

АСОЦІАЦІЯ ПОЛІМОРФІЗМУ RS4646994 ГЕНА ACE1 З ТЯЖКІСТЮ ПЕРЕБІГУ COVID-19 У ДІТЕЙ З УКРАЇНИ

Т.А. ГАРАЩЕНКО¹, Т.Р. УМАНЕЦЬ¹, А.О. МОГИЛЕВЕЦЬ², О.В. ГОРОДНА³,
Д.С. КРАСНЕНКОВ⁴, Ю.Г. АНТИПКІН¹, Л.А. ЛІВШИЦЬ^{1,3,4,*}

¹ ДУ «Всеукраїнський центр материнства та дитинства НАМН України»,
вул. Платона Майбороди, 8, Київ, 04050, Україна

² Київський національний університет ім. Т. Шевченка,
вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна

³ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

⁴ ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф.Чеботарьова НАМН України»,
вул. Вишгородська, 67, Київ, 04114, Україна

E-mail: tattt.my@gmail.com, anstiamog@gmail.com, tetiana.umanets@gmail.com, a.v.gorodna@imbg.org.ua,
krasnenkovd@gmail.com, livshits@edu.imbg.org.ua*

* Автор для кореспонденції – Лівшиць Л.А., e-mail: livshits@edu.imbg.org.ua

Коронавірусна хвороба 2019 (COVID-19), яка вперше була ідентифікована наприкінці 2019 року в місті Ухань, провінція Хубей (Китай), залишається актуальною проблемою системи охорони здоров'я двадцять першого століття зі значною захворюваністю та смертністю, незважаючи на впровадження вакцинальної кампанії. Особливе зацікавлення викликають результати досліджень про роль генетичних чинників у перебігу COVID-19. Такі дані свідчать про ймовірне існування спадкової схильності індивідів до важкого та ускладненого перебігу коронавірусної хвороби. Результати низки досліджень свідчать про залученість поліморфних варіантів I/D гена ACE1 в особливостях перебігу коронавірусної хвороби вірусу SARS-CoV-2. Мета нашої роботи полягала у дослідженні особливостей розподілу генотипів за поліморфізмом rs4646994 гена ACE1 та оцінки асоціації даного поліморфізму з важкістю перебігу коронавірусної хвороби, ризиком розвитку патологічних змін в легенях під час коронавірусної хвороби у когорті дітей, які перенесли COVID-19. З цією метою в обстежуваній групі з 244 дітей, котрі перенесли лабораторно підтверджений COVID-19, було проведено генотипування за поліморфізмом rs4646994 гена ACE1 з використанням аналізу кривих плавлення продуктів ПЛР, детекція яких відбувається за рахунок флюорисценції інтеркалюючого барвника EvaGreen. За результатами дослідження було встановлено асоціацію між гомо- та гетерозиготними носійством алеля I з тяжчим перебігом захворювання, зокрема, з ураженням легень. Отримані дані можуть слугувати підґрунтям для використання поліморфізму I/D гена ACE1 в якості генетичного маркера прогнозу перебігу захворювання

на COVID-19 та стати важливою інформацією для розробки персоналізованої терапії у дітей.

Ключові слова: діти, COVID-19, ураження легень, генетичний маркер, поліморфізм I/D гена ACE1.

Вступ. Коронавірусна хвороба 2019 (COVID-19), збудником якої є новий одноланцюговий РНК-β-коронавірус, який пізніше був названий важким гострим респіраторним синдромом коронавірус 2 (SARS-CoV-2), вперше була ідентифікована наприкінці 2019 року в місті Ухань, провінція Хубей (Китай) (Huang et al, 2020). Захворювання швидко ширилося світом і в березні 2020 року ВООЗ оголосила COVID-19 пандемією (WHO, 2020). Незважаючи на впровадження вакцинальної кампанії, на сьогоднішній день COVID-19 залишається актуальною проблемою системи охорони здоров'я двадцять першого століття зі значною захворюваністю та смертністю (Chan et al, 2020). Станом на 8 вересня 2024 року ВООЗ повідомила про приблизно 776 205 140 підтверджених випадків COVID-19 і 7 064 380 летальних випадків у всьому світі (WHO, 2024).

COVID-19 демонструє широкий спектр клінічних проявів та варіабельний перебіг від безсимптомного до тяжкого, що супроводжується респіраторною дисфункцією (гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС)), дихальною недостатністю, тромботичними ускладненнями та поліорганною недостатністю (Huang et al, 2020). Однак наразі молекулярні механізми патогенезу схильності до тяжкого перебігу з ураженням легень ще достеменно не вивчені.

В свою чергу дослідження попередніх років свідчать, що спадкова компонента може обумовлювати індивідуальні особливості перебігу захворювання, резистентність та схильність до ураження вірусними агентами (Webb et al, 2020; Al-Eitan et al, 2023). Таким чином, вивчення факторів спадкової схильності до інфікування вірусом SARS-CoV-2, дозволить визначити молекулярні механізми розвитку особливостей перебігу захворювання та визначити інформативні генетичні маркери для прогнозу, моніторингу, лікування та профілактики COVID-19, а також дасть можливість кращого розуміння рівня смертності та захворюваності (Al-Eitan et al, 2023).

В багаточисленних дослідженнях попередніх років доведено, що особливості функціонування ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (RAAS) відіграють провідну роль у патогенезі COVID-19 (Luoyi et al, 2023; Zobel et al, 2024). Вірус SARS-CoV-2 потрапляє у клітини людини шляхом взаємодії та зв'язування спайкового (S) білку з локалізованими на поверхні клітинної мембрани молекулами білка ACE2 (металопротеїтидазним ангіотензинперетворюючим ферментом 2 (ACE2)), який слугує основним рецептором для вірусу SARS-CoV-2 (Hoffmann et al, 2020). В свою чергу, ACE2 експресується у різних органах, включаючи легені, а саме в альвеолярних клітинах типу II, кишківник — ентероцитах тонкої кишки, серце — клітинах міокарда, нирки — клітинах проксимальних ниркових каналців та у клітинах мозку (Zou et al, 2020; Zobel et al, 2024). Таким чином, вірус SARS-CoV-2, зв'язуючись з клітинами хазяїна при інфікуванні, може спричинювати розвиток дифузного альвеолярного пошкодження, легеневої консолідації, гастроентериту, системного васкуліту, поліорганої недостатності.

У попередніх дослідженнях, було встановлено, що активність ACE2 перебуває під безпосереднім контролем ACE1 шляхом регулювання концентрації ангіотензину II (AngII), а як відомо ACE1 перетворює ангіотензин I у вазоактивний ангіотензин II, стимулюючи при цьому вазоконстрикцію та сприяючи, як запальному так і тромботичному процесу, а також апоптозу альвеолярних епітеліальних клітин через зв'язування з рецепторами ангіо-

тензину типу 1 (AT1) (Zou et al, 2020; Qi et al, 2020). З іншого боку ACE2 залучений до процесу утворення біоактивного Ang1-7 з 8-amino-acid Angiotensin-II (Ang-II), в свою чергу, Ang-II також може утворюватися з Ang-I під дією ACE1 (Hamming et al, 2007). Однотименний ген, що кодує білок ACE1 локалізується на хромосомі 17 (17q35). У некодуючій послідовності цього гена, а саме в інтроні 16, має місце вставка або видалення повторюваного фрагмента Alu з 287 пар основ (bp), що призводить до утворення трьох генотипів: ID, DD та II (Verma et al, 2021).

За результатами досліджень вчених з різних країн було встановлено, що найвищий рівень експресії білка ACE у плазмі спостерігається при генотипі DD, у порівнянні з генотипом ID, який у свою чергу зумовлює проміжний рівень, а при генотипі II спостерігають найнижчий рівень експресії даного білка (Boraey et al, 2024; Thakur et al, 2022). За наявності алеля D гена ACE1 підвищується рівень ACE1, але знижується рівень ACE2, що призводить до збільшення ангіотензину-2 та прогресування набряку легень за рахунок підвищення мікросудинної проникності (Thakur et al, 2022). В свою чергу, експресія ACE2, який виступає рецептом для зв'язування та проникнення вірусу SARS-CoV-2 у клітини різних тканин ураженого індивіда, регулюється активністю ACE1 (Beyerstedt et al, 2021). Численні дослідження підтверджують, що легені виступають основною ланкою ураження вірусом SARS-CoV-2, а дисбаланс RAAS відіграє вагомий роль у розвитку легеневої патології, про це свідчать дані отримані за результатами дослідження асоціації генетичного поліморфізму інсерція/делеція в послідовності інтрону 16 гена ACE1 з таким патологічними станами легень, як саркоїдоз, гіпоксична легенева гіпертензія, ідіопатичний легеневий фіброз та гострий респіраторний дистрес синдром (ГРДС) (Johnston et al, 2023; Tomita et al, 1997).

Наші дослідження були спрямовані на вивчення асоціації генетичного поліморфізму rs4646994 гена ACE1 з ураженнями легень серед дітей з України хворих на COVID-19.

Матеріали та методи. *Обстежувані індивіди.* В рамках даної роботи до дослідження було залучено 244 дитини, віком від 1 до 17 років,

що перенесли лабораторно підтверджений COVID-19. До обстеження залучались пацієнти за умови отримання інформованої згоди від батьків чи їх законних представників.

За клінічними показниками тяжкості перебігу коронавірусної хвороби згідно критеріїв МОЗ України, обстежувана когорта дітей була розподілена на три групи: група 1 склали діти з легким перебігом (включаючи безсимптомний перебіг), група 2 — діти з перебігом середньої важкості та група 3 — діти з важким перебігом відповідно (МОЗ України, 2020).

За основні критерії оцінки важкості було взято: рівень сатурації ($SpO_2 < 93\%$), загальний стан пацієнта (оцінка важкості клінічних проявів захворювання), лихоманки більше 39 градусів, наявність: ціанозу, акроціанозу, задишки (частота дихання $> 30/\text{хв}$), аносмії, агевзії, сплутаність свідомості.

Враховуючи, що важливою ознакою перебігу коронавірусної хвороби є наявність пневмонії та інших інтерстиціальних змін у тканинах легень, з індивідів загальної обстежуваної когорти було додатково сформовано дві підгрупи (4 та 5). В четверту підгрупу увійшли діти у яких перебіг коронавірусної хвороби супроводжувався ураженням легень ($n = 154$), а до п'ятої підгрупи увійшла решта пацієнтів, тобто серед яких не спостерігалось ознаки ураження легень за даними рентгенологічного обстеження ($n = 90$).

Генотипування. У всіх обстежуваних індивідів було відібрано зразки крові та проведено виділення та очищення лейкоцитарної ДНК. ДНК виділяли за допомогою стандартного методу — шляхом гідролізу лізатів клітин протеїназою K з подальшим використанням комерційних наборів для виділення ДНК («DNA-TECHNOLOGY TS») згідно інструкції виробника.

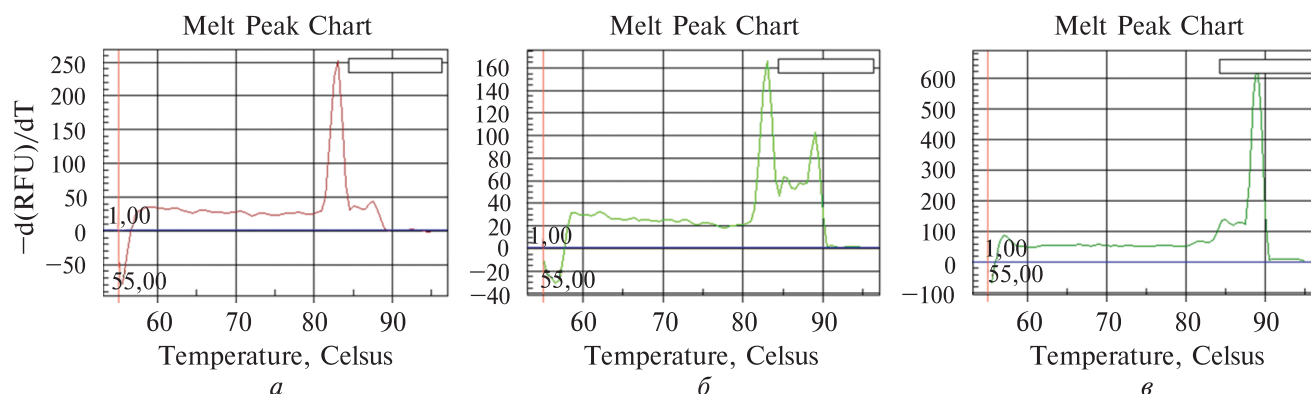
Для дослідження I/D інсерційно-делеційного поліморфізму rs4646994 гена *ACE1* використовували полімеразну ланцюгову реакцію з подальшим аналізом кривих плавлення продуктів ПЛР. Для проведення ПЛР було розроблено дизайн олігонуклеотидних праймерів: Forward 5' CTG GAG AGC CAC TCC CAT CCT TTC T 3'; Reverse 5' GAC GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T 3' синтез яких було виконано фірмою METABION (Німеччина).

Також були використані наступні реактиви: готова реакційна суміш для ПЛР «HOT FIREPol EvaGreen qPCR Mix Plus» фірми Solis BioDyne (Естонія), що містить інтеркалюючий барвник EvaGreen для проведення ПЛР в реальному часі, 5М розчин бетаїну фірми Sigma-aldrich, доданий з метою пониження температури плавлення продукту. Для проведення ПЛР використовували прилад iQ5TM Multicolor Real-Time PCR Detection System («BIO-RAD», США).

Ампліфікацію специфічної послідовності ДНК досліджуваних локусів проводили в автоматизованому режимі, що складається з 3 стадій. Перша: початкова денатурація при 95 °C впродовж 12 хв. Друга: повторювальний цикл — 40 разів, який складається з 3 етапів: денатурація — 95 °C (1 хв), відпалювання праймерів 65 °C (1 хв), елонгація — 72 °C (1 хв). На 3 стадії відбувається фінальна елонгація 72 °C (10 хв), та остання 4 стадія: після отриманих продуктів відбувається серія збільшення/зменшення температури від 55 до 75 °C, де кожен 6 с фіксується сигнал флуоресценції. Сигнали флуоресценції реєстрували наприкінці стадії елонгації. Отримані результати оцінювалися із використанням пакету програмного забезпечення BIO-RAD iQ5 Optical System Software V 2.0 (2006). Аналіз генотипів проводили на підставі детекції температури кривих плавлення. Пік в межах від 88–89 °C визначається як гомозигота за інсерцією (I), в той час як пік від 83–84 °C — гомозигота за делецією (D).

Статистична обробка даних. Статистичний аналіз проводили за допомогою пакету програм забезпечення «Open Epi». Для оцінки значущості відмінностей використовувався точний критерій Фішера, Хі-квадрат, відношення шансів (OR) і 95 % довірчий інтервал (CI). Відмінності вважалися статистично значущими при значенні $p \leq 0,05$.

Результати та обговорення. В групі дітей ($n = 244$), які перенесли COVID-19, було проведено генотипування за поліморфним локусом rs4646994 (I/D) гена *ACE1* (табл. 1). Визначення генотипів було проведено в групі дітей з різною тяжкістю перебігу захворювання. За результатами генотипування в когорті обстежуваних дітей були виявлені всі варіанти генотипів за поліморфізмом I/D гена *ACE1*: DD — гомо-



Графіки залежності температури плавлення продуктів ПЛР від послідовності аплікона. а – гомозигота II; б – гетерозигота DI; в – гомозигота DD

зигота за делецією; ID – гетерозигота; II – гомозигота за інсерцією.

За результатами аналізу кривих плавлення в групі пацієнтів було виявлено три типи кривих, що відповідали генотипам для II, DI, DD відповідно (рисунок).

За клінічними показниками проводили порівняльний аналіз за розподілом генотипів та алелів між групами дітей з легким ($n = 18$) середньо-важким ($n = 134$) та важким перебігу захворювання ($n = 92$). Результати розподілу генотипів та алелів цих трьох груп наведено в табл. 2.

Серед досліджуваних дітей, у більшості випадків виявлявся середньо-тяжкий перебіг захворювання ($n = 134$). Результати аналізу розподілу генотипів за критерієм Фішера показали, що статистично значущої різниці в поширеності усіх генотипів між групами легкого та середнього перебігу коронавірусної хвороби не виявлено ($p \geq 0,05$). Аналогічні результати спостерігалися і при порівняльному ана-

Таблиця 1. Розподіл частот генотипів та алелів в загальній групі пацієнтів

Локус ACE, I/D	Генотипи, n (частка від 1)
II	43(0,176)
ID	101(0,414)
DD	100(0,410)
<i>Алелі</i>	
d	0,617
i	0,383

лізі поширеності всіх видів генотипів між групами дітей з легким та важким перебігом COVID-19 ($p \geq 0,05$). Проте в групі з тяжким перебігом відзначалася тенденція до збільшення частки індивідів носіїв алеля I {II+ID}–0,61 у порівнянні з часткою індивідів з такими генотипами з підгрупи легкого перебігу захворювання – 0,44. Подібна тенденція відзначалася і стосовно алеля I, частота якого у групі дітей з

Таблиця 2. Розподіл генотипів та поліморфних алелів I/D гена ACE1 у дітей з різним перебігом захворювання

Локус ACE, I/D	Легкий перебіг (n=18)	Середній перебіг (n=134)	Важкий перебіг (n=92)
<i>Генотипи, n (%)</i>			
II	2(0,11)	25(0,18)	16(0,17)
ID	6(0,33)	54(0,40)	41(0,44)
DD	10(0,55)	55(0,41)	35(0,38)
<i>Алелі</i>			
d	0,278	0,380	0,60
I	0,722	0,610	0,40

легким перебігом становила 0,27, тоді як серед дітей з важким перебігом — 0,60.

Важливо зазначити, що однією з основних характеристик перебігу коронавірусної хвороби, за даними рентгенологічного обстеження, є наявність патологічних змін в тканинах легень, зокрема, наявність пневмонії або інтерстиціальних змін паренхіми легень (зміни по типу «матове скло»). Виходячи з цього у досліджуваній когорті пацієнтів було сформовано дві підгрупи, в одну з яких увійшли діти, у яких перебіг коронавірусної хвороби супроводжувався ураженням легень ($n = 154$), а в іншу підгрупу, решта пацієнтів у яких не спостерігалось даних ознак ($n = 90$).

Результати аналізу генотипів та алелів за поліморфним локусом rs4646994 I/D гена ACE1 в підгрупах пацієнтів з коронавірусною хворобою яка супроводжувалась ураженням легень або перебіг був без ураження легень наведено в табл. 3.

За результатами аналізу отриманих даних необхідно відзначити тенденцію до збільшення частки пацієнтів з генотипом II (20 %) серед індивідів у яких перебіг коронавірусної хвороби супроводжувався ураженням тканин легень, у порівнянні з аналогічним показником в групі пацієнтів у яких не спостерігалось ураження легень — 10 % (частота генотипу II). Хоча ці відмінності не сягали порогу статистичної достовірності за оцінками показників точного критерію Фішера (Fisher exact) $p = 0,055$ ($p \geq 0,05$).

Таблиця 3. Розподіл генотипів та поліморфних алелів I/D гена ACE1 в групах пацієнтів з коронавірусною хворобою з ураженням та без ураження легень

Локус ACE, I/D	З ураженням легень ($n = 154$)	Без ураження легень ($n = 90$)
<i>Генотипи, n (%)</i>		
II	32(0,20)	9(0,10)
ID	68(0,44)	35(0,38)
ID+II	100(0,65)	44(0,49)
DD	54(0,35)	46(0,51)
<i>Алелі</i>		
D	0,57	0,70
I	0,42	0,29

В результаті аналізу частоти алеля I у групі пацієнтів з ураженням легень (0,42), та в групі без ураження легень (0,29) було встановлено статистично вірогідне переважання алеля I в групі пацієнтів з ураженням легень ($F_{\text{ex}} = 0,019$; $P = 0,014$; $OR = 0,49$; $CI = 0,28-0,87$) ($p \leq 0,05$). В свою чергу при порівнянні частки носіїв алеля і {II+ID} в аналізованих підгрупах відзначалась статистично вірогідне перевищення носіїв алеля і в групі з ураженням тканини легень ($F_{\text{ex}} = 0,067$; $P = 0,048$; $OR = 2,06$; $CI = 1,01-4,19$) табл. 2.

Таким чином, можна зробити висновок, що носії алеля I мають підвищений ризик, ніж генотип DD, щодо перебігу коронавірусної хвороби з ураженням легень за даними рентгенологічного обстеження.

Спираючись на дані, що отримані в ході поточного дослідження, було показано, що носійство алеля I може розглядатися, як потенційний фактор ризику тяжкого перебігу коронавірусної хвороби. Попередні дослідження показали, що носії алеля I, зокрема з генотипом II, мають на 20–30 % нижчу експресію гена ACE1 у порівнянні з носіями генотипів ID та DD (Boraey et al, 2024). У той же час, рівень білка ACE2 підвищений в епітелії легень у гомозигот II за геном ACE1 (Zheng et al, 2020).

Таким чином, вірус SARS-CoV-2 з більшою ймовірністю зв'язується з білком ACE2, проникає всередину клітини і знижує його активність. Відповідно, після інфікування вірусом SARS-CoV-2, AngII в плазмі крові не трансформується в Ang (1–7), що призводить до збільшення концентрації AngII і виведення RAAS з рівноваги ACE1/ACE2. При цьому відбувається розвиток коронавірусної хвороби, що супроводжується збільшенням проникності судин, зумовлюючи вазоконстрикцію, посилення продукції хемокинів і цитокінів, окислювальний стрес, посилення фіброгенезу та апоптозу, що в свою чергу зумовлює ураження легень (Boraey et al, 2024). Крім того, SARS-CoV-2 активує різні імунні клітини, такі як макрофаги, моноцити та лімфоцити, особливо в альвеолах, обмежуючи газообмін. Ці зміни пояснюють широкий спектр симптомів при COVID-19 (Boraey et al, 2024). Смертність у пацієнтів з COVID-19 також пов'язана з наяв-

ністю цитокинових штормів, зумовлених вірусною інфекцією. У цьому випадку відбувається надмірне вироблення запальних цитокинів, що призводить до пошкодження тканин легень, розвитку поліорганної недостатності та смерті (Hu et al, 2021).

Результати низки досліджень вказують на те, що алель D сприяє тяжкому перебігу захворювання (Verma et al, 2021). Також в наших попередніх дослідженнях та дослідженнях інших авторів було встановлено негативну кореляцію між носійством генотипу II та ураження вірусом SARS-CoV-2 (Delanghe et al, 2020). Проте в інших дослідженнях встановлено, що алель I може бути фактором ризику важкого перебігу коронавірусної хвороби (Hubacek et al, 2021). Такі розбіжності результатів, можуть бути пов'язані, з відмінностями у генетичних характеристиках індивідів у різних географічних регіонах та етнічних групах.

Результати отримані в наших дослідженнях узгоджуються з даними отриманими вченими з Чехії (Hubacek et al, 2021). В цьому дослідженні серед пацієнтів, які хворіли на COVID-19 з Чехії було встановлено статистично вірогідно більша частка індивідів – гомозигот II в групі пацієнтів з тяжким перебігом та змінами в тканині легень, за даними рентгенографічного методу обстеження COVID-19 у порівнянні з групою контролю. Суперечливі результати стосовно ролі поліморфізму I/D гена ACE1 можуть бути зумовлені наявністю в певних етнічних групах специфічних алельних варіантів генів, які кодують інгібітори ACE1. Одним з прикладів такого генетичного чинника може бути поліморфізм T/C гена рецептора брадикініна B2 (Mukaе et al, 2000). Також можна передбачити наявність інших генетичних чинників, які модулюють експресію гена ACE1.

Висновки. За результатами генотипування поліморфізму I/D rs464994 гена ACE1 методом ПЛР у реальному часі з детекцією кривих плавлення в групах дітей з різним перебігом COVID-19, було встановлено асоціацію між носійством генотипу до складу якого входить алель I з більш тяжким перебігом захворювання. Також за результатами аналізу розподілу генотипів за поліморфізмом I/D гена ACE1, проведеного в групах дітей, що хворіли

на коронавірусну хворобу з ураженням легень та більш легку форму (без ураження легень) встановлено статистично вірогідну асоціацію між носійством алеля I та розвитком більш тяжкого перебігу коронавірусної хвороби, ускладненої ураженням легень.

Таким чином, використання запропонованої нами методики генотипування поліморфізму інсерція/делеція гена ACE1, з використанням аналізу кривих плавлення продуктів ПЛР, дозволить використати даний поліморфізм I/D в якості генетичного маркера прогнозу перебігу захворювання на COVID-19, а також може бути додатковою, важливою інформацією для розробки персоналізованої терапії серед дітей.

Дотримання етичних стандартів. Етичне схвалення дослідження було отримано від комітету з біоетики ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України», протокол № 3 від 20.04.2023 р. Згідно з основними правилами біоетики при використанні людини в якості об'єкту дослідження, нами була отримана інформована згода на проведення даного дослідження від усіх обстежуваних індивідів, та було введено номенклатуру зразків ДНК, яка включала лише числовий код.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Дана робота фінансувалася в рамках НДР «Розробити персоналізований прогноз перебігу Covid-19 у дітей на підставі маркерів спадкової схильності» з державним реєстраційним номером 0123U102780.

ASSOCIATION OF THE RS4646994 POLYMORPHISM OF THE ACE1 GENE WITH THE SEVERITY OF COVID-19 IN CHILDREN FROM UKRAINE

T.A. Harashchenko, T.R. Umanets,
A.M. Mohylevets, O.V. Gorodna,
D.S. Krasnienkov, Yu.G. Antypkin, L.A. Livshits

SI «Ukrainian center of maternity and childhood of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Platona Mayborody st., 8, Kyiv, 04050, Ukraine
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Volodymerska Street, 64/12, 01601, Kyiv, Ukraine
Institute of Molecular Biology and Genetics National Academy of Sciences of Ukraine, Zabolotnoho Str., 150, Kyiv, 03143, Ukraine

SI «Institute of Gerontology named after Dmitry F. Chebotarev, National Academy of Medical Sciences of Ukraine»,
Vyshgorodska Street, 67, 04114, Kyiv, Ukraine
E-mail: tatti.my@gmail.com, anstiamog@gmail.com, tetiana.umanets@gmail.com, a.v.gorodna@imbg.org.ua, krasnenkovd@gmail.com, livshits@edu.imbg.org.ua

First identified in late 2019 in Wuhan City, Hubei Province, China, coronavirus disease 2019 (COVID-19) remains a pressing public health challenge of the twenty-first century with significant morbidity and mortality despite the implementation of a vaccine campaign. The particular interest is results of research on the role of genetic factors in the course of COVID-19. Such data indicate the probable existence of a hereditary predisposition of individuals to a severe and complicated course of the coronavirus disease. The results of a number of studies indicate the involvement of polymorphic variants I/D of the *ACE1* gene in the particular course of the corona virus disease. The purpose of our work was to study the peculiarities of the distribution of genotypes according to the rs4646994 polymorphism of the *ACE1* gene and to assess the association of this polymorphism with the severity of the course of the coronavirus disease, the risk of developing pathological changes in the lungs during the coronavirus disease in a cohort of children who suffered from COVID-19. For this purpose, in the examined group of 244 children with laboratory-confirmed COVID-19, genotyping was carried out according to the rs4646994 polymorphism of the *ACE1* gene using melting curve analysis of PCR products, the detection of which occurs due to the fluorescence of the intercalating dye EvaGreen. According to the results of the study, an association was established between homo- and heterozygous carriers of the *I* allele with a severe course of the disease and, in particular, with lung injury. The obtained data can serve as a basis for the use of the I/D polymorphism of the *ACE1* gene as a genetic marker for predicting the course of the disease for COVID-19 and become important information for the development of personalized therapy in children.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Al-Eitan, Laith & Alahmad, Saif (2023) Allelic and genotypic analysis of the ACE I/D polymorphism for the possible prediction of COVID-19-related mortality and morbidity in Jordanian Arabs. *J Biosaf Biosecurity*. <https://doi.org/10.1016/j.job.2023.07.005>
- Beyerstedt S, Casaro EB, Rangel ÉB (2021) COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 40(5):905–919. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04138-6>
- Boraey NF, Bebars MA, Wahba AA et al (2024) Association of *ACE1* I/D polymorphism and susceptibility to COVID-19 in Egyptian children and adolescents. *Pediatr Res*. <https://doi.org/10.1038/s41390-023-02982-8>
- Camporota L, Cronin JN, Busana M et al (2022) Pathophysiology of coronavirus-19 disease acute lung injury. *Curr Opin Crit Care* 28(1):9–16. <https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000000911>
- Chan JF, Yuan S, Kok KH et al (2020) A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet* 395(10223): 514–523. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30154-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30154-9)
- Delanghe JR, Speeckaert MM, De Buyzere ML (2020) COVID-19 infections are also affected by human *ACE1* D/I polymorphism. *Clin Chem Lab Med* 58(7):1125–1126. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0425>
- Hamming I, Cooper ME, Haagmans BL et al (2007) The emerging role of ACE2 in physiology and disease. *J Pathol* 212(1):1–11. <https://doi.org/10.1002/path.2162>
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S et al (2020) SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 181(2):271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Hu B, Huang S, Yin L (2021) The cytokine storm and COVID-19. *J Med Virol* 93(1):250–256. <https://doi.org/10.1002/jmv.26232>
- Huang C, Wang Y, Li X et al (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 395(10223):497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- Hubacek JA, Dusek L, Majek O et al (2021) ACE I/D polymorphism in Czech first-wave SARS-CoV-2-positive survivors. *Clin Chim Acta* 519:206–209. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.04.024>
- Johnston J, Dorrian D, Linden D et al (2023) Pulmonary Sequelae of COVID-19: Focus on Interstitial Lung Disease. *Cells* 12(18):2238. <https://doi.org/10.3390/cells12182238>
- Livshits LA, Harashchenko TA, Umanets TR, et al. Krasnienkov DS, Gorodna OV, Podolskiy VV, Kaminska TM, Lapshyn VF, Podolskiy VV, Antipkin YG (2021) Relationship between the Prevalence of ACE1 I/D Polymorphism Genotype II and Covid-19 Morbidity, Mortality in Ukraine and in Some Europe Countries. *Cytol Genet* 55(5):427–432. <https://doi.org/10.3103/S0095452721050054>
- Luoyi H, Yan P, Qihong F (2023) Relationship between Angiotensin-Converting Enzyme Insertion/Deletion Polymorphism and the Risk of COVID-19: A Meta-

- Analysis. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst 3431612. <https://doi.org/10.1155/2023/3431612>
- Mukae S, Aoki S, Itoh S et al (2000) Bradykinin B(2) receptor gene polymorphism is associated with angiotensin-converting enzyme inhibitor-related cough. Hypertension 36(1):127–131. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.36.1.127>
- Qi F, Qian S, Zhang S, Zhang Z (2020) Single cell RNA sequencing of 13 human tissues identify cell types and receptors of human coronaviruses. Biochem Biophys Res Commun 526(1):135–140. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.03.044>
- Thakur S, Sharma V, Kaur D, Purkait P (2022) Angiotensin-converting enzyme (ACE) insertion/deletion (I/D) polymorphism as a conjoint regulator of coagulation, fibrinolytic, and RAAS pathway in infertility and associated pregnancy complications. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst
- Tomita H, Ina Y, Sugiura Y et al (1997) Polymorphism in the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene and sarcoidosis. Am J Respir Crit Care Med 156(1):255–259. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.156.1.9612011>
- Verma S, Abbas M, Verma S et al (2021) Impact of I/D polymorphism of angiotensin-converting enzyme 1 (ACE1) gene on the severity of COVID-19 patients. Infect Genet Evol 91:104801. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104801>
- Webb Hooper M, Nápoles AM, Pérez-Stable EJ (2020) COVID-19 and Racial/Ethnic Disparities. JAMA. 323(24):2466–2467. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8598>
- World Health Organization (WHO) (2020) Coronavirus Disease (COVID-19) Situation Reports. Geneva: World Health Organization
- Zheng H, Cao JJ (2020) Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphism and Severe Lung Injury in Patients with Coronavirus Disease 2019. Am J Pathol 190(10):2013–2017. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2020.07.009>
- Zobel CM, Kuhn H, Schreiner M, Wenzel W, Wendtland J, Goekeri C, Scheit L, Oltmanns K, Rauschning D, Grossegeisse M, Hofmann N, Wirtz H, Spethmann S (2024) BwKrhs-Covid-Research-Group. Impact of ACE I gene insertion/deletion, A-240T polymorphisms and the renin-angiotensin-aldosterone system on COVID-19 disease. Virol J 21(1):15. <https://doi.org/10.1186/s12985-023-02283-w>
- Zou X, Chen K, Zou J et al (2020) Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. Front Med 14(2):185–192. <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0754-0>

Надійшла в редакцію 22.10.2024
Після доопрацювання 02.11.2024
Прийнята до друку 18.01.2025