

УДК: 616.391-053.3:577.161.2:613.25

Н.І. Токарчук, М.М. Пугач

Аналіз зв'язку між одонуклеотидним поліморфізмом BsmI гена VDR та статусом вітаміну D у дітей, хворих на рахіт

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, Україна

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA. 2015.1(65):40-42; doi 10.15574/SP.2015.65.40

Мета: провести аналіз розподілу варіантних алелей одонуклеотидного поліморфізму Bsm I гена VDR у дітей з вітаміном D-дефіцитним рахітом.

Пацієнти і методи. Під наглядом знаходились 118 дітей віком від 3 до 12 місяців, які мали клінічні ознаки вітаміну D-дефіцитного рахіту. Проведено клініко-анамнестичне обстеження дітей, визначення в сироватці крові концентрації 25(OH)D та генетичне дослідження поліморфізму Bsm I гена VDR.

Результати. Виявлено наступний розподіл генотипів поліморфного маркера BsmI: перша група – носії генотипу bb – 39 (33%) дітей, друга група – носії генотипу Bb – 57 (48,3%), третя група – носії генотипу BB – 22 (18,7%) дитини. Дефіцит вітаміну D вірогідно частіше діагностовано в осіб з генотипом bb ($p < 0,05$).

Висновки. Вперше проаналізовано асоціацію BsmI поліморфізму гена VDR з вітаміном D-дефіцитним рахітом у дітей. Виявлено зв'язок дефіциту вітаміну D з генотипом поліморфного маркера BsmI.

Ключові слова: рахіт, діти раннього віку, поліморфізм гена VDR, гідроксिवітамін D.

Вступ

Останніми десятиліттями значна увага приділяється проблемі дефіциту вітаміну D, у тому числі у практичній педіатрії. Розширені діагностичні можливості та результати сотень досліджень, що проводяться у світі, вказують на багатовекторну роль вітаміну D в організмі людини і різноманітні негативні наслідки, пов'язані з його недостатністю, особливо у дитячому віці [2].

На жаль, епідеміологічні дані про поширеність дефіциту вітаміну D серед дитячого населення досить рідкісні і недостатньо вивчені в більшості країн. За результатами недавніх популяційних досліджень, поширеність гіповітамінозу D серед дитячого населення значна і варіює від 29% до 100% [7,10,12,13].

Дефіцит вітаміну D ендегенного або екзогенного походження є провідною причиною розвитку рахіту у дітей раннього віку. Підтвердження цьому отримано завдяки можливості визначити концентрацію метаболітів вітаміну D у крові. Слід зазначити, що функціональним показником вмісту вітаміну D в організмі людини є концентрація гідроксिवітаміну D (25(OH)D) у сироватці крові. Рівень даної речовини відображає як утворення вітаміну D в шкірі під дією сонячних променів, так і надходження його з їжею чи лікарськими засобами, які містять холекальциферол чи ергокальциферол [15].

Загальновідомо, що на статус вітаміну D в організмі дитини впливає безліч причин. Результати сучасних досліджень показали, що рівень сироваткового 25(OH)D може залежати і від генетичних факторів. Попередні дослідження виявили кілька загальних поліморфних варіантів генів VDR, GC, NADSYN1 і CYP2R1, які були пов'язані з циркулюючими рівнями 25-гідроксिवітаміну D і дефіцитом вітаміну D у дітей [3,4].

На сучасному етапі активно вивчається роль гена, що кодує рецептор вітаміну D (VDR). Поява аналітичних даних про VDR сприяє новому направленню у вивченні багатьох захворювань, у тому числі і вітаміну D-дефіцитного рахіту. VDR є фактором транскрипції, що регулює експресію генів, які забезпечують його біологічну активність. Відомо, що VDR кодується геном VDR, для якого характерний генетичний поліморфізм, тобто існування різних алельних варіантів цього гена в популяції. Поширеність поліморфізму гена VDR має расово-етнічні особливості [9,16].

Нещодавні дослідження показали, що в особливостях метаболічних порушень важливу роль можуть відігравати і генетичні фактори, які обумовлюють схильність до вітаміну D-дефіцитного рахіту. Проте лише у кількох наукових працях вивчався взаємозв'язок між рецепторами вітаміну D та вітаміном D-дефіцитним рахітом. Найбільшу увагу дослідників було сфокусовано на поліморфізмі VDR, виявленому за допомогою рестриктаз BsmI, ApaI, TaqI і FokI. Проте результати проведених раніше досліджень неоднозначні і дуже варіюють залежно від популяції та етнічних особливостей досліджуваної когорти [5,11].

З огляду на літературні дані, маркер Bsm I має найбільшу інформативність при порушеннях скелетного метаболізму. Поліморфізм BsmI містить сайт рестрикції, що позначається як алель b. У разі відсутності такого сайту алель позначається як B. До 16% представників білої раси є гомозиготами по функціонально неповноцінному алелю цього гена (BB) і належать до групи ризику розвитку остеопоротичних змін [1].

Таким чином, визначення генетичних факторів, що впливають на остеогенез у дітей, має важливе значення в розумінні патофізіологічних процесів кісткового метаболізму. Враховуючи представлені дані, виправданий інтерес до вивчення ролі одонуклеотидного поліморфізму Bsm I гена у патогенезі вітаміну D-дефіцитного рахіту, що й спонукало нас до проведення власних досліджень.

Мета роботи: провести аналіз розподілу варіантних алелей одонуклеотидного поліморфізму Bsm I гена VDR у дітей з вітаміном D-дефіцитним рахітом.

Матеріал і методи дослідження

Науково-дослідна робота виконана на базі інфекційно-боксованого відділення для дітей раннього віку обласної дитячої клінічної лікарні м. Вінниці. Під спостереженням знаходились 118 дітей віком від 3 до 12 місяців, які мали клінічні ознаки вітаміну D-дефіцитного рахіту.

Для вирішення поставленої мети було проведено клініко-анамнестичне обстеження дітей першого року життя та визначення в сироватці крові концентрації 25(OH)D. Для визначення циркулюючого в організмі гідроксिवітаміну D використано кількісний електрохемилюмінесцентний метод за допомогою апарату Elecsys (Roche Diagnostics, Німеччина) тест-системами cobas.

Оцінку статусу вітаміну D в організмі дитини здійснювали за останньою класифікацією, відповідно до якої інтерпретація результатів дослідження концентрації сироваткового гідроксिवітаміну D проводиться незалежно від віку дитини. На думку більшості міжнародних професійних організацій, у тому числі й експертів Міжнародного ендокринологічного товариства (The Endocrine Society), дефіцит має місце тоді, коли 25(OH)D нижче 20 нг/мл (тобто нижче 50 нмоль/л), рівень 25(OH)D від 21 до 29 нг/мл (тобто 52–72 нмоль/л) може розглядатися як індикатор відносної недостатності вітаміну D, а концентрація 30 нг/мл і вище — як достатня (тобто близька до нормального) [6].

Молекулярно-генетичне дослідження було проведено у відділі епігенетики на базі ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України». Для генотипування венозну кров набирали в стерильних умовах у пробірку-вакутейнер з EDTA. Матеріал для дослідження заморожували і зберігали при температурі -20°C. Для проведення генетичного аналізу із венозної крові обстежуваних осіб за допомогою стандартного фенолхлороформного методу було виділено ДНК. Поліморфні варіанти гена VDR-rs1544410 (Bsm I, A/G transition), який знаходиться в інtronі 8, визначали методом ПЛР у режимі реального часу з використанням тест-систем компанії Applied Biosystems. Після аналізу зразки класифікували як BB, Bb або bb (великі літери представляють відсутність, маленькі — наявність місць рестрикції для ендонуклеази Bsm I). Статистичну обробку отриманих результатів виконали за допомогою методів варіаційної статистики з використанням програми SPSS 17.0. Для усіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Серед обстежених пацієнтів переважали хлопчики (66,9%). За віком домінували діти від 3 до 6 місяців (71,1%). Середній вік дітей основної групи склав $5,5 \pm 1,7$ місяця.

Генотипування хворих на вітамін D-дефіцитний рахіт за BsmI поліморфізмом гена VDR дало змогу встановити частоту, з якою спостерігалися окремі варіанти цього гена. За даними дослідження поліморфізму гена VDR усі пацієнти були розподілені на три групи. Нами виявлено наступний розподіл генотипів поліморфного маркера BsmI: перша група — носії генотипу bb — 39 ($33 \pm 4,32\%$) дітей, друга група носіїв із генотипом Bb — 57 ($48,3 \pm 4,64\%$), третя група носіїв із генотипом BB — 22 ($18,7 \pm 3,6\%$) дитини (рис.). Встановлено, що серед хворих на вітамін D-дефіцитний рахіт реєструвалася найнижча частота гомозигот B-алеля порівняно з відсотком гетерозигот та гомозигот b-алеля. При цьому відмінності частоти зазначених генотипів були статистично достовірними ($p > 0,05$). Відповідно, частота алеля B у когорті обстежених дітей склала 42,8%, а частота алеля b — 57,2%.

Ці дані на сьогодні є дискусійними та суперечливими. Результати нашого дослідження узгоджуються з висновками деяких зарубіжних робіт, однак відрізняються від інших. Так, з огляду на літературні дані, присвячені вивченню вищезазначеної асоціації серед азіатів, було виявлено зв'язок між підвищенням частоти B алеля/BB генотипу

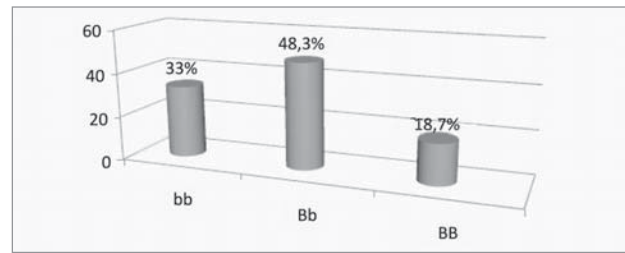


Рис. Частота генотипів BsmI поліморфізму гена VDR у обстежених дітей (%)

ля/BB генотипу одичного нуклеотидного поліморфізму в сайті рестрикції BsmI та ризиком виникнення рахіту. Висновки проведеного мета-аналізу припускали, що носії генотипу bb одичного нуклеотидного поліморфізму в сайті рестрикції BsmI можуть бути менш схильними до розвитку даного захворювання в цій популяції [8].

При дослідженні концентрації 25(OH)D у сироватці крові обстежених пацієнтів встановлено, що зниження рівня даної речовини відмічалось у більшості дітей (70,3%). Серед них дефіцит вітаміну D було діагностовано у 47,5% осіб, недостатність вітаміну D мала місце у 28,8% дітей.

Наступним етапом дослідження було проведення аналізу середніх значень сироваткового гідроксिवітаміну D залежно від поліморфізму гена VDR у обстежених дітей. Середня концентрація циркулюючого 25(OH)D у пацієнтів з генотипом bb становила $33,38 \pm 4,76$ нмоль/л, у носіїв генотипу Bb — $29,17 \pm 4,22$ нмоль/л, у дітей з генотипом BB — $37,54 \pm 5,98$ нмоль/л. Розбіжності при порівнянні середніх значень 25(OH)D у сироватці крові обстежених дітей залежно від генотипів BsmI поліморфізму гена VDR виявились статистично не достовірними ($p > 0,05$).

З метою аналізу можливого впливу генетичної схильності на розвиток дефіциту вітаміну D, нами була проведена порівняльна характеристика статусу вітаміну D в організмі дітей залежно від розподілу алельних варіантів гена VDR (частота розподілу від кількості всіх обстежених дітей). За отриманими даними достатня забезпеченість вітаміном D частіше зустрічалась у гетерозигот (18,6% проти 6,8% у гомозигот b алеля та 4,23% у гомозигот B алеля). Серед обстежених пацієнтів недостатність вітаміну D частіше мала місце у осіб з генотипом Bb (16,1% проти 5,1% при генотипі bb та 7,6% при генотипі BB). Тоді як найвищий відсоток дефіциту вітаміну D було зареєстровано у носіїв генотипу bb (21,1% проти 13,6% при генотипі Bb та 6,8% при генотипі BB). Так, при дослідженні частоти виникнення дефіциту вітаміну D було встановлено, що значення цього показника вірогідно частіше діагностовано в осіб з генотипом bb ($p < 0,05$). Відносний ризик розвитку вітамін D-дефіцитного стану у дітей з генотипом bb гена VDR (BsmI) порівняно з носіями B алеля (BB/Bb) становив 1,68 (95% ДІ: 1,16–2,52, $p < 0,05$).

Отримані нами результати узгоджуються із дослідженнями зарубіжних науковців. Так, було виявлено, що більш низькі рівні 25(OH)D3 у сироватці крові, а також значна частота дефіциту вітаміну D (<20 нг/мл) діагнос-

Таблиця

Розподіл пацієнтів з генотипами BsmI на групи відповідно до концентрації 25 (OH) D3

Статус вітаміну D	Група хворих за генотипом		
	bb (n=39)	Bb (n=57)	BB (n=22)
Дефіцит	25 (64,1±7,67) *	16 (28,1±5,9)	8 (36,4±10,48)
Недостатність	6 (15,4±5,77)	19 (33,3±6,11)	9 (40,9±10,72)
Норма	8 (20,5±6,45)	22 (38,6±6,28)	5 (22,7±9,11)

Примітка: * – достовірність різниці між показниками статусу у групі, яка мала генотип bb ($p < 0,05$).

тувалась саме у носіїв генотипу bb BsmI поліморфного маркера гена VDR [14].

Дані щодо статусу вітаміну D у обстежених пацієнтів наведені у таблиці. Як видно з таблиці, саме у носіїв гомозигот алеля b реєструвалась вища частота дефіциту вітаміну D, ніж недостатність та нормальна забезпеченість. При цьому відмінності частоти зазначених показників у цій групі були статистично достовірними ($p < 0,05$).

Водночас відсутні достовірні розбіжності при аналізі статусу вітаміну D у носіїв інших генотипів.

Висновки

У виконаній нами роботі вперше проаналізовано асоціацію BsmI поліморфізму гена VDR з вітаміном D-дефіцитним рахітом у дітей. Виявлено зв'язок найвищої частоти реєстрації дефіциту вітаміну D у носіїв генотипу bb.

ЛІТЕРАТУРА

- Молекулярно-генетические механизмы предрасположенности к остеопорозу / Морозик П. М., Моссэ И. Б., Амелянович М. Д. [и др.] // Молекулярная и прикладная генетика. — 2012. — Т. 13. — С. 100—109.
- Современные подходы к диагностике, лечению и профилактике рахита у детей : учебн.-метод. пособ. / Почкайло А. С., Жерносек В. Ф., Руденко Э. В. [и др.]. — Минск, 2014. — 72 с.
- An analysis of the association between the vitamin D pathway and serum 25-hydroxyvitamin D levels in a healthy Chinese population / Zhang Z., He J. W., Fu W. Z. [et al.] // J. Bone Miner. Res. — 2013. — Vol. 28 (8). — P. 1784—1792.
- Association of vitamin D-related gene polymorphisms with manifestation of vitamin D deficiency in children / Kitanaka S., Isojima T., Takaki M., Numakura C. [et al.] // Endocr. J. — 2012. — Vol. 59 (11). — P. 1007—1014.
- Correlation between vitamin D receptor genetic polymorphism and 25-hydroxyvitamin D3 in vitamin D deficiency rickets / Gong Y. G., Li Y. N., Zhang W. H. [et al.] // Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi. — 2010. — Vol. 14 (7). — P. 544—546.
- Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline / M. F. Holick, N. C. Binkley, H. A. Bischoff-Ferrari [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2011. — Vol. 96 (7). — P. 1911—193.
- High prevalence of vitamin D deficiency among children aged 1 month to 16 years in Hangzhou, China / Zhu Z., Zhan J., Shao J., Chen W. [et al.] // BMC Public Health. — 2012. — Vol. 12. — P. 126.
- Mao S. Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of rickets among Asians: a meta-analysis / S. Mao, S. Huang // Arch. Dis. Child. — 2014. — Vol. 99 (3). — P. 232—238.
- Pike J. W. Genome-wide principles of gene regulation by the vitamin D receptor and its activating ligand / J. W. Pike // Mol. Cell. Endocrinol. — 2011. — Vol. 347. — P. 3—10.
- Possible health implications and low vitamin D status during childhood and adolescence: An updated mini review / Papandreou D., Malindretos P., Karabouta Z., Rousso I. // Int. J. Endocrinol. — 2010;2010:472173.
- Relationship between polymorphisms in vitamin D metabolism-related genes and the risk of rickets in Han Chinese children / Zhang Y., Yang S., Liu Y., Ren L. // BMC Med. Genet. — 2013. — Sep. 30;14:101.
- Risk factors for variation in 25-hydroxyvitamin D3 and D2 concentrations and vitamin D deficiency in children / Tolppanen A. M., Fraser A., Fraser W. D., Lawlor D. A. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2012. — Vol. 97. — P. 1202—1210.
- Shin Y. H. Vitamin D status and childhood health / Y. H. Shin, H. J. Shin, Y. J. Lee // Korean J. Pediatr. — 2013. — Vol. 56 (10). — P. 417—423.
- Vitamin D deficiency in girls from South Brazil: a cross-sectional study on prevalence and association with vitamin D receptor gene variants / Santos B. R., Mascarenhas L. P., Satler F. [et al.] // BMC Pediatr. — 2012. — Vol. 12. — P. 62.
- Vitamin D: a critical and essential micronutrient for human health / Bendik I., Friedel A., Roos F. F. [et al.] // Front. Physiol. — 2014. — Vol. 5. — P. 248.
- Vitamin D: Update 2013: From rickets prophylaxis to general preventive healthcare / Gruber U., Spitz J., Reichrath J. [et al.] // Dermatoendocrinol. — 2013. — Vol. 5 (3). — P. 331—347.

Анализ связи между однонуклеотидным полиморфизмом BSMI гена VDR и статусом витамина D у детей, больных рахитом

Н.И. Токарчук, М.Н. Пугач

Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Украина

Цель: провести анализ распределения вариантных аллелей однонуклеотидного полиморфизма Bsm I гена VDR у детей с витамин D-дефицитным рахитом.

Пациенты и методы. Под наблюдением находились 118 детей в возрасте от 3 до 12 месяцев, которые имели клинические признаки витамин D-дефицитного рахита. Проведено клинико-anamnestическое обследование детей, определение в сыворотке крови концентрации 25(OH)D и генетическое исследование полиморфизма Bsm I гена VDR.

Результаты. Выявлено следующее распределение генотипов полиморфного маркера BsmI: первая группа - носители генотипа bb (39 (33%) детей), вторая группа — носители генотипа Bb (57 (48,3%)), третья группа-носители генотипа BB (22 ребенка (18,7%)).

Дефицит витамина D достоверно чаще диагностирован у лиц с генотипом bb ($p < 0,05$).

Выводы. Впервые проанализирована ассоциация BsmI полиморфизма гена VDR с витамин D-дефицитным рахитом у детей. Установлена связь дефицита витамина D с генотипом полиморфного маркера BsmI.

Ключевые слова: рахит, дети раннего возраста, полиморфизм гена VDR, гидроксивитамин D.

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA. 2015.1(65):40-42; doi 10.15574/SP.2015.65.40

Analysis of the single nucleotide BSMI VDR gene polymorphism and vitamin D status interaction in children with rickets

N.I. Tocarchyuk, M.N. Pugach

N.I. Pirogov Vinnitsa National Medical University, Ukraine

Objective: To analyze the distribution of variant alleles of single nucleotide of the BSMI VDR gene polymorphism in children with vitamin D-deficient rickets.

Patients and methods. A total of 118 children in the age from 3 to 12 months who had clinical signs of vitamin D-deficient rickets were under observation. A clinical and anamnestic examination of children, determination of serum concentration of 25 (OH) D and genetic study of the BSMI VDR gene polymorphism is conducted.

Results. Determination of the distribution of genotypes of polymorphic marker BsmI as follows: the first group - genotype bb carriers (39 (33%) of children), the second group — genotype Bb carriers (57 (48.3%)), the third group — genotype BB carriers (22 children (18,7%)). Vitamin D deficiency is significantly more frequently diagnosed in people with genotype bb ($p < 0.05$).

Conclusions. The association of BsmI VDR gene polymorphism with vitamin D-deficient rickets in children was analyzed at first. The relation of vitamin D deficiency with the genotype of the BsmI polymorphic marker is found.

Key words: rickets, infants, VDR gene polymorphism, hydroxyvitamin D.

Сведения об авторах:

Токарчук Надежда Ивановна — д.мед.н., проф. каф. педиатрии № 1 Винницкого национального медицинского университета им. М.И. Пирогова. Адрес: г. Винница, ул. Пирогова, 56; тел.: (0432) 55-12-71; e-mail: Nadia_tokarchuk@mail.ru

Пугач Марина Николаевна — аспирант педиатрии № 1 Винницкого национального медицинского университета им. М.И. Пирогова. Адрес: г. Винница, ул. Пирогова, 56; тел.: (0432) 55-12-71.

Статья поступила в редакцию 29.01.2015 г.

ГОЛОВНІ ПОДІЇ ГАЛУЗІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ



VI МІЖНАРОДНИЙ МЕДИЧНИЙ ФОРУМ

ІННОВАЦІЇ В МЕДИЦИНІ - ЗДОРОВ'Я НАЦІЇ



IV МІЖНАРОДНИЙ МЕДИЧНИЙ КОНГРЕС

«Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України»

15-17 квітня 2015 року



Україна, Київ, вул. Салютна, 2-Б

За підтримки:

• Президента України

Під патронатом:

• Комітету Верховної Ради України з питань охорони здоров'я

Офіційна підтримка:

• Кабінету Міністрів України
• Міністерства охорони здоров'я України

• Державної служби України з лікарських засобів
• Київської міської державної адміністрації

Організатори:

Национальна академія медичних наук України

Компанія LMT

Співорганізатори:



Генеральний партнер:

TOSHIBA
Leading Innovation >>>

Міжнародні партнери:



Партнери:



ЕКСПОНЕНТІВ

400

20

КРАЇН

ВІДВІДУВАЧІВ

14000

WWW.MEDFORUM.IN.UA

700

ДОПОВІДАЧІВ



Міжнародна виставка охорони здоров'я



Міжнародна фармацевтична виставка

ВЕСЬ СПЕКТР ОБЛАДНАННЯ, ТЕХНІКИ, ІНСТРУМЕНТАРІЮ ДЛЯ МЕДИЦИНИ, НОВИНКИ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ВІД СВІТОВИХ ТА ВІТЧИЗНЯНИХ ВИРОБНИКІВ

У РАМКАХ ФОРУМУ ТА КОНГРЕСУ

НАУКОВО-ПРАКТИЧНІ ЗАХОДИ, ШКОЛИ ТА МАЙСТЕР-КЛАСИ НА ДІЮЧОМУ ОБЛАДНАННІ, ПІДВИЩЕННЯ КВАЛІФІКАЦІЇ, ВИДАЧА СЕРТИФІКАТІВ

Спеціальні програми:

- Організація та управління охороною здоров'я
- Дні лабораторної медицини
- Медична радіологія
- Онкологія
- Терапія
- Фізіотерапія та реабілітація
- HEALTH BEAUTY

Спеціальні напрямки:

- Хірургія та нейрохірургія
- Медицина невідкладних станів
- Акушерство, гінекологія та педіатрія
- Інфекційні хвороби та епідеміологія
- Організація та управління фармацією

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ НА САЙТІ WWW.MEDFORUM.IN.UA

Генеральний стратегічний партнер:



Генеральний інформаційний партнер виставки PHARMA EXPO:



Міжнародні інформаційні партнери:



Генеральний інтернет-партнер:



Офіційні інформаційні партнери: Здоров'я України



3 питань участі у Форумі:

+380 (44) 526-93-09

@ med@lmt.kiev.ua

3 питань участі у Конгресі:

+380 (44) 526-94-87

@ expo@lmt.kiev.ua

+380 (44) 526-92-89

@ congress@medforum.in.ua