

УДК 616.72-002:577.125.8

DOI: <https://doi.org/10.17721/1728.2748.2024.97.22-27>

Юрій ТУГАРОВ, асп.

ORCID ID: 0000-0002-1583-6279

e-mail: tugarovdoc@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

ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ ХВОРИХ НА ОСТЕОАРТРИТ ПІСЛЯ SARS-CoV2-ІНФЕКЦІЇ

Вступ. *Спалах важкого гострого респіраторного синдрому, викликаного SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2, коронавірус 2, пов'язаний із тяжким гострим респіраторним синдромом) у 2019 р. спричинив розвиток пандемії коронавірусної хвороби 2019 року (Coronavirus disease 2019, COVID-19). Із моменту її початку багато симптомів захворювання були пов'язані з гострими інфекціями SARS-CoV-2, а також з віддаленими наслідками пацієнтів із COVID-19. Серед цих симптомів існують різні категорії захворювань опорно-рухового апарату, зокрема остеоартрити. Відомо, що розвиток остеоартритів пов'язаний з окисним стресом та надлишковим продукуванням вільних радикалів. Білки високочутливі до вільнорадикального окиснення, і тому рівень їх окиснення відображає окисно-антиоксидантний баланс в організмі. Метою роботи було визначити вміст продуктів окисної модифікації білків у плазмі крові хворих на остеоартрит після SARS-CoV2-інфекції.*

Методи. *Усіх учасників дослідження було розподілено на три експериментальні групи: I група – умовно здорові люди, II група – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня та III група – пацієнти з остеоартритом колінних суглобів II–III ступеня, які перенесли легку або середньотяжку форму COVID-19 6–9 місяців тому. Вміст продуктів окисної модифікації білків визначали за рівнем карбонільних похідних, які виявляються в реакції з 2,4-динітрофенілгідразом. Обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики.*

Результати. *Встановлено, що у плазмі крові пацієнтів з остеоартритом колінних суглобів, які перехворіли на COVID-19, вміст продуктів окисної модифікації білків (альдо- та кетопохідних нейтрального та основного характеру) збільшувався. Виявлені зміни свідчать про порушення окисно-антиоксидантного балансу та розвиток окисного стресу в організмі хворих на остеоартрит після SARS-CoV-2-інфекції.*

Висновки. *Модифікація структури білків плазми крові може призводити до втрати їхньої біологічної функції та порушення обмінних процесів у хворих на остеоартрит після інфікування COVID-19.*

Ключові слова: SARS-CoV-2, остеоартрит, плазма крові, окисна модифікація білків.

Вступ

Поява у Китаї наприкінці 2019 року коронавірусу 2, пов'язаного з тяжким гострим респіраторним синдромом (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2, SARS-CoV-2), спричинила виникнення коронавірусної хвороби (Coronavirus disease 2019, COVID-19), яка поширилася майже в усіх куточках земної кулі, забравши понад 7 млн життів (World Health Organization, 2023). Основними проявами захворювання є респіраторні симптоми (сухий кашель, задишка, утруднене дихання, виділення слизу та біль у горлі), лихоманка та шлунково-кишкові розлади. Тривалість та перебіг COVID-19 у пацієнтів могли варіювати від безсимптомної до важкої пневмонії з поліорганною недостатністю і летальним наслідком (Davis et al., 2023; Ochani et al., 2021; Zhang et al., 2023). Частина хворих зазначала про появу ряду інших симптомів, серед яких були зміни у функціонуванні опорно-рухового апарату. Зокрема, у 15 % людей хворих на COVID-19 розвивалася артралгія, а також у ряді пацієнтів спостерігалися ознаки формування реактивного або вірусного артрити: біль і набряк у суглобах, асиметричність ураження суглобів, зміна кольору шкіри над суглобом, біль в'язи або хребті тощо (Farisogullari, Pinto & Machado, 2022; Gasparotto et al., 2021; Mukarram et al., 2021; Ono et al., 2020). У результаті перебігу цього захворювання ставав більш тривалим та складним. Таким чином, пандемія COVID-19 спричинила значну захворюваність і смертність населення, а також серйозні соціальні та економічні зриви як в Україні, так і в усьому світі.

Виявлено, що частіше більш важкий перебіг та розвиток ускладнень спостерігається у пацієнтів з COVID-19, що були похилого віку або мали хронічні захворювання (гіпертонічна хвороба, цукровий діабет, хвороби серця, легенів, опорно-рухової системи тощо) (Gallo, Calvez, & Savoia, 2022; Migliorini et al., 2023; Singh, & Khunti, 2022). Через збільшення тривалості життя остеоартрит (ОА) є одним із найпоширеніших хронічних дегенеративних захворювань суглобів, при якому відбувається ураження хрящової тканини на суглобових поверхнях кісток, з подальшим пошкодженням всіх тканин, що утворюють суглоб (кісток, зв'язкового апарату, синовіальної оболонки), що поступово буде призводити до незворотних змін у суглобі та втрати його функції. Незважаючи на те, що вчені доклали значних зусиль для можливого відновлення дегенерованого суглобового хряща, остеоартрит на сьогодні залишається прогресуючим та незворотним захворюванням (Abramoff, & Caldera, 2020; Emami et al., 2023).

Важливою частиною патогенезу остеоартриту є порушення рівноваги між утворенням вільних радикалів та механізмами їх знешкодження, що призводить до активації вільнорадикальних процесів та розвитку окисного стресу (Zahan et al., 2020). Окисний дисбаланс у суглобі відбувається внаслідок розвитку запалення, яке спричинює надмірну продукцію активних форм кисню (АФК) та нестачі функціонування антиоксидантної системи, у результаті вичерпання її резервних можливостей (Ansari, Ahmad & Haqqi, 2020). При остеоартриті в суглобах посилюється експресія генів прозапальних цитокінів і хемокінів (інтерлейкін-1 β , фактор некрозу пухлини- α ,

інтерлейкін-6 тощо), що індукує виробництво АФК та стимулює експресію генів матриксних протеаз, сприяючи деградації позаклітинного матриксу хряща (Liu et al., 2022). У свою чергу, утворені органічні перекиси збільшують набряк та вироблення простагландинів, що посилює розвиток запалення (Crofford et al., 1994). Таким чином, окисний стрес та запалення взаємопов'язані.

Чутливими молекулами до дії АФК є білки. Вони є основними мішенями для реакцій окиснення через їхню швидку реакцію з окиснювачами та їх велику кількість у клітинах, позаклітинних тканинах і рідині організму (Akagawa, 2021; Tetik et al., 2015). Крім того, окисний стрес здатний розкласти ліпіди та вуглеводи до високоактивних проміжних продуктів, які зрештою атакують білки в різних функціональних місцях. Окисне пошкодження білків має руйнівний вплив на їхню структуру та функції, зокрема, спричиняючи інактивацію ферментів і зміни у функціонуванні рецепторів і мембранних транспортів. Крім того, окисно-модифіковані білки можуть містити реактивні хімічні групи, які можуть сприяти вторинному пошкодженню інших біологічних молекул (Dilek, 2021). Зростаюча кількість публікацій надає докази участі незворотної модифікації білків у виникненні та прогресуванні захворювань, а також процесах старіння (Geib et al., 2021; Hecker, & Wagner, 2018; Ozler et al., 2020; Riegger et al., 2023; Xie et al., 2021). Деякі продукти окиснення білків хімічно стабільні й утворюються у великій кількості, що робить їх перспективними кандидатами на роль біомаркерів окисного пошкодження. Карбонілювання білка є однією з найпоширеніших окисних модифікацій. У наших дослідженнях ми визначали саме вміст альдо- та кетопохідних білків нейтрального та основного характеру, які належать до карбонільних похідних.

Метою роботи було визначити вміст продуктів окисної модифікації білків у плазмі 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 і 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 проєкціях. Оцінювання інтенсивності болю та функціонального стану колінних суглобів хворих проводилася за допомогою розрахунку індексу WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index), який підраховується на основі тестування, що містить 24 запитання, що відображають вираженість больових відчуттів (5 запитань), скутості (2 запитання) та функціональної активності (17 запитань) (McConnell, Kolosack, & Davis, 2001).

Усі учасники дослідження надалі були розподілені на три експериментальні групи, середній вік пацієнтів у кожній групі був однаковим. До першої групи ($n = 10$) ввійшли умовно здорові люди. 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 наявності контакту із 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 місяців тому. Діагноз COVID-19 було підтверджено за допомогою молекулярного аналізу (RT-PCR) зразків мазків з носоглотки. Усі учасники, які добровільно погодилися 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). Було вжито всіх заходів 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 антикоагулянтном, щоб запобігти її згортанню. Плазму крові отримували шляхом центрифугування протягом 15 хв при 2000 г. У проведених дослідженнях у плазмі крові пацієнтів всіх дослідних груп оцінювали вміст продуктів окисної модифікації білків за методом (Moreau, & Issakidis-Bourguet, 2022), що ґрунтується на спектрофотометричному визначенні альдегідних та кетонних похідних 2,4-динітрофенілгідразину (2,4-ДНФГ), які можуть утворюватись у результаті взаємодії альдегідних та кето-груп амінокислотних залишків білків із 2,4-ДНФГ. Були використані такі довжини хвиль для визначення кількості аліфатичних альдегід- і кетон-динітрофенілгідразинів нейтрального й основного характеру: нейтральних альдегідних продуктів – $E_{\max} = 356$ нм; нейтральних кетонних продуктів – $E_{\max} = 370$ нм; основних альдегідних продуктів – $E_{\max} = 430$ нм та основних кетонних продуктів – $E_{\max} = 530$ нм. Визначення концентрації білка було проведено за методом Лоурі (Lowry et al., 1951). 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 результатів відбувалося за допомогою Н-критерію Крускала–Уолліса із посттестом Данна. Отримані результати наведено у вигляді середнього арифметичного $\pm$ стандартна похибка середнього. Результати вважали значущими, коли $p \leq 0,05$.

Результати

Унаслідок проведених експериментальних досліджень було встановлено, що у плазмі крові пацієнтів, хворих на остеоартрит, вміст продуктів окисної модифікації білків зростає (табл. 1). Зокрема, збільшується рівень нейтральних альдегідних продуктів – у 1,8 раза та нейтральних кетонних продуктів відповідно – у 1,6 раза порівняно з групою умовно здорових людей. Показано, що в групі хворих на остеоартрит у плазмі крові зростає вміст основних альдегідних продуктів – у 2,1 раза та вміст основних кетонних продуктів – у 1,7 раза порівняно з групою умовно здорових людей (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст продуктів окисної модифікації білків у плазмі крові дослідних груп, ум. од. $\times$ мг білка⁻¹ (M $\pm$ m)

Показник	Групи людей	Умовно здорові (n = 10)	Остеоартрит (n = 22)	Остеоартрит + COVID-19 (n = 14)
Продукти нейтрального характеру	356 нм, альдопохідні	0,187 $\pm$ 0,016	0,452 $\pm$ 0,044*	0,583 $\pm$ 0,055*#
	370 нм, кетопохідні	0,139 $\pm$ 0,013	0,253 $\pm$ 0,025*	0,349 $\pm$ 0,032*#
Продукти основного характеру	430 нм, альдопохідні	0,104 $\pm$ 0,009	0,219 $\pm$ 0,021*	0,327 $\pm$ 0,029*#
	530 нм, кетопохідні	0,058 $\pm$ 0,005	0,093 $\pm$ 0,009*	0,125 $\pm$ 0,011*#

Примітка: * – $p < 0,05$ щодо умовно здорових людей; # – $p < 0,05$ щодо групи людей з остеоартритом.

Виявлено, що у плазмі крові пацієнтів з остеоартритом, які перенесли легку та середньотяжку форму COVID-19, вміст продуктів окисної модифікації білків у плазмі крові збільшується: нейтральні альдегідні продукти – у 1,5 раза, нейтральні кетонні продукти – у 1,4 раза, основні альдегідні продукти – у 1,7 раза, основні кетонні продукти – у 1,4 раза відносно групи хворих на остеоартрит (табл. 1). Згідно з отриманими результатами встановлено, що у плазмі крові як хворих на остеоартрит, так і пацієнтів з остеоартритом, що перехворіли на COVID-19, збільшується вміст окисно-модифікованих білків. Отримані дані свідчать про порушення окисно-антиоксидантної рівноваги та розвиток окисного стресу в організмі пацієнтів. Окиснення білків може призвести до агрегації, полімеризації, розгортання або конформаційних змін молекул білків, що відповідно спричинить втрату їхньої структурної та/або функціональної активності. Окиснені білкові агрегати важко розкладаються в клітині, тому їх накопичення може викликати дисфункцію клітини (Kehm et al., 2021).

Карбонілювання білка може бути викликане безпосередньо дією окисного стресу або опосередковано реакціями продуктів окиснення біологічних молекул. Основний механізм карбонілювання білка передбачає пряму дію АФК або каталізоване металами окиснення бічних ланцюгів амінокислот, зокрема проліну, аргініну, лізину та треоніну. Карбонільні похідні також можуть утворюватися через шлях α -амідування або через окиснення бічних ланцюгів N-кінцевих глутамільних залишків із формуванням α -кетонацильного похідного. Непрямий механізм карбонілювання білка передбачає карбонілювання лізину, цистеїну та гістидину, яке може бути спричинене їхньою реакцією з реакційноздатними карбонільними групами, що утворюються під час окиснення ліпідів (напр., 4-гідрокси-транс-2-ноненалю, малонового діальдегіду або акролеїну) і вуглеводів (напр., глюкозю, метилглюкозю) (Fuentes-Lemus et al., 2021; Hägglund, Mariotti, & Davies, 2018).

Також модифікації білкових молекул можуть модулювати багато сигнальних шляхів, а також диференціювання та проліферацію клітин, а отже, бути дуже важливими в контексті позаклітинного матриксу та деградації суглобового хряща при остеоартриті. Ряд дослідників показали кореляцію між вмістом утворених окисно-модифікованих білків та активністю перебігу остеоартрити (Geib et al., 2021; Ozler et al., 2020; Xie et al., 2021). Наприклад канадські дослідники проводили вивчення білків у хондроцитах пацієнтів з остеоартритом, модифікованих 4-гідроксинанономалю, який утворюється шляхом пероксидного окиснення ліпідів під час окисного стресу (Geib et al., 2021). Вони показали, що зв'язу-

вання 4-гідроксинанономалю з білками призводить до численних аномалій фенотипу та функції хондроцитів, що свідчить про його внесок у розвиток остеоартрити. У сумісному дослідженні вчених з Великої Британії та Нідерландів проведено визначення аутоантитіл до посттрансляційно модифікованих білків у пацієнтів при артриті різної етіології (Xie et al., 2021). Виявлено появу таких аутоантитіл в сироватці крові пацієнтів як із ревматоїдним артритом, так і з остеоартритом. К. Ozler зі співавторами показали асоціацію ішемічно-модифікованого альбуміну (IMA) з прогресуванням остеоартрити (Ozler et al., 2020). Ми провели проспективне дослідження типу "випадок-контроль", у якому взяли участь 110 пацієнтів, серед яких було 55 пацієнтів з остеоартритом та 55 умовно здорових людей. Показано підвищення рівня модифікованого ішемією альбуміну у зразках сироватки крові хворих на остеоартрит залежно від його стадії, що свідчить про можливе використання IMA як імовірного прогностичного маркера ризику прогресування остеоартрити. Це свідчить про залежність між активністю захворювання та інтенсивністю вільнорадикальних реакцій. Тому виявлене в крові збільшення карбонільних похідних білків у пацієнтів з остеоартритом, що перехворіли на COVID-19, може вважатися прогностично несприятливою ознакою для перебігу остеоартрити.

Показане в нашому дослідженні більш інтенсивне утворення продуктів окисної модифікації білків у пацієнтів з остеоартритом, які перенесли COVID-19, пов'язано з прямою дією самого вірусу SARS-CoV-2, який як інфекційний агент спричинює в організмі збільшення продукції прозапальних цитокінів, що призводить до ураження багатьох органів, у тому числі й суглобів (Darif et al., 2021; Taha et al., 2021). SARS-CoV-2 потрапляє в клітину через ангіотензинперетворювальний фермент 2 (Angiotensin I converting enzyme 2, ACE-2) і сприймається Toll-подібним рецептором-7 (Toll-like receptor-7, TLR-7). Активація TLR-7 призводить до активації N-кінцевої кінази c-Jun та передачі сигналів транскрипційного ядерного фактора-кВ (Nuclear factor kappa B, NF-кВ). Ці події, у свою чергу, спричинюють продукцію прозапальних цитокінів: інтерлейкінів 6 та 12p40, які можуть провокувати появу в пацієнтів з COVID-19 клінічних симптомів, характерних для вірусного артрити (Li et al., 2020; Moreno-Eutimio, López-Macías, & Pastelin-Palacios, 2020). Отже, у хворих із остеоартритом після перенесеного COVID-19 стан суглобів може погіршуватися через вплив додаткових патогенних факторів, до яких належить вірус SARS-CoV-2.

Дискусія і висновки

Встановлено, що у плазмі крові хворих на остеоартрит колінних суглобів зростає вміст продуктів окисно-модифікованих білків як у пацієнтів, що не хворіли на COVID-19, так і у хворих після перенесеної SARS-CoV2-інфекції. Отримані результати свідчать про порушення окисно-антиоксидантної рівноваги та активацію вільнорадикальних процесів в організмі хворих на остеоартрит. Показано більш інтенсивне окиснення білків у пацієнтів, що перехворіли на COVID-19, що пов'язано з посиленням накопиченням вільних радикалів та розвитком окисного стресу. Краще розуміння клінічних ефектів окисного стресу може покращити прогноз остеоартрит у пацієнтів після перенесеної SARS-CoV-2-інфекції за рахунок створення відповідних індивідуальних терапевтичних стратегій лікування.

Внесок авторів: Юрій Тугаров – дизайн дослідження, збирання біологічного матеріалу та проведення біохімічних досліджень, обробка та аналіз отриманих результатів, написання рукопису; Катерина Дворченко – формулювання концепції дослідження, узагальнення результатів наукового дослідження, перегляд і редагування рукопису.

Список використаних джерел

- Abramoff, B., & Caldera, F.E. (2020). Osteoarthritis: Pathology, diagnosis, and treatment options. *Medical Clinics of North America*, 104(2), 293–311. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2019.10.007>
- Akagawa, M. (2021). Protein carbonylation: Molecular mechanisms, biological implications, and analytical approaches. *Free Radical Research*, 55(4), 307–320. <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1851027>
- Ansari, M.Y., Ahmad, N., & Haqqi, T.M. (2020). Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 129, 110452. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110452>
- Crofford, L.J., Wilder, R.L., Ristimäki, A.P. et al. (1994). Cyclooxygenase-1 and -2 expression in rheumatoid synovial tissues: Effects of interleukin-1 β , phorbol ester, and corticosteroids. *Journal of Clinical Investigation*, 93(3), 1095–1101. <https://doi.org/10.1172/JCI117060>
- Davis, H.E., McCorkell, L., Vogel, J.M., & Topol, E.J. (2023). Long COVID: Major findings, mechanisms and recommendations. *Nature Reviews Microbiology*, 21(3), 133–146. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00846-2>
- Dilek, O. (2022). Current probes for imaging carbonylation in cellular systems and their relevance to progression of diseases. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 21, 15330338221137303. <https://doi.org/10.1177/15330338221137303>
- Darif, D., Hammi, I., Kihel, A., El Idrissi Saik, I., Guessous, F., & Akarid, K. (2021). The pro-inflammatory cytokines in COVID-19 pathogenesis: What goes wrong? *Microbial Pathogenesis*, 153, 104799. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104799>
- Emami, A., Namdari, H., Parvizpour, F., & Arabpour, Z. (2023). Challenges in osteoarthritis treatment. *Tissue & Cell*, 80, 101992. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2022.101992>
- 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>
- Fuentes-Lemus, E., Häggglund, P., López-Alarcón, C., & Davies, M.J. (2021). Oxidative crosslinking of peptides and proteins: Mechanisms of formation, detection, characterization and quantification. *Molecules*, 27(1), 15. <https://doi.org/10.3390/molecules27010015>
- Gallo, G., Calvez, V., & Savoia, C. (2022). Hypertension and COVID-19: Current evidence and perspectives. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*, 29(2), 115–123. <https://doi.org/10.1007/s40292-022-00506-9>
- Gasparotto, M., Framba, V., Piovella, C., Dorá, A., & Iaccarino, L. (2021). Post-COVID-19 arthritis: A case report and literature review. *Clinical Rheumatology*, 40(8), 3357–3362. <https://doi.org/10.1007/s10067-020-05550-1>
- Geib, T., Iacob, C., Jribi, R., Fernandes, J., Benderdour, M., & Sleno, L. (2021). Identification of 4-hydroxynonenal-modified proteins in human osteoarthritic chondrocytes. *Journal of Proteomics*, 232, 104024. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.104024>
- Häggglund, P., Mariotti, M., & Davies, M.J. (2018). Identification and characterization of protein cross-links induced by oxidative reactions. *Expert Review of Proteomics*, 15(8), 665–681. <https://doi.org/10.1080/14789450.2018.1509710>
- Hecker, M., & Wagner, A.H. (2018). Role of protein carbonylation in diabetes. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 41(1), 29–38. <https://doi.org/10.1007/s10545-017-0104-9>
- Kehm, R., Baldensperger, T., Raupbach, J., & Höhn, A. (2021). Protein oxidation – Formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases. *Redox Biology*, 42, 101901. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101901>
- Li, M.Y., Li, L., Zhang, Y., & Wang, X.S. (2020). Expression of the SARS-CoV2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infectious Diseases of Poverty*, 9(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00662-x>
- Liu, L., Luo, P., Yang, M., Wang, J., Hou, W., & Xu, P. (2022). The role of oxidative stress in the development of knee osteoarthritis: A comprehensive research review. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9, 1001212. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.1001212>
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275.
- 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 & Research*, 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)
- Migliorini, F., Bell, A., Vaishya, R., Eschweiler, J., Hildebrand, F., & Maffulli, N. (2023). Reactive arthritis following COVID-19: Current evidence, diagnosis, and management strategies. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 18(1), 205. <https://doi.org/10.1186/s13018-023-03651-6>
- Moreau, C., & Issakidis-Bourguet, E. (2022). A simplified method to assay protein carbonylation by spectrophotometry. *Methods in Molecular Biology*, 2526, 135–141. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2469-2_10
- Moreno-Eutimio, M.A., López-Macias, C., & Pastelin-Palacios, R. (2020). 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 and Infection*, 22(4-5), 226–229. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2020.04.002>
- Mukarram, M.S., Ishaq Ghauri, M., Sethar, S., Afsar, N., Riaz, A., & Ishaq, K. (2021). COVID-19: An emerging culprit of inflammatory arthritis. *Case Reports in Rheumatology*, 6610340. <https://doi.org/10.1155/2021/6610340>
- Ochani, R., Asad, A., Yasmin, F., Shaikh, S., Khalid, H., Batra, S., Sohail, M. R., Mahmood, S. F., Ochani, R., Hussam Arshad, M., Kumar, A., & Surani, S. (2021). COVID-19 pandemic: From origins to outcomes. *Infezioni in Medicina*, 29(1), 20–36.
- 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>
- Ozler, K., Erel, O., Gokalp, O., Avcioglu, G., & Neselioglu, S. (2020). The association of ischemia modified albumin with osteoarthritis progression. *Clinical Laboratory*, 66(1). <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2019.190608>
- Riegger, J., Schoppa, A., Ruths, L., Haffner-Luntzer, M., & Ignatius, A. (2023). Oxidative stress as a key modulator of cell fate decision in osteoarthritis and osteoporosis: A narrative review. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 28(1), 76. <https://doi.org/10.1186/s11658-023-00489-y>
- Singh, A.K., & Khunti, K. (2022). COVID-19 and diabetes. *Annual Review of Medicine*, 73, 129–147. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042220-011857>
- Taha, S.I., Samaan, S.F., Ibrahim, R.A., El-Sehsah, E.M., & Youssef, M.K. (2021). Post-COVID-19 arthritis: Is it hyperinflammation or autoimmunity? *European Cytokine Network*, 32(4), 83–88. <https://doi.org/10.1684/ecr.2021.0471>
- Tetik, S., Kiliç, A., Aksoy, H., Rizaner, N., Ahmad, S., & Yardimci, T. (2015). Oxidative stress causes plasma protein modification. *Indian Journal of Experimental Biology*, 53(1), 25–30.
- World Health Organization. (2023). *COVID-19 pandemic*. Retrieved from <https://covid19.who.int/>
- Xie, X., van Delft, M.A.M., Shuweihi, F., Kingsbury, S.R., Trouw, L.A., Doody, G.M., Conaghan, P.G., & Ponchel, F. (2021). Auto-antibodies to post-translationally modified proteins in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 29(6), 924–933. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2021.03.008>
- Zahan, O.M., Serban, O., Gherman, C., & Fodor, D. (2020). The evaluation of oxidative stress in osteoarthritis. *Medical and Pharmaceutical Reports*, 93(1), 12–22. <https://doi.org/10.15386/mpr-1422>
- Zhang, J.J., Dong, X., Liu, G.H., & Gao, Y.D. (2023). Risk and protective factors for COVID-19 morbidity, severity, and mortality. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 64(1), 90–107. <https://doi.org/10.1007/s12016-022-08921-5>

References

- Abramoff, B., & Caldera, F.E. (2020). Osteoarthritis: Pathology, diagnosis, and treatment options. *Medical Clinics of North America*, 104(2), 293–311. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2019.10.007>
- Akagawa, M. (2021). Protein carbonylation: Molecular mechanisms, biological implications, and analytical approaches. *Free Radical Research*, 55(4), 307–320. <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1851027>
- Ansari, M.Y., Ahmad, N., & Haqqi, T.M. (2020). Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 129, 110452. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110452>
- Crofford, L.J., Wilder, R.L., Ristimäki, A.P. et al. (1994). Cyclooxygenase-1 and -2 expression in rheumatoid synovial tissues: Effects of interleukin-1 β , phorbol ester, and corticosteroids. *Journal of Clinical Investigation*, 93(3), 1095–1101. <https://doi.org/10.1172/JCI117060>
- Davis, H.E., McCorkell, L., Vogel, J.M., & Topol, E.J. (2023). Long COVID: Major findings, mechanisms and recommendations. *Nature Reviews Microbiology*, 21(3), 133–146. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00846-2>
- Dilek, O. (2022). Current probes for imaging carbonylation in cellular systems and their relevance to progression of diseases. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 21, 15330338221137303. <https://doi.org/10.1177/15330338221137303>
- Darif, D., Hammi, I., Kihel, A., El Idrissi Saik, I., Guessous, F., & Akarid, K. (2021). The pro-inflammatory cytokines in COVID-19 pathogenesis: What goes wrong? *Microbial Pathogenesis*, 153, 104799. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104799>
- Emami, A., Namdari, H., Parvizpour, F., & Arabpour, Z. (2023). Challenges in osteoarthritis treatment. *Tissue & Cell*, 80, 101992. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2022.101992>
- 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>
- Fuentes-Lemus, E., Hägglund, P., López-Alarcón, C., & Davies, M.J. (2021). Oxidative crosslinking of peptides and proteins: Mechanisms of formation, detection, characterization and quantification. *Molecules*, 27(1), 15. <https://doi.org/10.3390/molecules27010015>
- Gallo, G., Calvez, V., & Savoia, C. (2022). Hypertension and COVID-19: Current evidence and perspectives. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*, 29(2), 115–123. <https://doi.org/10.1007/s40292-022-00506-9>
- Gasparotto, M., Framba, V., Piovela, C., Doria, A., & Iaccarino, L. (2021). Post-COVID-19 arthritis: A case report and literature review. *Clinical Rheumatology*, 40(8), 3357–3362. <https://doi.org/10.1007/s10067-020-05550-1>
- Geib, T., Iacob, C., Jribi, R., Fernandes, J., Benderdour, M., & Sleno, L. (2021). Identification of 4-hydroxynonenal-modified proteins in human osteoarthritic chondrocytes. *Journal of Proteomics*, 232, 104024. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.104024>
- Hägglund, P., Mariotti, M., & Davies, M.J. (2018). Identification and characterization of protein cross-links induced by oxidative reactions. *Expert Review of Proteomics*, 15(8), 665–681. <https://doi.org/10.1080/14789450.2018.1509710>
- Hecker, M., & Wagner, A.H. (2018). Role of protein carbonylation in diabetes. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 41(1), 29–38. <https://doi.org/10.1007/s10545-017-0104-9>
- Kehm, R., Baldensperger, T., Raupbach, J., & Höhn, A. (2021). Protein oxidation – Formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases. *Redox Biology*, 42, 101901. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101901>
- Li, M.Y., Li, L., Zhang, Y., & Wang, X.S. (2020). Expression of the SARS-CoV2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infectious Diseases of Poverty*, 9(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00662-x>
- Liu, L., Luo, P., Yang, M., Wang, J., Hou, W., & Xu, P. (2022). The role of oxidative stress in the development of knee osteoarthritis: A comprehensive research review. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9, 1001212. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.1001212>
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275.
- 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 & Research*, 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)
- Migliorini, F., Bell, A., Vaishya, R., Eschweiler, J., Hildebrand, F., & Maffulli, N. (2023). Reactive arthritis following COVID-19: Current evidence, diagnosis, and management strategies. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 18(1), 205. <https://doi.org/10.1186/s13018-023-03651-6>
- Moreau, C., & Issakidis-Bourguet, E. (2022). A simplified method to assay protein carbonylation by spectrophotometry. *Methods in Molecular Biology*, 2526, 135–141. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2469-2_10
- Moreno-Eutimio, M.A., López-Macias, C., & Pastelin-Palacios, R. (2020). 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 and Infection*, 22(4-5), 226–229. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2020.04.002>
- Mukarram, M.S., Ishaq Ghauri, M., Sethar, S., Afsar, N., Riaz, A., & Ishaq, K. (2021). COVID-19: An emerging culprit of inflammatory arthritis. *Case Reports in Rheumatology*, 6610340. <https://doi.org/10.1155/2021/6610340>
- Ochani, R., Asad, A., Yasmin, F., Shaikh, S., Khalid, H., Batra, S., Sohail, M. R., Mahmood, S. F., Ochani, R., Hussham Arshad, M., Kumar, A., & Surani, S. (2021). COVID-19 pandemic: From origins to outcomes. *Infezioni in Medicina*, 29(1), 20–36.
- 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>
- Ozler, K., Erel, O., Gokalp, O., Avcioglu, G., & Neselioglu, S. (2020). The association of ischemia modified albumin with osteoarthritis progression. *Clinical Laboratory*, 66(1). <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2019.190608>
- Riegger, J., Schoppa, A., Ruths, L., Haffner-Luntzer, M., & Ignatius, A. (2023). Oxidative stress as a key modulator of cell fate decision in osteoarthritis and osteoporosis: A narrative review. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 28(1), 76. <https://doi.org/10.1186/s11658-023-00489-y>
- Singh, A.K., & Khunti, K. (2022). COVID-19 and diabetes. *Annual Review of Medicine*, 73, 129–147. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042220-011857>
- Taha, S.I., Samaan, S.F., Ibrahim, R.A., El-Sehsah, E.M., & Youssef, M.K. (2021). Post-COVID-19 arthritis: Is it hyperinflammation or autoimmunity? *European Cytokine Network*, 32(4), 83–88. <https://doi.org/10.1684/ecn.2021.0471>
- Tetik, S., Kiliç, A., Aksoy, H., Rizaner, N., Ahmad, S., & Yardimci, T. (2015). Oxidative stress causes plasma protein modification. *Indian Journal of Experimental Biology*, 53(1), 25–30.
- World Health Organization. (2023). COVID-19 pandemic. Retrieved from <https://covid19.who.int/>
- Xie, X., van Delft, M.A.M., Shuweihi, F., Kingsbury, S.R., Trouw, L.A., Doody, G.M., Conaghan, P.G., & Ponchel, F. (2021). Auto-antibodies to post-translationally modified proteins in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 29(6), 924–933. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2021.03.008>
- Zahan, O.M., Serban, O., Gherman, C., & Fodor, D. (2020). The evaluation of oxidative stress in osteoarthritis. *Medical and Pharmaceutical Reports*, 93(1), 12–22. <https://doi.org/10.15386/mpr-1422>
- Zhang, J.J., Dong, X., Liu, G.H., & Gao, Y.D. (2023). Risk and protective factors for COVID-19 morbidity, severity, and mortality. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 64(1), 90–107. <https://doi.org/10.1007/s12016-022-08921-5>

Отримано редакцією журналу / Received: 15.05.24

Прорецензовано / Revised: 17.06.24

Схвалено до друку / Accepted: 17.06.24

Yurij TUHAROV, PhD Stud.
ORCID ID: 0000-0002-1583-6279
e-mail: tugarovdoc@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

OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS AFTER SARS-CoV2 INFECTION

Background. The outbreak of severe acute respiratory syndrome caused by SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2) in 2019 caused the development of pandemic of coronavirus disease 2019 (COVID-19). Since its onset, many symptoms of the disease have been associated with acute SARS-CoV-2 infection, as well as with long-term sequelae in patients with COVID-19. Among these symptoms are various categories of diseases of the musculoskeletal system, including osteoarthritis. It is known that the osteoarthritis development is associated with oxidative stress and excessive production of free radicals. Proteins are highly sensitive to oxidation by free radicals, so the level of their oxidative modification reflects the oxidant-antioxidant balance in the body.

Methods. The study was aimed at determining the content of products of oxidative modification of proteins in the blood plasma of patients with osteoarthritis after SARS-CoV2 infection. All study participants were further divided into three experimental groups: Group I - conditionally healthy people, Group II – patients with grade 2/3 knee osteoarthritis, and Group III - patients with grade 2/3 knee osteoarthritis who suffered a mild or moderate COVID-19 6–9 months ago. The content of the products of oxidative modification of proteins was determined by the level of carbonyl derivatives, which are detected by the reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine. Processing of research results was carried out using generally accepted methods of variational statistics.

Results. It was established that the content of products of oxidative modification of proteins (aldo- and keto-derivatives of neutral and basic nature) increased in the blood plasma of patients with osteoarthritis of the knee joints who contracted COVID-19. The detected changes indicate a violation of the oxidative-antioxidant balance and the development of oxidative stress in the body of patients with knee osteoarthritis after SARS-CoV-2 infection.

Conclusions. Modification of the structure of blood plasma proteins can lead to loss of their biological function and disruption of metabolic processes in patients with osteoarthritis after the coronavirus disease.

Keywords: SARS-CoV-2, osteoarthritis, blood plasma, oxidative modification of proteins.

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; or in the decision to publish the results.