



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ АЛЛЕРГОЛОГОВ И КЛИНИЧЕСКИХ ИММУНОЛОГОВ

# РОССИЙСКИЙ АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ № 2, 2016

**В номере:**

- **Астма, индуцированная физическим усилием**
- **Имунопатогенез бронхиальной астмы**
- **Эозинофильный эзофагит и аллергический ринит — коморбидные заболевания**
- **Крапивница: клинические случаи**



ФАРМАРУС ПРИНТ МЕДИА

[www.rusalljournal.ru](http://www.rusalljournal.ru)

# ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА VDR У ДЕТЕЙ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Т.Б. Сенцова<sup>1</sup>, И.В. Ворожко<sup>1</sup>, О.О. Черняк<sup>1</sup>, В.А. Ревякина<sup>1</sup>, А.Г. Тимофеева<sup>1</sup>,  
В.А. Мухортых<sup>1</sup>, А.Е. Донников<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт питания», г. Москва

<sup>2</sup> ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, г. Москва

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

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

**Материалы и методы.** В исследование включены 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 (71,5%) детей диагностировалась изолированная аллергопатология, в основном пищевая аллергия и атопический дерматит, у 37 (28,4%) детей — 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 наборами для ДНК-диагностики фирмы «ДНК-технология» (Россия). Исследование метаболита 25-ОН (25-гидроксивитамин D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>) витамина D осуществляли иммуноферментным методом коммерческими наборами «DIASource» (Бельгия).

**Результаты.** У детей выявлена 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.

## Введение

Согласно современным представлениям, персонализированный подход к диагностике, диетотерапии 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 предрасполо-

женности 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

*Адрес для корреспонденции*

Т.Б. Сенцова

E-mail: bio45@inbox.ru

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 гипертензии, ХОБЛ, туберкулеза легких, раковых опухолей, болезни Паркинсона, остеопороза и др. [9–12]. Анализ публикаций показал, что выявление полиморфных вариантов генов VDR проводилось в основном у взрослых пациентов с бронхиальной астмой либо в популяционных выборках [13], что крайне затрудняет интерпретацию и использование полученных результатов в клинической практике.

**Целью исследования** явилось изучение частоты встречаемости полиморфизма гена рецептора витамина D (VDR) у детей с аллергическими заболеваниями.

**Материалы и методы.** Обследованы 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 (71,5%) детей диагностировалась изолированная алергопатология, в основном пищевая аллергия и атопический дерматит, у 37 (28,4%) детей – 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 D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>) витамина D осуществляли иммуноферментным методом коммерческими наборами «DIAsource» (Бельгия).

Для выделения ДНК использовали набор «Проба-Рапид-Генетика» фирмы «ДНК-Технология» (Россия). 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 наборами для ДНК-диагностики фирмы «ДНК-технология» (Россия).

Статистическая обработка данных выполнена с использованием 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 методом  $\chi^2$ , 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 являлось открытым, проспективным, было одобрено локальным комитетом по этике при ФГБНУ «НИИ питания» и соответствует принципам, изложенным в декларации Хельсинского соглашения. Информированное согласие было получено от всех родителей детей либо опекунов.

**Результаты и обсуждение.** При изучении частоты встречаемости генотипов FokI, BsmI, TagI VDR у больных детей и в контрольной группе были получены следующие результаты (табл. 1). У больных детей достоверно повышена частота встречаемости аллеля А в сайте BsmI гена VDR (OR=1,81, p=0,04) и носительство гомозиготного А/А, 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 в основном составили 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 TagI гена VDR (p=0,08, p=0,06). Результаты статистического анализа продемонстрировали, что наиболее информативным маркером наследования у детей с аллергическими заболеваниями является аллель А 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 атопическим дерматитом [14], при этом была установлена большая частота встречаемости аллеля G в сайте BsmI гена VDR (rs1544410), аллеля С в сайте ApaI (rs7975232) и аллеля Т в сайте TaqI (rs731236) у этих больных.

**Таблица 1. Распределение частот аллелей и генотипов гена VDR у детей с аллергическими заболеваниями и в контрольной группе**

Аллели, генотипы	Частоты аллелей и генотипов		OR [95% CI]	p
	Дети с аллергическими заболеваниями (n=130)	Контрольная группа (n=41)		
<b>FokI (rs2228570) A&gt;G</b>				
Аллель А	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 А/А	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
<b>BsmI (rs1544410) A&gt;G</b>				
Аллель А	0,443	0,305	1,81 [1,04–3,16]	<b>0,04</b>
Аллель G	0,557	0,695	0,55 [0,32–0,96]	<b>0,04</b>
Генотип А/А	0,138	0,073	2,03 [0,54–7,62]	<b>0,05</b>
Генотип G/A	0,609	0,463	1,80 [0,85–3,82]	<b>0,05</b>
Генотип G/G	0,253	0,463	0,39 [0,18–0,86]	<b>0,05</b>
<b>TaqI (rs731236) T&gt;C</b>				
Аллель Т	0,569	0,451	1,61 [0,95–2,72]	0,08
Аллель С	0,431	0,549	0,62 [0,37–1,06]	0,08
Генотип Т/Т	0,276	0,220	1,35 [0,56–3,25]	0,06
Генотип С/Т	0,576	0,463	1,64 [0,78–3,46]	0,06
Генотип С/С	0,138	0,317	0,34 [0,14–0,84]	0,06

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), и хотя уровень этого метаболита не достигал значений дефицита ( $<20$  ng/ml), полученные результаты

**Таблица 2. Концентрация 25-ОН-витамина D в сыворотке крови детей с аллергическими заболеваниями при различных полиморфных вариантах гена VDR (непарный t-тест *Aspin-Welch*,  $M \pm m$ )**

Сайт гена VDR	Генотип	25-ОН-вита-мин D, ng/mL	p
FokI	Гомозигота А/А	40,25±1,898	<b>0,02</b>
	Гомо- и гетерозиготы А/А+G/G	32,95±2,118	
BsmI	Гомозигота А/А	37,50±4,23	0,36
	Гомо- и гетерозиготы А/А+G/G	33,44±2,00	
TaqI	Гомозигота С/С	33,27±2,75	0,41
	Гомо- и гетерозиготы С/С+Т/Т	35,54±3,61	

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]. В частности, 11-летнее наблюдение за пациентами с низким уровнем 25-ОН витамина D при однонуклеотидных 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, ассоциированных с полиморфизмом гена VDR.

Таким образом, 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 А 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

1. Дедов И.И., Тюльпаков А.Н., Чехонин В.П. и соавт. Персонализированная медицина: современное состояние и перспективы. Вестн. РАМН. 2012, № 12, с. 4-12.
2. Ortiz R.A., Barnes K.C. Genetics of allergic diseases. Immunol. Allergy Clin. North Am. 2015, v. 35, p. 19-44.
3. Yucesoy B., Kashon V.L., Johnson V.J. et al. Genetic variants in TNF $\alpha$ , TGFB1, PTGS1 and PTGS2 genes are associated with disocyanate-induced asthma. J. Immunotoxicol. 2015, v. 27, p. 1-8.
4. Фрейдин М.Б., Пузырёв В.П. Синтропные гены аллергических заболеваний. Генетика. 2010, № 2, с. 255-261.
5. Saccone D., Asani F., Bornman L. Regulation of the vitamin D receptor gene by environment, genetics and epigenetics. Gene. 2015, v. 561, p. 171-180.
6. Gruber B.M. The phenomenon of vitamin D. Postery Hig Med. Dosw. 2015, v. 69, p. 127-139.
7. Bunyavanich S., Schadt E.E. Systems biology of asthma and allergic diseases: a multiscale approach. J. Allergy Clin. Immunol. 2015, v. 135, p. 31-42.

8. Barry E.L., Rees J.R., Peacock J.L. et al. Genetic variants in CYP2R1, CYP24A1, and VDR modify the efficacy of vitamin D<sub>3</sub> supplementation for increasing serum 25-hydroxyvitamin D levels in a randomized controlled trial. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2014, v. 99, p. 133-137.
9. Gnagnarella P., Pasquali E., Serrano D. et al. Vitamin D polymorphism and cancer risk: a comprehensive meta-analysis. Carcinogenesis. 2014, v. 35, p. 1913-1919.
10. Taiouri L., Ovcarić M., Curtain R. et al. Variation in the vitamin D receptor gene is associated with multiple sclerosis in Australian population. J. Neurogenet. 2005, v. 19, p. 25-38.
11. Liu Z., Liu L., Chen X. et al. Associations study of vitamin D receptor gene polymorphisms with diabetic microvascular complication: a meta-analysis. Gene. 2014, v. 546, p. 6-10.
12. Wobke T.K., Sorg B.L., Steinhilber D. Vitamin D in inflammatory diseases. Front Physiol. 2014, v. 5, p. 244-256.
13. Миронова Ж.А. Молекулярно-генетические аспекты терапевтической резистентности у больных бронхиальной астмой. Автореферат диссертации д-ра мед. наук. СПб., 2012, 24 с.
14. Heine G., Hoefler N., Franke A. et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with severe atopic dermatitis in adults. Br. J. Dermatol. 2013, v. 168, p. 855-858.
15. Levin G.P., Robinson-Cohen C., de Boer Ian H. et al. Genetic Variants and Associations of 25-Hydroxyvitamin D Concentrations With Major Clinical Outcomes. Vitamin D Concentrations and Clinical Outcomes. JAMA. The Journal of the American Medical Association. 2012, v. 308, p. 1898-1905.

Статья поступила 15.02.2016 г., принята к печати 24.03.2016 г.  
Рекомендована к публикации Л.В. Лусс

## VDR GENE POLYMORPHISM IN CHILDREN WITH ALLERGIC DISEASES

Sentsova T.B.<sup>1</sup>, Vorozhko I.V.<sup>1</sup>, Chernyak O.O.<sup>1</sup>, Revyakina V.A.<sup>1</sup>, Timofeeva A.G.<sup>1</sup>, Mukhortyh V.A.<sup>1</sup>, Donnikov A.E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Scientific Research Institute of Nutrition, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Scientific Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after academician V.I. Kulakov, Moscow, Russia

**Key words:** allergic disease, gene, receptor of vitamin D (VDR), allele polymorphism, of 25-OH-vitamin D

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

**Materials and methods.** We enrolled 130 children (66 boys and 64 girls) with allergic diseases aged from 1,5 to 16 years old. All children underwent clinical and allergological examination. 93 children (71,5%) had isolated allergy, mainly food allergy and atopic dermatitis, 37 children (28,4%) had bronchial asthma, associated with allergic rhinitis and urticaria. The control group included 41 healthy children aged from 1 to 10 years old. For DNA allotment the kit «ProbaRapid Genetics» of «DNA Technology» (Russia) was used. Analysis of polymorphic marker FokI (rs 2228570), BsmI (rs 1544410) and TaqI (rs 731236) of VDR gene was performed by PCR in real time using the detecting thermocycler DT-96, and kits for DNA diagnostics company «DNA technology» (Russia). Research metabolite 25-OH (25-hydroxyvitamin D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub>) of vitamin D was carried out by ELISA commercial kit «DIAsource» (Belgium).

**Results.** Significantly increased frequency of allele A in the VDR gene BsmI site (OR=1,81, p=0,04) and homozygous A/A, heterozygous G/A genotype (OR=2,03, p=0,05 and OR=1,8, p=0,05, respectively) was found, that enables to consider it as a prognostic marker associated with the development of allergic disease risk. Statistically significant reduction in the concentration of 25-OH-vitamin D (p=0,02) in children with the heterozygous variant A/G and homozygous G/G in Fok1 VDR gene was found.

**Conclusion.** There were significant differences in frequencies of genotypes and alleles of DVR 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.