

<https://doi.org/10.34883/PI.2023.11.1.001>



Сенцова Т.Б. ✉, Ильенко Л.И.

Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Распределение аллелей и генотипов гена VDR у детей с аллергическими заболеваниями

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн статьи – Сенцова Т.Б.; анализ данных и написание текста – Сенцова Т.Б., Ильенко Л.И.; научное редактирование – Ильенко Л.И.

Подана: 09.02.2023

Принята: 20.02.2023

Контакты: bio45@inbox.ru

Резюме

Цель. Изучить частоту встречаемости полиморфизма гена рецептора витамина D (VDR) у детей с аллергическими заболеваниями.

Материалы и методы. В исследование включено 130 детей (66 мальчиков и 64 девочки) с аллергическими заболеваниями в возрасте от 1,5 года до 16 лет. Всем детям проводили общеклинические и аллергологические исследования. У 93 детей (71,5%) диагностировалась изолированная аллергопатология, в основном пищевая аллергия и атопический дерматит, у 37 детей (28,4%) – сочетанная (бронхиальная астма, крапивница, аллергический ринит и др.). Группу контроля составил 41 практически здоровый ребенок в возрасте от 1 года до 10 лет. Для выделения ДНК использовали набор «Проба-Рapid-Генетика» фирмы «ДНК-Технология» (Россия). 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 с помощью наборов для ДНК-диагностики фирмы «ДНК-технология» (Россия). Исследование метаболита 25-ОН (25-гидроксивитамин D2 и D3) витамина D осуществляли иммуноферментным методом.

Результаты. У детей выявлены достоверно повышенная частота встречаемости аллеля A в сайте BsmI гена VDR (OR=1,81, P=0,04) и носительство гомозиготного A/A, гетерозиготного G/A его генотипа (OR=2,03, P=0,05 и OR=1,8, P=0,05 соответственно), что дает возможность рассматривать его в качестве прогностического маркера, ассоциированного с риском развития аллергического заболевания. Установлено статистически значимое снижение концентрации 25-ОН витамина D (P=0,02) у детей при гетерозиготном варианте A/G и гомозиготном варианте G/G FokI гена VDR.

Заключение. Выявлены достоверные различия распределения частот генотипов и аллелей VDR гена у детей с аллергическими заболеваниями и в популяции. Представленные результаты создают предпосылки для разработки новых методов профилактики дефицита витамина D с учетом индивидуальных особенностей его метаболизма.

Ключевые слова: аллергические заболевания, ген, рецептор витамина D (VDR), аллели, полиморфизм, содержание 25-ОН витамина D

Tatyana B. Sentsova ✉, Lidia I. Ilyenko

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Distribution of Alleles and Genotypes of VDR Gene in Children with Allergic Diseases

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: article concept and design – Tatyana B. Sentsova; data analysis and text writing – Tatyana B. Sentsova, Lidia I. Ilyenko; scientific editing – Lidia I. Ilyenko.

Submitted: 09.02.2023

Accepted: 20.02.2023

Contacts: bio45@inbox.ru

Abstract

Purpose. To investigate the frequency of vitamin receptor gene D (VDR) polymorphism in children with allergic diseases.

Materials and methods. The study included 130 children (66 boys and 64 girls) with allergic diseases aged from 1.5 to 16 years. All children underwent clinical and allergological examinations. Isolated allergies were diagnosed in 93 children (71.5%), mainly food allergy and atopic dermatitis; and in 37 children (28.4%) combined allergies (bronchial asthma, urticaria, allergic rhinitis, etc.) were diagnosed. For DNA allotment, "Proba-Rapid Genetics" kit by "DNA-Technology" (Russia) was used. Polymorphic markers FokI (rs2228570), BsmI (rs 1544410), and TaqI (rs 731236) of the VDR gene were analyzed by real-time PCR using a DT-96 detection amplifier and DNA diagnostic kits by "DNA-Technology". 25-OH metabolite (25-hydroxyvitamin D2 and D3) of vitamin D assay was performed by ELISA commercial kit "DIAsource" (Belgium).

Results. Significantly increased frequency of A allele in BsmI site of VDR gene (OR=1.81, P=0.04) and carriage of homozygous A/A, heterozygous G/A of its genotype (OR=2.03, P=0.05 and OR=1.8, P=0.05 respectively) were revealed in children, suggesting possibility to consider it as a prognostic marker associated with the risk of allergic disease development. A statistically significant decrease in 25-OH vitamin D concentration (P=0.02) was established in children with heterozygous A/G variant and homozygous G/G FokI variant of VDR gene.

Conclusion. There were significant differences in frequencies of genotypes and alleles of VDR gene in children with allergic diseases in the population. These results create the preconditions for the development of new methods of prevention of vitamin D deficiency, taking into account the individual characteristics of its metabolism.

Significant differences in frequencies distribution of VDR gene genotypes and alleles in children with allergic diseases and in the population were revealed. The results presented create preconditions for developing new methods for vitamin D deficiency prevention, taking into account individual characteristics of its metabolism.

Keywords: allergic diseases, gene, vitamin D receptor (VDR), alleles, polymorphism, 25-OH vitamin D content

■ ВВЕДЕНИЕ

Согласно современным представлениям персонализированный подход к диагностике, диет- и фармакотерапии аллергических заболеваний у детей предусматривает проведение генетических исследований, позволяющих прогнозировать развитие и течение этих болезней, а также эффективность профилактических и лечебных мероприятий [1]. Исходя из полигенного характера предрасположенности к атопии, в многочисленных исследованиях были предприняты попытки выявления так называемых генов-кандидатов [2]. В основном они сводились к исследованию генов иммунной системы: лейкотриенов, ростовых факторов, цитокинов, IgE, хемокинов и др. [3]. Активное изучение генетической составляющей в этиологии аллергических болезней нашло свое отражение в исследовании генов главного комплекса гистосовместимости, а также и других генов, ответственных за общие звенья патогенеза [4]. В этой связи большой интерес исследователей вызывает ген рецептора витамина D (VDR), который кодирует внутриклеточный рецептор, способный связывать активные формы витамина D, опосредованно осуществляя дозозависимые иммунорегуляторные эффекты [5, 6]. Вариабельность биологических эффектов витамина D связана с наличием более 245 полиморфизмов, часть из которых обладает известными биологическими характеристиками, роль других в настоящее время не до конца изучена [7]. Полиморфные генетические варианты витамина D могут оказывать влияние на уровень такого метаболита, как 25(OH) D, а в ряде случаев рассматриваться в качестве маркера дефицита витамина D [8].

Поскольку рецептор витамина D широко представлен во многих клетках и тканях организма, в том числе и клетках иммунной системы (моноцитах, макрофагах, активированных лимфоцитах и др.), то в последние годы были предприняты многочисленные попытки изучения ассоциации полиморфизма гена VDR с развитием артериальной гипертонии, ХОБЛ, туберкулеза легких, раковых опухолей, болезни Паркинсона, остеопороза и др. [9–12]. Анализ публикаций показал, что выявление полиморфных вариантов генов VDR в основном проводилось у взрослых пациентов с бронхиальной астмой либо в популяционных выборках [13], что крайне затрудняет интерпретацию и использование полученных результатов в клинической практике.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение частоты встречаемости полиморфизма гена рецептора витамина D (VDR) у детей с аллергическими заболеваниями.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 130 детей (66 мальчиков и 64 девочки) с аллергическими заболеваниями в возрасте от 1,5 года до 16 лет, находившихся на лечении в отделении аллергологии Клиники ФГБНУ «НИИ питания». Всем детям проводили общеклинические и аллергологические исследования. У 93 детей (71,5%) диагностировалась изолированная аллергопатология, в основном пищевая аллергия и атопический дерматит, у 37 детей (28,4%) – сочетанная (бронхиальная астма, крапивница, аллергический ринит и др.). Группу контроля составил 41 практически здоровый ребенок в возрасте от 1 года до 10 лет, обратившийся в поликлинику Клиники НИИ питания с целью диспансерного осмотра.

Исследование метаболита 25-ОН (25-гидроксивитамин D2 и D3) витамина D осуществляли иммуноферментным методом коммерческими наборами «DIAsource» (Бельгия).

Для выделения ДНК использовали набор «Проба-Рapid-Генетика» фирмы «ДНК-Технология» (Россия). 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 с помощью наборов для ДНК-диагностики фирмы «ДНК-технология» (Россия).

Статистическая обработка данных выполнена с помощью электронных таблиц Microsoft Excel и пакета прикладных программ Statistica for Windows v. 6.0, Stat Soft Inc. (США), SPSS 13.0. Различия в частотах аллелей или генотипов выявляли с помощью метода χ^2 , для вычисления которого прибегали к построению таблиц «2×2» и «2×3» соответственно.

Различия в концентрации 25-ОН витамина D при различных полиморфных вариантах гена VDR оценивали, используя непарный t-тест Aspin-Welch, данные выражали как среднее (M) и ошибку среднего (m).

Исследование – открытое, проспективное, одобрено локальным комитетом по этике при ФГБНУ «НИИ питания» и соответствует принципам, изложенным в декларации Хельсинкского соглашения. Информированное согласие было получено от всех родителей детей либо опекунов.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении частоты встречаемости генотипов FokI, BsmI, TaqI VDR у больных детей и в контрольной группе были получены следующие результаты (табл. 1). У больных детей достоверно повышена частота встречаемости аллеля A в сайте BsmI гена VDR (OR=1,81, P=0,04) и носительства гомозиготного A/A, гетерозиготного G/A его генотипа (OR=2,03, P=0,05 и OR=1,8, P=0,05 соответственно), что дает возможность рассматривать его в качестве прогностического маркера, ассоциированного с риском развития аллергического заболевания. Как свидетельствуют клинические наблюдения, эту группу составили в основном дети с пищевой аллергией. При анализе частоты встречаемости полиморфного варианта FokI гена VDR у детей с аллергическими заболеваниями и у здоровых детей не выявлено различий как в отношении распределения аллелей, так и в отношении распределения генотипов (P=0,22, P=0,29). Аналогичные результаты были получены при исследовании полиморфного сайта TaqI гена VDR (P=0,08, P=0,06). Результаты статистического анализа продемонстрировали, что наиболее информативным маркером наследования у детей с аллергическими заболеваниями является аллель A против аллеля G в сайте BsmI гена VDR. Обращает на себя внимание тот факт, что у здоровых детей чаще обнаруживалось носительство мутантного гомозиготного генотипа G/G полиморфного сайта BsmI гена VDR, чем у больных детей (OR=0,39, P=0,05). Можно предположить, что носительство данного генотипа является протективным в отношении развития аллергических заболеваний. Представленные данные получены впервые. В предшествующих работах были предприняты попытки исследовать полиморфизм гена у взрослых с atopическим дерматитом [14], при этом была установлена большая частота встречаемости аллеля G в сайте BsmI гена VDR rs1544410), аллеля C в сайте Apal (rs7975232) и аллеля T в

Таблица 1

Распределение частот аллелей и генотипов гена VDR у детей с аллергическими заболеваниями и в контрольной группе

Table 1

Distribution of frequencies of alleles and genotypes of the VDR gene in children with allergic diseases and in the control group

Аллели, генотипы	Частоты аллелей и генотипов		OR [95% CI]	p
	Дети с аллергическими заболеваниями (n=130)	Контрольная группа (n=41)		
	FokI (rs2228570) A>G			
Аллель A	0,460	0,378	1,40 [0,82–2,39]	0,22
Аллель G	0,540	0,622	0,71 [0,42–1,22]	0,22
Генотип A/A	0,241	0,122	2,29 [0,8–6,59]	0,29
Генотип G/A	0,437	0,512	0,74 [0,35–1,56]	0,29
Генотип G/G	0,322	0,366	0,82 [0,38–1,78]	0,29
	BsmI (rs1544410) A>G			
Аллель A	0,443	0,305	1,81 [1,04–3,16]	0,04
Аллель G	0,557	0,695	0,55 [0,32–0,96]	0,04
Генотип A/A	0,138	0,073	2,03 [0,54–7,62]	0,05
Генотип G/A	0,609	0,463	1,80 [0,85–3,82]	0,05
Генотип G/G	0,253	0,463	0,39 [0,18–0,86]	0,05
	TaqI (rs731236) T>C			
Аллель T	0,569	0,451	1,61 [0,95–2,72]	0,08
Аллель C	0,431	0,549	0,62 [0,37–1,06]	0,08
Генотип T/T	0,276	0,220	1,35 [0,56–3,25]	0,06
Генотип C/T	0,576	0,463	1,64 [0,78–3,46]	0,06
Генотип C/C	0,138	0,317	0,34 [0,14–0,84]	0,06

Таблица 2

Концентрация 25-ОН витамина D в сыворотке крови у детей с аллергическими заболеваниями при различных полиморфных вариантах гена VDR (непарный t-тест Aspin-Welch, M±m)

Table 2

Serum concentration of 25-OH vitamin D in children with allergic diseases with various polymorphic variants of the VDR gene (unpaired Aspin-Welch t-test, M±m)

Сайт гена VDR	Генотип	25-ОН витамин D, ng/ml	p
FokI	гомозигота A/A	40,25±1,898	0,02
	гомо- и гетерозиготы A/G+G/G	32,95±2,118	
BsmI	гомозигота A/A	37,50±4,23	0,36
	гомо- и гетерозиготы A/G+G/G	33,44±2,00	
TaqI	гомозигота C/C	33,27±2,75	0,41
	гомо- и гетерозиготы C/C+T/T	35,54±3,61	

сайте TaqI (rs731236) у этих пациентов. Авторы предполагают, что данные сайты гена VDR отвечают за развитие атопического дерматита путем регуляции эпителиального барьера и/или местного иммунного ответа.

Анализируя данные содержания 25-ОН витамина D, обращает на себя внимание статистически значимое снижение его ($P=0,02$) концентрации у детей при гетерозиготном варианте A/G и гомозиготном варианте G/G FokI гена VDR (табл. 2). Несмотря на то, что уровень этого метаболита не достигал значений дефицита (<20 ng/ml),

полученные результаты можно использовать для подбора индивидуальных доз витамина D при обязательном мониторинге концентрации данного метаболита. Исследования взаимосвязи концентрации 25-ОН витамина D с вариантами полиморфизма гена VDR проводились различными авторами [15, 16]. В частности, 11-летнее наблюдение за пациентами с низким уровнем 25-ОН витамина D при одонуклеотидных заменах в гене VDR выявило их связь с развитием инфарктов, онкологических заболеваний и переломами шейки бедра. Кроме того, анализ собственных клинических данных показал преимущественное развитие атопического дерматита в этой группе детей. Так как кожа, печень и почки являются основными органами, в которых происходит метаболизм витамина D, то можно предположить, что вариабельность содержания 25-ОН витамина D сопряжена с аллергическим воспалением кожи. Полученные данные позволяют сделать вывод о необходимости исследования метаболитов витамина D при проведении дополнительной терапии путем включения его в рацион питания детей с аллергическими заболеваниями, ассоциированными с полиморфизмом гена VDR.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлены достоверные различия распределения частот генотипов и аллелей гена VDR у детей с аллергическими заболеваниями и в популяции. У больных детей достоверно повышена частота встречаемости аллеля A в сайте BsmI гена VDR и носительство гомозиготного A/A и гетерозиготного G/A его генотипа. Проведенное исследование позволяет расширить представление о генетических ассоциациях и выработать критерии риска развития аллергических заболеваний. Кроме того, представленные результаты создают предпосылки для разработки новых методов профилактики дефицита витамина D с учетом индивидуальных особенностей его метаболизма.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Dedov I.L., Tyulpakov A.N., Chekhonin V.P. at al. Personalized medicine: current state and prospects. *Vestnik RAMN*, 2012;12:4–12. (in Russian)
2. Ortiz R.A., Barnes K.C. Genetics of allergic diseases. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015;35(1):19–44.
3. Yucesoy B., Kashon V.L., Johnson V.J., at al. Genetic variants in TNF α , TGF β 1, PTGS1 and PTGS2 genes are associated with disocyanate-induced asthma. *J Immunotoxicol*. 2015;27:1–8.
4. Bishop E., Ismailova A., Dimeloe S., at al. Vitamin D and Immune Regulation: Antibacterial, Antiviral, Anti-Inflammatory. *JBMR Plus*. 2020 Sep 15;5(1):e10405. doi: 10.1002/jbm4.10405. eCollection 2021 Jan. PMID: 32904944
5. Saccone D., Asani F., Bornman L. Regulation of the vitamin D receptor gene by environment, genetics and epigenetics. *Gene*, 2015, 13 pii: S0378-1119 (15) 00159-6.
6. Gruber B.M. The phenomenon of vitamin D. *Postery Hig Med Dosw*. 2015;69(0):127–39.
7. Bunyavanich S., Schadt E.E. Systems biology of asthma and allergic diseases: a multiscale approach. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(1):31–42.
8. Barry E.L., Rees J.R., Peacock J.L., Mott L.A., at 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): 33–7.
9. Gnagnarella P., Pasquali E., Serrano D., Raimondi S., at al. Vitamin D polymorphism and cancer risk: a comprehensive meta-analysis. *Carcinogenesis*, 2014;35(9):1.
10. Dimitrov V., White J.H. Species-specific regulation of innate immunity by vitamin D signaling. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016;164:246–253. doi:10.1016/j.jsbmb.2015.09.016.
11. Liu Z., Liu L., Chen X., He W., Yu X. Associations study of vitamin D receptor gene polymorphisms with diabetic microvascular complication: a meta-analysis. *Gene*, 2014;546(1):6–10.
12. Wobke T.K., Sorg B.L., Steinhilber D. Vitamin D in inflammatory diseases. *Front Physiol*. 2014;5:244–256.
13. Mailhot G., White J.H. Vitamin D and Immunity in Infants and Children. *Nutrients*. 2020;12(5):1233. doi:10.3390/nu12051233.
14. Lacerda de Lucena L., Silva A.S., Nascimento RAFD, at al. Relationship between BsmI polymorphism and VDR gene methylation profile, gender, metabolic profile, oxidative stress, and inflammation in adolescents. *Nutr Hosp*. 2021 Oct 13;38(5):911–918. English. doi: 10.20960/nh.03383.
15. Levin G.P., Robinson-Cohen C., de Boer I.H., Houston D.K., at al. Genetic variants and associations of 25-hydroxyvitamin D concentrations with major clinical outcomes. *JAMA*. 2012 Nov 14;308(18):1898–905. doi:10.1001/jama.2012.17304.
16. Ou Y., Jiang X., Guan H. Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and Risk of Atopic Dermatitis in Chinese Han Population. *Int J Gen Med*. 2021 Sep 7;14:5301–5312. doi:10.2147/IJGM.S326477.