

УДК 616-056.7-07

## **ДУПЛІКАЦІЯ DUP 24-BP В ГЕНІ ХІТОТРИОЗИДАЗИ CHIT1 У ЗДОРОВИХ ОСІБ ТА ПАЦІЄНТІВ ІЗ ХВОРОБОЮ ГОШЕ В УКРАЇНІ**

Н.В. ОЛЬХОВИЧ

ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України»  
Україна, 04114, м. Київ, вул. Вишгородська, 67  
Національна дитяча спеціалізована лікарня «ОХМАТДИТ»  
Україна, 01135, м. Київ, вул. Чорновола, 28/1  
e-mail: nolhovich@gmail.com

***Метою** нашої роботи була оцінка розповсюдженості дефіциту хітотриозидазної активності у населення України шляхом визначення частоти дуплікації dup 24 bp у гені CHIT1 у здорових осіб, а також у пацієнтів із хворобою Гоше для розробки шляхів оптимізації лабораторної діагностики та моніторингу лікування цього захворювання. **Методи.** Хітотриозидазну активність у плазмі оцінювали за деградацією флуорогенного субстрату 4-метилумбеліферил (МУФ)-тріацетилхітотриозиду. Dup 24 bp в 10 екзоні гена CHIT1 визначали методом ПЛР. **Результати.** Алейна частота dup 24 bp в гені CHIT1 у пацієнтів із хворобою Гоше I-го типу з України склала 11,6% (13/112). Алейна частота dup 24 bp в гені CHIT1 у населення України склала 25,9% (323/1244), що добре узгоджується з даними про частоту цього генетичного варіанта в інших європейських популяціях. **Висновки.** Молекулярно-генетичний скринінг dup 24 bp у гені CHIT1 є необхідним етапом протоколу лабораторного встановлення діагнозу хвороби Гоше для уникнення хибнонегативної діагностики цього захворювання. Для пацієнтів із хворобою Гоше, які є носіями dup 24 bp в гені CHIT1, необхідне застосування інших біомаркерів для моніторингу ефективності ферментозамісної терапії.*

***Ключові слова:** хітотриозидаза, хвороба Гоше, дефіцит хітотриозидазної активності, поліморфізми гена CHIT1.*

**Вступ.** Хітинази є родиною ферментів, які гідролізують хітин і присутні у складі різних організмів: рослин, мікроорганізмів, грибів, комах та ссавців. Хітиназа людини або хітотриозидаза (CHIT, EC 3.2.1.14) – це протеїн розміром 50-kDa, який містить С-термінальний хітинозв'язувальний домен та секретується макрофагами, що активовані [1]. Цей фермент характеризується гідролазною активністю і первинно відіграє важливу роль в деградації хітиновмісних патогенів, а також може бути використаний як маркер макрофагів. Підвищений рівень активності хітотриозидази в плазмі крові спостерігається при різних захворюваннях, як спадкових, так і набутих, але найбільше підвищення спостерігається при хворобі Гоше – одному з найчастіших спадкових захворювань із групи лізосомних хвороб накопичення [2].

Хвороба Гоше (ХГ) – це захворювання з аутосомно-рецесивним типом успадкування (MIM 230800), яке обумовлене зниженням активності одного з лізосомних ферментів – глюкоцереброзидази [3]. Внаслідок дефіциту глюкоцереброзидазної активності порушується головний ланцюг деградації глюкоцереброзидів, що призводить до їхнього накопичення в різних тканинах та органах. Клінічними ознаками ХГ є прогресуюча гепатоспленомегалія, тромбоцитопенія, анемія, кісткові болі та поступове заміщення клітин організму зміненими макрофагами (клітини Гоше), які навантажені гліколіпідами. Тож клітини Гоше – макрофаги, цитоплазма яких заповнена лізосомами з негідролізованим глюкозилцерамідом. Вони можуть накопичуватись у всіх тканинах організму, але переважно в селезінці, кістковому мозку, печінці. Хітотриозидаза продукується переважно клітинами Гоше селезінки, які містять виключно високі концентрації глюкозилцераміду [4]. У симптоматичних хворих із ХГ активність хітотриозидази вище в 100 – 1000 разів порівняно з контрольними величинами, що

© Н.В. ОЛЬХОВИЧ, 2015

має дуже велике значення для комплексної діагностики ХГ. Крім того, показано, що хітотриозидазна активність плазми має пряму залежність від ступеня розвитку патологічного процесу у хворих, тому вона є також зручним та інформативним маркером для моніторингу ефективності ферментозамісної терапії у пацієнтів із ХГ та вибору дози лікувального препарату [5, 6]. Певним обмеженням використання хітотриозидазної активності як біомаркера для моніторингу є існування генетичних варіантів хітотриозидазного гена *CHIT1*, які призводять до втрати або зниження активності цього ферменту у деяких осіб [7].

Ген *CHIT1* (OMIM 600031.0001) локалізований на хромосомі 1q32.1, містить 11 екзонів і займає приблизно 14000 п.н. геномної ДНК, кодує протеїн розміром 466 амінокислот [1]. На сьогодні описано кілька генетичних варіантів, які призводять до дефіциту хітотриозидазної активності, але найбільш розповсюдженим серед європейських популяцій є дуплікація 24 п.н. (*dup 24 bp*) в 10-му екзоні гена (*rs3831317*) [8]. Ця дуплікація спричиняє аберантний сплайсинг і делецію амінокислот 344–372, що призводить до повної втрати ферментативної активності продукту гена. Біологічне значення такого генетичного варіанта на сьогоднішній день залишається незрозумілим, тому що жодних клінічних наслідків дефіциту хітотриозидазної активності у людини не виявлено [9]. Але, наявність цього поліморфізму у пацієнтів із хворобою Гоше може, з одного боку, ускладнити діагностичний процес і призвести до хибнонегативної діагностики ХГ, а з іншого – унеможливило використання хітотриозидазної активності як біомаркера для моніторингу ефективності ферментозамісної терапії цього захворювання. Особливого значення набуває ця проблема у зв'язку з достатньо високою частотою розповсюдження *dup 24 bp* в європейських популяціях [10 – 16].

Метою нашої роботи була оцінка розповсюдженості дефіциту хітотриозидазної активності у населення України шляхом визначення частоти *dup 24 bp* в гені *CHIT1* у здорових осіб, а також у пацієнтів із хворобою Гоше для розробки шляхів оптимізації лабораторної діагностики та моніторингу лікування цього захворювання.

## Матеріали і методи

Національна дитяча спеціалізована лікарня «ОХМАТДИТ» є єдиним державним референтним центром по наданню медичної допомоги пацієнтам із хворобою Гоше в Україні. З 2001 року, на підставі клінічних ознак, визначення глюкоцереброзидазної активності в лейкоцитах та генотипування, діагноз хвороба Гоше I-го типу, нами було встановлено 56 пацієнтам, які всі були включені в наше дослідження. Для визначення частоти розповсюдженості *dup 24 bp* серед здорового населення було обстежено 622 добровільних донора різного віку і різної статі, які не мали хвороби Гоше і надали згоду на використання їхнього біологічного матеріалу для дослідження. Серед групи волонтерів були представники усіх регіонів України, що дало нам змогу оцінювати отримані результати як прибутаманні для всього населення країни.

У роботі використовували плазму та цільну периферичну кров пацієнтів з ХГ та здорових донорів. Хітотриозидазну активність у плазмі оцінювали за деградацією флуорогенного субстрату 4-метилумбеліферил (МУФ)-тріацетилхітотриозиду (Sigma). Як субстрат використовували 22 мкМ 4-МУФ-тріацетилхітотриозид у цитрат-фосфатному буфері рН 5,2. Реакційна суміш містила 5 мкл плазми та 100 мкл субстрату. Інкубацію зразків проводили при 3 °С протягом 1 години. Після інкубації реакцію зупиняли додаванням 1,0 мл 0,25 М NaOH-гліцинового буфера рН 10,4. Калібрування проводили з використанням серії розведень стандартного 500 мкМ розчину 4-метилумбеліферону (Sigma). Флуоресценцію звільненого 4-метилумбеліферону вимірювали на флуориметрі Victor (WallacOy) при довжині хвилі збудження 365 нм та емісії 448 нм. Результати наводили у нмоль/год/мл плазми. Зразки із активністю хітотриозидази, більшою ніж 100 нмоль/год/мл плазми, піддавали повторному дослідженню [17]. Для цього плазму розводили в 50 разів 0,2 % розчином альбуміну сироватки людини (HSA) та інкубували з субстратом протягом 15 хвилин.

ДНК виділяли з цільної периферичної крові, отриманої з ЕДТА, з використанням комерційного набору «ДНК – сорб - В» (ЦНДІ епідеміології МОЗ РФ). Якість препаратів ДНК оцінювали шляхом визначення оптичної щільності при 260 нм на спектрофотометрі Specord-40 (AnalytikJena AG). Препара-

ти ДНК зберігали при температурі +4 °С. Dup 24 bp в 10 екзоні гена *CHIT1* визначали методом ПЛР, як описано Rodrigues et al, 2004 [18]. Для реакції використовували стандартну ампліфікаційну суміш та праймери: F 5'-AGCCTCTGAAGCAGAAG-3' та R 5'-GGAGAAGCCGGCAAAGTC-3'. Умови ампліфікації були такими: денатурація 10 хв при 94 °С, 41 цикл: 30 с при 94 °С, 30 с при 51 °С, 30 с при 72 °С і пролонгований відпал протягом 5 хв при 72 °С. Така реакція дозволяла ідентифікувати дефіцитний алель (фрагмент 99 п.н.), гетерозиготний стан (фрагменти 75 п.н. та 99 п.н.) та алель дикого типу (фрагмент 75 п.н.). Візуалізацію результатів проводили у 3 % агарозному гелі із забарвленням бромистим етідієм.

Статистичний аналіз одержаних результатів проводили з використанням стандартного t-критерію Ст'юдента та критерію  $\chi^2$ -квадрат з поправкою Йетса за допомогою електронних таблиць MS Excel.

### Результати та обговорення

При проведенні первинної лабораторної діагностики хвороби Гоше всім 56 пацієнтам визначали рівень хітотриозидазної активності в плазмі крові. У переважної більшості з них базова хітотриозидазна активність (до початку ферментозамісної терапії) значно перевищувала нормальну активність у контролі і коливалась у межах від 3182 до 33238 нмоль/год/мл плазми. У трьох пацієнтів активність хітотриозидази в плазмі була повністю відсутня, а у одного – визначалась у межах нормальних значень (18 нмоль/год/мл плазми).

Для оцінки впливу генетичного поліморфізму гена *CHIT1* на рівень активності хітотриозидази в плазмі крові пацієнтів із ХГ нами проведено скринінг dup 24 bp у цьому гені в усіх 56 осіб (рисунок). У трьох пацієнтів з відсутністю активності хітотриозидази в плазмі крові було виявлено dup 24

bp в гомозиготному стані (табл. 1). Серед інших пацієнтів, у 7 осіб виявлено dup 24 bp у гетерозиготному стані, в тому числі у пацієнта з «нормальною» активністю хітотриозидази. Таким чином, загальна частота алеля dup 24 bp у пацієнтів із ХГ I типу з України склала 11,6 % (13/112). Середня хітотриозидазна активність у плазмі пацієнтів із гетерозиготним носійством dup 24 bp достовірно відрізнялась від середньої активності у пацієнтів з обома алелями дикого типу ( $p < 0,05$ ).

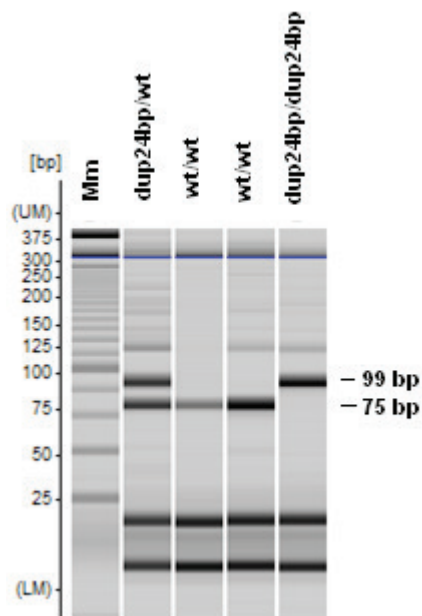


Рисунок. Визначення dup 24 bp у гені *CHIT1* методом ПЛР

Для оцінки розповсюдженості dup 24 bp у гені *CHIT1* у населення України нами проведено скринінг цього генетичного варіанта у 622 добровільних донорів. У 362 осіб (58,2 %) dup 24 bp у гені *CHIT1* виявлено не було, у 197 (31,7 %) дуплікацію виявлено в гетерозиготному і у 63 осіб (10,1 %) – в гомозиготному стані (табл. 2).

**Таблиця 1.** Хітотриозидазна активність у плазмі крові у пацієнтів із хворобою Гоше I типу відповідно до *CHIT1*-генотипу, нмоль/год/мл плазми

	<i>CHIT1</i> -генотип		
	wt/wt (n=46)	dup24bp/wt (n=7)	dup24bp/dup24bp (n=3)
межі	6 011 – 33 238	18, 3 182 – 7 293	0
середня	16 509	4 473*	0
медіана	15 072	4 552*	0

Примітки. \* – при розрахунку середнього значення та медіани у гетерозиготних носіїв dup 24 bp критично низьке значення хітотриозидазної активності 18 нмоль/год/мл плазми не враховували; wt – дикий тип гена *CHIT1*.

**Таблиця 2.** Хітотриозидазна активність у плазмі крові у здорових осіб відповідно до *CHIT1*-генотипу, нмоль/год/мл плазми

	<i>CHIT1</i> -генотип		
	wt/wt (n=362)	dup24bp/wt (n=197)	dup24bp/dup24bp (n=63)
межі	3,3 – 81,0	0,9 – 24,3	0 – 1,3
середня	26,1	10,9	0,06
медіана	24,0	11,0	0

Таким чином, алельна частота *dup 24 bp* у населення України приблизно відповідала закону розподілу Харді-Вайнберга та склала 25,9 % (323/1244).

Використання хітотриозидазної активності в плазмі крові як біомаркера для виявлення пацієнтів із хворобою Гоше та моніторингу ефективності ферментозамісної терапії рекомендоване Міжнародною групою із дослідження хвороби Гоше (International Collaborative Gaucher Group, ICGG) у 2004 році [19]. Оскільки відомо, що підвищена хітотриозидазна активність є наслідком накопичення недеградованого глюкозилцереброзиду в активованих макрофагах, фактично цей маркер є показником тяжкості патологічного процесу у хворого. Крім того, виявлення підвищеної хітотриозидазної активності є важливим додатковим показником під час лабораторної діагностики хвороби Гоше. Однак генетичні поліморфізми в гені *CHIT1*, які значно впливають на активність ферменту, ускладнюють діагностику ХГ і унеможливають використання цього біомаркера для моніторингу пацієнтів – носіїв таких генетичних варіантів. В нашому дослідженні ми проаналізували частоту *dup 24 bp* у гені *CHIT1*, яка, як було раніше показано, суттєво впливає на активність хітотриозидази [20]. Показано, що отримана нами частота *dup 24 bp* у гені *CHIT1* у населення України (28,5 %) та у пацієнтів з ХГ I-го типу з України (11,6 %) добре узгоджується з даними про високу частоту цього генетичного варіанта в інших європейських популяціях [10 – 16]. Це робить урахування ймовірності цього поліморфізму дуже важливим підходом при діагностиці хвороби Гоше. Слід зазначити, що алельний стан *dup 24 bp* має значний вплив на результати визначення хітотриозидазної активності в плазмі. У гомозигот за цим поліморфізмом ферментативна активність майже повністю відсутня, тоді як у гетерозиготних носіїв вона може давати показники, притаманні для норми. Яскравим при-

кладом такої ситуації є виявлення «нормальної» активності хітотриозидази у пацієнта Т., яка могла призвести до хибнонегативної діагностики хвороби Гоше в цьому випадку. Лише молекулярно-генетичний скринінг генетичного поліморфізму гена *CHIT1* дозволив визначити, що така низька хітотриозидазна активність обумовлена гетерозиготним носійством *dup 24 bp*, що не виключає діагнозу ХГ у пацієнта.

Таким чином, висока частота *dup 24 bp* у гені *CHIT1* серед населення України робить скринінг цього генетичного варіанта важливим етапом діагностичного протоколу при виявленні пацієнтів із хворобою Гоше. Варто зазначити, що 11,6 % пацієнтів із ХГ I-го типу в Україні мають генетично обумовлений дефіцит хітотриозидазної активності, що унеможливорює використання цього біомаркера для моніторингу ефективності ферментозамісної терапії у цих пацієнтів і потребує застосування з цією метою інших показників.

### Висновки

Алельна частота *dup 24 bp* у гені *CHIT1* у пацієнтів з хворобою Гоше I-го типу з України склала 11,6 % (13/112). Середній рівень хітотриозидазної активності в плазмі пацієнтів з диким типом гена *CHIT1* та гетерозиготних носіїв *dup 24 bp* статистично достовірно відрізнявся і склав 16 509 нмоль/год/мл плазми та 4 473 нмоль/год/мл плазми відповідно, у гомозиготних носіїв *dup 24 bp* хітотриозидазна активність у плазмі не виявляли. Алельна частота *dup 24 bp* у гені *CHIT1* у населення України склала 25,9 % (323/1244), що добре узгоджується з даними про частоту цього генетичного варіанта в інших європейських популяціях. Середній рівень хітотриозидазної активності в плазмі здорових осіб із диким типом гена *CHIT1* та гетерозиготних носіїв *dup 24 bp* статистично достовірно відрізнявся і становив 26,1 нмоль/год/мл плазми та 10,9 нмоль/год/мл плазми відповідно, при цьому у гомозигот-

них носіїв dup 24 bp хітотриозидазна активність у плазмі була майже відсутня: до 0,06 нмоль/год/мл плазми. Молекулярно-генетичний скринінг dup 24 bp в гені *CHIT1* є необхідним етапом протоколу лабораторного встановлення діагнозу хвороби Гоше для уникнення хибнонегативної діагностики цього захворювання. Для пацієнтів з хворобою Гоше, які є носіями dup 24 bp у гені *CHIT1*, необхідне застосування інших біомаркерів для моніторингу ефективності ферментозамісної терапії.

### Перелік літератури

1. *Kanneganti M., Kamba A., Mizoguchi E.* Role of chitotriosidase (chitinase 1) under normal and disease conditions // *J. Epithel. Biol. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 5. – P. 1–9.
2. *Vellodi A., Foo Y., Cole T.J.* Evaluation of three biochemical markers in the monitoring of Gaucher disease // *J. Inher. Metab. Dis.* – 2005. – Vol. 28. – P. 585–592.
3. *Beutler E., Grabowski G.A.* Gaucher Disease / In: Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Valle D. (eds) *The metabolic and molecular bases of inherited disease.* – New York, 1995. – P. 2641–2670.
4. *Mehta A., Winchester B.* Lysosomal storage disorders: a practical guide. – London: Wiley-Blackwell, 2012. – P. 38–46.
5. *Cox T.M.* Recommendations for treating patients with Gaucher disease with emerging enzyme products // *Blood Cells Mol. Dis.* – 2010. – Vol. 44, № 2. – P. 84–85.
6. *Irún P., Alfonso P., Aznarez S., Giraldo P., Pocovi M.* Chitotriosidase variants in patients with Gaucher disease. Implications for diagnosis and therapeutic monitoring // *Clinical Biochemistry.* – 2013. – Vol. 46. – P. 1804–1807.
7. *Boot R.G., Renkema G.H., Verhoek M.* The human chitotriosidase gene: nature of inherited enzyme deficiency // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273. – P. 25680–25685.
8. *Sheth J.J., Sheth F.J., Oza N.J., Gambhir P.S., Dave U.P., Shah R.C.* Plasma chitotriosidase activity in children with lysosomal storage disorders // *Indian Journal of Pediatrics.* – 2010. – Vol. 77. – P. 203–205.
9. *Malaguarnera L., Simporè J., Prodi D.A.* A 24-bp duplication in exon 10 of human chitotriosidase gene from the sub-Saharan to the Mediterranean area: role of parasitic diseases and environmental conditions // *Genes Immun.* – 2003. – Vol. 4. – P. 570–574.
10. *Da Silva J., Juárez-Rendón K.J., Juárez-Osuna J.A., Porras-Dorantes A., Valladares-Salgado A., Cruz M., Gonzalez-Ibarra M., Soto A.G., Magaña-Torres M.T., Sandoval-Ramírez L., García-Ortiz J.E.* Dup-24 bp in the *CHIT1* gene in six Mexican amerindian populations // *JIMD Rep.* – 2015. – Vol. 5. – P. 442.
11. *Manno N., Sherratt S., Boaretto F., Mejia Coicob F., Espinoza Camusd C., Jara Campos C., Musumecie S., Battistif A., Quinnell R.J., Mostacero León J., Vazaa G., Mostacciulo 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.
12. *Arndt S., Hobbs A., Sinclair I., Anthony B.* Lane Chitotriosidase Deficiency: A mutation update in an African population // *JIMD Reports.* – 2012. – Vol. 12. – P. 1–3.
13. *Woo K.H., Lee B.H., Heo S.H., Kim J.-M., Kim G.-H., Kim Y.-M., Kim J.H., Choi I.-H., Yang S.H., Yoo H.-W.* Allele frequency of a 24 bp duplication in exon 10 of the *CHIT1* gene in the general Korean population and in Korean patients with Gaucher disease // *Journal of Human Genetics.* – 2014. – Vol. 59. – P. 276–279.
14. *Tamanaha P., D'Almeida V., Calegare B.F.A., Tomita L.Y., Bittencourt R.A.L., Tufik S.* 24 bp duplication of *CHIT1* gene and determinants of human chitotriosidase activity among participants of EPISONO, a population-based cross-sectional study // *Clinical Biochemistry.* – 2013. – Vol. 46. – P. 1084–1088.
15. *Rodrigues M.D.B., Muller K.B., Pereira V.G., Martins A.M., D'Almeida V.* Chitotriosidase deficiency in Brazil: evaluation of enzyme activity and genotypes // *Blood Cells, Molecules, and Diseases.* – 2010. – Vol. 44. – P. 305–306.
16. *Duarte A.J., Ribeiro D., Amaral O.* *CHIT1* genetic defects in the Portuguese population // *Blood Cells, Molecules, and Diseases.* – 2013. – Vol. 50. – P. 50–52.
17. *Van Dussen L., Hendriks E.J., Groener J.E., Boot R.G., Hollak C.E., Aerts J.M.* Value of plasma chitotriosidase to assess non-neuronopathic Gaucher disease severity and progression in the era of enzyme replacement therapy // *J. Inher. Metab. Dis.* – 2014. – Vol. 37, № 6. – P. 991–1001.
18. *Rodrigues M.R., Sa Miranda M.C., Amaral O.* Allelic frequency determination of the 24-bp chitotriosidase duplication in the Portuguese population by real-time PCR // *Blood Cell Mol. Dis.* – 2004. – Vol. 33, № 3. – P. 362–364.
19. *Weinreb N.J., Aggio M.C., Andersson H.C., Andria G., Charrow J., Clarke J.T.* Gaucher disease type 1: revised recommendations on evaluations and monitoring for adult patients // *Semin. Hematol.* – 2004. – Vol. 41. – P. 15–22.
20. *Wajner A., Michelin K., Burin M.G.* Comparison between the biochemical properties of plasma chitotriosidase from normal individuals and from patients with Gaucher disease, GM1-gangliosidosis, Krabbe disease and heterozygotes for Gaucher disease // *Clin. Biochem.* – 2007. – Vol. 40. – P. 365–369.

Представлено Л.Л. Лукаш  
Надійшла 01.06.2015

**ДУПЛИКАЦИЯ DUP 24-BP В ГЕНЕ ХИТОТРИОЗИДАЗЫ CHIT1 У ЗДОРОВЫХ ЛИЦ И ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ГОШЕ В УКРАИНЕ**

*Н.В. Ольхович*

ГУ Институт генетической и регенеративной медицины  
НАМН Украины  
Украина, 04114, г. Киев, ул. Вышгородская, 67  
Национальная детская специализированная больница  
«ОХМАТДЕТ»  
Украина, 01135, г. Киев, ул. Черновола, 28/1  
e-mail: nolhovich@gmail.com

**Целью** нашей работы была оценка распространенности дефицита хитотриозидазной активности у населения Украины путем определения частоты dup 24 bp в гене *CHIT1* у здоровых лиц, а также у пациентов с болезнью Гоше для разработки путей оптимизации лабораторной диагностики и мониторинга лечения этого заболевания. **Методы.** Хитотриозидазную активность в плазме оценивали по деградации флуорогенного субстрата 4-метилумбеллиферил-триацетилхитотриозида. Дупликацию 24 bp в 10 экзоне гена *CHIT1* определяли методом ПЦР. **Результаты.** Аллельная частота dup 24 bp в гене *CHIT1* у пациентов с болезнью Гоше I-го типа из Украины составила 11,6 % (13/112). Аллельная частота dup 24 bp в гене *CHIT1* у населения Украины составила 25,9 % (323/1244), что хорошо согласуется с данными о частоте этого генетического варианта в других европейских популяциях. **Выводы.** Молекулярно-генетический скрининг dup 24 bp в гене *CHIT1* является необходимым этапом протокола лабораторного установления диагноза болезни Гоше во избежание ложноотрицательной диагностики этого заболевания. Для пациентов с болезнью Гоше, которые являются носителями dup 24 bp в гене *CHIT1*, необходимо применение других биомаркеров для мониторинга эффективности фермент-заместительной терапии.

**Ключевые слова:** хитотриозидаза, болезнь Гоше, дефицит хитотриозидазной активности, полиморфизмы гена *CHIT1*.

**THE DUP 24-BP DUPLICATION IN CHITOTRIOSIDASE GENE CHIT1 IN HEALTHY PERSONS AND IN PATIENTS WITH GAUCHER DISEASE IN UKRAINE**

*N.V. Olhovych*

RC Institute for Genetic and Regenerative Medicine, NAMS of  
Ukraine  
Ukraine, 04114, Vyshgorodskaya str., 67  
National Children's Specialized Hospital «OKHMATDYT»  
Ukraine, 01135, Kyiv, Chornovola str., 28/1  
e-mail: nolhovich@gmail.com

**The aim** of our work was to evaluate the prevalence of chitotriosidase deficiency in the population of Ukraine by determining the frequency of dup 24 bp in the *CHIT1* gene in healthy subjects and in patients with Gaucher disease type I to develop approaches for optimizing laboratory diagnosis of this disease and monitoring of enzyme replacement therapy. **Methods.** Chitotriosidase activity in plasma was evaluated by degradation of fluorogenic substrate 4 metylumbellyferyl-triacetylchitotrioside. Dup 24 bp in exon 10 of the *CHIT1* gene was determined by PCR. **Results.** Allele frequency of dup 24 bp in the *CHIT1* gene in patients with Gaucher disease type I from Ukraine was 11.6 % (13/112). Allele frequency of dup 24 bp in the *CHIT1* gene in the population of Ukraine was 25.9 % (323/1244), which is consistent with the data on the frequency of this genetic variant in other European populations. **Conclusions.** Molecular genetic screening for dup 24 bp in the gene *CHIT1* is a necessary stage of laboratory diagnosis of Gaucher disease to avoid false negative diagnosis of the disease. For patients with Gaucher disease, who are carriers of the dup 24 bp in the *CHIT1* gene, it is necessary to use other biomarkers for monitoring of the effectiveness of enzyme replacement therapy.

**Keywords:** chitotriosidase, Gaucher disease, chitotriosidase deficiency, *CHIT1* gene polymorphisms.