

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Распространенность полиморфных вариантов генов Н-фиколина (*FCN3*) и маннозосвязывающей лектин-ассоциированной сериновой протеазы-2 (*MASP2*) у коренных популяций российских Арктических территорий

М.В. Смольникова , С.Ю. Терещенко

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Красноярск, Россия

 smarinv@yandex.ru

Аннотация. Лектины – основные протеины лектинового пути активации системы комплемента, кодируются полиморфными генами, точечные мутации в которых приводят к изменению конформации и экспрессии белка, что в свою очередь отражается на функциональности и способности отвечать на патоген. В настоящем исследовании впервые получены масштабные данные о популяционном распределении частот аллелей генов Н-фиколина *FCN3* rs28357092 и маннозосвязывающей лектин-ассоциированной сериновой протеазы-2 *MASP2* rs72550870 среди коренных народностей российских Арктических территорий (ненцы, долганы, нганасаны, смешанная популяция и русские: общая выборка составила около 1000 новорожденных). Генотипирование осуществлено с использованием ПЦР-РВ. Нами выявлена частота гомозиготного варианта del/del *FCN3* rs28357092, ассоциированного с полным отсутствием наиболее мощного активатора лектинового пути комплемента Н-фиколина: у ненцев 0 %, у долган-нганасан 0.8 %, в то время как среди европеоидов 3.5 % ($p < 0.01$). Анализ распространенности генотипов *MASP2* показал преобладание гомозиготного варианта AA во всех исследованных популяциях, что согласуется с доступными мировыми данными. Гетерозиготный генотип AG rs72550870, ассоциированный со сниженным уровнем протеазы, встречается в единичных случаях у ненцев, долган и нганасан по сравнению с новорожденными европеоидного происхождения г. Красноярск: 0.5 и 3.3 % соответственно. Причем у ненцев был выявлен один носитель AG из 323 обследованных, тогда как у европеоидов – 16 из 242 обследованных новорожденных ($p < 0.001$). Гомозиготный вариант GG, которому сопутствует полное отсутствие протеазы с нарушением связывания MBL и фиколинов, не обнаружен ни у одного из 980 обследованных новорожденных. Дополнительный анализ инфекционной заболеваемости в арктических популяциях позволит выявить фенотипические характеристики, сопряженные с высокой функциональной активностью лектинового пути активации комплемента в роли важнейшего фактора первой линии противоинфекционной защиты, в том числе в отношении новых вирусных заболеваний, таких как COVID-19. Ключевые слова: *FCN3*; *MASP2*; полиморфизм генов; новорожденные; Россия; арктические популяции.

Для цитирования: Смольникова М.В., Терещенко С.Ю. Распространенность полиморфных вариантов генов Н-фиколина (*FCN3*) и маннозосвязывающей лектин-ассоциированной сериновой протеазы-2 (*MASP2*) у коренных популяций российских Арктических территорий. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(8):847-854. DOI 10.18699/VJ21.098

Prevalence of the polymorphic H-ficolin (*FCN3*) genes and mannose-binding lectin-associated serine protease-2 (*MASP2*) in indigenous populations from the Russian Arctic regions

M.V. Smolnikova , S.Yu. Tereshchenko

Scientific Research Institute of Medical Problems of the North – a separate division of the Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center” of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia

 smarinv@yandex.ru

Abstract. Lectins, being the main proteins of the lectin pathway activating the complement system, are encoded by polymorphic genes, wherein point mutations cause the protein conformation and expression to change, which turns out to have an effect on the functionality and ability to respond to the pathogen. In the current study, large-scale data on the population genotype distribution of the genes for H-ficolin *FCN3* rs28357092 and mannose-binding lectin-associated serine protease *MASP2* rs72550870 among the indigenous peoples of the Russian Arctic regions (Nenets, Dolgans and Nganasans, a mixed population and Russians: a total sample was about 1000 newborns) have been obtained for the first time. Genotyping was carried out using RT-PCR. The frequency of the homozygous variant del/del *FCN3* rs28357092 associated with the total absence of the most powerful activator of the lectin com-

plement pathway, N-ficolin, was revealed; 0 % in the Nenets, 0.8 % in the Dolgans and Nganasans, and 3.5 % among the Russians ($p < 0.01$). Analysis of the prevalence of the *MASP2* genotypes has shown the predominance of the homozygous variant AA in all studied populations, which agrees with the available world data. The heterozygous genotype AG rs72550870 associated with a reduced level of protease was found to occur rarely in the Nenets, Dolgans and Nganasans compared to newborns of Caucasoid origin from Krasnoyarsk: 0.5 % versus 3.3 %, respectively. Moreover, among 323 examined Nenets, one AG carrier was identified, whereas in Russians, 16 out of 242 examined newborns were found to be AG carriers ($p < 0.001$). A homozygous variant (GG) in total absence of protease with impaired binding of both MBL and ficolins was not detected in any of the 980 examined newborns. An additional analysis of infectious morbidity in Arctic populations allows one to find phenotypic characteristics related to a high functional activity of the lectin pathway of complement activation as an most important factor for the first-line of anti-infectious defense, including such new viral diseases as COVID-19.

Key words: *FCN3*; *MASP2*; gene polymorphism; newborns; Russia; Arctic populations.

For citation: Smolnikova M.V., Tereshchenko S.Yu. Prevalence of the polymorphic H-ficolin (*FCN3*) genes and mannose-binding lectin-associated serine protease-2 (*MASP2*) in indigenous populations from the Russian Arctic regions. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(8):847-854. DOI 10.18699/VJ21.098

Введение

Врожденная иммунная система обеспечивает немедленную неспецифическую первую линию защиты посредством гуморальных, клеточных и механических процессов, играя жизненно важную роль при патогенном воздействии (Dunkelberger, Song, 2010). В последние годы в мировой литературе уделяется значительное внимание изучению роли врожденных дефектов системы комплемента (СК) в патогенезе различных заболеваний – от инфекционных до аутоиммунных и кардиометаболических. Так, в документе Европейской ассоциации по изучению иммунодефицитных состояний (European Society for Immunodeficiencies, ESID) от 2020 г., специально посвященном обобщению современного состояния проблемы дефицитов различных компонентов комплемента, утверждается, что на такие врожденные дефекты приходится не менее 5 % от общего числа первичных иммунодефицитов, а многие аспекты их распространенности и патогенеза остаются неизученными (Brodzki et al., 2020).

Плазменные протеины СК взаимодействуют между собой тремя известными путями – лектиновым (наиболее филогенетически древний), альтернативным и классическим. Все три пути комплемента инициируются множеством стимулов независимо друг от друга, и впоследствии протеолитические каскады сводятся к активации основного компонента C3, что приводит к сборке мембрано-атакующего комплекса (Blom et al., 2004). Лектиновый путь (ЛП) может активироваться в отсутствие иммунных комплексов и инициироваться путем связывания молекул суперсемейства паттерн-распознающих рецепторов (лектинов), таких как маннозосвязывающий лектин (MBL), коллектин 11 (CL-K1) или фиколины, с углеводами или ацетилированными остатками, присутствующими на поверхности патогенов или собственных апоптотических/опухолевых клеток (Ali et al., 2012). Циркулирующие MBL, CL-K1 и фиколины образуют комплексы со специфическими сериновыми протеазами (mannose-binding lectin-associated serine protease, MASP).

Помимо активации комплемента, лектины снижают риск инфицирования, стимулируя секрецию интерферона-гамма (IFN- γ), IL-17, IL-6, фактора некроза опухоли-альфа (TNF- α) макрофагами (Ren et al., 2014). У человека описано три вида фиколинов: М-фиколин, кодирующийся геном *FCN1*, L-фиколин (*FCN2*) и Н-фиколин (*FCN3*).

М-фиколин – исключительно тканевая молекула (экспрессируется в легких, моноцитах и селезенке), L-фиколин продуцируется в печени и циркулирует в крови, Н-фиколин экспрессируется в печени и легких. Показано, что в легких в наибольшей степени продуцируется Н-фиколин, а его комплемент-активирующая способность превышает таковую MBL. Фиколин-3 является наиболее распространенной молекулой распознавания лектинового пути. Он высоко экспрессируется в тканях печени и легких, что говорит о его значимости как для активации лектинового пути, так и для защиты легких хозяина (Akaiwa et al., 1999; Hummelshoj et al., 2008). Кроме того, недавно были получены первые свидетельства антимикробной активности фиколина-3 в отношении кишечного комменсальных и условно-патогенных кишечных бактерий *Hafnia alvei* (Michalski et al., 2015). Примечательно, что фиколин-3 устойчив к коллагеназам (тогда как другие фиколины и коллагены нет), и это может отражаться на его антимикробной активности, в том числе в желудочно-кишечном тракте (Hummelshoj et al., 2008).

Описаны различные полиморфные варианты промоторных и структурных регионов генов фиколинов. Ген *FCN3* расположен на хромосоме 1p36.11 и высококонсервативен у человека. Выявлено пять точечных мутаций, ответственных за замены аминокислот, все с частотами аллелей ниже 5 %: p.Leu12Val, p.Leu117fs (известная как +1637delC), p.Thr125Ala, p.Glu166Asp и p.Val287Ala (Hummelshoj et al., 2008). Такой высокий консерватизм гена указывает на то, что фиколин-3 может выполнять решающую функцию в иммунном ответе. Действительно, недостаточность фиколина-3 встречается крайне редко (Thiel, 2007).

Н-фиколин (фиколин-3) – наиболее мощный из известных активаторов лектинового пути комплемента; его сывороточные концентрации значительно превышают концентрации L-фиколина и MBL (Sallenbach et al., 2011). Мутация rs28357092 (+1637delC) в экзоне 5 гена *FCN3* представляет собой мутацию со сдвигом рамки считывания, ведущую к усечению C-концевого конца белка фиколина-3. Она приводит к снижению плазменных уровней Н-фиколина по типу ген-эффект зависимости: гомозиготы с такой делецией демонстрируют полное отсутствие плазменного уровня Н-фиколина, а у гетерозигот выявляются средние уровни протеина (Michalski et al.,

2011). Гомозиготность по +1637delC встречается крайне редко (1–2 %): в литературе описано всего шесть случаев (все страдали тяжелыми инфекциями в раннем детском возрасте). Данные о популяционной частоте гетерозиготного носительства также крайне немногочисленны: в исландской когорте здоровых доноров было выявлено 15 гетерозигот из 483 обследованных (частота составила 1.5 %) (Bjarnadottir et al., 2016).

Помимо MBL и фиколинов, одним из ключевых участников лектинового пути активации комплемента является семейство маннозосвязывающих лектин-ассоциированных сериновых протеаз. В семействе MASP были идентифицированы три протеазы (MASP-1, MASP-2, MASP-3) и два родственных неферментативных белка, MAP19 (sMAP) и MAP44 (MAP-1) (Ricklin et al., 2010). MASP-1 и MASP-2 играют решающую роль в активации лектинового пути. Недавние исследования показали, что MASP-1 может автоматически активироваться и приводить к активации MASP-2 (Degn et al., 2012). MASP-2 также может автоматически активироваться, но в физиологических условиях именно MASP-1 является основным активатором MASP-2 (Héja et al., 2012). MASP-2 – это протеаза, которая расщепляет факторы комплемента C2 и C4, что приводит к активации каскада комплемента с образованием медиаторов воспаления (C3a и C5a), сборке комплекса мембранной атаки (MAC) и опсонизации. С другой стороны, MASP-3, по-видимому, ослабляет активность лектинового пути из-за конкуренции за сайты связывания MASP на распознающих молекулах (Degn et al., 2010). Кроме того, MASP-3 преимущественно образует комплекс с фиколином-3 и, как полагают, оказывает ингибирующее действие на активацию комплемента, опосредованную фиколином-3 (Skjoeedt et al., 2010). Уровни трех MASP были показаны как предикторы инфекции и длительной зависимости от интенсивной терапии у детей в критическом состоянии (Ingels et al., 2014). Среди специфических ферментов, способных активировать как MBL, так и фиколины, наиболее изучена протеаза 2-го типа – MASP-2. Уровни MASP-2 в сыворотке колеблются от 125 до 1150 нг/мл, в среднем 416 нг/мл (Sallenbach et al., 2011). По результатам анализа уровня MASP-2 в плазме у людей из различных этнических групп самый низкий уровень был выявлен у африканцев, за которыми следовали китайцы из Гонконга, индейцы и датчане европеоидной расы (Thiel et al., 2007).

Полиморфный ген *MASP2* расположен на хромосоме 1p36.23-31, имеет 12 экзонов и кодирует два белка, MASP-2 и MAP19. Наиболее значимой мутацией *MASP2* является rs72550870 (p.D120G); она приводит к замене аспарагиновой кислоты на глицин, вследствие чего белок теряет способность активировать комплемент из-за невозможности образовывать комплексы с лектинами, в частности с MBL и фиколинами. Врожденный дефицит MASP-2 обусловлен мутацией rs72550870 в гомозиготном состоянии (GG), характеризуется полным отсутствием сывороточной активности протеазы (Thiel et al., 2009). Всего тринадцать случаев гомозиготного носительства GG rs72550870 было описано в литературе с момента выявления первого случая, зарегистрированного в 2003 г. (Stengaard-Pedersen et al., 2003). Клинические про-

явления снижения/отсутствия активности MASP-2 могут варьировать от полного здоровья до тяжелых инфекций и предрасположенности к онкологическим заболеваниям (Bjarnadottir et al., 2016). После того как появились данные о трех здоровых взрослых с дефицитом MASP-2, гомозиготных по GG в *MASP2* (García-Laorden et al., 2008), клиническая пенетрантность этого дефицита стала сомнительной. Таким образом, ассоциация дефицита MASP-2 (GG rs72550870) с клиническими проявлениями к настоящему времени не определена. Вероятно, в ЛПП участвуют неидентифицированные молекулы и функции, которые могут объяснить, почему дефицит MASP-2 относительно часто встречается у практически здоровых людей (Bjarnadottir et al., 2016). Было высказано предположение, что лектиновый путь активации системы комплемента необязателен или даже избыточен (например, при тяжелом течении COVID) для формирования иммунного ответа у большинства здоровых лиц, а его дефицит клинически значим только в определенных ситуациях, например у недоношенных новорожденных (Matricardi et al., 2020).

Распределения частот генотипов полиморфных генов протеинов лектинового пути СК имеют выраженные популяционные различия. Результаты исследований, проведенных нами ранее (Терещенко, Смольникова, 2020), показывают, что частота высокопродуктивного гаплотипа *HYP4* гена *MBL2* составляет 35.4 % у русских новорожденных Восточной Сибири, что соответствует частотам европейских популяций (Голландия – 27 %, Дания – 30 %, Чехия – 33 %), а также европеоидов Бразилии (28–34 %). В то же время у новорожденных Таймырского Долгано-Ненецкого района Красноярского края частота гаплотипа *HYP4* была статистически значимо выше, чем у русских, и составила 64 % для ненцев и 56 % для долган-нганасан, что близко к значениям частот распространения, выявленным для эскимосов (81 %) и североамериканских индейцев (64 %). В аборигенных популяциях как ненцев, так и долган и нганасан Таймырского Долгано-Ненецкого района Красноярского края наша группа обнаружила снижение распространенности генотипа полиморфизма *FCN2* rs7851696, ассоциированного с низкой связывающей способностью L-фиколина к углеводам, по сравнению с европеоидами Восточной Сибири. Результаты этого исследования (Smolnikova et al., 2017) выявили, что ненецкая популяция обладает рядом важных особенностей по сравнению с долганами и нганасанами: более низкая распространенность аллеля Т для полиморфизма rs17549193 и более высокая распространенность аллеля Т для полиморфизма rs7851696 *FCN2*. Мы полагаем, что этот генотип является генетическим маркером высокой функциональной способности L-фиколина в ненецкой популяции. Иными словами, мы показали большую частоту распространенности генотипов, ассоциированных с высокой активностью L-фиколина, в арктических популяциях ненцев и долган с нганасанами в сравнении с европеоидами Восточной Сибири.

Как говорилось выше, данные о популяционной частоте полиморфных вариантов rs28357092 гена *FCN3* немногочисленны. Значительно больше данных о популяционных частотах полиморфизмов rs72550870 гена *MASP2*. В датской когорте частота редкого аллеля G составила 3.9 %,

такая же частота выявлена в исландской выборке взрослых доноров (Bjarnadottir et al., 2016). Интересно, что аллель G вообще не обнаружен в популяциях китайцев Гонконга, африканских замбийцев и коренных американцев Бразилии (Fumagalli et al., 2017).

Результаты вышеупомянутых исследований лежат в основе гипотезы, предполагающей, что эволюция человека продвигалась в направлении накопления генотипов с низкой активностью лектинового пути активации комплемента вследствие широкого распространения некоторых внутриклеточных инфекций, таких как туберкулез и лепра, при которых низкая активность MBL и L-фиколина может оказывать протективный эффект (Verdu et al., 2006; Dunkelberger, Song, 2010). Было высказано предположение, что изолированные арктические популяции Таймырского Долгано-Ненецкого района Красноярского края исторически позже столкнулись с этими инфекциями и потому сохранили сформированную на ранних этапах эволюции человека высокую активность лектинового пути активации комплемента.

Согласно анализу доступных нам литературных данных, в настоящее время популяционные частоты мутаций, ассоциированных с врожденным дефицитом Н-фиколина (rs28357092) и MASP-2 (rs72550870) в российских популяциях и в популяциях коренных народностей российских Арктических территорий, не изучены. Актуальность получения таких данных для российских арктических популяций значительно возрастает, учитывая накапливающиеся доказательства важной роли лектинового пути активации комплемента в отношении вирусных инфекций. Так, например, предполагается важная роль MBL в отношении респираторных вирусных инфекций, в том числе вызываемых новыми коронавирусными инфекциями – SARS и COVID-19 (Matricardi et al., 2020). Роль врожденных дефицитов протеинов ЛПП, в том числе Н-фиколина и MASP-2, в таких клинических ситуациях совершенно не изучена. Принимая во внимание, что инфекции являются основными факторами детской смертности, а лектины – решающими факторами противоинфекционной защиты, можно думать, что дефицит лектинов будет способствовать увеличению смертности в раннем детском возрасте.

Целью данной работы было выявить популяционно-этнические различия распределения аллельных вариантов генов компонентов лектинового пути активации комплемента среди новорожденных коренных популяций Таймырского Долгано-Ненецкого района Красноярского края (ненцев, долган и нганасан) по сравнению с европеоидами г. Красноярска.

Материалы и методы

Для изучения однонуклеотидных полиморфизмов rs28357092 *FCN3* и rs72550870 *MASP2* использованы 980 образцов высохших пятен крови от новорожденных из Таймырского Долгано-Ненецкого района Красноярского края и г. Красноярска, полученные ранее в Красноярском краевом консультативно-диагностическом центре медицинской генетики.

Новорожденные были разделены на четыре группы для изучения этнической специфики полиморфизмов генов лектинового пути системы комплемента: 1) 323 из дере-

вень с преимущественно ненецким населением (ненцы составляют 85 % населения); 2) 138 из деревень с преимущественно долганским и нганасанским населением (долганы и нганасаны составляют 91 % населения); 3) 217 из деревень со смешанным населением с различной комбинацией коренных и смешанных популяций; 4) 302 новорожденных из г. Красноярска, у которых были европейские корни (русские).

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. Исследование было одобрено Этическим комитетом Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера (№ 9 от 08.09.2014). Получено письменное информированное согласие на проведение исследования от всех участников.

Для выделения ДНК из пятен крови новорожденных был использован набор реагентов D1Atom DNA Prep («Изоген», Россия). Генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов генов компонентов лектинового пути активации комплемента (*FCN3*, *MASP2*) осуществлялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с помощью специфических олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченых зондов (TaqMan) (ООО «ДНК-синтез», Россия) по протоколу производителя. Нуклеотидные последовательности аллель-специфических проб для генотипирования полиморфизмов: для rs28357092 *FCN3* F – CCTCGGTGTCCATGTCAC, R – CCACCTTGAGCGGCTGG (флуорофор/аллель – VIC/del, FAM/G); для rs72550870 *MASP2* F – GCAAGG ACACTTTCTACTCGC, R – TCACCCTCGGCTGCATAG (флуорофор/аллель – VIC/G, FAM/A).

Соответствие частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга проверено с использованием χ^2 . Сравнения частот генотипов проводили с применением точного двустороннего теста Фишера. Статистически значимые различия были приняты при $p < 0.05$ после коррекции Бонферрони на множественные тесты.

Результаты и обсуждение

Преимуществом нашего подхода к популяционной оценке распространенности иммунодефицитных генотипов медиаторов лектинового пути активации системы комплемента является исследование популяций новорожденных, когда еще не произошло исключения неблагоприятных генетических вариаций, возможного в старшем возрасте в результате клинической реализации генетической предрасположенности.

Частоты генотипов и вариантного аллеля гена Н-фиколина *FCN3* rs28357092 представлены в табл. 1. Анализ распространенности генотипов *FCN3* показал преобладание гомозиготного варианта GG во всех исследованных нами популяциях, что согласуется с доступными мировыми данными.

Вариантный аллель с делецией (del) *FCN3* rs28357092 в гетерозиготном состоянии не встречался ни у одного

Таблица 1. Частоты генотипов *FCN3* rs28357092 у новорожденных различных этнических популяций Таймырского Долгано-Ненецкого района Красноярского края и г. Красноярска, *n* (%)

Генотип	Ненцы (<i>n</i> = 292)	Долганы и нганасаны (<i>n</i> = 129)	Смешанная популяция (<i>n</i> = 203)	Русские (<i>n</i> = 302)	<i>p</i> *
	1	2	3	4	
GG	292 (100.0)	128 (99.2)	199 (98.0)	291 (96.4)	1-3 = 0.02 1-4 < 0.001
G/del	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)	–
del/del	0 (0.0)	1 (0.8)	4 (2.0)	10 (3.3)	1-3 = 0.02 1-4 = 0.002
del*	0 (0.0)	0 (0.8)	8 (2.0)	21 (3.5)	1-3 < 0.001 1-4 < 0.001 2-3 = 0.02 2-4 = 0.003

* Указаны только значения $p \leq 0.05$.

Таблица 2. Частоты генотипов *MASP2* rs72550870 у новорожденных различных этнических популяций Таймырского Долгано-Ненецкого района Красноярского края и г. Красноярска, *n* (%)

Генотип	Ненцы (<i>n</i> = 323)	Долганы и нганасаны (<i>n</i> = 138)	Смешанная популяция (<i>n</i> = 217)	Русские (<i>n</i> = 242)	<i>p</i> *
	1	2	3	4	
AA	322 (99.7)	136 (98.6)	213 (98.2)	226 (93.4)	1-4 < 0.001 2-4 = 0.02 3-4 = 0.01
AG	1 (0.3)	2 (1.4)	4 (1.8)	16 (6.6)	1-4 < 0.001 2-4 = 0.02 3-4 = 0.01
GG	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	–
G*	1 (0.2)	2 (0.7)	4 (0.9)	16 (3.3)	1-4 < 0.001 2-4 = 0.03 3-4 = 0.01

* Указаны только значения $p \leq 0.05$.

новорожденного из трех коренных популяций Таймырского Долгано-Ненецкого района и найден только у одного русского из г. Красноярска. Несмотря на то что в литературе описана крайне редкая встречаемость гомозиготного генотипа по этой делеции, в нашей когорте исследованных образцов она встретилась у 10 русских новорожденных (3.3 %), у 4 новорожденных из смешанной популяции (2.0 %) и у одного из группы долган и нганасан (0.8 %). У ненцев ни гомозиготы, ни гетерозиготы по мутантной делеции *FCN3* rs28357092 не выявлены. То есть в общей выборке, составляющей 926 новорожденных, гомозиготы del/del установлены у 15 человек, что составляет 1.6 %. Согласно источнику <http://www.ensembl.org>, частота вариантного аллеля в популяциях мира составляет 1–3 %, причем в азиатских популяциях его частота нулевая. Как указывалось выше, мутация rs28357092 (+1637delC) в гене *FCN3* приводит к снижению плазменных уровней Н-фиколина: гомозиготы с делецией, которые встречаются крайне редко, имеют полное отсутствие плазменного Н-фиколина, а у гетерозигот выявляются средние уровни протеина (Michalski et al., 2011; Bjarnadottir et al., 2016).

Возможно, в других исследованиях гомозиготы не были обнаружены, поскольку обследовались взрослые популяции, что еще раз показывает преимущество нашего подхода для выявления истинных частот генотипов с использованием когорты новорожденных, где еще не произошло выбывание дефицитных вариантов.

Частоты генотипов и вариантного аллеля гена сериновой протеазы *MASP2* rs72550870 представлены в табл. 2. Анализ распространенности генотипов *MASP2* показал преобладание гомозиготного варианта AA во всех исследованных популяциях, что сходится с доступными мировыми данными. Гетерозиготный генотип AG rs72550870 встречается в единичных случаях у ненцев и долган-нганасан по сравнению с новорожденными европеоидного происхождения г. Красноярска. Частота генотипа AG у русских (6.6 %) статистически значимо выше по сравнению с арктическими популяциями (ненцы – 0.3 %, $p < 0.001$; долганы-нганасаны – 1.4 %, $p = 0.02$; смешанная популяция – 1.8 %, $p = 0.01$). Таким образом, гетерозиготный вариант AG присутствует у 16 из 242 русских новорожденных и только у одного из 323 ненцев. Ни в одной

из популяционных групп не обнаружено гомозигот по минорному аллелю G, ассоциированному с отсутствием сворачивочной активности протеазы.

Аллельный вариант G *MASP2* rs72550870 имеет нулевые или крайне низкие частоты в популяциях мира. В европеоидных популяциях частота составляет 4.0 %, в общей американской популяции – 2.0 %, среди азиатских и африканских популяций – нулевая (<http://www.ensembl.org>). В ходе нашего исследования получены данные о распространенности мутантного аллеля G rs72550870 в российских арктических популяциях: 0.5 % среди новорожденных Таймырского Долгано-Ненецкого района Красноярского края ($n = 678$) и 3.3 % среди русских г. Красноярска ($n = 242$).

В двух наиболее информативных исследованиях, проведенных в 2007 и 2009 гг. группой S. Thiel, получены данные о девяти мутациях в гене *MASP2*: частота встречаемости мутантных аллельных вариантов почти для всех полиморфизмов крайне низка. Только в случае мутации rs72550870 происходит изменение структуры белка MASP-2, что ведет к нарушению его связывания в комплекс с MBL и, как следствие, к неспособности активировать систему комплемента. Кроме того, авторы отмечают, что именно у европеоидов вариантный аллель G rs72550870 является основной причиной более низких уровней MASP-2. По результату популяционного анализа сообщается об отсутствии гомозиготного генотипа GG rs72550870 среди взрослых китайцев, африканцев, европеоидов, инуитов Гренландии и бразильцев (Thiel et al., 2007, 2009). Гетерозиготный вариант преобладал у европеоидов из Дании (3.9 %) и инуитов западной Гренландии (где высока примесь европеоидной популяции, как сообщают авторы) (3.7 %), но не встречался в других исследованных популяциях ($p < 0.0001$).

Помимо этого, ученые (Thiel et al., 2009) приводят частоты редкого аллельного варианта, полученные другими исследователями на разных популяциях у здоровых лиц и пациентов с различными заболеваниями. Так, в шведской популяции обнаружено 14 гетерозигот среди 112 пациентов с муковисцидозом (частота 6.3 %) и пять гетерозигот среди 200 здоровых людей (частота 1.3 %). В исследовании пациентов с псориазом и членов их семей 894 человека были протестированы на *MASP2* rs72550870, и в общей сложности было обнаружено 62 гетерозиготы и одна гомозигота, что дало частоту гена 3.6 % (аллель не был связан с псориазом). Гомозиготность зарегистрирована у одного человека в группе из 293 польских детей с респираторными инфекциями и у одного ребенка с муковисцидозом. Недавнее исследование испанской популяции выявило двух гомозиготных из 2008 человек (включая 967 пациентов с пневмонией, 130 пациентов с СКВ, 43 ребенка с рецидивирующими респираторными инфекциями и 868 здоровых людей), но ассоциации заболеваний с вариантным аллелем не было найдено. Отсутствие аллеля G *MASP2* rs72550870 в Китае подтверждается отчетом, в котором изучалось влияние генотипов *MBL2* и *MASP2* на предрасположенность к тяжелому острому респираторному синдрому (SARS). У всех 1757 протестированных азиатов аллель G обнаружен не был. Таким образом, следует сделать вывод, что MBL-дефицит, а

также дефицит других компонентов комплемента (в том числе *MASP2*) сами по себе не приводят к заболеваниям или восприимчивости к инфекциям, а скорее, являются модификаторами, которые могут проявляться клинически, когда нарушаются и другие элементы каскада активации.

Исследование роли врожденных дефектов системы комплемента в патогенезе различных заболеваний очень актуально в связи с тем, что врожденные дефициты компонентов комплемента составляют не менее 5 % от общего числа первичных иммунодефицитов, тогда как аспекты их распространенности и патогенеза остаются неизученными. В нашем исследовании были впервые получены масштабные данные о популяционном распределении генотипов генов Н-фиколина *FCN3* rs28357092 и маннозосвязывающей лектин-ассоциированной сериновой протеазы *MASP2* rs72550870 среди коренных народностей российских Арктических территорий (общая выборка исследованных новорожденных составила 980). Как указывалось выше, популяционные частоты мутаций, ассоциированных с врожденным дефицитом Н-фиколина и MASP-2 в российских популяциях в целом и в популяциях коренных народностей российских Арктических территорий в частности, до сих пор не изучались. При этом ранее выявленные нами особенности генетической регуляции протеинов лектинового пути активации комплемента у новорожденных Таймырского Долгано-Ненецкого района Красноярского края показали, что популяции коренных народов Арктики генетически характеризуются большей активностью как минимум двух различающихся компонентов лектинового пути активации комплемента – MBL и L-фиколина, что говорит о большом тоне лектинового пути активации комплемента в целом (Smolnikova et al., 2017; Терещенко, Смольникова, 2020).

В настоящее время существуют две конкурирующие гипотезы, пытающиеся объяснить высокий уровень популяционного разнообразия генотипов лектинового пути комплемента (Eisen, Osthoff, 2014). Первая из них предполагает защитную роль низкопродуктивных генотипов в отношении некоторых внутриклеточных возбудителей: туберкулеза и лепры, висцерального лейшманиоза, атипичной пневмонии. Высокий уровень лектин-опосредованного фагоцитоза может предрасполагать к более успешному проникновению внутриклеточных возбудителей в цитоплазму клеток хозяина, экранированию патогенов от факторов адаптивного иммунитета и, следовательно, большему риску формирования активного инфекционного процесса. Таким образом, имеющиеся фактические данные позволяют говорить о «двойной патофизиологической роли» лектинового пути активации комплемента: защитной – в отношении внеклеточных возбудителей, особенно у детей раннего возраста, и провоспалительной – в отношении некоторых внутриклеточных возбудителей и атеросклероза. Популяционно-генетические последствия такой «двойной роли» могут лежать в основе этнического разнообразия соответствующих генотипов, что представляет собой суть первой упомянутой нами гипотезы, основанной на предположении селекционной выгоды дефицита компонентов лектинового пути активации комплемента для некоторых популяций (Seyfarth et al., 2005; Eisen, Osthoff, 2014). Вторая гипотеза

отрицает наличие какого-либо селекционного давления в отношении генотипов лектинового пути комплемента, объясняя генетическое разнообразие исключительно миграционными процессами и генетическим дрейфом. Впрочем, авторы исследований делают при этом оговорку: «...возможно, стохастические эволюционные факторы стерли большую часть древнего отпечатка, оставленного естественным селекционным отбором; для подтверждения данных требуются статистически более мощные исследования с включением большего числа популяций» (Verdu et al., 2006; Boldt et al., 2010).

Заключение

В данном исследовании мы ожидали и выявили более низкую распространенность генетических маркеров Н-фииколина и *MASP-2* дефицитов в популяциях коренных жителей Арктических территорий Красноярского края по сравнению с европеоидами г. Красноярска, что сочетается с генетической предрасположенностью к более высокому уровню функциональной активности L-фииколина по сравнению с европеоидным населением.

Исследование этнически ассоциированного уровня неспецифической противоиной защиты среди коренного населения Таймырского Долгано-Ненецкого района Красноярского края может быть использовано для формирования планов органов практического здравоохранения в отношении профилактики инфекционной заболеваемости и в целях наиболее рационального привлечения трудовых ресурсов для работ в условиях возможной высокой инфекционной нагрузки. Дополнительный анализ инфекционной заболеваемости в арктических популяциях позволит выявить фенотипические характеристики, сопряженные с высокой функциональной активностью лектинового пути активации комплемента в роли важнейшего фактора первой линии противоиной защиты, в том числе в отношении новых вирусных заболеваний, таких как COVID-19. Подобные клиничко-генетические сопоставления чрезвычайно важны для выяснения физиологической роли MBL, фииколинов и *MASP-2*, а выявленные нами генетические особенности этнически изолированных коренных арктических популяций Красноярского края представляют собой уникальный материал.

Список литературы / References

Терещенко С.Ю., Смольникова М.В. Полиморфизм гена маннозсвязывающего лектина у коренных популяций территорий Арктической зоны Российской Федерации. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(8):868-875. DOI 10.18699/VJ20.685.
[Tereshchenko S.Yu., Smolnikova M.V. The polymorphism of the gene of mannose-binding lectin in indigenous populations of the territories of the Arctic zone of the Russian Federation. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(8):868-875. DOI 10.18699/VJ20.685. (in Russian)]
Akaiwa M., Yae Y., Sugimoto R., Suzuki S.O., Iwaki T., Izuhara K., Hamasaki N. Hakata antigen, a new member of the ficolin/opsonin p35 family, is a novel human lectin secreted into bronchus/alveolus and bile. *J. Histochem. Cytochem.* 1999;47:777-786. DOI 10.1177/002215549904700607.

Ali Y.M., Lynch N.J., Haleem K.S., Fujita T., Endo Y., Hansen S., Holmskov U., Takahashi K., Stahl G.L., Dudler T., Giriya U.V., Wallis R., Kadioglu A., Stover C.M., Andrew P.W., Schwaeble W.J. The lectin pathway of complement activation is a critical component of the innate immune response to pneumococcal infection. *PLoS Pathog.* 2012;8(7):e1002793. DOI 10.1371/journal.ppat.1002793.
Bjarnadottir H., Arnardottir M., Ludviksson B.R. Frequency and distribution of *FCN2* and *FCN3* functional variants among *MBL2* genotypes. *Immunogenetics*. 2016;68(5):315-325. DOI 10.1007/s00251-016-0903-4.
Blom A.M., Villoutreix B.O., Dahlbäck B. Complement inhibitor C4b-binding protein—friend or foe in the innate immune system? *Mol. Immunol.* 2004;40:1333-1346. DOI 10.1016/j.molimm.2003.12.002.
Boldt A.B., Messias-Reason I.J., Meyer D., Schrago C.G., Lang F., Lell B., Dietz K., Krennsner P.G., Petzl-Erler M., Kun J.F. Phylogenetic nomenclature and evolution of mannose-binding lectin (MBL2) haplotypes. *BMC Genetics*. 2010;11(1):38. DOI 10.1186/1471-2156-11-38.
Brodzki N., Frazer-Abel A., Grumach A.S., Kirschfink M., Litzman J., Perez E., Seppänen M.R.J., Sullivan K.E., Jolles S. European Society for Immunodeficiencies (ESID) and European Reference Network for Rare Primary Immunodeficiency, Autoinflammatory and Auto-immune Diseases (ERN RITA) complement guideline: deficiencies, diagnosis, and management. *J. Clin. Immunol.* 2020;40(4):576-591. DOI 10.1007/s10875-020-00754-1.
Degn S.E., Jensen L., Gál P., Dobó J., Holmvaad S.H., Jensenius J.C., Thiel S. Biological variations of *MASP-3* and *Map44*, two splice products of the *MASP1* gene involved in regulation of the complement system. *J. Immunol. Methods*. 2010;361:37-50. DOI 10.1016/j.jim.2010.07.006.
Degn S.E., Jensen L., Hansen A.G., Duman D., Tekin M., Jensenius J.C., Thiel S. Mannan-binding lectin-associated serine protease (*MASP*)-1 is crucial for lectin pathway activation in human serum, whereas neither *MASP-1* nor *MASP-3* is required for alternative pathway function. *J. Immunol.* 2012;189:3957-3969. DOI 10.4049/jimmunol.1201736.
Dunkelberger J.R., Song W.-C. Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Res.* 2010;20:34-50. DOI 10.1038/cr.2009.139.
Eisen D.P., Osthoff M. If there is an evolutionary selection pressure for the high frequency of *MBL2* polymorphisms, what is it? *Clin. Exp. Immunol.* 2014;176(2):165-171. DOI 10.1111/cei.12241.
Fumagalli S., Perego C., Zangari R., De Blasio D., Oggioni M., De Nigris F., Snider F., Garred P., Ferrante A.M., De Simoni M.G. Lectin pathway of complement activation is associated with vulnerability of atherosclerotic plaques. *Front. Immunol.* 2017;8:288. DOI 10.3389/fimmu.2017.00288.
Garcia-Laorden M.I., Sole-Violan J., Rodriguez de Castro F., Aspa J., Briones M.L., Garcia-Saavedra A., Rajas O., Blanquer J., Caballero-Hidalgo A., Marcos-Ramos J.A., Hernandez-Lopez J., Rodriguez-Gallego C. Mannose-binding lectin and mannose-binding lectin-associated serine protease 2 in susceptibility, severity, and outcome of pneumonia in adults. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008;122(2):368-374. DOI 10.1016/j.jaci.2008.05.037.
Héja D., Harmat V., Fodor K., Wilmanns M., Dobó J., Kékesi K.A. Monospecific inhibitors show that both mannan-binding lectin-associated serine protease-1 (*MASP-1*) and -2 are essential for lectin pathway activation and reveal structural plasticity of *MASP-2*. *J. Biol. Chem.* 2012;287:20290-20300. DOI 10.1074/jbc.M112.354332.
Hummelshoj T., Fog L.M., Madsen H.O., Sim R.B., Garred P. Comparative study of the human ficolins reveals unique features of ficolin-3 (Hakata antigen). *Mol. Immunol.* 2008;45:1623-1632. DOI 10.1016/j.molimm.2007.10.006.
Ingels C., Vanhorebeek I., Steffensen R., Derese I., Jensen L., Wouters P.J., Hermans G., Thiel S., Berghe G.V. Lectin pathway of complement activation and relation with clinical complications in critically ill children. *Pediatr. Res.* 2014;75:99-108. DOI 10.1038/pr.2013.180.

- Matricardi P.M., Negro R.W.D., Nisin R. The first, holistic immunological model of COVID-19: implications for prevention, diagnosis, and public health measures. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2020;31(5): 454-470. DOI 10.1111/pai.13271.
- Michalski M., Swierzko A.St., Lukasiewicz J., Man-Kupisinska A., Karwaciak I., Przygodzka P., Cedzynski M. Ficolin-3 activity towards the opportunistic pathogen, *Hafnia alvei*. *Immunobiology.* 2015;220:117-123. DOI 10.1016/j.imbio.2014.08.012.
- Michalski M., Szala A., Swierzko A.St., Lukasiewicz J., Maciejewska A., Kilpatrick D.C., Matsushita M., Domzalska-Popadiuk I., Borkowska-Klos M., Sokolowska A., Szczapa J., Lugowski C., Cedzynski M. H-ficolin (ficolin-3) concentrations and *FCN3* gene polymorphism in neonates. *Immunobiology.* 2011;217:730-737. DOI 10.1016/j.imbio.2011.12.004.
- Ren Y., Ding Q., Zhang X. Ficolins and infectious diseases. *Viol. Sin.* 2014;29:25-32. DOI 10.1007/s12250-014-3421-2.
- Ricklin D., Hajishengallis G., Yang K., Lambris J.D. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat. Immunol.* 2010;11:785-797. DOI 10.1038/ni.1923.
- Sallenbach S., Thiel S., Aebi C., Otth M., Bigler S., Jensenius J.C., Schlapbach L.J., Ammann R.A. Serum concentrations of lectin-pathway components in healthy neonates, children and adults: mannan-binding lectin (MBL), M-, L-, and H-ficolin, and MBL-associated serine protease-2 (MASP-2). *Pediatr. Allergy Immunol.* 2011; 22:424-430. DOI 10.1111/j.1399-3038.2010.01104.x.
- Seyfarth J., Garred P., Madsen H.O. The 'involution' of mannose-binding lectin. *Hum. Mol. Genet.* 2005;14(19):2859-2869. DOI 10.1093/hmg/ddi318.
- Skjoedt M.-O., Hummelshoj T., Palarasah Y., Honore C., Koch C., Skjodt K., Garred P. A novel mannose-binding lectin/ficolin-associated protein is highly expressed in heart and skeletal muscle tissues and inhibits complement activation. *J. Biol. Chem.* 2010;285:8234-8243. DOI 10.1074/jbc.M109.065805.
- Smolnikova M.V., Freidin M.B., Tereshchenko S.Y. The prevalence of the variants of the L-ficolin gene (*FCN2*) in the arctic populations of East Siberia. *Immunogenetics.* 2017;69(6):409-413. DOI 10.1007/s00251-017-0984-8.
- Stengaard-Pedersen K., Thiel S., Gadjeva M., Møller-Kristensen M., Sørensen R., Jensen L.T., Sjøholm A.G., Fugger L., Jensenius J.C. Inherited deficiency of mannan-binding lectin-associated serine protease 2. *N. Engl. J. Med.* 2003;349(6):554-560. DOI 10.1056/NEJMoa022836.
- Thiel S. Complement activating soluble pattern recognition molecules with collagen-like regions, mannan-binding lectin, ficolins and associated proteins. *Mol. Immunol.* 2007;44:3875-3888. DOI 10.1016/j.molimm.2007.06.005.
- Thiel S., Kolev M., Degn S., Steffensen R., Hansen A.G., Ruseva M., Jensenius J.C. Polymorphisms in mannan-binding lectin (MBL)-associated serine protease 2 affect stability, binding to MBL, and enzymatic activity. *J. Immunol.* 2009;182:2939-2947. DOI 10.4049/jimmunol.0802053.
- Thiel S., Steffensen R., Christensen I.J., Ip W.K., Lau Y.L., Reason I.J., Eiberg H., Gadjeva M., Ruseva M., Jensenius J.C. Deficiency of mannan-binding lectin associated serine protease-2 due to missense polymorphisms. *Genes Immun.* 2007;8:154-163. DOI 10.1038/sj.gene.6364373.
- Verdu P., Barreiro L.B., Patin E., Gessain A., Cassar O., Kidd J.R., Kidd K.K., Behar D.M., Froment A., Heyer E., Sica L., Casanova J.L., Abel L., Quintana-Murci L. Evolutionary insights into the high worldwide prevalence of *MBL2* deficiency alleles. *Hum. Mol. Genet.* 2006;15(17):2650-2658. DOI 10.1093/hmg/ddl193.

ORCID ID

M.V. Smolnikova orcid.org/0000-0001-9984-2029
S.Yu. Tereshchenko orcid.org/0000-0002-1605-7859

Благодарности. Авторы благодарят Максима Фрейдина за консультирование по статистической обработке материала.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 15.06.2021. После доработки 26.08.2021. Принята к публикации 26.08.2021.