

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Український журнал дитячої ендокринології.— ISSN 2304-005X (Print), ISSN 2523-4277 (Online).— 2018.— № 2.— С. 29—37.

Особенности полиморфизма гена рецептора витамина D и его связь с показателями метаболического статуса у детей с ожирением



А. Г. Михно¹, А. В. Солнцева², Е. А. Аксенова³,
Е. И. Дашкевич⁴

¹ УЗ «Вторая городская детская клиническая больница», Минск, Республика Беларусь

² Белорусский государственный медицинский университет, Минск

³ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск

⁴ УЗ «Десятая городская клиническая больница», Минск, Республика Беларусь

Цель работы — выявить особенности полиморфизма гена рецептора витамина D и его связь с показателями метаболического статуса у детей с ожирением и нормальной массой тела.

Материалы и методы. Проведено обследование 39 детей (19 мальчиков и 20 девочек) с ожирением (индекс массы тела (ИМТ) $(30,60 \pm 2,06)$ кг/м², возраст $(13,23 \pm 2,27)$ года).

Определены основные показатели липидного и фосфорно-кальциевого обмена, мочевая кислота, гликированный гемоглобин в биохимическом анализе крови. Гормональный статус: инсулин, лептин, адипонектин, кортизол, тиреотропный гормон, свободный тироксин, витамин D.

Проведено генотипирование по полиморфным аллелям ApaI (A/a) (rs7975232), TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410), FokI (F/f) (rs2228570) гена рецептора витамина D.

Результаты и обсуждение. Установлены статистически значимые различия по частоте генотипов и аллелей ApaI (A/a) (rs7975232), TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410) VDR между мальчиками с ожирением и нормальной массой тела.

У девочек с ожирением не выявлено статистически значимых различий по частоте генотипов и аллелей TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410), FokI (F/f) (rs2228570) VDR.

В показателях биохимического анализа крови пациентов с ожирением по полиморфному локусу ApaI (A/a) (rs7975232) выявлено статистически значимое увеличение уровня триглицеридов ($p(Aa) = 0,03$; $p(aa) = 0,006$), мочевой кислоты ($p(AA) = 0,004$; $p(aa) = 0,05$), уровня щелочной фосфатазы ($p(Aa) = 0,02$) относительно группы контроля ($p(Aa) = 0,03$; $p(aa) = 0,006$).

У пациентов с генотипами AA и Aa установлено статистически значимое увеличение показателей инсулина в сыворотке крови относительно группы контроля ($p(AA) = 0,002$; $p(Aa) = 0,002$). Выявлено статистически значимое отличие по индексу НОМА-IR у детей с ожирением относительно группы контроля ($p(AA) = 0,007$; $p(Aa) = 0,03$). Отмечено статистически значимое отличие по содержанию лептина у детей с ожирением относительно группы контроля с генотипом aa ($p(aa) = 0,007$).

Выводы. Выявлено статистически значимое увеличение уровня триглицеридов, индекса НОМА-IR, лептина, мочевой кислоты у детей с ожирением по полиморфному локусу ApaI (A/a) (rs7975232) относительно группы контроля.

Ключевые слова: полиморфизм гена VDR, витамин D, ожирение, дети.

Ожирение — это хроническое заболевание, возникающее вследствие генетической предрасположенности и воздействия внешне средовых факторов, для которого характерны метаболические расстройства [6, 15].

Изучение этиопатогенеза ожирения является одним из важных направлений в современной эндокринологии. Увеличение массы жировой ткани, особенно ее висцерального компонента, связано с инсулинорезистентностью, гипергликемией, дис-

Стаття надійшла до редакції 4 червня 2018 р.

Анна Григорівна Михно, лікар-ендокринолог
220020, Республіка Білорусь, м. Мінськ, вул. Нарочанська, 17
Тел. + (37529) 762-61-72. E-mail: mikhno.anna@gmail.com

липидемией, гиперкоагуляцией, активацией процессов воспаления. Роль висцерального и подкожного жирового депо в развитии метаболических нарушений у детей изучена недостаточно [5, 6, 8, 16, 17]. Все больше доказательств получает связь витамина D с формированием избыточной массы тела [5, 11, 13, 18] и метаболическим синдромом (МС) [8].

В ряде исследований показана высокая распространенность дефицита витамина D при ожирении у взрослых и у детей [15, 20]. В работе Н. Б. Купrienko (2015 г.) выявлена корреляция между уровнем адипоцитокинов и количеством жировой ткани [15]. У детей при ожирении доказана взаимосвязь жировой массы, уровня лептина с концентрацией витамина D [15].

Активная форма витамина D₃ (кальцитриол) – 1,25-дигидроксивитамин D₃ (1,25-(ОН)2Д3) – относится к группе стероидных гормонов. 1,25-(ОН)2Д3 регулирует, прямо или косвенно, более двухсот генов (0,5–5 % от всего генома) и вовлечен в разнообразные клеточные процессы, включая рост, ДНК-репарацию, дифференциацию, апоптоз, мембранный транспорт, клеточную адгезию, оксидативный стресс [2], метаболизм глюкозы [1].

В клетках различных органов и тканей выявлены специфические рецепторы витамина D (Vitamin D Receptors, или VDR). Это позволяет классифицировать витамин D как D-гормон. Его функция состоит в способности генерировать и модулировать биологические реакции в тканях-мишенях за счет регуляции транскрипции генов [23]. VDR относится к семейству ядерных рецепторов, необходимых для реализации действия стероидных гормонов (тестостерон, эстрадиол, кортизол, альдостерон) [2, 23].

Содружественным VDR-рецептору является ретиноидный X-рецептор (RXR) – ядерный рецептор к витамину A. Образованный рецепторами комплекс VDR-RXR в присутствии активной формы витамина D связывается с соответствующим участком генома и запускает механизм транскрипции генов с последующей трансляцией белковых молекул. Воздействие витамина D приводит к синтезу определенных белков, участвующих в метаболических процессах в клетках и тканях [23].

D-гормон регулирует экспрессию около 3 % всего генома человека (свыше 1000 генов, локализованных в разных хромосомах) [7, 23].

Дефицит витамина D приводит к сниженной активности рецептора VDR. При этом геномные роли витамина D осуществляются не в полной мере, что приводит к нарушению формирования кости, активности факторов роста, иммунитета, транспорта глюкозы, синаптической передачи сигнала, процессов детоксикации, энергетического метаболизма в клетке, действия инсулина [10].

Обсуждается взаимосвязь полиморфизма VDR с изменением секреции инсулина и резистентнос-

ти к нему, увеличением жировой массы [14]. В настоящее время проводится поиск маркеров предрасположенности к ожирению среди полиморфизмов гена рецептора витамина D (VDR): Cdx2, BsmI, FokI, ApaI, и TaqI [1, 2].

Цель работы – выявить особенности полиморфизма гена рецептора витамина D и его связь с показателями метаболического статуса у детей с ожирением и нормальной массой тела.

Материалы и методы

Проведено обследование 39 детей (19 мальчиков и 20 девочек) с ожирением (индекс массы тела (ИМТ) $(30,60 \pm 2,06)$ кг/м², возраст $(13,23 \pm 2,27)$ года), наблюдавшихся в УЗ «Вторая городская детская клиническая больница» г. Минска с 2016 по 2017 г.

Критерии включения: пубертатный возраст (II–V стадия по Таннеру), наличие ожирения (ИМТ более 95-го перцентиля для пола и возраста).

Критерии исключения: наличие других форм ожирения или сопутствующих заболеваний и состояний, ассоциированных с ожирением; препубертат (I стадия по Таннеру).

Контрольную группу составили 83 пациента (43 мальчика и 40 девочек) соответствующей стадии полового развития по Таннеру (ИМТ $(19,86 \pm 2,24)$ кг/м², возраст $(14,32 \pm 2,30)$ года).

Критерии включения: пубертатный возраст (II–V стадия по Таннеру), нормальная масса тела (ИМТ – 5–84-й перцентиль для возраста и пола).

Критерии исключения: наличие эндокринных заболеваний; хронических заболеваний со стойким нарушением функции внутренних органов; препубертат (I стадия по Таннеру).

Группы детей с ожирением и нормальной массой тела были сопоставимы по полу ($\chi^2 = 1,219$; $p = 0,27$) и возрасту ($p = 0,84$).

Антропометрия проведена по стандартной методике с точностью для роста и окружности талии (ОТ) 0,1 см, для массы тела – 0,1 кг. Индекс массы тела рассчитывали по формуле: ИМТ = масса (кг): рост (м)² [7].

Определены основные показатели липидного (общий холестерин (ОХ), триглицериды (ТГ)) и фосфорно-кальциевого обмена (кальций, фосфор, щелочная фосфатаза (ЩФ)), мочевого кислоты ферментативным методом с помощью наборов реагентов Olympus Life (Германия) на биохимическом анализаторе Olympus AU 400 (Япония). Значения глюкозы в цельной крови исследовали ферментативным методом на автоматическом анализаторе глюкозы Biosen 5030 (Германия). Уровни HbA1C определяли в капиллярной крови реагентами Tosoh Corporation (Япония) на анализаторе HCL-723 GX (Япония), референтный интервал 4,0–6,2 %.

Показатели кортизола, тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (свТ₄) в сыворотке

Таблиця 1

Розподіл частоти генотипів по локусам гену VDR у дітей з ожирінням і нормальною масою тіла, % (абс.)

Генотип	Мальчики		Статистическая значимость различий	Девочки		Статистическая значимость различий
	Ожирение	Контроль		Ожирение	Контроль	
ApaI						
AA	22,2 (4)	58,3 (14)	$\chi^2=9,045$; $p=0,005$	29,4 (5)	51,6 (16)	$\chi^2=5,114$; $p=0,039$
Aa	44,4 (8)	37,5 (9)		58,8 (10)	25,8 (8)	
Aa	33,3 (6)	4,2 (1)		11,8 (2)	22,6 (7)	
TaqI						
TT	55,6 (10)	20,0 (5)	$\chi^2=8,029$; $p=0,009$	41,2 (7)	48,4 (15)	$\chi^2=1,145$; $p=0,232$
Tt	38,9 (7)	44,0 (11)		47,1 (8)	32,3 (10)	
Tt	5,6 (1)	36,0 (9)		11,8 (2)	19,4 (6)	
BsmI						
BB	11,1 (2)	44,0 (11)	$\chi^2=6,001$; $p=0,025$	11,8 (2)	19,4 (6)	$\chi^2=2,277$; $p=0,160$
Bb	44,4 (8)	36,0 (9)		64,7 (11)	41,9 (13)	
Bb	44,4 (8)	20,0 (5)		23,5 (4)	38,7 (12)	
FokI						
FF	27,8 (5)	28,0 (7)	$\chi^2=0,682$; $p=0,355$	29,4 (5)	35,8 (11)	$\chi^2=0,182$; $p=0,456$
Ff	33,3 (6)	44,0 (11)		52,9 (9)	48,4 (15)	
Ff	38,9 (7)	28,0 (7)		17,6 (3)	16,1 (5)	

крови досліджували радіоімунним методом при допомозі наборів фірми «ХОП ИБОХ НАНБ» з використанням гамма-считчика STRATEC SR 300 виробництва Biomedical System AG (Германия). Сировоточну концентрацію інсуліну виявляли імунорадіологічним аналізом (IRMA) (Immunotech, Чехія). Вітамін D в сировотці крові визначали при допомозі наборів DRG Diagnostics (США) методом імуноферментного аналізу (ІФА). Концентрацію адипонектину встановлювали методом ІФА з застосуванням наборів DRG Diagnostics (США). Показателі лептину визначали з допомогою імуносорбентного аналізу з ферментною меткою (ELISA) з використанням наборів DRG Diagnostics (США) на автоматизованій системі планшетного імуноферментного аналізу-тора Freedom evo 75, TECAN Austria GmbH.

Рассчитан индекс инсулинорезистентности [20]:

НОМА-IR = глюкоза натощак • инсулин/22,5, где показатель глюкозы приводится в ммоль/л, а показатель инсулина в мкЕД/мл.

Проведено генотипування по поліморфним алелям ApaI (A/a) (rs7975232), TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410), FokI (F/f) (rs2228570) гену рецептора вітаміну D. Для цього був використаний метод алель-специфічної ПЦР з допомогою лінійних розривуваних проб (TaqMan).

Матеріалом для генотипування була геномна ДНК, виділена з сушених пятен крові, нанесених на фільтровальну папір і висушених при кімнатній температурі. Тест-бланки упаковували в чистий конверт і зберігали при кімнатній температурі не більше 30 суток.

Алель-специфічну ПЦР з допомогою лінійних розривуваних проб (TaqMan) проводили на ампліфікаторі в режимі реального часу CFX96 (Bio-Rad, США) в центрі «Геном» Інституту генетики і цитології Національної академії наук Білорусі.

Статистична обробка даних виконана з допомогою програми IBM SPSS Statistics 22. За рівень статистичної значимості приймали ймовірність $p = 0,05$ (95 % рівень довіри). Проведена перевірка відповідності даних нормальному розподілу за критерієм Колмогорова—Смирнова. Розподіл досліджуваного признаку вважали нормальним при $p > 0,05$.

Результаты и обсуждение

Проведена оцінка по частоті генотипів VDR у дітей з ожирінням і групи контролю (табл. 1). Встановлено статистично значимі відмінності по частоті генотипів і алелів ApaI (A/a) (rs7975232), TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410) VDR між хлопцями з ожирінням і нормальною масою тіла.

У дівчаток з ожирінням не виявлено відмінностей ($p > 0,05$) по частоті генотипів і алелів TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410), FokI (F/f) (rs2228570) VDR (див. табл. 1).

Статистично значимих відмінностей по частоті генотипу FokI (F/f) (rs2228570) VDR не встановлено у хлопчиків і дівчаток з ожирінням по порівнянню з групою контролю.

Таблиця 2

Частота генотипов у дітей с ожирением и контрольной группы по четырем полиморфным локусам гена рецептора витамина D (VDR)

	Генотип	Ожирение (%)	Контроль (%)
1	ttAABBff	2,6	5,0
2	TtAaBbFf	15,4	14,9
3	TtAaBbFf	7,7	7,9
4	TTAabbff	2,6	1,0
5	TTAabbff	0,0	3,0
6	TTAaBbFF	10,3	1,0
7	TTaabbff	0,0	3,0
8	ttAaBBff	0,0	1,0
9	TtAaBbFF	5,1	9,9
10	TtAaBbFF	2,6	3,0
11	TtAaBbff	15,4	6,9
12	TtAaBbff	0,0	3,0
13	TtAaBBff	0,0	1,0
14	TTAabbFF	5,1	2,0
15	TTAabbFf	7,7	6,9
16	TTaabbFf	0,0	5,9
17	TTaabbFF	0,0	1,0
18	TTaabbFF	2,6	5,9
19	TTaabbFf	15,4	4,0
20	ttAABBFF	2,6	3,0
21	ttAABBff	5,1	7,9
22	ttAaBbFF	0,0	1,0
23	ttAaBbFF	0,0	1,0
24	ttAaBbFf	0,0	1,0

По данным исследования А. S. Al-Hazmi (2017), существенной разницы между случаями с ожирением и контролем в аллельных частотах VDR-FokI ($p = 0,63$ и $0,74$) и VDR-ApaI ($p = 0,82$ и $0,64$) не выявлено. Для полиморфизма TaqI установлены значительные различия в частотах генотипов VDR-TaqI между группами ожирения и контроля ($p = 0,039$) (отношение шансов (ОШ) для 'tt' allele = $3,47$, 95% ДИ: $1,1-10,7$) [4].

Мы сопоставили частоту встречаемости сочетаний генотипов по всем изученным полиморфным локусам (табл. 2). В контрольной выборке выявлено 24 сочетания генотипов из 61 возможного, а у детей с ожирением — 14 генотипов. У детей с ожирением и в контрольной выборке наиболее частым был генотип TtAaBbFf (15,4 и 14,2 % соответственно). По данным центра «Геном» Института генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, гетерозиготный генотип TtAaBbFf является самым распространенным (с частотой 8,9 %) среди жителей Республики Беларусь [2].

Таблиця 3

Показатели ИМТ у детей с ожирением при разных генотипах по локусам гена VDR ApaI

Генотип	М + 95 % ДИ	ДР
AA	$34,7 \pm 7,62$	$p_{AA-Aa} = 0,12$
Aa	$31,32 \pm 3,13$	$p_{Aa-aa} = 0,47$
Aa	$30,25 \pm 3,54$	$p_{aa-AA} = 0,14$

Таблиця 4

Показатели ИМТ у детей с ожирением при разных генотипах по локусам гена VDR TaqI

Генотип	М + 95 % ДИ	ДР
TT	$30,44 \pm 3,78$	$p_{TT-Tt} = 0,5$
Tt	$33,50 \pm 5,87$	$p_{Tt-tt} = 0,09$
Tt	$32,68 \pm 4,03$	$p_{tt-TT} = 0,4$

Таблиця 5

Показатели ИМТ у детей с ожирением при разных генотипах по локусам гена VDR BsmI

Генотип	М + 95 % ДИ	ДР
BB	$31,97 \pm 3,59$	$p_{BB-Bb} = 0,5$
Bb	$33,05 \pm 5,46$	$p_{Bb-bb} = 0,1$
Bb	$30,19 \pm 4,06$	$p_{bb-BB} = 0,5$

Таблиця 6

Показатели ИМТ у детей с ожирением при разных генотипах по локусам гена VDR FokI

Генотип	М + 95 % ДИ	ДР
FF	$34,39 \pm 6,88$	$p_{FF-Ff} = 0,14$
Ff	$31,12 \pm 3,89$	$p_{Ff-ff} = 0,79$
Ff	$30,74 \pm 3,25$	$p_{ff-FF} = 0,15$

В нашем исследовании у детей с ожирением с равной частотой (15,4 %) обнаружены генотипы TtAaBbFf; TtAaBbFf (в контрольной выборке 4,4 %); TtAaBbff (6,2 % у детей контрольной группы). Генотип TtAaBbFF преобладал у детей с ожирением (10,3 %) по сравнению с контрольной группой (0,9 %).

Генотип ttAABBff гена VDR, связанный с экспрессией менее активной формы рецептора витамина D, в контрольной выборке встречался почти в 2 раза чаще (5 %), чем у детей с ожирением (2,6 %), так же, как и генотип TtAaBbFF — 5,9 и 2,6 % соответственно.

При сравнении распределения всех частот достоверных различий не обнаружено ($\chi^2 = 16,35$), но если сгруппировать генотипы на отличающиеся по частоте (в табл. 2 номера генотипов 1, 6, 9, 11, 18, 19) и все остальные вместе, то получаются высокодостоверные отличия ($\chi^2 = 17,26$ при $p \leq 0,01$).

По данным исследования N. M. Al-Daghri, гаплотип VDR tBA (rs731236 (TaqI (T/t)), rs1544410 (BsmI (B/b)), rs7975232 (ApaI (A/a)) (rs7975232)) чаще встречается у пациентов с ожирением.

Таблиця 7

Биохимические показатели у пациентов с ожирением и нормальной массой тела в зависимости от генотипа по полиморфным аллелям Apat (A/a) (rs7975232), m + 95 % ДИ, σ (95 % НГДИ-ВГДИ) или Me [LQ; UQ]

Показатель	Генотип AA, m + 95 % ДИ			Генотип Aa, m + 95 % ДИ			Генотип aa, m + 95 % ДИ		
	Ожирение	Контроль	p	Ожирение	Контроль	p	Ожирение	Контроль	p
Глюкоза натощак, ммоль/л	4,22 [3,6; 5,20]	4,64 [4,3; 5,0]	0,3	4,32 [4,3; 5,0]	4,60 [4,20; 5,40]	0,1	4,57 [4,0; 5,10]	4,54 [4,10; 5,10]	0,7
HbA1c, %	5,23 [4,8; 5,8]	5,02 [4,8; 5,2]	0,4	5,10 [4,3; 5,0]	5,18 [4,70; 5,40]	0,6	5,10 [5,0; 5,20]	5,2 [4,80; 5,40]	0,2
ТГ, ммоль/л	1,06 [0,6; 1,90]	0,83 [0,4; 1,20]	0,2	1,32 [0,6; 3,0]	0,75 [0,3; 1,40]	0,03	1,14 [0,7; 2,0]	0,6 [0,3; 0,8]	0,006
ОХ, ммоль/л	4,30 $\pm$ 0,76 (3,17–5,21)	3,94 $\pm$ 0,58 (3,15–5,0)	0,2	4,68 $\pm$ 0,78 (3,49–6,37)	4,16 $\pm$ 0,51 (3,56–5,19)	0,08	3,52 $\pm$ 0,39 (3,06–3,95)	3,9 $\pm$ 0,61 [2,98; 5,00]	0,2
МК, ммоль/л	424,4 [337,60; 494,20]	275,09 [207,70; 429,50]	0,004	362,63 [234,3; 681,5]	304,54 [119,0; 456,3]	0,9	360,53 [209,9; 474,7]	241,13 [212,4; 301,5]	0,05
ЩФ, Е/л	169,13 [62,9; 534,4]	176,18 [86; 441,80]	0,4	112,70 [53,10; 264,30]	245,71 [72,0; 768]	0,02	260,97 [78,0; 487,40]	167,73 [104,3; 298,7]	0,4
Ca, ммоль/л	2,42 $\pm$ 0,08 (2,32–2,55)	2,42 $\pm$ 0,06 (2,35–2,50)	0,4	2,42 $\pm$ 0,07 (2,33–2,53)	2,43 $\pm$ 0,07 (2,29–2,55)	0,8	2,45 $\pm$ 0,12 (2,22–2,56)	2,45 $\pm$ 0,09 (2,31–2,54)	0,8
Ca ионизированный, ммоль/л	1,22 $\pm$ 0,02 (1,19–1,26)	1,14 $\pm$ 0,04 (1,07–1,19)	0,6	1,17 $\pm$ 0,06 (1,11–1,23)	1,15 $\pm$ 0,06 (1,07–1,25)	0,1	1,16 $\pm$ 0,06 (1,09–1,22)	1,27 $\pm$ 0,03 (1,24–1,29)	0,7
Магний, ммоль/л	0,89 [0,89; 0,90]	0,86 [0,77; 0,98]	0,4	0,84 [0,73; 0,91]	0,90 [0,86; 0,96]	0,1	0,90 [0,83; 0,92]	0,93 [0,81; 1,0]	0,7
Фосфор, ммоль/л	1,21 [0,88; 1,50]	1,34 [1,02; 1,73]	0,3	1,28 [0,91; 1,74]	1,37 [1,12; 1,68]	0,2	1,35 [1,21; 1,56]	1,31 [1,1; 1,47]	0,7

Таблиця 8

Гормональные показатели у пациентов с ожирением и нормальной массой тела в зависимости от генотипа по полиморфным аллелям Apat (A/a) (rs7975232), m + 95 % ДИ, Me [LQ; UQ]

Показатель	Генотип AA, m + 95 % ДИ			Генотип Aa, m + 95 % ДИ			Генотип aa, m + 95 % ДИ		
	Ожирение	Контроль	p	Ожирение	Контроль	p	Ожирение	Контроль	p
Инсулин, мкЕд/мл	24,91 [7,00; 49,80]	9,35 [2,99; 17,90]	0,002	15,49 [4,97; 24,90]	7,49 [2,50; 14,20]	0,002	13,37 [6,40; 34,80]	10,69 [5,90; 18,03]	0,8
C-пептид, мкЕд/мл	843,19 [654,0; 1723,0]	502,15 [137; 1073]	0,1	559,38 [397,49; 1112,0]	462,95 [213,50; 823,10]	0,4	391,72 [359,4; 1071,4]	612,55 [404,9; 919,2]	0,06
НОМА-IR	4,85 [1,21; 8,77]	1,62 [0,53; 2,98]	0,007	3,0 [1,04; 4,98]	1,83 [0,50; 3,34]	0,03	2,82 [1,17; 7,11]	2,13 [1,13; 3,45]	0,9
Адипонектин, нг/мл	13,84 [11,90; 14,63]	22,07 [8,12; 57,33]	0,3	24,97 [8,37; 59,46]	18,49 [12,67; 24,55]	0,5	23,13 [7,39; 53,98]	16,99 [16,94; 19,73]	0,8
Витамин D, нг/мл	30,36 [5,71; 47,59]	29,82 [11,03; 40,99]	0,8	29,47 [7,35; 55,81]	32,64 [24,19; 45,01]	0,08	30,50 [18,08; 37,24]	32,96 [29,40; 44,73]	0,7
Лептин, нг/мл	20,48 [4,30; 54,19]	12,99 [0,46; 64,52]	0,3	18,84 [3,35; 56,67]	8,26 [0,74; 42,33]	0,02	32,91 [13,89; 104,10]	14,87 [1,4; 50,57]	0,007

А гаплотип Tba характерен для пациентов с нормальной массой тела [2, 9].

М. А. Rani і соавт. (2000) доказали связь гаплотипа tBA с предрасположенностью к метаболическим нарушениям, диабету 1 типа в немецкой популяции [22].

По результатам исследования статистически значимой разницы в показателях ИМТ у детей с ожирением при разных генотипах по изученным локусам гена не зарегистрировано (табл. 3–6).

По данным польских исследований, также не установлено статистически значимых отличий по массе и ИМТ в зависимости от четырех генотипов VDR (BsmI, FokI, ApaI и TaqI) во всех проанализированных локусах [12].

В 2001 г. W. Z. Ye і соавт. проанализировали связь между полиморфизмом VDR и ожирением у французских пациентов. Ими не установлено отличий в распределении генотипов в исследуемой группе по сравнению с контролем. Выявлено, что для гомозиготного генотипа полиморфизма BsmI характерны более высокие значения ИМТ [24].

В нашей работе в показателях биохимического анализа крови пациентов с ожирением по полиморфному локусу ApaI (A/a) (rs7975232) выявлено статистически значимое увеличение уровня триглицеридов относительно группы контроля ($p(Aa) = 0,03$; $p(aa) = 0,006$) (табл. 7).

Установлено статистически значимое отличие по показателям мочевой кислоты у детей с геноти-

Таблиця 9

Гормональні показателі у пацієнтів з ожирінням і нормальною масою тіла в залежності від генотипа по поліморфним алелям TaqI (T/t) (rs731236), m + 95 % ДІ, Me [LQ; UQ]

Показатель	Генотип TT, m + 95 % ДІ			Генотип Tt, m + 95 % ДІ			Генотип tt, m + 95 % ДІ		
	Ожиріння	Контроль	p	Ожиріння	Контроль	p	Ожиріння	Контроль	p
Інсулін, мкЕд/мл	17,26 [6,4; 41,1]	8,93 [3,3; 18,03]	0,7	16,83 [4,97; 49,8]	7,59 [2,50; 16,1]	0,07	25,3 [9,8; 44,5]	11,55 [2,99; 17,9]	0,2
С-пептид, мкЕд/мл	633,94 [459,0; 1723,0]	585,68 [235,5; 919,2]	0,4	471,51 [397,49; 1112,0]	376,4 [269,5; 929,2]	0,16	1076,03 [728,00; 1454,1]	511,47 [404,9; 826,0]	0,2
НОМА-IR	3,6 [1,17; 8,77]	2,0 [0,71; 3,45]	0,7	3,06 [1,04; 7,97]	1,47 [0,50; 2,65]	0,05	2,82 [1,17; 7,11]	2,3 [0,53; 3,98]	0,2
Адіпонектин, нг/мл	21,03 [7,39; 53,98]	28,64 [12,67; 57,33]	0,04	24,82 [11,6; 59,46]	15,36 [8,12; 24,55]	0,1	14,23 [13,85; 14,81]	15,66 [10,11; 27,35]	0,2
Вітамін D, нг/мл	29,66 [18,08; 34,59]	35,42 [12,35; 44,73]	0,03	29,72 [7,35; 35,81]	36,99 [11,03; 55,01]	0,02	22,06 [5,71; 38,34]	35,92 [25,52; 55,52]	0,2
Лептин, нг/мл	24,66 [3,35; 104,1]	10,79 [0,46; 50,57]	0,01	22,45 [3,66; 56,67]	14,08 [0,74; 64,52]	0,2	24,2 [13,89; 104,10]	9,96 [1,17; 33,31]	0,2

Таблиця 10

Гормональні показателі у пацієнтів з ожирінням і нормальною масою тіла в залежності від генотипа по поліморфним алелям BsmI (B/b) (rs1544410), m + 95 % ДІ, Me [LQ; UQ]

Показатель	Генотип BB, m + 95 % ДІ			Генотип Bb, m + 95 % ДІ			Генотип bb, m + 95 % ДІ		
	Ожиріння	Контроль	p	Ожиріння	Контроль	p	Ожиріння	Контроль	p
Інсулін, мкЕд/мл	25,3 [7,00; 44,50]	11,18 [2,99; 17,90]	0,2	15,49 [4,97; 24,90]	7,06 [2,50; 14,20]	0,3	16,76 [6,40; 41,1]	4,01 [3,3; 18,03]	0,8
С-пептид, мкЕд/мл	1076,03 [728,0; 1454,0]	701,09 [137; 1073]	0,2	559,38 [397,49; 1112,0]	308,26 [213,50; 823,10]	0,5	600,98 [359,4; 1723,4]	585,68 [235,5; 919,2]	0,5
НОМА-IR	4,92 [1,83; 8,5]	1,62 [0,53; 2,98]	0,2	3,16 [1,04; 7,97]	1,47 [0,50; 3,34]	0,2	3,57 [1,17; 8,77]	2,01 [0,71; 3,45]	0,9
Адіпонектин, нг/мл	14,23 [13,85; 14,61]	15,66 [10,11; 27,35]	0,2	22,99 [8,37; 59,46]	25,78 [12,67; 57,33]	0,1	22,85 [7,39; 53,98]	19,64 [12,67; 25,25]	0,9
Вітамін D, нг/мл	23,6 [5,71; 38,34]	34,81 [24,93; 55,52]	0,1	29,26 [7,35; 55,81]	31,56 [24,19; 45,01]	0,4	33,07 [18,08; 37,24]	32,16 [12,35; 44,73]	0,2
Лептин, нг/мл	26,92 [24,2; 29,64]	13,34 [1,17; 64,52]	0,3	21,53 [3,66; 56,67]	11,54 [0,74; 42,33]	0,9	25,41 [3,35; 104,10]	10,64 [0,46; 50,57]	0,03

пом AA і aa ($p(AA) = 0,004$; $p(aa) = 0,05$). Виявлено статистически значиме підвищення рівня щелочної фосфатази у пацієнтів з ожирінням з генотипом Aa відносно групи контролю ($p(Aa) = 0,02$ (табл. 7).

У пацієнтів з генотипами AA і Aa встановлено статистически значиме збільшення показателів інсуліну в сировотці крові відносно групи контролю ($p(AA) = 0,002$; $p(Aa) = 0,002$). Виявлено статистически значиме відхилення по індексу НОМА-IR у дітей з ожирінням відносно групи контролю ($p(AA) = 0,007$; $p(Aa) = 0,03$). Відмічено статистически значиме відхилення по вмісту лептину у дітей з ожирінням відносно групи контролю з генотипом aa ($p(aa) = 0,007$) (табл. 8).

При аналізі біохімічних показателів крові пацієнтів з ожирінням по поліморфному локусу TaqI (T/t) (rs731236) не виявлено статистически значимих відхилень.

У пацієнтів з генотипом TT виявлено статистически значиме відхилення рівня адіпонектину

в сировотці крові відносно сверстників ($p = 0,04$) (табл. 9).

У дітей з ожирінням при генотипах TT і Tt визначено статистически значимо низький вміст вітаміну D відносно групи контролю. Встановлено статистически значиме відхилення в значеннях НОМА-IR при генотипі Tt у дітей з ожирінням і групи контролю ($p = 0,05$). Виявлено статистически значиме відхилення по рівню лептину в сировотці крові при генотипі TT у пацієнтів з ожирінням відносно сверстників з нормальною масою тіла ($p = 0,01$) (см. табл. 9).

У пацієнтів з ожирінням по поліморфному локусу BsmI відхилень в біохімічному аналізі крові не виявлено відносно групи контролю.

У пацієнтів з ожирінням при генотипі bb виявлено відхилення рівня лептину в сировотці крові відносно сверстників ($p = 0,03$) (табл. 10).

Більш низький рівень 25(OH)D3 і більша частота дефіциту вітаміну D (< 20 нг/мл) по даним дослідження М. М. Костик (2014) зареєстровано

ваны у носителей генотипа bb BsmI полиморфного маркера гена VDR [21]. Показано, что носительство полиморфных генетических вариантов сопряжено с разным уровнем витамина D в крови [14].

В работе А. S. Al-Hazmi (2017) доказана отрицательная связь между уровнем 25-(ОН) витамина D и ожирением ($p < 0,01$). Показано, что частота встречаемости генотипа bb (BsmI) и tt (TaqI) выше в группе с ожирением по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). Для генотипа bb характерно наличие высокого ИМТ и НОМА-IR по сравнению с генотипами BB и Bb. Генотип tt также связан с более высокими значениями ИМТ и НОМА-IR по сравнению с генотипами TT и Tt ($p < 0,05$) [4].

По данным J. M. Valdivielso, установлена связь носительства аллеля t и генотипа tt со снижением минеральной плотности кости и предрасположенностью к остеопорозу. Также полиморфизмы BsmI и TaqI ассоциированы с рассеянным склерозом, сахарным диабетом I типа и риском рака простаты и молочной железы. Выявлено, что полиморфизм BsmI/TaqI гена VDR влияет на чувствительность к некоторым заболеваниям, в основе которых лежат нарушения синтеза коллагена [21].

В нашем исследовании у пациентов с генотипом F/f не выявлено статистически значимых отличий по исследуемым биохимическим и гормональным показателям.

В 2006 г. А. Filus и соавт. изучили взаимосвязь между полиморфизмами BsmI и FokI и показателями МС в случайной выборке польских мужчин. Доказано влияние FokI на секрецию инсулина, инсулинорезистентность и уровень холестерина [9, 19].

Выводы

Выявлено статистически значимое увеличение уровня триглицеридов, индекса НОМА-IR, лептина, мочевой кислоты у детей с ожирением по полиморфному локусу ApaI (A/a) (rs7975232) относительно группы контроля.

Значения витамина D со статистически значимо низким содержанием установлено при генотипах TT и Tt у детей с ожирением относительно группы контроля. Отмечена статистически значимая разница в значениях НОМА-IR и лептина по полиморфному локусу TaqI (T/t) (rs731236) у детей с ожирением и группы контроля.

У пациентов с ожирением при генотипе bb выявлено отличие уровня лептина в сыворотке крови относительно сверстников. У пациентов с ожирением при генотипе bb выявлено отличие уровня лептина в сыворотке крови относительно сверстников (25,41 [3,35; 104,10] нг/мл по сравнению с 10,64 [0,46; 50,57] нг/мл; $p = 0,03$).

Конфликт интересов отсутствует. Участие авторов: концепция и дизайн исследования — А. Г. Михно, А. В. Солнцева; сбор и обработка материала — А. Г. Михно, А. В. Солнцева, Е. А. Аксенова, Е. И. Дашкевич; написание текста — А. Г. Михно, А. В. Солнцева, Е. А. Аксенова; редактирование — А. В. Солнцева.

ЛИТЕРАТУРА

1. Absatarova Y. S., Andreeva E. N. Rol vitamina D i melatonina v patogeneze sindroma polikistoznyih yaichnikov. [The role of vitamin D and melatonin in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome]. Ozhirenie i metabolizm. — 2014. — N 1. — С. 20–23.
2. Akseanova E. A., Sil'vanovich A. P., Mixajlovskaya A. V., Danilenko N. G. Osobennosti raspredeleniya chastot polimorfnykh allelej gena receptora vitamina D v populyaciyax e'tnicheskix belorusov // Molekulyarnaya i prikladnaya genetika. — 2016. — T. 21. — S. 71–80.
3. Al-Daghri N. M., Guerini F. R., Al-Attas O. S. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity and inflammome activity // PLoS One. — 2014. — Jul 14. — 9 (7). — e102141. doi: 10.1371/journal.pone.0102141.
4. Al-Hazmi A. S., Al-Mehmadi M. M., Al-Bogami S. M. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms as a risk factor for obesity in Saudi men // Electron. Physician. — 2017. — Oct 25. — 9 (10). — P. 5427–5433. doi: 10.19082/5427. eCollection 2017 Oct.
5. Besesen D. H. Update on obesity // J. Clin. Endocrinol. Metab. [PubMed: 18539769].
6. Borodich T. S. Svyaz' polimorfizmov gena receptora vitamina D s ozhireniem i vospalitel'noj reakciej // Ozhirenie i metabolizm. — 2014. — 3. — С. 64–65.
7. Bouillon R., Carmeliet G., Verlinden L. et al. Vitamin D and human health: Lessons from vitamin D receptor null mice // Endocrine Reviews. — 2008. — 29. — P. 720–726.
8. Earl S. Ford, Umed A. Ajani, Lisa C. McGuire, Simin Liu. Concentrations of Serum Vitamin D and the Metabolic Syndrome Among U.S. Adults // Diabetes care. — 2005. — Vol. 28 (5). — P. 1228–1230.
9. Filus A., Trzmiel A., Kuliczowska-Plaksej J. et al. Relationship between vitamin D receptor BsmI and FokI polymorphisms and anthropometric and biochemical parameters describing metabolic syndrome // Aging Male. — 2008. — 11. — P. 134–139.
10. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Spirichev V. B. Polnocennyj analiz sajtoy svyazyvaniya receptora vitamina D // Medicinskij sovet. — 2016. — 1. — S.12–21.
11. Hypponen E., Power C. Vitamin D status and glucose homeostasis in the British Birth Cohort // Diabetes Care. — 2006. — N 29 (10). — P. 2244–2246.
12. Jakubowska-Pietkiewicz E., Klich I., Fendler W. et al. Effect of Vitamin D Receptor gene (VDR) polymorphism on body height in children-own experience // Postepy Higieny Medycyny Doswiadczalnej. — 2013. — 67. — P. 873–878.
13. Judd S. E., Nanes M. S., Ziegler T. R. et al. Optimal vitamin D status attenuates the age-associated increase in systolic blood pressure in white Americans: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey // The American Journal of Clinical Nutrition. — 2008. — Jan. — 87 (1). — P. 136–141.
14. Kostik M. M., Shheplyagina L. A., Larionova V. I. Rol' geneticheskogo polimorfizma gena receptora vitamina D (VDR) v patogeneze yuvenil'nogo idiopaticeskogo artrita: teoreticheskie i prakticheskie aspekty // Sovremennaya revmatologiya. — 2014. — 3. — С. 28–33.
15. Kuprienko N. B., Smirnova N. N. Vitamin D, ozhirenie i risk kardioresnal'nykh narushenij u detej // Arterial'naya gipertenziya. — 2015. — 21. — 1. — S.48–58.
16. Melnichenko G. A. Ozhirenie v praktike endokrinologa // Rossiyskij meditsinskij zhurnal. — 2001. — T. 9. — P. 82–87.
17. Mietus-Snyder M. L., Lustig R. H. Childhood obesity: adrift in the «limbic triangle» // Annu. Rev. Med. — 2008 [PubMed: 17845135].
18. Pfeifer M., Begerow B., Minne H. W. et al. Effects of a long-term vitamin D and calcium supplementation on falls and parameters of muscle function in community-dwelling older individuals // Osteoporos. Int. — 2009.
19. Schuch N. J., Garcia V. C., Vivolo S. R., Martini L. A. Relationship between Vitamin D Receptor gene polymorphisms and the

- components of metabolic syndrome // Nutr. J. — 2013. — 15. — P. 96.
20. Solnceva A. V. Sovremennye principy diagnostiki ozhireniya u detej: ucheb.-metod. posobie / A. V. Solnceva, A.V.Sukalo. — Minsk: BGMU, 2008. — 32 s.
21. Valdivielso J. M., Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases // Clin. Chim. Acta. — 2006. — Vol. 371, N 1–2. — P. 1–12.
22. Vitamin D receptor allele combinations influence genetic susceptibility to type 1 diabetes in Germans / M. A. Pani et al. // Diabetes. — 2000. — Vol. 49, N 3. — P. 504–507.
23. Vorslov L. O., Tyuzikov I. A., Kalinchenko S. Yu. et al. Kvartet zdorov'ya — novaya koncepciya sovremennoj profilakticheskoy mediciny // Lechashhij vrach. — 2015. — N 12. — S. 28–33.
24. Ye W. Z., Reis A. F., Dubois-Laforgue D. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity in type 2 diabetic subjects with early age of onset // Eur. J. Endocrinol. — 2001. — 145. — P. 181–186.

Особливості поліморфізму гена рецептора вітаміну D і його зв'язок з показниками метаболічного статусу в дітей з ожирінням

А. Г. Михно¹, А. В. Солнцева², Е. А. Аксьонова³, Е. І. Дашкевич⁴

¹ УЗ «Друга міська дитяча клінічна лікарня», Мінськ, Республіка Білорусь

² Білоруський державний медичний університет, Мінськ

³ Інститут генетики і цитології НАН Білорусі, Мінськ

⁴ УЗ «Десята міська клінічна лікарня», Мінськ, Республіка Білорусь

Мета роботи — виявити особливості поліморфізму гена рецептора вітаміну D і його зв'язок з показниками метаболічного статусу в дітей з ожирінням і нормальною масою тіла.

Матеріали та методи. Проведено обстеження 39 дітей (19 хлопчиків і 20 дівчаток) з ожирінням (індекс маси тіла (ІМТ) $(30,60 \pm 2,06)$ кг/м², вік $(13,23 \pm 2,27)$ року).

Визначено основні показники ліпідного та фосфорно-кальцієвого обміну, сечова кислота, глікозилований гемоглобін у біохімічному аналізі крові. Гормональний статус: інсулін, лептин, адипонектин, кортизол, тиреотропний гормон, вільний тироксин, вітамін D.

Проведено генотипування за поліморфними алелями ApaI (A/a) (rs7975232), TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410), FokI (F/f) (rs2228570) гена рецептора вітаміну D.

Результати та обговорення. Встановлено статистично значущі відмінності за частотою генотипів і алелей ApaI (A/a) (rs7975232), TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410) VDR між хлопчиками з ожирінням і нормальною масою тіла.

У дівчаток з ожирінням не виявлено статистично значущих відмінностей за частотою генотипів і алелей TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410), FokI (F/f) (rs2228570) VDR.

У показниках біохімічного аналізу крові пацієнтів з ожирінням за поліморфним локусом ApaI (A/a) (rs7975232) виявлено статистично значуще збільшення рівня тригліцеридів ($p(Aa) = 0,03$; $p(aa) = 0,006$), сечової кислоти ($p(AA) = 0,004$; $p(aa) = 0,05$), рівня лужної фосфатази ($p(Aa) = 0,02$) щодо групи контролю ($p(Aa) = 0,03$; $p(aa) = 0,006$).

У пацієнтів з генотипами AA і Aa встановлено статистично значуще збільшення показників інсуліну в сироватці крові щодо групи контролю ($p(AA) = 0,002$; $p(Aa) = 0,002$). Виявлено статистично значущу відмінність за індексом НОМА-IR у дітей з ожирінням щодо групи контролю ($p(AA) = 0,007$; $p(Aa) = 0,03$). Відзначено статистично значущу відмінність за вмістом лептину у дітей з ожирінням щодо групи контролю з генотипом aa ($p(aa) = 0,007$).

Висновки. Виявлено статистично значуще збільшення рівня тригліцеридів, індексу НОМА-IR, лептину, сечової кислоти у дітей з ожирінням за поліморфним локусом ApaI (A/a) (rs7975232) щодо групи контролю.

Ключові слова: поліморфізм гена VDR, вітамін D, ожиріння, діти.

Peculiarities of vitamin D receptor gene polymorphism and its connection with indicators of metabolic status in children with obesity

H. G. Mikhno¹, A. V. Solntsava², E. A. Aksyonova³, H. I. Dashkevich⁴

¹ Second City Children's Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus

² Belarusian State Medical University, Minsk

³ Institute of Genetics and Cytology, NAS of Belarus, Minsk

⁴ 10th City Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus

Objective – to identify peculiarities of vitamin D receptor gene polymorphism and its connection to indicators of metabolic status in children with obesity and normal body mass.

Materials and methods. We have examined 39 children (19 boys and 20 girls) with obesity (body mass index (BMI) (30.6 ± 2.06) kg/m², age (13.23 ± 2.27) years)).

We have determined the main indicators of lipid and phosphorus-calcium metabolism, uric acid, glycated hemoglobin in biochemical analysis of blood. Hormonal state: insulin, leptin, adiponectin, cortisol, thyroid stimulating hormone, free thyroxine, vitamin D.

We have conducted genotyping of vitamin D receptor gene by ApaI (A/a) (rs7975232), TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410), FokI (F/f) (rs2228570) polymorphic alleles.

Results and discussion. We have identified statistically significant differences by frequency of genotypes and ApaI (A/a) (rs7975232), TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410) VDR alleles between boys with obesity and normal body mass.

There have been no identified statistically significant differences by frequency of genotypes and TaqI (T/t) (rs731236), BsmI (B/b) (rs1544410), FokI (F/f) (rs2228570) VDR alleles in girls with obesity.

In indicators of biochemical analysis of blood of patients with obesity by ApaI (A/a) (rs7975232) polymorphic locus we have identified statistically significant increase of (p(Aa) = 0.03; p(aa) = 0.006) triglyceride, (p(AA) = 0.004; p(aa) = 0.05) uric acid and (p(Aa) = 0.02) alkaline phosphatase level as to the (p(Aa) = 0.03; p(aa) = 0.006) control group.

In patients with AA and Aa genotypes there has been determined a statistically significant increase of insulin indicators in blood serum as to the (p(AA) = 0.002; p(Aa) = 0.002) control group. We have identified a statistically significant difference by HOMAIR index in children with obesity as to the (p(AA) = 0.007; p(Aa) = 0.03) control group. There has been a noted statistically significant difference by leptin level in children with obesity as to the (p(aa) = 0.007) control group with aa genotype.

Conclusions. We have identified a statistically significant increase of triglyceride, HOMAIR index, leptin and uric acid level in children with obesity by ApaI (A/a) (rs7975232) polymorphic locus as to the control group.

Key words: VDR gene polymorphism, vitamin D, obesity, children.