

## ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ *TGFB1*, *FOXO1* ТА *COMP* У КРОВІ ХВОРИХ НА ОСТЕОАРТРИТ ПІСЛЯ SARS-CoV2-ІНФЕКЦІЇ

А.С. ЮЕТ\*, Ю.Р. ТУГАРОВ, К.О. ДВОРЩЕНКО, Д.М. ГРЕБІНИК,  
О.М. САВЧУК, О.Г. КОРОТКИЙ, Л.І. ОСТАПЧЕНКО

Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка,  
вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна

E-mail: alevtina.dranitsina@gmail.com\*

*На сьогодні, лишається невисвітленим можливий вплив коронавірусної інфекції на дегенерацію хряща та запалення синовіальної оболонки при хронічному захворюванні суглобів – остеоартриті. Метою роботи було проаналізувати експресію генів *TGFB1*, *FOXO1* та *COMP* та інтенсивність вільнорадикальних процесів у крові хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції. Робота виконувалась із застосуванням методів молекулярної генетики та біохімії. Було показано зниження рівня експресії генів *TGFB1* та *FOXO1* більшою мірою у хворих на остеоартрит, які перехворіли COVID-19, порівняно з групою хворих на остеоартрит колінних суглобів на фоні більш суттєвого зменшення як супероксиддисмутазної, так і каталазної активності (що свідчить про порушення редокс-статусу клітин і можливе приглушення TGF-β1-FoxO1 сигналізу) у пацієнтів з остеоартритом після SARS-CoV2-інфекції. У той же час було виявлено більш суттєве зниження рівня експресії гена *COMP* у хворих на остеоартрит, які перехворіли COVID-19, у порівнянні з групою хворих на остеоартрит колінних суглобів на тлі інтенсивнішого зростання концентрації *COMP* у пацієнтів з остеоартритом після SARS-CoV2-інфекції. Такі дані вказують на більш значне активування деструктивних процесів у клітинах після перенесеної інфекції та подальше прогресування захворювання.*

**Ключові слова:** SARS-CoV-2, експресія генів *TGFB1*, *FOXO1*, *COMP*, остеоартрит, *COMP*, каталаза, супероксиддисмутаза.

**Вступ.** Коронавірусні інфекції, в основному, характеризуються респіраторними симптомами, однак були виявлені ускладнення, пов'язані з дисфункцією опорно-рухового апарату. Зокрема, було встановлено, що артралгія присутня в 14,9 % випадків у хворих на коронавірусну інфекцію (Joob et al, 2020; Gasparotto et al,

2021). На сьогодні, недостатньо інформації про потенційний вплив цієї інфекції на дегенерацію хряща та запалення синовіальної оболонки при хронічному захворюванні суглобів – остеоартриті (OA) (Lai et al, 2020; Lauwers et al, 2022). У той же час вивчення молекулярно-генетичних механізмів виникнення цього захворювання та його можливого загострення внаслідок SARS-CoV2-інфекції є надзвичайно важливим (Lai et al, 2020; Gasmı et al, 2021; Lauwers et al, 2022).

Відомо, що OA притаманні зміни рівня хрящового олігомерного колагену, агрекану та хрящового олігомерного матричного білка (*COMP*, також відомий як тромбоспондин-5; кодується геном *COMP*) (Huet et al, 2019; Mishra et al, 2019; Jaabar et al, 2022). Було показано, що мутації гена *COMP* в людини, можуть призвести до дисплазії, у той час як нестача олігомерного матричного білка може зумовити артрити різної етіології, а також інші захворювання суглобів (Huet et al, 2019; Jaabar et al, 2022).

Мультифункціональний цитокін – трансформуючий фактор росту-β1 (TGF-β1, кодується геном *TGFB1*), який активує однойменний сигнальний каскад, є критичним регулятором захисту тканини суглобового хряща та гомеостазу хондроцитів (Mishra et al, 2019; Wang et al, 2020). Тим не менш, регуляторні мережі та низхідні сигнальні шляхи, які керують хондропротекторною функцією TGF-β в контексті OA, повністю не визначені. Нещодавно було запропоновано, що фактор транскрипції FoxO1 (forkhead box protein O1 (англ.)), кодується геном *FOXO1* є важливим медіатором TGF-β сигнального шляху і може захищати від OA шляхом підтримки гомеостазу суглобового хряща (Wang et al, 2020). Так, було вияв-

лено кореляцію між зниженням рівня експресії *TGFBI* і *FOXO1* та ОА-подібними патологіями в людини та на тваринних моделях (Matsuzaki et al, 2018; Lee et al, 2019; Wang et al, 2020).

Відомо, що розвиток остеоартритів також пов'язаний з окисним стресом та надлишковим продукуванням активних форм кисню (ROS). За фізіологічних умов ROS регулюють внутрішньоклітинні сигнальні процеси, старіння й апоптоз хондроцитів, синтез і деградацію позаклітинного матриксу, а за патології – синовіальне запалення та дисфункцію субхондральної кістки внаслідок пригнічення активності ферментів антиоксидантного захисту клітин (Wu et al, 2016; Abusarah et al, 2017; Lee et al, 2019).

З огляду на вищезазначене метою роботи було проаналізувати експресію генів *TGFBI*, *FOXO1* та *COMP* та інтенсивність вільнорадикальних процесів у крові хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції.

**Матеріали і методи.** *Формування дослідних та контрольної групи пацієнтів – добровольців для подальшого дослідження.* У дослідженні брали участь 60 людей (чоловіки) у віці від 40 до 45 років. Відбір добровольців та встановлення діагнозу у пацієнтів «остеоартрит колінних суглобів II–III ступеню» проводився на базі спеціалізованого медичного центру «Ортоклініка», місто Тернопіль, Україна. На етапі відбору усім хворим проводилася рентгенографія колінних суглобів у прямій (передньозадній) та боковій проєкціях. Оцінка інтенсивності болю та функціонального стану колінних суглобів хворих проводилася за допомогою розрахунку індексу WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index). Індекс WOMAC підраховується в результаті самостійного проходження пацієнтом тесту (McConnell et al, 2001), що включає 24 запитання, які відображають вираженість больових відчуттів (5 питань), скутості (2 питання) та функціональної активності (17 питань). Добровольці були поділені на наступні групи: перша група (n = 20) – умовно здорові люди; друга група (n = 20) – пацієнти з ОА колінних суглобів II–III ступеню; третя група (n = 20) – пацієнти з ОА колінних суглобів II–III ступеню, які перенесли легку та середньо-тяжку форму COVID-19 6 місяців тому. Діагноз COVID-19

було підтверджено молекулярним аналізом (ЗТ-ПЛР) мазка з носоглотки. Забір біологічного матеріалу (цільна кров, сироватка крові) проводився на базі спеціалізованого медичного центру «Ортоклініка», Тернопіль, Україна.

*Визначення супероксиддисмутази та каталазної активності в сироватці крові донорів усіх дослідних груп.* Супероксиддисмутазу (СОД) активність оцінювали за здатністю СОД конкурувати із нітросинім тетразолієм за супероксидні радикали (Durak et al, 1993). Каталазну активність вимірювали за кількістю незруйнованого пероксиду водню у пробі (Gyth, 1991). Вміст білка вимірювали за методом Лоурі (Lowry et al, 1951).

*Кількісна ЗТ-ПЛР у реальному часі.* РНК отримували за методом Chomczynski (Chomczynski et al, 1987) із цільної крові. Синтез кДНК та кількісну полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі (Real-time PCR, кПЛР) проводили за допомогою комерційного набору «Thermo Scientific Verso SYBR Green 1-Step qRT-PCR ROX Mix» («Thermo Scientific», Литва), за рекомендованих фірмою-виробником температурних умов.

У реакціях було використано такі послідовності праймерів: для *TGFBI*: прямий TTG-AGCCGTGGAGGGGAAATT та зворотний – AGGCCGGTTCATGCCATGAAT; *FOXO1*: прямий – GGCGGGCTGGAAGAATTCAAT та зворотний – CTCTTGCCACCCTCTGGATTGA; *COMP*: прямий – AAGTGGGCTACATCAGGGTG та зворотний – GTGTCATTCAGCGGTAACG; для *ACTB* (ген β-актину, що використовується в якості внутрішнього контролю реакції завдяки конститутивній експресії): прямий – CTCCAGCTCCTCCCTGGAG та зворотний – CCACAGGACTCCATGCCAG. Відтворюваність результатів ампліфікації було перевірено в паралельних експериментах шляхом повторення кПЛР на зразках РНК усіх добровольців, із кожним праймером не менше трьох разів. Відносну кількість мРНК обраховували за порівняльним  $C_T$  методом « $\Delta\Delta C_T$  Method» (Livak et al, 2001), ефективність ПЛР реакцій була однаковою ( $E_x = (10^{-1/\text{slope}}) - 1$ ),  $\text{slope} < 0,1$ . Відносний рівень експресії зазначених генів нормалізували до рівня експресії *ACTB*.

*ІФА.* Концентрацію *COMP* вимірювали в сироватці крові (у триплікатах на кожен зразок) за

допомогою імуноферментного набору реагентів «Human COMP DuoSet ELISA» (Catalog # DY3134, «Novus Biologicals», США) за рекомендаціями виробника (довжина хвилі 450 нм); використовуючи прилад «STAT FAX 2100» («Awareness Technology Inc.», США).

**Статистична обробка результатів досліджень.**

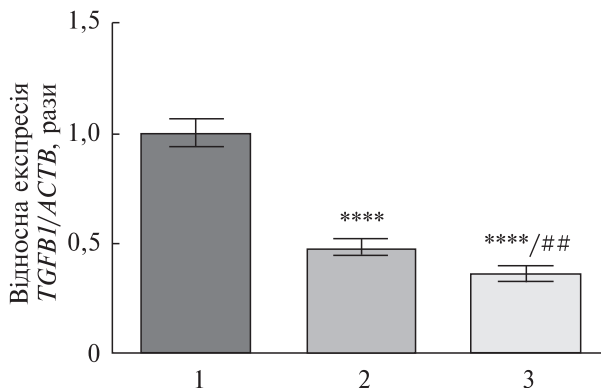
Отримані дані тестували на нормальне розподілення за допомогою тесту Шапіро-Вілка з використанням програмного пакету «GraphPad Prism 8.4.3» («GraphPad Software Inc.», США). Подальший обрахунок відбувався за допомогою односпрямованого дисперсійного аналізу (one-way ANOVA) із пост-тестом Тукея. Отримані результати наведені у вигляді середнього арифметичного  $\pm$  середньоквадратичне відхилення – SD. Результати вважали значущими, коли  $p \leq 0,05$ .

**Результати.** Рівень експресії генів *TGFBI* та *FOXO1*. У результаті проведених нами експериментальних досліджень було показано, що рівень експресії гену *TGFBI* у крові пацієнтів з ОА був нижчим у 2,1 раза ( $p \leq 0,0001$ ) порівняно з групою умовно здорових людей. У пацієнтів з ОА колінних суглобів після COVID-19, цей показник знижувався у 2,8 раза ( $p \leq 0,0001$ ) порівняно з групою умовно здорових людей та в 1,3 раза ( $p \leq 0,01$ ) порівняно з групою хворих на ОА (рис. 1).

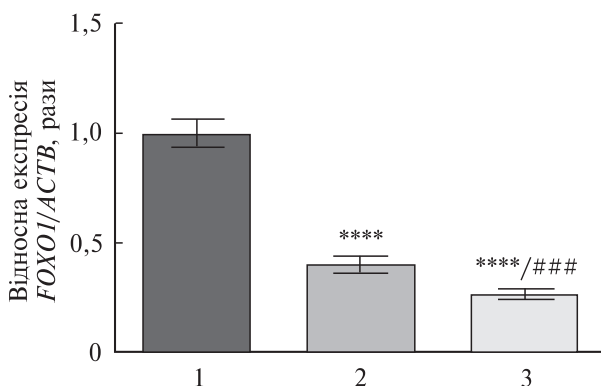
У результаті подальших досліджень було виявлено, що рівень експресії гену *FOXO1* у крові пацієнтів з ОА був нижчим у 2,5 раза ( $p \leq 0,0001$ ) порівняно з групою умовно здорових людей. У пацієнтів з ОА колінних суглобів після COVID-19, цей показник знижувався у 3,8 раза ( $p \leq 0,0001$ ) порівняно з групою умовно здорових людей та в 1,5 раза ( $p \leq 0,001$ ) порівняно з групою хворих на ОА (рис. 2).

**Рівень експресії гену *COMP*.** Нами було встановлено, що рівень експресії гену *COMP* у крові хворих на ОА був нижчим у 2,4 раза ( $p \leq 0,0001$ ) порівняно з групою умовно здорових людей. У пацієнтів з ОА колінних суглобів, які перехворіли COVID-19, цей показник знижувався у 3,3 раза ( $p \leq 0,0001$ ) порівняно з групою умовно здорових людей та в 1,4 раза ( $p \leq 0,05$ ) порівняно з групою хворих на ОА (рис. 3).

**Концентрація *COMP*.** У результаті проведених нами досліджень було показано, що в



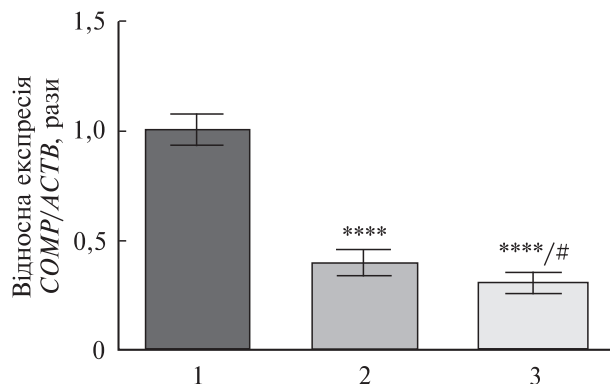
**Рис. 1.** Рівень експресії гену *TGFBI* у крові хворих на остеоартрит. 1 – умовно здорові люди; 2 – пацієнти з остеоартритом; 3 – остеоартрит + COVID-19; \*\*\*\* $p \leq 0,0001$  відносно умовно здорових людей; ## –  $p \leq 0,01$  відносно групи людей з остеоартритом



**Рис. 2.** Рівень експресії гену *FOXO1* у крові хворих на остеоартрит. 1 – умовно здорові люди; 2 – пацієнти з остеоартритом; 3 – остеоартрит + COVID-19; \*\*\*\* $p \leq 0,0001$  відносно умовно здорових людей; ### –  $p \leq 0,001$  відносно групи людей з остеоартритом

сироватці крові пацієнтів, хворих на ОА колінних суглобів, концентрація хрящового олігомерного матричного білка була вищою у 2,6 раза порівняно з групою умовно здорових людей (табл. 1). При аналізі цього показника у сироватці крові пацієнтів з ОА колінних суглобів, які перехворіли COVID-19, концентрація *COMP* збільшувалась у 3 раза відносно групи умовно здорових людей та майже в 1,2 раза порівняно з групою хворих на ОА (табл. 1).

**Супероксиддисмутаза та каталазна активність.** У результаті подальших експериментів було виявлено, що в сироватці крові пацієн-



**Рис. 3.** Рівень експресії гена *COMP* у крові хворих на остеоартрит. 1 – умовно здорові люди; 2 – пацієнти з остеоартритом; 3 – остеоартрит + COVID-19; \*\*\*\* $p \leq 0,0001$  відносно умовно здорових людей; # –  $p \leq 0,05$  відносно групи людей з остеоартритом

тів, хворих на ОА колінних суглобів, супероксиддисмутазна та каталазна активність були нижчими в 1,3 та 1,7 рази відповідно порівняно

**Таблиця 1.** Концентрація *COMP* у сироватці крові дослідних груп ( $M \pm SD$ ,  $n = 60$ )

Групи людей (чоловіки)	нг/мл
Умовно здорові ( $n = 20$ )	$54,1 \pm 3,8$
Остеоартрит ( $n = 20$ )	$142,1 \pm 13,2^{****}$
Остеоартрит + COVID-19 ( $n = 20$ )	$164,4 \pm 15,6^{****}/\#$

**Примітка.** \*\*\*\* –  $p \leq 0,0001$  відносно умовно здорових людей; # –  $p \leq 0,05$  відносно групи людей з остеоартритом.

**Таблиця 2.** Супероксиддисмутазна та каталазна активність у сироватці крові дослідних груп ( $M \pm SD$ ,  $n = 60$ )

Показник Групи людей (чоловіки)	Супероксиддисмутаза, ум. од. $\times$ $xv^{-1}$ $\times$ мг білка $^{-1}$	Каталаза, мкмоль $\times$ $xv^{-1}$ $\times$ мг білка $^{-1}$
Умовно здорові ( $n = 20$ )	$3,23 \pm 0,29$	$12,21 \pm 1,43$
Остеоартрит ( $n = 20$ )	$2,50 \pm 0,23^*$	$7,28 \pm 0,69^{***}$
Остеоартрит + COVID-19 ( $n = 20$ )	$1,80 \pm 0,15^{***}/\#$	$5,65 \pm 0,48^{***}/\#$

**Примітка.** \*\*\* –  $p \leq 0,001$ , \* –  $p \leq 0,05$  відносно умовно здорових людей; # –  $p \leq 0,05$  відносно групи людей з остеоартритом.

з групою умовно здорових людей (табл. 2). При дослідженні цього показника в сироватці крові пацієнтів з ОА колінних суглобів, які переохворіли COVID-19, супероксиддисмутазна та каталазна активність зменшувались в 1,8 та 2,2 рази відповідно у порівнянні з групою умовно здорових людей, та знижувалась в 1,4 та 1,3 рази відповідно порівняно з групою хворих на ОА (табл. 2).

**Обговорення.** Молекулярно-генетичні дослідження трьох FoxO (1, 3 та 4) показали, що TGF- $\beta$  сигналінг (зокрема, TGF- $\beta$ 1 сигнальний шлях) регулює виключно FoxO1 за допомогою TAK1 кінази, активованої TGF- $\beta$ . Ця кіназа (інша назва MAP3K7, «мітоген-активована білкова кіназа кінази кінази 7»; mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 (англ.)) – це цитозольна серин/треонінова протеїнкіназа родини MAP3K, компонент декількох сигнальних шляхів, регулюючих запалення та імунну відповідь організму. Так, було виявлено, що TGF- $\beta$ 1 стабільно індукував як експресію гена *FOXO1*, так і його продукту в суглобових хондроцитах (Wang 2020 et al, 2020).

У той же час, на тваринних моделях було виявлено, що постнатальна втрата FoxO1 у хрящі призводила до ОА-подібних патологій: початкове потовщення хряща прогресувало до його дегенерації (Matsuzaki et al, 2018; Lee et al, 2019; Wang et al, 2020). Подібні результати було отримано у пацієнтів з ОА та при старінні хряща (Verdonk et al, 2016). Навпаки, у мишей гіперекспресія *FOXO1* запобігала розвитку ОА. Таким чином, було запропоновано, що FoxO1 є важливим низхідним ефектором передачі сигналів TGF- $\beta$  в регуляції постнатального

гомеостазу хряща (Cheng et al, 2017; Wang et al, 2020).

Нами було встановлено зниження рівня експресії генів *TGFBI* та *FOXO1* (що свідчить про можливе приглушення TGF- $\beta$ 1-FoxO1 сигналіngu) більшою мірою у хворих на остеоартрит, які перехворіли COVID-19, порівняно з групою хворих на остеоартрит колінних суглобів. Це може бути пов'язано з посиленням загальносистемного запалення через реагування організму на вірусну інвазію.

Було показано, що втрата FoxO1 призвела до підвищення ROS, які були ефективно ліквідовані активацією аутофагії. І навпаки, *in vitro* введення в клітини вектору з FoxO1 інгібувало H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-індукований апоптоз клітин, активуючи дію ферментів антиоксидантного захисту. Подібні результати було отримано *in vivo*, на мишах з індукованим OA (Peng et al, 2017; Wang et al, 2020). Відомо, що за умов оксидативного стресу відбувається транслокацію FoxOs із цитоплазми в ядро за допомогою SIRT1 деацетилази, що призводить до активації FoxOs (Klotz et al, 2015; Wang et al, 2020). Отже, було запропоновано, що FoxO1 підтримує гомеостаз суглобових хондроцитів шляхом модуляції аутофагії, а гіперекспресія *FOXO1* у хондроцитах запобігає розвитку OA, спричиненого втраченою TGF- $\beta$ 1 сигнального каскаду. Однак механізм, за допомогою якого TGF- $\beta$ 1/FoxO1 регулює проліферацію та гомеостаз суглобових хондроцитів, потребує додаткових досліджень (Wang et al, 2020).

У нашій роботі вищезазначене зниження рівня експресії генів *TGFBI* та *FOXO1* у другій та третій групі хворих було показано на фоні зменшення як супероксиддисмутазної, так і каталазної активності, що свідчить про порушення редокс-статусу клітин. Як і при аналізі рівня експресії генів, пригнічення активності ферментів антиоксидантного захисту клітин було більш суттєвим у хворих на остеоартрит, які перехворіли COVID-19, порівняно з групою хворих на остеоартрит колінних суглобів. Порушення окисно-антиоксидантної рівноваги у бік інтенсифікації вільнорадикальних процесів відіграє важливе значення у патогенезі різних патологічних станів. Зокрема, у синовіальному середовищі суглоба вільнорадикальні процеси виконують значну роль у розвитку за-

пальної відповіді, ліпопероксидації та старінні клітин суглобового хряща (Wu et al, 2016; Abu-sarah et al, 2017; Lee et al, 2019).

І на доданок, на тваринних моделях OA, за гіперексперсії *FOXO*, у хондроцитах було показано як зростання рівня експресії генів, які кодують компоненти позаклітинного матриксу, *Comp*, *Colla1* (ген, що кодує  $\alpha$ 1-ланцюг колагену I типу) тощо; так і генів антиоксидантного захисту організму (Lee et al, 2019).

Так, нами було виявлено зниження рівня експресії гена *COMP* у другій та третій групі хворих на тлі зростання концентрації *COMP*. Це узгоджується з нашими даними стосовно порушення редокс-статусу клітин та зменшення рівня експресії генів *TGFBI* та *FOXO1*.

Адже зростання рівня ROS (на фоні зменшення рівня експресії *FOXO*) може індукувати катаболічну сигналізацію, викликати окисний стрес, збільшити експресію як генів, залучених у розвиток запалення, так і таких, що кодують матричні металопротеїнази (MMP), які, у свою чергу, впливають на матричні компоненти, включаючи колаген, агрекан, *COMP* (Huet et al, 2019; Mishra et al, 2019; Yamamoto et al, 2021). У такому випадку, фрагменти *COMP* вивільнюються в суглобову рідину навіть на ранніх стадіях OA, і тому *COMP* вважається маркером деградації хряща (Huet et al, 2019; Mishra et al, 2019; Jaabar et al, 2022).

Загалом, отримані нами результати збігаються з вищезазначеними даними літератури, де продемонстровано зв'язок системи TGF- $\beta$ 1-FoxO1 як з активністю ферментів антиоксидантної ланки організму, так і зі станом позаклітинного матриксу хондроцитів у патогенезі OA (Matsuzaki et al, 2018; Lee et al, 2019; Wang 2020 et al, 2020). Більш суттєве зниження рівня експресії гена *COMP* у хворих на остеоартрит, які перехворіли COVID-19, у порівнянні з групою хворих на остеоартрит колінних суглобів на тлі інтенсивнішого зростання концентрації *COMP* вказує на більш значне активування деструктивних процесів у клітинах після перенесеної інфекції та подальше прогресування захворювання, що узгоджується з даними літератури стосовно потенційного впливу COVID-19 на старіння суглобів та OA внаслідок запального процесу (Joob et al, 2020; Lai et al, 2020; Gasparotto et al, 2021; Lauwers et al, 2022).

**Висновки.** За допомогою молекулярно-біологічних підходів було показано зниження рівня експресії генів *TGFBI* та *FOXO1* більшою мірою у хворих на остеоартрит, які перехворіли COVID-19, порівняно з групою хворих на остеоартрит колінних суглобів на фоні більш суттєвого зменшення як супероксиддисмутазної, так і каталазної активності (що свідчить про порушення редокс-статусу клітин і можливе приглушення TGF- $\beta$ 1-FoxO1 сигналіngu) у пацієнтів з остеоартритом після SARS-CoV2-інфекції. Це може бути пов'язано з посиленням загально-системного запалення через реагування організму на вірусну інвазію. У той же час було виявлено більш суттєве зниження рівня експресії гена *COMP* у хворих на остеоартрит, які перехворіли COVID-19, у порівнянні з групою хворих на остеоартрит колінних суглобів на тлі інтенсивнішого зростання концентрації *COMP* у пацієнтів з остеоартритом після SARS-CoV2-інфекції. Такі дані вказують на більш значне активування деструктивних процесів у клітинах після перенесеної інфекції та подальше прогресування захворювання. Розуміння чітких механізмів формування більш важкого перебігу остеоартриту та розвитку ускладнень у пацієнтів із пост-COVID-19 синдромом на прикладі функціонування TGF- $\beta$ 1-FoxO1 сигнального каскаду потребує проведення подальших досліджень.

**Дотримання етичних стандартів.** Усі учасники, що добровільно та на безоплатній основі погодилися взяти участь у цьому дослідженні, ознайомилися та підписали відповідну форму інформованої згоди. Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964–2013 рр.), ІСН GCP (1996 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р.; і були схвалені комісіями з біоетики «Медичного центру Ортоклініка» (протокол № 1 від 17 січня 2022; м. Тернопіль, Україна) та Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка (протокол № 3 від 3 жовтня 2022; м. Київ, Україна). Було

вжито всіх необхідних заходів для забезпечення анонімності пацієнтів.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Фінансування.** Це дослідження не отримувало будь-якого конкретного гранту від фінансуючих установ у державному, комерційному або некомерційному секторах.

#### *TGFBI, FOXO1 AND COMP GENES EXPRESSION IN BLOOD OF PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS AFTER SARS-COV2 INFECTION*

A. Huet, Yu. Tugarov, K. Dvorshchenko, D. Grebinyk, O. Savchuk, O. Korotkyi, L. Ostapchenko

Educational and Scientific Center  
«Institute of Biology and Medicine»,  
Taras Shevchenko National University of Kyiv  
st. Vladimirska 64/13, Kyiv, Ukraine, 01601

Nowadays the possible influence of the coronavirus infection onto cartilage degeneration and synovial membrane inflammation during joint chronic pathology – osteoarthritis – remains largely unelucidated. The aim of the presented work is to analyze the *TGFBI*, *FOXO1* and *COMP* gene expression and free radical generation intensity in blood of patients suffering from osteoarthritis after beating the SARS-CoV2 infection. The work was carried out using molecular genetics and biochemistry methods. The decrease of the *TGFBI* and *FOXO1* expression level was shown to be more evident in the osteoarthritis patients having beaten COVID-19 if compared to the group with knee joint osteoarthritis, during simultaneous and more prominent diminishing of both superoxide dismutase and catalase activity (possibly indicating cell redox state disruption and TGF- $\beta$ 1-FoxO1 signaling attenuation) in patients with osteoarthritis having beaten SARS-CoV2 disease. At the same time the more prominent decrease of *COMP* gene expression level was demonstrated in patients with osteoarthritis having beaten COVID-19 comparing to the patient group with knee joint osteoarthritis in the event of more intense increase of the *COMP* concentration in patients with osteoarthritis after the SARS-CoV2 infection. This data indicates more significant activation of cell destructive processes after beating the infection as well as further pathology progression.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Abusarah J, Bentz M, Benabdoune H et al (2017) An overview of the role of lipid peroxidation-derived 4-hydroxynonenal in osteoarthritis. *Inflamm Res* 66(8):637–651. <https://doi.org/10.1007/s00011-017-1044-4>.

- Cheng NT, Meng H, Ma LF, et al (2017) Role of autophagy in the progression of osteoarthritis: The autophagy inhibitor, 3-methyladenine, aggravates the severity of experimental osteoarthritis. *Int J Mol Med* 39:1224–1232. <https://doi.org/0.3892/ijmm.2017.2934>.
- Chomczynski P, Sacchi N (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162(1): 156–159. <https://doi.org/10.1006/abio.1987.9999>.
- Durak I, Yurtarslan Z, Canbolat O et al (1993) A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta* 214(1):103–104. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(93\)90307-p](https://doi.org/10.1016/0009-8981(93)90307-p).
- Gasmi A, Tippairote T, Mujawdiya PK et al (2021) Neurological Involvements of SARS-CoV2. *Infection Mol Neurobiol* 58(3):944–949. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02070-6>.
- Gasparotto M, Framba V, Piovella C, Doria A, Iaccarino L (2021) Post-COVID-19 arthritis: a case report and literature review. *Clin Rheumatol* 40(8):3357–3362. <https://doi.org/10.1007/s10067-020-05550-1>.
- Gyth L (1991) A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta* 196(2–3):143–151. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(91\)90067-m](https://doi.org/10.1016/0009-8981(91)90067-m).
- Huet A, Dvorshchenko K, Korotkyi, O et al (2019) Expression of Nos2 and Acan Genes in Rat Knee Articular Cartilage in Osteoarthritis. *Cytol Genet* 53(6):481–488. <https://doi.org/10.3103/S0095452719060021>.
- Jaabar IL, Cornette P, Miche A et al (2022) Deciphering pathological remodelling of the human cartilage extracellular matrix in osteoarthritis at the supramolecular level. *Nanoscale* 24. <https://doi.org/10.1039/D2NR00474G>.
- Joob B, Wiwanitkit V (2020) Arthralgia as an initial presentation of COVID-19: observation. *Rheumatol Int* 40:823. <https://doi.org/10.1007/s00296-020-04561-0>.
- Klotz LO, Sánchez-Ramos C, Prieto-Arroyo I et al (2015) Redox regulation of FoxO transcription factors. *Redox Biol* 6:51–72. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.06.019>.
- Lai Q, Spoletini G, Bianco G et al (2020) SARS-CoV2 and immunosuppression: A double-edged sword. *Transpl Infect Dis* 22(6):e13404. <https://doi.org/10.1111/tid.13404>.
- Lauwers M, Au M, Yuan S et al (2022) COVID-19 in Joint Ageing and Osteoarthritis: Current Status and Perspectives. *Int J Mol Sci* 23(3):720. <https://doi.org/10.3390/ijms23020720>.
- Lee KI, Choi S, Matsuzaki T et al (2020) FOXO1 and FOXO3 transcription factors have unique functions in meniscus development and homeostasis during aging and osteoarthritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 117(6):3135–3143. <https://doi.org/10.1073/pnas.1918673117>.
- Livak K, Schmittgen T (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)). *Methods* 25(4):402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL et al (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193(1):265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6).
- Matsuzaki T, Alvarez-Garcia O, Mokuda S et al (2018) FoxO transcription factors modulate autophagy and proteoglycan 4 in cartilage homeostasis and osteoarthritis. *Sci. Transl Med* 10, eaan0746. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aan0746>.
- McConnell S, Kolopack P, Davis AM (2001) The Western Ontario and McMaster universities osteoarthritis index (WOMAC): a review of its utility and measurement properties. *Arthritis Care Res* 45(5): 453–461. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200110\)45:5<453::aid-art365>3.0.co;2-w](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200110)45:5<453::aid-art365>3.0.co;2-w).
- Mishra A, Awasthi S, Raj S et al (2019) Identifying the role of ASPN and COMP genes in knee osteoarthritis development. *J Orthop Surg Res* 14(1):337. <https://doi.org/10.1186/s13018-019-1391-7>.
- Peng Q, Qin J, Zhang Y et al (2017) Autophagy maintains the stemness of ovarian cancer stem cells by FOXA2. *J Exp Clin Cancer Res* 36, 171. <https://doi.org/10.1186/s13046-017-0644-8>.
- Verdonk R, Madry H, Shabshin N et al (2016) The role of meniscal tissue in joint protection in early osteoarthritis. *Knee Surg. Sports Traumatol Arthrosc* 24:1763–1774. <https://doi.org/10.1007/s00167-016-4069-2>.
- Wang C, Shen J, Ying J et al (2020) FoxO1 is a crucial mediator of TGF-β/TAK1 signaling and protects against osteoarthritis by maintaining articular cartilage homeostasis. *PNAS* 117(48):30488–30497. <https://doi.org/10.1073/pnas.2017056117>.
- Wu Q, Zhong ZM, Zhu SY et al (2016) Advanced oxidation protein products induce chondrocyte apoptosis via receptor for advanced glycation end products-mediated, redox-dependent intrinsic apoptosis pathway. *Apoptosis* 21(1):36–50. <https://doi.org/10.1007/s10495-015-1191-4>.
- Yamamoto K, Wilkinson D, Bou-Gharios G (2021) Targeting Dysregulation of Metalloproteinase Activity in Osteoarthritis. *Calcif Tissue Int* 109(3):277–290. <https://doi.org/10.1007/s00223-020-00739-7>.

Надійшла в редакцію 30.08.22  
Після доопрацювання 20.10.22  
Прийнята до друку 18.03.23