

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ *NOS2* ТА *PTGS2* ПРИ ОКИСНОМУ СТРЕСІ В КРОВІ ХВОРИХ НА ОСТЕОАРТРИТ ПІСЛЯ SARS-COV2-ІНФЕКЦІЇ

К.О. ДВОРЩЕНКО, А.С. ЮЕТ*, Ю.Р. ТУГАРОВ, Л.І. ОСТАПЧЕНКО

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

Автор для кореспонденції – Юет А.С., e-mail: alevtina.huet@knu.ua

Відомо, що вірус SARS-CoV-2, крім ураження паренхіми легень, може ушкоджувати інші системи органів та ускладнювати стан пацієнтів з коморбідними захворюваннями. Особливу групу складають хворі на хронічні захворювання, зокрема остеоартрити. Важливу роль у патогенезі остеоартритів виконує окисний стрес, розвиток якого пов'язаний з порушенням окисно-антиоксидантної рівноваги та розвитком запалення. Метою роботи було визначити ряд показників вільнорадикальних процесів та проаналізувати експресію генів *NOS2* та *PTGS2* у крові хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції. Всі учасники дослідження були розподілені на 3 експериментальні групи, середній вік пацієнтів в кожній групі був однаковим. До першої групи ($n = 25$) включено умовно здорових людей. Друга група ($n = 25$) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеню, у яких виключали можливу супутню наявність коронавірусної інфекції шляхом проведення епідеміологічного анамнезу кожного пацієнта та наявність контакту з хворими на COVID-19. Третя група ($n = 25$) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеню, які перенесли легку або середньотяжку форму COVID-19 6–9 місяців тому. Визначено наступні показники: плазма крові – вміст супероксидного радикалу, перекису водню, продукти перекисного окиснення ліпідів; цільна кров – експресія генів *NOS2* (синтази оксиду азоту) та *PTGS2* (циклооксигенази). Встановлено зростання вмісту активних форм кисню та концентрації продуктів перекисного окиснення ліпідів у плазмі крові хворих на остеоартрит, які мали SARS-CoV-2 інфекцію в більшому ступені порівняно з групою хворих на остеоартрит колінних суглобів. Показано, що у крові зростала експресія гена *NOS2* (у 2,5 рази в пацієнтів з остеоартритом колінних суглобів у порівнянні з умовно здоровими донорами та в 1,3 рази у хворих з остеоартритом, що перенесли хворобу COVID-19, відносно групи пацієнтів лише з остеоартритом) та гена *PTGS2* (у 2,3 рази в пацієнтів з остеоартритом порівняно з умовно здоровими волонтерами та в 1,3 рази у хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції відносно групи пацієнтів з остеоартритом),

що пов'язано з розвитком окисного стресу та запалення. Виявлені зміни досліджуваних показників свідчать про більшу інтенсифікацію вільнорадикальних процесів у крові пацієнтів хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції. На основі отриманих нами результатів можна зробити припущення, що у хворих на остеоартрит після інфікування SARS-CoV-2 можливий більш тяжкий перебіг хвороби суглобів та розвиток ускладнень. Такі пацієнти потребують персоналізованого підходу до проведення терапії як COVID-19, так і подальшого лікування остеоартриту після перенесеної коронавірусної інфекції.

Ключові слова: SARS-CoV-2, остеоартрит, запалення, окисний стрес, експресія генів *NOS2* та *PTGS2*.

Вступ. Глобальна пандемія коронавірусної хвороби 2019 року (coronavirus disease-2019, COVID-19) поширилася по всьому світу, створивши серйозну загрозу здоров'ю людей (Fernandes et al., 2022; Peeling et al., 2022; Huet et al., 2023). По-перше, COVID-19 – це висококонтагіозне вірусне захворювання, спричинене важким гострим респіраторним синдромом коронавірусу 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2). Не дивлячись на те, що значний прогрес у клінічних дослідженнях призвів до кращого розуміння розвитку коронавірусної хвороби, у багатьох країнах світу продовжуються спалахи цієї вірусної хвороби. Це зумовлено появою нових мутантних варіантів вірусу SARS-CoV-2, який здатний до генетичної еволюції за рахунок мутацій, як і інші РНК-віруси. Нові мутантні варіанти даного вірусу можуть мати інші характеристики, ніж його предкові штами. Тому COVID-19 так само може впливати на стан здоров'я населення всіх країн світу (Zhang et al., 2023; Chung et al., 2024).

Вірус SARS-CoV-2, як відомо, крім ураження паренхіми легень, здатний викликати розвиток і позалегенових симптомів, ушкоджуючи інші системи органів, що, у свою чер-

гу, ускладнює стан пацієнтів із коморбідними патологіями (Joob et al., 2020; Zhou et al., 2024; da Silva et al., 2023; Fedorowski et al., 2024). Важливу групу хронічних захворювань складають остеоартрити, на які страждає велика кількість населення. Так, згідно з дослідженнями Global Burden of Disease, у 2021 р. остеоартрит вразив приблизно 607 мільйонів людей у всьому світі, що становило близько 7,7 % світового населення (Han-Zheng et al., 2024). Остеоартрит є хронічним дегенеративним захворюванням суглобів, що характеризується втратою хрящової тканини суглобів, і здебільшого асоціюється зі скутістю, болем, обмеженням рухливості, набряком та загальним погіршенням стану всього організму. Остеоартрит має прогресуючий характер і з часом може призвести до повної втрати рухливості суглобу (Courties et al., 2024). Надмірні фізичні навантаження, травми опорно-рухового апарату, старіння, метаболічні порушення та інфекційні захворювання є основними факторами ризику розвитку остеоартритів. На сьогодні, до таких етіологічних чинників може бути доданою і вірусна інфекція SARS-CoV-2. Це захворювання створює очевидний ризик у пацієнтів з остеоартритами, що, у свою чергу, може підвищувати тяжкість його перебігу та сприяти розвитку ускладнень (Ono et al., 2020; Gasparotto et al., 2021; Nønge et al., 2021; Farisogullari et al., 2022).

Важливою ланкою у патогенезі остеоартритів відіграють вільнорадикальні процеси. За фізіологічних умов вільні радикали беруть участь у регулюванні клітинного сигналіngu, старінні та апоптозі хондроцитів, у синтезі та деградації позаклітинного матриксу, а за патології – у розвитку синовіального запалення та дисфункції субхондральної кістки (Ansari et al., 2020).

Ген *NOS2* кодує індукцибельну синтазу оксиду азоту (iNOS), яка є одним із ферментів, який обмежує швидкість у синтезі оксиду азоту (NO), і відіграє роль у опосередкуванні клітинної проліферації, апоптозу, окисного стресу та запалення. Синтез цього ферменту може активуватися під дією таких агентів, як: віруси, бактеріальні ліпополісахариди, прозапальні цитокіни (Spiller et al., 2019; Ahmad et al., 2020; Cinelli et al., 2020; Ostojic et al.,

2021). Ген *PTGS2* кодує простагландин-ендопероксидсинтазу 2 (*PTGS2*), також відому як циклооксигеназу 2 (cyclooxygenase-2, COX2), яка є ключовим ферментом у біосинтезі простагландинів та бере участь у розвитку запалення. За фізіологічних умов *PTGS2* в більшості рідин і тканин організму не синтезується, проте її рівень значуще зростає на фоні запальних процесів (Ferrer et al., 2019; Muraoka et al., 2020; Peng et al., 2019; Su et al., 2022).

В зв'язку з вище наведеним, вивчення окисно-антиоксидантних процесів у пацієнтів з остеоартритами, що перехворіли COVID-19, є актуальним. Метою роботи було визначити показники вільнорадикальних процесів та проаналізувати експресію генів *NOS2* та *PTGS2* у крові хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції.

Матеріали і методи. У досліджах брали участь 75 пацієнтів у віці від 45 до 55 років, які перебували на стаціонарному або амбулаторному лікуванні в ортопедичному спеціалізованому медичному центрі «Ортоклініка» (Тернопіль, Україна) з приводу остеоартриту. У пацієнтів був поставлений діагноз «остеоартрит колінних суглобів II–III ступеню» на підставі клінічних та рентгенологічних критеріїв. Усім хворим проводилася рентгенографія колінних суглобів у прямій (передньозадній) та боковій проекціях на етапі відбору. Оцінка інтенсивності болю та функціонального стану колінних суглобів хворих проводили, використовуючи розрахунок індексу WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index), що підраховується на основі самостійного проходження пацієнтом тесту, який мав 24 запитання, що відображали вираженість больових відчуттів (5 питань), скутість (2 питання) та функціональну активність (17 питань) (McConnell et al., 2001).

Усіх учасників дослідження після цього було поділено на 3 групи. Перша група (n = 25) – це умовно здорові люди (на початку епідемії були обрані волонтери, які не хворіли на COVID-19, що підтверджувалося відсутністю як клінічних симптомів захворювання, так і проведенням ПЛР-тестувань на наявність активної інфекції). Друга група (n = 25) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеню. Третя група (n = 25) – пацієн-

ти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеню, які перенесли легку та середньотяжку форму COVID-19 6–9 місяців тому. Діагноз COVID-19 було поставлено за допомогою ЗТ-ПЛР після отримання мазка з носоглотки. Забір біологічного матеріалу проводився на базі спеціалізованого медичного центру «Ортоклініка», місто Тернопіль, Україна.

Оцінка біохімічних показників. Концентрацію супероксидного радикалу вимірювали за утворенням ХТТ-формазану (Able et al., 1998). Концентрацію гідроген пероксиду визначали в системі сорбітол-ксиленол оранж (Jiang et al., 1990). Концентрацію дієнових кон'югатів встановлювали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом, шиффових основ – флуориметричним методом (Corongiu et al., 1994; Shimasaki, 1994). Концентрацію ТБК-активних продуктів вимірювали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) (Rowley et al., 1984). Визначення концентрації білка було проведено за допомогою методу Лоурі (Lowry et al., 1951).

Кількісна ЗТ-ПЛР у реальному часі. РНК виділяли методом Chomczynski (Chomczynski et al., 1987) із цільної крові. Зразки отриманої РНК обробляли ДНКазою за протоколом від фірми-виробника (DNase I, RNase-free (1 U/μL), «Thermo Fisher Scientific», США). Проведення реакції зворотної транскрипції та кількісну полімеразну ланцюгову реакцію ПЛР в реальному часі (qRT-PCR) проводили в один етап (обидві реакції в одній пробірці), використовуючи комерційний набір «Thermo Scientific Verso SYBR Green 1-Step qRT-PCR ROX Mix» («Thermo Scientific», Литва). Рекомендовані фірмою-виробником відповідні температурні умови становили: отримання кДНК 50 °C – 30 хв; початкова денатурація 95 °C – 15 хв; після цього 40 циклів: денатурація 95 °C – 15 с; відпал праймерів 55 °C – 30 с; синтез 72 °C – 30 с; фінальна добування ампліконів 72 °C – 5 хв.

У qRT-PCR використовували такі послідовності пар праймерів: для *PTGS2* – прямий – GC-AAATTGCTGGCAGGGTTG та зворотний – GCTCTGGTCAATGGAAGCCT; для *NOS2* – прямий – CACTGCCCGGGAAATGTTTG і зворотний – GTGATGGCCGACCTGATGTT; для *ACTB* (ген β-актину, який застосовується як ендogenous контроль проходження ПЛР у

реальному часі за рахунок постійної експресії): прямий – CTCCAGCTCCTCCCTGGAG і зворотний – CCACAGGACTCCATGCCAG. Відтворюваність одержаних результатів перевіряли в паралельних дослідах, повторюючи qRT-PCR із кожною парою праймерів 3 рази на усіх зразках РНК волонтерів. Відносний рівень експресії генів обраховували за допомогою порівняльного C_T методу – « $\Delta\Delta C_T$ Method» (Livak et al., 2001). Для цього на початку визначали ефективність ПЛР ($E_x = (10^{-1/\text{slope}}) - 1$), яка виявилась однаковою – 85 % (slope = -3,7). Відносний рівень експресії проаналізованих генів було нормалізовано до рівня експресії гена *ACTB*.

Статистичний аналіз результатів досліджень. Одержані результати перевіряли на нормальне розподілення, використовуючи тест Шапіро-Вілка у програмному пакеті «Graph Pad Prism 8.4.3» («GraphPad Software Inc.», США). Після цього було використано односпрямований дисперсійний аналіз (one-way ANOVA) з пост-тестом Тукея. Одержані результати представлені як середнє арифметичне ± стандартне відхилення (SD). Результати вважали статистично значущими при $p \leq 0,05$.

Результати та обговорення. Розвиток остеоартритів зумовлений інтенсифікацією вільнорадикальних процесів, що супроводжуються надлишковим продукуванням активних форм кисню (АФК) і азоту та пошкодженням біологічних молекул (білків, ліпідів, нуклеїнових кислот). Надмірне утворення вільних радикалів пов'язано з порушенням функціонування системи антиоксидантного захисту, в якому важлива роль належить ферментативній ланці (Ansari et al., 2020; Demirci-Çekiç et al., 2022). В результаті порушується окисно-антиоксидантна рівновага, що призводить до розвитку окисного стресу.

У проведених експериментах ми оцінювали інтенсивність вільнорадикальних процесів у плазмі крові хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції за концентрацією таких активних форм кисню, як супероксидний радикал і гідроген пероксиду, а також продуктів перекисного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук і шиффових основ).

Утворення реакційно здатної молекули супероксидного радикалу відбувається у резуль-

таті приєднання одного електрону до молекули кисню. У клітині супероксидний радикал виступає в якості проміжного продукту багатьох біохімічних реакцій: окиснення катехоламінів, тіолів, флавінів, хінонів, у тому числі метаболізму ксенобіотиків. Але основним джерелом його утворення є ферментативні системи: ксантинооксидаза, НАДФН-оксидаза фагоцитуючих клітин, мітохондріальна цитохром-с-оксидаза та мікросомальні моноокси-генази. Показано, що найвищий синтез НАДФН-оксидаз характерний для запальних клітин: нейтрофілів та макрофагів, що рекрутуються до пошкоджених тканин під час запалення (Meo et al., 2020).

Гідроген пероксиду утворюється у результаті двоелектронного відновлення його молекули або внаслідок дисмутації супероксидного радикалу. Біологічні ефекти H₂O₂, у свою чергу, є концентраційно-залежними: за високих концентрацій проявляє себе в якості цитотоксичного оксиданта, а за низьких — як сигнальна молекула (Bolduc et al., 2019).

Отже, за фізіологічних умов АФК беруть важливу участь у різних біохімічних процесах: регулюють сигнальні шляхи метаболізму тканин, тону судин, старіння і апоптоз хондроцитів, синтез і деградацію екстрацелюлярного матриксу хрящової тканини суглобу. Збільшена генерація АФК може спричинити пошкодження структурних біомолекул суглоба, і, діючи як внутрішньоклітинний сигнальний компонент, АФК пов'язані з різними запальними реакціями. Активуючи кілька сигнальних шляхів, АФК мають життєво важливе значення в патофізіології остеоартритів.

При оцінці концентрації АФК нами було виявлено, що концентрація супероксидного ра-

дикалу у плазмі крові групи хворих на остеоартрит зростає в 1,7 раза у порівнянні з групою умовно здорових волонтерів (табл. 1). Нами показано, що концентрація даного показника у плазмі крові пацієнтів з остеоартритом, які перехворіли COVID-19, збільшується в 1,4 раза відносно групи хворих на остеоартрит. Нами було показано, що в плазмі крові хворих на остеоартрит концентрація гідроген пероксиду зростає в 1,5 раза порівняно з таким показником у здорових людей. Під час проведення даних досліджень виявлено, що у плазмі крові пацієнтів з остеоартритом, які перенесли хворобу COVID-19, концентрація гідроген пероксиду збільшується в 1,3 раза у порівнянні з групою хворих на остеоартрит (табл. 1).

Одержані нами дані свідчать про посилене утворення вільних радикалів: супероксидного радикалу та гідроген пероксиду, що є реакційно здатними сполуками, що належать до АФК. Біологічні ефекти вільних радикалів, як було зазначено, є концентраційно-залежними: за низьких концентрацій вони проявляють себе в якості сигнальних молекул (наприклад, гідроген пероксиду), а за високих — як цитотоксичний оксидант (Sies et al., 2020; Lennicke et al., 2021). Біологічні ефекти вищезазначених інтермедіатів кисню реалізуються опосередковано — через посилення процесів окиснення біологічних молекул: ліпідів, білків, нуклеїнових кислот. Зокрема, АФК можуть прямо чи опосередковано пошкоджувати основні суглобові складові та спричинювати клінічні прояви запального артриту. Так, молекула гідроген пероксиду, яка добре дифузує, легко пригнічує синтез протеогліканів хряща. Це може відбуватися декількома шляхами: за рахунок втручання в синтез АТФ, частково шляхом

Таблиця 1. Концентрація активних форм кисню у плазмі крові дослідних груп (M±SD)

Показник Групи людей	Супероксидний радикал, мкмоль ХТТ-формазау × мг білка ⁻¹	Гідроген пероксиду, мкмоль × мг білка ⁻¹
Умовно здорові (n = 25)	0,41 ± 0,03	0,23 ± 0,02
Остеоартрит (n = 25)	0,69 ± 0,06*	0,35 ± 0,03*
Остеоартрит + COVID-19 (n = 25)	0,96 ± 0,09*/#	0,46 ± 0,04*/#

Примітка. * — p < 0,05 у порівнянні з контролем; # — p < 0,05 відносно групи людей з остеоартритом.

інгібування гліколітичного ферменту гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази в хондроцитах, посилюючи ефекти протеолітичної та опосередкованої вільними радикалами деградації хряща. Крім власної ушкоджуючої дії, супероксидний радикал та гідроген пероксиду є попередниками утворення сильного окислювача – гідроксид-радикалу, продукту трьохелектронного відновлення кисню, який пошкоджує біологічні молекули. У суглобах гідроксильні радикали розкладають ізольовані протеоглікани та фрагментують колаген, які складають основу сполучної тканини організму (хрящ, кістка, сухожилля тощо) та забезпечують її стабільність, міцність і еластичність. Таким чином, в ураженому суглобі вільні радикали сприяють прогресуванню ушкодження суглоба (Liu et al., 2022).

Як наслідок надмірного синтезу АФК на молекулярно-біологічному рівні є ушкодження біологічних молекул: ліпідів, білків і нуклеїнових кислот. Так, продукти перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), які утворюються при цьому, можуть слугувати маркером інтенсифікації вільнорадикальних процесів в клітинах та органах. Продукти окиснення ліпідів є статичними маркерами результатів зростання інтенсивності вільнорадикальних процесів. Основними продуктами ПОЛ є дієнові кон'югати (первинні продукти), ТБК-активні сполуки (вторинні продукти) і шиффові основи (кінцеві продукти). Так, при окисненні поліненасиченої арахідонової кислоти, за умов відриву водню у α -положенні відносно подвійного зв'язка, відбувається утворення дієнових кон'югатів. Дієнові кон'югати, у свою чергу, є нестійкими сполуками і перетворюються на ненасичені альдегіди. Малоновий діальдегід є головним представником цих продуктів

ПОЛ, адже складає біля 70 % усіх утворених альдегідів. Він синтезується з жирних кислот з трьома чи більше подвійними зв'язками. У нормі малоновий діальдегід бере участь у синтезі стероїдів і простагландинів, а за умов патології зшиває молекули ліпідів, білків, нуклеїнових кислот. Це спричинює структурно-функціональні зміни клітинних структур: зростає жорсткість та знижується плинність мембран, змінюється активність ферментів, утворюються ДНК-адукти, що спричинює мутації, порушуються процеси фагоцитозу, піноцитозу, клітинної міграції та ін. (Abusarah et al., 2017). При взаємодії карбонільних груп кетонів чи альдегідів із вільними аміногрупами утворюються кінцеві продукти ПОЛ – шиффові основи. У складі їх молекули обов'язковим є наявність подвійного зв'язку вуглець-азот, де азот сполучений з арильною чи алкільною групою. Через утворення шиффових основ активність ферментів змінюється, можливості структурних та скорочувальних білків падають, каналотворні білки мембрани деформуються і проникність мембран зростає, життєздатність та функціонування клітин зменшуються. В основному, продукти перекисного окиснення ліпідів проявляють виражену цитотоксичність, інгібують біохімічні метаболічні шляхи (гліколіз, окисне фосфорилування тощо), інактивують мембранні ферменти та процеси синтезу біомолекул (Su et al., 2019).

У результаті проведених нами експериментів було проаналізовано вміст первинних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів, проміжних продуктів ПОЛ – ТБК-активних сполук, головним з яких є малоновий діальдегід, та кінцевих продуктів ПОЛ – шиффових основ у плазмі крові людей. В процесі проведених нами експериментів було встановлено, що у

Таблиця 2. Концентрація продуктів перекисного окиснення ліпідів у плазмі крові дослідних груп (M±SD)

Групи людей Показник	Умовно здорові (n = 25)	Остеоартрит (n = 25)	Остеоартрит + COVID-19 (n = 25)
Дієнові кон'югати, ммоль × л ⁻¹	15,38 ± 1,39	29,08 ± 2,85 *	43,71 ± 4,26 */#
ТБК-активні продукти, ммоль × л ⁻¹	3,24 ± 0,31	6,79 ± 0,62 *	9,52 ± 0,88 */#
Шиффові основи, ум. од. × л ⁻¹	1,43 ± 0,12	3,45 ± 0,31 *	4,47 ± 0,41 */#

Примітка. * – p < 0,05 у порівняння з контролем; # – p < 0,05 відносно групи людей з остеоартритом.

групі пацієнтів з остеоартритом концентрація первинних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів зростає в 1,9 раза відносно умовно здорових донорів (табл. 2). При визначенні даного параметра у плазмі крові групи хворих на остеоартрит, які перехворіли COVID-19, концентрація дієнових кон'югатів збільшується в 1,5 раза у порівнянні з хворими на остеоартрит. Виявлено, що у плазмі крові хворих на остеоартрит концентрація ТБК-активних сполук (вторинних продуктів ПОЛ) – зростає в 2,1 раза по відношенню до контрольної групи. При оцінці концентрації зазначеного показника у плазмі крові пацієнтів з остеоартритом, які перенесли легку та середньотяжку форму COVID-19, концентрація ТБК-активних сполук зростала в 1,4 раза порівняно з групою хворих на остеоартрит (табл. 2). Визначено, що концентрація кінцевих продуктів ПОЛ – шиффових основ у плазмі крові хворих на остеоартрит збільшується в 2,4 раза відносно такого індекса в умовно здорових волонтерів. Показано, що концентрація цього показника у плазмі крові пацієнтів з остеоартритом, які перехворіли COVID-19, зростає в 1,3 раза у порівнянні з групою хворих лише на остеоартрит (табл. 2).

Одержані нами дані вказують про накопичення продуктів ліпідної пероксидації у плазмі крові хворих на остеоартрит. При цьому спостерігаються більш інтенсивні процеси ПОЛ в організмі пацієнтів з остеоартритом, які перехворіли хворобою COVID-19, що, у свою чергу, підтверджує більш посилене порушення окисно-антиоксидантної рівноваги. Такі результати вказують на превалювання вільнорадикальних процесів і розвиток окисного стресу в організмі. По-перше, утворені продукти ПОЛ зумовлюють накопичення токсичних сполук (кетонів, альдегідів тощо) та подальше ушкодження ліпідів, білків та нуклеїнових кислот. Зокрема, малоновий діальдегід може реагувати з ДНК, утворюючи ДНК-адукти. Крім цього, внаслідок взаємодії з ε -NH₂-групами лізину або N-кінцевими амінокислотами білків, з NH₂-групами глікозамінів і фосфоліпідів малоновий діальдегід здатний формувати містки всередині молекул і між ними, утворюючи шиффові основи. Це спричинює порушення струк-

турно-функціонального стану біомолекул (Jové et al., 2020). Так, у дослідженнях на моделі *in vitro* було показано, що малоновий альдегід окислював білки хрящового матриксу. Це, у свою чергу, призводило до біохімічних та біофізичних змін властивостей тканини хряща (Abusarah et al., 2017).

У синовіальній рідині пацієнтів, хворих на остеоартрит, був показаний розвиток окисного стресу (Wu et al., 2016), зокрема збільшення продукції АФК (H₂O₂, NO[•]) та інтенсифікація процесів ПОЛ (збільшення вмісту малонового діальдегіду). При цьому, як у синовіальній рідині, так і в плазмі, пацієнтів було виявлено інгібування активності ферментів антиоксидантного захисту (каталази, супероксиддисмутази, глутатіон-S-трансферази, глутатіонпероксидази) на тлі зменшення вмісту відновленого глутатіону (Wu et al., 2016; Huet et al., 2023). Посилення вільнорадикального окислення та інтенсифікація прооксидантних властивостей синовіальної рідини пацієнтів з остеоартритом залежали від тяжкості оперативного втручання при артроскопії та вираженості патологічного процесу і зумовлювали поглиблення деструктивно-дистрофічних змін суглобового хряща та зростання рівня апоптозу й некрозу хондроцитів.

Водночас, ліпідні радикали збільшують експресію простагландинів та збільшують набряк, що призводить до прогресування запалення. Вважається, що простагландини, кількість яких зростає в синовіальній рідині та синовіальній оболонці, відіграють основну роль у розвитку вазодилатації, екстравазації рідини та болю в синовіальній тканині. На додаток, було показано, що простагландини (головним чином простагландин E2) можуть бути медіаторами, які беруть участь у складних взаємодіях, що спричинюють ерозію суглобового хряща та навколосуглобової кістки (Ferrer et al., 2019; Muraoka et al., 2020; Peng et al., 2019; Su et al., 2022). Внаслідок цього інгібітори циклооксигенази-2 та нестероїдні протизапальні препарати як інгібітори синтезу простагландинів широко застосовуються при лікуванні артритів.

Таким чином, окисний стрес відіграє важливу роль при розвитку остеоартриту, призводячи до запалення та деградації хрящового матриксу в суглобах. Продукція АФК та по-

дальші процеси ПОЛ зв'язані з антиоксидантною здатністю хондроцитів, виконуючи ключову роль у сигнальних шляхах, залучених до деградації хряща та загибелі хондроцитів (Wichmann et al., 2020; Wu et al., 2020).

Отже, для кращого пояснення етіології та розвитку остеоартриту важливими є біохімічні та молекулярно-біологічні маркери руйнування суглобів, які є одними із найважливіших характеристик у прогресуванні захворювання. Вивчення різноманітних факторів та сигнальних шляхів, що спричинюють катаболічне пошкодження хряща, має першорядне значення для розуміння розвитку остеоартриту. Зокрема, серед цих факторів показники інтенсивності вільнорадикальних процесів (АФК, продукти перекисного окиснення ліпідів і білків) є важливими параметрами оцінки структурно-функціонального стану суглобу.

З літератури відомо, що вірусні інфекції можуть спричинювати розвиток гострої артралгії та артрити. Так, моноартикулярний артрит може виникати після інфікування різними збудниками, такими як вірус гепатиту С, вірус гепатиту В, вірус імунодефіциту людини, вірус Епштейна-Барра, парвовірус тощо. Крім цього, респіраторні вірусні інфекції в осіб похилого віку та жінок призводять до зростання кількості випадків розвитку ревматоїдного артрити (Joo et al., 2019). Вважається, що такі симптоми загалом виникають через запальні та/або імунні реакції, у розвиток яких залучені прозапальні цитокіни: фактор некрозу пухлин- α (ФНП- α), інтерлейкін-1 (ІЛ-1), ІЛ-6, ІЛ-17, які вивільнюються при альвеолярному та скелетно-м'язовому запаленні (Darif et al., 2021; Montazersaheb et al., 2022). Особливо чутливими до розвитку реактивних артритів, викликаних інфекційними агентами, є хворі, в яких уже діагностовано остеоартрит.

Також інтенсифікація вільнорадикальних процесів безпосередньо пов'язана з запальними процесами у суглобі (Liu et al., 2022). Медіатори запалення, такі як ІЛ-1 β , ФНП- α та ІЛ-6, сильно активуються в суглобах при остеоартриті. Вони індуюють продукування АФК та експресію матриксних протеаз, що веде до деградації позаклітинного матриксу хряща та дисфункції суглобів. У свою чергу,

утворені органічні перекиси посилюють експресію простагландинів, що поглиблює розвиток запалення (Wu et al., 2016). АФК та запалення є взаємозалежними процесами і кожен є мішенню для іншого. Отже, дані літератури вказують на зв'язок між надмірним виробництвом вільних радикалів та розвитком запалення при остеоартриті, що опосередковує місцеві тканинні реакції між компонентами суглобу. Таким чином, окисний стрес, не тільки сприяє руйнуванню хряща, але також бере участь у запальній трансформації, сприяючи переходу від клінічно прихованого руйнування хряща до явного прояву клінічних симптомів остеоартриту. Враховуючи отримані нами дані, важливим є подальше вивчення протікання остеоартриту в пацієнтів, які перенесли хворобу COVID-19.

Нами було проведено вивчення молекулярно-генетичних основ розвитку вільнорадикальних процесів та запалення в організмі людей з остеоартритом після COVID-19. Зокрема, ми визначили рівень експресії генів *NOS2* та *PTGS2*.

iNOS продукує монооксид азоту (NO), що є вільним радикалом і діє в якості вторинного посередника в багатьох процесах, таких як: нейротрансмісія, протимікробна та протипухлинна активність. Однак при надмірному синтезі NO стимулює розвиток окисного стресу та пошкодження біологічних молекул (Cinelli et al., 2020). Так, ендогенний NO, що продукується у невеликих кількостях конститутивною синтазою, насамперед в ендотеліальних клітинах (eNOS), регулює базальний вазомоторний тонус і підтримує ендотелій у стані спокою. Навпаки, NO, в надлишку, що продукується індукованою синтазою оксиду азоту під час септичного шоку, може викликати небезпечні для життя вазоплегію (паралітичне розширення судин) та гіпотензію (низький кров'яний тиск) (Kawaguchi et al., 2020; Oliveira et al., 2022). Накопичені дані свідчать про те, що NO вважається одним із головних медіаторів запалення при остеоартриті та викликає багато патологічних змін під час його розвитку та прогресування. Надмірне вироблення NO в хондроцитах сприяє руйнуванню хряща та пошкодженню клітин. Синтез NO в хондроцитах каталізується індукцибельною синтазою

оксиду азоту, тому даний показник є важливим параметром оцінки вільнорадикальних і запальних процесів у хрящі, а також привабливою терапевтичною мішенню для лікування остеоартритів (Spiller et al., 2019; Ahmad et al., 2020; Cinelli et al., 2020; Ostojic et al., 2021).

У проведених нами дослідженнях було показано, що у пацієнтів з остеоартритом колінних суглобів рівень експресії гена *NOS2* зростає у 2,5 рази ($p \leq 0,0001$) у порівнянні з умовно здоровими донорами (рис. 1). Водночас, у хворих з остеоартритом, що перенесли хворобу COVID-19, зазначений індекс збільшувався в 1,3 рази ($p \leq 0,0001$) відносно групи пацієнтів лише з остеоартритом (рис. 1).

Виявлене збільшення рівня експресії гена *NOS2* у крові хворих на остеоартрит після SARS-CoV-2-інфекції відбувається завдяки дії прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ФНП- α , інтерферон- γ) та прямого впливу самого вірусу. Посилення активності індукцибельної NO-синтази може викликати підвищення синтезу NO, який є медіатором запалення. Він індуктує синтез і вивільнення прозапальних цитокінів – ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-3, ІЛ-6, хемокінів, лейкотрієнів, які, у свою чергу, стимулюють міграцію лейкоцитів у вогнище запалення.

Разом з тим, індукцибельна NO-синтаза модулює експресію протизапальних цитокінів: ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-11 та ІЛ-13 (He et al., 2018). Крім цього, високий рівень NO призводить до розвитку окисного стресу внаслідок як взаємодії цієї молекули із супероксидним радикалом, так і утворення потужного радикалу-окислювача – пероксинітриду ($O=N-O-O-$), який за своєю реакційною здатністю переважає всі кисневі радикали. Отже, монооксид азоту має не лише протимікробну дію, але й може бути активатором вільнорадикальних процесів, спричинюючи пошкодження структур організму (Prasad et al., 2021). Отримані результати свідчать, що надмірне зростання рівня експресії гена *NOS2* у крові пацієнтів з остеоартритом, які перенесли COVID-19, може спричинити інтенсифікацію вільнорадикальних процесів та прогресування запалення у хрящовій тканині суглобів хворих.

Відомо, що *PTGS2* може бути мішенню для нестероїдних протизапальних препаратів, які,

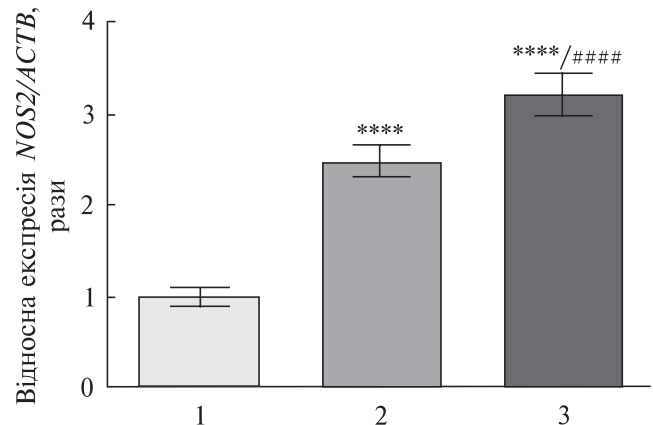


Рис. 1. Рівень експресії гена *NOS2* у крові хворих на остеоартрит. 1 – умовно здорові люди; 2 – пацієнти з остеоартритом; 3 – остеоартрит + COVID-19; **** $p \leq 0,0001$ порівняно з умовно здоровими людьми; #### – $p \leq 0,0001$ порівняно групи хворих з остеоартритом

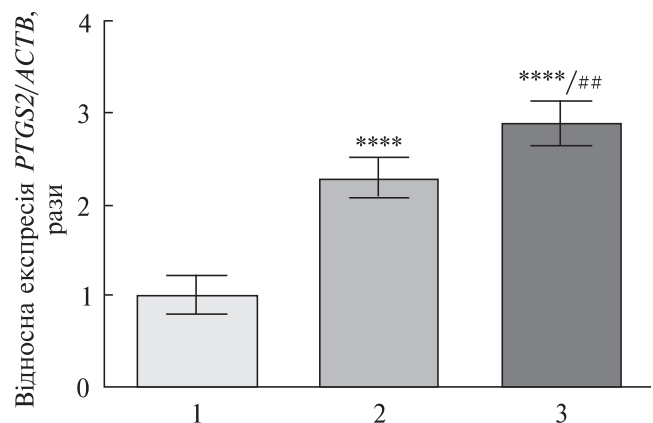


Рис. 2. Рівень експресії гена *PTGS2* у крові хворих на остеоартрит. 1 – умовно здорові люди; 2 – пацієнти з остеоартритом; 3 – остеоартрит + COVID-19; **** $p \leq 0,0001$ порівняно з умовно здоровими людьми; ## – $p \leq 0,01$ порівняно групи хворих з остеоартритом

у свою чергу, застосовуються при консервативній терапії різних запальних захворювань суглобів (Ferrer et al., 2019; Su et al., 2022). Нами визначено, що у пацієнтів з остеоартритом рівень експресії гена *PTGS2* збільшувався в 2,3 рази ($p \leq 0,0001$) порівняно з умовно здоровими волонтерами (рис. 2). Показано, що в крові хворих на остеоартрит, які перенесли хворобу COVID-19, цей показник зростає в 1,3 рази ($p \leq 0,001$) відносно групи пацієнтів з остеоартритом (рис. 2).

Виявлене зростання рівня експресії гена *PTGS2* у крові хворих на остеоартрит після хвороби COVID-19 може зумовити активування синтезу медіатора запалення – простагландину E2. Біологічна дія простагландину E2, у свою чергу, реалізується через розширення та збільшення проникності мікроциркуляторних судин і розвиток запальної гіперемії, у тому числі супресію функцій лімфоцитів та поліморфоядерних лейкоцитів. Поява набряків є наслідком збільшення проникності мікроциркуляторних судин. Крім цього, простагландин E2 сенсibiliзує закінчення больових нервів до дії алгезуючих агентів, а також гістаміну та брадикініну (Muraoka et al., 2019; Peng et al., 2019).

Виявлене нами збільшення експресії генів *NOS2* та *PTGS2* індукується прозапальними цитокінами, які відіграють ключову роль у ініціації та прогресуванні остеоартритів. Так, вивільнення ІЛ-1 β сприяє виробленню та вивільненню кількох медіаторів запалення та катаболічних факторів, таких як індукбельна синтаза оксиду азоту, циклооксигеназа-2, простагландин E2, ФНП- α та матриксні металопротеїнази (ММП), які сприяють хондрітарній дисфункції та деградації екстрацелюлярного матриксу (Jenei-Lanzl et al., 2018; Vincent, 2019). NO є медіатором запалення, який стимулює вивільнення ММП та різних запальних цитокінів, включаючи простагландин E2 і ФНП- α (Leonidou et al., 2020). Зі свого боку, циклооксигеназа-2 посилює синтез простагландину E2 і він залучається у розвиток остеоартриту. Експериментальні дослідження підтверджують те, що інгібування вироблення ІЛ-1 β -індукованих медіаторів запалення може бути корисним у лікуванні остеоартритів (Wang et al., 2019; Aman et al., 2022; Yu et al., 2023).

Відомо, що через посилення продукування прозапальних цитокінів у пацієнтів із COVID-19 відбувається ураження багатьох органів, в тому рахунку і суглобів (Darif et al., 2021; Taha et al., 2021; Sher et al., 2023). Їх виробництво може бути пов'язано з боротьбою організму з вірусом або при розвитку «цитокінового шторму», що може погіршити стан пацієнтів (Bhaskar et al., 2020; Tang et al., 2020; Montazersaheb et al., 2022). Також експресія та розподіл у тканинах ангіотен-

зинперетворюючого ферменту 2 (Angiotensin I converting enzyme 2, ACE-2) може пояснити спостереження ознак і симптомів COVID-19 за межами дихальних шляхів (Verdecchia et al., 2020), зокрема в кишечнику, тонких кровоносних судинах, м'язах та синовіальній тканині суглобів (Li et al., 2020). Припускається, що у хворих коронавірусною інфекцією, можуть розвиватися симптоми артриту, що пов'язано з механізмом дії вірусу на організм. Так, SARS-CoV-2 потрапляє в клітину через ACE-2 та сприймається Toll-подібним рецептором-7 (Toll-like receptor-7, TLR-7). Згідно біоінформаційних досліджень виявлено, що геном SARS-CoV-2 містить велику кількість фрагментів, які розпізнаються TLR-7. На додаток до його експресії в імунологічних клітинах, TLR-7 експресується переважно в легенях і бронхах, що дозволяє SARS-CoV-2 бути високорозпізнаним у регіонах його тропізму. Активація TLR-7 призводить до активування N-кінцевої кінази c-Jun та передачі сигналів транскрипційного ядерного фактора-кВ (Nuclear factor kappa B, NF-кВ). Це зумовлює продукування ІЛ-6 та ІЛ-12p40 (Lokugamage et al., 2020; Moreno-Eutimio et al., 2020). Отже, є вірогідним поява симптомів запалення, характерних для вірусного артриту, у пацієнтів з COVID-19. Крім того, SARS-CoV-2 може активувати імунітет системи для вироблення аутоантитіл, що спричинює системну аутоімунну відповідь (Knight et al., 2021; Liu et al., 2021). Це може призвести до розвитку аутоімунних розладів. У пацієнтів з уже наявними ревматичними захворюваннями може спостерігатися їх загострення під час інфекції SARS-CoV-2. У них також можуть розвинути нові аутоімунні ознаки. Імунодепресанти, які використовуються під час гострої хвороби COVID-19, можуть спотворити результати, тоді як супутні захворювання, наявні у пацієнтів із ревматичними захворюваннями, можуть їх маскувати. Існує нагальна потреба спостерігати за пацієнтами, які одужують від COVID-19, і контролювати вироблення аутоантитіл у контексті ревматичних проявів. Ключові моменти COVID-19 пов'язані як із вродженими, так і з набутими імунними реакціями та виробленням різноманітних аутоантитіл (Arachchilage et al., 2022; Chang et al., 2023). Отже, у пацієнтів після

хвороби COVID-19 можуть розвинути різні імуніопосередковані прояви, в тому рахунку аутоімунні артрита (Dewanjee et al., 2021; Gasparotto et al., 2021; Zacharias et al., 2021). Таким чином, у пацієнтів після SARS-CoV2, вірогідний розвиток як інфекційного артриту, так і ускладнення перебігу вже існуючого хронічного артриту.

Отже, вірусна інфекція SARS-CoV-2 викликає численні запальні ускладнення, що призводить не тільки до важкого запалення легень, але й до ураження інших систем та органів, в тому рахунку опорно-рухового апарату. Незважаючи на те, що наразі увага зосереджена на лікуванні гострої форми COVID-19, зростає занепокоєння щодо довгострокових наслідків COVID-19 (Long Covid) на людей, що мають хронічні захворювання (Davis et al., 2023). Так, люди з остеоартритами після коронавірусної хвороби відмічають погіршення стану суглобів, що підтверджується нами і на біохімічному та молекулярно-генетичному рівні. Таким чином, потрібне визначення терапевтичних цілей не тільки для лікування гострої форми COVID-19, але й для запобігання довгострокових наслідків коронавірусної хвороби, щоб зменшити вірогідність більш важкого перебігу остеоартритів та запобігти розвитку їх ускладнень. Це, у свою чергу, зможе покращити якість життя пацієнтів та зменшить економічні витрати країни на відновлення здоров'я хворих.

Висновки. Показано, що у хворих на остеоартрит колінних суглобів у плазмі крові зростає концентрація АФК та продуктів ПОЛ. Водночас, у крові виявлено збільшення експресії генів *NOS2* і *PTGS2*, залучених у розвиток окисного стресу та запалення. Виявлені зміни досліджуваних показників є більш інтенсивними у хворих на остеоартрит після SARS-CoV-2-інфекції порівняно з пацієнтами, що страждають лише на остеоартрит. Отримані дані свідчать про зсув окисно-антиоксидантної рівноваги у бік інтенсифікації вільнорадикальних процесів та розвиток окисного стресу у людей з остеоартритом, які перехворіли хворобою COVID-19. Для розуміння механізмів формування більш важкого перебігу остеоартриту та можливого розвитку ускладнень у пацієнтів з пост-COVID-19 синдромом

необхідно проводити подальші дослідження даної коморбідної патології.

Дотримання етичних стандартів. Усі волонтери за власним бажанням погодилися взяти участь у цьому науковому дослідженні, а також ознайомилися та підписали інформовану згоду відповідної форми. Досліди виконано з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964–2013 pp.), ICH GCP (1996 p.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 p.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 p., № 944 від 14.12.2009 p., № 616 від 03.08.2012 p. Окрім цього, їх було схвалено Комісією з питань біоетики ТОВ «Ортоклініка» (протокол № 1 від 17 січня 2022 p.; Тернопіль, Україна) та Комісією з питань біоетики ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка (протокол № 3 від 3 жовтня 2022 p.; Київ, Україна). Усі необхідні заходи для забезпечення анонімності пацієнтів були дотримані.

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.

NOS2 AND *PTGS2* GENES EXPRESSION DURING OXIDATIVE STRESS IN BLOOD OF PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS AFTER SARS-COV2 INFECTION

*K. Dvorshchenko, A. Huet,
Yu. Tugarov, L. Ostapchenko*

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

It is known that, aside from lung parenchyma damage, SARS-CoV-2 virus can compromise other organ systems and complicate the condition of patients with comorbid pathologies. The special group of such patients consists of people suffering from chronic illnesses, namely osteoarthritis. An important role in osteoarthritis pathogenesis is played by oxidative stress developed due to oxidant-antioxidant equilibrium disturbance and inflammation induction. The aim of presented work was

the estimation of several parameters of free radical process intensity and to analyze the expression *NOS2*, *PTGS2* genes in blood of the patients with osteoarthritis after beating SARS-CoV2 infection. All participants were divided into 3 experimental groups with the same average age in every group. The first group (n = 25) included conditionally healthy people. The second group (n = 25) consisted of patients with II–III degree knee joint osteoarthritis with the exclusion of possible concomitant coronavirus infection presence by performing epidemiological anamnesis of every patient as well as contacts with people having active COVID-19 disease. The third group (n = 25) – the II–III degree knee joint osteoarthritis patients, having already beaten COVID-19 illness of light or medium severity 6–9 months ago. The following parameters were elucidated: in blood plasma – superoxide radical and hydrogen peroxide content, concentration of lipid peroxidation products; in whole blood – nitrogen oxide synthase (*NOS2*) and cyclooxygenase (*PTGS2*) gene expression. The results showed the increase in active oxygen radical content and lipid peroxidation product concentration in blood plasma from knee joint osteoarthritic patients also having active SARS-CoV-2 infection, and these increases were more pronounced compared to the patient group with knee joint osteoarthritis only. In blood it was shown that the expression of *NOS2* gene increased (by 2.5 times in patients with osteoarthritis of the knee joints compared to healthy donors and by 1.3 times in patients with osteoarthritis who had COVID-19, compared to the group of patients with osteoarthritis only) and *PTGS2* gene (by 2.3 times in patients with osteoarthritis compared to healthy volunteers and by 1.3 times in patients with osteoarthritis after SARS-CoV2 infection compared to the group of patients with osteoarthritis), which is associated with the development of oxidative stress and inflammation. The shown research parameter changes indicate more active intensification of free radical processes in blood of osteoarthritis patients, having beaten SARS-CoV2. Taking into consideration the obtained results the assumption can be made about more severe disease progress and possibility of complications in osteoarthritis patients after SARS-CoV-2. Hence, these patients require personalised approach in both COVID-19 and further osteoarthritis treatment after recovering from coronavirus infection.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Able, A.J., Guest, D.I., and Sutherland, M.W., Use of a new tetrazolium-based assay to study the production of superoxide radicals by tobacco cell cultures challenged with avirulent zoospores of phytophthora parasitica varnicotianae, *Plant Physiology*, 1998, vol. 117(2), pp. 491–499. <https://doi.org/10.1104/pp.117.2.491>
 Abusarah, J., Bentz, M., and Benabdoune, et al., An

overview of the role of lipid peroxidation-derived 4-hydroxynonenal in osteoarthritis, *Inflamm. Re.*, 2017, vol. 66, no. 8, pp. 637–651. <https://doi.org/10.1007/s00011-017-1044-4>
 Ahmad, N., Ansari, M.Y., and Haqqi, T.M., Role of iNOS in osteoarthritis: Pathological and therapeutic aspects, *J. Cell Physiol.*, 2020, vol. 235, no. 10, pp. 6366–6376. <https://doi.org/10.1002/jcp.29607>
 Aman, Z.S., DePhillipo, N.N., and Familiari, F, et al., Acute Intervention With Selective Interleukin-1 Inhibitor Therapy May Reduce the Progression of Posttraumatic Osteoarthritis of the Knee: A Systematic Review of Current Evidence, *Arthroscopy*, 2022, vol. 38, no. 8, pp. 2543–2556. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2022.02.009>
 Ansari, M.Y., Ahmad, N., and Haqqi, T.M., Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols, *Biomed Pharmacother*, 2020, vol. 129, p. 110452. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110452>
 Arachchillage, D.J., Rajakaruna, I., and Pericleous, C., et al., CA-COVID-19 Study Group. Autoimmune disease and COVID-19: a multicentre observational study in the United Kingdom, *Rheumatology (Oxford)*, 2022, vol. 61, no. 12, pp. 4643–4655. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keac209>
 Bhaskar, S., Sinha, A., and Banach, M., et al., Cytokine storm in COVID-19-immunopathological mechanisms, clinical considerations, and therapeutic approaches: the REPROGRAM Consortium Position Paper, *Front. Immunol.*, 2020, vol. 11, p. 1648. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01648>
 Bolduc, J.A., Collins, J.A., and Loeser, R.F., Reactive oxygen species, aging and articular cartilage homeostasis, *Free Radic. Biol. Med.*, 2019, vol. 132, pp. 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.08.038>
 Chang, R., Chen T, Y.-T., and Wang, S.I., et al., Risk of autoimmune diseases in patients with COVID-19: A retrospective cohort study, *EclinicalMedicine*, 2023, vol. 56, pp. 101783. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2022.101783>
 Chomczynski, P., and Sacchi, N., Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction, *Anal. Biochem.*, 1987, vol. 162, no. 1, pp. 156–159. <https://doi.org/10.1006/abio.1987.9999>
 Chung, Y.S., Lam, C.Y., and Tan, P.H., et al., Comprehensive Review of COVID-19: Epidemiology, Pathogenesis, Advancement in Diagnostic and Detection Techniques, and Post-Pandemic Treatment Strategies, *Int. J. Mol. Sci.*, 2024, vol. 25, no. 15, p. 8155. <https://doi.org/10.3390/ijms25158155>
 Cinelli, M.A., Do, H.T, and Miley, G.P., et al., Inducible nitric oxide synthase: Regulation, structure, and inhibition, *Med. Res. Rev.*, 2020, vol. 40, no. 1, pp. 158–189. <https://doi.org/10.1002/med.21599>

- Corongiu, F.P., and Banni, S., Detection of conjugated dienes by second derivative ultraviolet spectrophotometry, *Methods Enzymol.*, 1994, vol. 233, pp. 303–310. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(94\)33033-6](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(94)33033-6)
- Courties, A., Kouki, I., and Soliman, N., et al., Osteoarthritis year in review 2024: Epidemiology and therapy, *Osteoarthritis Cartilage*, 2024, vol. 32, no. 11, pp. 1397–1404. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2024.07.014>
- da Silva, L.N.M., Filho, A.G.O., and Guimarras, J.B., Musculoskeletal manifestations of COVID-19, *Skeletal Radiol.*, 2024, vol. 53, no. 10, pp. 2009–2022. <https://doi.org/10.1007/s00256-023-04549-4>
- Darif, D., Hammi, I., and Kihel, A., et al., The pro-inflammatory cytokines in COVID-19 pathogenesis: What goes wrong? *Microb. Pathog.*, 2021, vol. 153, p. 104799. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104799>
- Davis, H.E., McCorkell, L., and Vogel, J.M., et al., Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations, *Nat. Rev. Microbiol.*, 2023, vol. 21, no. 3, pp. 133–146. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00846-2>
- Demirci-Çekiç, S., Özkan, G., and Avan, A.N., et al., Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense, *J. Pharm. Biomed Anal.*, 2022, vol.5, no. 209, pp. 114477. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114477>
- Dewanjee, S., Kandimalla, R., and Kalra, R.S., et al., COVID-19 and Rheumatoid Arthritis Crosstalk: Emerging Association, Therapeutic Options and Challenges, *Cells*, 2021, vol. 10, no. 12, p. 3291. <https://doi.org/10.3390/cells10123291>
- Farisogullari, B., Pinto, A.S., and Machado, P.M., COVID-19-associated arthritis: an emerging new entity? *RMD Open*, 2022, vol. 8, no. 2, p. e002026. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2021-002026>
- Fedorowski, A., Fanciulli, A., and Raj, S.R., et al., Cardiovascular autonomic dysfunction in post-COVID-19 syndrome: a major health-care burden, *Nat. Rev. Cardiol.*, 2024, vol. 21, no. 6, pp. 379–395. <https://doi.org/10.1038/s41569-023-00962-3>
- Fernandes, Q., Inchakalody, V.P., and Merhi, M., et al., Emerging COVID-19 variants and their impact on SARS-CoV-2 diagnosis, therapeutics and vaccines, *Ann. Med.*, 2022, vol. 54, no. 1, pp. 524–540. <https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2031274>
- Ferrer, M.D., Busquets-Cortés, C., and Capy, X., et al., Cyclooxygenase-2 Inhibitors as a Therapeutic Target in Inflammatory Diseases, *Curr. Med. Chem.*, 2019, vol. 26, no. 18, pp. 3225–3241. <https://doi.org/10.2174/0929867325666180514112124>
- Gasparotto, M., Framba, V., and Piovella, C., et al., Post-COVID-19 arthritis: a case report and literature review, *Clin. Rheumatol.*, 2021, vol. 40, no. 8, pp. 3357–3362. <https://doi.org/10.1007/s10067-020-05550-1>
- Han-Zheng, L., Xue-Zhen, L. and Yi-Qing, S., et al., Global, regional, and national burdens of osteoarthritis from 1990 to 2021: findings from the 2021 global burden of disease study, *Front. Med. (Lausanne)*, 2024, vol. 11, p. 1476853. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1476853>
- He, X.F., Li, W., and Zhu, L.M., et al., Investigation for effects of iNOS on biological function of chondrocytes in rats with post-traumatic osteoarthritis, *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2018, vol. 22, no. 21, pp. 7140–7147. https://doi.org/10.26355/eurrev_201811_16245
- Hønge, B.L., Hermansen, M.-L.F., and Storgaard, M., Reactive arthritis after COVID-19, *BMJ Case Rep.*, 2021, vol. 14, no. 3, p. e241375. <https://doi.org/10.1136/bcr-2020-241375>
- Huet, A., Tugarov, Y., Dvorshchenko, K., et al., *TGFB1*, *FOXO1*, and *COMP* Genes Expression in Blood of Patients with Osteoarthritis after SARS-CoV2 Infection, *Cytol. Genet.*, 2023, 57, no. 2, pp. 128–133. <https://doi.org/10.3103/S009545272302010X>
- Jenei-Lanzl, Z., Meurer, A., and Zaucke, F., Interleukin-1 β signaling in osteoarthritis – chondrocytes in focus, *Cell Signal.*, 2019, vol. 53, pp. 212–223. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.10.005>
- Jiang, Z.Y., Woollard, A.C., and Wolff, S.P., Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation, *Febs Letters*, 1990, vol. 268, no. 1, pp. 69–71. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(90\)80974-n](https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)80974-n)
- Joo, Y.B., Lim, Y.H., and Kim K.J., et al., Respiratory viral infections and the risk of rheumatoid arthritis, *Arthritis Res. Ther.*, 2019, vol. 21, p. 199. <https://doi.org/10.1186/s13075-019-1977-9>
- Joob, B., and Wiwanitkit, V., Arthralgia as an initial presentation of COVID-19: observation, *Rheumatol. Int.*, 2020, vol. 40, p. 823. <https://doi.org/10.1007/s00296-020-04561-0>
- Jové, M., Mota-Martorell, N., and Pradas, I., et al., The Advanced Lipoxidation End-Product Malondialdehyde-Lysine in Aging and Longevity, *Antioxidants (Basel)*, 2020, vol. 9, no. 11, p. 1132. <https://doi.org/10.3390/antiox9111132>
- Kawaguchi, S., Okada, M., and Ijiri, E., et al., β_3 -Adrenergic receptor blockade reduces mortality in endotoxin-induced heart failure by suppressing induced nitric oxide synthase and saving cardiac metabolism, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2020, vol. 318, no. 2, pp. H283–H294. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00108.2019>
- Knight, J.S., Caricchio, R., and Casanova, J.L., et al., The intersection of COVID-19 and autoimmunity,

- J. Clin. Invest.*, 2021, vol. 131, no. 24, p. e154886. <https://doi.org/10.1172/JCI1154886>
- Lennicke, C., and Cochemé, H.M., Redox metabolism: ROS as specific molecular regulators of cell signaling and function, *Mol. Cell*, 2021, vol. 81, no. 18, pp. 3691–3707. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.08.018>
- Leonidou, A., Lepetsos, P., and Mintzas, et al., Inducible nitric oxide synthase as a target for osteoarthritis treatment, *Expert Opin. Ther. Targets*, 2018, vol. 22, pp. 299–318. <https://doi.org/10.1080/14728222.2018.1448062>
- Li, M.Y., Li, L., and Zhang, Y., et al., Expression of the SARS-CoV2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues, *Infect. Dis. Poverty*, 2020, vol. 9, no. 1, p. 45. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00662-x>
- Liu, L., Luo, P., and Yang, et al., The role of oxidative stress in the development of knee osteoarthritis: A comprehensive research review, *Front Mol. Biosci.*, 2022, vol. 20, no. 9, p. 1001212. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.1001212>
- Liu, Y., Sawalha, A.H., and Lu, Q., COVID-19 and autoimmune diseases, *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2021, vol. 33, no. 2, pp. 155–162. <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000776>
- Livak, K., and Schmittgen, T., Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)), *Methods*, 2001, vol. 25, no. 4, pp. 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Lokugamage, K.G., Hage, A., and de Vries, M., et al., Type I interferon susceptibility distinguishes SARS-CoV-2 from SARS-CoV, *bioRxiv.*, 2020, vol. 94, no. 23, p. e01410-20. <https://doi.org/10.1128/JVI.01410-20>
- Lowry, O., Rosebrough, N., and Farr, A. et al., Protein measurement with Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, no. 1, pp. 265–275
- McConnell, S., Kolopack, P., and Davis, A.M., The Western Ontario and McMaster universities osteoarthritis index (WOMAC): a review of its utility and measurement properties, *Arthritis Care Res.*, 2001, vol. 45, no. 5, pp. 453–561. [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)
- Meo, S.D., and Venditti, P., Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2020, vol. 23, pp. 9829176. <https://doi.org/10.1155/2020/9829176>
- Montazersaheb, S., Hosseiniyan, K.S.M., and Hejazi, M.S., et al., COVID-19 infection: an overview on cytokine storm and related interventions, *Virol. J.*, 2022, vol. 19, no. 1, pp. 92. <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01814-1>
- Moreno-Eutimio, M.A., Lypez-Macías C., and Pastelin-Palacios, R., Bioinformatic analysis and identification of single-stranded RNA sequences recognized by TLR7/8 in the SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV genomes, *Microbes Infect.*, 2020, vol. 22, pp. 226–229. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2020.04.009>
- Muraoka, N., Nara, K., and Tamura, F., et al., Role of cyclooxygenase-2-mediated prostaglandin E2-prostaglandin E receptor 4 signaling in cardiac reprogramming, *Nat. Commun.*, 2019, vol. 10, no. 1, pp. 674. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08626-y>
- Oliveira, F.R.M.B., Assreuy, J., and Sordi R., The role of nitric oxide in sepsis-associated kidney injury, *Biosci. Rep.*, 2022, vol. 42, no. 7, p. BSR20220093. <https://doi.org/10.1042/BSR20220093>
- Ono, K., Kishimoto, M., and Shimasaki, T., et al., Reactive arthritis after COVID-19 infection, *RMD Open*, 2020, vol. 6, no. 2, pp. e001350. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2020-001350>
- Ostojic, M., Zevrnja, A., and Vukojevic, K., et al., Immunofluorescence Analysis of NF-κB and iNOS Expression in Different Cell Populations during Early and Advanced Knee Osteoarthritis, *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, 22, no. 12, pp. 6461. <https://doi.org/10.3390/ijms22126461>
- Peeling, R.W., Heymann, D.L., and Teo, Y.Y. et al., Diagnostics for COVID-19: moving from pandemic response to control, *Lancet.*, 2022, vol. 399, no. 10326, pp. 757–768. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02346-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02346-1)
- Peng, A., Lu, X., and Huang, J., et al., Rheumatoid arthritis synovial fibroblasts promote TREM-1 expression in monocytes via COX-2/PGE₂ pathway, *Arthritis Res. Ther.*, 2019, vol. 21, no. 1, pp. 169. <https://doi.org/10.1186/s13075-019-1954-3>
- Prasad, S., Kulshreshtha, A., and Lall, R. et al., Inflammation and ROS in arthritis: management by Ayurvedic medicinal plants, *Food Funct.*, 2021, vol. 12, no. 18, pp. 8227–8247. <https://doi.org/doi:10.1039/d1fo01078f>
- Rowley, D., Gutteridge, J.M.C., and Blake, D., et al., Lipid peroxidation in rheumatoid arthritis: thio-barbituric acid-reactive material and catalytic iron salts in synovial fluid from rheumatoid patients, *Clin. Sci.*, 1984, vol. 66, pp. 691–695. <https://doi.org/10.1042/cs0660691>
- Sher, E.K., Čosović, A., and Džidić-Krivić, A., et al., Covid-19 a triggering factor of autoimmune and multi-inflammatory diseases, *Life Sci.*, 2023, vol. 319, pp. 121531. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121531>
- Shimasaki, H., Assay of fluorescent lipid peroxidation products, *Methods Enzymol.*, 1994, vol. 233, pp. 338–346. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(94\)33039-5](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(94)33039-5)
- Sies, H., and Jones, D.P. Reactive oxygen species (ROS)

- as pleiotropic physiological signalling agents, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2020, vol. 21, no. 7, pp. 363–383. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
- Spiller, F., Oliveira, F.R., and da Silva, F.C.J., et al., Targeting nitric oxide as a key modulator of sepsis, arthritis and pain, *Nitric Oxide*, 2019, vol. 89, pp. 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.04.011>
- Su, L.J., Zhang, J.H., and Gomez, H., et al., Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2019, pp. 5080843. <https://doi.org/10.1155/2019/5080843>
- Su, W., Liu, G., and Mohajer, B., et al., Senescent pre-osteoclast secretome promotes metabolic syndrome associated osteoarthritis through cyclooxygenase 2, *Elife*, 2022, vol. 11, pp. e79773. <https://doi.org/10.7554/eLife.79773>
- Taha, S.I., Samaan, S.F., and Ibrahim, R.A., et al., Post-COVID-19 arthritis: is it hyperinflammation or autoimmunity? *Eur. Cytokine Netw.*, 2021, vol. 32, no. 4, pp. 83–88. <https://doi.org/10.1684/ecn.2021.0471>
- Tang, Y., Liu, J., and Zhang, D., et al., Cytokine storm in COVID-19: the current evidence and treatment strategies, *Front Immunol.*, 2020, vol. 11, pp. 1708. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01708>
- Verdecchia, P., Cavallini, C., and Spanevello, A., et al., The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection, *Eur. J. Intern. Med.*, 2020, vol. 76, pp. 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2020.04.037>
- Vincent, T.L., IL-1 in osteoarthritis: time for a critical review of the literature. *F1000Res.*, 2019, vol. 8 (F1000 Faculty Rev-934). <https://doi.org/10.12688/f1000research.18831.1>
- Wang, B.W., Jiang, Y., and Yao, Z.L., et al., Aucubin Protects Chondrocytes Against IL-1 β -Induced Apoptosis In Vitro And Inhibits Osteoarthritis In Mice Model, *Drug Des. Devel. Ther.*, 2019, vol. 13, pp. 3529–3538. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S210220>
- Wichmann, D., Sperhake J.-P., and Lütgehetmanne, M., et al., Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19, *Ann. Intern. Med.*, 2020, vol. 173, no. 4, pp. 268–277. <https://doi.org/10.7326/M20-2003>
- Woodell-May, J.E., and Sommerfeld, S.D., Role of Inflammation and the Immune System in the Progression of Osteoarthritis, *J. Orthop. Res.*, 2020, vol. 38, no. 2, pp. 253–257. <https://doi.org/10.1002/jor.24457>
- Wu, Q., Zhong, Z.M., and Zhu, S.Y., et al., Advanced oxidation protein products induce chondrocyte apoptosis via receptor for advanced glycation end products-mediated, redox-dependent intrinsic apoptosis pathway, *Apoptosis.*, 2016, vol. 21, no. 1, pp. 36–50. <https://doi.org/10.1007/s10495-015-1191-4>
- Wu, Z., and McGoogan, J.M., Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention, *JAMA*, 2020, vol. 323, no. 13, pp. 1239–1242. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>
- Yu, L., Luo, R., and Qin, G., et al., Efficacy and safety of anti-interleukin-1 therapeutics in the treatment of knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *J. Orthop. Surg. Res.*, 2023, vol. 18, no. 1, pp. 100. <https://doi.org/10.1186/s13018-023-03590-2>
- Zacharias, H., Dubey, S., and Koduri, G., et al., Rheumatological complications of Covid 19, *Autoimmun. Rev.*, 2021, vol. 20, no. 9, pp. 102883. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102883>
- Zhang, H.P., Sun, Y.L., and Wang Y.F., et al., Recent developments in the immunopathology of COVID-19, *Allergy*, 2023, vol. 78, no. 2, pp. 369–388. <https://doi.org/10.1111/all.15593>
- Zhou, Z., Zhao, N., and Shu, Y., et al., Effect of Gastrointestinal Symptoms in Patients with COVID-19, *Gastroenterology*, 2020, vol. 158, no. 8, pp. 2294–2297. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.03.020>

Надійшла в редакцію 11.07.2025
Після доопрацювання 12.08.2025
Прийнята до друку 18.11.2025