz-Zadeh J., Tajaddini-Sarmadi J., Wolff S. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation – Xylenol Orange assay. *Anal Biochem*. 1994;220(2):403-9. PMID: 7978285.
24. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193(1):265-75. PMID: 14907713.
25. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987;162(1):156-9. PMID: 2440339.
26. Livak K., Schmittgen T. Analysis of relative gene expression data using real time quantitative PCR and method. *Methods*. 2001;25(4):402-8. PMID: 11846609.
27. Tikhova Y., Dvorshchenko K., Dranitsina A., Grebinyk D., Korotkyi O., Ostapchenko L. Prooxidant – antioxidant status and *Ptgs2*, *Nos2* genes expression in rat cartilage with osteoarthritis and after the treatment of chondroitin sulfate. *RJPBCS*. 2017;8(4):994-1001.
28. Kamata H., Hirata H. Redox regulation of cellular signalling. *Cell Signal*. 1999;11(1):1-14. PMID: 10206339.
29. Starkman B., Cravero J., Delcarlo M., Loeser RF. IGF-I stimulation of proteoglycan synthesis by chondrocytes requires activation of the PI 3-kinase pathway but not ERK MAPK. *Biochem J*. 2005;389(Pt 3):723-9. PMID: 15801908.
30. Haringman J., Smeets T., Reinders-Blankert P., Tak P. Chemokine and chemokine receptor expression in paired peripheral blood mononuclear cells and synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, and reactive arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2006; 65(3): 294-300. PMC1798063.
31. Conte A., Volpi N., Palmieri L., Bahous I., Ronca G. Biochemical and pharmacological aspects of oral treatment with chondroitin sulfate. *Arzneimittelforschung*. 1995;45(8):918-25. PMID: 7575762.
32. Pelletier J., Martel-Pelletier J., Abramson S. Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implication for the selection of new therapeutic targets. *Arthritis Rheum*. 2001;44(6):1237-47. PMID: 11407681.
33. Chan P., Caron J., Rosa G., Orth M. Glucosamine and chondroitin sulfate regulate gene expression and synthesis of nitric oxide and prostaglandin E(2) in articular cartilage explants. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005;13(5):387-94. PMID: 15882562.
34. Jomphe C., Gabriac M., Hale T., Héroux L., Trudeau L., Deblois D., Montell E., Vergés J., du Souich P. Chondroitin sulfate inhibits the nuclear translocation of nuclear factor- $\kappa$ B in interleukin-1 $\beta$ -stimulated chondrocytes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008;102(1):59-65. PMID: 17983423.
35. Tat Kwan S., Pelletier J., Lajeunesse D., Fahmi H., Lavigne M., Martel-Pelletier J. The differential expression of osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand (RANKL) in human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts is an indicator of the metabolic state of these disease cells. *Clin Exp Rheumatol*. 2008;26(2):295-304. PMID: 18565252.
36. Taburets O., Morgaienko O., Kondratiuk T., Beregova T., Ostapchenko L. The Effect of "Melanin-Gel" on the Wound Healing. *RJPBCS*. 2016;7(3):2031-8.
37. Cui Y., Wang X., Xue J., Liu J., Xie M. Chrysanthemum morifolium extract attenuates high-fat milk-induced fatty liver through peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ -mediated mechanism in mice. *Nutr Res*. 2014;34(3):268-75. PMID: 24655494.

Надійшла до редколегії 05.03.2018

Отримано виправлений варіант 09.04.2018

Підписано до друку 09.04.2018

Received in the editorial 05.03.2018

Received a revised version on 09.04.2018

Signed in the press on 09.04.2018

А. Драницина, канд. биол. наук, О. Блохина, асп., А. Короткий, канд. биол. наук, Е. Дворченко, д-р биол. наук, Л. Остапченко, д-р биол. наук, УНЦ "Институт биологии та медицины", Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

## ЕКСПРЕССИЯ ГЕНА *PTGS2* В КЛЕТКАХ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ КОЛЕННОГО СУСТАВА КРЫС ПРИ ОСТЕОАРТРОЗЕ И ПРИ ВВЕДЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Остеоартроз – дегенеративно-дистрофическое заболевание суставов, опосредованное действием различных факторов. На сегодня нет эффективного лечения, которое бы обеспечивало полное выздоровление от артроза. Хондропротекторы применяются в медицине в течение длительного времени, но сырьем для них является смесь молекул хондроитин сульфата с разной длиной и вариациями в положении сульфатных групп, которая имеет различные уровни очистки, вызывает порой различные побочные эффекты. Целью работы было проанализировать интенсивность свободно-радикальных процессов и экспрессию гена – медиатора воспалительного ответа – *Ptgs2* в хрящевой ткани крыс с индуцированным моноидоацетатом натрия артрозом и при введении биологически активных веществ: хондроитин сульфата, меланина (полифенольное соединение с антиоксидантными и противовоспалительными свойствами) и их ком-

бинации. Работа была выполнена на белых нелинейных крысах. Использованные методы: определение концентрации органических гидропероксидов, ОТ-ПЦР в реальном времени, статистические методы. Молекулярно-биохимический анализ хрящевой ткани крыс с индуцированным моноидооацетатом натрия артрозом обнаружил повышение уровня экспрессии гена *Ptgs2* в 8,1 раза ( $p \leq 0,001$ ), усиление свободно-радикальных процессов (увеличение содержания органических гидропероксидов в 2 раза ( $p \leq 0,001$ )) по сравнению с контрольной группой животных, что указывает на нарушение редокс-баланса клеток, развитие окислительного стресса и активацию воспалительных и деструктивных процессов в ткани. При использовании препарата на основе хондроитин сульфата, меланина и комбинации этих биологически активных веществ при тех же условиях уровень экспрессии этого гена и содержание органических гидропероксидов приближались к контрольным значениям, что указывает на противовоспалительные и антиоксидантные свойства этих препаратов, и о целесообразности совместного применения хондроитин сульфата и меланина при остеоартрозе крыс, что, в свою очередь, способствует более быстрому восстановлению структуры хрящевой ткани и паттерна экспрессии определенных генов, торможению дегенерации, свободно-радикальных процессов и перекисного окисления липидов, и подавляет воспаление.

Ключевые слова: хрящ, остеоартроз, крысы, хондроитин сульфат, *Ptgs2*, воспаление.

A.Dranitsina, Ph. D., O. Blohina, Ph. D., stud., O. Korotkiy, Ph. D.,

K. Dvorshchenko, D. Sci., L. Ostapchenko, D. Sci.

ESC "Institute of Biology and Medicine", Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

## EXPRESSION OF *PTGS2* GENE IN RAT KNEE CARTILAGE CELLS UNDER CONDITIONS OF OSTEOARTHRITIS AND WITH ADMINISTRATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Osteoarthritis – degenerative-dystrophic cartilage disease, caused by various factors. To date, there is no effective treatment that would provide a full recovery from arthrosis. Chondroprotectors have been used in medicine for a long time, but the raw material for them is a mixture of chondroitin sulfate molecules of varying lengths and variations in the position of sulfate groups, which has different levels of purification, which sometimes causes various undesirable effects. The purpose of the work was to analyze the intensity of free radical processes and the expression of the inflammatory response mediator gene – *Ptgs2* in cartilage tissue of rat-induced sodium monoiodoacetate arthrosis and the administration of biologically active substances: chondroitin sulfate, melanin (polyphenolic compound with antioxidant and anti-inflammatory properties), and their combination. The work was performed on white nonlinear rats. Used methods: determination of concentration of organic hydroperoxides, RT-PCR in real time, statistical methods. The molecular-biochemical analysis of cartilaginous tissue of rat-induced sodium monoiodoacetate by arthrosis showed a 8.1-fold increase in the expression of the *Ptgs2* gene ( $p \leq 0.001$ ), an increase in free radical processes (2-fold increase of organic hydroperoxides content ( $p \leq 0.001$ )) in comparison with a control group of animals, indicating a redox cell imbalance, the development of oxidative stress and the activation of inflammatory and destructive processes in the tissue. When using chondroitin sulfate, melanin, and combinations of these biologically active substances under the same conditions, the level of expression of this gene and the content of organic hydroperoxides approached the control values indicating the anti-inflammatory and antioxidant properties of these drugs and the appropriateness of the joint use of chondroitin sulfate and melanin under conditions of osteoarthritis in rats, which, in turn, promotes a faster restoration of the structure of the cartilage tissue and the pattern of expression of certain genes, inhibited degradation of free-radical processes and lipid peroxidation and inhibits inflammation.

Key words: cartilage, osteoarthritis, rats, chondroitin sulfate, *Ptgs2*, inflammation.

УДК 612.741 + 612.816

О. Колосова, здобувач, Т. Халявка, канд. хім. наук,  
Національний університет фізичного виховання та спорту України, Київ, Україна,

## СКОРОТЛИВІ ТА РЕЛАКСАЦІЙНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ М'ЯЗИВ У ВИСОКОКВАЛІФІКОВАНИХ СПОРТСМЕНІВ-ФРІСТАЙЛІСТІВ

Одним з напрямів підвищення спеціальної фізичної працездатності спортсменів з уникненням спортивного травматизму може бути розробка принципів спеціального міорелаксаційного тренування. Швидкість міорелаксації, тобто розслаблення скелетних м'язів, є не менш важливим показником функціонування нервово-м'язового апарату і функціональних можливостей організму, ніж скоротливі характеристики м'язів. Метою нашої роботи було дослідження скоротливої та релаксаційної здатності м'язів у групі висококваліфікованих спортсменів, які займаються фрістайлом, за допомогою методу поверхневої електроміографії. Досліджували скоротливі та релаксаційні властивості м'язів нижньої кінцівки – переднього великогомілкового м'язу (*m. tibialis anterior*, TA) та латеральної голівки литкового м'язу (*m. gastrocnemius lateralis*, GL) при виконанні їх максимального довільного скорочення в ізометричному режимі. Визначали величини максимального довільного скорочення (МДС), швидкості довільного скорочення (ШДС) та швидкості довільного розслаблення (ШДР) *m. tibialis anterior* при спробі тильного згинання стопи і *m. gastrocnemius lateralis* при спробі її підшовного згинання. Виявили певні статистично значущі відмінності вищевказаних показників, а саме: величини ШДР ТА з лівого боку тіла та ШДР GL з обох боків тіла були меншими, ніж відповідні величини ШДС ( $p < 0,05$ ). Крім цього, ШДС GL з лівого боку було статистично значуще ( $p < 0,05$ ) більше, ніж з правого. Такі результати можуть свідчити про переважання збуджувальних процесів над гальмівними в нервовій і м'язовій системах даної групи осіб, а також про специфічну адаптацію нервово-м'язового апарату тестованих спортсменів, пов'язану з особливостями міжм'язової координації при виконанні рухів у фрістайлі. Існує необхідність розробки і впровадження у тренувальний процес спеціальних релаксаційних вправ, спрямованих на підвищення ефективності спортивної підготовки та збереження здоров'я спортсменів.

Ключові слова: швидкість довільного скорочення м'язів, швидкість довільного розслаблення м'язів, максимальне довільне скорочення м'язів.

**Вступ.** Адаптація до фізичних перевантажень в екстремальних умовах спортивної діяльності належить до найбільш актуальних проблем сучасної спортивної фізіології і медицини. Шляхи підвищення спеціальної фізичної працездатності спортсменів ґрунтуються головним чином на збільшенні об'єму та інтенсивності тренувальних і змагальних навантажень. Проте зі збільшенням навантажень спостерігається зростання спортивного травматизму. Очевидна необхідність пошуку принципово нових шляхів для одночасного вирішення проблеми досягнення найвищих рівнів спеціальної фізичної працездатності і проблеми збереження здоров'я спортсменів. Одним із напрямів може бути розробка принци-

пів спеціального міорелаксаційного тренування, спрямованого на підвищення ефективності процесу підготовки спортсменів на усіх етапах розвитку спортивних навичок [2]. Швидкість міорелаксації, тобто розслаблення скелетних м'язів, є не менш важливим показником функціонування нервово-м'язового апарату і функціональних можливостей організму, ніж скоротливі характеристики м'язів [4]. Активізація гальмівних систем під впливом спеціальних вправ призводить до зниження рівня збудження в центральній нервовій системі (ЦНС) і швидкій ліквідації негативних наслідків підвищеної збудливості. Знижуються психоемоційна напруженість і гіпертонус скелетних м'язів, і в результаті покращу-