

УДК 575.17

ИЗУЧЕНИЕ ПОПУЛЯЦИИ КАРАЧАЕВЦЕВ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ДЕСЯТИ ДНК-МАРКЕРОВ

Н. В. Петрова¹, А. В. Марахонов¹, Н. В. Балинова¹, Т. А. Васильева¹,
Г. И. Ельчинова¹*, Е. К. Гинтер¹, Р. А. Зинченко¹

¹Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, Москва, 115522 Россия

*e-mail: elchinova@med-gen.ru

Поступила в редакцию 11.04.2023 г.

После доработки 08.09.2023 г.

Принята к публикации 12.09.2023 г.

Проведено изучение популяции карачаевцев ($N = 485$) из Республики Карачаево-Черкесия на основе анализа десяти полиморфных ДНК-локусов ($CCR5\Delta32$, ID/ACE , $D7S23(KM19)$, $STR/THOI$, $STR/FABP2$, $STR/IVS6aGATT(CFTR)$, $VNTR/PAH$, $VNTR/DAT1$, $VNTR/NOS3$, $VNTR/APOB$) ядерного генома. В работу включены выборки из четырех районов (Карачаевского, Прикубанского, Малокарачаевского, Усть-Джегутинского) и г. Черкесска. Полученные результаты свидетельствуют о значительной генетической гетерогенности популяции карачаевцев. Наибольший уровень разнообразия для карачаевцев по диаллельной системе установлен по локусу ID/ACE , $H_{obs} = 0.513$, по мультиаллельной – по локусу $STR/THOI$, $H_{obs} = 0.792$. Среднее значение наблюдаемой гетерозиготности на локус составляет 0.466, варьируя от 0.441 в Усть-Джегутинском р-не до 0.503 в г. Черкесске. Уровень генетических различий между географическими подгруппами карачаевцев из разных районов находится в пределах вариации ($F_{ST} = 0.007$), установленной для ранее изученных по данным генным локусам народов: марийцев ($F_{ST} = 0.0024$), удмуртов ($F_{ST} = 0.0048$), чувашей ($F_{ST} = 0.006$), татар ($F_{ST} = 0.0075$) и башкир ($F_{ST} = 0.008$).

Ключевые слова: карачаевцы, генетическая структура популяций, ДНК-маркеры.

DOI: 10.31857/S0016675824020052 **EDN:** DQUUYG

Карачаевцы – тюрко-язычный народ Северного Кавказа, коренной этнос Карачаево-Черкесии, составляющий более 40% населения республики (194 тыс. человек) [1], компактно проживают в четырех районах (Карачаевском, Малокарачаевском, Прикубанском, Усть-Джегутинском), в которых сотрудниками лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ “МГНЦ” проведено комплексное генетико-эпидемиологическое исследование. Карачаевцы принадлежат к кавкасионскому антропологическому типу, говорят на карачаево-балкарском языке кыпчакской группы тюркской языковой семьи [2].

По мнению Е.П. Алексеевой, можно определить четыре основных элемента, из которых сформировалась карачаево-балкарская народность: 1) местные племена, носители кобанской культуры; 2) аланы и другие племена, носители аланской культуры, жившие в Алании в эпоху раннего средневековья; 3) болгары – так называемые “черные”, или “внутренние”; 4) кипчаки (половцы, куманы). Кроме болгар и кипчаков в

образовании карачаево-балкарской народности могли принять участие и другие тюркские племена, например печенег. Впоследствии карачаевцы и балкарцы, уже сформировавшиеся в народность, принимали представителей других народов. Однако роль их не была столь велика, как роль четырех основных этнических единиц, из которых образовалась карачаево-балкарская народность [1].

Настоящая работа является продолжением серии публикаций, посвященных популяционно-генетическим исследованиям населения европейской части России, проводимым лабораторией генетической эпидемиологии ФГБНУ МГНЦ [3–7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенные из крови 485 неродственных карачаевцев, проживающих в районах Республики Карачаево-Черкесия и г. Черкесск с максимальной компактной плотностью

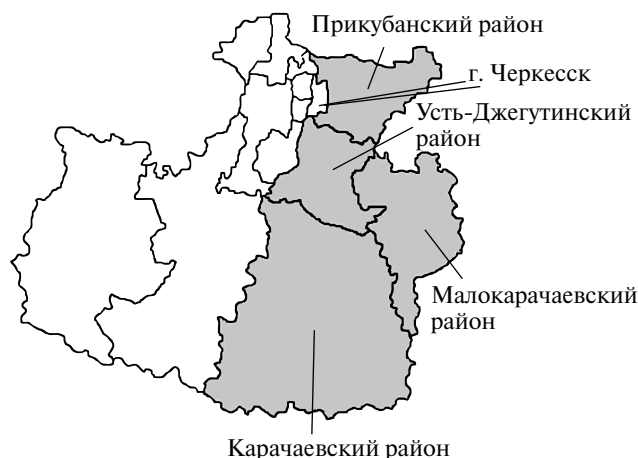


Рис. 1. Расположение изученных районов Республики Карачаево-Черкесия.

населения (не менее 70%) (рис. 1). При выборе рассматриваемых популяций учитывалась не только гомогенность этнографических групп на территории района, но и численность изучаемой этнической группы: в Карачаевском р-не карачаевцы составляют 85.7% населения, в Малокарачаевском – 87.5%, в Прикубанском – 75.7% и Усть-Джегутинском – 69.3%. В Черкесске карачаевцы являются второй по численности (16.4%), после русских (54.7%), этнической группой (рис.1).

Образцы ДНК собраны сотрудниками лаборатории генетической эпидемиологии Федерального Государственного бюджетного учреждения “Медико-генетический научный центр” им. академика Н.П. Бочкова в 2013–2016 гг. При формировании выборки учитывались следующие параметры: выбирались районы максимального компактного проживания карачаевцев на территории КЧР; все включенные индивиды были неродственными до третьего поколения и имели в родословной только карачаевцев. Этническая принадлежность (до третьего поколения) устанавливалась при опросе обследуемых индивидов. Во всех случаях составлены анкеты и получено письменное информированное согласие о проведении медико-генетических исследований. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ МГНЦ (протокол № 5 от 20.12.2010 г.).

Выделение ДНК проводили из лейкоцитов венозной крови (4–8 мл) с использованием набора реактивов WizardGenomicDNA Purification Kit фирмы Promega (USA) в соответствии с рекомендациями производителя.

Полиморфные маркеры были отобраны по высокой гетерозиготности во многих исследованных популяциях мира. Анализ полиморфных маркеров проводили методами полимеразной цепной реакции синтеза ДНК и анализа ПДРФ с использованием праймеров и условий, описанных ранее [3–7]. Результаты оценивали путем проведения вертикального электрофореза в 8%-ном полиакриламидном геле для локусов *VNTR/PAH*, *VNTR/DAT1*, *VNTR/NOS3*, *CCR5Δ32*, *VNTR/APOB*, в 12%-ном полиакриламидном геле для локусов *STR/THOI*, *STR/FABP2*, *STR/IVS6aGATT(CFTR)* и в 2%-ном агарозном геле для локусов *ID/ACE*, *D7S23(KM19)*. В табл. 1 представлена характеристика десяти изученных маркеров, праймеры и использованная рестриктаза.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью надстройки GeneAlex v 6.5 [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведен анализ полиморфизма трех диаллельных (*CCR5Δ32*, *ID/ACE*, *D7S23(KM19)*) и семи мультиаллельных (*STR/THOI*, *STR/FABP2*, *STR/IVS6aGATT(CFTR)*, *VNTR/PAH*, *VNTR/DAT1*, *VNTR/NOS3*, *VNTR/APOB*) маркеров ядерного генома у карачаевцев. Диаллельные маркеры представлены инсерционно-делеционными полиморфизмами (*CCR5Δ32*, *ID/ACE*) и однонуклеотидной заменой (*D7S23(KM19)*). Мультиаллельные маркеры включают в себя тандемные повторяющиеся последовательности микро- (*STR/IVS6a*, *STR/THOI*, *STR/FABP2*) и минисателлитов (*VNTR/PAH*, *VNTR/DAT1*, *VNTR/NOS3*, *VNTR/APOB*).

Локус *CCR5Δ32*

Изучен инсерционно-делеционный полиморфизм диаллельного маркера *CCR5Δ32* гена рецептора хемокинов *CCR5*. Ген локализуется на коротком плече (p21.3) хромосомы 3 внутри кластера генов рецепторов CC-хемокинов [9].

Генетический вариант *CCR5*, делеция 32 пар оснований, приводит к нарушению адгезивных свойств кодируемого белка *CCR5* Т-клеток, который является основным корецептором для М-тропных цепей вируса ВИЧ-1 и вероятно препятствует взаимодействию рецептора с вирусом ВИЧ-1, тем самым определяя устойчивость к инфекции [10]. Частота варианта *CCR5Δ32* в европейских популяциях составляет в среднем 10%, варьируя от 16% в финской и мордовской популяциях до 4% на Сарди-

Таблица 1. Характеристика маркеров, использованных для генетического изучения популяции карачаевцев

№	Лocus	Район хромосомы	Тип полиморфизма	Размер амплифицируемого фрагмента, п. н.	Последовательности праймеров и эндонуклеаза рестрикции
1	CCR5Δ32	3p.21.3	Инсерционно-делеционный полиморфизм гена рецептора хемокинов CCR5 (диаллельный)	368–400	F: 5'-CTTCATCATCATCCTCCTGAC R: 5'-TGTAGGGAGCCCAGAAGAGA
2	ID/ACE	17q23.	Инсерционно-делеционный полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента ACE (диаллельный)	110–400	F: 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT R: 5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT
3	D7S23 (KM19)	7q31-32	Однонуклеотидный полиморфизм в локусе D7S23, сцепленный с геном муковисцидоза (диаллельный)	956	F: 5'-GCTGCATCATATAAGTTGCC R: 5'-AACGCTACACTGTTAATTTT PstI
4	IVS6aGATT (CFTR)	7q31.2	Вариабельные tandemные повторы (микросателлиты) гена трансмембранного регуляторного белка муковисцидоза CFTR	106–114	F: 5'-CAAGTCTTTTCAGTGATCTTC R: 5'-TGAGCAGTTCTTAATAGATAA
5	STR/FABP2	4q28-31	Полиморфизм вариабельного числа повторов (микросателлиты) гена белка, связывающего жирные кислоты в слизистой кишечника	200–220	F: 5'-GTAGTATCAGTTTCATAGGGTCACC R: 5'-CAGTTCGTTTCCATTGTCTGTCCG
6	STR/THOI	11p15.5	Полиморфизм вариабельного числа повторов (микросателлиты) гена тирозингидроксилазы	183–207	F: 5'-GTGGGCTGAAAAGCTCCCGATAT R: 5'-ATTCAAAGGGTATCTGGGCTCTGG
7	VNTR/PAH	12q22-24.1	Вариабельные tandemные повторы (минисателлиты) гена фенилаланингидроксилазы	380–650	F: 5'-AGATTTTAATGTTCTCACCCGCC R: 5'-CTTGGAACTTAAGAATCCCATC
8	VNTR/DAT1	5p15.3	Вариабельные tandemные повторы (минисателлиты) гена переносчика дофамина	320–520	F: 5'-TGTGGTGTAGGGAACGGCCTGAG R: 5'-CTTCCTGGAGGTCACGGCTCAAGG
9	VNTR/NOS3	7q35-36	Вариабельные tandemные повторы (минисателлиты) гена эндотелиальной синтазы окиси азота	393–420	F: 5'-AGGCCCTATGGTAGTGCCTTT R: 5'-TCTCTAGTGCTGTGGTCAAC
10	VNTR/APOB	2p24.1	Вариабельные tandemные повторы (минисателлиты) гена аполипопротеина В	525–950	F: 5'-TGTTCTGGCACAGCAAAACCT R: 5'-TCACTTGGCAAATACAATTCCTGA

нии. Исследование ВИЧ-протективных генов показало повышенную частоту встречаемости *CCR5-Δ32* у русских и украинцев (10–15 % гетерозиготны по данному варианту). Распространение варианта в Европе, особенно в Северной, может быть связано со средневековыми пандемиями “Черной смерти”, так как этот вариант повышает сопротивляемость организма чумной палочке, что теоретически объясняет высокую частоту аллеля **D* (*CCR5Δ32*) среди европейцев, трудно объяснимую лишь случайным генетическим дрейфом, и указывает на действие отбора в пользу гомо- или гетерозиготных носителей в

прошлом или настоящем. Выявлена необычайно высокая частота аллеля с делецией *CCR5-Δ32* (11.1%) среди финно-угорского коренного населения Западной Сибири и очень низкая частота того же аллеля среди коренного населения Центральной Азии, Восточной Сибири, Дальнего Востока и Канады, установлен градиент в распространении аллеля с делецией с уменьшением с Запада на Восток [11]. Обнаружение аллеля с делецией **D* (*CCR5Δ32*) в неевропейских популяциях, вероятно, является следствием относительно недавнего потока “европейских” генов [9–10].

Во всех подгруппах карачаевцев преобладающим оказался генотип $*I/*I$, гомозиготный по отсутствию делеции. Наблюдаемые частоты генотипов локуса *CCR5* проверяли на соответствие равновесному распределению Харди–Вайнберга по критерию χ^2 и соотношению вероятностей (G^2). Во всех субпопуляциях карачаевцев наблюдается соответствие распределения наблюдаемых частот встречаемости генотипов локуса *CCR5* равновесному распределению Харди–Вайнберга (табл. 2).

Распределение частот аллелей $*I$ и $*D$ во всех изученных географических подгруппах карачаевцев является сходным. Аллель $*D$, несущий делецию 32 пн, встречается с частотой от 0.025 до 0.074 (в среднем – 0.058), что ниже, чем в ряде других европейских популяций [11–13]. Среди ранее проведенных аналогичных исследований популяций Волго-Уральского региона максимальная частота аллеля $*D$ отмечена в популяции удмуртов и русских Кировской обл. (0.126 и 0.138), минимальная – у башкир и чувашей (0.034) [3–7].

Значения показателя фактической гетерозиготности по локусу *CCR5* невысокие: в пределах от 0.050 в г. Черкесске до 0.149 в Карачаевском р-не.

Локус *ID/ACE*

Ген *ACE* кодирует ангиотензинпревращающий фермент (АПФ) – циркулирующий во внеклеточном пространстве белок (карбоксипептидаза), который играет важную роль в регуляции кровяного давления и баланса электролитов, катализируя расщепление неактивного ангиотензина I до активного ангиотензина II [14].

Изученный в настоящей работе инсерционно-делеционный (I/D) полиморфизм обусловлен наличием или отсутствием вставки размером 287 пн в интроне 16 гена *ACE*, расположенного на 17-й хромосоме в районе q23, состоящей из Alu-повтора. Делеция Alu-повтора приводит к повышению экспрессии гена *ACE* и увеличению концентрации АПФ в крови, лимфе и тканях, что является фактором, повышающим риск развития сердечно-сосудистых заболеваний (инфаркта миокарда, гипертрофии левого желудочка, ишемической болезни сердца), болезни почек, атеросклероза, болезни Альцгеймера [15–17]. Делеционный аллель $*D$ встречается у западно-евразийских народов чаще, чем у восточно-азиатских. У коренного

населения Африки частота делеции сравнима с частотой в европейских популяциях. Частота инсерционного аллеля низка среди русских (0.46) и особенно высока в некоторых популяциях Якутии (0.77) и Японии (0.73) [18, 19]. Популяции Волго-Уральского региона по частотам аллеля $*D$ занимают в определенной степени промежуточное положение между популяциями русских и китайцев [18]. Исследование инсерционно-делеционного полиморфизма гена *ACE* может быть весьма информативным и может вносить существенный вклад в генетическую характеристику популяций.

Аллель $*D$ является преобладающим в одной из географических подгрупп, у карачаевцев Усть-Джегутинского р-на его частота составляет 0.534. В четырех остальных подгруппах более частым является аллель $*I$ (от 0.510 в Карачаевском р-не до 0.590 в Черкесске). Для всей выборки карачаевцев частота аллеля $*D$ составляет 0.476, что является промежуточным значением для ранее изученных популяций: для русских Кировской обл. эта частота – 0.538, чувашей – 0.525, татар – 0.513, удмуртов – 0.505, марийцев – 0.452 и башкир – 0.423 [3–7].

В трех подгруппах карачаевцев (Карачаевского, Прикубанского, Малокарачаевского р-нов) показатели фактической гетерозиготности ниже теоретической. В подгруппах Усть-Джегутинского р-на и Черкесска показатели фактической гетерозиготности превышают показатели теоретической гетерозиготности. Дефицит гетерозигот может свидетельствовать об инбридинге в трех популяциях и их изолированности, в отличие от популяций Черкесска и Усть-Джегутинского р-на.

Локус *D7S23 (KM19)*

Одним из маркеров, представляющих из себя однонуклеотидную замену, которую можно детектировать по появлению или потере сайта узнавания определенных эндонуклеаз рестрикции является полиморфизм KM19 в локусе *D7S23*(7q31-q32), сцепленный с геном, кодирующим трансмембранный регулятор муковисцидоза (*CFTR*). Полиморфизм KM19 характеризуется наличием двух аллелей: аллель $*A$ – отсутствие сайта рестрикции для эндонуклеазы PstI, аллель $*B$ – наличие сайта рестрикции [3].

Наиболее частым во всех выборках карачаевцев является аллель $*A$, частота которого варьирует от 0.746 в выборке Усть-Джегутинского

Таблица 2. Частоты аллелей исследуемых маркеров в изученных популяциях, а также их основные популяционные характеристики

Локус	Аллель/ Гетерозиготность/ Индекс фиксации	Малокара-чаевский р-н	Прикубан-ский р-н	Усть-Дже-гутинский р-н	Карачаев-ский р-н	г. Черкесск	FIS	FST
<i>CCR5Δ32</i>	*D	0.068	0.059	0 063	0.074	0.025	-0.036	0.005
	*I	0.932	0.941	0 938	0.926	0.975		
	HWE $p(\chi^2)$	0.432	0.403	0 284	0.304	0.039		
	H_{obs}	0.120	0.119	0 125	0.149	0.050		
	H_{exp}	0.127	0.112	0 117	0.138	0.049		
	F	0.061	-0.063	-0 067	-0.080	-0.026		
<i>ID/ACE</i>	*D	0.475	0.473	0 534	0.490	0.410	-0.034	0.006
	*I	0.525	0.527	0 466	0.510	0.590		
	HWE $p(\chi^2)$	1.146	0.006	0 904	0.082	1.977		
	H_{obs}	0.450	0.495	0 559	0.479	0.580		
	H_{exp}	0.499	0.499	0 498	0.500	0.484		
	F	0.098	0.008	-0 124	0.041	-0.199		
<i>D7S23(KM19)</i>	*A	0.780	0.815	0 746	0.796	0.779	-0.127	0.003
	*B	0.220	0.185	0 254	0.204	0.221		
	HWE $p(\chi^2)$	1.142	0.436	1 551	3.222	1.544		
	H_{obs}	0.376	0.281	0 441	0.428	0.404		
	H_{exp}	0.343	0.302	0 379	0.325	0.344		
	F	-0.096	0.070	-0 162	-0.256	-0.172		
<i>IVS6aGATT(CFTR)</i>	*6	0.295	0.135	0 158	0.220	0.196	0.007	0.019
	*7	0.705	0.865	0 842	0.780	0.804		
	HWE $p(\chi^2)$	0.675	0.315	2 100	1.370	0.001		
	H_{obs}	0.386	0.247	0 217	0.400	0.314		
	H_{exp}	0.416	0.243	0 267	0.343	0.315		
	F	0.005	-0.166	-0.060	0.073	0.187		
<i>STR/FABP2</i>	*8	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.011	0.003
	*9	0.005	0.011	0.008	0.009	0.012		
	*10	0.528	0.517	0.516	0.583	0.537		
	*11	0.179	0.125	0.189	0.130	0.167		
	*12	0.032	0.028	0.057	0.046	0.062		
	*13	0.202	0.227	0.205	0.194	0.173		
	*14	0.041	0.045	0.025	0.037	0.043		
	*15	0.014	0.034	0.000	0.000	0.006		
	HWE $p(\chi^2)$	18.113	97.129	49.027	15.187	13.152		
	H_{obs}	0.661	0.693	0.541	0.574	0.704		
	H_{exp}	0.646	0.661	0.652	0.602	0.648		
	F	-0.022	-0.049	0.170	0.046	-0.086		
<i>STR/THO1</i>	*6	0.255	0.301	0.254	0.292	0.191	-0.007	0.007
	*7	0.255	0.199	0.254	0.170	0.185		
	*8	0.095	0.097	0.066	0.104	0.111		
	*9	0.205	0.165	0.221	0.198	0.216		
	*10	0.182	0.227	0.172	0.198	0.290		
	*11	0.009	0.011	0.033	0.038	0.006		
	HWE $p(\chi^2)$	117.879	15.163	29.811	13.783	9.071		
	H_{obs}	0.809	0.830	0.672	0.811	0.840		
	H_{exp}	0.786	0.762	0.787	0.795	0.786		
	F	-0.029	-0.061	0.146	-0.021	-0.068		

Таблица 2. Продолжение

Локус	Аллель/ Гетерозиготность/ Индекс фиксации	Малокара-чаевский р-н	Прикубан-ский р-н	Усть-Дже-гутинский р-н	Карачаев-ский р-н	г. Черкесск	FIS	FST
VNTR/PAH	*3	0.320	0.366	0.278	0.358	0.354	0.109	0.009
	*5	0.018	0.006	0.000	0.000	0.000		
	*7	0.086	0.105	0.071	0.104	0.201		
	*8	0.414	0.326	0.413	0.340	0.317		
	*9	0.095	0.169	0.135	0.132	0.061		
	*11	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000		
	*12	0.054	0.029	0.087	0.066	0.067		
	*13	0.009	0.000	0.016	0.000	0.000		
	*14	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		
	HWE $p(\chi^2)$	20.715	28.904	21.688	10.343	10.820		
	H_{obs}	0.631	0.570	0.603	0.717	0.683		
	H_{exp}	0.706	0.720	0.731	0.724	0.726		
VNTR/DATI	F	0.107	0.208	0.164	0.009	0.059		
	*9	0.280	0.214	0.253	0.208	0.294		
	*10	0.717	0.786	0.747	0.781	0.700		
	*11	0.004	0.000	0.000	0.010	0.006		
	HWE $p(\chi^2)$	2.904	0.538	0.037	3.840	2.498		
	H_{obs}	0.386	0.363	0.370	0.333	0.433		
	H_{exp}	0.408	0.337	0.378	0.346	0.423		
VNTR/NOS3	F	0,055	−0.077	0.023	0.037	−0.024		
	*4	0.202	0.157	0.182	0.135	0.218		
	*5	0.798	0.843	0.818	0.865	0.782		
	HWE $p(\chi^2)$	0.543	3.101	0.175	1.178	0.521		
	H_{obs}	0.344	0.315	0.284	0.271	0.368		
	H_{exp}	0.323	0.265	0.298	0.234	0.341		
	F	−0.064	−0.187	0.049	−0.157	−0.077		

до 0.815 в выборке Прикубанского р-на. Во всех географических подгруппах карачаевцев наблюдается соответствие распределения наблюдаемых частот генотипов локуса *D7S23 (KM19)* равновесному распределению Харди–Вайнберга (табл. 2). В четырех из пяти подгрупп, исключая только выборку Прикубанского р-на, так же, как и в общей выборке карачаевцев ($H_{obs} = 0.382$; $H_{exp} = 0.329$), индекс наблюдаемой гетерозиготности превышает теоретически ожидаемое значение, что косвенно указывает на наличие миграционной активности карачаевцев.

Распределение частот аллелей во всех изученных географических подгруппах карачаевцев является сходным: аллель *A является преобладающим. Аналогичное распределение частот ал-

лелей и генотипов локуса *D7S23 (KM19)* характерно для других популяций [3–7].

Локус *IVS6aGATT(CFTR)*

Микросателлитный локус *IVS6aGATT(CFTR)* tandemно повторяющихся тетра nukлеотидных *GATT* последовательностей в интроне ба гена муковисцидозного трансмембранного регуляторного белка CFTR представляет внутригенный STR-маркер [20]. Выявлено пять аллелей, имеющих от четырех до восьми повторов *GATT*. В различных популяциях мира встречаются в основном два аллеля с шестью или семью повторами. Их частота в европейских популяциях в среднем составляет 0.25 и 0.75 соответственно. Аллели с четырьмя, пятью и восемью повторами считаются редкими.

Таблица 2. Окончание

Локус	Аллель/ Гетерозиготность/ Индекс фиксации	Малокарачаевский р-н	Прикубанский р-н	Усть-Джегутинский р-н	Карачаевский р-н	г. Черкесск	FIS	FST
<i>VNTR/APOB</i>	*28	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.188	0.007
	*30	0.064	0.080	0.057	0.020	0.071		
	*32	0.008	0.021	0.021	0.029	0.022		
	*34	0.264	0.293	0.229	0.343	0.302		
	*36	0.432	0.367	0.514	0.461	0.401		
	*38	0.108	0.112	0.093	0.078	0.099		
	*40	0.004	0.005	0.021	0.000	0.022		
	*44	0.028	0.021	0.000	0.000	0.011		
	*46	0.044	0.048	0.029	0.010	0.033		
	*48	0.020	0.037	0.029	0.010	0.033		
	*50	0.024	0.016	0.000	0.029	0.005		
	*52	0.004	0.000	0.007	0.000	0.000		
	HWE $p(\chi^2)$	329.752	93.440	31.043	178.442	79.077		
	H_{obs}	0.592	0.670	0.600	0.353	0.659		
	H_{exp}	0.724	0.756	0.669	0.661	0.730		
	F	0.182	0.113	0.103	0.466	0.096		
Общее							0.003	0.007
SE							0.028	

Примечание. HWE $p(\chi^2)$ – вероятность в тесте на равновесие по Харди–Вайнбергу, F – индекс фиксации $[(H_e - H_o)/H_e]$, F_{IS} – коэффициент инбридинга между индивидами $[(H_s - H_o)/H_s]$, F_{ST} – коэффициент инбридинга между популяциями $[(H_t - H_s)/H_t]$.

Среди карачаевцев преобладают два аллеля, включающих шесть или семь единиц повтора. Установлено, что наиболее частым является аллель с семью повторами *7 (от 0.705 в Малокарачаевском до 0.865 в Прикубанском р-не). В целом по распределению частот аллелей локуса *IVS6aGATT* популяция карачаевцев отличается от популяции Волго-Уральского региона, для которых характерны более высокие частоты аллеля *6 (0.270–0.355) и более низкие частоты аллеля *7 (0.590–0.707) [3–7].

У карачаевцев Карачаевского района уровень фактической гетерозиготности по локусу *IVS6aGATT(CFTR)* незначительно превышает уровень теоретической; в двух районах, Малокарачаевском и Усть-Джегутинском, наблюдается снижение показателя фактической гетерозиготности. В Черкесске и Прикубанском р-не уровни фактической и теоретической гетерозиготности равны.

Во всех подгруппах карачаевцев наблюдается соответствие наблюдаемых частот встречаемости

генотипов локуса *IVS6aGATT(CFTR)* равновесному распределению Харди–Вайнберга (табл. 2).

Локус *STR/FABP2*

Ген *FABP2*, локализованный на коротком плече хромосомы 4, кодирует белок, который связывает жирные кислоты [10]. Белок FABP2 содержится в эпителии тонкого кишечника, где с его помощью осуществляется связывание жиров для формирования хиломикрон. Микросателлитный локус *STR/FABP2* локализован во втором интроне гена, этот тринуклеотидный повтор АТТ, обозначается как *HUMFABP2* или *STR/FABP2* и относится к группе *STR*-маркеров. Название аллелей соответствует числу повторов коровой тринуклеотидной последовательности. Описано восемь аллелей этого локуса с числом повторов от 8 до 16. Не выявлено никаких ассоциаций полиморфизма в данном локусе с какими-либо заболеваниями [10]. Высокое значение гетерозиготности локуса *HUMFABP2* в популяциях Европы ($H > 0.5$) делает целесообразным использование этого маркера в популяционно-генетических исследованиях [10].

В пяти изученных географических подгруппах карачаевцев выявлено восемь аллелей локуса *STR/FABP2*. Во всех изученных районах наиболее частыми оказались аллели **10* (частота от 0.516 до 0.583), **11* (частота от 0.125 до 0.189) и **13* (частота от 0.173 до 0.227).

Аллели **12*, **9*, **14* и **15* встречаются во всех районах с частотой менее 0.057. Аллель **8* является редким в изученных выборках и выявлен только в Малокарачаевском районе с частотой 0.011.

В трех подгруппах карачаевцев (Малокарачаевского, Прикубанского р-нов и г. Черкесска) наблюдается преобладание фактической гетерозиготности по локусу *STR/FABP2* по сравнению с теоретической. В Карачаевском и Усть-Джегутинском р-нах наблюдается недостаток гетерозигот.

Локус *STR/THO1*

Локус *HUMTHO1* (или *STR/THO1*) представляет еще один *STR*-маркер. Ген тирозингидроксилазы человека (*TH*) локализован на коротком плече 11-й хромосомы (11p15.5), в интроне 1 он содержит локус *HUMTHO1* коротких tandemных повторов AATG [15]. Название аллелей локуса *HUMTHO1* соответствует числу повторов. В некоторых аллелях из тетра nukлеотидной последовательности исчезает один нуклеотид, такие аллели обозначают как *n3*, где *n* — число коровых повторов (например, 9.3). Данный полиморфный локус имеет высокий уровень гетерозиготности (90%) и активно используется в популяционной генетике и при идентификации личности [15].

В общей выборке карачаевцев выявлено шесть аллелей локуса *STR/THO1*: наиболее частыми оказались пять аллелей **6*, **10*, **7*, **9* и **8*, частоты которых составили 0.259, 0.214, 0.213, 0.201 и 0.119, соответственно. Но следует отметить, что соотношение частот аллелей в изученных подгруппах карачаевцев различно (табл. 2). Аллель **11* является редким во всех пяти подгруппах: его частота не превышает 0.038.

По данному локусу отмечается в основном превышение наблюдаемой гетерозиготности, за исключением Усть-Джегутинского р-на, где ожидаемая гетерозиготность выше фактической.

Локус *VNTR/PAH*

Кроме микросателлитных маркеров, рассмотренных выше, в популяционно-генетических

исследованиях активно используются минисателлиты. Одним из них является высокополиморфный участок, представляющий собой AT-богатые повторяющиеся последовательности размером 30 пн, локализованные в 3'-конце гена фенилаланингидроксилазы *PAH* (12q22-q24). Анализ данного региона в популяциях Европы выявил девять вариантов аллелей, содержащих различное количество повторов размером от 350 до 650 пн [13].

В целом в выборке из 485 индивидов определены 8 аллелей локуса *VNTR/PAH* с числом повторов коровой единицы от 3 до 13 (аллели с числом повторов 4, 6 или 10 не выявлены). Наибольшее число аллелей по локусу *VNTR/PAH* отмечено для Малокарачаевского р-на (все 8 аллелей). Во всех районах самыми частыми оказались аллели **8* (от 0.414 в Малокарачаевском до 0.317 в Черкесске) и **3* (от 0.356 в Прикубанском до 0.278 в Усть-Джегутинском). Следует отметить, что в ранее изученных российских популяциях [3–7] частота аллеля **3* существенно преобладала над частотами всех остальных аллелей, в том числе и частотой аллеля **8*. В общей же выборке карачаевцев частоты этих аллелей значимо не различаются: 0.362 для аллеля **8* и 0.335 для аллеля **3*.

При исследовании ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности выявлено уменьшение показателей наблюдаемой гетерозиготности во всех подгруппах карачаевцев.

Локус *VNTR/DAT1*

Ген *SLC6A3* (прежнее название *DAT1*) кодирует переносчик дофамина, принадлежащий к семейству Na^+ , Cl^- -зависимых переносчиков нейромедиаторов и ограничивающий активность дофаминэргической системы в синапсах путем обратного поглощения нейромедиатора в пресинаптические терминалы, который играет важную роль в дофаминэргической нейротрансмиссии [9]. Ген *SLC6A3* локализован на хромосоме 5 в области p15.33. В гене *SLC6A3* обнаружен локус варьирующих tandemных повторов (*VNTR*) в 3'-нетранслируемой области с числом копий от 3 до 11 (длина копии повтора составляет 40 пн). Наиболее частыми являются аллели с 9 и 10 единицами повторов, они присутствуют более чем у 90% индивидов в популяциях европейцев и американцев европейского и африканского происхождения. Выявлены ассоциации между полиморфизмом *VNTR/DAT1* и шизофренией и гиперактивными состояниями с нарушением внимания [9].

Распределение частот аллелей локуса *VNTR/DAT1* во всей популяции карачаевцев характеризуется как унимодальное. Всего выявлено 3 аллеля. Самым частым является аллель с 10 единицами повтора, что характерно и для многих других ранее исследованных популяций [3–7]. Максимальное значение частоты аллеля *10 выявлено у карачаевцев Прикубанского р-на (0.786), а минимальное — у карачаевцев Черкесска (0.700). Вторым по частоте является аллель *9, наибольшая частота которого выявлена в Черкесске — 0.294, а минимальная — в Карачаевском р-не (0.208).

Показатели наблюдаемой гетерозиготности по данному локусу варьируют от 0.333 в подгруппе Карачаевского р-на до 0.433 у карачаевцев Черкесска. В объединенной выборке показатель фактической гетерозиготности значимо не отличается от теоретически ожидаемого по локусу *VNTR/DAT1*.

Локус *VNTR/NOS3*

Еще одним минисателлитом, широко используемым в популяционной генетике, является локус *VNTR/NOS3*. Ген *eNOS* расположен на хромосоме 7 в локусе q35-36 и кодирует фермент конститутивную эндотелиальную синтазу окиси азота, участвующий в образовании одного из важнейших вторичных мессенджеров в организме человека — окиси азота II (NO). Полиморфизм минисателлитного повтора в интроне 4 обусловлен варьирующим числом tandemных последовательностей размером в 27 пн [21]. Данные ряда исследователей свидетельствуют в пользу взаимосвязи полиморфизма 27-членных tandemных повторов гена эндотелиальной синтазы окиси азота с развитием инфаркта миокарда и эссенциальной гипертензией [22].

В популяции карачаевцев выявлены два аллеля *A и *B, с числом повторяющихся единиц 4 и 5 соответственно.

Частота аллеля *B гена *NOS3* во всех подгруппах карачаевцев значительно превышает частоту аллеля *A (табл. 1.), что соответствует распределению частот аллелей локуса *VNTR/NOS3* во многих изученных популяциях [3–7]. Наименьшая частота аллеля *A выявлена у карачаевцев Карачаевского р-на (0.135); наиболее высокие значения частоты этого аллеля отмечено у карачаевцев из Черкесска (0.218).

Локус *VNTR/APOB*

Одним из высокоинформативных высокополиморфных сегментов человеческого генома,

которые широко используются в судебной медицине и популяционной генетике, служит локус повторяющихся коровых АТ богатых последовательностей длиной 14–16 пн, локализованных примерно в 180 пн 3'-нетранслируемой области гена аполипопротеина В (*VNTR/APOB*). Обычно в популяциях сегрегируют 12 аллелей данного локуса с количеством повторов от 28 до 52 [23]. Предполагается, что аллели с большим количеством повторов в локусе *VNTR/APOB* ассоциированы с риском развития инфаркта миокарда [24]. Такие аллели очень редки в мировой популяции. Полученное в настоящей работе распределение частот аллелей в пяти географических подгруппах карачаевцев соответствует полученному ранее для других исследованных народов. Самые распространенные аллели *34 и *36 определены во всех 5 подгруппах с наибольшей частотой. Частота аллеля *36 составила от 0.367 в Прикубанском р-не до 0.514 в Усть-Джегутинском, аллеля *34 — от 0.229 в Усть-Джегутинском до 0.343 в Карачаевском. Третий по частоте аллель *38 также встретился во всех подгруппах карачаевцев с частотой от 0.078 в Карачаевском до 0.112 в Прикубанском р-не.

Из-за большого числа сегрегирующих аллелей (12) и возможных генотипов (78), а также совсем небольшой частоты редких аллелей (частота аллеля *52 составила 0.004 в Малокарачаевском р-не, в других районах некоторые редкие аллели не встретились совсем), используя стандартную методику, мы получили значительное отклонение от равновесия Харди–Вайнберга по данному мультиаллельному локусу, как и весьма заметное уменьшение фактической гетерозиготности от ожидаемых значений (табл. 2).

Итак, анализ полиморфизма десяти аутомных локусов ДНК в объединенной выборке популяции карачаевцев показал, что по двум локусам — *VNTR/PAH* ($F_{is} = 0.109$), *VNTR/APOB* ($F_{is} = 0.188$) — наблюдалось выраженное снижение уровня наблюдаемой гетерозиготности по отношению к теоретической, т.е. наблюдался дефицит гетерозигот. По пяти локусам — *IVS6aGATT(CFTR)*, *CCR5Δ32*, *DAT1*, *STR/FABP2* и *STR/THOI* — значения ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности практически равны. По трем локусам — *VNTR/eNOS* ($F_{is} = -0.081$), *ID/ACE* ($F_{is} = -0.034$) и *D7S23(KM19)* ($F_{is} = -0.127$) — наблюдается тенденция к избытку гетерозигот. Выявленные особенности могут указывать на эффекты различных типов отбора по этим трем группам локусов и/или



Рис. 2. Дендрограммы по матрице попарных коэффициентов F_{st} (а) и по частым фамилиям (б).

на изолированность географических подгрупп карачаевцев.

Наибольший уровень популяционного разнообразия для карачаевцев по диаллельной системе установлен по локусу *ID/ACE*, $H_{obs} = 0.513$. Для мультиаллельной системы маркеров максимальный уровень разнообразия наблюдается по локусу *STR/THO1*, $H_{obs} = 0.792$. Показатель средней наблюдаемой гетерозиготности на локус составляет 0.466 для карачаевской популяции в целом.

Таким образом, результаты анализа вариаций генных частот, уровень гетерозиготности или генного разнообразия по всем изученным локусам указывают на существование значительного генетического разнообразия в популяции карачаевцев.

Получить представление о подразделенности популяции, о характере генетических взаимоотношений между подгруппами позволяет коэффициент инбридинга между популяциями (F_{st}). Средний коэффициент инбридинга подгруппах F_{is} , характеризующий изменения на-

блюдаемой частоты гетерозиготных носителей по сравнению с ожидаемой, равен 0.003, что свидетельствует о незначительном недостатке гетерозиготных носителей и косвенно о практически полностью случайных браках в популяции карачаевцев. Среднее значение показателя F_{st} , определяющего подразделенность популяции, равняется 0.007 (табл. 3). Это говорит о существующей дифференциации географически разных подгрупп, входящих в состав популяции карачаевцев Республики Карачаево-Черкесия. Внутрипопуляционная изменчивость оказалась в пределах вариации, установленной для других популяций: для марийцев $F_{st} = 0.0024$, удмуртов $F_{st} = 0.0048$, чувашей $F_{st} = 0.006$, татар $F_{st} = 0.0075$ и башкир $F_{st} = 0.008$.

При сравнении матрицы попарных значений F_{st} между подгруппами с матрицей фамильных дистанций [25] выявлена значимая и положительная линейная корреляция ($r = 0.55 \pm 0.29$). Ранговая корреляция составила 0.53. На обеих дендрограммах (рис. 2) карачаевцы Черкесска являются наиболее удаленными от всех остальных.

Мы предполагаем, что это связано с более высоким уровнем метисации карачаевцев Черкесска. Интенсивность метисации карачаевцев в Черкесске составляет 41.3, в районах — 11.7%. Эндогамность районов не является высокой (0.29–0.53), это позволило нам определить территорию фактического проживания карачаевцев как элементарную популяцию, что допускает произвольное сочетание между подгруппами при кластеризации по различным генетическим системам [26].

Таким образом, несмотря на довольно высокий уровень генетического разнообразия карачаевцев в целом, внутри себя данная популяция довольно высоко подразделена.

Финансировано Госзаданием Министерства науки и высшего образования России.

Таблица 3. Парные коэффициенты инбридинга F_{st} между изученными субпопуляциями

г. Черкесск	Карачаевский р-н	Прикубанский р-н	Малокарачаевский р-н	Усть-Джегутинский р-н

0.0059	***			
0.0053	0.0027	***		
0.0047	0.0036	0.0062	***	
0.0061	0.0038	0.0039	0.0040	***

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Карачай – страна на вершине Кавказа. Очерки истории и культуры Карачая. Составление, вступительная статья и комментарии С.Х. Хотко. Майкоп: ОАО “Полиграф-ЮГ”, 2011. 448 с.
2. Алексеева Е.П. Карачаевцы и балкарцы – древний народ Кавказа. Черкесск, 1963. 86с. (http://www.elbrusoid.org/upload/iblock/8fc/karacay-balkar-drev-narod_turklib.pdf)
3. Ахметова В.Л., Хусаинова Р.И., Юрьев Е.Б. и др. Анализ полиморфизма девяти ДНК-локусов ядерного генома в популяции марийцев // Генетика. 2006. Т. 42. № 2. С. 256–273.
4. Бермишева М.А., Петрова Н.В., Зинченко Р.А. и др. Популяционно-генетическое исследование популяции удмуртов (анализ десяти полиморфных ДНК-локусов ядерного генома) // Генетика. 2007. Т. 43. № 5. С. 688–705.
5. Гринберг Я.И., Гринберг Э.Р., Ахметова В.Л. и др. Медико-генетическое изучение населения Республики Башкортостан. Сообщ. VI. Популяционно-генетическое изучение этногеографических групп башкир (анализ десяти полиморфных ДНК-локусов ядерного генома) // Мед. генетика. 2010. Т. 9. № 2(92). С. 12–29.
6. Хуснутдинова Э.К., Викторова Т.В., Ахметова В.Л. и др. Популяционно-генетическая структура чувашей (по данным о восьми ДНК-локусах ядерного генома) // Генетика. 2003. Т. 39. № 11. С. 1550–1563.
7. Васильева Т.А., Петрова Н.В., Тимковская Е.Е. и др. Медико-генетическое изучение населения Республики Татарстан. Сообщ. VI. Популяционно-генетическое изучение этногеографических групп татар (анализ десяти полиморфных ДНК-локусов ядерного генома) // Мед. генетика. 2013. Т. 12. № 5 (131). С. 3–20.
8. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update // Bioinformatics. 2012. V. 28. P. 2537–2539. <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/28/19/2537>
9. Persico A.M., Macciardi F. Genomic Association between dopamine transporter gene polymorphisms and schizophrenia // Am. J. Med. Genet. 1997. V. 74. P. 53–57.
10. Polymeropoulos M.H., Rath D., Xiao H. et al. Trinucleotide repeat polymorphism at the human intestinal fatty acid binding protein gene (FABP2) // Nucl. Ac. Res. 1991. V. 18. P. 71–98.
11. Yudin N.S., Vinogradov S.V., Potapova T.A. et al. Distribution of CCR5-delta 32 gene deletion across the Russian part of Eurasia // Hum. Genet. 1998. V. 102(6). P. 695–698. <https://doi.org/10.1007/s004390050764>. PMID: 9703433
12. Chehab F., Johnson J., Louie E. et al. A dimorphic 4-bp repeat in the cystic fibrosis gene is in absolute linkage disequilibrium with the delta F508 mutation: Implications for prenatal diagnosis and mutation origin // Am. J. Hum. Genet. 1991. V. 48(2). P. 223–226.
13. Hoang L., Byck S., Prevost L., Scriver C.R. PAH Mutation Analysis Consortium Database: A database for disease-producing and other allelic variation at the human PAH locus // Nucl. Ac. Res. 1996. V. 24. № 1. P. 127–131.
14. Tiret L., Rigat B., Visvikis S. et al. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels // Am. J. Hum. Genet. 1992. V. 51(1). P. 197–205.
15. <http://www.ualberta.ca/~fyeh>
16. Prasad N., Kane K., Johnston H. et al. The relationship between blood pressure and left ventricular mass in essential hypertensives is observed only in the presence of the ACE-gene deletion allele // QJM. 1994. V. 87. P. 659–669.
17. Evans A.E., Poirier O., Kee F. et al. Polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease // Quart. J. Med. 1994. V. 87. P. 211–214.
18. Лимборская С.А., Хуснутдинова Э.К., Балановская Е.В. Этногеномика и геногеография народов Восточной Европы. М.: Наука, 2002. 261 с.
19. Хитринская, И.Ю., Степанов В.А., Пузырев В.П. и др. Генетическая дифференциация населения Средней Азии по данным аутосомных маркеров // Генетика. 2003. Т. 39. № 10. С. 1389–1397.
20. Polymeropoulos M.H., Xiao H., Rath D. et al. Tetranucleotide repeat polymorphism at the human tyrosine hydroxylase gene // Nucl. Ac. Res. 1991. V. 19. P. 37–53.
21. Мустафина О.Е., Шагисултанова Л.И., Насибуллин Т.Р. и др. Полиморфизм 27-членных tandemных повторов гена эндотелиальной синтазы окиси азота: исследование в популяциях Волго-Уральского региона и анализ ассоциаций с инфарктом миокарда и эссенциальной гипертензией у жителей Башкортостана // Генетика. 2001. Т. 37. № 5. С. 668–674.
22. Пузырев К.В. Клинико-генетическое исследование факторов предрасположенности к эссенциальной гипертензии и идиопатической гипертрофической кардиомиопатии: Дис. ... канд. мед. наук. Томск: Томский науч. центр СО РАМН, 1999. 159 с.
23. Deka R., Chakraborty R., DeCoo S. et al. Characteristics of polymorphism at a VNTR locus 3' to the apolipoprotein B gene in five human populations // Am. J. Hum. Genet. 1992. V. 51(6). P. 1325–1333.
24. Singh N., Sinha N., Kumar S. et al. Influence of ApoB100 3' hypervariable repeats on acute myocardial infarction // Heart Asia. 2014. V. 7–6(1). P. 155–158. <https://doi.org/10.1136/heartasia-2014-010540>.

PMID: 27326195

25. Ельчинова Г.И., Макаов А.Х., Зинченко Р.А. Анализ семейного ландшафта Карачаево-Черкесии // Совр. пробл. науки и образования. 2015. № 5. С. 686–694.

<https://doi.org/10.17513/spno.128-22497>

26. Ельчинова Г.И., Шакманов М.М., Ревазова Ю.А. и др. Брачно-миграционная характеристика карачаевцев // Генетика. 2015. Т. 51. № 8. С. 941–945. <https://doi.org/10.7868/S0016675815070036>

Study of the Karachay Population Based on the Analysis of Ten Polymorphic DNA Loci

N. V. Petrova¹, A. V. Marakhonov¹, N. V. Balinova¹, T. A. Vasilyeva¹, G. I. El'chinova¹*,
E. K. Ginter¹, R. A. Zinchenko¹

¹Research Centre for Medical genetics, Moscow, 115522 Russia

*e-mail: elchinova@med-gen.ru

Genetic structure of Karachai population has been studied based on analysis of 10 autosomal DNA markers (diallelic and multiallelic): *CCR5Δ32*, *ACE*, *D7S23(KM19)*, *STR/THOI*, *STR/FABP*, *STR/IVS6a*, *VNTR/PAH*, *VNTR/DAT1*, *VNTR/eNOS*, *VNTR/APOB*. The total number of sample makes up 485 individuals who are residents of five Karachai regions: Karachaevesky, Prikubansky, Malokarachayevsky, Ust-Dzhegutinsky and the city of Cherkessk, the capital of the Republic of Karachaevo-Cherkessia. Analysis of allele's frequency of autosomal DNA markers in Karachay geographic subgroups shows considerable genetic differentiation between them. The highest level of genetic diversity for Karachay people on diallelic system is set at the locus *ID/ACE*, $H_{obs} = 0.513$, on multi-allele system is at the locus *STR/THOI*, $H_{obs} = 0.792$. The average value of the observed heterozygosity per locus is 0.466, varying from 0.441 in Ust-Dzhegutinsky to 0.503 in Cherkessk. The level of genetic differences between Karachai groups ($F_{ST} = 0.007$) is inside the variance defined in the previously studied peoples, Mari ($F_{ST} = 0.0024$), Udmurt ($F_{ST} = 0.0048$), Chuvash ($F_{ST} = 0.006$), Tatars ($F_{ST} = 0.0075$) and Bashkir ($F_{ST} = 0.008$).

Keywords: Karachai, population genetic structure, DNA markers.