УДК 616-056.43:612.392.7/9:612.397.23/.398

DOI: 10.34215/1609-1175-2021-4-46-49

Белок, связывающий жирные кислоты, и его генетическая регуляция у детей с пищевой аллергией

Н.Г. Приходченко¹, Т.А. Шуматова¹, С.В.Воронин², Д.В. Коваленко¹¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток, Россия;² Краевой клинический центр специализированных видов медицинской помощи, Краевая медико-генетическая консультация, г. Владивосток, Россия

Цель: изучение влияния полиморфизма Ala54Thr гена FABP2 на продукцию кишечной фракции FABP в сыворотке крови, моче и копрофильtrate у детей с пищевой аллергией. **Материал и методы.** Определяли содержание кишечной фракции FABP в моче, копрофильtrate, сыворотке крови методом ИФА. Исследование полиморфизма генов FABP (G163A, Ala54Thr) проводили методом ПЦР. **Результаты.** При определении FABP в различных биологических жидкостях было выявлено его статистически значимое повышение в сыворотке крови, моче и копрофильtrate у детей с ПА. Распределение аллелей и генотипов FABP2 подчинялось равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2=0$; $p=1,000$) и значимо не отличалось от распределения генотипов у детей с ПА и в контрольной выборке ($p=0,638$). **Заключение.** В нашем исследовании не выявлена ассоциация патологического генотипа FABP G163A, (Ala54Thr) с гиперпродукцией кишечной фракции FABP при ПА у детей, подтверждая диагностическую значимость повышения данного маркера при обострении заболевания.

Ключевые слова: дети, кишечная фракция белка, связывающего жирные кислоты (I-FABP), полиморфизм Ala54Thr гена FABP, пищевая аллергия

Поступила в редакцию 29.09.2021. Получена после доработки 05.10.2021. Принята к печати 26.10.2021.

Для цитирования: Приходченко Н.Г., Шуматова Т.А., Воронин С.В., Коваленко Д.В. Белок, связывающий жирные кислоты, и его генетическая регуляция у детей с пищевой аллергией. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2021; 4:46–49. doi: 10.34215/1609-1175-2021-4-46-49

Для корреспонденции: Приходченко Нелли Григорьевна – д-р мед. наук, доцент, профессор Института педиатрии Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), ORCID: 0000-0002-2106-2572; e-mail: prikhodchenko_n@mail.ru

Protein linking fatty acids and its genetic regulation in children having food allergy

N.G. Prikhodchenko¹, T.A. Shumatova¹, S.V. Voronin², D.V. Kovalenko¹¹ Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia;² Regional Clinical Center for Specialized Types of Medical Care, Regional medical genetic consultation, Vladivostok, Russia

Objective: Study the effect of the Ala54Thr FABP gene polymorphism on the produce of the intestinal FABP fraction in blood serum, urine and coprofiltrate in children having food allergies. **Methods:** The content of the FABP intestinal fraction in urine, feces, and blood serum was determined using ELISA method. The study of FABP genes polymorphism (G163A, Ala54Thr) was carried out using PCR method. **Results:** Statistically significant increase of the FABP level in blood serum, urine and feces in children with FA was detected in various biological fluids. The distribution of FABP2 alleles and genotypes obeyed the Hardy-Weinberg law ($\chi^2 = 0$; $p = 1,000$) and did not significantly differ from the distribution of genotypes in children having FA and in the control sample ($p = 0.638$). **Conclusions:** The study did not reveal an association of the pathological genotype FABP G163A, (Ala54Thr) with the hyperproduction of the FABP intestinal fraction in children having FA, confirming the diagnostic significance of this marker increase during exacerbation of the disease.

Keywords: children, intestinal fraction of protein linking fatty acid (I-FABP), FABP gene Ala54Thr polymorphism, food allergy

Received 29 September 2021; Revised 5 October 2021; Accepted 26 October 2021

For citation: Prikhodchenko N.G., Shumatova T.A., Voronin S.V., Kovalenko D.V. Protein linking fatty acids and its genetic regulation in children having food allergy. *Pacific Medical Journal.* 2021;4:46–49. doi: 10.34215/1609-1175-2021-4-46-49

Corresponding author: Nelli G. Prikhodchenko, MD, PhD, assistant professor of the institute of pediatrics, Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok, 690095, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-2106-2572; e-mail: prikhodchenko_n@mail.ru

Совершенствование методов диагностики и ведения детей раннего возраста с гастроинтестинальными формами пищевой аллергии (ПА) связывают с определением биологических маркеров состоятельности кишечного барьера, позволяющих объективно оценивать течение заболевания на этапах ступенчатой диетотерапии

и диетодиагностики [1, 2]. Одним из наиболее перспективных маркеров повреждения слизистой оболочки кишечника является белок, связывающий жирные кислоты (fatty acid binding protein, FABP) [3, 4].

Идентифицированы различные типы FABP с тканеспецифичным распределением. L-FABP локализуется

в печени, I-FABP – в кишечнике, H-FABP – в миокарде и скелетной мускулатуре, A-FABP, E-FABP и B-FABP – в жировой ткани, эпидермисе и мозге, соответственно [5, 6]. Основная функция всех членов семейства FABP – регуляция поглощения жирных кислот, их трансмембранный транспорт и включение в клеточный метаболизм.

Кишечная фракция I-FABP представляет небольшой (14–15 кДа) водорастворимый белок, который специфически экспрессируется в зрелых эпителиальных клетках слизистой оболочки тонкого и толстого кишечника [4–6]. Этот белок участвует в абсорбции, внутриклеточном транспорте и метаболизме пищевых жирных кислот и их эфиров ацил-КоА в тонком кишечнике [7, 8, 9]. Содержание I-FABP в биологических жидкостях соотносится с повреждением тонкого кишечника при ишемии, воспалении и пищевой аллергии у детей [9]. Продукция I-FABP регулируется геном *FABP2*, который расположен в длинном плече хромосомы 4 (4q28–4q31) и состоит из 4 экзонов, разделенных 3 интронами [10]. В 1995 году Vaier с соавторами описали общий нуклеотидный переход от гуанина (G) к аденину (A) в кодоне 54 экзона 2 гена *FABP2*, приведший к замене аланина (Ala) на треонин (Thr) (Ala54Thr; rs1799883) [11]. Эта аминокислотная замена является функциональной мутацией, которая индуцирует экспрессию белка, изменяя его физиологические свойства [10–13]. Установлено, что миссенс-вариация тесно связана с изменением метаболизма липидов и углеводов, на настоящий момент *FABP2* считается широко изученным геном-кандидатом, связанным с метаболическими нарушениями, включая ожирение, диабет и метаболический синдром [12]. Однако неясно, влияет ли полиморфизм Ala54Thr на повышение уровня I-FABP в биологических жидкостях у детей с пищевой аллергией.

Цель настоящего исследования состояла в изучении влияния полиморфизма Ala54Thr гена *FABP2* на продукцию кишечной фракции FABP в сыворотке крови, моче и копрофильtrate у детей с пищевой аллергией.

Материал и методы

В исследование были включены 36 детей раннего возраста (от 1,5 месяцев до 3 лет, I группа) с пищевой аллергией к белкам коровьего молока. 30 здоровых

детей с неотягощенным аллергологическим анамнезом, сопоставимых по полу и возрасту, составили контрольную группу сравнения (II группа). Все пациенты дали письменное согласие на участие в исследовании. Работа была выполнена с учетом требований Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Министерства РФ от 19.06.2003, № 266.

Кишечную фракцию I-FABP определяли в острый период заболевания с помощью реактивов фирмы Cloud-Clone Corp (CCC, USA) в сыворотке крови, моче и копрофильtrate посредством метода ELISA (энзим-связанного иммуносорбентного анализа). Для молекулярно-генетического анализа использовали образцы ДНК клеток крови. Полиморфизм Ala54Thr гена *FABP2* определяли методом полимеразной цепной реакции с применением двухпраймерной системы («ЛИТЕХ»).

Статистическую обработку данных проводили с помощью стандартного пакета фирмы STATISTICA 13.3 (StatSoftInc, США). Значимость различий в частоте аллелей и генотипов сравниваемых выборок определяли по критерию χ^2 . Для корреляционного анализа применяли критерий Спирмена. Статистически достоверными считались различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования

У всех пациентов I группы были выявлены гастроинтестинальные проявления пищевой аллергии к белкам коровьего молока различной степени выраженности, были характерны недостаточные прибавки в массе тела, снижение аппетита. Анализ данных физического развития детей с пищевой аллергией показал, что величина Z-score ИМТ/возраст соответствовала допустимым колебаниям (BAZ-2+1) у большинства обследованных детей (табл. 1). Недостаточность питания (BAZ<-2) диагностирована у 15 (41,6%) из всех обследованных детей.

При определении I-FABP в различных биологических жидкостях (сыворотке крови, моче и копрофильtrate, табл. 2) было обнаружено его статистически значимое возрастание у больных I-й группы. Так, в крови концентрация I-FABP была повышена

Таблица 1

Диапазон колебаний Z-scores среди детей с пищевой аллергией при включении в исследование, n=36

Z-scores	<-2SD, N (%)	-2 -1 SD, N (%)	-1 +1 SD, N (%)	+1 +2 SD, N (%)	> +2 SD, N (%)
WAZ (масса тела/возраст)	8 (22,2 %)	20 (55,6 %)	6 (15,6 %)	2 (5,6 %)	- (0 %)
HAZ (рост/возраст)	1 (2,8 %)	8 (22,2 %)	25 (69,4 %)	1 (2,8 %)	1 (2,8%)
BAZ (ИМТ/возраст)	15 (41,6 %)	13 (36,1 %)	6 (15,6 %)	2 (5,6%)	- (0%)

в 6,5 раза, в моче в 4,2 раза, в копрофильtrate в 2 раза (табл. 2).

Таблица 2

Содержание I-FABP в различных биологических жидкостях у детей с ПА

Показатели	Группа (n=36)	Контрольная группа (n=30)
Сыворотка, пг/мл	125,20±23,79 *	19,21±4,94
Моча, пкг/мл	0,164±0,031*	0,039±0,004
Копрофильтрат, нг/мл	0,36±0,05*	0,18±0,02

Примечание: * – достоверность различий $p < 0,05$.

Мы проанализировали распределение частот аллелей и генотипов Ala54Thr гена FABP2 у обследуемых детей (табл. 3). В контрольной группе частота аллеля Thr54 составила 65%. Наблюдаемое распределение генотипов Ala/Ala (10%), Ala/Thr (50%) и Thr/Thr (40%) подчинялось равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 4,217$; $p = 0,121$).

Таблица 3

Распределение частот генотипов и аллелей гена FABP2

	Генотип, %			p1	Аллель Thr54	
	Ala/Ala	Ala/Thr	Thr/Thr		%	p2
I группа (n=36)	5,7	52,7	41,6	0,638	68%	0,703
II группа (n=30)	10	50	40	1,000	65%	1,000

p1 – при сравнении частоты генотипов, p2 – при сравнении частоты аллелей.

Частота Thr54 аллеля Ala54Thr полиморфизма гена FABP2 в основной группе составила 68% и значимо не отличалась от частоты аллеля Thr54 в контрольной группе ($p = 0,703$) (табл. 3). Распределение генотипов FABP2 (Ala/Ala – 5,7%, Ala/Thr – 52,7%, Thr/Thr – 41,6%) подчинялось равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 0$; $p = 1,000$) и также значимо не отличалось от распределения генотипов в контрольной выборке ($p = 0,638$).

Корреляционный анализ в нашем исследовании не выявил ассоциации полиморфизма Ala54Thr гена FABP2 и содержания I-FABP в сыворотке крови, моче и копрофильtrate ($p = 0,800$; $r = -0,014$; $p = 0,207$; $r = -0,121$ и $p = 0,385$; $r = 0,056$, соответственно).

Обсуждение полученных данных

Повреждение эпителиального барьера кишечника повышает транспорт интактных пищевых аллергенов, играет ключевую роль в аллергической сенсibilизации, формируя первое патогенетическое звено аллергического воспаления. Каемчатые энтероциты регулируют активацию CD 8+ T-клеток при селективном поглощении антигенов [3]. Маркеры повреждения

энтероцитов и экспрессия FABP представляют значимый показатель развития или обострения при гастроинтестинальных формах пищевой аллергии [3, 6].

Известно, что базовые уровни FABP отражают физиологическое состояние энтероцитов, а повышенные уровни белка указывают на повреждение эпителиальных клеток кишечника [4, 5]. По нашим данным, у детей с аллергической (белок-индуцированной) энтеропатией наблюдается достоверное повышение концентрации I-FABP в крови в 6,5 раза, в моче в 4,2 раза, в копрофильtrate в 2 раза. Поскольку полиморфизм Ala54Thr гена FABP2 связан с индукцией экспрессии белка [10-13], можно предполагать наличие генетической обусловленности I-FABP в биологических жидкостях у детей с ПА. Проведенный нами корреляционный анализ не выявил ассоциации носительства Ala54Thr гена FABP2 и содержания I-FABP в сыворотке крови, моче и копрофильtrate. Повышенный уровень I-FABP здесь, вероятно, связан с повреждением энтероцитов при развитии аллергического воспаления кишечной стенки. Экспрессия FABP2 зависит не только от полиморфизма соответствующего гена, но также диеты и различных коморбидных состояний [10, 11]. В эксперименте показано, что высокие уровни I-FABP могут ингибировать включение жирных кислот в мембрану энтероцитов, оказывая на них цитодеструктивный эффект [7, 9]. Хотя механизм этого явления окончательно не выяснен, можно полагать, что гиперэкспрессия I-FABP окислительном стрессе повышает проницаемость кишечника и становится дополнительным фактором персистирующего воспаления.

Таким образом, отсутствие ассоциации патологического генотипа FABP2 G163A (Ala54Thr) с гиперпродукцией I-FABP на фоне повышения сывороточного, фекального и уринального уровня I-FABP у детей с ПА обусловлено аллергическим повреждением слизистой оболочки кишечника и может иметь большое значение для неинвазивного мониторинга гастроинтестинальных форм пищевой аллергии.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Литература/Reference

1. Макарова С.Г., Намазова-Баранова Л.С., Вишнева Е.А., Ерешко О.А., Гордеева И.Г. Гастроинтестинальная пищевая аллергия у детей. *Вопросы современной педиатрии*. 2017; 16(3): 202-212. doi: 10.15690/vsp.v16i3.1730. [Makarova S.G., Namazova-Baranova L.S., Vishneva E.A., Ereshko O.A., Gordееva I.G. Gastrointestinal food allergy in children. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2017; 16(3): 202-212. (in Russ).]
2. Knol E.F., de Jong N.W., Ulfman L.H., Tiemessen M.M. Management of Cow's Milk Allergy from an Immunological Perspective: What Are the Options? *Nutrients*. 2019; 11 (11): 2734. doi: org/10.3390/nu11112734.

3. Wells J.M., Brummer R.J., Derrien M., MacDonald T.T., Troost F., Cani P.D., et al. Homeostasis of the gut barrier and potential biomarkers *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2017; 3: 171–193. doi: 10.1152/ajpgi.00048.2015.
4. Шуматова Т.А., Шишацкая С.Н., Зернова Е.С., Ни А.Н., Катенкова Э.Ю., Приходченко Н.Г., Григорян Л.А., Егорова С.В. Совершенствование диагностики аллергии к белкам коровьего молока у детей грудного возраста. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2016; 55(4): 19-21. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2016.4.19–22. [Shumatova T.A., Shishatskaya S.N., Zernova E.S., Ni A.N., Katenkova E.Yu., Prikhodchenko N.G., Grigoryan L.A., Egorova S.V. Improving the diagnosis of allergy to cow's milk proteins in infants. *Tihookeanskij meditsinskij zhurnal.* 2016; 55 (4):19-21. (in Russ).]
5. Vancamelbeke M., Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017; 11(9): 821–834. doi: org/10.1080/17474124.2017.1343143.
6. Thumser A.E., Plant N.J., Moore J.B. Fatty acid binding proteins: Tissue-specific functions in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2014; 17(2): 124–129. doi: 10.1097/MCO.0000000000000031
7. Gajda A.M., Storch J. Enterocyte fatty acid-binding proteins (FABPs): different functions of liver and intestinal FABPs in the intestine. *Prostaglandins Leuko tEssent Fatty Acids.* 2015; 93: 9–16. doi: 10.1016/j.plefa.2014.10.001
8. Huang-Fu C.R., Li P., Tian Y.F. Clinical significance of serum intestinal fatty acid-binding protein in full-term infants with necrotizing enterocolitis. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 2014; 16(11): 1125–1128.
9. Coufal S., Kokesova A., Tlaskalova-Hogenova H., Snajdauf J., Rygl M., Kverka M. Urinary I-FABP, L-FABP, TFF-3, and SAA Can Diagnose and Predict the Disease Course in Necrotizing Enterocolitis at the Early Stage of Disease. *J Immunol Res.* 2020; 2020:3074313. doi:10.1155/2020/3074313
10. Martinez-Lopez E, Curiel-Lopez F, Hernandez-Nazara A, Moreno-Luna LE, Ramos-Marquez ME, Roman S, Panduro A. Influence of ApoE and FABP2 polymorphisms and environmental factors in the susceptibility to gallstone disease. *Ann Hepatol.* 2015;14(4):515-23.
11. Shabana, Shahid SU, Hasnain S. Use of a gene score of multiple low-modest effect size variants can predict the risk of obesity better than the individual SNPs. *Lipids Health Dis.* 2018;17(1):155. Published 2018. doi:10.1186/s12944-018-0806-5
12. Turkovic LE, Pizent A, Dodig S, Pavlovic M, Pasalic D. FABP2 gene polymorphism and metabolic syndrome in elderly people of croatian descent. *Biochem Med (Zagreb).* 2017;22(2):217-224. doi:10.11613/bm.2012.024
13. Li H, Xiao Y, Tang L, Zhong F., Huang G., Xu Jun-Mei, Xu Ai-Min, Dai Ru-Ping, Zhou Zhi-Guang. Adipocyte Fatty Acid-Binding Protein Promotes Palmitate-Induced Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis in Macrophages. *Front Immunol.* 2018;9:81. Published 2018. doi:10.3389/fimmu.2018.00081