

УДК 616.72-002: 616-002.2  
DOI: 10.17721/1728.2748.2023.94.10-14

Сергій БОРОДИН, асп.  
ORCID ID: 0000-0002-7146-6874  
e-mail: borodindoc@gmail.com  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Алевтина ЮЕТ, канд. біол. наук  
ORCID ID: 0000-0002-6511-2201  
e-mail: alevtina.dranitsina@gmail.com  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Катерина ДВОРЩЕНКО, д-р біол. наук  
ORCID ID: 0000-0003-3118-9355  
e-mail: katernyna.dvorshchenko@knu.ua  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

## ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ *PTGS2* ТА *NOS2* У СИНОВІАЛЬНІЙ РІДИНІ ХВОРИХ НА ОСТЕОАРТРИТ ПІСЛЯ SARS-CoV2-ІНФЕКЦІЇ

**Вступ.** Поява нового коронавірусу *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2* (SARS-CoV-2) створила серйозну глобальну загрозу здоров'ю людей різних країн. Коронавірусна хвороба 2019 р. (*Coronavirus disease 2019, COVID-19*) спричинила розвиток багатьох ускладнень у населення більшості країн світу. Багато людей відчули на собі неприємні наслідки коронавірусної інфекції. Серед них особливу групу становлять хворі на хронічні захворювання, зокрема остеоартрити. Розвиток запалення та інтенсифікація вільнорадикальних процесів є провідною ланкою у патогенезі остеоартритів. Запальні та дегенеративні процеси, що розвиваються при остеоартриті, викликають модифікацію молекулярного та клітинного складу синовіальної рідини. Мета роботи – визначити експресію генів *PTGS2* (*Prostaglandin-endoperoxide synthase 2*) та *NOS2* (*Nitric Oxide Synthase 2*) у клітинах синовіальної рідини хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції.

**Методи.** Усі учасники дослідження були поділені на дві групи: 1-ша група ( $n = 22$ ) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня; 2-га група ( $n = 14$ ) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня, які перенесли легку та середньотяжку форму COVID-19 6–9 міс. тому. У ядерних клітинах синовіальної рідини визначали експресію генів *PTGS2* та *NOS2*. РНК отримували за методом *Chomczynski*. Синтез кДНК і кількісну полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі (*Real-time PCR*, кПЛР) за допомогою комерційного набору "Thermo Scientific Verso SYBR Green 1-Step qRT-PCR ROX Mix" ("Thermo Scientific", Литва). Обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

**Результати.** У хворих на остеоартрит колінних суглобів після SARS-CoV2-інфекції, у ядерних клітинах синовіальної рідини збільшується експресія генів *PTGS2* та *NOS2* порівняно з пацієнтами, у яких діагностовано остеоартрит.

**Висновки.** Отримані результати свідчать, що у хворих на остеоартрит після інфікування COVID-19 можливий розвиток більш тяжкого перебігу синовіального запалення.

**Ключові слова:** SARS-CoV-2, остеоартрит, синовіальна рідина, запалення, експресія генів *NOS2*, *PTGS2*.

### Вступ

Починаючи з 2002 року, було зареєстровано три великі спалахи зоонозного вірусу – коронавірусу, який, як відомо, викликає респіраторні захворювання. Захворюваність на SARS-CoV (*Severe Acute Respiratory Syndrome-coronavirus*, коронавірус тяжкого гострого респіраторного синдрому) у 2002 і 2003 рр. і MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome-coronavirus*, коронавірус Близькосхідного респіраторного синдрому) у 2012 р. продемонструвала можливість передачі нових коронавірусів від тварини до людини та від людини до людини. У грудні 2019 року було повідомлено про новий коронавірус (nCoV) під назвою "SARS-CoV-2" (*Severe Acute Respiratory Syndrome-related coronavirus 2*), який Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) оголосила відповідальним за спалах пандемії коронавірусної хвороби 2019 року (*Coronavirus disease 2019, COVID-19*). Таким чином, за останні кілька десятиліть коронавірус за рахунок мутацій та адаптації подолав міжвидовий бар'єр, що призвело до його поширення серед людей. Отже, поява нового коронавірусу створила серйозну глобальну загрозу здоров'ю населення в усіх країнах світу (Gupta et al., 2022; Mohamadian et al., 2021).

Нещодавній спалах COVID-19 у Китаї, який почався у місті Ухань, провінція Хубей, спричинив зараження близько 771 млн осіб і забрав майже 7 млн життів у всьому світі (World Health Organization, 2023). Дослідники

повідомили, що вірус постійно розвивається та поширюється через безсимптомних носіїв, що свідчить про високу глобальну загрозу здоров'ю популяції людей.

SARS-CoV-2 вражає епітеліальні клітини дихальної системи людини. Це призводить до розвитку таких клінічних симптомів, як респіраторні: сухий кашель, задишка, втрата або порушення смаку та запаху, а також системні симптоми: лихоманка, головний біль, підвищена втомлюваність та інші ознаки. Подальший розвиток коронавірусної хвороби може призвести до тяжких ускладнень: пневмонії, гострого респіраторного дистрес-синдрому та сепсису. Крім респіраторних та системних симптомів, у пацієнтів можуть розвиватися ураження опорно-рухового апарату, що симптоматично буде проявлятися болями в м'язах і суглобах, набряканням та зменшенням рухливості суглобів. У таких пацієнтів перебіг захворювання стає більш тяжким та ускладненим (Campos et al., 2022; Farisogullari, Pinto, & Machado, 2022; Ono et al., 2020; Yüce, Filiztekin, & Özkaya, 2021).

Недостатньо вивченим залишається питання причинно-наслідкових зв'язків між вірусом SARS-CoV-2 та ураженням опорно-рухової системи організму людини. Цей новий потенційний зв'язок потребує детального дослідження. Завдяки сучасним молекулярно-генетичним методам стало можливим вивчення молекулярних механізмів захворювань, що є одним із ключових завдань сучасних біомедичних досліджень. У роботі було

досліджено взаємозв'язок між розвитком коронавірусної хвороби у пацієнтів з остеоартритом та експресією генів, пов'язаних із запаленням та окисним стресом. У роботі проведено дослідження експресії генів *PTGS2* (Prostaglandin-endoperoxide synthase 2) та *NOS2* (Nitric Oxide Synthase 2) у клітинах синовіальної рідини хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції.

Синовіальна рідина є фізіологічною рідиною суглоба, вона має гелеподібну структуру та заповнює суглобову щілину. Для суглобового хряща синовіальна рідина виконує ряд важливих функцій: змащування суглоба, джерело поживних речовин та захист суглоба від ушкоджуючих агентів. Окрім того синовіальна рідина опосередковує молекулярну комунікацію за допомогою розчинних факторів між різними популяціями клітин у суглобі. Синовіальна рідина складається з ультрафільтрату плазми крові, який дифундує в суглобову щілину з субінтимальної судинної мережі, а також гіалуронової кислоти та лубрицину, що виділяються синовіоцитами типу В, які походять із фібробластів. Гіалуронова кислота підтримує в'язкість синовіальної рідини та запобігає втраті рідини з суглобової порожнини. Лубрицин наявний на поверхні суглобового хряща і необхідний для змащування суглобів і підтримки їхнього здорового стану. Ядерні клітини, які часто виявляються в синовіальній рідині, включають нейтрофіли, лімфоцити, моноцити та макрофаги (Gupta et al., 2019; Oliviero, & Mandell, 2023). Зміни об'єму та вмісту компонентів синовіальної рідини відбуваються у відповідь на травму, запалення та проникнення бактерій, грибків або вірусів. Коли пацієнти звертаються з гострим болем у суглобах із підозрою на інфекцію, запалення або незапальні причини випоту, аспірація та аналіз синовіальної рідини є обов'язковими, щоб допомогти в діагностиці та виборі безпосереднього методу лікування.

Запальні та дегенеративні процеси, що розвиваються при остеоартриті, викликають модифікацію молекулярного та клітинного складу синовіальної рідини. За таких умов вона стає менш в'язкою і втрачає свої унікальні в'язкопружні властивості через зменшення молекулярної маси та концентрації гіалуронової кислоти, зміни в профілях ферментів і появи прозапальних елементів (цитокінів, лейкоцитів тощо). Зокрема, при остеоартриті у синовіальній рідині підвищується вміст медіаторів запалення (простагландин Е2, лейкотрієн В4), цитокінів (інтерлейкін (ІЛ)-1 $\beta$ , ІЛ-6, фактор некрозу пухлин  $\alpha$ ), оксиду азоту (NO) та активних форм кисню (АФК), які вивільняються з хондроцитів, синовіоцитів і лейкоцитів, що сприяє деградації суглобового хряща (Linehan et al., 2022; Liu, Xiao, & Li, 2023). Також надзвичайно важливий підрахунок загальної кількості ядерних клітин у синовіальній рідині для розділення запальних і незапальних артропатій і диференціювання різних причин запального артрити. Зокрема, запальні та септичні синовіальні рідини характеризуються збільшенням кількості лейкоцитів (Girón, & Torre, 2020). Отже, артроцентез і дослідження синовіальної рідини є важливим діагностичним параметром, який може підтвердити наявність артрити, охарактеризувати реакцію як запальний або незапальний і, за деяких обставин, виявити етіологічний агент.

Для розуміння молекулярних механізмів розвитку остеоартритів ми проаналізували та порівняли отримані дані експресії генів *PTGS2* (циклооксигеназа 2) та *NOS2* (індуцибельна NO-синтаза) у клітинах синовіальної рідини пацієнтів, які страждають на остеоартрит, та хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції. *PTGS2* кодує простагландин-ендопероксидсинтазу 2 (PTGS2), також відому як циклооксигеназу 2 (cyclooxygenase-2,

COX2), яка є основним ферментом у біосинтезі простагландинів і бере участь у розвитку запалення. За фізіологічних умов циклооксигеназа 2 у більшості тканин та рідин організму не виявляється, але її рівень істотно збільшується на тлі розвитку запалення. Цей фермент є мішенню дії нестероїдних протизапальних препаратів, які використовують як консервативну терапію запальних захворювань суглобів (Ferrer et al., 2019; Su et al., 2022). *NOS2* кодує індукцибельну синтазу оксиду азоту (iNOS), що є одним із ферментів, який бере участь у синтезі оксиду азоту (NO), і відіграє роль в опосередкуванні клітинної проліферації, апоптозу, окисного стресу та запалення. 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 цей показник є важливим параметром оцінювання вільнорадикальних і запальних процесів у хрящі, а також привабливою терапевтичною мішенню для лікування остеоартритів (Ahmad, Ansari, & Haqqi, 2020; Ostojic et al., 2021).

**Метою** роботи було визначити експресію генів *PTGS2* та *NOS2* у клітинах синовіальної рідини хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції.

#### Методи

У дослідженні брали участь 36 пацієнтів у віці від 39 до 70 років, які перебували на стаціонарному або амбулаторному лікуванні в ортопедичному спеціалізованому медичному центрі "Ортоклініка" (Тернопіль, Україна) з приводу остеоартрити. Пацієнтам був встановлений діагноз "остеоартрит колінних суглобів II–III ступеня" на підставі клінічних та рентгенологічних критеріїв. На етапі відбору всім хворим проводилася рентгенографія колінних суглобів у прямій (передньозадній) та боковій проєкціях. Оцінювання інтенсивності болю та функціонального стану колінних суглобів хворих проводилася за допомогою обчислення індексу WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index), який визначають у результаті самостійного проходження пацієнтом тесту, який містить 24 запитання, що відображають вираженість больових відчуттів (5 запитань), скутості (2 запитання) та функціональної активності (17 запитань) (McConnell, Kolopack, & Davis, 2001).

Усі учасники дослідження надалі були поділені на дві групи. Перша група ( $n = 22$ ) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня. В обстежуваній групі включали можливу супутню наявність коронавірусної інфекції шляхом проведення епідеміологічного анамнезу кожного пацієнта та відсутності їхнього контакту з хворими на COVID-19. Друга група ( $n = 14$ ) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня, які перенесли легку та середньотяжку форму COVID-19 6–9 міс. тому. Діагноз COVID-19 був підтверджений молекулярним аналізом (RT-PCR) мазка з носоглотки. Усі учасники, що добровільно 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 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. та схвалені Комітетом з етики медичного

центру "Ортоклініка" (Тернопіль, Україна). Вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Забір біологічного матеріалу проводився на базі спеціалізованого медичного центру "Ортоклініка", місто Тернопіль, Україна. Синовіальну рідину збирали в стерильні пробірки з гепарином шляхом артроцентезу колінного суглоба відповідно до стандартних протоколів обробки. Зважаючи на те, що найбільші порожнини колінного та кульшового суглобів мають максимальний об'єм синовіальної рідини до 3,5 мл, забір біологічного матеріалу в умовно здорових людей небезпечно і може призвести до порушення структурно-функціонального стану суглоба. У зв'язку із цим у наших дослідженнях група умовно здорових людей відсутня.

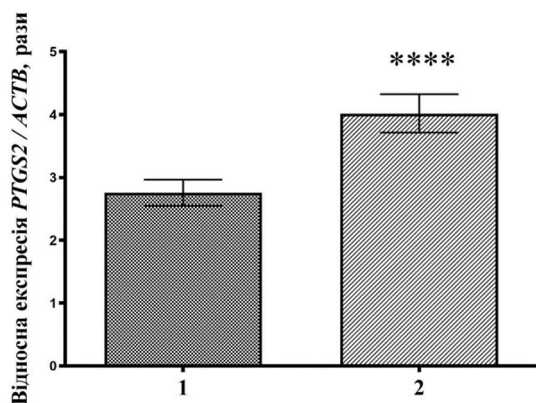
У клітинах синовіальної рідини визначали експресію генів *PTGS2* та *NOS2*. РНК отримували за методом Хомчинського (Chomczynski, & Sacchi, 1987) із синовіальної рідини, використовуючи наявні в ній лейкоцити і мультипотентні стромальні клітини синовіальної мембрани (Sanjurjo-Rodriguez et al., 2020; Walters et al., 2021). Синтез кДНК та кількісну полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі (Real-time PCR, кПЛР) здійснювали за допомогою комерційного набору "Thermo Scientific Verso SYBR Green 1-Step qRT-PCR ROX Mix" ("Thermo Scientific", Литва), використовуючи по 0,3 мкмоль/л кожного праймера. Експеримент проводили за таких рекомендованих фірмою-виробником температурних умов: синтез кДНК 50 °C – 30 хв; ініціююча денатурація 95 °C – 15 хв; далі 40 циклів: денатурація ДНК 95 °C – 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: для *PTGS2* – прямий – CAAATTGCTGGCAGGGTTGCT і зворотний – GCTTCAGCATAAAGCGTTTGC; для *NOS2* – прямий – CGTGCAAACCTTCAAGGCAG і зворотний – CTGAGGTCCAAAGGCTGTGA; для *ACTB* (ген β-актину, що використовується як внутрішній контроль реакції завдяки конститутивній експресії): прямий – CTTCCAGCTCCTCCCTGGAG і зворотний – CCACAGGACTCCATGCCCGAG. 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 визначали порівняльним  $\Delta\Delta C_t$  методом ("Livak, & Schmittgen, 2001), ефективність ПЛР була однаковою ( $E_x = (10^{-1/\text{slope}}) - 1$ ), де slope – коефіцієнт нахилу, який становив 3,8, а ефективність кПЛР дорівнювала 83 %. Відносний рівень експресії зазначених генів нормалізували до рівня експресії *ACTB*.

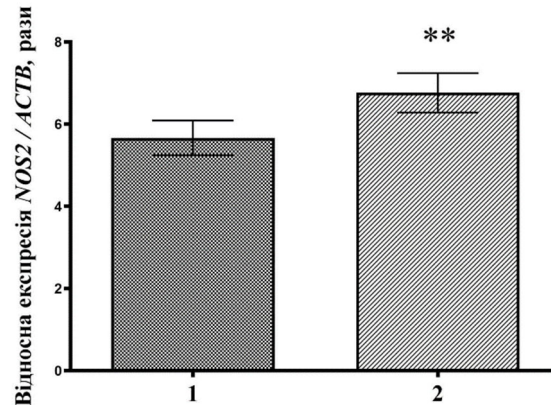
Отримані дані тестували на нормальне розподілення за допомогою тесту Шапіро-Вілка з використанням програмного пакета "GraphPad Prism 8.4.3" ("GraphPad Software Inc.", США). Подальше обчислення відбувалося за допомогою непарного параметричного *t* тесту. Отримані результати наведено у вигляді середнього арифметичного  $\pm$  стандартне відхилення – SD. Результати вважали значущими, коли  $p \leq 0,05$ .

#### Результати

У ході проведених експериментальних досліджень встановлено, що у хворих на остеоартрит, які перехворіли COVID-19, рівень експресії гена *PTGS2* у клітинах синовіальної рідини збільшувався в 1,4 раза ( $p \leq 0,0001$ ) порівняно з групою хворих на остеоартрит (рис. 1, а).



а)



б)

Рис. 1. Рівень експресії генів *PTGS2* (а) та *NOS2* (б) у клітинах синовіальної оболонки хворих на остеоартрит: 1 – остеоартрит; 2 – остеоартрит + COVID-19; \*\* $p \leq 0,01$ , \*\*\*\* $p \leq 0,0001$  щодо групи людей з остеоартритом

Виявлено, що у клітинах синовіальної рідини суглобів пацієнтів з остеоартритом, які перенесли легку та середньотяжку форму COVID-19, рівень експресії гена *NOS2* збільшувався в 1,2 раза ( $p \leq 0,01$ ) порівняно з групою хворих на остеоартрит (рис. 1, б).

У ході проведених експериментальних досліджень показано, що в групі пацієнтів, хворих на остеоартрит після перенесеної коронавірусної інфекції, у ядерних клітинах синовіальної рідини зростає експресія генів, що відповідають за розвиток запальних та вільнорадикальних процесів порівняно з цими показниками у синовіальній рідині суглобів пацієнтів з остеоартритом. Виявлене збільшення рівня експресії гена *PTGS2* у клітинах синовіальної рідини вказує на активацію біосинтезу проста-

гландинів, які беруть участь у розвитку запалення. Експресія *PTGS2*, який кодує циклооксигеназу 2 (ЦОГ-2), може бути індукована за допомогою різноманітних прозапальних стимулів. ЦОГ-2 каталізує перетворення арахідонової кислоти на простагландин H2, який є лімітуючою стадією утворення простагландинів і тромбосану A2. ЦОГ-2 є потужним медіатором запалення і бере участь у передачі сигналів простаноїдів. Зокрема, для лікування остеоартритів та ревматоїдного артриту використовують селективні інгібітори ЦОГ-2, які більш ефективні, ніж стандартні дози неселективних нестероїдних протизапальних засобів (Ferrer et al., 2019; Nakata et al., 2018). Отримані результати зростання рівня експресії гена *NOS2* свідчать про порушення окисно-

антиоксидантної рівноваги в бік інтенсифікації вільнорадикальних процесів та розвитку окисного стресу безпосередньо в самому суглобі. Це підтверджується отриманими нами раніше результатами стосовно накопичення активних форм кисню та збільшення концентрації продуктів окиснення ліпідів і білків у синовіальній рідині (Бородин, 2022; Бородин, & Дворщенко, 2023; Borodin, 2022).

#### Дискусія і висновки

У хворих на остеоартрит колінних суглобів після SARS-CoV2-інфекції в ядерних клітинах синовіальної рідини збільшується експресія генів *PTGS2* та *NOS2* порівняно з пацієнтами з остеоартритом, що не хворіли на COVID-19. Це свідчить про розвиток більш сильного запалення в суглобах пацієнтів з остеоартритом після інфікування SARS-CoV-2. Група пацієнтів, що мають хронічні хвороби, потребують особливого контролю за перебігом остеоартриту та персоналізованого лікування після перенесеної коронавірусної хвороби.

**Внесок авторів:** Сергій Бородин – пошук та опрацювання фахової літератури за темою дослідження, аналіз сучасного стану проблеми, участь у проведенні експериментів, теоретичне обґрунтування результатів дослідження; Алевтина Юет – участь у проведенні експериментів, статистична обробка результатів дослідження; Катерина Дворщенко – формування ідеї та мети роботи, постановка завдань, моделювання експерименту, планування методичних підходів, узагальнення результатів дослідження.

**Подяки, джерела фінансування.** Робота виконана на кафедрі біохімії Навчально-наукового центру "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка у рамках науково-дослідної теми "Патології суглобів різного генезу в постковідний період" (№ д/р 0122U001909, 2022–2024 рр.).

#### Список використаних джерел

- Borodin, S., & Dvorshchenko, K. (2023). Окисна модифікація білків у синовіальній рідині хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія "Біологія"*, 93(2), 12–16.
- Borodin, S., Korotkiy, O., Yuet, A., & Dvorshchenko, K. (2022). Перекисне окиснення ліпідів у синовіальній рідині хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія "Біологія"*, 3(90), 10–14.
- Ahmad, N., Ansari, M.Y., & Haqqi, T.M. (2020). Role of iNOS in osteoarthritis: Pathological and therapeutic aspects. *J Cell Physiol.*, 235(10), 6366–6376. <https://doi.org/10.1002/jcp.29607>
- Borodin, S., Ostapchenko, D., Korotkiy, O., & Dvorshchenko, K. (2022). Indicators of the oxidant-antioxidant system in the synovial fluid of patients with osteoarthritis after SARS-CoV2 infection. *Bulletin of problems biology and medicine*, 4(167), 125–130.
- Campos, M.C., Nery, T., Starke, A.C., de Bem Alves A.C., Speck A.E., & Aguiar A.S. (2022). Post-viral fatigue in COVID-19: A review of symptom assessment methods, mental, cognitive, and physical impairment. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 142, 104902. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104902>
- 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>
- Farisogullari, B., Pinto, A.S., & Machado, P.M. (2022). COVID-19-associated arthritis: an emerging new entity? *RMD Open*, 8(2), e002026. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2021-002026>
- Ferrer, M.D., Busquets-Cortés, C., Capó, X., Tejada, S., Tur, J.A., Pons, A., & Sureda, A. (2019). Cyclooxygenase-2 Inhibitors as a Therapeutic Target in Inflammatory Diseases. *Curr Med Chem.*, 26(18), 3225–3241. <https://doi.org/10.2174/0929867325666180514112124>
- Girón, M., R., & Torre, M., S. (2020). Synovial fluid cytodiagnosis. *Rev Esp Patol.*, 53(2), 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.patol.2019.01.004>
- Gupta, K., Kaur, G., Pathak, T., & Banerjee, I. (2022). Systematic review and meta-analysis of human genetic variants contributing to COVID-19 susceptibility and severity. *Gene*, 844, 146790. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146790>
- Gupta, R., C., Lall, R., Srivastava, A., & Sinha, A. (2019). Hyaluronic Acid: Molecular Mechanisms and Therapeutic Trajectory. *Front Vet Sci.*, 25(6), 192. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00192>
- Lineham, B., Altaie, A., Harwood, P., McGonagle, D., Pandit, H., & Jones, E. (2022). A systematic review on the potential value of synovial fluid

biomarkers to predict clinical outcomes in cartilage repair treatments. *Osteoarthritis Cartilage*, 30(8), 1035–1049. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2022.05.007>

Liu, D., Xiao, W.F., & Li, Y.S. (2023). The Diagnostic and Prognostic Value of Synovial Fluid Analysis in Joint Diseases. *Methods Mol. Biol.*, 2695, 295–308. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3346-5\\_20](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3346-5_20)

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>

McConnell, S., Kolopack, P., & Davis, A.M. (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)

Mohamadian, M., Chiti, H., Shoghli, A., Biglari, S., Parsamanesh, N., & Esmailzadeh, A. (2021). COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. *J. Gene Med.*, 23(2), e3303. <https://doi.org/10.1002/jgm.3303>

Nakata, K., Hanai, T., Take, Y., Osada, T., Tsuchiya, T., Shima, D., & Fujimoto, Y. (2018). Disease-modifying effects of COX-2 selective inhibitors and non-selective NSAIDs in osteoarthritis: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage*, 26(10), 1263–1273. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.05.021>

Oliviero, F., & Mandell, B., F. (2023). Synovial fluid analysis: Relevance for daily clinical practice. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 8, 101848. <https://doi.org/10.1016/j.berh.2023.101848>

Ono, K., Kishimoto, M., Shimasaki, T., Uchida, H., Kurai, D., Deshpande, G.A., Komagata, Y., & Kaname, S. (2020). Reactive arthritis after COVID-19 infection. *RMD Open*, 6(2), e001350. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2020-001350>

Ostojic, M., Zevrnja, A., Vukojevic, K., & Soljic, V. (2021). Immunofluorescence Analysis of NF-κB and iNOS Expression in Different Cell Populations during Early and Advanced Knee Osteoarthritis. *Int. J. Mol. Sci.*, 16, 22(12), 6461. <https://doi.org/10.3390/ijms22126461>

Sanjurjo-Rodriguez C., Altaie, A., Mastbergen, S., Baboolal, T., Welting, T., Lafaber, F., Pandit, H., McGonagle, D., & Jones, E. (2020). Gene Expression Signatures of Synovial Fluid Multipotent Stromal Cells in Advanced Knee Osteoarthritis and Following Knee Joint Distraction. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 579751. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.579751>

Su, W., Liu, G., Mohajer, B., Wang, J., Shen, A., Zhang, W., Liu, B., Guermazi, A., Gao, P., Cao, X., Demehri, S., & Wan, M. (2022). Senescent preosteoclast secretome promotes metabolic syndrome associated osteoarthritis through cyclooxygenase 2. *Elife*, 26(11), e79773. <https://doi.org/10.7554/eLife.79773>

Walters, M., Skovgaard, K., Andersen, P.H., Heegaard, P.M.H., & Jacobsen, S. (2021). Dynamics of local gene regulations in synovial fluid leukocytes from horses with lipopolysaccharide-induced arthritis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 241, 110325. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2021.110325>

World Health Organization (2023). <https://covid19.who.int/>

Yüce, M., Filiztekin, E., & Özkaya, K.G. (2021). COVID-19 diagnosis – A review of current methods. *Biosens Bioelectron.*, 172, 112752. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112752>

#### References

- Ahmad, N., Ansari, M.Y., & Haqqi, T.M. (2020). Role of iNOS in osteoarthritis: Pathological and therapeutic aspects. *Journal Cell Physiology*, 235(10), 6366–6376. <https://doi.org/10.1002/jcp.29607>
- Borodin, S., Dvorshchenko, K. (2023). Oxidative modification of proteins in the synovial fluid of patients with osteoarthritis after SARS-CoV2 infection. *Bulletin of Taras Shevchenko Kyiv National University. Series "Biology"*, 93(2), 12–16 [in Ukrainian].
- Borodin, S., Korotkiy, O., Huet, A., & Dvorshchenko, K. (2022). Lipid peroxidation in the synovial fluid of patients with osteoarthritis after SARS-CoV2 infection. *Bulletin of Taras Shevchenko Kyiv National University. Series "Biology"*, 3(90), 10–14 [in Ukrainian].
- Borodin, S., Ostapchenko, D., Korotkiy, O., & Dvorshchenko, K. (2022). Indicators of the oxidant-antioxidant system in the synovial fluid of patients with osteoarthritis after SARS-CoV2 infection. *Bulletin of problems biology and medicine*, 4(167), 125–130.
- Campos, M.C., Nery, T., Starke, A.C. de Bem Alves A.C., Speck A.E., & Aguiar A.S. (2022). Post-viral fatigue in COVID-19: A review of symptom assessment methods, mental, cognitive, and physical impairment. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 142, 104902. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104902>
- 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>
- Farisogullari, B., Pinto, A., S., Machado, P., M. (2022). COVID-19-associated arthritis: an emerging new entity? *RMD Open*, 8(2), e002026. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2021-002026>
- Ferrer, M.D., Busquets-Cortés, C., Capó, X., Tejada, S., Tur, J.A., Pons, A., & Sureda, A. (2019). Cyclooxygenase-2 Inhibitors as a Therapeutic Target in Inflammatory Diseases. *Curr Med Chem.*, 26(18), 3225–3241. <https://doi.org/10.2174/0929867325666180514112124>

- Girón, M.R., & Torre, M.S. (2020). Synovial fluid cytodiagnosis. *Rev. Esp. Patol.*, 53(2), 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.patol.2019.01.004>
- Gupta, K., Kaur, G., Pathak, T., & Banerjee, I. (2022). Systematic review and meta-analysis of human genetic variants contributing to COVID-19 susceptibility and severity. *Gene*, 844, 146790. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146790>
- Gupta, R.C., Lall, R., Srivastava, A., & Sinha, A. (2019). Hyaluronic Acid: Molecular Mechanisms and Therapeutic Trajectory. *Front Vet Sci.*, 25(6), 192. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00192>
- Lineham, B., Altaie, A., Harwood, P., McGonagle, D., Pandit, H., & Jones, E. (2022). A systematic review on the potential value of synovial fluid biomarkers to predict clinical outcomes in cartilage repair treatments. *Osteoarthritis Cartilage*, 30(8), 1035–1049. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2022.05.007>
- Liu, D., Xiao, W.F., & Li, Y.S. (2023). The Diagnostic and Prognostic Value of Synovial Fluid Analysis in Joint Diseases. *Methods Mol. Biol.*, 2695, 295–308. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3346-5\\_20](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3346-5_20)
- Livak, K., & Schmittgen, T. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>(Delta Delta C(T)). *Methods*, 25(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- McConnell, S., Kolopack, P., Davis, A.M. (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)
- Mohamadian, M., Chiti, H., Shoghli, A., Biglari, S., Parsamanesh, N., & Esmaeilzadeh, A. (2021). COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. *Journal of Gene Medicine*, 23(2), e3303. <https://doi.org/10.1002/jgm.3303>
- Nakata, K., Hanai, T., Take, Y., Osada, T., Tsuchiya, T., Shima, D., & Fujimoto, Y. (2018). Disease-modifying effects of COX-2 selective inhibitors and non-selective NSAIDs in osteoarthritis: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage*, 26(10), 1263–1273. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.05.021>
- Oliviero, F., & Mandell, B.F. (2023). Synovial fluid analysis: Relevance for daily clinical practice. *Best Pract Res Clin Rheumatol.*, 8, 101848. <https://doi.org/10.1016/j.berh.2023.101848>
- Ono, K., Kishimoto, M., Shimasaki, T., Uchida, H., Kurai, D., Deshpande, G.A., Komagata, Y., & Kaname, S. (2020). Reactive arthritis after COVID-19 infection. *RMD Open*, 6(2), e001350. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2020-001350>
- Ostojic, M., Zevrnja, A., Vukojevic, K., & Soljic, V. (2021). Immunofluorescence Analysis of NF-κB and iNOS Expression in Different Cell Populations during Early and Advanced Knee Osteoarthritis. *Internat. Journal Mol. Sci.*, 16, 22(12), 6461. <https://doi.org/10.3390/ijms22126461>
- Sanjurjo-Rodríguez C., Altaie, A., Mastbergen, S., Baboolal, T., Welting, T., Lafeber, F., Pandit, H., McGonagle, D., & Jones, E. (2020). Gene Expression Signatures of Synovial Fluid Multipotent Stromal Cells in Advanced Knee Osteoarthritis and Following Knee Joint Distraction. *Front Bioeng Biotechnol.*, 14, 8, 579751. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.579751>
- Su, W., Liu, G., Mohajer, B., Wang, J., Shen, A., Zhang, W., Liu, B., Guermazi, A., Gao, P., Cao, X., Demehri, S., & Wan, M. (2022). Senescent preosteoclast secretome promotes metabolic syndrome associated osteoarthritis through cyclooxygenase 2. *Elife*, 26, 11, e79773. <https://doi.org/10.7554/eLife.79773>
- Walters, M., Skovgaard, K., Andersen, P.H., Heegaard, P.M.H., & Jacobsen, S. (2021). Dynamics of local gene regulations in synovial fluid leukocytes from horses with lipopolysaccharide-induced arthritis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 241, 110325. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2021.110325>
- World Health Organization (2023). <https://covid19.who.int/>
- Yüce, M., Filiztekin, E., Özkaya, K. G. (2021). COVID-19 diagnosis – A review of current methods. *Biosens Bioelectron.*, 172:112752. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112752>

Отримано редакцією журналу / Received: 29.08.23  
Прорецензовано / Revised: 29.08.23  
Схвалено до друку / Accepted: 29.09.23

Sergiy BORODIN, PhD Student  
ORCID ID: 0000-0002-7146-6874  
e-mail: borodindoc@gmail.com  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Alevtyna HUET, PhD (Biol.)  
ORCID ID: 0000-0002-6511-2201  
e-mail: alevtina.dranitsina@gmail.com  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Kateryna DVORSHCHENKO, DSc (Biol.)  
ORCID ID: 0000-0003-3118-9355  
e-mail: kateryna.dvorshchenko@knu.ua  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

## EXPRESSION OF PTGS2 AND NOS2 GENES IN THE SYNOVIAL FLUID OF PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS AFTER SARS-CoV2 INFECTION

**Background.** The emergence of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has created a serious global threat to the health of people in various countries. The 2019 coronavirus disease (Coronavirus disease 2019, COVID-19) has caused the development of many complications in the population of most countries of the world. Currently, many people have felt the unpleasant consequences of the coronavirus infection. Among them, a special group consists of patients with chronic diseases, particularly osteoarthritis. The development of inflammation and intensification of free radical processes is a leading link in the pathogenesis of osteoarthritis. Inflammatory and degenerative processes that develop in osteoarthritis cause modification of the molecular and cellular composition of the synovial fluid.

**Methods.** The aim of the work was to determine the expression of (Prostaglandin-endoperoxide synthase 2) and NOS2 (Nitric Oxide Synthase 2) genes in synovial fluid cells of patients with osteoarthritis after SARS-CoV2 infection. All study participants were divided into two groups. The first group (n = 22) is patients with osteoarthritis of the knee joints II-III degree. The second group (n = 14) is patients with osteoarthritis of the knee joints II-III degree, who suffered a mild and moderate form of COVID-19 6–9 months ago. Expression of PTGS2 and NOS2 genes was determined in nuclear cells of synovial fluid. RNA was obtained by the Chomczynski method. Synthesis of cDNA and quantitative polymerase chain reaction in real time (Real-time PCR, qPCR) using the commercial kit "Thermo Scientific Verso SYBR Green 1-Step qRT-PCR ROX Mix" ("Thermo Scientific, Lithuania). Processing of research results was carried out using generally accepted methods of variational statistics.

**Results.** In patients with osteoarthritis of the knee joints after SARS-CoV2 infection, the expression of PTGS2 and NOS2 genes increases in nuclear cells of the synovial fluid compared to patients diagnosed with osteoarthritis.

**Conclusions.** Our results indicate that patients with osteoarthritis may develop a more severe course of synovial inflammation after infection with COVID-19.

**Keywords:** SARS-CoV-2, osteoarthritis, synovial fluid, inflammation, NOS2, PTGS2 gene expression.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів. Спонсори не брали участі в розробленні дослідження; у зборі, аналізі чи інтерпретації даних; у написанні рукопису; в рішенні про публікацію результатів.

The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; in the decision to publish the results.