

ВИТАМИН D И ЕГО ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ НАРУШЕННОГО КИШЕЧНОГО ВСАСЫВАНИЯ

Шуматова Т.А., Коваленко Д.В., Приходченко Н.Г.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владивосток, e-mail: sunny.dashu@mail.ru

Витамин D влияет на проницаемость кишечного барьера, связываясь с рецептором витамина D (VDR). Продукция VDR регулируется геном *VDR*, для которого описан полиморфизм *BsmI*. Целью настоящего исследования было проанализировать содержание витамина D и распределение генотипов полиморфизма *BsmI* гена *VDR* у детей с синдромом нарушенного кишечного всасывания (СНКВ). Обследованы две группы детей раннего возраста, сопоставимые по полу и возрасту. Первая группа – 27 детей с СНКВ, вторая группа – 15 здоровых детей. У всех детей в сыворотке крови оценивали уровень витамина D, изучали распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма *BsmI* гена *VDR*. В результате проведенного исследования было обнаружено, что у пациентов первой группы наблюдалось понижение уровня витамина D по сравнению с контрольной группой. Высокая представленность гетерозиготного генотипа *Bb* полиморфизма *BsmI* гена *VDR* была отмечена у пациентов с СНКВ. Наличие гетерозиготного генотипа *Bb* полиморфизма *BsmI* гена *VDR* может явиться фактором риска развития недостаточности витамина D. Низкое содержание витамина D у детей с СНКВ усугубляет повышенную проницаемость кишечного барьера и требует его коррекции.

Ключевые слова: витамин D, рецептор витамина D, ген, полиморфизм, кишечник, синдром нарушенного кишечного всасывания, дети.

VITAMIN D AND ITS GENETIC REGULATION IN PATIENTS WITH MALABSORPTION

Shumatova T.A., Kovalenko D.V., Prihodchenko N.G.

Pacific State Medical University, Vladivostok, e-mail: sunny.dashu@mail.ru

Vitamin D affects the permeability of the intestinal barrier by binding to the vitamin D receptor (VDR). VDR production is regulated by the VDR gene, for which *BsmI* polymorphism has been described. The aim of this study was to analyze the content of vitamin D and the distribution of genotypes of the *BsmI* polymorphism of the VDR gene in children with malabsorption syndrome. Two groups of young children, comparable in sex and age, were examined. The first group – 27 children with malabsorption syndrome, the second group – 15 healthy children. In all children, the level of vitamin D in the blood serum was assessed, the distribution of frequencies of alleles and genotypes of the *BsmI* polymorphism of the VDR gene was studied. As a result of the study, it was found that in patients of the first group, a decrease in the level of vitamin D was observed compared with the control group. A high representation of the heterozygous genotype *Bb* of the *BsmI* polymorphism of the VDR gene was noted in patients with malabsorption syndrome. The presence of a heterozygous *Bb* genotype of the *BsmI* polymorphism of the VDR gene may be a risk factor for the development of vitamin D deficiency. Low vitamin D content in children with malabsorption syndrome aggravates the increased permeability of the intestinal barrier and requires its correction.

Keywords: vitamin D, vitamin D receptor, gene, polymorphism, intestine, malabsorption syndrome, children.

Распространенность пищевой аллергии и пищевой непереносимости у детей во всем мире достигает 20%, и наиболее подвержены данным патологическим состояниям дети первых трех лет жизни, особенно дети первого года жизни [1]. Основным клиническим проявлением гастроинтестинальной формы пищевой аллергии и пищевой непереносимости является синдромом нарушенного кишечного всасывания (СНКВ). СНКВ представляет собой патологическое состояние, характеризующееся неспособностью тонкого кишечника

поглощать определенные питательные вещества [2]. Вследствие этого у детей нарушено всасывание белков, жиров, углеводов, железа, витамина D и других микроэлементов. При отсутствии адекватной коррекции такого состояния дети склонны к развитию недостаточности питания, недостаточности и дефицита витамина D, других патологических состояний [3]. Дефицит витамина D встречается у пациентов с СНКВ намного чаще, чем в общей популяции, что указывает на присутствие специфических причинных факторов заболевания [4]. Также существуют данные, свидетельствующие о том, что распространенность недостаточности витамина D среди населения увеличивается параллельно с распространенностью пищевой аллергии [5]. Роль недостаточности витамина D в развитии пищевой аллергии была подчеркнута в популяционном исследовании, проведенном на младенцах в Мельбурне [5].

Витамин D является условно необходимым питательным веществом, которое может быть получено в результате синтеза в эпидермисе под влиянием УФО из 7-дегидрохолестерина или с пищей. Попадая в организм, он метаболизируется в печени и почках под влиянием ферментов цитохрома P450 с образованием эндокринного гормона 1,25-дигидроксивитамина D (1,25(OH)2D), который контролирует экспрессию генов в тканях-мишенях путем связывания с активируемым лигандом фактором транскрипции, рецептором витамина D (VDR). VDR является членом семейства ядерных рецепторов, который влияет на геномную и негеномную регуляцию клеток-мишеней, обеспечивая разнообразные биологические функции не только в костно-мышечной системе, но и в других органах и тканях [6]. В составе VDR имеются гормонсвязывающие и ДНК-связывающие домены. 1,25-дигидроксивитамин D выступает для VDR в качестве лиганда, после соединения с которым VDR связываются с ретиноид-Х-рецептором, который расположен внутри клетки. Получившийся комплекс соединяется со специфическими областями, которые называются «элементы ответа на витамин D» (VDRE) и расположены в промоторном регионе клеток-мишеней. Образовавшийся комплекс действует как фактор транскрипции, способствующий экспрессии генов.

Продукция белка VDR кодируется геном *VDR*, который является геном-кандидатом многих заболеваний. Ген *VDR* был открыт в 1988 г., он расположен на коротком плече 12-й хромосомы и содержит 8 экзонов, кодирующих белок (экзоны 2–9), и 6 нетранслируемых экзонов (экзоны 1a-1f). Для гена *VDR* описано большое количество однонуклеотидных полиморфизмов, обусловленных нуклеотидной заменой, но наиболее значимыми и изученными из них являются несинонимичный полиморфизм *FokI* (rs2228570) и синонимичные полиморфизмы *TaqI* (rs731236), *BsmI* (rs1544410) и *ApaI* (rs7975232). Наличие мутаций в гене *VDR* приводит к образованию белка с измененной активностью, что может обуславливать развитие патологических состояний в органах и тканях [7]. Полиморфизм *BsmI* расположен в интроне 8, рядом с областью 3'UTR, и образуется в результате замены

нуклеотидов гуанин (G) на аденин (A). Этот полиморфизм влияет на стабильность матричной РНК (мРНК) гена *VDR*.

Роль витамина D в регуляции кальциево-фосфатного гомеостаза и в контроле метаболизма костной ткани хорошо известна. Содержание витамина D оказывает значительное влияние на состояние скелета во всех возрастах, а его дефицит приводит к рахиту в детском возрасте, а также к остеопорозу в старшем возрасте. За последние два десятилетия были накоплены данные о влиянии витамина D не только на здоровье скелета, но и на различные органы и ткани благодаря тому, что *VDR* экспрессируется в нескольких органах, кроме костей и почек, таких как кишечник, тромбоциты, поджелудочная железа, клетки иммунной системы и др.

Первой и наиболее чувствительной тканью-мишенью витамина D является кишечник. Классическая роль витамина D в кишечнике заключается в контроле метаболизма кальция посредством регуляции всасывания кальция в кишечнике. Однако исследования ясно показывают, что другие функции кишечника регулируются молекулярным действием 1,25(OH)₂D, которые опосредованы через *VDR*. Это включает усиление барьерной функции кишечника, регуляцию стволовых клеток кишечника, подавление канцерогенеза толстой кишки и ингибирование воспаления кишечника [8]. Витамин D может оказывать влияние практически на каждую клетку кишечника, связываясь с *VDR* и способствуя транскрипции соответствующих генов [9]. Доказано, что агонисты рецепторов витамина D влияют на функцию клеток Th1 и Th2, подавляя синтез аллерген-специфического IgE, ингибируя созревание дендритных клеток, индуцируя толерогенные дендритные клетки и в конечном итоге способствуя индукции регуляторных CD4⁺CD25⁺. Витамин D поддерживает целостность эпителия, укрепляя межклеточные соединения, и обеспечивает соответствующий уровень антимикробных пептидов в слизи [10].

В настоящее время в литературе обнаруживаются несколько противоречивые данные о роли полиморфизмов гена *VDR* в развитии заболеваний кишечника. Например, исследование, проведенное D.J. Hughes, не продемонстрировало статистически значимой связи между наличием полиморфизмов гена *VDR* и риском развития воспалительного заболевания кишечника [11]. В то же время в современной литературе нет данных, которые указывали бы на связь между полиморфизмами гена рецептора витамина D и риском развития пищевой аллергии и пищевой непереносимости.

Целью настоящего исследования явилось изучение обеспеченности витамином D и распределения генотипов полиморфизма *BsmI* гена *VDR* у детей с СХКВ. Задачи, которые стояли перед авторами во время исследования: оценить уровень витамина D и распределение аллелей и генотипов полиморфизма *BsmI* гена *VDR* у пациентов с СХКВ.

Материалы и методы исследования. Было проведено клинико-лабораторное обследование двух групп детей. Первую группу составили 15 детей раннего возраста с СНКВ. Причинами возникновения СНКВ явились гастроинтестинальная форма пищевой аллергии и вторичная лактазная недостаточность вследствие перенесенной кишечной инфекции. В группу контроля вошли 10 здоровых детей, сопоставимых по возрасту и полу и имеющих неотягощенный аллергологический анамнез. Законные представители пациентов дали письменное добровольное согласие на участие в исследовании. При организации исследования были учтены требования Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г., а также «Правила клинической практики в Российской Федерации», утвержденные приказом Министерства здравоохранения РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Количественный уровень 25-ОН витамин D сыворотке крови пациентов определяли методом иммуноферментного анализа с использованием реактивов фирмы Euroimmun (Германия) С целью выявления полиморфизма *BsmI* гена *VDR* использовали метод полимеразной цепной реакции при помощи реактивов фирмы «Литех» (Москва) в амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Россия). Детекция продуктов амплификации была осуществлена в 3%-ном агарозном геле; с помощью набора «ДНК экспресс-кровь» фирмы «Литех» (Москва) проводили выделение ДНК из венозной крови пациентов. Для статистической обработки полученных данных применялись методы непараметрической статистики: критерий Манна–Уитни и метод ранговой корреляции Спирмена. Для определения значимости различий в частоте аллелей и генотипов использовали критерий χ^2 .

Результаты исследования и их обсуждение. После тщательного сбора анамнеза заболевания было выяснено, что в большинстве случаев (93,3%) начало заболевания совпало с введением в рацион питания детей детских молочных смесей на основе белка коровьего молока. При анализе клинических проявлений установлено, что в 100% случаев у детей наблюдался учащенный разжиженный стул, на втором месте по частоте встречаемости отмечались кишечные колики и метеоризм, несколько реже наблюдались срыгивания и рвота (рис. 1).

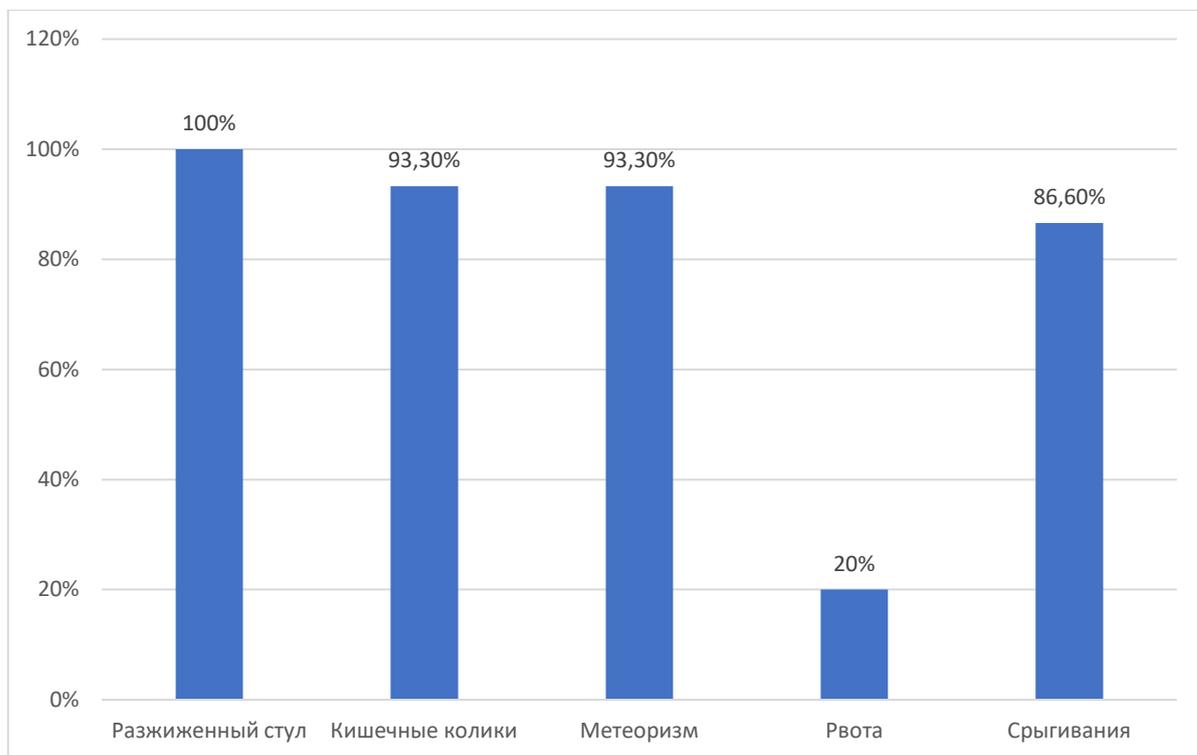


Рис. 1. Распределение клинических проявлений заболевания у пациентов с СНКВ

Всем детям несколько раз проводилось копрологическое исследование для изучения функций желудочно-кишечного тракта. По результатам лабораторного исследования кала были обнаружено, что наиболее часто у детей встречались амилорея и йодофильная флора, несколько реже – переваримая клетчатка, смешанная стеаторея и стеаторея II типа (рис. 2).

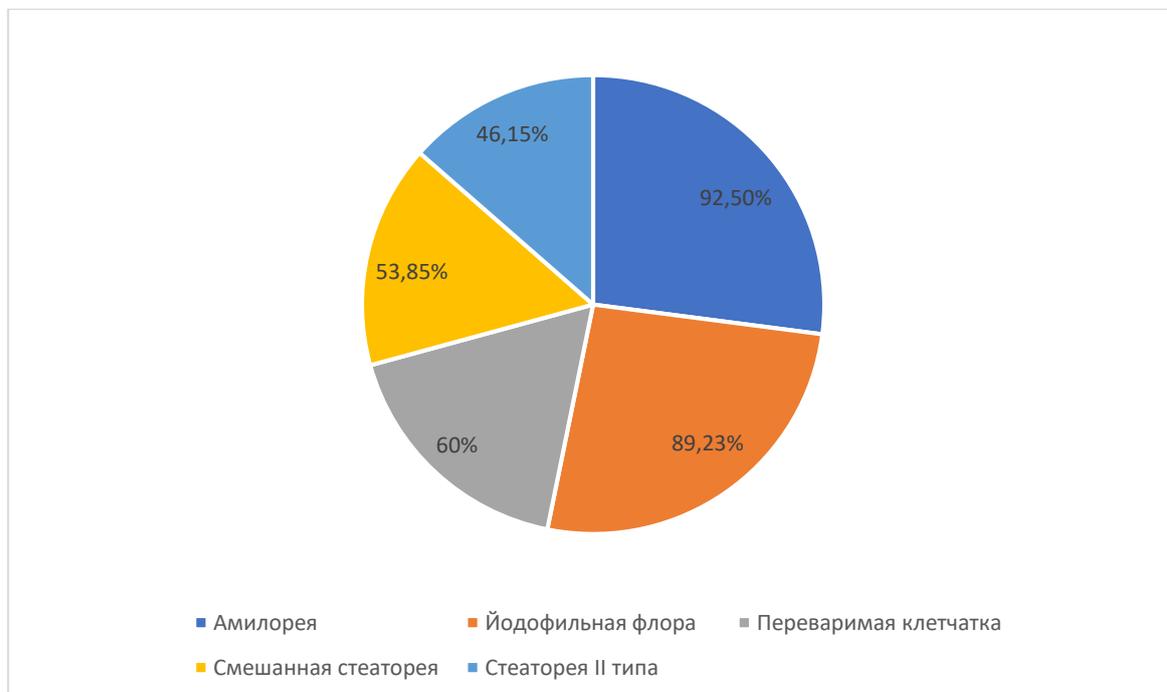


Рис. 2. Распространенность копрологических изменений у пациентов с СНКВ

При анализе содержания 25-ОН витамин D в сыворотке крови обследуемых детей было обнаружено, что содержание 25-ОН витамин D у пациентов основной группы было в 1,44 раза ниже, чем у пациентов контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1

Содержание 25-ОН витамин D в крови обследуемых детей

	Основная группа	Контрольная группа	p
Уровень 25-ОН витамин D	25,1±1,49 нг/мл	36,1±2,53 нг/мл	<0,05

Был проведен анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма *BsmI* гена *VDR* у детей обеих групп. Частота встречаемости дикого аллеля *G* у детей контрольной группы составила 62,6%, в то время как аллель *A* встречался в 1,67 раза меньше. Распределение генотипов полиморфизма *BsmI* гена *VDR* (*G/G* – 44%, *G/A* – 42 %, *A/A* – 14%) подчинялось равновесию Харди–Вайнберга.

Дикий аллель *G* у детей основной группы встречался с частотой 64,2%, однако мутантный аллель *A* встречался в 1,79 раза меньше. Гомозиготные генотипы *G/G*, *A/A* у детей основной группы встречались в 0,7 и 0,91 раза меньше по сравнению с детьми из контрольной группы, тогда как частота встречаемости гетерозиготного генотипа *G/A* была статистически более значима ($p < 0,05$) и превышала аналогичный генотип у здоровых детей в 1,34 раза. Распределение частот аллелей и генотипов представлено в таблице 2.

Таблица 2

Распределение частот аллелей и генотипов у пациентов с СНКВ и здоровых детей

	Генотип, %			Аллель <i>G</i>	Аллель <i>A</i>
	<i>G/G</i>	<i>G/A</i>	<i>A/A</i>	%	%
Основная группа	31	56,2*	12,8	64,2	35,8
Контрольная группа	43,8	42,1	14,1	62,6	37,4

* – достоверность различий, $p < 0,05$

Согласно Национальной программе «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции» (2021), содержание 25-ОН витамин D у детей основной группы в данном исследовании является недостаточным. В исследовании, проведенном группой ученых из США, был описан потенциальный механизм,

который предполагает негативное влияние дефицита витамина D на целостность кишечного барьера, что приводит к увеличению проницаемости из-за колонизации патогенной микробной флорой и последующему неадекватному воздействию пищевых аллергенов на иммунную систему, провоцируя развитие аллергической сенсибилизации и пищевой аллергии [12]. Витамин D также участвует в регуляции целостности кишечного барьера на основе тесного взаимодействия с плотными контактами, что способствует высвобождению зонулина, повышая экспрессию белков плотных контактов и, таким образом, подавляя увеличение проницаемости слизистой оболочки кишечника [13]. Таким образом, снижение антимикробных факторов и отсутствие эффективных плотных контактов из-за дефицита витамина D могут привести к неадекватному воздействию и стимуляции иммунной системы, провоцируя развитие аллергической сенсибилизации, экземы и пищевой аллергии [14].

Полиморфизм *BsmI* расположен рядом с 3'-нетранслируемой областью (UTR) гена *VDR* в интроне между экзонами 8 и 9. Область 3'-UTR гена *VDR* участвует в регуляции экспрессии генов, отвечая за стабильность и уровень экспрессии мРНК. Полиморфизм *BsmI* вызывает развитие молчащей мутации, приводящей к повышенной стабильности мРНК гена *VDR*. Установлено, что в китайской этнической группе частота полиморфного аллеля *G* была значительно увеличена у пациентов с язвенным колитом, в то время как повышенная частота генотипа *G/A* изучаемого полиморфизма связана с язвенным колитом по сравнению со здоровым контролем [15]. В то же время три других полиморфизма гена *VDR* не были связаны с предрасположенностью к развитию воспалительного заболевания кишечника.

Заключение

Таким образом, настоящее исследование продемонстрировало низкий уровень витамина D у детей с синдромом мальабсорбции и высокую представленность гетерозиготного генотипа *G/A* полиморфизма *BsmI* гена *VDR*, на основании чего можно относить таких детей к группе риска по развитию недостаточности витамина D. Низкое содержание витамина D у детей с пищевой аллергией и пищевой непереносимостью требует его коррекции для улучшения состояния пациентов и нормализации состояния кишечного барьера.

Список литературы

1. Jonathan Medernach, Middleton J.P. Malabsorption Syndromes and Food Intolerance // Clin Perinatol. 2022. Vol. 49. № 2. P. 537-555. DOI: 10.1016/j.clp.2022.02.015.
2. Clark R., Johnson R. Malabsorption Syndromes // Nurs Clin North Am. 2018. Vol. 53. № 3. P. 361-374. DOI: 10.1016/j.cnur.2018.05.001.

3. Захарова И.Н., Бережная И.В., Симакова М.А. Задержка роста у детей с аллергией // Педиатрия. Consilium Medicum. 2023. № 1. С. 34-41. DOI: 10.26442/26586630.2023.1.202182.
4. Margulies S.L., Kurian D., Elliott M.S., Han Z. Vitamin D deficiency in patients with intestinal malabsorption syndromes--think in and outside the gut // J. Dig Dis. 2015. Vol. 16. № 11. P. 617-633. DOI: 10.1111/1751-2980.12283.
5. Allen K.J., Koplin J.J., Ponsonby A.L., Gurrin L.C., Wake M., Vuillermin P., Martin P., Matheson M., Lowe A., Robinson M., Tey D., Osborne N.J., Dang T., Tina Tan H.T., Thiele L., Anderson D., Czech H., Sanjeevan J., Zurzolo G., Dwyer T., Tang M.L., Hill D., Dharmage S.C. Vitamin D insufficiency is associated with challenge-proven food allergy in infants // J. Allergy Clin Immunol. 2013. Vol. 131. № 4. P. 1109-1116. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.01.017.
6. Saponaro F., Saba A., Zucchi R. An Update on Vitamin D Metabolism // International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21. № 18. P. 6573. DOI: 10.3390/ijms21186573.
7. Imani D., Razi B., Motallebnezhad M. et al. Association between vitamin D receptor (VDR) polymorphisms and the risk of multiple sclerosis (MS): an updated meta-analysis // BMC Neurology. 2019. Vol. 19. № 1. P. 339. DOI: 10.1186/s12883-019-1577-y.
8. Fleet J.C. Vitamin D and Gut Health // Adv Exp Med Biol. 2022. № 1390. P. 155-167. DOI: 10.1007/978-3-031-11836-4_9.
9. Fakhoury H.M.A., Kvietys P.R., AlKattan W. et al. Vitamin D and intestinal homeostasis: Barrier, microbiota, and immune modulation // The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. 2020. № 200. P. 105663. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2020.105663.
10. Poole A., Song Y., Brown H., Hart P.H., Zhang G.B. Cellular and molecular mechanisms of vitamin D in food allergy // J. Cell Mol Med. 2018. Vol. 22. № 7. P. 3270-3277. DOI: 10.1111/jcmm.13607.
11. Hughes D.J., McManus R., Neary P. et al. Common variation in the vitamin D receptor gene and risk of inflammatory bowel disease in an Irish case-control study // European Journal of Gastroenterology & Hepatology. 2011. Vol. 23. № 9. P. 807-812. DOI: 10.1097/MEG.0b013e328349283e.
12. Vassallo M.F., Camargo CA Jr. Potential mechanisms for the hypothesized link between sunshine, vitamin D, and food allergy in children // J. Allergy Clin Immunol. 2010. Vol. 126. № 2. P. 217-222. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.06.011.
13. Vici G., Camilletti D., Polzonetti V. Possible Role of Vitamin D in Celiac Disease Onset // Nutrients. 2020. № 12. E1051. DOI: 10.3390/nu12041051.
14. Lack G. Clinical practice. Food allergy // N. Engl. J. Med. 2008. Vol. 359. № 12. P. 1252-1260. DOI: 10.1056/NEJMcп0800871.

15. Pei F.H., Wang Y.J., Gao S.L. et al. Vitamin D receptor gene polymorphism and ulcerative colitis susceptibility in Han Chinese // Journal of Digestive Diseases. 2011. Vol. 12. № 2. P. 90-98. DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00483.x.