

УДК: 616.98:578.834:[612.6.05+612.015] –  
053.2(477.53):016-052-084/-085  
DOI: 10.24061/2413-4260.XVI.1.59.2026.7

**В. Похилько<sup>1</sup>, Ю. Чернявська<sup>1</sup>,  
С. Цвіренко<sup>1</sup>, О. Шевченко<sup>2</sup>,  
З. Россоха<sup>2</sup>, О. Попова<sup>2</sup>, Л. Фіщук<sup>2</sup>**

Полтавський державний медичний університет<sup>1</sup>  
(м. Полтава, Україна),  
Національний університет охорони здоров'я України  
імені П. Л. Шупика<sup>2</sup>  
(м. Київ, Україна)

## АНАЛІЗ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ *MTHFR* ТА *VDR* І МАРКЕРІВ ОКСИДАТИВНОГО/ НІТРОЗАТИВНОГО СТРЕСУ В РОЗВИТКУ ТА ПЕРЕБІГУ COVID-19 У ДІТЕЙ З ПОЛТАВСЬКОЇ ОБЛАСТІ: ШЛЯХИ РОЗРОБКИ ПЕРСОНАЛІЗОВАНИХ ТЕРАПЕВТИЧНИХ ТА ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ

### Резюме.

Аналіз варіантів генів, маркерів оксидативного та нітрозативного стресу може допомогти в розробці персоналізованих стратегій профілактики та лікування COVID-19 та інших інфекційних захворювань, особливо в контексті існуючого забруднення навколишнього середовища.

**Мета.** Метою дослідження було оцінити вплив варіантів генів *MTHFR* (*rs1801133*, *rs1801131*) та *VDR* (*rs731236*), маркерів оксидативного та нітрозативного стресу на перебіг COVID-19 у дітей з Полтавської області, враховуючи забруднення нітратами та фтором.

**Матеріали і методи.** У дослідженні взяли участь 40 дітей з COVID-19 та 17 дітей в групі порівняння. Були проаналізовані такі ключові показники: варіанти генів *MTHFR* та *VDR*; рівень нітратів, нітритів, малонового діальдегіду (МДА) та сіалових кислот у сечі; а також проживання на території, забрудненій фтором та нітратами. Відповідно до рішення комісії з біоетики Полтавського державного медичного університету № 184 від 25.06.2020, матеріали наукового дослідження відповідають етичним вимогам гуманного поводження з пацієнтами, визначеним Токійською декларацією Всесвітньої медичної асоціації, Гельсінкськими міжнародними рекомендаціями, Загальною декларацією прав людини, Конвенцією Ради Європи про права людини та біомедицину, а також чинним законодавством України, наказами МОЗ і положеннями Кодексу етики лікаря України. Усі батьки дали згоду на обстеження. Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення SPSS версії 27. Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри педіатрії № 1 із неонатологією Полтавського державного медичного університету № 0120U102856 «Розробити клініко-лабораторні критерії, методи прогнозування та запобігання метаболічних порушень у дітей раннього віку».

**Результати.** У групі дітей з COVID-19 спостерігалася значна поширеність генотипу AA варіанту *rs1801131* гену *MTHFR*. До вагомих патогенних факторів захворювання належали рівні нітритів, МДА та сіалових кислот у сечі. У дітей, які проживають на територіях, забруднених фтором та нітратами, спостерігалася помітна кореляція між варіантами гену *MTHFR* та рівнями білірубину, креатиніну та МДА. Крім того, дослідження підкреслило потенційну користь харчових добавок з бетаїн-аргініном як профілактичної та персоналізованої стратегії лікування дітей з COVID-19.

**Висновок.** У результаті проведеного дослідження було виявлено зв'язки між варіантами гену *MTHFR* та підвищеним ризиком COVID-19, підкреслено вплив середовища, забрудненого фтором та нітратами, визначено ключові патогенні фактори, такі як рівні нітритів, МДА та сіалових кислот у сечі. Харчова добавка з бетаїн-аргініном може бути розглянута як потенційний профілактичний та лікувальний варіант у дітей з COVID-19.

**Ключові слова:** COVID-19; *MTHFR*; нітрозативний стрес; оксидативний стрес; *VDR*.

### Вступ

Умови навколишнього середовища суттєво впливають на розвиток та перебіг інфекційних захворювань. Забруднення повітря підвищує сприйнятливість до респіраторних інфекцій, тоді як зміна клімату та глобальне потепління сприяють поширенню нових патогенів, змінюючи їх географічний розподіл та тривалість епідемічних сезонів. Крім того, урбанізація та скорочення біорізноманіття порушують природні бар'єри між людьми та інфекціями, тим самим збільшуючи ймовірність пандемій [1]. У період дитинства навколишнє середовище відіграє ключову роль у формуванні імунітету [2]. Забруднення повітря послаблює бар'єрні функції дихальних шляхів, роблячи дітей більш вразливими до респіраторних інфекцій, у тому числі до коронавірусної хвороби (COVID-19).

Токсичні фактори навколишнього середовища можуть пригнічувати розвиток імунної системи, знижуючи здатність організму боротися з інфекціями. Крім того, хімічне забруднення води та їжі, особливо у великих міських районах, негативно впливає на загальний стан здоров'я дітей, збільшуючи ризик тяжких ускладнень від інфекційних захворювань.

У українських дітей під час першої хвилі пандемії COVID-19, спричиненої варіантом «Альфа», захворювання переважно проявлялося безсимптомно, мало легкий або середньої тяжкості перебіг. Найчастіше спостерігалися симптоми, що включали лихоманку, кашель, тонзиліт та/або фарингіт, а також діарею. Під час другої хвилі («Дельта»-варіант) переважно у дітей старшого віку розвивалася пневмонія, тяжка інтоксикація та дихальна недостатність, зі значним збіль-

шенням кількості ускладнень. Під час третьої хвили у дітей молодшого віку та немовлят переважно спостерігалися інфекції верхніх дихальних шляхів та пневмонія, що демонструє чіткі варіації в прогресуванні захворювання [3]. Ці зміни могли бути зумовлені не лише появою нових вірусних варіантів, але й впливом регіонально-специфічних факторів навколишнього середовища. Забруднення нітратами у воді та продуктах харчування становить значний ризик для здоров'я дітей, особливо в контексті інфекційних захворювань. При потрапленні в організм ці сполуки можуть перетворюватися на шкідливі нітрозаміни, які погіршують імунну функцію та зменшують здатність організму боротися з інфекціями [4].

Крім того, нітрати перешкоджають транспорту кисню до тканин, що стає особливо небезпечним під час респіраторних інфекцій, які часто супроводжуються гіпоксією. Тривалий вплив нітратів може призвести до хронічного запалення, ускладнюючи перебіг захворювань та підвищуючи ризик тяжких ускладнень. Забруднення навколишнього середовища фторидами також становить значну загрозу для здоров'я дітей. Високі концентрації фторидів у питній воді або харчових продуктах можуть призвести до хронічного отруєння, що послаблює імунну систему [5]. За таких умов організм стає більш сприйнятливим до інфекцій, особливо респіраторних, через знижену здатність боротися з патогенами. Крім того, фториди можуть викликати оксидативний стрес і порушувати антиоксидантний захист, ускладнюючи перебіг таких захворювань, як COVID-19, і збільшуючи ймовірність ускладнень.

Екогенетика, ключова галузь медичної генетики, вивчає взаємодію між генетичними ознаками організму та факторами навколишнього середовища. В екогенетичних дослідженнях основна увага приділяється тому, як генетична схильність впливає на реакцію організму на специфічні фактори навколишнього середовища, такі як токсини, харчування чи стрес. Такий підхід допомагає зрозуміти, чому різні особи чи групи демонструють різний рівень вразливості до захворювань чи зовнішніх впливів. Вибір та застосування екогенетичних тестів є життєво важливими для покращення стану здоров'я. Коли усунення факторів навколишнього середовища неможливе, ці тести можуть допомогти у розробці терапевтичних та профілактичних стратегій, зокрема для метаболічної корекції під час пандемії вірусних захворювань.

В Україні відсутня програма збагачення харчових продуктів, що призводить до станів дефіциту фолієвої кислоти, пов'язаних з порушенням імунної функції та, як наслідок, підвищеною сприйнятливістю до різних захворювань, включаючи інфекції [6]. Ген *MTHFR* кодує фермент метилентетрагідрофолатредуктазу, яка відіграє ключову роль у метаболізмі фолієвої кислоти. Вона каталізує перетворення метилентетрагідрофолату на метилтетрагідрофолат, що є критичним кроком для синтезу амінокислоти метіоніну з гомоцистеїну. Нітрати можуть впливати на метаболізм фолатів, тим самим збільшуючи ризик дефіциту фолатів та підвищуючи рівень гомоцистеїну [7]. Серед варіантів гена *MTHFR* rs1801131 та rs1801133

є найбільш вивченими та широко поширеними в різних популяціях. Вони впливають на активність метилентетрагідрофолатредуктази [8]. Варіант rs1801131 (або A1298C) викликає заміщення глутамату на аланін в екзоні 7, кодоні 429 гена *MTHFR*. Він розташований у С-кінцевому регуляторному домені, який зв'язує S-аденозилметіонін – алостеричний інгібітор метилентетрагідрофолатредуктази. Було висловлено припущення, що rs1801131 може змінювати спорідненість зв'язування S-аденозилметіоніну, що призводить до зниження ферментативної активності [9]. Варіант rs1801133 (або C677T) в екзоні 4 гена *MTHFR* призводить до заміщення аланіну на валін у кодоні 222 в N-кінцевому каталітичному домені. Це пов'язано з підвищеною термолабільністю та зниженою активністю ферментів [10].

Попередні дослідження вказували на потенційний зв'язок між цими варіантами гена *MTHFR* та тяжким перебігом COVID-19 [11, 12]. Ген *VDR* кодує рецептор вітаміну D та відіграє вирішальну роль у регуляції імунної відповіді, оскільки вітамін D необхідний для підтримки нормальної функції імунної системи. Забруднення фтором та нітратами може впливати на метаболізм вітаміну D [13]. Наприклад, фториди можуть негативно впливати на метаболічні процеси, що беруть участь в активації вітаміну D, тим самим знижуючи його біодоступність. Варіант rs731236 є одним з найпоширеніших у гені *VDR*. Варіант rs731236 характеризується одонуклеотидним переходом (T>C), що призводить до синонімічної зміни в кодоні 352 в екзоні 9 гена *VDR* [14]. Цей варіант розташований у 3'-нетрансльованій області гена, що відіграє роль у стабільності результуючої мРНК. Повідомлялося, що алель T пов'язаний з підвищеною транскрипційною активністю, покращеною стабільністю мРНК та вищими рівнями активного вітаміну D (1,25(OH)2D3) у сироватці крові [14]. Крім того, було показано, що цей варіант гена *VDR*, пов'язаний з дефіцитом вітаміну D, пов'язаний з тяжкістю перебігу та смертністю від COVID-19, особливо в українському населенні [15, 16]. Таким чином, вивчення варіантів генів *MTHFR* та *VDR* у контексті екогенетики забезпечить краще розуміння того, як взаємодіють генетичні та екологічні фактори, впливаючи на здоров'я дітей. Це також пов'язано з генетично детермінованою зниженою детоксикацією, що ускладнює елімінацію вірусів [17]. Аналіз варіантів генів, фенотипових проявів оксидативного та нітрозативного стресу, а також вивчення їх кореляцій сприятимуть розробці персоналізованих стратегій профілактики та лікування COVID-19 та інших інфекційних захворювань, особливо в умовах існуючого забруднення навколишнього середовища.

**Мета дослідження:** Проаналізувати вплив варіантів генів *MTHFR* (rs1801133, rs1801131) та *VDR* (rs731236), маркерів оксидативного та нітрозативного стресу на перебіг COVID-19 у дітей Полтавської області, з урахуванням проживання на територіях, забруднених нітратами та фторидами, у контексті потенційної розробки терапевтичних та профілактичних заходів.

## Матеріали та методи дослідженн

У дослідженні взяли участь 40 дітей віком до 16 років, які були госпіталізовані з підтвердженим діагнозом COVID-19 у період з 2019 по 2023 рік. Важливо зазначити, що дослідження проводилося протягом тривалого періоду, тому були включені діти з різних хвиль пандемії COVID-19. Перша хвиля була спричинена варіантом SARS-CoV-2 «Альфа», який характеризувався переважно легкими безсимптомними випадками у дітей (лихоманка – 40-56%, кашель – 50%, тонзиліт/фарингіт – 40%), випадків, діарея – 33%). Під час другої хвилі, спричиненої варіантом «Дельта», переважно уражалися діти старшого віку, причому пневмонія переважала в клінічних проявах (36,1% пацієн-

тів), поряд з тяжкою інтоксикацією, дихальною недостатністю та збільшенням кількості ускладнень. Третя хвиля, спричинена варіантом «Омікрон», призвела до найбільшої кількості госпіталізацій з приводу цього інфекційного захворювання, що вразило дітей молодшого віку та немовлят. Найпоширенішими проявами були інфекції верхніх дихальних шляхів, причому пневмонія становила лише 6% випадків. Критерії включення: тяжкий перебіг підтвердженого випадку COVID-19, згода батьків на участь у дослідженні. Критерії виключення: наявність вроджених вад розвитку, відмова батьків від участі в дослідженні. Групу порівняння склали 17 дітей того ж віку без COVID-19. Короткий опис досліджуваних груп представлено в таблиці 1.

Таблиця 1

Розподіл дітей, що брали участь у дослідженні за статтю, віком та віковими підгрупами

Параметр		Основна група (n=40)	Група порівняння (n=17)
Стать	чоловіча	23 (57,5%)	10 (58,8%)
	жіноча	17 (42,5%)	7 (41,2%)
Вік, років		3,0 [1,0; 6,0]	4,0 [3,0; 8,0]
Вікові підгрупи	≤3	23(57,5%)	8 (47,1%)
	3,1-6	9 (22,5%)	4 (23,5%)
	≥6,1	8 (20,0%)	5 (29,4%)

Усі включені пацієнти були госпіталізовані вперше з приводу цього захворювання, незалежно від подальшого перебігу їхньої хвороби. Усі діти в дослідженні були не вакциновані. Згідно з наявними медичними записами, жоден з пацієнтів не мав в анамнезі попередньої інфекції SARS-CoV-2.

Дослідження було схвалено Етичним комітетом з біомедицини етики Полтавського державного медичного університету (протокол № 184 від 25 червня 2020 року). Інформовану згоду було отримано від батьків або опікунів усіх дітей, включених до дослідження, відповідно до принципів гуманного ставлення до пацієнтів, викладених у Токійській декларації Всесвітньої медичної асоціації, Гельсінській декларації з прав людини, Конвенції Ради Європи з прав людини та біомедицини та Етичному кодексі лікарів України.

*Забруднення фтором та нітратами.* У дослідженні було використано дані Державної установи «Полтавський регіональний центр контролю та профілактики захворювань Міністерства охорони здоров'я України» та кафедри гігієни та екології Полтавського державного медичного університету. Ці дані включали адміністративно-територіальний розподіл геохімічної провінції Полтавської області щодо рівнів рухомих фторидів та нітратів у децентралізованих джерелах питної води. Концентрацію нітратів у воді визначали методом, заснованим на реакції нітратів із саліцилатом натрію у присутності сірчаної кислоти, з утворенням жовтого натрій-саліцилатного комплексу, з подальшою фотометрією. Вміст фтору визначали фотометричним методом – іони фтору утворюють розчинний потрійний комплекс фіолетово-синього кольору, що складається з лантану, алізаринового комплексу та фтору. Інтенсивність кольору вимірювали фотометрично.

*Генотипування варіантів генів MTHFR та VDR.* ДНК для молекулярно-генетичних досліджень екстрагували з клітин буккального епітелію. Збір зразків про-

водили за допомогою одноразових стерильних щіточок, після чого матеріал зберігали та транспортували у пробірках, що містили консервант «DNA/RNA Shield» (Zymo Research, США). Виділення ДНК проводили за допомогою комерційного набору «Quick-DNA Mini Prep Plus Kit» (Zymo Research, США). Варіанти генів MTHFR та VDR були ідентифіковані за допомогою полімеразної ланцюгової реакції, а потім аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів та алейл-специфічної полімеразної ланцюгової реакції відповідно до раніше опублікованих протоколів [18, 19].

*Маркери оксидативного та нітрозативного стресу.* Для аналізу оксидативного та нітрозативного стресу у обстежених дітей було обрано підхід, що включав визначення рівня нітратів, нітритів, малонного діальдегіду (МДА) та сілових кислот у сечі [20]. Концентрації нітратів, нітритів, МДА та сілових кислот визначали спектрофотометричним методом у сечі дітей з досліджуваних груп.

*Методика визначення нітратів та нітритів.* Концентрацію нітритів вимірювали шляхом їх реакції з сульфаніловою кислотою та  $\alpha$ -нафтиламином (реактив Грісса-Глосвая), що призводило до утворення червоно-забарвленого похідних. Концентрацію нітратів визначали опосередковано, вимірюючи збільшення рівня нітритів після їх відновлення за допомогою гідразинсульфату.

*Методологія визначення концентрації вільного МДА.* Метод базується на реакції вільного МДА з 1-метил-2-феніліндолом у суміші метанолу та ацетонітрилу, що призводить до утворення помаранчевого хромогену.

*Методологія визначення сілових кислот.* Метод передбачає вивільнення сілових кислот під час гідролізу глікопротеїнів у сечі з подальшим утворенням забарвленої сполуки при нагріванні з реагентом оцтово-сірчаної кислоти (реакція Гесса). Концентрацію

сіалових кислот визначали шляхом побудови графіка залежності поглинання від концентрації.

Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення SPSS версії 27. Нормальність даних перевіряли за допомогою тесту Шапіро-Уїлка. Категоричні змінні були представлені як абсолютні значення та частоти, тоді як безперервні змінні були представлені як середнє  $\pm$  стандартне відхилення (для нормально розподілених даних) або як медіана [Q1; Q3] (для ненормально розподілених даних). Для порівняння між групами/підгрупами категоріальних змінних використовувався точний тест Фішера. Порівняння неперервних змінних проводилося за допомогою U-тесту Манна-Вітні. Потенційний зв'язок між генетичними варіаціями та досліджуваними маркерами аналізувався за допомогою методу кореляції Спірмена. Результати з потужністю  $>80\%$  вважалися значущими. Різниця для всіх типів аналізів вважалися статистично значущими при  $p < 0,05$ .

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри педіатрії № 1 із неонатологією Полтавського державного медичного університету № 0120U102856 «Розробити клініко-лабораторні критерії, методи прогнозування та запобігання метаболічних порушень у дітей раннього віку».

### Результати та їх обговорення

У дослідженні розглядалися дані про рівень нітратів та фтору в децентралізованих джерелах питної води в Полтавській області. Зокрема, проживання на території з концентрацією нітратів понад 50 мг/л та концентрацією фтору вище 1,5 мг/л класифікувалося як проживання на забрудненій території. Було проведено порівняння між досліджуваними групами щодо частоти генотипів досліджуваних генетичних маркерів та біохімічних маркерів. Результати цього аналізу наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Генетичні, біохімічні та екологічні характеристики дітей із груп дослідження

Параметр		Основна група (n=40)	Група порівняння (n=17)	p
<i>MTHFR</i> rs1801133	CC	12 (33,3%)	8 (50,0%)	0,21*
	CT	18 (50,0%)	8 (50,0%)	
	TT	6 (16,7%)	0 (0,0%)	
<i>MTHFR</i> rs1801131	AA	25 (69,4%)	6 (37,5%)	0,038*
	AC	10 (27,8%)	7 (43,8%)	
	CC	1 (2,8%)	3 (18,8%)	
<i>VDR</i> rs731236	TT	15 (41,7%)	6 (37,5%)	0,79*
	TC	14 (38,9%)	8 (50,0%)	
	CC	7 (19,4%)	2 (12,5%)	
Рівень нітритів, нмоль/л		1,22 [0,91; 1,90]	2.13 [1,82; 2,43]	0,03
Рівень нітратів, нмоль/л		2,74 [1,82; 3,75]	4.26 [3,65; 4,56]	0,03
Рівень МДА, нмоль/л		2,98 [1,24; 9,06]	3.83 [2,59; 5,85]	0,99
Рівень сіалових кислот, нмоль/л		0,16 [0,08; 0,44]	0.53 [0,34; 0,94]	0,001
Проживання на території, забрудненій фторидами		34 (85,0%)	14 (82,4%)	0,54
Проживання на території, забрудненій нітратами		11 (27,5%)	6 (35,3%)	0,55

\*наведені найнижчі значення «p»

Визначені частоти генотипів для досліджуваних варіантів генів відповідали рівновазі Харді-Вайнберга. У групі дітей з основної когорти дослідження спостерігалось значне збільшення генотипу AA варіанта rs1801131 гена *MTHFR*, що може свідчити про потенційний зв'язок між цим генотипом та підвищеним ризиком захворювання. Крім того, у цій групі дітей відзначено зниження рівнів таких біохімічних маркерів: нітритів, нітратів та сіалових кислот. Це може свідчити про фенотипічні прояви, що виникають внаслідок оксидативного та нітрозативного стресу, що призводить до змін імунної відповіді та загострення запальних проце-

сів. Слід також зазначити, що у пацієнтів з COVID-19 спостерігається значно вищий верхній квантиль рівнів МДА, що вказує не лише на більшу варіабельність його значень, але й на його внесок у особливості перебігу інфекції у дітей.

Для оцінки внеску маркерів, пов'язаних з оксидативним та нітрозативним стресом, у розвиток інфекційного процесу, пов'язаного з COVID-19, для побудови статистичної моделі було використано бінарну логістичну регресію. Модель включала всі досліджувані параметри та застосовувала метод відбору змінних «Wald forward» (Табл. 3).

Таблиця 3

Предиктивна модель виникнення патофізіологічних змін при розвитку COVID-19 у дітей внаслідок оксидативного і нітрозативного стресу

Параметри	B	Стандартна похибка	Wald	df	Значимість	Exp (B)
Рівень нітритів	-1.619	0.648	6.239	1	0.012	0.198
Рівень МДА	0.559	0.208	7.194	1	0.007	1.749
Рівень сіалових кислот	-6.283	2.168	8.402	1	0.004	0.002
Константа	4.071	1.344	9.174	1	0.002	58.602

Результати аналізу показали, що значущими патогенними факторами розвитку COVID-19 у дітей є такі показники, як рівень нітритів, рівень МДА та рівень сіалової кислоти, які беруть участь у формуванні фенотипу захворювання.

Ми провели кореляційний аналіз між генетичними варіантами, біохімічними маркерами оксидативного та нітрозативного стресу та клінічними показниками, враховуючи забруднення питної води в регіоні проживання дитини. У підгрупі пацієнтів із забрудненої фтором території було виявлено значну кореляцію між варіантом rs1801133 гена *MTHFR* та рівнем загального білірубину ( $rs=0,51, p=0,011$ ). Зокрема, для генотипу ТТ спостерігався вищий середній рівень загального білірубину – 11,9 [11,9; 14,9] нмоль/л.

Для підгрупи пацієнтів із забрудненої нітратами території було виявлено значні кореляційні зв'язки між такими параметрами: варіантом rs1801133 гена *MTHFR* та рівнем МДА ( $rs=0,79, p=0,034$ ), зокрема, для генотипу ТТ спостерігався вищий середній рівень МДА – 9,2 [8,7; 10,8] нмоль/л; варіантом rs1801131 гена *MTHFR* та рівнем креатиніну ( $rs=0,73, p=0,027$ ), з найнижчим середнім рівнем креатиніну у носіїв генотипу АА – 41,0 [39,0; 57,0] мкмоль/л.

Таким чином, при аналізі показників пацієнтів дитячого віку, які проживають на забрудненій фтором та нітратами території, було виявлено значну асоціацію між варіантами гена *MTHFR* та рівнями загального білірубину, креатиніну та МДА. Оскільки відомо, що ва-

ріанти гена *MTHFR* підвищують ризик розвитку фолат-залежних патологій та погіршують антиоксидантний захист, а в нашому дослідженні вони корелюють з клінічними показниками функції печінки та нирок, ми пропонуємо використовувати харчову добавку бетаїн-аргінін (1 г бетаїну, 1 г аргініну та іони цитрату) як доповнення до основного раціону для досліджуваних дітей. Добавка розглядалася через її потенціал для підтримки метаболізму фолатів та модуляції фенотипових проявів інфекційного захворювання, які можуть посилюватися оксидативним та нітрозативним стресом. Для оцінки потенційного ефекту цієї добавки із загальної групи дітей була обрана підгрупа тяжких пацієнтів. Комплекс призначався на додаток до стандартної терапії (після згоди батьків) у дозі один пакетик на день. Медіана віку дітей, які отримували добавку, становила 5,0 [3,0; 7,0] років. Медіана віку групи порівняння, яка складалася з клінічно здорових дітей на момент обстеження, становила 4,0 [3,0; 8,0] років і не відрізнялася від медіани віку групи порівняння. Підгрупа з тяжким перебігом COVID-19.

Натомість, підгрупі дітей з легким перебігом захворювання, медіанний вік яких становив 1,0 [0,8; 3,0] роки, добавка не вводилася. В описаних підгрупах дітей показники оксидативного та нітрозативного стресу вивчалися динамічно. Зміни концентрацій нітритів, нітратів, МДА та сіалових кислот додатково визначалися на 14-й день від початку захворювання. Для цього на 14-й день проводилися повторні вимірювання цих показників (Таблиця 4).

Таблиця 4

**Порівняння показників оксидативного та нітрозативного стресу і їх динаміка у дітей груп дослідження, залежно від наявності захворювання та прийому харчової добавки**

Параметри	Діти з тяжким COVID-19, які отримували добавку (n=17)		Діти з середньо тяжким COVID-19, які не отримували добавку (n=17)		Клінічно здорові діти (n=17)
	1 день	14 день	1 день	14 день	
Нітрити	2.12 [1.37; 3.50]	1.82 [1.52; 3.12]	0.91 [0.91; 1.37]	1.22 [0.61; ]	2.13 [1.82; 2.43]
Нітрати	3.95 [2.74; 7.30]	3.95 [3.04; 6.08]	2.13 [1.82; 2.74]	2.43 [1.22; ]	4.26 [3.65; 4.56]
МДА	9.23 [7.09; 13.11]	8.44 [4.00; 9.90]	1.35 [1.07; 2.19]	2.36 [1.91; ]	3.83 [2.59; 5.85]
Сіалові кислоти	0.16 [0.10; 0.63]	0.40 [0.20; 0.95]	0.08 [0.05; 0.33]	0.08 [0.07; ]	0.53 [0.34; 0.94]

При порівнянні показників, виміряних у перший день захворювання, між підгрупою дітей з тяжким перебігом захворювання, які отримували добавку бетаїну-аргініну, та групою клінічно здорових дітей, суттєвих відмінностей у рівнях нітритів та нітратів не виявлено. Однак було виявлено, що рівні МДА (як на 1-й, так і на 14-й день) у дітей з COVID-19 були значно вищими, ніж у контрольній групі ( $p=0,0001$  та  $p=0,021$  відповідно). Водночас, рівень сіалових кислот на 1-й день був значно нижчим ( $p=0,041$ ) у тяжкій підгрупі порівняно з клінічно здоровими дітьми. До 14-го дня середній рівень сіалових кислот не відрізнявся між цими групами, що можна інтерпретувати як позитивний ефект, пов'язаний з прийомом добавки.

Слід зазначити, що середній рівень нітритів у підгрупі дітей з тяжким перебігом COVID-19, які отримували добавку, знизився, на відміну від рівня нітратів. Особливої уваги заслуговує зниження середнього рівня МДА та підвищення середнього рівня сіалових кислот на 14-й день після комплексного прийому у під-

групі тяжкого перебігу захворювання. У дітей з легким перебігом захворювання не було можливості оцінити динаміку показників на 14-й день, оскільки їхня участь у дослідженні була перервана. Однак середні показники, виявлені на перший день у легкій підгрупі, значно відрізнялися від групи порівняння, що може бути пов'язано, головним чином, з віковими відмінностями, а не з легким перебігом захворювання.

**Обговорення**

Ініціатива з генетики хворих на COVID-19, яка включає великі метааналізи GWAS за участю мільйонів учасників, виявила численні генетичні варіанти, пов'язані з тяжкістю COVID-19. Зокрема, були виявлені асоціації з генами, що беруть участь в імунній відповіді (*IFNAR2, IL10RB, TYK2, HLA*) [21]. Водночас, хоча ці дослідження мають вирішальне значення для розуміння генетичної основи COVID-19 у широких популяціях, вони переважно зосереджені на дорослих. Наше дослідження доповнює ці глобальні ініціативи,

зосереджуючись на ролі оксидативного та нітрозативного стресу при COVID-19 у дітей, а також на взаємодії між генетичними варіантами та факторами навколишнього середовища.

Окислювальний та нітрозативний стрес є важливими факторами патогенезу COVID-19, сприяючи пошкодженню клітин і тканин, що може призвести до важкого прогресування захворювання та розвитку ускладнень. Окислювальний стрес виникає через дисбаланс між утворенням активних форм кисню та здатністю антиоксидантної системи організму нейтралізувати їх. Під час COVID-19 підвищене вироблення активних форм кисню може бути спричинене запальною реакцією та гіпоксією, що призводить до пошкодження ліпідів, білків та ДНК у клітинах. Нітрозативний стрес пов'язаний з надмірним виробленням активних форм азоту, зокрема оксиду азоту та пероксинітриду. Під час COVID-19 підвищене вироблення оксиду азоту може бути реакцією на запалення, але надлишок пероксинітриду призводить до нітрації білків та подальшої дисфункції клітин.

Взаємодія між оксидативним та нітрозативним стресом посилює пошкодження клітин, оскільки активні форми кисню та азоту можуть взаємодіяти, утворюючи токсичні сполуки. Це призводить до посилення запальної реакції, ендотеліальної дисфункції та тромбозу, що характерно для важких форм COVID-19. Такі метаболіти, як нітрати, нітриди, МДА та сіалові кислоти, є біомаркерами цих процесів. Їх рівень відображає ступінь дисбалансу між антиоксидантним захистом та накопиченням активних форм кисню та азоту. Зокрема, підвищений рівень цих метаболітів корелює з тяжкістю COVID-19 та інтенсивністю запальних та деструктивних процесів в організмі.

Нітрати – це природні речовини, які потрапляють в організм людини через різні джерела. У людей, які проживають на територіях, забруднених нітратами (внаслідок сільськогосподарської діяльності або інших факторів навколишнього середовища), основними джерелами нітратів є питна вода та їжа [22]. Слід зазначити, що приблизно 75% нітратів виводиться з сечею [23]. Тому рівень нітратів у сечі може відображати кількість нітратів в організмі людини. Деякі з нітратів можуть служити додатковим джерелом оксиду азоту. Однак деякі нітрати можуть перетворюватися на нітриди, які, у свою чергу, можуть брати участь в ендогенних реакціях нітрузування з утворенням токсичних N-нітрозосполук [24].

Дослідження виявило значний вплив забруднення навколишнього середовища нітратами на метаболічні процеси у дітей з COVID-19, зокрема на біохімічні маркери, що характеризують стан антиоксидантного захисту та функцію печінки та нирок. Кореляційні зв'язки між варіантами гена *MTHFR* та рівнями метаболітів вказують на взаємодію між генетичними особливостями та факторами навколишнього середовища, що може збільшити ризик патологічних станів у дітей, які проживають на забруднених територіях. Ми також визначили, що рівні нітратів та нітритів є значущими біохімічними маркерами у дітей з COVID-19, причому

у цих пацієнтів спостерігаються підвищені рівні. Подібних досліджень у дітей бракує, проте у дорослих пацієнтів з COVID-19 також відзначалися вищі рівні нітратів та нітритів [25, 26]. Більше того, рівні цих біохімічних маркерів корелювали з тяжкістю захворювання. Вірус SARS-CoV-2, який викликає COVID-19, стимулює запальні процеси в організмі, що призводить до значного збільшення вироблення активних форм кисню та, як наслідок, оксидативного стресу. Окислювальний стрес пошкоджує клітинні мембрани через перекисне окислення ліпідів, що призводить до підвищення рівня МДА. Дослідження показали, що у пацієнтів з COVID-19, особливо у тих, хто має тяжкі форми, спостерігається підвищений рівень МДА, що свідчить про активацію процесів оксидативного стресу, більше пошкодження тканин та інтенсивніше запалення [25]. Однак наше дослідження дало дещо суперечливі результати: при порівнянні двох досліджуваних груп не було виявлено суттєвої різниці в рівнях МДА. Водночас коефіцієнт логістичної регресії вказує на те, що підвищений рівень МДА все ще пов'язаний з вищим ризиком розвитку COVID-19. Одним з можливих пояснень є існування певних «порогових» значень для МДА, які важливі в розвитку COVID-19 або в контексті інших ефектів, таких як взаємодія з іншими параметрами.

Сіалові кислоти, особливо на поверхні клітин, можуть відігравати певну роль у проникненні SARS-CoV-2 у клітини хазяїна. Хоча основним шляхом проникнення вірусу є рецептор ACE2, додаткові фактори, такі як сіалові кислоти, можуть сприяти прикріпленню вірусу до клітин. Зокрема, взаємодія вірусного S-білка з сіаловими кислотами, присутніми на глікопротеїнах та гліколіпідах мембрани, може сприяти початковому прикріпленню вірусу до клітинних поверхонь до активації основного рецептора АПФ2, рівень експресії якого в епітеліальних клітинах вважається фактором, що підвищує сприйнятливість до COVID-19 [27, 28]. Крім того, рівень сіалових кислот може впливати на прогресування COVID-19. Наприклад, порушення балансу сіалових кислот у тканинах можуть змінювати імунну відповідь та сприяти запаленню, що є ключовою ознакою важких форм COVID-19 [29].

Таким чином, сіалові кислоти розглядаються не лише як потенційні маркери захворювання, але й як елементи, які можуть бути використані для діагностики або модифікації взаємодії вірусу з клітинами, особливо в контексті COVID-19. Підвищений рівень сіалових кислот відзначався у пацієнтів з тяжким перебігом COVID-19 [30]. Відмінність результатів даного дослідження можна пояснити кількома факторами, включно з віковими фізіологічними відмінностями. Діти можуть мати інший баланс синтезу та розпаду сіалових кислот порівняно з дорослими. Іншим можливим поясненням є те, що підвищений рівень сіалових кислот спостерігався у пацієнтів з тяжким перебігом COVID-19, більшість з яких перебували у відділенні інтенсивної терапії. У нашому дослідженні діти мали легші або середні форми захворювання, і, як зазначалося, були на стаціонарному лікуванні. Можливо, наші результати вказують на початкове зниження рівня сіалових кислот

на ранніх стадіях інфекції, а потім на підвищення під час розвитку гіперактивності імунної відповіді та, відповідно, прогресування тяжкого перебігу COVID-19.

Забруднення фтором є значним фактором перебігу COVID-19. Зокрема, було показано сильну позитивну кореляцію між рівнем фтору в ґрунтових водах та рівнем смертності від COVID-19 [31]. Відомо, що високі концентрації фтору можуть спричинити порушення в ендокринній системі [32], що, у свою чергу, може впливати на метаболізм та синтез біомолекул, включаючи сіалові кислоти. Крім того, надлишок фтору може викликати оксидативний стрес [33]. Це лише кілька механізмів, які можуть пояснити взаємодію між рівнем фтору та тяжкістю COVID-19. Ми виявили значну кореляцію між варіантом гена *MTHFR* та рівнем загального білірубину, що вказує на взаємодію генів і середовища у розвитку та перебігу COVID-19, яка посилює метаболічні порушення та функції органів у дітей з COVID-19, які проживають у регіонах із забрудненою питною водою.

Певні варіанти гена *MTHFR*, згідно з деякими дослідженнями, знижують здатність організму ефективно детоксикувати оксиданти [33]. В умовах існуючого забруднення оксидативний стрес посилюється [34], створюючи умови для хронічного запалення, знижуючи ефективність імунної відповіді та роблячи організм вразливим до інфекцій. Бар'єрні функції ендотелію також порушуються, що сприяє проникненню патогенів у кров [33]. Дослідження вказують на потенційний зв'язок між варіантами гена *MTHFR* з тяжким перебігом COVID-19, тромбоемболічними подіями та смертністю [11, 12]. Наше дослідження також виявило значний вплив варіантів гена *MTHFR* на ризик захворювання на COVID-19. Крім того, вплив варіантів гена *MTHFR* може модулюватися наявністю забруднення фтором та нітратами. Слід зазначити, що люди з варіантами гена *MTHFR*, зокрема rs1801133, мають знижену активність ферментів, що призводить до порушення метилювання та накопичення гомоцистеїну [12]. У таких умовах знижена здатність до детоксикації може збільшити ризик токсичного впливу фтору. Оскільки здатність організму боротися з оксидативним стресом зменшується, вплив фтору може ще більше погіршити стан, послаблюючи імунний захист. Для варіанта rs731236 гена *VDR* ми не виявили значного впливу на ризик зараження COVID-19. При аналізі впливу забруднення фтором та нітратами суттєвої різниці не спостерігалось. Однак, є попередні дослідження, які вказують на значення цього генетичного варіанта в розвитку COVID-19, зокрема серед населення України. Це може бути пов'язано з поширеною практикою додаткового споживання вітаміну D серед дітей в Україні. Таким чином, додаткове споживання вітаміну D може нейтралізувати потенційно несприятливий вплив варіанта rs731236, що пояснює відсутність асоціацій у нашому дослідженні.

Розробка предиктивної терапії для лікування COVID-19 є надзвичайно важливим завданням, особливо в педіатрії. Один з перспективних підходів передбачає використання засобів, що знижують оксидативний стрес в організмі. Було показано, що комбінація бетаїну та аргініну має корисний ефект, модулюючи

метаболічні та імунологічні процеси, тим самим сприяючи зниженню оксидативного стресу. Ця лікарська форма схвалена для використання у дітей старше 3 років і може служити допоміжним засобом у терапевтичних стратегіях. Більше того, ця комбінація покращує ендотеліальну функцію, нормалізує рівень гомоцистеїну та підтримує антиоксидантний баланс [35]. Існуючі наукові дані вже показують позитивні результати щодо використання аргініну у пацієнтів з COVID-19 [36]. Щодо бетаїну, дані вказують на те, що нижчі рівні бетаїну можуть бути пов'язані з поганими результатами лікування COVID-19 [37]. У нашому дослідженні ми спостерігали позитивну динаміку біохімічних маркерів при використанні добавок у дітей з COVID-19, що свідчить про зниження оксидативного стресу. Наше дослідження продемонструвало, що ризик розвитку COVID-19 та його перебіг пов'язані з варіантами гена *MTHFR*, що представляють собою фолат-залежну патологію, яка вимагає відповідних профілактичних заходів та персоналізованих протоколів лікування. Однак необхідні подальші масштабні дослідження в цьому напрямку з поглибленим аналізом генетичних особливостей та метаболічного профілювання, особливо процесів, пов'язаних з нітрозативним стресом, оскільки ця тема вивчена не достатньо.

## Висновки

Дослідження встановило зв'язок між варіантами гена *MTHFR* та підвищеним ризиком розвитку COVID-19 у дітей, зі значущими біохімічними маркерами, такими як рівень нітратів, нітритів, сіалової кислоти та МДА. Ці асоціації та кореляційні зв'язки підтверджують, що COVID-19 у дітей є фолат-залежною патологією на територіях із забрудненням питної води фтором та нітратами, особливо в Полтавській області. Окислювальний та нітрозативний стрес виявилися ключовими патогенними факторами, що впливають на розвиток та перебіг COVID-19 у дітей, що відображено у відповідних біохімічних маркерах. Позитивні зміни цих маркерів спостерігалися після введення добавки бетаїн-аргініну. Ці результати свідчать про те, що така добавка може мати потенціал як частина профілактичних або персоналізованих терапевтичних стратегій для дітей з COVID-19.

**Перспективи подальших досліджень.** Перспективою подальших досліджень є пошук та вивчення нових біохімічних та генетичних маркерів тяжкості перебігу COVID-19 у дітей.

**Внесок співавторів у підготовку матеріалів наукової статті:** Похилько В. – концепція та дизайн дослідження, збір та обробка матеріалів, аналіз отриманих даних; Чернявська Ю. – аналіз отриманих даних, написання тексту; Цвіренко С. – концепція та дизайн дослідження, збір та обробка матеріалів; Шевченко О. – концепція та дизайн дослідження, аналіз отриманих даних; Россоха З. – концепція та дизайн дослідження, аналіз отриманих даних, збір та обробка матеріалів; Попова О. – збір й обробка матеріалів,

аналіз отриманих даних; Фіщук Л. – аналіз отриманих даних, написання тексту.

**Конфлікт інтересів.** Автори декларують відсутність будь-яких конфліктів інтересів і власних фінансових інтересів, які можуть мати вплив на результати дослідження.

### Література:

1. Guo CY, Zhang WX, Zhou YG, Zhang SS, Xi L, Zheng RR, et al. Dynamics of respiratory infectious diseases under rapid urbanization and COVID-19 pandemic in the subcenter of Beijing during 2014-2022. *Heliyon*. 2024;10(9): e29987. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29987> PMID: 38737278; PMCID: PMC11088252.
2. Hong JY, Medzhitov R. On developmental programming of the immune system. *Trends Immunol*. 2023;44(11):877-89. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.it.2023.09.004> PMID: 37852863.
3. Seriakova I, Yevtushenko V, Kramarov S, Palatna L, Shpak I, Kaminska T. Clinical course of COVID-19 in hospitalized children of Ukraine in different pandemic periods. *Eur Clin Respir J*. 2022;9(1):2139890. DOI: <http://doi.org/10.1080/20018525.2022.2139890> PMID: 36325478; PMCID: PMC9621244.
4. Lin L, St Clair S, Gamble GD, et al. Nitrate contamination in drinking water and adverse reproductive and birth outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*. 2023;13:563. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41598-022-27345-x>
5. Zhu S, Wei W. Progress in research on the role of fluoride in immune damage. *Front Immunol*. 2024;15:1394161. DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1394161> PMID: 38807586; PMCID: PMC11130356.
6. Mikkelsen K, Apostolopoulos V. Vitamin B12, folic acid, and the immune system. In: Mahmoudi M, Rezaei N, editors. *Nutrition and Immunity*. Cham: Springer; 2019. p. 95-112. DOI: [http://doi.org/10.1007/978-3-030-16073-9\\_6](http://doi.org/10.1007/978-3-030-16073-9_6)
7. Danishpajoo IO, Gudi T, Chen Y, Kharitonov VG, Sharma VS, Boss GR. Nitric oxide inhibits methionine synthase activity in vivo and disrupts carbon flow through the folate pathway. *J Biol Chem*. 2001;276(29):27296-303. DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.M104043200> PMID: 11371572.
8. Fan Y, Wu L, Zhuang W. Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene rs1801133 and rs1801131 Polymorphisms and Essential Hypertension Risk: A Comprehensive Analysis. *Cardiovasc Ther*. 2022;2022:2144443. DOI: <http://doi.org/10.1155/2022/2144443> PMID: 35284002; PMCID: PMC8888071.
9. Zhang HZ, Wu JH, Huang Q, Yang Q, Sima Q, Chen KY, et al. Associations of methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) rs1801131 and rs1801133 polymorphisms with susceptibility to vitiligo: A meta-analysis. *J Cosmet Dermatol*. 2021;20(7):2359-68. DOI: <http://doi.org/10.1111/jocd.13857> PMID: 33219596.
10. Alam NF, Ahmed R, Mahmud Z, Tamanna S, Shaon MA, Howlader MZH. Genetic association and computational analysis of MTHFR gene polymorphisms rs1801131 and rs1801133 with breast cancer in the Bangladeshi population. *Sci Rep*. 2024;14(1):24232. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41598-024-75656-y> PMID: 39414907; PMCID: PMC11484754.
11. Moness H, Mousa SO, Mousa SO, Adel NM, Ibrahim RA, Hassan EE, et al. Thrombophilia genetic mutations and their relation to disease severity among patients with COVID-19. *PLoS One*. 2024;19(3): e0296668. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0296668> PMID: 38507367; PMCID: PMC10954113.
12. Bagheri Hamidi A, Namazi N, Mohammad Amoli M, Amani M, Gholami M, Youssefian L, et al. Association of MTHFR C677T polymorphism with elevated homocysteine level and disease development in vitiligo. *Int J Immunogenet*. 2020;47(4):342-50. DOI: <http://doi.org/10.1111/iji.12476> PMID: 32064757.
13. Jhamb JA, Rampal S, Jaiman A, Sinniah A, Tong JB, Jaiman A. Worsening air pollution: an unfamiliar cause of low vitamin D levels – a systematic literature review. *J Clin Med Kaz*. 2023;20(5):4-8. DOI: <http://doi.org/10.23950/jcmk/13760>
14. Lei W, Tian H, Xia Y. Association Between the TaqI (rs731236 T>C) Gene Polymorphism and Dental Caries Risk: A Meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2021;25(5):368-75. DOI: <http://doi.org/10.1089/gtmb.2020.0263> PMID: 33960841; PMCID: PMC8140352.
15. Fishchuk L, Rossokha Z, Pokhylko V, Cherniavska Y, Tsvirenko S, Kovtun S, et al. Modifying effects of TNF- $\alpha$ , IL-6 and VDR genes on the development risk and the course of COVID-19. Pilot study. *Drug Metab Pers Ther*. 2021;37(2):133-9. DOI: <http://doi.org/10.1515/dmpt-2021-0127> PMID: 34860474.
16. Regina da Silva Correa da Ronda C, Berlofa Visacri M, Tiemi Siguemoto J, Motta Neri C, Crispim Lopo de Abreu M, de Souza Nicoletti A, et al. Single-nucleotide polymorphisms related to vitamin D metabolism and severity or mortality of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Gene*. 2024;906:148236. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.gene.2024.148236> PMID: 38316264.
17. Kaidashev I, Shlykova O, Izmailova O, Torubara O, Yushchenko Y, Tyshkovska T, et al. Host gene variability and SARS-CoV-2 infection: A review article. *Heliyon*. 2021;7(8): e07863. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07863> PMID: 34458641; PMCID: PMC8382593.
18. Murzina A, Rossokha Z. Polymorphic variants of the VDR gene in children with psoriasis. *Dermatol Venerol*. 2020;3(89):8-15. DOI: <http://doi.org/10.33743/2308-1066-2020-3-8-15>
19. Fishchuk L, Rossokha Z, Pokhylko V, Cherniavska Y, Popova O, Tsvirenko S, et al. Associations of variants of folate cycle genes with features of the clinical course of severe intraventricular hemorrhages in premature infants. *J Neonatal Perinatal Med*. 2022;15(3):545-51. DOI: <http://doi.org/10.3233/NPM-210962>
20. Kovalova O, Pokhylko V, Cherniavska Y, Tsvirenko S, Rossokha Z, Davydenko A. Peculiarities of metabolism (by level of nitrates, nitrites, malondialdehyde and sialic acids) in 6- to 9-month-old infants born to mothers with metabolic syndrome who had hypoxic-ischemic encephalopathy in the early neonatal period. *Neonatal Surg Perinat Med*. 2024;4(54):56-64. DOI: <http://doi.org/10.24061/2413-4260.XIV.4.54.2024.8>
21. D'Antonio M, Nguyen JP, Arthur TD, Matsui H; COVID-19 Host Genetics Initiative; D'Antonio-Chronowska A, Frazer KA. SARS-CoV-2 susceptibility and COVID-19 disease severity are associated with genetic variants affecting gene expression in a variety of tissues. *Cell Rep*. 2022;39(11):110968. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110968> PMID: 35705058; PMCID: PMC9195561.
22. Bowles EF, Burleigh M, Mira A, Van Breda SGJ, Weitzberg E, Rosier BT. Nitrate: «the source makes the poison». *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2025;65(24):4676-702. DOI: <http://doi.org/10.1080/10408398.2024.2395488> PMID: 39213282.

23. Wu Z, Tian T, Ma W, Gao W, Song N. Higher urinary nitrate was associated with lower prevalence of congestive heart failure: results from NHANES. *BMC Cardiovasc Disord.* 2020;20(1):498. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12872-020-01790-w> PMID: 33238887; PMCID: PMC7690024.
24. Ward MH, Jones RR, Brender JD, de Kok TM, Weyer PJ, Nolan BT, et al. Drinking Water Nitrate and Human Health: An Updated Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2018;15(7):1557. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijerph15071557> PMID: 30041450; PMCID: PMC6068531.
25. Bastin A, Abbasi F, Roustaei N, Abdesheikhi J, Karami H, Gholamnezhad M, et al. Severity of oxidative stress as a hallmark in COVID-19 patients. *Eur J Med Res.* 2023;28(1):558. DOI: <http://doi.org/10.1186/s40001-023-01401-2> PMID: 38049886; PMCID: PMC10696844.
26. Lorente L, Gómez-Bernal F, Martín MM, Navarro-González JA, Argueso M, Perez A, et al. High serum nitrates levels in non-survivor COVID-19 patients. *Med Intensiva (Engl Ed).* 2020;46(3):132-9. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.medin.2020.10.003> PMID: 33293102; PMCID: PMC7654288.
27. Sun XL. The role of cell surface sialic acids for SARS-CoV-2 infection. *Glycobiology.* 2021;31(10):1245-53. DOI: <http://doi.org/10.1093/glycob/cwab032> PMID: 33909065; PMCID: PMC8600286.
28. Kaminskyi V, Vorobei L, Zhdanovych O, Korniienko S, Kolomiichenko T, Fastovets O. Clinical and genetic determinants of severe course of COVID-19 in pregnant women. *Reprod Endocrinol.* 2022;65:38-43. DOI: <http://doi.org/10.18370/2309-4117.2022.65.38-43>
29. Wielgat P, Rogowski K, Godlewska K, Car H. Coronaviruses: Is Sialic Acid a Gate to the Eye of Cytokine Storm? From the Entry to the Effects. *Cells.* 2020;9(9):1963. DOI: <http://doi.org/10.3390/cells9091963> PMID: 32854433; PMCID: PMC7564400.
30. Haroun RA, Osman WH, Eessa AM. Evaluation of serum total sialic acid in moderate COVID-19 patients with and without gastrointestinal tract manifestations. *Tissue Cell.* 2022;74:101679. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101679> PMID: 34801789; PMCID: PMC8598396.
31. Bhat D, Priya S, Bharath SV, Manohar B. Relationship between COVID-19 severity and fluoride levels of drinking water among children in Karnataka state, India: an epidemiological study. *Int J Appl Dent Sci.* 2022;8(4):33-7. DOI: <http://doi.org/10.22271/oral.2022.v8.i4a.1623>
32. Skórka-Majewicz M, Goschorska M, Żwierzeło W, Baranowska-Bosiacka I, Styburski D, Kapczuk P, et al. Effect of fluoride on endocrine tissues and their secretory functions – review. *Chemosphere.* 2020;260:127565. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127565> PMID: 32758781.
33. Kirmir A, Yesilnacar MI, Calısır M, Bayhan I, Celik H. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis levels in those who use borderline high level fluoride content drinking water. *J Contemp Med.* 2020;10(1):45-50. DOI: <http://doi.org/10.16899/jcm.690968>
34. Daiber A, Münzel T. Organic Nitrate Therapy, Nitrate Tolerance, and Nitrate-Induced Endothelial Dysfunction: Emphasis on Redox Biology and Oxidative Stress. *Antioxid Redox Signal.* 2015;23(11):899-942. DOI: <http://doi.org/10.1089/ars.2015.6376> PMID: 26261901; PMCID: PMC4752190.
35. Rossokha Z, Fishchuk L, Sheyko L, Medvedieva N, Gorovenko N. Positive effect of betaine-arginine supplement on improved hyperhomocysteinemia treatment in married couples with reproductive disorders. *Georgian Med News.* 2020;309:22-8. PMID: 33526724.
36. Trimarco V, Izzo R, Lombardi A, Coppola A, Fiorentino G, Santulli G. Beneficial effects of L-Arginine in patients hospitalized for COVID-19: New insights from a randomized clinical trial. *Pharmacol Res.* 2023;191:106702. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106702> PMID: 36804278; PMCID: PMC9928676.
37. Israr MZ, Ibrahim W, Salzano A, Sarmad S, Wilde MJ, Cordell RL, et al. Association of gut-related metabolites with respiratory symptoms in COVID-19: A proof-of-concept study. *Nutrition.* 2022;96:111585. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111585> PMID: 35131599; PMCID: PMC8730784.

## ANALYSIS OF MTHFR AND VDR GENE VARIANTS AND OXIDATIVE/NITROSATIVE STRESS MARKERS IN THE DEVELOPMENT AND COURSE OF COVID-19 IN CHILDREN FROM THE POLTAVA REGION: APPROACHES TO PERSONALIZED THERAPEUTIC AND PREVENTIVE STRATEGIES

V. Pokhylko<sup>1</sup>, Yu. Cherniavska<sup>1</sup>, S. Tsvirenko<sup>1</sup>, O. Shevchenko<sup>2</sup>, Z. Rossokha<sup>2</sup>, O. Popova<sup>2</sup>, L. Fishchuk<sup>2</sup>

Poltava State Medical University<sup>1</sup>

(Poltava, Ukraine),

Shupyk National University of Healthcare of Ukraine<sup>2</sup>

(Kyiv, Ukraine)

### Summary.

Analysis of gene variants, oxidative and nitrosative stress markers, and their interrelationships may facilitate the development of personalized approaches to the prevention and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other infectious diseases, particularly in regions affected by environmental pollution. The present study was conducted to evaluate the influence of *MTHFR* (rs1801133, rs1801131) and *VDR* (rs731236) gene variants, as well as oxidative and nitrosative stress markers, on the course of COVID-19 in children residing in the Poltava region, with consideration of nitrate and fluoride pollution.

**Methods.** The study included 40 children diagnosed with COVID-19 and 17 age-matched children in the comparison group. The following parameters were assessed: variants of the *MTHFR* and *VDR* genes; urinary concentrations of nitrates, nitrites, malondialdehyde (MDA), and sialic acids; and residence in territories with elevated fluoride and nitrate pollution.

**Results.** In children with COVID-19, a significantly higher frequency of the AA genotype of the rs1801131 variant was observed. Elevated urinary levels of nitrites, MDA, and sialic acids were identified as significant pathogenic factors associated with the disease. Among children living in fluoride- and nitrate-polluted areas, correlations were found between *MTHFR* gene variants and serum concentrations of bilirubin, creatinine, and MDA. Betaine-arginine supplementation was identified as a potential strategy for personalized prevention and treatment in pediatric COVID-19.

**Conclusion.** Associations were established between *MTHFR* gene variants and increased susceptibility to COVID-19. The influence of fluoride- and nitrate-polluted environments was confirmed, key pathogenic factors (nitrite, MDA, and sialic acid levels) were delineated, and betaine-arginine supplementation was proposed as a potential preventive and therapeutic intervention.

**Keywords:** COVID-19; MTHFR; Nitrosative Stress; Oxidative Stress; VDR

**Контактна інформація:**

**Похилько Валерій** – доктор медичних наук, професор, професор кафедри педіатрії № 1 із неонатологією Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна).

**e-mail:** v.i.pokhylo@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-1848-0490>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/HGU-3751-2022>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=16245511700>

**Чернявська Юлія** – кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри педіатрії № 1 із неонатологією Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна).

**e-mail:** ycherniavska32@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-4522-7538>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/IAP-0661-2023>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57031925700>

**Цвіренко Світлана** – кандидат медичних наук, доцент, завідувачка кафедри педіатрії № 1 із неонатологією Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна)

**e-mail:** s.tsivrenko@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0009-0005-8062-057X>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/31234731>

**Scopus author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6602431937>

**Шевченко Олег** – доктор філософії, доцент, проректор з науково-педагогічної роботи та міжнародного співробітництва Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (м.Київ, Україна)

**e-mail:** oshevchenko1@nuozu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-0431-7307>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57200147511>

**Россоха Зоя** – кандидат медичних наук, директор Експертно-аналітичного медичного центру молекулярної генетики Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (м.Київ, Україна)

**e-mail:** zoiroh071@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-4767-7364>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/792854>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=3662124100>

**Попова Олена** – Завідувач молекулярно-генетичної лабораторії Експертно-аналітичного медичного центру молекулярної генетики Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (м.Київ, Україна)

**e-mail:** refcentre2013@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-8298-858X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57193561802>

**Researcher ID:** <https://www.researchgate.net/profile/Olena-Popova-3>

**Фіщук Лілія** – кандидат біологічних наук, біолог директор Експертно-аналітичного медичного центру молекулярної генетики Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (м.Київ, Україна)

**e-mail:** medgen@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-9999-7389>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/GZA-5082-2022>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56049055200>

**Contact Information:**

**Valerii Pokhylo** – Doctor of Medical Science, Full Professor, Professor of the Department of Pediatrics No. 1 with Neonatology of the Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine).

**e-mail:** v.i.pokhylo@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-1848-0490>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/HGU-3751-2022>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=16245511700>

**Yuliia Cherniavska** – PhD, Associate Professor of the Department of Pediatrics No. 1 with Neonatology of the Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine).

**e-mail:** ycherniavska32@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-4522-7538>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/IAP-0661-2023>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57031925700>

**Svitlana Tsvirenko** – PhD, Associate Professor, Head of Department of Pediatrics No. 1 with Neonatology of Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)

**e-mail:** s.tsivrenko@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0009-0005-8062-057X>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/31234731>

**Scopus author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6602431937>

**Oleh Shevchenko** – PhD, associate Professor, Vice-Rector for Scientific and Pedagogical Work and International Cooperation of Shupyk National Healthcare University of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

**e-mail:** oshevchenko1@nuozu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-0431-7307>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57200147511>

**Zoia Rossokha** – PhD, director of Expert- analytical medical center for molecular genetics, Shupyk National Healthcare University of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

**e-mail:** zoiroh071@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-4767-7364>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/792854>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=3662124100>

**Olena Popova** – Head of the molecular genetics laboratory of the Expert-analytical medical center of molecular genetics, Shupyk National Healthcare University of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

**e-mail:** refcentre2013@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-8298-858X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57193561802>

**Researcher ID:** <https://www.researchgate.net/profile/Olena-Popova-3>

**Liliia Fishchuk** – PhD, biologist of Expert- analytical medical center for molecular genetics, Shupyk National Healthcare University of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

**e-mail:** medgen@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-9999-7389>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/GZA-5082-2022>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56049055200>

Поступило до редакції: 26 грудня 2025 р.

Затверджено до друку: 23 лютого 2026 р.

Опубліковано: 27 березня 2026 р.

