УДК 575.174

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА КОЛЛАГЕНА ТРЕТЬЕГО ТИПА (*COL3A1*) У БОЛЬНЫХ С АРТЕРИАЛЬНЫМИ АНЕВРИЗМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

© ***Хусаинова Р.И., *Лебедева Е.Р., Пушкарева А.Э., Хуснутдинова Э.К.***

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Башкирия;
***Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург**
E-mail: ritakh@mail.ru

Проведено изучение генетической предрасположенности к аневризмам артериальных сосудов головного мозга на основе исследования *VNTR*, *Alu*-инсерционного, *2209G>A* и *4561A>G* полиморфных вариантов гена α-цепи коллагена 3 типа (*COL3A1*). Обнаружены ассоциации **G*G* генотипа полиморфизма *2209G>A* (OR=1.6; 95%CI=1.04-2.398), аллеля **G* и генотипа **A*G* полиморфизма *4561A>G,* гаплотипа G_1G_2 по двум исследованным SNP локусам гена *COL3A1* с аневризмами сосудов головного мозга (OR=2.6; 95%CI=1.686-3.935). Относительный риск заболевания повышен у мужчин с признаками дисплазии соединительной ткани с генотипом **2*4 VNTR* полиморфизма (OR=2.4; 95%CI=1.02-5.72) и у женщин, носителей аллеля **G* (OR=1.7; 95%CI=1,025-2,713) и генотипа **G*G* полиморфизма *2209G>A* гена *COL3A1* и понижен у носителей генотипа **A*G* полиморфизма *2209G>A* (OR=0.6; 95%CI=0.420-0.974), аллеля **A* и генотипа **A*A* полиморфизма *4561A>G,* а также гаплотипа A_1A_2 (OR=0.5; 95%CI=0.342-0.773). Полученные результаты свидетельствуют о вовлеченности коллагена 3 типа в патогенез интракраниальных аневризм.

Ключевые слова: аневризмы артериальных сосудов, коллаген 3 типа, полиморфизм.

ANALYSIS OF COLLAGEN III GENE (*COL3A1*) POLYMORFISMS IN PATIENTS WITH INTRACRANIAL ANEURISMS

Khusainova R.I., Lebedeva E.R., Pushkareva A.E., Khusnutdinova E.K.
Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre Russian Academy of Science, Ufa;
Ural State Medicine Academy, Yekaterinburg

Analysis of predisposition to intracranial aneurisms development based on *VNTR*, *Alu*-insertion, *2209G>A* и *4561A>G* polymorphisms of collagen III *(Col3A1)* gene was carried out. The relative risk of intracranial aneurisms development is increased in individuals with **G*G* genotype of 2209G>*A* polymorphism (OR=1.6; 95%CI=1.04-2.398), allele **G* and genotype **A*G* of *4561A>G* polymorphism, two SNP loci haplotype G_1G_2 in gene *Col3A1* (OR=2.586; 95%CI=1.686-3.935). Also the relative risk of intracranial aneurisms development is increased in men with dysplasia of connective tissue carrying genotype **2*4* of *VNTR* polymorphism (OR=2.4; 95%CI=1.02-5.72) and in women allele **G* carrier (OR=1,667; 95%CI=1,025-2,713) and with genotype **G*G* of *2209G>A* polymorphism and decreased in genotype **A*G* carrier of *2209G>A* polymorphism (OR=0.64; 95%CI=0.420-0.974), allele ** A* and genotype **A*A* carriers of *4561A>G* polymorphism and haplotype A_1A_2 (OR=0.514; 95%CI=0.342-0.773). The findings presume to role of *Col3A1* gene in pathogenesis of intracranial aneurisms.

Keywords: intracranial aneurisms, collagen 3 types, polymorphisms.

Аневризмы сосудов головного мозга являются сложным заболеванием многофакторной природы, приводящие к спонтанным субарахноидальным кровоизлияниям. Каждый год более 30 тыс. человек страдают от разрыва интракраниальных аневризм, что приводит к особо тяжелым формам инсульта. Среди этих людей 50% умирают, 25% становятся инвалидами в связи с утерей речи, зрения и координации движений, у оставшихся 25% повышен риск повторных инсультов [6]. В последние десятилетия снизилось число инсультов из-за раннего выявления и эффективного лечения гипертонии, однако частота разрывов артериальных сосудов в результате интракраниальных аневризм осталось на прежнем уровне. Неразорвавшиеся аневризмы обычно выявляются случайно при церебральной ангиографии или вскрытии, распространенность их в популяциях мира составляет от 1% до 6% [20]. До сих пор остаются неясными причины происхождения и развития аневризм сосудов головного мозга. Существуют очевидные доказательства, что предрасположенность к аневризмам имеет значительный генетический компонент [21, 22]. Несколько групп исследователей предположили, что дефекты коллагена III типа являются фактором риска интракраниальных аневризм, в других исследованиях такие ассоциации отсутствуют, что, видимо, связано с особенностями структуры генофонда изученных популяций [7-10, 15-17, 24]. Коллаген 3 типа - второй по распространенности коллаген в организме человека, является основным компонентом артерий, состоит из трех одинаковых α1 цепей и кодируется геном COL3A1, локализованном на 2 хромосоме, в области q24.3-q31, имеет

протяженность 44 тысяч пар оснований и содержит 52 экзона [5, 18].

В настоящее время в различных популяциях мира проводится идентификация полиморфных локусов, ассоциированных с увеличением риска развития заболевания с учетом особенностей структуры генофонда отдельных регионов, однако молекулярно-генетические основы формирования заболевания до конца не ясны. Известно относительно небольшое число генов, вовлеченных в патогенез интракраниальных аневризм [21, 22].

С целью выявления предрасположенности к аневризмам сосудов головного мозга нами проведено изучение Alu-повторов в 8 интроне, VNTR полиморфизма в 25 интроне и двух однонуклеотидных полиморфных локусов: 2209G>A, p.Ala698Thr (rs1800255) и 4561A>G (rs8224) гена коллагена III типа (COL3A1) у индивидов русской этнической принадлежности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования послужили образцы ДНК 166 больных с аневризмами мозговых сосудов, оперированных в нейрохирургической клинике Уральской государственной медицинской академии и 193 практически здоровых индивидов в качестве контрольной выборки русской этнической принадлежности, проживающих в Волго-Уральском регионе. Возраст больных варьировал от 14 до 73 лет (средний возраст – 43,2 года), доля множественных аневризм составила 18,1%. Наибольшее число аневризм локализовались в области внутренней сонной (ВСА) и передней соединительной артерии (ПМА-ПСА) (62,5%), 25,5% - аневризмы средней мозговой артерии (СМА). Размеры аневризм варьировали от аневризматических выпячиваний до гигантских (более 25 мм), самыми частыми были аневризмы средних размеров (75,3%).

Выделение ДНК из цельной крови проводилось методом последовательной фенольно-хлороформной экстракции [11]. Генотипирование образцов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК с использованием праймеров, описанных ранее [4, 12, 13]. Для анализа 2209G>A и 4561A>G полиморфных локусов использовались ферменты рестрикции AluI (2209G>A) и NdeI (4561A>G), соответственно.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакетов программ статистического анализа Statistica ver. 6.0 [23] и "Rows x Columns" [19]. В случае наличия статистически значимых отличий в исследуемых выборках проводилась оценка показателя относительный риск (odds ratio, OR), а также границ его 95% доверительного интервала (CI95%).

Гаплотипический анализ провели с использованием программы EH, разработанной университетом Рокфеллера, Нью-Йорк, США (http://linkage.rockefeller.edu/ott/eh.htm).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования инсерционно-делеционного полиморфизма Alu-повторов в 8 интроне гена COL3A1 у больных с аневризмами сосудов головного мозга и в контрольной группе здоровых индивидов представлено в табл. 1.

Частота Alu инсерции в контрольной группе здоровых индивидов русской этнической принадлежности, проживающих в Волго-Уральском регионе, составила 0.052. По литературным данным, существуют выраженные этнические различия в распространенности частоты Alu инсерции в гене COL3A1 в популяциях мира. С наибольшей частотой данная Alu инсерция обнаружена в попу-

Таблица 1

Распределение частот аллелей и генотипов Alu-инсерционного полиморфизма гена *COL3A1* у больных с аневризмами артериальных сосудов головного мозга и в контрольной группе

Выборки	N	Аллели				Генотипы					
		*I		*D		*I*I		*I*D		*D*D	
		n	p	n	p	n	p	n	p	n	p
Общая выборка больных	166	8	0,024	324	0,976	0	0,000	8	0,048	158	0,952
Общая выборка контроля	193	20	0,052	366	0,948	1	0,005	18	0,093	174	0,902
Больные женщины	83	5	0,030	161	0,970	0	0,000	5	0,060	78	0,940
Контроль женщины	85	11	0,065	159	0,935	0	0,000	11	0,129	74	0,871
Больные мужчины	83	3	0,018	163	0,982	0	0,000	3	0,036	80	0,964
Контроль мужчины	107	9	0,042	205	0,958	1	0,009	7	0,065	99	0,925

ляциях Африки (0.223), в популяциях Юго-Восточной Азии и Индии ее частота составила 0.089 и 0.064, соответственно, а популяциях Европы выявлена со средней частотой 0.026 и не обнаружена у поляков, пигмеев и в трех популяциях Индии [25]. Наибольшая частота COL3A1 Alu инсерции среди популяций Азии выявлена у японцев (0.156), а в Европе – у французов (0.050). В исследуемой нам выборке русских частота Alu инсерции в гене COL3A1 оказалась выше, чем в среднем по Европе, и соответствует таковой в популяции французов, ниже, чем в популяциях Азии, и близка к таковой у вьетнамцев (0.056), но выше, чем у китайцев (0.029). Полученные нами результаты подтверждают, что Волго-Уральский регион занимает промежуточное положение между Европой и Азией не только в географическом отношении, но и в генетическом, т.к. этот регион являлся ареной тесных этногенетических взаимоотношений европеоидных и монголоидных народов в течение длительного исторического временного отрезка. Это подтверждается и проведенными нами ранее исследованиями генофонда народов Волго-Уральского региона [1-3]. В других популяциях России Alu полиморфный локус гена COL3A1 не изучался.

В общей выборке больных с интракраниальными аневризмами Alu инсерция обнаружена с частотой 0.024, что в 2,2 раза меньше, чем в контрольной группе, однако различия не достигают статистической значимости из-за низкой частоты Alu инсерции (χ=3.659, p=0.056). Аллель *I чаще встречается у женщин, по сравнению с мужчинами, как в контрольной группе, так и у больных. В группе больных ни разу не встречался генотип *I*I, а в контрольной выборке обнаружен только один случай гомозиготного генотипа *I*I. Обнаружена тенденция снижения частоты гетерозиготного генотипа *I*D и повышения частоты генотипа *D*D у больных с артериальными аневризмами по сравнению с контрольной группой, но различия статистически не достоверны (χ=2.699, p=0.1; χ=3.24, p=0.072 соответственно).

Таким образом, Alu полиморфизм гена COL3A1 оказался недостаточно информативным для использования в качестве генетического маркера, что обусловлено его низкой частотой в популяции русских.

На следующем этапе исследования мы выбрали высокополиморфный маркер в 25 интроне гена COL3A1, содержащий от 5 до 11 копий VNTR повторов, состоящих из 15 пар оснований, чтобы увеличить вероятность обнаружения генетической ассоциации. Распределение частот аллелей и генотипов VNTR полиморфизма в гене COL3A1 в контрольной группе и у больных с интракраниальными аневризмами представлено в табл. 2.

В общей группе больных обнаружено 5 аллельных вариантов, а у контроля – 6, самым частым в обеих исследованных группах оказался аллель *2 с частотой 0.44 и 0.38 соответственно. Результаты сопоставимы с полученными ранее данными для европейских популяций, где частота аллеля *2 составила 0.42 [14]. Обнаружена тенденция увеличения частот более длинных аллельных вариантов в контрольной группе, по сравнению с выборкой больных. У больных оказалось меньшее разнообразие генотипов [10] по сравнению с выборкой здоровых доноров [14]. Наблюдается бимодальное распределение частот генотипов. Показатель гетерозиготности у больных составил 66.95%, что ниже, чем в контрольной группе, где ожидаемая гетерозиготность достигала 70,48%. В целом у русских Волго-Уральского региона внутрипопуляционное разнообразие (68.71%) соответствует таковому в ранее изученных европейских популяциях (68,6%).

По литературным данным обнаружена ассоциация аллеля *3 VNTR полиморфизма гена COL3A1 с сердечно-сосудистыми заболеваниями, аллель *4 оказался протективным для развития

Таблица 2

Распределение частот аллелей и генотипов VNTR локуса гена Col3A1 у больных с аневризмами головного мозга и в контрольной группе здоровых доноров

Выборки	N	Аллели						Генотипы													
		*2	*3	*4	*5	*6	*7	*2*2	*2*3	*2*4	*2*5	*2*7	*3*3	*3*4	*3*5	*3*6	*3*7	*4*4	*4*5	*5*5	*5*6
Больных всего	165	146 0,442	104 0,315	60 0,182	17 0,052	3 0,009	0 0,000	25 0,152	51 0,309	34 0,206	11 0,067	0 0,000	15 0,091	17 0,103	3 0,018	3 0,018	0 0,000	3 0,018	3 0,018	0 0,000	0 0,000
Контроль всего	193	148 0,383	127 0,329	71 0,184	30 0,078	4 0,010	6 0,016	22 0,114	57 0,295	32 0,166	11 0,057	4 0,021	14 0,073	28 0,145	9 0,047	3 0,016	2 0,010	3 0,016	5 0,026	2 0,010	1 0,005
Больные женщины	83	73 0,440	52 0,313	28 0,169	10 0,060	3 0,018	0 0,000	12 0,145	26 0,313	17 0,205	6 0,072	0 0,000	6 0,072	9 0,108	2 0,024	3 0,036	0 0,000	0 0,000	2 0,024	0 0,000	0 0,000
Контроль женщины	85	62 0,365	51 0,300	38 0,224	14 0,082	1 0,006	4 0,024	5 0,059	26 0,306	17 0,200	6 0,071	3 0,035	3 0,035	13 0,153	4 0,047	1 0,012	1 0,012	2 0,024	4 0,047	0 0,000	0 0,000
Больные мужчины	82	73 0,445	52 0,317	32 0,195	7 0,043	0 0,000	0 0,000	13 0,159	25 0,305	17 0,207	5 0,061	0 0,000	9 0,110	8 0,098	1 0,012	0 0,000	0 0,000	3 0,037	1 0,012	0 0,000	0 0,000
Контроль мужчины	107	84 0,393	76 0,355	33 0,154	16 0,075	3 0,014	2 0,009	16 0,150	31 0,290	15 0,140	5 0,047	1 0,009	11 0,103	15 0,140	5 0,047	2 0,019	1 0,009	1 0,009	1 0,009	2 0,019	1 0,009

острых коронарных синдромов и инфаркта миокарда [14].

В результате проведенных нами исследований оказалось, что у женщин, больных аневризмами сосудов головного мозга, понижена частота аллеля *4 (0.169) и повышена частота генотипа *2*2 (0.145) по сравнению со здоровыми женщинами (0.365 и 0.059 соответственно), однако различия не достигают статистически значимых значений ($\chi2$=1.6, ρ=0.206 и $\chi2$=2.519, ρ=0.113 соответственно).

У мужчин с аневризмами выявлено 4 аллеля и 9 генотипов, тогда как у здоровых мужчин наблюдается большее разнообразие – 6 аллельных вариантов и 14 генотипов исследуемого полиморфного локуса. Сохраняется тенденция уменьшения числа повторов у больных мужчин по сравнению с контрольной группой и частоты аллелей с большим числом повторов. Так, частота аллеля *5 снижена в 1,7 раза по сравнению с выборкой здоровых доноров, однако различия не достигают достоверных значений ($\chi2$=1.672, ρ=0.196).

По мнению многих исследователей, важное значение в развитии интракраниальных аневризм имеет дисплазия соединительной ткани (ДСТ). В исследованных нами выборках среднее число маркеров дисплазии оказалось равным 3,07 в группе больных с аневризмами и 1,17 в контрольной группе, поэтому наличие дисплазии соединительной ткани можно предполагать у больных, имеющих не менее трех маркеров дисплазии. Среди наших больных 62,8% имели не менее трех внешних маркеров ДСТ.

У больных аневризмами сосудов головного мозга при наличии фенотипических признаков дисплазии соединительной ткани наблюдается накопление генотипа *2*4 по сравнению с контрольной выборкой без признаков ДСТ ($\chi2$=3.49, ρ=0.062), достигая достоверных различий у мужчин с ДСТ по сравнению с соответствующим контролем без ДСТ ($\chi2$=4.18, ρ=0.041). Относительный риск развития заболевания у носителей генотипа *2*4 составляет 2.4 (95%CI=1.02-5.72).

Таким образом, обнаружен повышенный риск развития аневризм сосудов головного мозга у мужчин с признаками дисплазии соединительной ткани с генотипом *2*4 VNTR полиморфизма гена COL3A1.

Нами также проведено исследование двух однонуклеотидных полиморфных вариантов, расположенных в 31 экзоне (rs1800255) и в 51 экзоне (rs8224) гена COL3A1.

Точечные олигонуклеотидные замены (SNP) являются наиболее частым типом полиморфизма в геноме человека и представляют практический интерес для использования в качестве генетических маркеров, ассоциированных с наследственно обусловленными многофакторными заболеваниями.

Однонуклеотидная несинонимичная замена гуанин на аденина в 2209 положении (2209G>A) приводит к изменению аминокислотной последовательности и замене треонина на аланин в положении 698 белка коллагена 3 типа [14].

Результаты анализа 2209G>A полиморфизма в выборках больных и контроля приведены в табл. 3. Аллель 2209*A встречался как в выборке больных, так и в контрольной группе с частотой 0.247 и 0.306 соответственно, что позволяет нам рассматривать данную однонуклеотидную замену в качестве полиморфизма. Аллель *G чаще встречается у больных (0.753) по сравнению с контрольной группой (0.694), различия недостоверны ($\chi2$=3.06, p=0.08).

При разделении больных и контроля на группы согласно полу, а также наличию, либо отсутствию признаков дисплазии соединительной ткани (ДСТ) обнаружены достоверные различия по распределению частот аллелей исследуемого локуса между больными и контрольной группой женского пола ($\chi2$=4.278, p=0.039), аллель *A является маркером пониженного риска развития аневризм у женщин (OR=0.6, 95%CI=0.367-0.976).

Таблица 3

Распределение частот аллелей и генотипов 2209G>A (rs1800255) полиморфизма гена *COL3A1* у больных с аневризмами артериальных сосудов головного мозга и в контрольной группе

Выборки	N	Аллели				Генотипы					
		*G		*A		*G*G		*A*G		*A*A	
		n	p	n	p	n	p	n	p	n	p
Общая выборка больных	166	250	0,753	82	0,247	92	0,554	66	0,398	8	0,048
Общая выборка контроля	193	268	0,694	118	0,306	85	0,440	98	0,508	10	0,052
Больные женщины	83	129	0,777	37	0,223	48	0,578	33	0,398	2	0,024
Контроль женщины	85	115	0,676	55	0,324	34	0,400	47	0,553	4	0,047
Больные мужчины	83	121	0,729	45	0,271	44	0,530	33	0,398	6	0,072
Контроль мужчины	107	152	0,710	62	0,290	51	0,477	50	0,467	6	0,056

В популяциях мира, по данным литературы и базы данных по SNP, частота аллеля 2209*A варьирует от 0.2 до 0.42 [4, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1800255]. У больных с пролапсом митрального клапана по сравнению с контрольной группой статистически значимо чаще ($\chi2$=19.17, p>0.0001) встречался аллель *G – 0.76 и 0.58 соответственно [4], что согласуется с полученными нами данными о протективной роли аллеля 2209*A при патологии соединительной ткани.

Нами выявлено три генотипа по исследуемому локусу 2209G>A гена COL3A1. В выборке больных с аневризмами сосудов головного мозга наиболее частым оказался генотип 2209*G*G (0.554), а в контрольной группе чаще встречался гетерозиготный генотип 2209*A*G (0.508). При сравнительном анализе распределения частот генотипов обнаружены статистически значимые различия между общей выборкой больных и контрольной группой по частоте генотипов 2209*G*G ($\chi2$=4.624, p=0.0315) и 2209*A*G ($\chi2$=3.933, p=0.037). Наименьшая частота генотипа 2209*G*G выявлена в контрольной группе женского пола (0.4), наибольшая частота - у женщин с аневризмами (0.578), различия статистически достоверны ($\chi2$=5.344, p=0.021). Генотип 2209*A*G, напротив, с высокой частотой обнаружен в контрольной группе женщин (0.553) и с низкой частотой у больных женского пола (0.398), различия также статистически значимы ($\chi2$=4.063, p=0.044). Относительный риск заболевания для носителей генотипа 2209*G*G составил 1.6 (95%CI=1.04-2.398), для женщин – 2.057 (95%CI=1.112-3.804). Генотип 2209*A*G оказался генотипом пониженного риска как в целом (OR=0.64, 95%CI=0.420-0.974), так и для женщин – 0.534 (95%CI=0.289-0.985).

По литературным данным, 2209*G*G генотип ассоциирован с пролапсом митрального клапана у китайцев из Тайваня [4]. Результаты наших исследований также подтверждают вовлеченность 2209G>A полиморфизма гена COL3A1 в развитие заболеваний, связанных с нарушением функции соединительной ткани в целом и в патогенезе интракраниальных аневризм, в частности.

Результаты исследования полиморфного локуса 4561A>G в 51 экзоне гена COL3A1 представлены в табл. 4.

Наиболее часто выявлялся аллель 4561*A как в группе больных с аневризмами артериальных сосудов головного мозга (0.657), так и в контрольной выборке (0.808). Наблюдается накопление аллеля 4561*G у больных по сравнению с контрольной выборкой, различия достигают достоверных значений ($\chi2$=21.24, p<0.001). Самая высокая частота аллеля 4561*G обнаружена в выборке больных с признаками дисплазии соединительной ткани (0.364), составляя 0.342 у женщин и 0.390 у мужчин. Сравнительный анализ распределения частот аллелей исследуемого локуса между выборками больных и контроля выявил достоверные различия во всех случаях между выборками больных и контроля, как в зависимости от пола, так и наличия, либо отсутствия признаков ДСТ (p<0,005), что позволяет нам рассматривать аллель 4561*G в качестве маркера повышенного риска развития интракраниальных аневризм (OR=2.2, 95%CI=1.569-3.097), а аллель 4561*A оказался маркером пониженного риска развития заболевания (OR=0.45, 95%CI=0.323-0.637).

В выборке больных аневризмами сосудов головного мозга чаще встречался генотип 4561*A*G (0.687), тогда как в общей выборке контрольной группы преобладал генотип 4561*A*A (0.617). Генотип 4561*G*G не выявлен

Таблица 4

Распределение частот аллелей и генотипов 4561A>G (rs8224) полиморфизма гена COL3A1 у больных аневризмами артериальных сосудов головного мозга и в контрольной группе здоровых доноров

Выборки	N	Аллели						Генотипы					
		*A		*G		χ^2	*p*	*A*A		*A*G		χ^2	*p*
		n	p	n	p			n	p	n	p		
Общая выборка больных	166	218	0,657	114	0,343	21,24	0,001	52	0,313	114	0,687	32,92	0,001
Общая выборка контроля	193	312	0,808	74	0,192			119	0,617	74	0,383		
Больные женщины	83	112	0,675		0,325	10,81	0,005	29	0,349	54	0,651	16,09	0,001
Контроль женщины	85	141	0,829	29	0,171			56	0,659	29	0,341		
Больные мужчины	83	106	0,639	60	0,361	10,68	0,005	23	0,277	60	0,723	17,28	0,001

Таблица 5

Распределение частот гаплотипов *2209G>A* и *4561A>G* полиморфных вариантов гена *Col3A1* у больных аневризмами сосудов головного мозга и в контрольной группе

Гаплотипы	больные		контроль		χ^2	p
	Абсолютное число (n)	Частота (ρ)	Абсолютное число (n)	Частота (ρ)		
A_1A_2	41	0.123	83	0.214	10.486	0.0012
A_1G_2	179	0.536	231	0.595	2.58	0.108
G_1A_2	41	0.123	36	0.093	0.097	0.193
G_1G_2	73	0.218	38	0.098	20.074	0.000007

как в группе больных, так и в контрольной группе. Обнаружены достоверные различия между общей выборкой больных и контрольной группой здоровых доноров по распределению частот генотипов локуса 4561A>G гена COL1A3 ($\chi2$=32.92, p<0.001). При разделении общей выборки больных и контрольной группы по гендерному признаку и наличию ДСТ также сохраняются достоверные различия между сравниваемыми группами (табл. 5).

Относительный риск заболевания повышен у носителей генотипа 4561*A*G (OR=3.5, 95%CI=2.275-5.463), тогда как у носителей генотипа 4561*A*A риск развития аневризм артериальных сосудов головного мозга понижен (OR=0.28, 95%CI=0.183-0.440).

Таким образом, нами обнаружены ассоциации аллеля 4561*G и генотипа 4561*A*G полиморфного локуса 4561A>G гена COL3A1 с аневризмами артериальных сосудов головного мозга и выявлена протективная роль аллеля 4561*A и генотипа 4561*A*A в развитии заболевания.

Учитывая сцепление исследованных SNP-локусов гена COL3A1 (D'coefficient=0.25; p<0.003), мы провели гаплотипический анализ изученных полиморфных локусов. При сравнительном анализе обнаружены достоверные различия в распределении частот гаплотипов 2209G>A и 4561A>G полиморфных вариантов гена Col3A1 у больных аневризмами сосудов головного мозга и контрольной группой ($\chi2$=28.06; df=3; p=0.0001). Выявлено 4 гаплотипа как в группах больных, так и контроля. Обнаружены достоверные различия по частотам гаплотипов A1A2 и G1G2 между больными и контрольной группой (табл. 5).

Обнаружена ассоциация гаплотипа G1G2 с аневризмами сосудов головного мозга (OR=2.6, 95%CI=1.686-3.935). Гаплотип A1A2 оказался гаплотипом пониженного риска (OR=0.5, 95%CI=0.342-0.773).

Таким образом, обнаружены ассоциации полиморфных вариантов гена COL3A1 с аневризмами сосудов головного мозга, что позволяет нам подтвердить роль коллагена 3 типа в патогенезе интракраниальных аневризм в популяции русских. Полученные нами результаты вносят вклад в исследование популяционных особенностей распределения частот аллелей и генотипов исследованных локусов гена COL3A1 и в определение генетических маркеров индивидуального риска развития аневризм артериальных сосудов головного мозга в российских популяциях.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бермишева М., Викторова Т.В., Тамбетс К. и др.* Разнообразие гаплогрупп митохондриальной ДНК у народов Волго-Уральского региона России // Молекулярная биология. –2002. – Т. 36, № 6. – С. 905–906.
2. *Хуснутдинова Э.К., Викторова Т.В., Фатхлисламова Р.И., Галеева А.Р.* Оценка относительного вклада европеоидного и монголоидного компонентов в формирование этнических групп Волго-Уральского региона по данным полиморфизма ДНК // Генетика. – 1999. – Т. 35, № 8. – С. 887–893.
3. *Хуснутдинова Э.К., Хидиятова И.М., Викторова Т.В. и др.* Генетические расстояния и таксономический анализ популяций народов Волго-Уральского региона по данным о полиморфизме ДНК // Генетика. –1999. –Т. 35, № 7. – С. 982–987.
4. *Chou Hsaiang-Tai, Hung J-S., Chen Y-T. et al.* Association between COL3A1 collagen gene exon 31 polymorphism and risk of floppy mitral valve/mitral valve prolapsed // International Jornal of Cardiology. – 2005. – Vol. 95. – P. 299–305.
5. *Dalgleish R.* The Human Collagen Mutation Database // Nucleic Acids Research. – 1998. – Vol. 26, N 1. – P. 253–255.
6. *David G. Peters, Amin B. Kassam, Eleanor Feingold et al.* Molecular Anatomy of an Intracranial Aneurysm Coordinated Expression of Genes Involved in Wound Healing and Tissue Remodeling // Stroke. – 2001. – Vol. 32. – P. 1036–1042.
7. *Kuivaniemi H., Prockop D.J., Wu Y. et al.* Exclusion of the gene for type III collagen (COL3A1) as a common cause of intracranial aneurysms or cervical artery dissections: results from sequence analysis of the coding sequences of type III collagen from 55 unrelated patients // Neurology. – 1993. – Vol. 43. – P. 2652–2658.

8. *Leblanc R., Lozano A.M., van der Rest M.* Collagen deficiency in cerebral aneurysms // Stroke. – 1989. – Vol. 20. – P. 561.
9. *Majamaa K., Myllyla. V.V.* Disorder of collagen biosynthesis in patients with cerebral artery aneurysm // Biochim Biophys Acta. – 1993. – Vol. 1225. – P. 48–52.
10. *Majamaa K., Savolainen E.-R., Myllyla. V.V.* Synthesis of structurally unstable type III procollagen in patients with cerebral artery aneurysm // Biochim Biophys Acta. – 1992. – Vol. 1138. – P. 191–196.
11. *Mathew C.C.* The isolation of high molecular weight eucariotic DNA // Methods in molecular biology // Haman Press. – 1984. – P. 31–34.
12. *Mays P.K., Tromp G., Kuivaniemi H. et al.* A 15 base-pair AT-rich variable number tandem repeat in the type III procollagen gene (COL3A1) as an informative marker for 2q31-2q32.3 // Matrix. –1992. – Vol. 12, N 1. – P. 44–49.
13. *Milewicz D.M., Byers P.H., Reveille J. et al.* A dimorphic Alu Sb-like insertion in COL3A1 is ethnic-specific // J Mol Evol. – 1996. – Vol. 42, N 2. – P. 117–123.
14. *Muckian C., Fitzgerald A., Anne O'Neill, Anna O'Byrne et al.* Genetic variability in the extracellular matrix as a determinant of cardiovascular risk: association of type III collagen COL3A1 polymorphisms with coronary artery disease // Blood. – 2002. – Vol. 100, N. 4. – P. 1220–1223.
15. *Neil-Dwyer G., Bartlett J.R., Nicholls A.C. et al.* Collagen deficiency and ruptured cerebral aneurysms: a clinical and biochemical study // J. Neurosurg. – 1983. – Vol. 59. – P. 16–20.
16. *Ostergaard J.R., Oxlund H.* Collagen type III deficiency in patients with rupture of intracranial saccular aneurysms // J. Neurosurg. – 1987. – Vol. 67. – P. 690–696.
17. *Pope F.M., Nichols A.C., Narcisi P. et al.* Some patients with cerebral aneurysms are deficient in type III collagen // Lancet. – 1981. – Vol. 1. – P. 973–975.
18. *Prockop D.J., Kivirikko K.I.* Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy // Annu Rev Biochem. – 1995. – Vol. 64. – P. 403–434.
19. *Roff D.A., Bentzen P.* The statistical analysis of mitochondrial DNA: $\chi 2$ and problem of small samples // Mol. Biol. Evol. – 1989. – Vol. 6. – P. 539–545.
20. *Ronkainen A., Miettinen H., Karkola K. et al.* Risk of harboring an unruptured intracranial aneurysm // Stroke. – 1998. – Vol. 29. – P. 359–362.
21. *Shievink W.I.* Genetics of intracranial aneurysms // Neurosurgery. – 1997. – Vol. 40. – P. 651–663.
22. *Shievink W.I.* Genetics and aneurysm formation // Neurosurg Clin N Am. – 1998. – Vol. 9. – P. 485–495.
23. *StatSoft,* Inc. STATISTICA for Windows (Computer program manual). Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 1999. WEB: http://www.statsoft.com.
24. *Van den Berg, Limburg M., Pals G. et al.* Some patients with intracranial aneurysms have a reduced ratio of type III type I collagen: a case-control study // Neurology. – 1997. – Vol. 49. – P. 1546–1551.
25. *Watkins W.S., Ricker C.E., Bamshad M.J. et al.* Patterns of ancentral Human Diversity: an analysis of Alu-insertion and restriction-site polymorphism // Am. J. Hum. Genet. – 2001. – Vol. 68. – P. 738–752.