

# ИНСЕРЦИОННО-ДЕЛЕЦИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ГЕНЕ ХИТОТРИОЗИДАЗЫ (CHIT1) В ЧЕТЫРЕХ ЭТНО-ТЕРРИТОРИАЛЬНЫХ ГРУППАХ РОССИИ

С.В. Макаров<sup>1</sup>, М.К. Карапетян<sup>1,2</sup>, Н.В. Балинова<sup>3</sup>, Л.В. Бец<sup>2</sup>, В.А. Спицын<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, Москва

<sup>2</sup>МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра антропологии, Москва

<sup>3</sup>ФГБУ «Институт этнологии и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая» РАН, Москва

В конце прошлого века в плазме крови человека был обнаружен фермент с хитиноподобной активностью, получивший название хитотриозидазы (CHIT1). Было установлено, что он является важным компонентом врожденного иммунитета человека, неспецифическим продуктом синтеза активированных макрофагов и, возможно, участвует в борьбе с хитин-содержащими патогенами. У человека при заболеваниях паразитарной, инфекционной и наследственной природы (лиозомные болезни накопления, болезнь Гоше), при сердечнососудистых и некоторых онкологических заболеваниях уровень продукции данного фермента может возрасти в сотни раз. Ген, кодирующий CHIT1, имеет вариации в нуклеотидной последовательности, и одной из наиболее распространенных является дупликация 24 пар нуклеотидов в экзоне 10. Высказывалось предположение о том, что индивиды, гомозиготные по дупликации, менее устойчивы к инвазии хитин-содержащих патогенов. Имеются данные, что наименьшая частота встречаемости дупликации характерна для групп африканского происхождения, в европеоидных группах она имеет промежуточные значения, а максимум – в монголоидных популяциях.

Ввиду своей клинической значимости и возможной связи с развитием малярии, хитотриозидаза человека привлекла большое внимание исследователей. Поэтому изучение гена CHIT1 представляет значительный интерес как с медицинской, так и антропологической точки зрения. Цель настоящей работы – исследовать распределения вариантов гена CHIT1 в различных популяциях РФ, провести сравнительный анализ с данными по другим популяциям человека и определить взаиморасположение изученных групп, используя метод генетических расстояний.

В исследование были включены выборки из популяций калмыков (n=149), ненцев (n=85), хантов (n=139) и русских (n=106). Из образцов крови была выделена ДНК для генотипирования по 24-п.н-полиморфизму (rs3831317) гена CHIT1 методом полимеразной цепной реакции. Представлены распределения частот аллелей и генотипов. Для русских частоты генотипов составили: ТТ – 68.9%, ТН – 30.2%, НН – 0.9%; для хантов: ТТ – 36%, ТН – 48.2%, НН – 15.8%; для калмыков: ТТ – 23.5%, ТН – 54.4%, НН – 22.1%; для ненцев: ТТ – 16.5%, ТН – 49.4%, НН – 34.1%. Проведен сравнительный анализ по распределению частот аллелей в изученных выборках с литературными данными о других популяциях человека. Определено взаиморасположение исследованных популяций среди мирового народонаселения. Показано, что полиморфизм CHIT1, определяемый на уровне ДНК, оказался эффективным инструментом для решения задач в области этнической антропологии.

Ключевые слова: этническая антропология, генетический полиморфизм, хитотриозидаза человека, 24-п.н.-дупликация, частоты аллелей, популяционная генетика человека, филогенез

## Введение

Хитин, впервые открытый еще в 1811 г. при исследовании состава грибов под наименованием фунгин, является одним из самых распространенных биополимеров в природе, уступая по встречаемости лишь целлюлозе. Он представляет собой азотсодержащий полисахарид, состоящий из

N-ацетил-D-глюкозаминных структурных единиц, связанных beta-(1,4)-гликозидными связями, и близок к целлюлозе по строению, физико-химическим свойствам и биологической роли. Хитин в своем составе имеет огромное множество живых существ – насекомые, грибы, бактерии, простейшие и т.д., включая паразитов (нематоды). Еще большее количество (практически все царства,

включая растения) составляют живые организмы, вырабатывающие ферменты – хитиназы, разрушающие хитин. Homo sapiens исключением из него не является. У человека обнаружены несколько ферментов, принадлежащих к классу хитиназ [Renkema et al., 1995], и по меньшей мере два фермента обладают хитинолитической активностью – хитотриозидаза (ХТ) и кислая хитиназа млекопитающих. Оба фермента продуцируются макрофагами, но, по всей видимости, кислая хитиназа экспрессируется в основном в легких и желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), а хитотриозидаза идентифицируется как в крови, так и в ряде других органов, включая ЖКТ, печень, сердце, мозг, легкие [Malaguana, 2006; Cozzarini et al., 2009; Ober, Chupp, 2009]. Хитиназы человека причисляют к семейству GH18 гидролаз и они обнаруживают структурное сходство с хитиназами других организмов (бактерий, грибов, вирусов, животных, растений и насекомых) [Renkema et al., 1995; Cozzarini et al., 2009].

Впервые ХТ была обнаружена в 1990-х гг. в плазме пациентов, страдающих болезнью Гоше. В крови таких больных уровень активности хитотриозидазы в сотни раз превышает нормальные значения [Renkema et al., 1995]. Соответственно эффективности терапии уровень активности ХТ изменяется [Hollak et al., 2001] таким образом, что ХТ используется как важный клинический маркер при диагностике болезни Гоше и мониторинге состояния пациента. Повышенный уровень ХТ наблюдается и при некоторых других лизосомных болезнях накопления [Guo et al., 1995], а также при атеросклерозе [Artieda et al., 2003; Boot et al., 1999], эндометриозе [Alanbay et al., 2012], саркоидозе [Bargagli et al., 2007], малярии [Barone et al., 2003; Chien et al., 2005], бета-талассемии [Barone et al., 1999], болезни Альцгеймера, цереброваскулярной деменции [Di Rosa et al., 2006], неалкогольном стеатогепатите [Malaguana et al., 2006]. По всей видимости, ХТ принимает участие в иммунном ответе организма, хотя ее роль при воспалении до конца не ясна. Считается, что хитинолитическая активность ХТ указывает на ее участие в противодействии хитин-содержащим патогенам, попавшим в организм человека, (подобную функцию выполняют хитиназы у растений) [Salzer et al., 2000; Kasprzewska, 2003]. *In vitro* показана литическая активность хитотриозидазы по отношению к гифам *Mucor gouxi* и ингибирующее влияние на рост *Candida albicans*. У мышей с нейтропенией, получивших летальную дозу *Candida albicans* или *Aspergillus*, выживаемость повышалась при введении человеческой рекомбинантной хитотриозидазы [van Eijk et al., 2005]. Показано также, что у человека экспрессия ХТ увеличива-

ется при заражении его пищеварительного тракта *C. albicans* или *H. pylori* [Cozzarini et al., 2009].

Имеются свидетельства, что ХТ может участвовать в лизисе раковых клеток [Cozzarini et al., 2009]. Предположение об участии ХТ в развитии аллергических реакций и астмы не подтверждается [Bierbaum et al., 2006; Ober, Chupp, 2009; Wu et al., 2010], хотя некоторые авторы обнаруживают повышенную активность этого фермента у астматиков [Bargagli et al., 2010]. С другой стороны, есть данные о том, что дефицит ХТ может привести к развитию астмы из-за того, что организм не способен в полной мере бороться с патогенами грибковой природы, провоцирующими ее развитие [Vicencio et al., 2010]. В отличие от ХТ, кислая хитиназа человека, вероятно, не участвует в иммунном ответе организма [Cozzarini et al., 2009], однако обнаружено участие этого фермента в патогенезе астмы [Malaguana, 2006].

Хитотриозидаза человека кодируется геном *CHIT1*, протяженностью около 20 кб, который расположен на длинном плече 1-й хромосомы (1q31-32) и имеет 12 экзонов [Eiberg, Den Tandt, 1997]. Кроме множества SNP в гене *CHIT1* в 10 экзоне обнаружен инсерционно/делеционный (indel) полиморфизм – отсутствие (аллель Т) / наличие (аллель Н) дупликации 24 пар нуклеотидов (п.н.). Эта мутация (аллель Н) приводит к абберантному сплайсингу, при котором из созревающей мРНК вырезаются 87 нуклеотидов, что приводит к потере 29 аминокислотных остатков в каталитическом центре белка так, что синтезируемый продукт полностью теряет ферментативную активность [Boot et al., 1998]. В результате у людей, гомозиготных по дупликации, наблюдается практически нулевая активность ХТ.

Мутантный аллель Н *CHIT1* (дупликация) имеет довольно высокую встречаемость у населения Азии (среди монголоидов), где его доля может превышать 60%. Наименьшая встречаемость наблюдается в популяциях Африки (среди бантоидных племен), практически до полного его отсутствия (0-7%). Для европеоидов характерны промежуточные частоты (15-35%).

Ввиду своей клинической значимости и возможной связи с развитием малярии, именно хитотриозидаза получила наибольшее внимание исследователей. Поэтому изучение гена *CHIT1* представляет значительный интерес как с медицинской, так и антропологической точки зрения. Цель настоящего исследования – генотипировать по 24-п.н.-indel-полиморфизму гена *CHIT1* популяции калмыков, ненцев, хантов и русских, выявить распределения частот генотипов и аллелей, а также провести сравнительный анализ с литературными данными по частотам факторов *CHIT1*

в других популяциях человека и, таким образом, определить их взаиморасположение среди мирового народонаселения.

### Материалы и методы

В исследование были включены образцы крови от групп населения с четырех территорий РФ: ненцев (п. Яр-Сале, п. Панаевск, ЯНАО, п-в Ямал, n=85), хантов (Сургутский р-н Тюменской обл., n=139); калмыков (Астраханская обл., n=149), русских (Москва, n=106). Выборки составлены из совершеннолетних представителей обоего пола. Сбор биоматериала осуществлялся с получением информированного согласия от каждого обследуемого. Анкетирование предусматривало установление этнической принадлежности до третьего поколения, соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.).

Выделение ДНК производилось с использованием набора «ДНК-сорб-В» (ЦНИИЭ Роспотребнадзора) в соответствии с рекомендациями производителя.

Анализ indel-полиморфизма в 10 экзоне гена *CHIT1* (rs3831317) осуществлялся методом PCR-AFLP. Амплификацию проводили на приборе «С1000» (производитель Bio-Rad, США) в течении

33 циклов при температуре: 95°C – 9 с, 57°C – 20 с, 72°C – 1 с в 25 мкл реакционной смеси содержащей: 0.1–100 нг ДНК; 0.2 мМ каждого dNTP; по 1 мкМ каждого праймера (5' – AGCTATCTGAAGCAGAAG – 3' и 5' – GGAGAAGCCGGCAAAGTC – 3'); 0.5 ед. Dream Taq-полимеразы (производитель Fermentas, Литва), 2.5 мкл 10-кратного буфера Dream Taq Green.

Амплифицированные фрагменты (99 и 75 п.н., соответствующие присутствию Н и Т аллелям, разделяли методом электрофореза в 3% агарозном геле с последующей визуализацией в УФ-свете. Электрофореграмма представлена на рис. 1.

Статистическая обработка проводилась с использованием пакета программ «Statistica 6.0» (StatSoft Inc.). Для построения дендрограммы результатов кластеризации генетических расстояний по Нею использовалась программа «DISPAN» (Tatsuya Ota и Пенсильванский государственный университет, США [URL: <http://homes.bio.psu.edu>]).

### Результаты и обсуждение

В таблице 1 и 2 представлены распределения частот аллелей и генотипов indel-полиморфизма (rs3831317) в 10 экзоне гена *CHIT1*, полученные в результате генотипирования изученных нами популяций и анализа литературных источников.

Распределение генотипов во всех четырех исследованных выборках соответствует равновесному по Харди-Вайнбергу. Относительно низкая частота аллеля Н у русских (0.16) оказалась близкой к характерной для европейцев. У хантов она достигает 0.399, а у калмыков – 0.493. Наиболее высокая частота мутации Н получена для выборки ненцев (0.589). Заметим, что частота аллеля Н, наблюдаемая в группе ненцев, близка к мировому максимуму.

При попарном сравнении по трем генотипам русские статистически достоверно отличались от хантов, калмыков и ненцев (при d.f.=2  $\chi^2=31.98$ , 59.17, 65.98 соответственно). Кроме того, ханты имели достоверные различия с ненцами (при d.f.=2  $\chi^2=14.79$ ), но не с калмыками. Различия между калмыками и ненцами были не достоверны. Анализ сравнения по отдельным генотипам показал, что русские по частоте каждого генотипа значимо отличаются от всех исследованных групп, ханты и калмыки достоверно различны по частоте ТТ (при d.f.=1  $\chi^2=5.39$ ), ханты и ненцы – по частотам гомозигот ТТ и НН ( $\chi^2=9.83$  и 10.03), но не гетерозигот, а существенное различие между калмыками и ненцами выявляется лишь по частоте НН ( $\chi^2=3.98$ ). Таким образом калмыки занимают промежуточное положение между хантами и ненцами, а ханты – между русскими и калмыками.

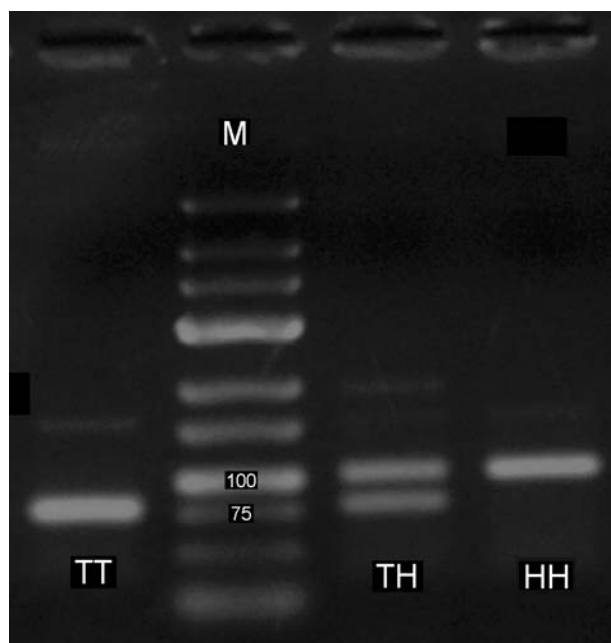


Рис. 1. Электрофореграмма результатов амплификации фрагментов гена *CHIT1* (буквами обозначены соответствующие генотипы, М – маркер массы)

**Таблица 1. Частоты генотипов и аллелей Т и Н гена CHIT1 в четырех этно-территориальных группах России**

Группы	n	Генотипы (N)			Частота аллеля	
		ТТ	ТН	НН	*Т	*Н
Русские (г. Москва)	106	73	32	1	0.840	0.160
Ханты (Тюменская обл.)	139	50	67	22	0.601	0.399
Калмыки (Астраханская обл.)	149	35	81	33	0.510	0.490
Ненцы (п-ов Ямал)	85	14	42	29	0.411	0.589

**Таблица 2. Частоты генотипов и аллелей Т и Н гена CHIT1 в различных популяциях мира**

Страна (географический регион), группа	n	Генотипы (N)			Частота аллеля		Источник
		ТТ	ТН	НН	*Т	*Н	
Португалия	295	177	110	8	0.786	0.214	Rodrigues et al., 2004
Марокко	86	68	18	0	0.895	0.105	Piras et al, 2007a
Сицилия	100	51	44	5	0.730	0.270	Malaguamera et al., 2003
Сардиния	107	68	35	4	0.790	0.210	Malaguamera et al., 2003
Сардиния	340	233	95	12	0.825	0.175	Piras et al, 2007a
Испания	103	63	33	7	0.772	0.228	Piras et al, 2007a
Страна Басков	60	46	14	0	0.883	0.117	Piras et al, 2007a
Конт. Франция	128	76	40	12	0.750	0.250	Piras et al, 2007a
Корсика	194	145	47	2	0.869	0.131	Piras et al, 2007a
Центральная Корсика	300	205	85	10	0.827	0.173	Piras et al., 2007b
Конт. Италия	99	63	34	2	0.808	0.192	Piras et al, 2007a
Европа, евреи ашкенази	68	41	23	4	0.772	0.228	Boot et al., 1998
Голландия	171	100	60	11	0.760	0.240	Boot et al., 1998
Финляндия	50	–	–	–	0.800	0.200	Choi et al, 2005
Германия	266	170	85	11	0.789	0.211	Bierbaum, 2006
Турция	95	63	28	4	0.811	0.189	Piras et al, 2007a
США, европеоиды	229	145	83	1	0.810	0.190	Choi et al, 2001
США, европеоиды	984	–	–	–	0.830	0.170	Lee et al, 2007
Южная Индия	67	7	39	21	0.600	0.400	Choi et al, 2001
США, индийцы	74	–	–	–	0.630	0.370	Lee et al, 2007
США, корейцы	80	–	–	–	0.420	0.580	Lee et al, 2007
США, японцы	326	–	–	–	0.460	0.540	Lee et al, 2007
США, сев.китайцы	36	–	–	–	0.500	0.500	Lee et al, 2007
США, юж.китайцы	272	–	–	–	0.360	0.640	Lee et al, 2007
США, Тайваньцы	40	–	–	–	0.550	0.450	Lee et al, 2007
Тайвань	82	–	–	–	0.420	0.580	Chien et al, 2005
США, монголоиды	2054	–	–	–	0.440	0.560	Lee et al, 2007
США, выходцы из Юго-Восточной Азии	1020	–	–	–	0.430	0.570	Lee et al, 2007
Папуа-Новая Гвинея (Восточный Сепик)	906	694	205	7	0.880	0.120	Hise et al., 2003
Папуа-Новая Гвинея (Маданг)	279	155	108	16	0.749	0.251	Hall et al.,2007
Бенин	100	100	0	0	1.000	0.000	Malaguamera et al., 2003
Буркина Фасо	99	97	2	0	0.990	0.010	Malaguamera et al., 2003
Бразилия	122	59	52	11	0.700	0.300	Rodrigues et al, 2009
США, негроиды	175	159	14	2	0.950	0.050	Choi et al, 2001
США, негроиды	536	–	–	–	0.930	0.070	Lee et al, 2007
США, выходцы из Ближнего Востока	26	–	–	–	0.650	0.350	Lee et al, 2007

Так как распространенность вариантов гена *CHIT1* заметно отличается между тремя большими расами, представлялось целесообразным вычислить соотношение европеоидной и монголоидной примеси у хантов, воспользовавшись формулой, применяемой для изучения смешанных популяций:

$$\frac{c}{c+d} = \frac{q_n - q_d}{q_c - q_d},$$

где  $c$  – численность в популяции  $C$ ,  $d$  – численность в популяции  $D$ ,  $q_n$  – частота аллеля в смешанной популяции (в нашем случае – у хантов),  $q_d$  – частота аллеля в исходной популяции  $D$  (средняя по европеоидам),  $q_c$  – частота аллеля в исходной популяции  $C$  (средняя по монголоидам). Вычислив средние частоты аллеля  $H$  для популяций «чистых» европеоидов и монголоидов, мы получили для хантов 56.7% монголоидной и 43.3% европеоидной примеси. Эти величины приближаются к средним значениям западноевразийской примеси у хантов и манси, полученным при анализе по маркерам однородительского наследования (около 58.7–68.9% по данным мтДНК и 23.4–10.7% – по данным Y-хромосомы [Pimenoff et al., 2008]).

При сравнении русских с другими группами европеоидов по распределению генотипов, достоверные различия обнаружены с населением Сицилии (при  $d.f.=2\chi^2=8.3$ ), Франции ( $\chi^2=8.26$ ), Голландии ( $\chi^2=6.16$ ) и Южной Индии ( $\chi^2=67.99$ ). Парный сравнительный анализ по отдельным генотипам показал, что у русских наблюдается значимо большая доля гомозигот  $TT$  и меньшая – гетерозигот, чем у сицилийцев; у французов и голландцев в сравнении с русскими повышена частота гомозигот  $HH$ ; у южных индийцев и русских статистически достоверные различия наблюдаются по всем трем генотипам.

Картину разнообразия в распределении частот аллелей в популяциях *a priori* можно попытаться объяснить, выдвигая гипотезы об отсутствии или присутствии действия естественного отбора (положительного или отрицательного) на фенотип, кодируемый этими аллелями.

Принимая во внимание гипотетическую функциональную роль ХТ и ее важное значение в борьбе организма с патогенами, можно предположить, что в популяциях, проживающих в среде с высокой патогенной нагрузкой (например, в Африке), вариант дупликации испытывает элиминирующее воздействие, и частота мутантного аллеля должна быть сведена к минимуму. При ослаблении давления отбора на устойчивость к патогенам, частота мутации может повышаться [Malaguagnera, 2006]. По данным М. Musumeci с соавторами [Musumeci et al., 2005], у африканских женщин в первый день после родов активность ХТ в моло-

зиве повышается в сотни раз по сравнению с аналогичным значением у европеоидных женщин, что может быть одним из средств защиты новорожденного от патогенов. Имеются данные о повышении активности ХТ при заражении грибковыми и бактериальными инфекциями [Labadaridis et al., 2005], малярийным плазмодием [Piras et al., 2007b], *H. pylori* [Cozzarini et al., 2009]. Выявлена повышенная заражаемость филариями гомозиготных носителей по аллелю  $H$  [Choi et al., 2001]. По мнению L. Malaguagnera [Malaguagnera, 2006] повышение активности ХТ при заражении организмом *Plasmodium falciparum* может быть связано с активацией макрофагов, отражающей, в свою очередь, биохимические и реологические изменения, происходящие в крови больного.

С другой стороны, существуют противоречивые наблюдения – отсутствие закономерности в распределении вариантов *CHIT1* и зонами высокой активности малярийного плазмодия за пределами Африканского континента – на Сицилии, в Юго-Восточной Азии [Chien et al., 2005; Piras et al., 2007b]. Механизм участия ХТ в борьбе с малярийным плазмодием представляется неясным. Более того, есть данные о том, что ХТ человека может кооперировать с хитиназой малярийного плазмодия, способствуя его пенетрации через перитрофную мембрану в кишечнике комара [van Eijk et al., 2005]. Перитрофная мембрана – это защитное образование из хитина и белков, возникающее у комара вокруг пищевого комка и предохраняющее ткани кишечника [Shahabuddin et al., 1993]. Таким образом низкая, практически нулевая частота мутантного аллеля  $H$  в популяциях Африки может иметь другие причины, не связанные с распространенностью малярии. Некоторые исследования не обнаруживают никакой связи между вариантом гена *CHIT1* и подверженностью заражению [Hise et al., 2003; Hall et al., 2007].

Гипотеза адаптивного преимущества инактивированного белка также может быть принята к рассмотрению, если такое состояние по каким-либо причинам окажется выгодным. Ее косвенное подтверждение Р. Lee с соавторами [Lee et al., 2007] усматривает в существовании других полиморфизмов (SNP) – G354R и A442V, которые также приводят к снижению активности фермента. В качестве предположения авторы высказывают мысль, что хитинолитическая активность ХТ мешает организму вырабатывать устойчивость к патогенам, т.к. сам хитин оказывает стимулирующее влияние на активность макрофагов. Следовательно, расщепляя хитин, хитотриозидаза мешает ему выполнять иммуностимулирующую функцию [Lee et al., 2007]. Тем не менее, отсутствие гомозигот по аллелю  $H$  среди исследованных дол-

гожителей [Malaguarnera et al., 2010] ставит под сомнение эту гипотезу, хотя повышенная частота гетерозигот (ТН) среди долгожителей может указывать на некоторое преимущество пониженной, но не отсутствующей, активности ХТ.

Наконец, существует гипотеза, согласно которой дупликация *CHIT1* (инактивной ХТ) является нейтральной с точки зрения естественного отбора, а ее распространение в мировых популяциях является результатом случайных процессов. Это подтверждается распределением частот индексного коэффициента Морана [Pigas et al., 2007a]. Следуя данному предположению, дупликация, вероятнее всего, возникла в Азии – регионе с наиболее высокой частотой аллеля Н – и оттуда распространилась в другие области ойкумены. Возможно также, что аллель Н возник на Африканском континенте, но впоследствии был утрачен в африканских популяциях.

Для определения взаиморасположения популяций, представленных в таблице 1 и 2, нами был проведен кластерный анализ на основе расчета генетических расстояний ( $D_A$ ) по Нею [Nei et al., 1983] и построена дендрограмма (рис. 2).

Рассмотрение дендрограммы, отражающей различия в распределении частот аллелей гена *CHIT1* у населения мира, позволяет сформулировать следующие выводы.

1. Позиция кластеров ветвления популяций отражает общепринятую этно-антропологическую специфичность дифференциации группировок человечества: европеоидной, монголоидной и негроидной составляющих. При этом не отмечается трансгрессии популяций, относящихся к разным расам.
2. Обращают на себя внимание весьма близкие генетические расстояния между европейскими популяциями.
3. В пределах каждой из расовых группировок расстояния между монголоидными и негроидными популяциями оказываются существенно больше, чем дистанции между самими европеоидными популяциями.
4. Изученные в настоящей работе ханты, как и следовало ожидать, занимают промежуточную позицию между европеоидными и монголоидными группами. Их генетическая сопряженность на дендрограмме вместе с индийскими группами отражает промежуточное положение как тех, так и других к популяциям, географически соприкасающимся с монголоидными и европеоидными группами. Та же пространственная позиция, свидетельствующая о вкладе монголоидного и европеоидного компонентов в генетическую структуру калмыков, характеризует их положение на дендрограмме.

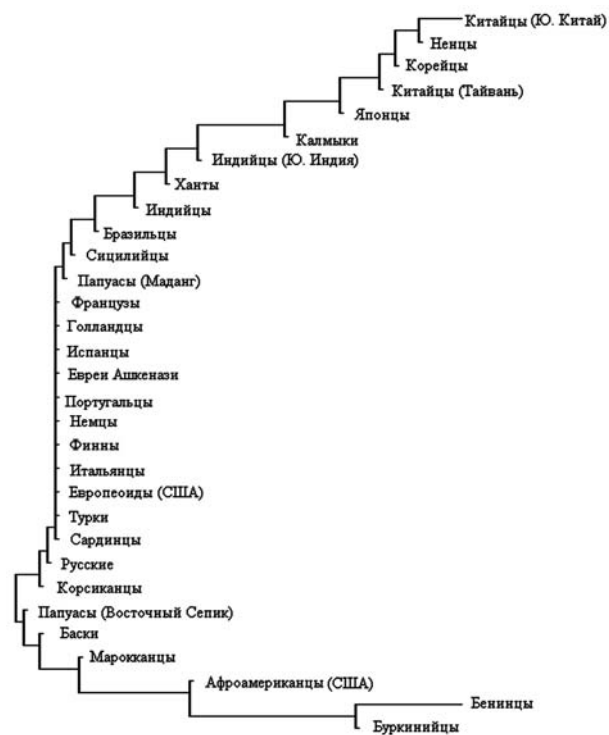


Рис. 2. Дендрограмма результата кластерного анализа генетических расстояний между популяциями человека по частоте аллелей *CHIT1*

5. Положение группы ненцев свидетельствует о тесном их генетическом, но не о географическом подобии с отдаленными монголоидными популяциями. Частота аллеля Н у ненцев является одной из максимальных в мире. Таким образом, полиморфизм *CHIT1* оказался весьма эффективным инструментом в отношении этно-антропологического анализа.

### Благодарности

Авторы выражают благодарность профессору С.А. Лимборской (Институт молекулярной генетики РАН) за предоставление материала по группе хантов. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований по проекту РФФИ № 11-06-00419а и № 14-06-00422а.

### Библиография

Ниль Дж., Шелл У. Наследственность человека. М., 1958. 210 с.

- Alanbay I., Coksuer H., Ercan C.M., Sakinci M., Karasahin E., Ceyhan S.T., Ustun Y., Kurt I., Ozbilen N., Baser I. Chitotriosidase levels in patients with severe endometriosis // *Gynecol. Endocrinol.*, 2012. Vol. 28. N 3. P. 220-223.
- Artieda M., Cenarro A., Ganan A., Jerico I., Gonzalvo C., Casado J.M., Vitoria I., Puzo J., Pocovi M., Civeira F. Serum chitotriosidase activity is increased in subjects with atherosclerosis disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2003. Vol. 23. N 9. P. 1645-1652.
- Bargagli E., Margollicci M., Nikiforakis N., Luddi A., Perrone A., Grosso S., Rottoli P. Chitotriosidase activity in the serum of patients with sarcoidosis and pulmonary tuberculosis // *Respiration*, 2007. Vol. 74. N 5. P. 548-552.
- Bargagli E., Olivieri C., Margollicci M., Bennett D., Luddi A., Perrone M., Maggiorelli C., Prasse A., Rottoli P. Serum chitotriosidase levels in patients with allergic and non-allergic asthma // *Respiration*, 2010. Vol. 79. N 5. P. 437-438.
- Barone R., Di Gregorio F., Romeo M.A., Schiliro G., Pavone L. Plasma chitotriosidase activity in patients with beta-thalassemia // *Blood Cells Mol. Dis.*, 1999. Vol. 25. N 1. P. 1-8.
- Barone R., Simapore J., Malaguarnera L., Pignatelli S., Musumeci S. Plasma chitotriosidase activity in acute Plasmodium falciparum malaria // *Clin. Chim. Acta.*, 2003. Vol. 331. N 1-2. P. 79-85.
- Bierbaum S., Superti-Furga A., Heinzmann A. Genetic polymorphisms of chitotriosidase in Caucasian children with bronchial asthma // *Int. J. Immunogenet.*, 2006. Vol. 33. N 3. P. 201-204.
- Boot R.G., Renkema G.H., Verhoek M., Strijland A., Blik J., de Meulemeester T.M., Mannens M.M., Aerts J.M. The human chitotriosidase gene. Nature of inherited enzyme deficiency // *J. Biol. Chem.*, 1998. Vol. 273. N 40. P. 25680-25685.
- Boot R.G., van Achterberg T.A., van Aken B.E., Renkema G.H., Jacobs M.J., Aerts J.M., de Vries C.J. Strong induction of members of the chitinase family of proteins in atherosclerosis: chitotriosidase and human cartilage gp-39 expressed in lesion macrophages // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999. Vol. 19. N 3. P. 687-694.
- Chien Y.H., Chen J.H., Hwu W.L. Plasma chitotriosidase activity and malaria // *Clin. Chim. Acta.*, 2005. Vol. 353. N 1-2. P. 215.
- Choi E.H., Zimmerman P.A., Foster C.B., Zhu S., Kumaraswami V., Nutman T.B., Chanock S.J. Genetic polymorphisms in molecules of innate immunity and susceptibility to infection with *Wuchereria bancrofti* in South India // *Genes Immun.*, 2001. Vol. 2. N 5. P. 248-253.
- Cozzarini E., Bellin M., Norberto L., Polese L., Musumeci S., Lanfranchi G., Paoletti M.G. CHIT1 and AMCase expression in human gastric mucosa: correlation with inflammation and *Helicobacter pylori* infection // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2009. Vol. 21. N 10. P. 1119-1126.
- Di Rosa M., dell'Ombra N., Zambito A.M., Malaguarnera M., Nicoletti F., Malaguarnera L. Chitotriosidase and inflammatory mediator levels in Alzheimer's disease and cerebrovascular dementia // *Eur. J. Neurosci.*, 2006. Vol. 23. N 10. P. 2648-2656.
- Eiberg H., Den Tandt W.R. Assignment of human plasma methylumbelliferyl-tetra-N-acetylchitotetraoside hydrolase or chitinase to chromosome 1q by a linkage study // *Hum. Genet.*, 1997. Vol. 101. N 2. P. 205-207.
- Guo Y., He W., Boer A.M., Wevers R.A., de Bruijn A.M., Groener J.E., Hollak C.E., Aerts J.M., Galjaard H., van Diggelen O.P. Elevated plasma chitotriosidase activity in various lysosomal storage disorders // *J. Inher. Metab. Dis.*, 1995. Vol. 18. N 6. P. 717-722.
- Hall A.J., Quinnell R.J., Raiko A., Lagog M., Siba P., Morroll S., Falcone F.H. Chitotriosidase deficiency is not associated with human hookworm infection in a Papua New Guinean population // *Infect. Genet. Evol.*, 2007. Vol. 7. N 6. P. 743-747.
- Hise A.G., Hazlett F.E., Bockarie M.J., Zimmerman P.A., Tisch D.J., Kazura J.W. Polymorphisms of innate immunity genes and susceptibility to lymphatic filariasis // *Genes Immun.*, 2003. Vol. 4. N 7. P. 524-527.
- Hollak C.E., Maas M., Aerts J.M. Clinically relevant therapeutic endpoints in type I Gaucher disease // *J. Inher. Metab. Dis.*, 2001. Vol. 24 Suppl 2. P. 97105.
- Kasprzewska A. Plant chitinases—regulation and function // *Cell Mol. Biol. Lett.*, 2003. Vol. 8. N 3. P. 809-824.
- Labadaridis I., Dimitriou E., Theodorakis M., Kafalidis G., Velegaki A., Michelakakis H. Chitotriosidase in neonates with fungal and bacterial infections // *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed.*, 2005. Vol. 90. N 6. P. F531-F532.
- Lee P., Waalen J., Crain K., Smargon A., Beutler E. Human chitotriosidase polymorphisms G354R and A442V associated with reduced enzyme activity // *Blood Cells Mol. Dis.*, 2007. Vol. 39. N 3. P. 353-360.
- Malaguarnera L. Chitotriosidase: the yin and yang // *Cell Mol. Life Sci.*, 2006. Vol. 63. N 24. P. 3018-3029.
- Malaguarnera L., Ohazuruike L.N., Tsianaka C., Antic T., Di Rosa M., Malaguarnera M. Human chitotriosidase polymorphism is associated with human longevity in Mediterranean nonagenarians and centenarians // *J. Hum. Genet.*, 2010. Vol. 55. N 1. P. 8-12.
- Malaguarnera L., Rosa M.D., Zambito A.M., dell'Ombra N., Marco R.D., Malaguarnera M. Potential role of chitotriosidase gene in nonalcoholic fatty liver disease evolution // *Am. J. Gastroenterol.*, 2006. Vol. 101. N 9. P. 2060-2069.
- Musumeci M., Malaguarnera L., Simapore J., Barone R., Whalen M., Musumeci S. Chitotriosidase activity in colostrum from African and Caucasian women // *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2005. Vol. 43. N 2. P. 198-201.
- Nei M., Tajima F., Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data // *J. Mol. Evol.*, 1983. Vol. 19. N 2. P. 153-170.
- Ober C., Chupp G.L. The chitinase and chitinase-like proteins: a review of genetic and functional studies in asthma and immune-mediated diseases // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2009. Vol. 9. N 5. P. 401-408.
- Pimenoff V.N., Comas D., Palo J.U., Vershubsky G., Kozlov A., Sajantila A. Northwest Siberian Khanty and Mansi in the junction of West and East Eurasian gene pools as revealed by uniparental markers // *Eur. J. Hum. Genet.*, 2008. Vol. 16. N 10. P. 1254-1264.
- Piras I., Falchi A., Melis A., Ghiani M.E., Calo C.M., Varesi L., Vona G. 24 bp duplication of CHIT1 gene is not correlated with coronary artery disease in Corsica Island (France) // *Exp. Mol. Pathol.*, 2007a. Vol. 83. N 3. P. 490-492.
- Piras I., Melis A., Ghiani M.E., Falchi A., Luiselli D., Moral P., Varesi L., Calo C.M., Vona G. Human CHIT1 gene distribution: new data from Mediterranean and European populations // *J. Hum. Genet.*, 2007b. Vol. 52. N 2. P. 110-116.
- Renkema G.H., Boot R.G., Muijers A.O., Donker-Koopman W.E., Aerts J.M. Purification and characterization of human chitotriosidase, a novel member of the chitinase family of proteins // *J. Biol. Chem.*, 1995. Vol. 270. N 5. P. 2198-2202.
- Salzer P., Bonanomi A., Beyer K., Vogeli-Lange R., Aeschbacher R.A., Lange J., Wiemken A., Kim D., Cook

D.R., Boller T. Differential expression of eight chitinase genes in *Medicago truncatula* roots during mycorrhiza formation, nodulation, and pathogen infection // *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2000. Vol. 13. N 7. P. 763-777.

Shahabuddin M., Toyoshima T., Aikawa M., Kaslow D.C. Transmission-blocking activity of a chitinase inhibitor and activation of malarial parasite chitinase by mosquito protease // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1993. Vol. 90. N 9. P. 4266-4270.

van Eijk M., van Roomen C.P., Renkema G.H., Bussink A.P., Andrews L., Blommaert E.F., Sugar A., Verhoeven A.J., Boot R.G., Aerts J.M. Characterization of human phagocyte-derived chitotriosidase, a component of innate immunity // *Int. Immunol.*, 2005. Vol. 17. N 11. P. 1505-1512.

Vicencio A.G., Chupp G.L., Tsirilakis K., He X., Kessel A., Nandalike K., Veler H., Kipperman S., Young M.C.,

Goldman D.L. CHIT1 mutations: genetic risk factor for severe asthma with fungal sensitization? // *Pediatrics*, 2010. Vol. 126. N 4. P. e982-e985.

Wu A.C., Lasky-Su J., Rogers C.A., Klanderma B.J., Litonjua A.A. Fungal exposure modulates the effect of polymorphisms of chitinases on emergency department visits and hospitalizations // *Am. J. Respir. Crit Care Med.*, 2010. Vol. 182. N 7. P. 884-889.

Контактная информация:

Макаров Сергей Вячеславович: e-mail: ecolab@med-gen.ru;  
 Карпетян Марина Кареновна: e-mail: marishkakar@hotmail.com;  
 Балинова Наталья Валерьевна: e-mail: ecolab@med-gen.ru;  
 Бец Лариса Валериановна: e-mail: larisa-bez@yandex.ru;  
 Спицын Виктор Алексеевич: e-mail: ecolab@med-gen.ru.

## INDEL-POLYMORPHISM OF THE CHITOTRIOSIDASE GENE (*CHIT1*) IN FOUR ETHNIC GROUPS OF RUSSIA

S.V. Makarov<sup>1</sup>, M.K. Karapetian<sup>1,2</sup>, N.V. Balinova<sup>3</sup>, L.V. Betz<sup>2</sup>, V.A. Spitsyn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Centre for Medical Genetics of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University, Department of anthropology, Moscow

<sup>3</sup>Institute of ethnology and anthropology of the Russian Academy of Sciences, Moscow

*In the last decade of the 20<sup>th</sup> century an enzyme with chitinolytic activity was found in human blood plasma. It was named chitotriosidase (CHIT1) and has an important value for human innate immunity. This is a non-specific product synthesized by activated macrophages. Also, it presumably helps to combat chitin-containing agents. In human, highly increased chitotriosidase production (up to hundred folds) is associated with parasite invasion, infection, several genetic disorders (lysosomal storage diseases, Gaucher disease), cardiovascular diseases. CHIT1 gene shows variations in its nucleotide sequence, the widespread one is a 24bp duplication in exon 10. This mutation leads to abnormally spliced mRNA and inactivation of the enzyme catalytic centre. It was hypothesized that individuals, homozygous for the mutant allele, are more susceptible to chitin-containing pathogen invasion. It is known that minimum frequency of the duplication is observed in groups of African descent, in Caucasian groups it demonstrates intermediate values, while maximum values are observed for Asians.*

*Because of its clinical significance and possible role in malaria, human chitotriosidase received quite a lot of attention from researchers. Thus, the study of CHIT1 gene is of medical and anthropological interest. This work is aimed at studying CHIT1 gene distribution among different populations of Russian Federation, perform a comparative analysis with data for other human populations and determine their relationship using genetic distance method.*

*Blood samples of the Kalmyks (n=149), Nenets (n=85), Khanty (n=139) and Russians (n=106) were genotyped for the 24bp-indel-polymorphism (rs3831317) in CHIT1 gene. Frequency distributions of alleles and genotypes are presented. Genotype frequencies for Kalmyks were determined as TT – 23.5%, TH – 54.4%, HH – 22.1%; for Nenets – TT – 16.5%, TH – 49.4%, HH – 34.1%; for Khanty – TT – 36%, TH – 48.2%, HH – 15.8; and for Russians – TT – 68.9%, TH – 30.2%, HH – 0.9%. Allele frequencies in populations are compared to those taken from literature sources for other populations.*

*As a result, the relative positions of studied populations were determined among other world populations. The CHIT1 polymorphism genotyping appears to be an effective tool for ethnic anthropology.*

**Keywords:** ethnic anthropology, genetic polymorphism, human chitotriosidase, 24-b.p.-duplication, allele frequencies, human population genetics, phylogenesis