

УДК 616.72-002: 616-002.2
DOI: 10.17721/1728.2748.2023.94.35-40

Юрій ТУГАРОВ, асп.
ORCID ID: 0000-0002-1583-6279
e-mail: tugarovdoc@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: kateryna.dvorshchenko@knu.ua
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ *LRP1* ТА *OLR1* У КРОВІ ХВОРИХ НА ОСТЕОАРТРИТ ПІСЛЯ SARS-CoV2-ІНФЕКЦІЇ

Вступ. Уперше про інфекцію тяжкого гострого респіраторного синдрому коронавірусом 2 (*Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2, SARS-CoV-2*) було повідомлено в Ухані (Китай) у грудні 2019 року, а потім вона швидко поширилася по всьому світу, спричинивши близько 771 млн активних випадків із ~7 млн смертей станом на вересень 2023 року. Пандемія нового коронавірусу SARS-CoV-2 створює велику загрозу для світу в багатьох аспектах: медичному, соціальному, економічному та інших. Всебічне розуміння взаємодії вірусу з організмом фундаментально важливе в боротьбі з SARS-CoV-2. Під час коронавірусної хвороби 2019 р. (*Coronavirus disease 2019, COVID-19*) уражуються епітеліальні клітини дихальних шляхів, що проявляється симптомами респіраторної інфекції. Вірус SARS-CoV-2 як інфекційний тригер спричинює ушкодження інших систем органів, зокрема опорно-рухового апарату, а також може ускладнювати стан пацієнтів з коморбідними захворюваннями. Метою роботи було визначити експресію генів *LRP1* (*LDL receptor related protein 1*) та *OLR1* (*oxidized low density lipoprotein receptor 1*) у крові хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції.

Методи. Учасники дослідження були поділені на три групи: 1-ша група ($n = 10$) – умовно здорові люди; 2-га група ($n = 22$) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня; 3-тя група ($n = 14$) – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня, які перенесли легку та середньотяжку форму COVID-19 6–9 міс. тому. У крові визначали експресію генів *LRP1* та *OLR1*. РНК отримували методом Хомчинського; синтез кДНК та кількісну полімеразну ланцюгову реакцію – в реальному часі (*Real-time PCR, qPCR*) 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 крові пацієнтів, хворих на остеоартрит, знижується експресія гена *LRP1* та зростає експресія гена *OLR1* порівняно з групою умовно здорових людей. У пацієнтів з остеоартритом після інфікування SARS-CoV-2 показано більш суттєві порушення експресії досліджуваних генів.

Висновки. Отримані дані свідчать про порушення метаболізму ліпопротеїнів в організмі, активацію вільнорадикальних процесів та розвиток системного запалення, що призводить до зниження протекції судин та ендотеліальної дисфункції у хворих на остеоартрит, яке посилюється за умов додаткового інфекційного навантаження на організм під дією SARS-CoV2-інфекції.

Ключові слова: SARS-CoV-2, остеоартрит, кров, експресія генів *LRP1*, *OLR1*, ліпідний обмін, запалення, окисний стрес.

Вступ

Коронавірус тяжкого гострого респіраторного синдрому 2 (*Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2, SARS-CoV-2*) є етіологічним збудником коронавірусної хвороби 2019 (*Coronavirus disease 2019, COVID-19*). Це захворювання набуло розмірів пандемії, від якої на сьогодні вже померли мільйони людей. SARS-CoV-2 був вперше зареєстрований у китайському місті Ухань (Китай) у 2019 р. Цей вірус висококонтагіозний для людської популяції, він швидко поширився по всьому світу через респіраторний матеріал (кашель, чхання) інфікованих людей або непрямий контакт через фоміти на поверхнях у найближчому оточенні хворого. До 30 січня 2020 р. Всесвітня організація охорони здоров'я оголосила глобальну надзвичайну ситуацію у сфері охорони здоров'я, а 11 березня 2020 р. COVID-19 було оголошено пандемією (Billah, Miah, & Khan, 2020). Коронавірусна хвороба 2019 поширилася на більш ніж 200 країн, областей або територій по всьому світу, що стало серйозною медико-соціальною проблемою в багатьох країнах світу (Muralidar et al., 2020; Taleghani, & Taghipour, 2021).

SARS-Cov-2 таксономічно належить до родини коронавірусів і підроду *Sarbecovirus*, які містять кілька інших видів, що викликають легкі та тяжкі захворювання людини. Цьому вірусу властива тропність до епітеліальних клітин дихальних шляхів. SARS-CoV-2 зв'язується з епітеліальними клітинами ротової та носової порожнин, а також може мігрувати далі – у провідні дихальні шляхи. Вірус може проникати ще далі та інфікувати клітини пневмоцитів альвеолярного типу II, викликаючи їхній апоптоз, що спричиняє дифузне пошкодження альвеол і порушення газообміну. Припускають, що саме ці події, призводять до розвитку гострого респіраторного дистрес-синдрому (Kirtipal, Bharadwaj, & Kang, 2020; Parasher, 2021).

Як інфекційний тригер вірус SARS-CoV-2 спричинює ушкодження інших системи органів, зокрема опорно-рухового апарату, а також може ускладнювати стан пацієнтів з коморбідними захворюваннями (L.M. Ailioaie, C. Ailioaie, & Litscher, 2022; Jovani et al., 2021; Ruiz-Del-Valle et al., 2022; Wendling et al., 2021). До поширених хронічних захворювань належать остеоартрити (ОА) – хронічні дегенеративні захворювання суглобів. Остеоартрит має прогресуючий характер і з часом може

© Тугаров Юрій, Юет Алевтина, Дворщенко Катерина, 2023

привести до повної втрати рухливості суглоба. Надмірні фізичні навантаження, травми опорно-рухового апарату, старіння, метаболічні порушення та інфекційні захворювання є основними факторами ризику розвитку остеоартритів (Abramoff, & Caldera, 2020; Motta et al., 2023; Yao et al., 2023). На сьогодні до цих етіологічних чинників можна додати і вірусну інфекцію SARS-CoV-2. Вона створює очевидний ризик у пацієнтів з остеоартритами, що може підвищити тяжкість його перебігу та сприяти розвитку ускладнень. Тому це питання потребує детального вивчення та наукового обґрунтування.

Останніми роками були досягнуті значні успіхи у використанні геномного аналізу ряду патологій, що дає детальний аналіз генів-кандидатів, залучених до патогенезу захворювань, прогнозування їхнього перебігу, діагностики та передбачення відповіді на терапію. Також диференціальна експресія генів важлива для розуміння біологічних відмінностей між здоровим і хворим станами організму. Зміна експресії генів має велике значення для процесу захворювання. У нашій роботі ми дослідили взаємозв'язок між розвитком коронавірусної хвороби у пацієнтів з остеоартритом та експресією генів, пов'язаних з регуляцією метаболізму ліпідів. Були проведені дослідження експресії генів *LRP1* (LDL receptor related protein 1) та *OLR1* (oxidized low density lipoprotein receptor 1) у лейкоцитах крові хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції. За даними літератури (Akhmedov et al., 2022; Hashimoto et al., 2018; Yamamoto et al., 2013), ці гени можуть бути залучені до розвитку остеоартриту, але механізми, за яким вони сприяють його розвитку *in vivo*, залишаються не з'ясованими.

Метою роботи було визначити експресію генів *LRP1* та *OLR1* у крові хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції.

Методи

У дослідженні брали участь 46 пацієнтів віком від 39 до 70 років, які перебували на стаціонарному або амбулаторному лікуванні в ортопедичному спеціалізованому медичному центрі "Ортоклініка" (м. Тернопіль, Україна). У 36 пацієнтів на підставі клінічних та рентгенологічних критеріїв було встановлено діагноз "остеоартрит колінних суглобів II–III ступеня". На етапі відбору всім хворим проводилася рентгенографія колінних суглобів у прямій (передньозадній) та боковій проєкції. Оцінювання інтенсивності болю та функціонального стану колінних суглобів хворих проводилася за допомогою обчислення індексу WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index), який визначається на основі тестування, що містить 24 запитання, які відображають вираженість больових відчуттів (5 запитань), скутості (2 запитання) і функціональної активності (17 запитань) (McConnell, Kolopack, & Davis, 2001).

Всі учасники дослідження надалі були розподілені на три експериментальні групи. До першої групи ($n = 10$) входило умовно здорових людей. Друга група ($n = 22$) – пацієнти з ОА колінних суглобів II–III ступеня, у яких виключали можливу супутню наявність коронавірусної інфекції шляхом проведення епідеміологічного анамнезу кожного пацієнта, та наявність контакту з хворими на COVID-19. Третя група ($n = 14$) – пацієнти з ОА колінних суглобів II–III ступеня, які перенесли легку або середньотяжку форму COVID-19 6–9 міс. тому. Діагноз COVID-19 було підтверджено за допомогою молекулярного аналізу (RT-PCR) зразків мазків із носоглотки. Усі учасники, які добровільно погодились взяти участь у дослідженні, ознайомилися та підписали відповідну форму інформованої згоди. Дослідження 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. та схвалені Комітетом з етики медичного центру "Ортоклініка" (м. Тернопіль, Україна). Вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Забір біологічного матеріалу проводився на базі спеціалізованого медичного центру "Ортоклініка", м. Тернопіль. Кров отримували пункцією з ліктьової вени пацієнта натще, переносили у пробірку з антикоагулянтом, щоб запобігти її згортанню.

У клітинах крові визначали експресію генів *LRP1* та *OLR1*. РНК отримували методом Хомчинського (Chomczynski, & Sacchi, 1987) із цільної крові, використовуючи її лейкоцити. 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; 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 *LRP1*: прямий – TGGCAGACACCGGAAGATTG та зворотний – CGTTCCAAGCGGTAGACACT; для *OLR1*: прямий – GTGACTGCTTCACTCTCATT та зворотний – GGCACCACCATGGAGAGTAA; для *ACTB* (ген β -актину, що використовується як внутрішній контроль реакції завдяки конститутивній експресії): прямий – CTTCCAGCTCCTCCCTGGAG та зворотний – CCACAGGACTCCATGCCAG. Відтворюваність результатів ампліфікації було перевірено в паралельних експериментах шляхом повторення кПЛР на зразках РНК усіх добровольців, із кожним праймером не менше трьох разів. Відносну кількість мРНК визначали порівняльним Ст методом "ΔΔC_t Method" (Livak, & Schmittgen, 2001), ефективність ПЛР була однаковою ($E_x = (10^{-1/\text{slope}}) - 1$), де slope – коефіцієнт нахилу, який становив 3,7, а ефективність кПЛР дорівнювала 86 %. Відносний рівень експресії значених генів нормалізували до рівня експресії *ACTB*.

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

Результати

У проведених дослідженнях було визначено експресію генів *LRP1* (кодує білок 1, подібний до рецептора ліпопротеїнів низької щільності (або рецептор для $\alpha 2$ -мікроглобуліну, або рецептор аполіпопротеїну Е (*LRP-1*)) та *OLR1* (кодує рецептор окиснених ліпопротеїнів низької щільності (ox-LDL), який належить до надродини лектинів С-типу – LOX1) у крові пацієнтів, які страждають на остеоартрит, та хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції.

У результаті проведених експериментальних досліджень виявлено, що рівень експресії гена *LRP1* у крові

пацієнтів з остеоартритом був нижчим в 1,7 раза ($p \leq 0,0001$) порівняно з групою умовно здорових людей. У групи хворих на остеоартрит після COVID-19 цей показник знижувався в 2,3 раза ($p \leq 0,0001$) порівняно з групою

умовно здорових людей та майже в 1,4 раза ($p \leq 0,001$) порівняно з групою хворих на остеоартрит (рис. 1).

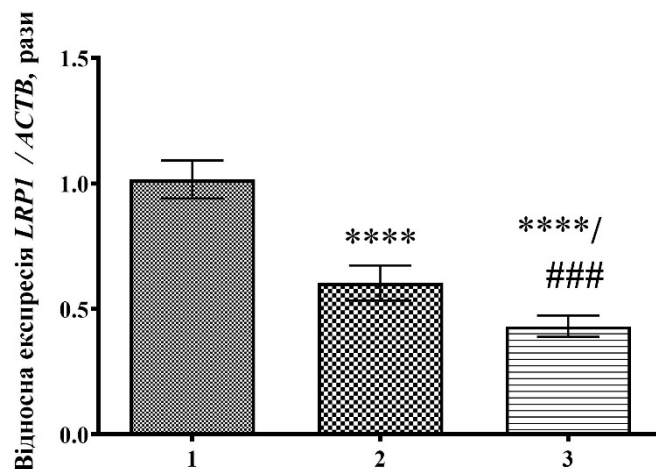


Рис. 1. Рівень експресії гена *LRP1* у крові хворих на остеоартрит:

1 – умовно здорові люди; 2 – пацієнти з остеоартритом; 3 – остеоартрит + COVID-19;

**** $p \leq 0,0001$ відносно умовно здорових людей; ### – $p \leq 0,001$ відносно групи людей з остеоартритом

У результаті подальших експериментів встановлено, що рівень експресії гена *OLR1* у крові хворих на остеоартрит був вищим у 1,9 раза ($p \leq 0,0001$) порівняно з групою умовно здорових людей (рис. 2). Водночас у пацієнтів з остеоартритом колінних суглобів, які

перехворіли COVID-19, цей показник зростав у 2,4 раза ($p \leq 0,0001$) порівняно з групою умовно здорових людей та в 1,3 раза ($p \leq 0,001$) порівняно з групою хворих на остеоартрит (рис. 2).

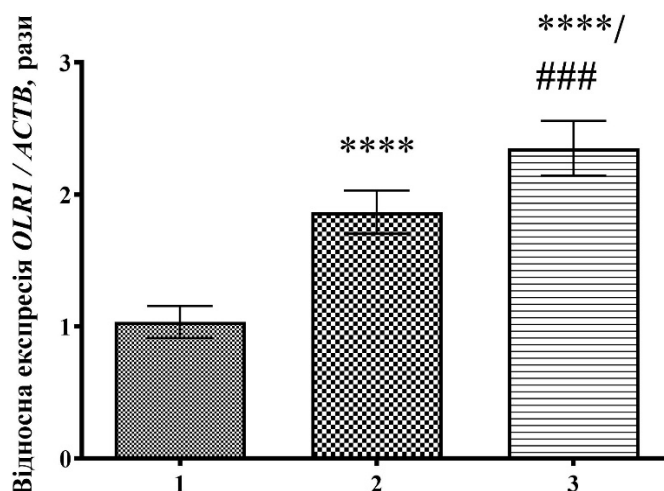


Рис. 2. Рівень експресії гена *OLR1* у крові хворих на остеоартрит:

1 – умовно здорові люди; 2 – пацієнти з остеоартритом; 3 – остеоартрит + COVID-19;

**** $p \leq 0,0001$ відносно умовно здорових людей; ### – $p \leq 0,001$ відносно групи людей з остеоартритом

LRP1 є багатофункціональним рецептором, який бере участь у різних біологічних процесах, включаючи метаболізм ліпопротеїнів, розпад протеаз, активацію лізосомальних ферментів, проникнення бактеріальних токсинів і вірусів у клітину, дозрівання та рециркуляцію інтегринів, регуляцію судинного тонуусу та проникності, запалення, клітинну адгезію (через інтегрини), ріст, міграція та апоптоз (Dietert et al., 2023; He et al., 2021; Pratt, Haidara, & Annabi, 2022; Wujak et al., 2018).

В організмі LRP1 відіграє важливу системну роль, завдяки його здатності розпізнавати понад 100 лігандів, таких як ліпопротеїни, глікопротеїни позаклітинного мат-

риксу (фібронектин, гепарансульфат-протеоглікани, амілоїд β), цитокіни (тканинний активатор плазміногену, лептин), і фактори росту (включаючи трансформуючий фактор росту (TGF β 1), інгібітор активатора плазміногену-1 і фактор росту сполучної тканини (CTGF)). Також LRP1 здатний зв'язувати велику кількість цитоплазматичних адапторних білків. Крім того, LRP1 може зв'язуватися з іншими трансмембранними рецепторами, такими як інтегрини, рецепторні тирозинкінази, BMPR і рецептори TGF β 1 (TGFBR), та модулювати активність інших трансмембранних рецепторів (Calvier et al., 2019;

Faissner, 2023; Munshaw et al., 2023; Sizova et al., 2023; Wujak et al., 2018).

У дослідженнях, L. Calvier зі співавторами показано вазопротекторну роль LRP1 у легеневої артерії (Parasher, 2021). Завдяки численним лігандам LRP1 є очевидною терапевтичною мішенню для підтримки судинного гомеостазу та гасіння макроглобулінозапальних сигналів при кількох складних захворюваннях. Були ідентифіковані різні агоністи LRP1, такі як природний $\alpha 2$ -, $\alpha 1$ -антитрипсин, антитромбін III і синтетичний SP16. Окрім того, кілька агоністів LRP1 вже успішно оцінено на доклінічних моделях ішемії-реперфузії, і два з них ($\alpha 1$ -антитрипсин і SP16) випробовуються в клінічних дослідженнях для гострого інфаркту міокарда. Описано багато ліків, які модулюють активність рецептора LRP1, причому деякі препарати вже тестуються в клінічних випробуваннях для корекції серцево-судинних захворювань (Calvier, Herz, & Hansmann, 2022). Накопичені дані свідчать про те, що LRP1 модулює судинний гомеостаз головним чином шляхом регулювання вазоактивних речовин і специфічних внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, включаючи сигнальний шлях інгібітора активатора плазміногену 1 (PAI-1), сигнальний шлях тромбобластичного фактора росту (PDGF), трансформуючий фактор росту β (TGF β) сигнальний шлях і сигнальний шлях фактора росту ендотелію судин (VEGF) (Calvier et al., 2019).

Також LRP-1 задіяний у фізіологічний і патологічний катаболізм агрекану в хрящі як ключовий модулятор позаклітинної активності адамалізіноподібної металопротеїнази з тромбоспондиновими мотивами 5 (ADAMTS-5), яка є основним ферментом, що розкладає агрекан у хрящі (Yamamoto et al., 2013).

LOX-1 є рецепторним білком, який належить до надродини лектинів C-типу. Його ген регулюється через сигнальний шлях циклічного AMP. Білок зв'язує, інтерналізує та розкладає окиснений ліпопротеїн низької щільності. Система LOX-1/ox-LDL відіграє багато ролей у розвитку артриту. Кілька досліджень показали, що система LOX-1/ox-LDL відіграє певну роль у розвитку дегенерації хряща. Т. Nakagawa зі співавторами вперше продемонстрували експресію LOX-1 і наявність ox-LDL у суглобових хондроцитах при артриті, індукованому зимозаном (ZIA) (Nakagawa et al., 2002). Крім того, вони вказали, що суглобові хондроцити щурів у базальному культуральному середовищі експресували LOX-1, а ox-LDL, який зв'язує LOX-1, знижував життєздатність культивованих хондроцитів (Nakagawa et al., 2002). Також повідомлялося про наявність ox-LDL у синовіальній рідині людини та спільну експресію LOX-1 і ox-LDL у хрящі людини при остеоартриті (Akagi et al., 2007; Simopoulou, Malizos, & Tsezou, 2007).

Відомо, що розчинний лектиноподібний рецептор 1 окисненого ліпопротеїну низької щільності (sLOX-1) наявний у кровообігу та синовіальній рідині в пацієнтів з ревматоїдним артритом (Ishikawa et al., 2016). Підвищені рівні TNF- α спричиняють не лише ревматоїдний артрит, але й ендотеліальні дисфункції шляхом збільшення вмісту оксЛПНЩ у судинах та активації шляху LOX-1/NF κ B/Arg2, що призводить до зниження біодоступності NO та зниження рівня cGMP. Лікування анти-TNF- α зменшує як суглобові симптоми, так і функцію ендотелію шляхом зниження рівнів LOX-1, судинного oxLDL та Arg2 (Akhmedov et al., 2022). Рівень sLOX-1 може бути корисним біомаркером для оцінювання клінічної ремісії та активності захворювання у пацієнтів з ревматоїдним артритом.

Показано, що лектиноподібний рецептор ox-LDL-1 (LOX-1) є важливим рецептором для ox-ЛПНЩ, які були

клоновані з культивованих ендотеліальних клітин аорти великої рогатої худоби і, як відомо, експресуються в багатьох різних типах клітин, включаючи ендотеліальні клітини, клітини гладенької мускулатури судин, макрофаги і хондроцити (Akhmedov et al., 2022; Hashimoto et al., 2018). Проведене оцінювання ролі LOX-1 у серцево-судинних захворюваннях. Показано, що під час запалення відбувається індукція рецептора окиснених ЛПНЩ, LOX-1, який залучений до утворення атеросклеротичних бляшок при гострому коронарному синдромі. Зазвичай експресія LOX-1 на ендотеліальних клітинах низька, але ФНП- α , окиснені ЛПНЩ та інші атеросклеротичні стимули значно підвищують експресію LOX-1 (Sagar et al., 2020). Мутації гена OLR1 пов'язані з атеросклерозом та ризиком інфаркту міокарда.

Останні дані свідчать про те, що лектиноподібна окиснена система ліпопротеїнів низької щільності (ox-LDL) рецептор-1 (LOX-1)/ox-LDL може брати участь у патогенезі артриту. LOX-1-позитивні синовіальні клітини та хондроцити є потенційними терапевтичними мішенями для профілактики артриту (Hashimoto et al., 2018).

Згідно з проведеним аналізом літературних даних LRP1 та OLR1 належать до багатобудовних рецепторів в організмі, залучених до клітинної сигналізації, транспортуванні ліпопротеїнів та розвитку різних патологічних станів, включаючи запалення та окисний стрес. Зважаючи на отримані у процесі дослідження результати, було встановлено, що у хворих на остеоартрит у крові знижується експресія гена LRP1 і зростає експресія гена OLR1 порівняно з групою умовно здорових людей. У пацієнтів з остеоартритом після інфікування SARS-CoV-2 показано більш глибокі порушення експресії досліджуваних генів.

Дискусія і висновки

Зважаючи на дані літератури й отримані власні результати, виявлене у крові пацієнтів зниження експресії гена LRP1 та зростання експресії гена OLR1 свідчить про порушення метаболізму ліпопротеїнів в організмі, активацію вільнорадикальних процесів та розвиток системного запалення, що призводить до зниження протекції судин та ендотеліальної дисфункції у хворих на остеоартрит, яке посилюється за умов додаткового інфекційного навантаження на організм під дією SARS-CoV2-інфекції.

Внесок авторів: Юрій Тугаров – 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 Дворченко – 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

- Abramoff, B., & Caldera, F.E. (2020). Osteoarthritis: Pathology, Diagnosis, and Treatment Options. *Med Clin North Am.*, 104(2), 293–311. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2019.10.007>
- Ailioaie, L.M., Ailioaie, C., & Litscher, G. (2022). Implications of SARS-CoV-2 Infection in Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 23(8), 4268. <https://doi.org/10.3390/ijms23084268>
- Akagi, M., Kanata, S., Mori, S., Itabe, H., Sawamura, T., & Hamanishi, C. (2007). Possible involvement of the oxidized low-density lipoprotein/lectin-like

oxidized lowdensity lipoprotein receptor-1 system in pathogenesis and progression of human osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 15, 281–290.

Akhmedov, A., Cruet, M., Simic, B., Kraler, S., Bonetti, N.R., Ospelt, C., Distler, O., Ciurea, A., Liberale, L., Jauhainen, M., Metso, J., Miranda, M., Cydecian, R., Schwarz, L., Fehr, V., Zilinyi, R., Amrollahi-Sharifabadi, M., Ntari, L., Karagianni, N., ... Lüscher, T.F. (2022). TNF α induces endothelial dysfunction in rheumatoid arthritis via LOX-1 and arginase 2: reversal by monoclonal TNF α antibodies. *Cardiovasc Res.*, 7, 118(1), 254–266. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab005>

Billah, M. A., Miah, M. M., & Khan, M. N. (2020). Reproductive number of coronavirus: A systematic review and meta-analysis based on global level evidence. *PLoS One*, 11, 15(11), e0242128. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242128>

Calvier, L., Boucher, P., Herz, J., & Hansmann, G. (2019). LRP1 deficiency in vascular SMC leads to pulmonary arterial hypertension that is reversed by PPAR γ activation. *Circ Res.*, 124, 1778–1785.

Calvier, L., Herz, J., & Hansmann, G. (2022). Interplay of Low-Density Lipoprotein Receptors, LRP1s, and Lipoproteins in Pulmonary Hypertension. *JACC Basic to Translational Science*, 7(2), 164–180. <https://doi.org/10.1016/j.jacbs.2021.09.011>

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>

Dietert, K., Mahesula, S., Hegde, S., Verschelde, J., Reed, P., Sprague, S., Kokovay, E., & Sayre, N.L. (2023). Loss of LRP1 in Adult Neural Stem Cells Impairs Migration to Ischemic Lesions. *Stem. Cells.*, 15, 41(6), 570–577. <https://doi.org/10.1093/stmcls/sxad034>

Faissner, A. (2023). Low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP1) in the glial lineage modulates neuronal excitability. *Front. Netw. Physiol.*, 3, 1190240. <https://doi.org/10.3389/fnetp.2023.1190240>

Hashimoto, K., Oda, Y., Nakagawa, K., Ikeda, T., Ohtani, K., & Akagi, M. (2018). LOX-1 deficient mice show resistance to zymosan-induced arthritis. *Eur. Journal Histochem.*, 62(1), 2847. <https://doi.org/10.4081/ejh.2018.2847>

He, Z., Wang, G., Wu, J., Tang, Z., & Luo, M. (2021). The molecular mechanism of LRP1 in physiological vascular homeostasis and signal transduction pathways. *Biomed. Pharmacother.*, 139, 111667. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111667>

Ishikawa, M., Ito, H., Furu, M., Hashimoto, M., Fujii, T., Okahata, A., Mimori, T., & Matsuda, S. (2016). Plasma sLOX-1 is a potent biomarker of clinical remission and disease activity in patients with seropositive RA. *Mod. Rheumatol.*, 26(5), 696–701. <https://doi.org/10.3109/14397595.2015.1128871>

Jovani, V., Pascual, E., Vela, P., & Andrés, M. (2021). Acute arthritis following SARS-CoV-2 infection. *Journal Med. Virol.*, 93(2), 661. <https://doi.org/10.1002/jmv.26440>

Kirtipal, N., Bharadwaj, S., & Kang, S.G. (2020). From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. *Infect. Genet. Evol.*, 85, 104502. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104502>

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)

Motta, F., Barone, E., Sica, A., & Selmi, C. (2023). Inflammation and Osteoarthritis. *Clin. Rev. Allergy. Immunol.*, 64(2), 222–238. <https://doi.org/10.1007/s12016-022-08941-1>

Munshaw, S., Redpath, A.N., Pike, B.T., & Smart, N. (2023). Thymosin β 4 preserves vascular smooth muscle phenotype in atherosclerosis via regulation of low density lipoprotein related protein 1 (LRP1). *International Immunopharmacol.*, 115, 109702. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.109702>

Muralidar, S., Ambi, S.V., Sekaran, S., & Krishnan, U.M. (2020). The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. *Biochimie.*, 179, 85–100. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.09.018>

Nakagawa, T., Akagi, M., Hoshikawa, H., Chen, M., Yasuda, T., & Mukai, S. (2002). Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 mediates leukocyte infiltration and articular cartilage destruction in rat zymosan-induced arthritis. *Arthritis Rheum.*, 46, 2486–2494.

Nakagawa, T., Yasuda, T., Hoshikawa, H., Shimizu, M., Kakinuma, T., & Chen, M. (2002). LOX-1 expressed in cultured rat chondrocytes mediates oxidized LDL-induced cell death-possible role of dephosphorylation of Akt. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 299, 91–97.

Parasher, A. (2021). COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgrad. Med. Journal*, 97(1147), 312–320. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-138577>

Pratt, J., Haidara, K., & Annabi, B. (2022). MT1-MMP Expression Levels and Catalytic Functions Dictate LDL Receptor-Related Protein-1 Ligand Internalization Capacity in U87 Glioblastoma Cells. *Int J Mol Sci.*, 23(22), 14214. <https://doi.org/10.3390/ijms232214214>

Ruiz-Del-Valle, V., Sarabia de Ardanaz, L., Navidad-Fuentes, M., Martín-Martín, I., & Lobato-Cano, R. (2022). Reactive arthritis with SARS-CoV-2 as a trigger. *Rheumatol. Clin. (Engl. Ed.)*, 18(8), 490–492. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2021.11.002>

Sagar, D., Gaddipati, R., Ongstad, E.L., Bhagroo, N., An, L.L., Wang, J., Belkhdja, M., Rahman, S., Manna, Z., Davis, M.A., Hasni, S., Siegel, R., Sanjuan, M., Grimsby, J., Kolbeck, R., Karathanasis, S., Sims, G.P., & Gupta, R. (2020). LOX-1: A potential driver of cardiovascular risk in SLE patients. *PLoS One*, 17, 15(3), e0229184. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229184>

Simopoulou, T., Malizos, K.N., & Tsezou, A. (2007). Lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor 1 (LOX-1) expression in human articular chondrocytes. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 25, 605–612.

Sizova, O., John, L., S., Ma, Q., & Moldrem, J.J. (2023). Multi-faceted role of LRP1 in the immune system. *Front. Immunol.*, 14, 1166189. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1166189>

Taleghani, N., & Taghipour, F. (2021). Diagnosis of COVID-19 for controlling the pandemic: A review of the state-of-the-art. *Biosens. Bioelectron.*, 15, 174, 112830. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112830>

Wendling, D., Verhoeven, F., Chouk, M., & Prati, C. (2021). Can SARS-CoV-2 trigger reactive arthritis? *Joint. Bone Spine*, 88(1), 105086. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2020.105086>

Wujak, L., Schnieder, J., Schaefer, L., & Wygrecka, M. (2018). LRP1: a chameleon receptor of lung inflammation and repair. *Matrix Biol.*, 68-69, 366–381.

Yao, Q., Wu, X., Tao, C., Gong, W., Chen, M., Qu, M., Zhong, Y., He, T., Chen, S., & Xiao, G. (2023). Osteoarthritis: pathogenic signaling pathways and therapeutic targets. *Signal. Transduct. Target. Ther.*, 3, 8(1), 56. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01330-w>

Yamamoto, K., Troeberg, L., Scilabra, S., Pelosi, M., Murphy, C., Strickland, D., & Nagase H. (2013). LRP-1-mediated endocytosis regulates extracellular activity of ADAMTS-5 in articular cartilage. *FASEB*, 27(2), 511–521. <https://doi.org/10.1096/fj.12-216671>

References

Abramoff, B., & Caldera, F.E. (2020). Osteoarthritis: Pathology, Diagnosis, and Treatment Options. *Med Clin North Am.*, 104(2), 293–311. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2019.10.007>

Ailioaie, L.M., Ailioaie, C., & Litscher, G. (2022). Implications of SARS-CoV-2 Infection in Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 23(8), 4268. <https://doi.org/10.3390/ijms23084268>

Akagi, M., Kanata, S., Mori, S., Itabe, H., Sawamura, T., & Hatanishi, C. (2007). Possible involvement of the oxidized low-density lipoprotein/lectin-like oxidized lowdensity lipoprotein receptor-1 system in pathogenesis and progression of human osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 15, 281–290.

Akhmedov, A., Cruet, M., Simic, B., Kraler, S., Bonetti, N.R., Ospelt, C., Distler, O., Ciurea, A., Liberale, L., Jauhainen, M., Metso, J., Miranda, M., Cydecian, R., Schwarz, L., Fehr, V., Zilinyi, R., Amrollahi-Sharifabadi, M., Ntari, L., Karagianni, N., ... Lüscher, T.F. (2022). TNF α induces endothelial dysfunction in rheumatoid arthritis via LOX-1 and arginase 2: reversal by monoclonal TNF α antibodies. *Cardiovasc Res.*, 7, 118(1), 254–266. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab005>

Billah, M. A., Miah, M. M., & Khan, M. N. (2020). Reproductive number of coronavirus: A systematic review and meta-analysis based on global level evidence. *PLoS One*, 11, 15(11), e0242128. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242128>

Calvier, L., Boucher, P., Herz, J., & Hansmann, G. (2019). LRP1 deficiency in vascular SMC leads to pulmonary arterial hypertension that is reversed by PPAR γ activation. *Circ Res.*, 124, 1778–1785.

Calvier, L., Herz, J., & Hansmann, G. (2022). Interplay of Low-Density Lipoprotein Receptors, LRP1s, and Lipoproteins in Pulmonary Hypertension. *JACC Basic to Translational Science*, 7(2), 164–180. <https://doi.org/10.1016/j.jacbs.2021.09.011>

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>

Dietert, K., Mahesula, S., Hegde, S., Verschelde, J., Reed, P., Sprague, S., Kokovay, E., & Sayre, N.L. (2023). Loss of LRP1 in Adult Neural Stem Cells Impairs Migration to Ischemic Lesions. *Stem. Cells.*, 15, 41(6), 570–577. <https://doi.org/10.1093/stmcls/sxad034>

Faissner, A. (2023). Low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP1) in the glial lineage modulates neuronal excitability. *Front. Netw. Physiol.*, 3, 1190240. <https://doi.org/10.3389/fnetp.2023.1190240>

Hashimoto, K., Oda, Y., Nakagawa, K., Ikeda, T., Ohtani, K., & Akagi, M. (2018). LOX-1 deficient mice show resistance to zymosan-induced arthritis. *Eur. Journal Histochem.*, 62(1), 2847. <https://doi.org/10.4081/ejh.2018.2847>

He, Z., Wang, G., Wu, J., Tang, Z., & Luo, M. (2021). The molecular mechanism of LRP1 in physiological vascular homeostasis and signal transduction pathways. *Biomed. Pharmacother.*, 139, 111667. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111667>

Ishikawa, M., Ito, H., Furu, M., Hashimoto, M., Fujii, T., Okahata, A., Mimori, T., & Matsuda, S. (2016). Plasma sLOX-1 is a potent biomarker of clinical remission and disease activity in patients with seropositive RA. *Mod. Rheumatol.*, 26(5), 696–701. <https://doi.org/10.3109/14397595.2015.1128871>

Jovani, V., Pascual, E., Vela, P., & Andrés, M. (2021). Acute arthritis following SARS-CoV-2 infection. *Journal Med. Virol.*, 93(2), 661. <https://doi.org/10.1002/jmv.26440>

Kirtipal, N., Bharadwaj, S., & Kang, S.G. (2020). From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. *Infect. Genet. Evol.*, 85, 104502. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104502>

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)

Motta, F., Barone, E., Sica, A., & Selmi, C. (2023). Inflammaging and Osteoarthritis. *Clin. Rev. Allergy. Immunol.*, 64(2), 222–238. <https://doi.org/10.1007/s12016-022-08941-1>

Munshaw, S., Redpath, A.N., Pike, B.T., & Smart, N. (2023). Thymosin β 4 preserves vascular smooth muscle phenotype in atherosclerosis via regulation of low density lipoprotein related protein 1 (LRP1). *International Immunopharmacol.*, 115, 109702. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.109702>

Muralidar, S., Ambi, S.V., Sekaran, S., & Krishnan, U.M. (2020). The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. *Biochimie.*, 179, 85–100. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.09.018>

Nakagawa, T., Akagi, M., Hoshikawa, H., Chen, M., Yasuda, T., & Mukai, S. (2002). Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 mediates leukocyte infiltration and articular cartilage destruction in rat zymosan-induced arthritis. *Arthritis Rheum.*, 46, 2486–2494.

Nakagawa, T., Yasuda, T., Hoshikawa, H., Shimizu, M., Kakinuma, T., & Chen, M. (2002). LOX-1 expressed in cultured rat chondrocytes mediates oxidized LDL-induced cell death-possible role of dephosphorylation of Akt. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 299, 91–97.

Parasher, A. (2021). COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgrad. Med. Jjournal*, 97(1147), 312–320. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-138577>

Pratt, J., Haidara, K., & Annabi, B. (2022). MT1-MMP Expression Levels and Catalytic Functions Dictate LDL Receptor-Related Protein-1 Ligand Internalization Capacity in U87 Glioblastoma Cells. *Int J Mol Sci.*, 23(22), 14214. <https://doi.org/10.3390/ijms232214214>

Ruiz-Del-Valle, V., Sarabia de Ardanaz, L., Navidad-Fuentes, M., Martín-Martín, I., & Lobato-Cano, R. (2022). Reactive arthritis with SARS-CoV-2 as

a trigger. *Reumatol. Clin. (Engl. Ed.)*, 18(8), 490–492. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2021.11.002>

Sagar, D., Gaddipati, R., Ongstad, E.L., Bhagroo, N., An, L.L., Wang, J., Belkhdja, M., Rahman, S., Manna, Z., Davis, M.A., Hasni, S., Siegel, R., Sanjuan, M., Grimsby, J., Kolbeck, R., Karathanasis, S., Sims, G.P., & Gupta, R. (2020). LOX-1: A potential driver of cardiovascular risk in SLE patients. *PLoS One*, 17, 15(3), e0229184. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229184>

Simopoulou, T., Malizos, K.N., & Tsezou, A. (2007). Lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor 1 (LOX-1) expression in human articular chondrocytes. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 25, 605–612.

Sizova, O., John, L., S., Ma, Q., & Moldrem, J.J. (2023). Multi-faceted role of LRP1 in the immune system. *Front. Immunol.*, 14, 1166189. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1166189>

Taleghani, N., & Taghipour, F. (2021). Diagnosis of COVID-19 for controlling the pandemic: A review of the state-of-the-art. *Biosens. Bioelectron.*, 15, 174, 112830. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112830>

Wendling, D., Verhoeven, F., Chouk, M., & Prati, C. (2021). Can SARS-CoV-2 trigger reactive arthritis? *Joint. Bone Spine*, 88(1), 105086. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2020.105086>

Wujak, L., Schnieder, J., Schaefer, L., & Wygrecka, M. (2018). LRP1: a chameleon receptor of lung inflammation and repair. *Matrix Biol.*, 68–69, 366–381.

Yao, Q., Wu, X., Tao, C., Gong, W., Chen, M., Qu, M., Zhong, Y., He, T., Chen, S., & Xiao, G. (2023). Osteoarthritis: pathogenic signaling pathways and therapeutic targets. *Signal. Transduct. Target. Ther.*, 3, 8(1), 56. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01330-w>

Yamamoto, K., Troeberg, L., Scilabra, S., Pelosi, M., Murphy, C., Strickland, D., & Nagase H. (2013). LRP-1-mediated endocytosis regulates extracellular activity of ADAMTS-5 in articular cartilage. *FASEB*, 27(2), 511–521. <https://doi.org/10.1096/fj.12-216671>

Отримано редакцією журналу / Received: 06.09.23

Прорецензовано / Revised: 06.09.23

Схвалено до друку / Accepted: 05.10.23

Yuriy TUGAROV, PhD Student
ORCID ID: 0000-0002-1583-6279
e-mail: tugarovdoc@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 *LRP1* AND *OLR1* GENES IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS AFTER SARS-CoV2 INFECTION

Background. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection was first reported in Wuhan, China in December 2019, and then spread rapidly worldwide, causing an estimated 771 million active cases with ~7 million deaths as of September 2023. The pandemic of the new coronavirus SARS-CoV-2 poses a great threat to the world in many aspects: medical, social, economic and other. A comprehensive understanding of the interaction of the virus with the body is fundamentally important in the fight against SARS-CoV-2. During the 2019 coronavirus disease (Coronavirus disease 2019, COVID-19), epithelial cells of the respiratory tract are affected, which is manifested by symptoms of a respiratory infection. The SARS-CoV-2 virus, as an infectious trigger, causes damage to other organ systems, in particular, the musculoskeletal system, and can also complicate the condition of patients with comorbid diseases.

Methods. The aim of the work was to determine the expression of *LRP1* and *OLR1* genes in the blood of patients with osteoarthritis after SARS-CoV2 infection. All study participants were divided into three groups. The first group ($n = 10$) is conditionally healthy people. The second group ($n = 22$) – patients with osteoarthritis of the knee joints II-III degree. The third 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. The expression of *LRP1* and *OLR1* genes was determined in the blood. 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 the blood of patients with osteoarthritis, the expression of the *LRP1* gene decreases and the expression of the *OLR1* gene increases compared to a group of conditionally healthy people. In patients with osteoarthritis after infection with SARS-CoV-2, more significant violations of the expression of the studied genes are shown.

Conclusions. The obtained data indicate a violation of the metabolism of lipoproteins in the body, the activation of free radical processes and the development of systemic inflammation, which leads to a decrease in vascular protection and endothelial dysfunction in patients with osteoarthritis, which increases under conditions of additional infectious load on the body under the influence of SARS-CoV2 infection.

Keywords: SARS-CoV-2, osteoarthritis, blood, *LRP1*, *OLR1* gene expression, lipid metabolism, inflammation, oxidative stress.

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.