

УДК 616-053.43-07:575:612.015.6

DOI: 10.34215/1609-1175-2019-4-29-31

Обеспеченность витамином D у детей с аллергическими заболеваниями при полиморфных вариантах гена *VDR*

Т.Б. Сенцова¹, С.Н. Денисова¹, А. Ни², О.В. Качалова¹¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;² Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

Цель: анализ обеспеченности витамином D детей с аллергическими заболеваниями (АЗ) при полиморфизме гена рецептора витамина D (*VDR*). **Материал и методы.** Основную группу составили 130 детей с аллергическими заболеваниями в возрасте от 1,5 до 16 лет. В группу контроля вошел 41 практически здоровый ребенок в возрасте от 1 года до 10 лет. Анализ полиморфных маркеров FokI (rs2228570), BsmI (rs 1544410) и TaqI (rs 731236) гена *VDR* проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени при использовании детектирующего амплификатора ДТ-96 и наборами для ДНК-диагностики. Исследование метаболита 25(OH) D (25-гидроксивитамин D₂ и D₃) осуществляли иммуноферментным методом. **Результаты.** У детей с АЗ была выявлена достоверно повышенная частота встречаемости аллеля A в сайте BsmI гена *VDR* и носительство гомозиготного (A/A) и гетерозиготного (G/A) его генотипов. Установлено статистически значимое снижение концентрации 25(OH) D при гетерозиготном варианте A/G и гомозиготном варианте G/G сайта FokI гена *VDR*. **Заключение.** Результаты исследования создают предпосылки для разработки персонализированных подходов к профилактике дефицита витамина D у детей с АЗ.

Ключевые слова: ген рецептора витамина D, пищевая аллергия, атопический дерматит, бронхиальная астма, крапивница, аллергический ринит

Поступила в редакцию 25.07.2019 г. Принята к печати 08.11.2019 г.

Для цитирования: Сенцова Т.Б., Денисова С.Н., Ни А., Качалова О.В. Обеспеченность витамином D у детей с аллергическими заболеваниями при полиморфных вариантах гена *VDR*. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2019;4:29–31. doi: 10.34215/1609-1175-2019-4-29-31

Для корреспонденции: Сенцова Татьяна Борисовна – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной педиатрии № 2 РНИМУ им. Н.И. Пирогова (117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1), ORCID: 0000-0002-3991-4702; e-mail: bio45@inbox.ru

The availability of the vitamin D among children with allergic disease caused by the polymorphic gene *VDR*

T.B. Sentsova¹, S.N. Denisova¹, A. Nee², O.V. Kachalova¹¹ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;² Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Objective: The objective is to analyze the availability of vitamin D in children with allergic diseases (AD) in polymorphism of the vitamin D receptor (*VDR*) gene. **Methods:** The main group included 130 children with allergic diseases aged from 1.5 to 16 y.o. The control group included 41 apparently healthy children aged from 1 to 10 y.o. The analysis of polymorphic markers FokI (rs2228570), BsmI (rs 1544410) and TaqI (rs 731236) of gene *VDR* was carried out by polymerase chain reaction method in real-time mode using detecting amplifier DT-96 and DNA-diagnostics sets. The assay of metabolite 25(OH) D (25-Hydroxyvitamin D₂ and D₃) was carried out by an immunoenzyme method. **Results:** Children with AD demonstrated a significantly increased degree of incidence of A-allele in the site of BsmI gene *VDR* and carriage of homozygous (A/A) and heterozygous (G/A) of its genotypes. The statistically significant decrease of 25 (OH) concentration was established in heterozygous variant A/G and in homozygous variant G/G of FokI site of gene *VDR*. **Conclusions:** The findings lay the groundwork for development of individual approach to prevent vitamin D deficiency in children with AD.

Keywords: vitamin D receptor gene, food allergy, atopic dermatitis, bronchial asthma, urticaria, allergic rhinitis

Received: 25 July 2019; Accepted: 8 November 2019

For citation: Sentsova TB, Denisova SN, Nee A, Kachalova OV. The availability of the vitamin D among children with allergic disease caused by the polymorphic gene *VDR*. *Pacific Medical Journal*. 2019;4:29–31. doi: 10.34215/1609-1175-2019-4-29-31

Corresponding author: Tatyana B. Sentsova, MD, PhD, professor, Hospital Pediatrics Department No. 2, Pirogov Russian National Research Medical University (1 Ostrovityanova St., Moscow, 117997, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-3991-4702; e-mail: bio45@inbox.ru

Персонализированный подход к диагностике аллергических заболеваний (АЗ) у детей предусматривает проведение генетических исследований, позволяющих прогнозировать развитие, течение аллергии с последующей оценкой эффективности профилактических и лечебных мероприятий [1]. Ранее принимались попытки выявления так называемых

«генов-кандидатов» с учетом полигенной предрасположенности к атопии [2]. В основном изучалась иммунная система: лейкотриены, ростовые факторы, цитокины, иммуноглобулин Е, хемокины [3]. Доказательства генетической составляющей в этиологии атопии нашло отражение в исследовании генов главного комплекса гистосовместимости, а также других

генов, ответственных за общие звенья патогенеза АЗ [4]. Последнее время большой интерес исследователей привлекает ген рецептора витамина D (vitamin D receptor, *VDR*), который кодирует внутриклеточный рецептор, способный связывать активные формы этого витамина, опосредованно осуществляя дозозависимые иммунорегуляторные эффекты [5, 6]. Разнообразие биологических свойств витамина D связано с наличием более 245 полиморфизмов гена его рецептора, часть из которых имеют уже известные биологические характеристики, роль других в настоящее время изучена не до конца [7]. В качестве маркера дефицита витамина D могут рассматриваться его полиморфные генетические варианты – 25-гидроксивитамин D₂ и D₃ – 25(OH) D [8].

В последние годы предпринимались попытки изучения ассоциации полиморфизма гена *VDR* с артериальной гипертензией, хронической обструктивной болезнью легких, туберкулезом, злокачественными опухолями, болезнью Паркинсона и остеопорозом, так как рецептор витамина D представлен во многих клетках, в том числе в клетках иммунной системы (моноцитах, макрофагах, активированных лимфоцитах) [9–12]. Выявление полиморфных вариантов гена *VDR* проводились только у взрослых пациентов с бронхиальной астмой, что затрудняет интерпретацию и использование полученных результатов в клинической практике у детей [13].

Целью настоящего исследования стал анализ обеспеченности витамином D детей с аллергическими заболеваниями при полиморфизме гена *VDR*.

Материал и методы

Наблюдали 130 детей (66 мальчиков и 64 девочки) с аллергическими заболеваниями в возрасте от 1,5 до 16 лет. Во всех случаях проводили общеклиническое и аллергологическое обследования. У 93 детей диагностирована изолированная аллергическая патология (пищевая аллергия или атопический дерматит), у 37 – отмечались сочетанные заболевания (бронхиальная астма, крапивница, аллергический ринит). Контролем послужила группа из 41 практически здорового ребенка в возрасте от 1 года до 10 лет.

Исследование, которое можно охарактеризовать как открытое и проспективное, было одобрено локальным комитетом по этике при РНИМУ им. Н.И. Пирогова и соответствовало принципам, изложенным в декларации Хельсинского соглашения. Информированное согласие было получено от всех родителей детей либо их опекунов.

Уровень метаболита 25(OH) витамина D оценивали иммуноферментным методом. Анализ полиморфных маркеров *FokI* (rs2228570), *BsmI* (rs1544410) и *TaqI* (rs731236) гена *VDR* проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени при использовании детектирующего амплификатора ДТ-96 и наборов для ДНК-диагностики.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакета прикладных программ Statis-

tica 6.0 и SPSS 13.0. Частоту аллелей или генотипов выявляли с помощью критерия χ^2 . Рассчитывали отношение шансов и его 95 % доверительный интервал и сравнивали их на основе парного t-критерия Стьюдента. Различия в концентрации 25(OH) D при различных полиморфных вариантах гена *VDR* оценивали, используя непарный t-тест *Aspin–Welch*, данные выражали как среднее арифметическое (M) и ошибку среднего (m).

Результаты исследования

У детей с АЗ была достоверно повышена частота встречаемости аллеля A в сайте *BsmI* гена *VDR* и частота носительства его гомо- (A/A) и гетерозиготного (G/A) вариантов. У пациентов с АЗ и в контроле не определено различий в частоте носительства полиморфного варианта сайта *FokI* гена *VDR*, как в отношении распределения аллелей, так и в отношении распределения генотипов. Для полиморфного сайта *TaqI* получены аналогичные закономерности (табл. 1).

При анализе содержания метаболита витамина D в сыворотке крови обращало на себя внимание статистически значимое снижение его концентрации у детей при гетерозиготном варианте A/G и гомозиготном варианте G/G сайта *FokI* гена *VDR* (табл. 2).

Таблица 1
Частота регистрации аллелей и генотипов *VDR* у детей с АЗ

Сайт	Аллели и генотипы	Частота регистрации		ОШ*	95 % ДИ*	p
		АЗ (n=130)	Контроль (n=41)			
<i>FokI</i> (A>G)	A	0,460	0,378	1,40	0,82–2,39	0,22
	G	0,540	0,622	0,71	0,42–1,22	0,22
	A/A	0,241	0,122	2,29	0,80–6,59	0,29
	G/A	0,437	0,512	0,74	0,35–1,56	0,29
<i>BsmI</i> (A>G)	G/G	0,322	0,366	0,82	0,38–1,78	0,29
	A	0,443	0,305	1,81	1,04–3,16	0,04
	G	0,557	0,695	0,55	0,32–0,96	0,04
	A/A	0,138	0,073	2,03	0,54–7,62	0,05
<i>TaqI</i> (T>C)	G/A	0,609	0,463	1,80	0,85–3,82	0,05
	G/G	0,253	0,463	0,39	0,18–0,86	0,05
	T	0,569	0,451	1,61	0,95–2,72	0,08
	C	0,431	0,549	0,62	0,37–1,06	0,08
<i>TaqI</i> (T>C)	T/T	0,276	0,220	1,35	0,56–3,25	0,06
	C/T	0,576	0,463	1,64	0,78–3,46	0,06
	C/C	0,138	0,317	0,34	0,14–0,84	0,06

* Отношение шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (ДИ).

Таблица 2
Содержание витамина D сыворотке крови при различных полиморфизмах гена *VDR*

Сайт	Генотип	25(OH) D (M±m), нг/мл	p*
<i>FokI</i>	A/A	40,25±1,90	0,02
	A/G+G/G	32,95±2,12	
<i>BsmI</i>	A/A	37,50±4,23	0,36
	A/G+G/G	33,44±2,00	
<i>TaqI</i>	C/C	33,27±2,75	0,41
	C/C+T/T	35,54±3,61	

* Непарный t-тест *Aspin–Welch*.

Обсуждение полученных данных

Результаты статистического анализа показали, что наиболее информативным маркером наследования АЗ служит аллель А против аллеля G в сайте BsmI гена VDR. Однако у здоровых детей чаще обнаруживалось носительство мутантного гомозиготного генотипа G/G полиморфного сайта BsmI по сравнению с пациентами с АЗ (отношение шансов – 0,39, $p=0,05$). Можно предположить, что носительство данного генотипа указывает на отсутствие предрасположенности к АЗ. Таким образом, были выявлены различия в распределении частот генотипов и аллелей у детей с АЗ: достоверно повышена частота встречаемости аллеля А в сайте BsmI и носительство гомозиготного (А/А) и гетерозиготного (G/A) генотипов VDR.

В некоторых работах проводилось исследование полиморфизма гена VDR у взрослых с atopическим дерматитом. При этом была установлена большая частота встречаемости аллеля G в сайте BsmI (rs1544410), аллеля С в сайте ApaI (rs7975232) и аллеля Т в сайте TaqI (rs731236). Было сделано предположение, что данные сайты отвечают за развитие atopического дерматита путем регуляции эпителиального барьера и/или местного иммунного ответа [14].

Несмотря на то, что уровень содержания метаболита витамина D в сыворотке крови на нашем материале не достигал значений дефицита (менее 20 нг/мл) полученные результаты (табл. 2) можно использовать для подбора персонифицированных доз витамина D при обязательном контроле концентрации его метаболита в крови. Другими авторами также предпринимались попытки изучения взаимосвязи концентрации метаболита 25(OH) витамина D с вариантами полиморфизма гена VDR. У пациентов с низким содержанием метаболита при одноклеотидных заменах в этом гене VDR выявлена их связь с развитием инфарктов миокарда, онкологических заболеваний и переломов шейки бедра [15].

Известно, что кожа, печень и почки считаются основными органами, в которых происходит метаболизм витамина D, поэтому можно предположить, что вариативность содержания его метаболита у детей с АЗ сопряжена с аллергическим воспалением кожи. У наших пациентов также чаще встречался atopический дерматит, ассоциированный с пищевой аллергией.

Полученные данные позволяют сделать вывод о необходимости исследования 25(OH) D, ассоциированных с полиморфизмом гена VDR, до назначения профилактических или лечебных доз витамина D у детей с АЗ. Кроме того, представленные результаты создают предпосылки для разработки новых методов профилактики дефицита витамина D у детей с АЗ с учетом индивидуальных особенностей его метаболизма.

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 / References

1. Дедов И.И., Тюльпаков А.Н., Чехонин В.П., Баклушев В.П., Арчаков А.Н., Мошковский С.А. Персонализированная медицина: современное состояние и перспективы. *Вестник РАМН*. 2012;12:4–12. [Dedov II, Tyulpakov AN, Chekhonin VP, Baklushev VP, Archakov AN, Moshkovskij SA. Personalized medicine: Current state and prospects. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2012;12:4–12 (In Russ.).]
2. Ortiz RA, Barnes KC. Genetics of allergic diseases. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015;35(1):19–44.
3. Sullivan M, Silverberg NB. Current and emerging concepts in atopical dermatitis pathogenesis. *Clin Dermatol*. 2017;35(4):349–53.
4. Фрейдин М.Б., Пузырев В.П. Синтропные гены аллергических заболеваний. *Генетика*. 2010;46(2):255–61. [Frejдин MB, Puzyryov VP. Syntropic genes of allergic diseases. *Genetics*. 2010;46(2):255–61 (In Russ.).]
5. Lu H, Xie RD, Lin R, Zhang C, Xiao XJ, Li LJ, et al. Vitamin D-deficiency induces eosinophil spontaneous activation. *Cell Immunol*. 2017;322:56–63.
6. Muñoz Garcia A, Kutmon M, Eijssen L, Hewison M, Evelo CT, Coort SL. Pathway analysis of transcriptomic data shows immunometabolic effects of vitamin D. *Mol Endocrinol*. 2018;60(2):95–108.
7. Zhang C, Guo W, Cheng Y, Li Q, Yang X, Dai R, et al. Genetic analysis of pharmacogenomic VIP variants in the Blang population from Yunnan Province of China. *Mol Genet Genomic Med*. 2019;7:e574. doi: 10.1002/mgg3.574
8. Barry EL, Rees JR, Peacock JL, Mott LA, Amos CI, Bostick RM, et al. Genetic variants in CYP2R1, CYP24A1, and VDR modify the efficacy of vitamin D₃ supplementation for increasing serum 25-hydroxyvitamin D levels in a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014; 99(10):133–7.
9. Liu Y, Rui HB. Mutations of vitamin D receptor gene found in patients with multiple myeloma. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2017;39(2):121–6.
10. Taha IM, Allah AMA, El Tarhouny S. Association of vitamin D gene polymorphisms and bone mineral density in healthy young Saudi females. *Curr Mol Med*. 2019;19(3):196–205.
11. Barooah P, Saikia S, Bharadwaj R, Sarmah P, Bhattacharyya M, Goswami B, Medhi S. Role of VDR, GC, and CYP2R1 polymorphisms in the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus-infected patients. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2019;23(5):325–31.
12. Sun H, Long SR, Li X, Ge H, Liu X, Wang T, et al. Serum vitamin D deficiency and vitamin D receptor gene polymorphism are associated with increased risk of cardiovascular disease in a Chinese rural population. *Nutr Res*. 2019;61:13–21.
13. Миронова Ж.А. Молекулярно-генетические аспекты терапевтической резистентности у больных бронхиальной астмой: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2012. 24 с. [Mironova ZhA. Molecular genetic aspects of therapeutic resistance in patients with bronchial asthma. Thesis PhD. St. Petersburg; 2012. 24 p. (In Russ.).]
14. Miraglia Del Giudice M, Allegorico A. The role of vitamin D in allergic diseases in children. *J Clin Gastroenterol*. 2016; 50:S133–5.
15. Wysoczańska-Klaczynska A, Słczak A, Hetman M, Barg E. The impact of VDR gene polymorphisms on obesity, metabolic changes, bone mass disorders and neoplastic processes. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab*. 2018;24(2):96–105.