

Полиморфизм гена *CHIT1* в популяции абхазов и феномен долгожительства*

Макаров С.В.¹, Карапетян М.К.^{1,4}, Квеквескири К.Б.²,
Асанов А.Ю.³, Бычкова Л.С.¹, Спицын В.А.¹

¹ — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, 1; e-mail: ecolab@med-gen.ru

² — Абхазский государственный университет, 384904, г. Сухум, ул. Университетская, 1

³ — Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 1

⁴ — Научно-исследовательский институт антропологии МГУ им. М.В. Ломоносова, 125009, Москва, ул. Моховая, 11

Среди огромного множества комплексных факторов, влияющих на продолжительность жизни, как потенциально важные в последнее время оценивают генетические полиморфизмы, связанные с эффективностью функционирования сердечно-сосудистой, иммунной и репарационной систем. Особый интерес представляет изучение феномена старения в популяциях, где доля долгожителей достаточно велика. Целью исследования был поиск закономерностей в характере распределения полиморфных вариантов гена *CHIT1* у населения Абхазии в связи с продолжительностью жизни. В качестве материала исследования были собраны образцы буккального эпителия от коренных жителей Абхазии, подразделенных на две группы: старшего возраста (75–101 год, 79 чел.) и контрольную, представляющую популяционную выборку (80 индивидов). Генотипирование по инсерционно-делеционному полиморфизму (rs3831317) гена *CHIT1* осуществлялось методом ПЦР-ПДАФ. Для контрольной (популяционной) группы абхазов установлены следующие частоты генотипов: ТТ = 0,70; ТН = 0,25; НН = 0,05, частоты аллелей Т и Н оказались равны 0,825 и 0,175 соответственно. Группа старшего возраста по частотам аллелей существенно не отличалась от контроля, а генотипы ТТ/ТН/НН были распределены в соотношении 0,54/0,41/0,05. В результате исследования выявлено, что доля гетерозигот по инсерционно-делеционному полиморфизму в гене *CHIT1* в старшей возрастной группе абхазов, достоверно повышена по сравнению с популяционной, представленной в контрольной группе.

Ключевые слова: долгожители, абхазская популяция, ген *CHIT1*, полиморфизм, rs3831317

Введение

Изучение биохимических механизмов старения, а также факторов и заболеваний, влияющих на продолжительность жизни, приобретает все большую актуальность в связи с возрастающим интересом к нахождению способов продления здоровой жизни. Большое число исследований последнего времени направлены на выявление генетических полиморфизмов, благоприятствующих долголетию. На продолжительность жизни может влиять целый комплекс экзо- и эндогенных факторов, в том числе генетических и эпигенетических. Среди них особый интерес представляют те, которые определяют эффективность иммунной и репарационной систем, функционирования сердечно-сосудистой системы, а также особенности, влияющие на темп созревания и старения организма. На примере абхазского населения показано, что для долгожителей в среднем характерны замедленные темпы соматического и полового развития, меньшая интенсивность возрастной инволюции скелета, а также пониженный уровень обменных процессов [3]. В свою очередь, долгожители Средиземноморья в среднем характеризовались лучшим состоянием физического и психического здоровья по сравнению с людьми 60–70 лет той же популяции, что указывает на относительно «здоровый» тип старения долгожителей [33].

Так как одним из важнейших аспектов изучения продолжительности жизни является анализ иммунного потенциала организма, актуальным является изучение функционирования иммунной системы. Хитотриозидаза человека (ХТ), фермент кодируемый геном *CHIT1*, демонстрирующий хитинолитическую активность *in vitro*, а также противогрибковую активность *in vitro* и в модели на животных [41, 42], является одним из важнейших маркеров активации макрофагов [26]. Определение уровня активности ХТ используется в клинической практике для диагностики и мониторинга болезни Гоше [22], предложено использование ХТ для мониторинга эффективности лечения лепры, для дифференциальной диагностики между разными вариантами этой болезни [23]. Активность ХТ в плазме крови значительно повышается при заболеваниях, сопровождаемых воспалительным процессом, например при болезни Гоше [37], атеросклерозе [6, 13], болезни Альцгеймера, цереброваскулярной деменции [17, 43], инфекционных заболеваниях [11, 14, 15, 23, 27], неалкогольном стеатогепатите [34], саркоидозе [8], бета-талассемии [10], некоторых видах рака [20, 25], эндометриозе [4], астме [9], идиопатическом легочном фиброзе [7] и у курильщиков [39].

Предполагают, что в организме человека ХТ играет защитную роль, участвуя в борьбе с хитинсодержащими

* Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований по проекту № 14-06-00422а

патогенами, или как элемент в каскаде иммунных реакций [32, 42]. В ряде случаев не исключено участие ХТ непосредственно в патогенезе болезней [31, 34]. Показано, что ХТ уменьшает жизнеспособность *C. albicans* и ингибирует формирование биопленки этим организмом, может принимать участие в лизисе бактериальных клеток [42]. Примечательно, что помимо плазмы крови и ряда других органов, ХТ активно экспрессируется в легких [39] — одном из основных мест проникновения хитинсодержащих патогенов (например, попадание спор грибов с вдыхаемым воздухом). Обнаружено положительное влияние IFN- γ , TNF- α и бактериального липополисахарида на экспрессию ХТ [32]. Более того, инъекции IL-12 ассоциированы с повышенной активностью ХТ у шимпанзе [28]. Все это указывает на возможную роль ХТ в клеточном ответе с участием регуляторных цитокинов [32]. По результатам экспериментов на гиперлипидемических мышах показано, что введение ингибитора хитиназы — аллозамина — приводит к увеличению экспрессии провоспалительных цитокинов TNF- α и MCP-1, поляризации M1 макрофагов и снижению поглощения липидов и эффлюкса холестерина макрофагами путем даунрегуляции экспрессии SR-AI, CD36, ABCA1 и ABCG1 [24]. В результате повышалось число атеросклеротических повреждений, что, по мнению авторов, указывает на защитную роль ХТ в развитии атеросклероза.

Кроме ряда однонуклеотидных замен (SNP) в гене *CHIT1* в экзоне 10 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, из-за чего синтезируемый продукт полностью теряет ферментативную активность [12]. Таким образом у людей, гомозиготных по дупликации, наблюдается практически нулевая активность ХТ.

Ген *CHIT1* имеется и у других млекопитающих (грызуны, приматы), но дупликация 24 п.н. у приматов не обнаружена, что указывает на относительно недавнее происхождение аллеля Н в процессе эволюции человека [19]. Вышеизложенное, а также то, что возможности модельных экспериментов имеют существенные ограничения по интерполяции результатов, предполагает, что исследование изменчивости, присущей именно геному *Homo sapiens*, позволяет с большей адекватностью оценивать факторы, влияющие на продолжительность жизни человека.

Исследование активности ХТ в плазме крови у людей с различными генотипами показало, что наибольшая активность выявляется у гомозигот ТТ, гетерозиготы ТН имеют почти вдвое меньшую активность, а при генотипе НН активность ХТ не превосходит уровня ошибки метода измерения [2, 39].

Встречаемость аллеля Н обнаруживает отчетливую этногеографическую закономерность. Он практически отсутствует у населения африканского происхождения [5, 29], что традиционно связывают с высокой патогенной нагрузкой в этом регионе [31]. У жителей Азии, включая Индию, частота аллеля Н достигает высоких величин (до 60%), причем максимальная частота отмечена для южных китайцев, корейцев [29], китайцев Тайваня [15] и ненцев [1]. Относительно высокая частота аллеля Н обнаруживается и у коренных жителей Америки [35]. Жители Европы демонстрируют средние частоты дупликации 24 п.н.

Попытки найти ассоциацию между indel-полиморфизмом в гене *CHIT1* и подверженностью паразитарным и грибковым инфекциям не дали однозначных результатов. Например, за пределами Африки ассоциация между заболеваемостью малярией и дупликацией 24 п.н. в гене *CHIT1* не подтверждена [36]. А.А. Hall с соавтором [21] не обнаружили связи между дефицитом ХТ и частотой анкилостомоза. С другой стороны, выявлена повышенная заражаемость филяриями гомозиготных носителей аллеля Н в Южной Индии [16]. Скорее всего, существуют компенсаторные механизмы, способные выполнять функцию ХТ у людей с дефектным ферментом.

Очевидно, что особый интерес и важность представляет изучение феномена высокой продолжительности жизни в популяциях, где доля долгожителей достаточно велика. Таким образом, в задачи нашего исследования входила проверка гипотезы об особом характере распределения инсерционно-делеционного полиморфизма в гене *CHIT1* в связи с продолжительностью жизни на примере популяции абхазов.

Материалы и методы

В качестве материала исследования использовались образцы буккального эпителия собранные от коренных жителей Абхазии. Были сформированы две выборки: лица старшей возрастной группы — 79 чел. (от 75 до 101 года; в том числе 9 индивидов старше 90 лет, средний возраст — 81 год), и контрольная группа из 80 индивидов представляющая популяционную выборку абхазов в возрасте от 16 до 33 лет (средний возраст — 19 лет). Классификация на возрастные группы осуществлена согласно периодизации постнатального онтогенеза, принятой на VII Всесоюзной конференции по возрастной морфологии, физиологии и биохимии (Москва, 1965 г.).

Сбор материала старшей возрастной группы осуществлялся в селах Арасадзых, Тхина, Отап, Члоу, Меркула и г.Очамчыра Очамчырского района. Материал для контроля собран в селах Кутол, Кындыг, Меркула, Адзюбжа, Джгерда, Река и г.Очамчыра, Очамчырского района, в селах Лздаа, Бзыбь, Цандрыпш и г.Гагры Гагрского района, в селах Аацы, Лыхны, Дурипш, Хыпста и г.Гудаута Гудаутского района, а также в Гульрыпшском, Ткварчельском, Сухумском районах.

Биологические образцы и данные были собраны с получением информированного согласия обследуемых или их законных представителей. Исследование одобрено Этическим комитетом Абхазского государственного университета (г. Сухум), проведено с соблюдением этических принципов, установленных Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2000). Анкетирование предусматривало регистрацию пола, возраста, этнической принадлежности до третьего поколения, состояния здоровья, а также наличия в роду долгожителей. В частности, для группы пожилых людей отмечены случаи долгожительства среди родителей, бабушек и дедушек, а для группы молодых людей отмечены случаи долгожительства по прямой линии среди бабушек, дедушек, прабабушек и прадедушек.

Выделение ДНК из образцов буккального эпителия осуществлялось с использованием набора реагентов «ДНК-сорб-В» в соответствии с рекомендациями производителя. Генотипирование по *indel*-полиморфизму (rs3831317) в экзоне 10 гена *CHIT1* осуществлялось методом ПЦР-амплификации с последующим проведением электрофореза в 3% агарозном геле с бромистым этидием, как описано в предыдущей работе [1]. Носительство аллеля Т определялось по наличию флюоресцирующего в ультрафиолетовом свете фрагмента в зоне 99 п.н., аллеля Н — в зоне 75 п.н.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc.).

Результаты и обсуждение

Анализ анкетных данных, предоставленных самими обследуемыми, показал, что в контрольной группе, почти половина заявила о наличии в роду долгожителей. В старшей возрастной группе 11% имели долгожителей среди родителей или бабушек и дедушек. В основном это были люди, достигшие 80-летнего возраста (табл. 1).

Внутри группы контроля проведено сопоставление между индивидами, указавшими о наличии долгожительства в роду, и индивидами, у которых долгожители в роду не отмечены. Распределения частот генотипов гена *CHIT1* в двух группах статистически значимых различий не показывают (табл. 2). Также, не обнаружено статистически значимых различий по частотам генотипов между подгруппами из разных областей Абхазии (г. Сухум, г. Гудаута и другие регионы, $p > 0,05$).

Это позволяет рассматривать указанные группы как выборку из единой популяции. Таким образом, для популяции абхазов установлены следующие частоты генотипов: ТТ = 0,70; ТН = 0,25; НН = 0,05 (табл. 2). Частоты аллелей Т и Н равны 0,825 и 0,175 соответственно. Эти частоты близки к значениям, характерным для многих европеоидных групп, в том числе русских (0,84 и 0,16 соответственно) [1]. Указанное распределение генотипов не обнаруживает достоверного отклонения от равновесия Харди—Вайнберга ($p > 0,05$).

В выборке, представляющей старшую возрастную группу, распределение генотипов также достоверно не отличалось от равновесного по Харди—Вайнбергу, однако

Таблица 1

Распределение обследованных по возрасту и наличию в их роду долгожителей

Возраст обследованных	Есть долгожители в роду ¹	Всего (число индивидов)
Контроль		
15–33 года	38 (47,5%)	80
Группа старческого возраста и долгожители		
75–79 лет	1 (2,7%)	37
80–84 года	3 (12,5%)	24
85–89 лет	1 (11,1%)	9
90–101 год	2 (22,2%)	9
Примечание. ¹ — среди близких родственников по прямой линии (родители и их родители)		

Таблица 2

Сопоставление частот встречаемости генотипов и аллелей гена *CHIT1* в группе контроля соответственно присутствию в роду долгожителей (90 лет и старше)

Долгожители в роду	Распределение генотипов (число индивидов и частота)			Частоты аллелей	
	ТТ	ТН	НН	Т	Н
Есть	27 (0,71)	9 (0,24)	2 (0,05)	0,83	0,17
Нет/неизвестно	29 (0,69)	11 (0,26)	2 (0,05)	0,82	0,18
χ^2	0,07 (d.f. = 2)				
Все	56 (0,70)	20 (0,25)	4 (0,05)	0,825	0,175

в этой группе доля гетерозигот оказалась практически вдвое выше по сравнению с установленной для популяционного контроля (частота ТН генотипа равна 0,41 и 0,25 соответственно), при этом частота гомозигот ТТ ниже (0,54 и 0,70 в старшей и в контрольной группе соответственно) (табл. 3). Различия между группами по частотам генотипов ТТ и ТН являются достоверными ($\chi^2 = 4,1$ и 4,34 при d.f. = 1; табл. 3). Доля аллеля Н в старшей возрастной группе несколько выше, но различия не достигают уровня статистической значимости (0,25 и 0,17 в старшей и контрольной группах соответственно, табл. 3).

В попытке определить закономерности, характерные для долгожителей, мы подразделили старшую возрастную группу на две подвыборки. В первую вошли индивиды 75–89 лет, во вторую — индивиды 90 лет и старше. При сопоставлении двух выделенных возрастных групп показано, что повышенная частота встречаемости ТН гетерозигот характерна для группы 75–88 лет. Для подгруппы 90 лет и старше данная тенденция не наблюдалась. К сожалению, малая численность подгруппы долгожителей (9 чел.) не позволяет судить о достоверности различий.

При анализе данных контрольной группы выборка заявивших о наличии в роду долгожителей не отличалась от оппозитной части по распределению частот встречаемости вариантов гена *CHIT1*. Можно допустить, что предоставленные обследуемыми данные о наличии в роду долгожителей носят ориентировочный характер. Часть индивидов могла обладать недостоверными сведениями или не знать точного возраста своих предков, родившихся в XIX — начале XX в. особенно, принимая во внимание социально значимые политико-экономические события, произошедшие в XX в. Все это могло внести искажения в результаты исследования различий между выборками индивидов, указавших и не указавших наличие в роду долгожителей.

Накопление знаний о факторах, влияющих на продолжительность жизни человека, показывает, что среди генетических факторов важное значение может иметь целый комплекс полиморфизмов в различных генах, а также их взаимодействие между собой и с окружающей средой [18, 38, 40].

Об отрицательном влиянии ХТ на работу иммунной системы высказывались Lee с соавторами [29], объясняя это тем, что собственно хитин способен оказывать стимулирующее влияние на макрофаги. Таким образом, расщепляя хитин, ХТ подавляет его иммуностимулирующую

функцию [29, 33]. В этой гипотезе, однако, имеется несоответствие в причинно-следственной связи, так как повышение синтеза ХТ происходит в ходе активации макрофагов. Более того, есть свидетельства о непосредственном участии ХТ в регуляции воспалительного процесса, то есть существует обратная связь между экспрессией ХТ и рядом провоспалительных цитокинов [24]. Таким образом, возможно влияние ХТ на ход воспалительного процесса, не связанное с её хитинолитической функцией.

Внутригруппового возрастного повышения частоты гетерозигот не обнаружено. Доля индивидов с генотипом ТН в группе людей 90 лет и старше снижена по сравнению с группой 75–88 лет, но выявить насколько эта тенденция достоверна не представляется возможным в силу малой численности исследованных долгожителей (9 чел.). Можно предположить, что генотип ТН благоприятствует дожитию до старческого возраста, поскольку, с одной стороны, люди с этим вариантом должны быть менее склонны к заболеваниям, в патогенезе которых задействована гиперреактивность на воспаление с участием ХТ, с другой стороны они имеют достаточно активную ХТ, способную выполнять защитную функцию. Однако в старшем возрасте, при значительном снижении иммунного потенциала организма, благоприятными могут оказаться уже те генотипы, которые обеспечивают максимально активную работу иммунной системы. Если говорить о гене *CHIT1*, носители аллеля Т, способные вырабатывать высокоактивную хитотриозидазу, могут получить селективное преимущество перед носителями аллеля Н. На это косвенно может указывать отсутствие индивидов с генотипом НН в группах собственно долгожителей, исследованных работе Malaguaneга с соавторами [33]. Можно предположить, что в условиях достаточности функции иммунной системы оптимальным является генотип ТН, однако при ослабленном иммунитете и сниженной способности противостоять патогенам, а также при высокой патогенной нагрузке преимущество могут получить именно носители генотипа ТТ, у которых наблюдается способность к быстрому и многократному увеличению синтеза ХТ при патологическом процессе. Это предположение согласуется с данными по детям с нарушенным иммунитетом, проходящим лечение от лейкемии, у которых из исследованных генов *TNF*, *IL6*, *IL8*, *MPO*, *CHIT1*, *FCGR2A*, *TLR2* и *TLR4* достоверно более высокий риск бактериальной инфекции был ассоциирован с полиморфизмами только с двумя генами — с G аллелем в промоторе гена *IL6* и с аллелем Н гена *CHIT1* [30].

Таблица 3

Сравнение распределений частот встречаемости генотипов и аллелей гена *CHIT1* в изученных группах

Выборка	Генотипы (число и частота)			Частоты аллелей	
	ТТ	ТН	НН	Т	Н
Контроль	56 (0,70)	20 (0,25)	4 (0,05)	0,825	0,175
Старшая возрастная группа (75–101 год)	43 (0,54)	32 (0,41)	4 (0,05)	0,75	0,25
χ^2 (при d.f. = 1)	4,1*	4,3*	0,0	2,9	

Наши данные показывают, что гетерозиготность по исследованному полиморфизму в старшей возрастной группе достоверно повышена по сравнению с популяционной частотой, и согласуются с результатами, полученными Malaguarnera с соавторами [33] в том, что генотип ТН более благоприятен для долголетия, чем гомозиготные варианты. Это не удивительно ввиду важной роли как самих макрофагов, так и их продукта — ХТ, являющегося полифункциональным белком, задействованном в организме в ряде ключевых процессов. Однако связь между иммунным потенциалом и способностью к выживанию неоднозначна, ввиду проблемы чрезмерной иммунологической реактивности, так как организм, обладающий повышенной реактивностью, более склонен к аутоиммунным заболеваниям. В этом отношении сниженная, но не отсутствующая активность ХТ, обусловленная генотипом ТН, может оказаться ближе к оптимальной реакции.

В результате нашего исследования выявлено, что доля гетерозигот по исследованному *indel*-полиморфизму в гене *CHIT1* в старшей возрастной группе абхазов, включающей долгожителей (75–101 год), достоверно повышена по сравнению с популяционной, представленной в контрольной группе. Можно предположить, что средний уровень активности фермента, присущий гетерозиготам, является оптимальным и благоприятствует сохранению жизни в большей степени, чем его крайние значения, характерные для гомозигот.

Список литературы

- Макаров С.В., Карапетян М.К., Балинова Н.В., Бец Л.В., Спицын В.А. Инсерционно-делеционный полиморфизм в гене хитотриозидазы (*CHIT1*) в четырех этно-территориальных группах России // Вестник Московского университета. Серия 23: Антропология. — 2014. — №2. — С. 38–45.
- Спицын В.А., Макаров С.В., Моргулис Н.Б., Ельчинова Г.И., Карапетян М.К. Соотношение инсерционно-делеционного полиморфизма в гене *CHIT1* с уровнем активности хитотриозидазы в русской популяции // Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №1. — С. 3–7.
- Хрисанфова Е.Н., Перевозчиков И.В. Антропология. — М.: Наука, 2005. — 400 с.
- Alanbay I., Coksuer H., Ercan C.M., Sakinci M., Karasahin E., Seyhan S.T., Ustun Y., Kurt I., Ozbilen N., Baser I. Chitotriosidase levels in patients with severe endometriosis // *Gynecol. Endocrinol.* — 2011. — Vol. 28, № 3. — P. 220–223.
- Arndt S., Hobbs A., Sinclair I., Lane A.B. Chitotriosidase deficiency: a mutation update in an african population // *JIMD reports.* — 2013. — Vol. 10. — P. 11–16.
- 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 // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* — 2003. — Vol. 23, № 9. — P. 1645–1652.
- Bargagli E., Margollicci M., Luddi A., Nikiforakis N., Perari M.G., Grosso S., Perrone A., Rottoli P. Chitotriosidase activity in patients with interstitial lung diseases // *Respir. Med.* — 2007. — Vol. 101, № 10. — P. 2176–2181.
- 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, № 5. — P. 548–552.
- Bargagli E., Olivieri C., Margollicci M., Bennett D., Luddi A., Perrone M., Maggiorcelli C., Prasse A., Rottoli P. Serum chitotriosidase levels in patients with allergic and non-allergic asthma // *Respiration.* — 2010. — Vol. 79, № 5. — P. 437–438.
- Barone R., Bertrand G., Simpoire J., Malaguarnera M., Musumeci S. Plasma chitotriosidase activity in beta-thalassemia major: a comparative study between Sicilian and Sardinian patients // *Clin. Chim. Acta.* — 2001. — Vol. 306, № 1–2. — P. 91–96.
- Barone R., Simpoire J., Malaguarnera L., Pignatelli S., Musumeci S. Plasma chitotriosidase activity in acute Plasmodium falciparum malaria // *Clin. Chim. Acta.* — 2003. — Vol. 331, № 1–2. — P. 79–85.
- Boot R.G., Renkema G.H., Verhoek M., Strijland A., Bliëk 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, № 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, № 3. — P. 687–694.
- Kakir G., Gumus S., Ucar E., Kaya H., Tozkoparan E., Akgul E.O., Karaman B., Deniz O., Kurt I., Ozkan M., Bilgic H. Serum chitotriosidase activity in pulmonary tuberculosis: response to treatment and correlations with clinical parameters // *Annals of laboratory medicine.* — 2012. — Vol. 32, № 3. — P. 184–189.
- Chien Y.H., Chen J.H., Hwu W.L. Plasma chitotriosidase activity and malaria // *Clin. Chim. Acta.* — 2005. — Vol. 353, № 1–2. — P. 215–217.
- 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 and immunity.* — 2001. — Vol. 2, № 5. — P. 248–253.
- 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, № 10. — P. 2648–2656.
- Gankovskaya L.V., Svitch O.A., Artem'eva O.V., Miroshnichenkova A.M., Rusanova K.V. Association of Polymorphisms in Innate Immunity Genes TLR9 and DEF1 with Human Longevity // *Bulletin of experimental biology and medicine.* — 2015. — Vol. 159, № 1. — P. 77–80.
- Gianfrancesco F., Musumeci S. The evolutionary conservation of the human chitotriosidase gene in rodents and primates // *Cytogenet. Genome Res.* — 2004. — Vol. 105, № 1. — P. 54–56.
- Golab K., Passowicz-Muszynska E., Jankowska R., Warwas M. [Serum activity of chitotriosidase, lysozyme and cathepsin H in patients with lung cancer and patients with inflammatory exudate (preliminary report)] // *Polski merkuriusz lekarski: organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego.* — 2009. — Vol. 26, № 153. — P. 194–197.
- Hall A.J., Quinnett 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, № 6. — P. 743–747.
- Hollak C.E., van Weely S., van Oers M.H., Aerts J.M. Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease // *The Journal of clinical investigation.* — 1994. — Vol. 93, № 3. — P. 1288–1292.
- Iyer A., van Eijk M., Silva E., Hatta M., Faber W., Aerts J.M., Das P.K. Increased chitotriosidase activity in serum of leprosy patients: association with bacillary leprosy // *Clin. Immunol.* — 2009. — Vol. 131, № 3. — P. 501–509.

24. Kitamoto S., Egashira K., Ichiki T., Han X., McCurdy S., Sakuda S., Sunagawa K., Boisvert W.A. Chitinase inhibition promotes atherosclerosis in hyperlipidemic mice // *The American journal of pathology*. — 2013. — Vol. 183, № 1. — P. 313–325.
25. Kucur M., Isman F.K., Balci C., Onal B., Hacibekiroglu M., Ozkan F., Ozkan A. Serum YKL-40 levels and chitotriosidase activity as potential biomarkers in primary prostate cancer and benign prostatic hyperplasia // *Urologic oncology*. — 2008. — Vol. 26, № 1. — P. 47–52.
26. Kzhyshkowska J., Gratchev A., Goerdts S. Human chitinases and chitinase-like proteins as indicators for inflammation and cancer // *Biomark. Insights*. — 2007. — Vol. 2. — P. 128–146.
27. Labadaridis I., Dimitriou E., Theodorakis M., Kafalidis G., Velegriki A., Michelakakis H. Chitotriosidase in neonates with fungal and bacterial infections // *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed.* — 2005. — Vol. 90, № 6. — P. F531–F532.
28. Lauw F.N., te Velde A.A., Dekkers P.E., Speelman P., Aerts J.M., Hack C.E., van Deventer S.J., van der P.T. Activation of mononuclear cells by interleukin-12: an in vivo study in chimpanzees // *Journal of clinical immunology*. — 1999. — Vol. 19, № 4. — P. 231–238.
29. 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, № 3. — P. 353–360.
30. Lehrnbecher T., Bernig T., Hanisch M., Koehl U., Behl M., Reinhardt D., Creutzig U., Klingebiel T., Chanock S.J., Schwabe D. Common genetic variants in the interleukin-6 and chitotriosidase genes are associated with the risk for serious infection in children undergoing therapy for acute myeloid leukemia // *Leukemia*. — 2005. — Vol. 19, № 10. — P. 1745–1750.
31. Malaguarnera L. Chitotriosidase: the yin and yang // *Cell Mol. Life Sci.* — 2006. — Vol. 63, № 24. — P. 3018–3029.
32. Malaguarnera L., Musumeci M., Di Rosa M., Scuto A., Musumeci S. Interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha, and lipopolysaccharide promote chitotriosidase gene expression in human macrophages // *J. Clin. Lab. Anal.* — 2005. — Vol. 19, № 3. — P. 128–132.
33. Malaguarnera L., Ohazuruiki L.N., Tsiakaka 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, № 1. — P. 8–12.
34. 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, № 9. — P. 2060–2069.
35. Manno N., Sherratt S., Boaretto F., Coico F.M., Camus C.E., Campos C.J., Musumeci S., Battisti A., Quinnell R.J., Leon J.M., Vazza G., Mostacciolo M.L., Paoletti M.G., Falcone F.H. High prevalence of chitotriosidase deficiency in Peruvian Amerindians exposed to chitin-bearing food and enteroparasites // *Carbohydrate polymers*. — 2014. — Vol. 113. — P. 607–614.
36. Piras I., Melis A., Ghiani M.E., Falchi A., Luiselli D., Morral P., Varesi L., Calo C.M., Vona G. Human CHIT1 gene distribution: new data from Mediterranean and European populations // *J. Hum. Genet.* — 2007. — Vol. 52, № 2. — P. 110–116.
37. Renkema G.H., Boot R.G., Muijsers 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, № 5. — P. 2198–2202.
38. Scarabino D., Scacchi R., Pinto A., Corbo R.M. Genetic Basis of the Relationship Between Reproduction and Longevity: A Study on Common Variants of Three Genes in Steroid Hormone Metabolism — CYP17, HSD17B1, and COMT // *Rejuvenation research*. — 2015. — Vol. 18, № 5. — P. 464–472.
39. Seibold M.A., Donnelly S., Solon M., Innes A., Woodruff P.G., Boot R.G., Burchard E.G., Fahy J.V. Chitotriosidase is the primary active chitinase in the human lung and is modulated by genotype and smoking habit // *J. Allergy Clin. Immunol.* — 2008. — Vol. 122, № 5. — P. 944–950.
40. Ukraintseva S., Yashin A., Arbeev K., Kulminski A., Akushevich I., Wu D., Joshi G., Land K.C., Stallard E. Puzzling role of genetic risk factors in human longevity: «risk alleles» as pro-longevity variants // *Biogerontology*. — 2016. — Vol. 17, № 1. — P. 109–127.
41. van Eijk M., van Roomen C.P., Renkema G.H., Busink 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, № 11. — P. 1505–1512.
42. Vandevenne M., Campisi V., Freichels A., Gillard C., Gasparid G., Frere J.M., Galleni M., Filee P. Comparative functional analysis of the human macrophage chitotriosidase // *Protein science: a publication of the Protein Society*. — 2011. — Vol. 20, № 8. — P. 1451–1463.
43. Watabe-Rudolph M., Song Z., Lausser L., Schnack C., Begus-Nahrman Y., Scheithauer M.O., Rettinger G., Otto M., Tumann H., Thal D.R., Attems J., Jellinger K.A., Kestler H.A., von Arnim C.A., Rudolph K.L. Chitinase enzyme activity in CSF is a powerful biomarker of Alzheimer disease // *Neurology*. — 2012. — Vol. 78, № 8. — P. 569–577.

The *CHIT1* gene polymorphism in Abkhazian population and the longevity phenomenon

Makarov S.V.¹, Karapetian M.K.^{1,4}, Kvekveskiri K.B.²,
Asanov A.Yu.³, Bichkovskaya L.S.¹, Spitsyn V.A.¹

¹ — Federal State Budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics», 115478, Moscow, Moskvorechie str., 1; e-mail: ecolab@med-gen.ru

² — Abkhazian State University; 1, Universitetskaya str, Sukhum, 384904, Russia

³ — I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8-2 Trubetskaya st, Moscow 119991, Russia

⁴ — Research Institute and Museum of Anthropology, Lomonosov MSU

Allelic polymorphisms associated with the cardiovascular, immune and repairing systems are currently considered as very important in the huge pool of complex factors affecting the longevity. Studies of ageing phenomenon are focused on populations with fairly high proportion of centenarians. In this study, we aimed at searching for the pattern of distribution of CHIT1 gene polymorphic variants among Abkhazians with regard to longevity. The samples of buccal epithelium were subdivided into two parts: a group of elderly subjects, and a control group (79 and 80 individuals, respectively). CHIT1 gene indel-polymorphism (rs3831317) analysis was performed using PCR-AFLP technique. Genotype frequencies in the control group were: TT = 0.70, TH = 0.25, HH = 0.05, T and H allele frequencies were 0.825 and 0.175 respectively. The group of elderly did not differ significantly from the controls in allele frequencies, and TT/TH/HH genotype frequencies were distributed as 0.54/0.41/0.05. The study showed that the heterozygote proportion of *CHIT1* gene is significantly higher in the group of elderly Abkhazians than in the control group.

Key words: longevity, Abkhazian population, *CHIT1* gene, indel-polymorphism, rs3831317