

Величко В.И., Пичугина Ю.А., Бажора Я.И.

Одесский национальный медицинский университет, г. Одесса, Украина

## Связь полиморфизма гена VDR с уровнем витамина D у детей с бронхиальной астмой на фоне избыточной массы тела или ожирения

**Резюме. Цель:** изучить частоту полиморфизма гена VDR у детей с бронхиальной астмой и установить корреляционные связи с уровнем витамина D, кальция и клиническими проявлениями заболевания у детей. **Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 42 ребенка с бронхиальной астмой средней или тяжелой степени, которые пребывали на учете в Одесском городском аллергологическом центре. Средний возраст детей составил  $7,6 \pm 1,3$  года. В группу контроля вошло 20 здоровых детей без какой-либо соматической патологии на фоне гармоничного физического развития, средний возраст  $7,34 \pm 0,36$  года. **Результаты.** Изучение полиморфизма гена VDR у детей с бронхиальной астмой показало наличие мутаций или гетерозиготного типа наследования у большинства детей с данной патологией, мутация была выявлена у 64,3 % обследованных, у 28,5 % больных выявлен гетерозиготный тип наследования, 7,2 % имели нормальное распределение генов. В группе контроля мутации обнаружены не были, только у 10 % здоровых детей выявлен гетерозиготный тип наследования, 90 % обследованных имели нормальное распределение генов. Также установлена статистически значимая связь между наличием полиморфизма гена VDR и уровнем витамина D. Дети, имеющие мутацию VDR, и дети, у которых был выявлен гетерозиготный тип наследования, имели достоверно более низкий уровень витамина D<sub>3</sub> в сыворотке крови ( $12,10 \pm 0,67$  нг/мл и  $13,53 \pm 0,26$  нг/мл соответственно), чем дети с нормальным распределением генов ( $32,17 \pm 1,05$  нг/мл),  $p < 0,01$  для обеих совокупностей. Критерий Пирсона показывает, что связь между факторным и результативным признаками статистически значима,  $p < 0,01$ , критерий  $\chi^2 = 9,21$ . **Выводы.** Изучение полиморфизма гена VDR у детей с бронхиальной астмой показало наличие мутаций или гетерозиготного типа наследования у большинства детей с данной патологией. При этом установлена статистически значимая связь между наличием полиморфизма гена VDR и уровнем витамина D.

**Ключевые слова:** витамин D; VDR; ожирение; дети; бронхиальная астма

### Введение

Бронхиальная астма (БА), как и ожирение, является сложной, комплексной патологией, на реализацию которой влияют экологические и генетические факторы. Врожденные и адаптивные механизмы играют важную роль в патогенезе этих заболеваний. Многие гены, участвующие в процессах воспаления и иммунорегуляции, связаны с БА и ожирением. Роль витамина D в генезе аллергических реакций широко исследована за последние годы. В частности, широкомасштабные исследования показали положительную связь между дефицитом витамина D и уровнем астма-контроля, а также выраженностью атопии у детей [2–4, 6, 7, 9–11].

Витамин D является важным модулятором ответа иммунной системы и может влиять на развитие

БА и восприимчивости к аллергии через различные механизмы [12].

Иммунотропные эффекты витамина D реализуются при помощи его активной формы — кальцитриола, или 1,25-дигидроксивитамина D<sub>3</sub> — 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Кальцитриол, проникая в ядро клетки, связывается со своим ядерным рецептором, который кодируется геном рецептора витамина D (VDR).

Рецептор принадлежит к семейству трансактивных регуляторных факторов транскрипции и имеет сходство с рецепторами стероидных и тиреоидных гормонов. Ген VDR находится в 12-й хромосоме, в области, которую принято считать связанной с астмой. Этот рецептор локализуется как в клетках дыхательного эпителия, так и в клетках гладкой

мускулатуры бронхов. Тут же происходит и последующий метаболизм кальцитриола. При входе в клетку он связывается с VDR и образует активный комплекс, который транслоцируется в ядро. Комплекс «гормон — рецептор» реализует свой эффект через систему транскрипционных факторов или непосредственно связываясь с функционально активными участками генов, в результате чего становится способен подавлять созревание дендритных клеток [9], экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса, блокировать синтез молекул костимуляции и провоспалительных цитокинов. Показана роль кальцитриола в поддержании баланса Т-лимфоцитов и формировании толерантности за счет увеличения числа Т-регуляторных лимфоцитов, стимуляции апоптоза активированных В-лимфоцитов, что приводит к уменьшению синтеза аутоантител.

Рецепторы витамина D<sub>3</sub> находятся также и на тучных клетках, они информируют эти клетки о том, должны ли они сжигать жир или необходимо запастись жиром. Данный механизм реализуется уровнем витамина D<sub>3</sub> в организме. В клетках головного мозга, контролирующих обмен веществ, чувство голода и насыщения, также присутствуют рецепторы витамина D<sub>3</sub>. Когда количество витамина D в крови уменьшается, функциональные способности этих клеток ослабевают, и это может привести к пропаданию сигнала о наступлении сытости во время приема пищи.

Для изучения механизмов, лежащих в основе комплекса витамина «гормон — рецептор» в патогенезе ожирения, были выполнены генетические и иммунологические анализы у людей с избыточной массой тела (избМТ) и с гармоничным физическим развитием (гармФР), без других сопутствующих хронических заболеваний. Результаты показали, что полиморфизмы VDR коррелируют с развитием ожирения. Кроме того, можно выделить гаплотипы VDR GTA, которые связаны со статистическим увеличением риска более высокого уровня индекса массы тела (ИМТ) — rs731236(G), rs1544410(T), rs7975232 (A) [5]. Эти же гаплотипы связаны с БА и уровнем астма-контроля [8].

Понимание патогенетических связей реализации генных механизмов, лежащих в основе развития БА и избМТ или ожирения, могло бы способствовать идентификации новых терапевтических стратегий.

**Цель исследования:** изучить частоту полиморфизма гена VDR у детей с бронхиальной астмой на фоне избМТ или ожирения и установить корреляционные связи с уровнем витамина D<sub>3</sub>.

## Материалы и методы

В исследовании приняли участие 42 ребенка с БА средней и тяжелой степени, которые находились на диспансерном учете в Одесском городском аллергологическом центре. Средний возраст детей

составил  $7,6 \pm 1,3$  года, мальчиков было 20, девочек — 22. Методом простой рандомизации была сформирована основная группа из 22 детей с БА на фоне избМТ или ожирения. Группу сравнения составили 20 детей с БА и гармФР. В группу контроля вошло 20 здоровых детей без какой-либо соматической патологии на фоне гармФР. Тяжесть БА и степень контроля заболевания оценивалась согласно критериям Глобальной инициативы по бронхиальной астме 2015 (GINA) и приказу МЗ Украины № 868.

Всем больным был проведен единый комплекс диагностических исследований: общее физикальное обследование; определение индекса массы тела (ИМТ), импедансометрия тела (определение процентного содержания жира в организме), определение уровня гидроксиколекальциферола в крови (витамин D<sub>3</sub>), определение ионизированного кальция крови, наличия полиморфизма гена VDR. Исключались пациенты, которые употребляли витамин D или кальций. Уровни 25(OH)D и ионизированного кальция в сыворотке крови определялись с помощью иммуноферментного анализа. Забор крови производился в осенне-зимний период. Согласно международным рекомендациям, уровень витамина D  $\geq 30$  нг/мл расценивался нами как достаточное потребление, 29–20 нг/мл — недостаточное потребление,  $\leq 20$  нг/мл — дефицит, референтный интервал для Ca составил 1,16–1,32 ммоль/л.

Определение BsmI полиморфизма гена VDR (rs1544410) проводили в буккальном соскобе. Препараты мазков буккального эпителия готовились согласно рекомендациям лаборатории молекулярно-генетических исследований «Гермедтех». Все анализы были проведены с 8.00 до 10.00, натошак.

Перед началом исследования все участники подписали письменное информированное согласие на участие.

Полученные результаты обрабатывались при помощи пакета программ Statistica 10.

После проверки гипотезы на нормальность распределения использовались методы вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента,  $\chi^2$ -критерия Пирсона. Статистически достоверными считались различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

У детей основной группы ИМТ составил  $21,00 \pm 1,34$  кг/м<sup>2</sup>, а процент жира в организме —  $31,09 \pm 2,64$  %. В группе сравнения ИМТ детей составил  $21,10 \pm 1,04$  кг/м<sup>2</sup>, процент жира в организме —  $30,15 \pm 2,55$  %. В группе контроля ИМТ составил  $16,80 \pm 0,22$  кг/м<sup>2</sup> ( $p < 0,05$  для основной группы и  $p < 0,05$  для группы сравнения), процент жира в организме —  $14,5 \pm 0,5$  % ( $p < 0,05$  для основной группы и  $p < 0,05$  для группы сравнения).

Из обследуемых детей основной группы 7 имели среднюю степень тяжести БА, 15 — тяжелое течение, в группе сравнения 7 детей имели среднюю

**Таблица 1. Уровень витамина D<sub>3</sub> и Са сыворотки крови у обследуемых детей**

Группа	Уровень витамина D <sub>3</sub> , нг/мл	Уровень Са, ммоль/л
Основная группа	12,50 ± 0,85	1,31 ± 0,01
Группа сравнения	12,50 ± 0,74	1,31 ± 0,01
Группа контроля	32,53 ± 1,52 p <sub>о-к</sub> < 0,01 p <sub>с-к</sub> < 0,01	1,27 ± 0,01 p <sub>о-к</sub> > 0,05 p <sub>с-к</sub> > 0,05

**Таблица 2. Частота встречаемости полиморфизма VDR**

Полиморфизм	БА, %	Здоровые, %	P для частоты встречаемости	Уровень витамина D <sub>3</sub> , нг/мл	P для уровня витамина D <sub>3</sub>
Т/Т	64,3	0	p < 0,01	12,1 ± 0,67	
С/Т	28,5	10	p < 0,05	13,53 ± 0,26	P <sub>Т/Т-С/Т</sub> > 0,05
С/С	7,2	90	p < 0,01	32,17 ± 1,05	P <sub>С/Т-С/С</sub> < 0,01 P <sub>Т/Т-С/С</sub> < 0,01

степень тяжести БА и 13 — тяжелую. То есть группы были однородны по основным показателям.

Ни у кого из обследуемых детей когорты не было выявлено другой сопутствующей патологии.

Уровень витамина D<sub>3</sub> и Са сыворотки крови отображен в табл. 1.

Как видно из табл. 1, уровень ионизированного кальция был выше у детей с дефицитом витамина D<sub>3</sub>, p > 0,05. В табл. 2 приведены данные о частоте встречаемости полиморфизма VDR и связи полиморфизма и уровня витамина D<sub>3</sub>.

Из 42 детей когорты 92,8 % имели полиморфизм гена VDR. Причем мутация гена (VDR rs1544410) Т/Т была выявлена у 64,3 % обследованных, у 28,5 % больных выявлен гетерозиготный тип наследования С/Т, 7,2 % имели нормальное распределение генов. В группе контроля мутации выявлены не были, только у 10 % здоровых детей обнаружен гетерозиготный тип наследования С/Т, 90 % обследованных имели нормальное распределение генов. Связь статистически значима, уровень значимости p < 0,01.

Дети, имеющие мутацию VDR, и дети, у которых был выявлен гетерозиготный тип наследования, имели достоверно более низкий уровень витамина D<sub>3</sub> в сыворотке крови — 12,10 ± 0,67 нг/мл и 13,53 ± 0,26 нг/мл соответственно, чем дети с нормальным распределением генов 32,17 ± 1,05 нг/мл, p < 0,01 для обеих совокупностей. Критерий Пирсона показывает, что связь между факторным и резульативным признаками статистически значима, p < 0,01, χ<sup>2</sup>-критерий = 9,21.

**Выводы**

Изучение полиморфизма гена VDR у детей с бронхиальной астмой показало наличие мутаций или гетерозиготного типа наследования у большинства лиц с данной патологией. При этом установлена статистически значимая связь между наличием полиморфизма гена VDR и уровнем ви-

тамина D, а также между наличием полиморфизма гена VDR и клиническими проявлениями заболевания у детей.

**Перспективы дальнейших научных исследований:** проводится коррекция дефицитного состояния под лабораторным контролем.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии какого-либо конфликта интересов при подготовке данной статьи.

**Список литературы**

1. Al-Daghri N. Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms Are Associated with Obesity and Inflammation Activity / Guerini F., Al-Attas O., Alokail M., Alkharfy K. // PLoS ONE. — 2014. — № 9 (7).
2. Bener A. Vitamin D Deficiency as a Strong Predictor of Asthma in Children. / Ehlayel M., Tulic M. and Hamid Q. // International Archives of Allergy and Immunology. — 2012. — № 157 (2). — P. 168-175.
3. Brehm J. Vitamin D Insufficiency and Severe Asthma Exacerbations in Puerto Rican Children / Acosta-Pérez E., Klei L., Roeder K., Barmada M., Boutaoui N., Forno E. // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. — 2012. — № 186 (2). — P. 140-146.
4. Checkley W. 25-hydroxy vitamin D levels are associated with childhood asthma in a population-based study in Peru. / Robinson C., Baumann L., Hansel N. // Clinical & Experimental Allergy. — 2014. — № 45 (1). — P. 273-282.
5. Habib S.S. Body mass index and body fat percentage in assessment of obesity prevalence in saudi adults // Biomed. Environ. Sci. — 2013. — № 26 (2). — P. 94-99.
6. Hollams E. Vitamin D and atopy and asthma phenotypes in children: a longitudinal cohort study / Hart P., Holt B., Serralha M., Parsons F. // European Respiratory Journal. — 2011. — № 38 (6). — P. 1320-1327.
7. Kolokotroni O. Vitamin D levels and status amongst asthmatic and non-asthmatic adolescents in Cyprus: a comparative cross-sectional study / Kolokotroni O. Papadopou-

lou A., Middleton N., Kouta C. // *BMC Public Health*. — 2015. — № 15 (1).

8. Nasser M. Al-Daghri. *Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms Are Associated with Obesity and Inflammation* / Franca R. Guerini, Omar S. Al-Attas // *Activity PLoS One*. — 2014. — № 9 (7).

9. Niruban S. *Association of vitamin D with respiratory outcomes in Canadian children* / Alagiakrishnan K., Beach J. and Senthilselvan A. // *European Journal of Clinical Nutrition*. — 2014. — № 68 (12). — P. 1334-1340.

10. Uysalol M. *Childhood asthma and vitamin D deficiency in Turkey: is there cause and effect relationship be-*

*tween them?* / Mutlu L., Saracoglu G., Karasu E. // *Italian Journal of Pediatrics*. — 2013. — № 39 (1). — P. 78.

11. Van Oeffelen A. *Serum micronutrient concentrations and childhood asthma: the PIAMA birth cohort study* / Bekkers M., Smit H., Kerkhof M., Koppelman G. // *Pediatric Allergy and Immunology*. — 2011. — № 22 (8). — P. 784-793.

12. Morales E. *Vitamin D Metabolism Genes in Asthma and Atopy* / Sanchez-Solis M., Garcia-Marcos L. // *Mini Rev. Med. Chem*. — 2015. — № 15 (11). — P. 913-926.

Получено 16.11.2017 ■

Величко В.І., Пічугіна Ю.А., Бажора Я.І.

Одеський національний медичний університет, м. Одеса, Україна

### Зв'язок поліморфізму гена VDR з рівнем вітаміну D у дітей із бронхіальною астмою на фоні надлишкової маси тіла або ожиріння

**Резюме. Мета:** вивчити частоту поліморфізму гена VDR у дітей із бронхіальною астмою та встановити кореляційні зв'язки з рівнем вітаміну D, кальцію й клінічними проявами захворювання в дітей. **Матеріали та методи.** У дослідженні взяли участь 42 дітини з бронхіальною астмою середнього або важкого ступеня, які перебували на обліку в Одеському міському алергологічному центрі. Середній вік дітей становив  $7,6 \pm 1,3$  року. До групи контролю увійшло 20 здорових дітей без будь-якої соматичної патології на фоні гармонійного фізичного розвитку, середній вік становив  $7,34 \pm 0,36$  року. **Результати.** Вивчення поліморфізму гена VDR у дітей із бронхіальною астмою показало наявність мутацій або гетерозиготного типу успадкування в більшості дітей із даною патологією, мутація була виявлена у 64,3 % обстежених, у 28,5 % хворих виявлено гетерозиготний тип спадкування, 7,2 % мали нормальний розподіл генів. У групі контролю мутації виявлені не були, тільки у 10 % здорових дітей виявлено гетерозиготний тип успадкування, 90 %

обстежених мали нормальний розподіл генів. Також встановлений статистично значущий зв'язок між наявністю поліморфізму гена VDR і рівнем вітаміну D. Діти, що мають мутацію VDR, і діти, у яких був виявлений гетерозиготний тип успадкування, мали достовірно нижчий рівень вітаміну D<sub>3</sub> в сироватці крові ( $12,10 \pm 0,67$  нг/мл і  $13,53 \pm 0,26$  нг/мл відповідно), ніж діти з нормальним розподілом генів ( $32,17 \pm 1,05$  нг/мл),  $p < 0,01$  для обох сукупностей. Критерій Пірсона показує, що зв'язок між факторною та результативною ознаками статистично значущий,  $p < 0,01$ , критерій  $\chi^2 = 9,21$ . **Висновки.** Вивчення поліморфізму гена VDR у дітей із бронхіальною астмою показало наявність мутацій або гетерозиготного типу успадкування у більшості дітей із даною патологією. При цьому встановлений статистично значущий зв'язок між наявністю поліморфізму гена VDR і рівнем вітаміну D.

**Ключові слова:** вітамін D; VDR; ожиріння; діти; бронхіальна астма

V.I. Velichko, Yu.A. Pichuhina, Ya.I. Bazhora

Odesa National Medical University, Odesa, Ukraine

### The correlation between the VDR gene polymorphism and the level of vitamin D in children with bronchial asthma on the background of overweight or obesity

**Abstract. Background.** The purpose was to study the incidence of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism in children with bronchial asthma and to establish correlation links with the level of vitamin D, calcium and clinical manifestations of the disease in children. **Materials and methods.** The study involved 42 children with moderate to severe asthma. The average age of patients was  $7.6 \pm 1.3$  years. The control group included 20 healthy children without any somatic pathology against the background of harmonious physical development, the average age of them was  $7.34 \pm 0.36$  years. **Results.** The study of VDR gene polymorphism in children with bronchial asthma showed the presence of mutations or heterozygous type of inheritance in the majority of patients with this pathology, a mutation was detected in 64.3 % of patients, 28.5 % of patients showed a heterozygous type of inheritance, 7.2 % had a normal gene distribution. In the control group, mutations were not detected, only 10 % of healthy children had a heterozygous type of inheritance, 90 % of those had a normal gene distribution. A statistically significant relationship

was also established between the presence of VDR gene polymorphism and the level of vitamin D. Children with VDR mutation and children who had heterozygous inheritance type had a significantly lower serum vitamin D<sub>3</sub> levels ( $12.10 \pm 0.67$  ng/ml and  $13.53 \pm 0.26$  ng/ml, respectively) than children with normal gene distribution ( $32.17 \pm 1.05$  ng/ml),  $p < 0.01$  for both populations. Pearson's criterion shows that the relationship between the factor and the outcome is statistically significant,  $p < 0.01$ ,  $\chi^2$  criterion = 9.21. **Conclusions.** The study of the VDR gene polymorphism in children with bronchial asthma showed the presence of mutations or heterozygous type of inheritance in the majority of patients with this pathology. A statistically significant relationship was established between the presence of VDR gene polymorphism and the level of vitamin D, as well as between the presence of polymorphism of the VDR gene and the clinical manifestations of the disease in children.

**Keywords:** vitamin D; vitamin D receptor; obesity; children; asthma