

В.Ю. Гарбузова, О.В. Полоніков, Д.О. Строй, О.І. Матлай, Ю.О. Атаман,
В.А. Сухарева, О.В. Атаман

Аналіз впливу поліморфізму $C^{677}T$ гена N^5, N^{10} -метилентетрагідрофолатредуктази на розвиток ішемічного інсульту у людей з різними факторами його ризику

Наведено результати визначення поліморфізму $C^{677}T$ (rs1801133) гена MTHFR у 170 хворих на ішемічний атеротромботичний інсульт (ІАТІ) і 124 здорових людей (контрольна група). Встановлено, що у хворих з ІАТІ співвідношення гомозигот за основним алелем (CC), гетерозигот (CT) і гомозигот за мінорним алелем (TT) становить 52,4, 35,9 і 11,8 % (у контролі – 46,0, 48,4, 5,6 %, $P=0,044$ за χ^2 -критерієм). Гомозиготи TT мають більшу ймовірність розвитку ІАТІ, ніж носії основного C-алеля (CT+CC) (OR=2,3, CI=0,911-5,449, $P=0,049$). У представників української популяції існує зв'язок між частотою генотипів за поліморфізмом $C^{677}T$ гена MTHFR і ризиком ІАТІ. Цей зв'язок проявляється у пацієнтів чоловічої статі, в осіб з нормальним артеріальним тиском і в людей, що не мають звички куріння. Стать пацієнтів, індекс маси тіла, значення артеріального тиску і куріння впливають на рівень асоціації вивченого поліморфізму з інсультом.

Ключові слова: метилентетрагідрофолатредуктаза, поліморфізм генів, ішемічний інсульт.

ВСТУП

Серед сучасних концепцій патогенезу серцево-судинних хвороб одне з чільних місць посідає гомоцистеїнова теорія атеросклерозу, відповідно до якої появі типових інфільтративно-проліферативних змін в інтимі артерій і розвиткові ускладнень атеросклеротичних бляшок передують ураження ендотелію судин, зумовлене підвищенням вмістом амінокислоти гомоцистеїну у плазмі крові [1–3]. Ендотеліальна дисфункція, що є наслідком гіпергомоцистеїнемії, започатковує цілу низку подій, що призводить до гострих порушень коронарного і мозкового кровообігу, крайніми проявами яких є інфаркт міокарда та ішемічний атеротромботичний інсульт (ІАТІ) [4, 5].

Одна з основних причин сталого підвищення вмісту гомоцистеїну в крові – пору-

шення реакцій його реметилювання з утворенням вкрай важливої для організму амінокислоти метіоніну. Зазначений біохімічний процес відбувається за умови достатньої кількості у тканинах донатора метильних груп, яким є біологічно активна форма фолієвої кислоти – N^5 -метилтетрагідрофолат (метил- FH_4). Останній утворюється з N^5, N^{10} -метилентетрагідрофолату (метилентетрагідрофолат) за участю ферменту N^5, N^{10} -метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) [6, 7], зменшення активності якої може бути причиною дефіциту метил- FH_4 , а отже, і недостатнього реметилювання гомоцистеїну з розвитком гіпергомоцистеїнемії [1, 8].

Починаючи з 90-х років минулого століття, описано велику кількість мутацій гена MTHFR і однонуклеотидних його поліморфізмів (SNP), які впливають на активність відповідного ферменту і можуть зумовлювати підвищення вмісту гомоцистеїну в крові.

© В.Ю. Гарбузова, О.В. Полоніков, Д.О. Строй, О.І. Матлай, Ю.О. Атаман, В.А. Сухарева, О.В. Атаман

Одним з таких є SNP C⁶⁷⁷T (rs1801133), локалізований у 4-му екзоні гена, і який виявляє себе заміною 222-ї амінокислоти аланіну на валін у молекулі білка [9, 10].

Проведені в багатьох країнах світу дослідження зв'язку поліморфізмів гена MTHFR з розвитком патологічних процесів і хвороб людини виявили асоціацію C677T варіанта SNP з різними формами гострого коронарного синдрому [8, 11–13] і порушеннями мозкового кровообігу [14–16]. Проте даних про вплив зазначеного SNP на розвиток поширених серцево-судинних недуг стосовно української популяції досі немає. У зв'язку з цим мета нашої роботи – встановити частоту генотипів за поліморфізмом C⁶⁷⁷T гена MTHFR у хворих на ІАТІ, беручи до уваги низку факторів ризику, що мають стосунок до розвитку гострих порушень мозкового кровообігу.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено із використанням венозної крові 170 хворих на ІАТІ (42,4 % жінок і 57,6 % чоловіків) віком від 40 до 85 років (середній вік – 64,7 ± 0,73 роки), що перебували на диспансерному обліку в поліклінічному відділенні Сумської клінічної лікарні №5.

Ішемічний характер інсульту встановлювався за даними анамнезу, клінічної картини хвороби, МРТ-дослідження головного мозку. Патогенетичний варіант інсульту визначали відповідно до критеріїв TOAST [17], на підставі анамнезу і особливостей клінічного перебігу хвороби, даних ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови, електрокардіограми (ЕКГ).

Контрольна група складалася зі 124 пацієнтів, у яких відсутність порушень мозкового і коронарного кровообігу підтверджували збиранням анамнестичних даних, зняттям ЕКГ, проведенням загальноприйнятих неврологічних досліджень. Контрольна група і група хворих на ІАТІ (дослідна) не відріз-

нялися за співвідношенням осіб різної статі (P=0,294 за χ^2 -критерієм), проте середній вік першої (76,7±0,93 роки) був істотно вищим, ніж другої (P < 0,001).

Обстежених обох груп залежно від наявності факторів ризику було поділено на підгрупи за статтю, за індексом маси тіла (ІМТ) (< 25 і ≥25 кг/м²), за рівнем артеріального тиску (АТ) (нормальний і підвищений: систолічний АТ > 140 мм рт. ст., діастолічний АТ > 90 мм рт. ст.), (г) за наявністю звички куріння.

Поліморфізм C⁶⁷⁷T (rs1801133) гена MTHFR визначали за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виділенні їх за допомогою електрофорезу в 2,5%-му агарозному гелі.

Методику забору венозної крові, її зберігання, виділення ДНК, ампліфікації ділянок гена та електрофорезу рестрикційних фрагментів докладно описано в одній з попередніх наших праць [18].

Для ампліфікування ділянки 4-го екзону гена MTHFR, у якій міститься C⁶⁷⁷T-поліморфізм, використовували пару специфічних праймерів: прямий – 5' GTCATCCC TATTGGCAGGTTAC3' і зворотний – 5' CTGAGAGGAGATCTGGGAAGAA3'. Праймери було синтезовано фірмою “Metabion” (Німеччина). Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратної ПЛР буфера, 1,5 ммоль/л сульфату магнію, 200 мкмоль/л суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 15 пмоль/л кожного з праймерів і 0,75 ОД Таq-полімерази (“Ферментас”, Литва), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. ПЛР проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 («Applied Biosystems», США). Ампліфікація фрагмента гена складалася з 33 циклів: денатурація – 94°C (50 с), гібридизація праймерів – 64,5°C (45 с) і елонгація – 72°C (1 хв). Потім 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°C протягом 20 год з 3 ОД рестриктази HinfI («Thermo Scientific», США) у буфері R такого складу: 10 ммоль/л Cl (рН 8,5), 10

ммоль/л $MgCl_2$, 100 ммоль/л KCl , 0,1 мг/мл альбуміну. Наявність у 9783 позиції гена $MTHFR$ цитозину перешкоджає рестрикції, а при його заміні на тимін рестриктаза розщеплює ампліфіковану ділянку (довжина – 334 пари азотистих основ) на два фрагменти – 241 і 93 пари основ (рисунок). Ампліфікати після рестрикції розділяли в 2,5%-му агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Горизонтальний електрофорез (0,13А; 200 В) проводили протягом 25 хв. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора («Біоком», Росія).

Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS-17. При цьому достовірність відмінностей у розподілі генотипів визначали за χ^2 -критерієм. Відношення шансів розраховували методом логістичної регресії, застосовуючи уніваріантну (OR) і мультіваріантну (OR_a) моделі. Значення $P < 0,05$ вважали достовірним.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

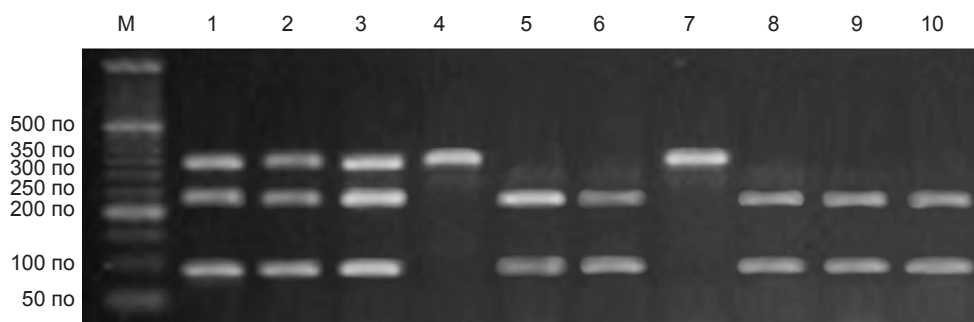
Генотипування хворих на ІАТІ та пацієнтів контрольної групи за поліморфізмом $C^{677}T$ гена $MTHFR$ дало змогу встановити частоту, з якою зустрічаються певні його варіанти, а також порівняти їх між групами загалом і відповідними підгрупами, утвореними за наявністю і відсутністю відомих факторів ризику інсульту.

У таблиці наведено частоту трьох алельних варіантів вивченого SNP у групах па-

цієнтів, що були об'єктом порівняння. Так, встановлено, що розподіл пацієнтів за генотипами $C^{677}T$ істотно відрізняється у хворих на інсульт і в контролі. У перших відсоток гомозигот за мінорним алелем (ТТ) виявився істотно вищим, натомість гетерозигот (СТ) – нижчим, ніж в осіб контрольної групи ($P = 0,044$). Ризик розвитку інсульту був у 2,2 раза вищий у гомозиготного варіантаТТ, якщо порівнювати з носіями основного алеля (СТ+СС). Проте статистична значимість цього показника зникла, якщо до аналізу долучали сукупність інших факторів ризику інсульту: стать, ІМТ, артеріальну гіпертензію і куріння.

Поділ пацієнтів за статтю показав, що відмінності в розподілі частот алельних варіантів $C^{677}T$ -поліморфізму між хворими на ІАТІ і пацієнтами контрольної групи характерні тільки для представників чоловічої статі ($P=0,011$). Що стосується ризику розвитку інсульту, то як у жінок, так і чоловіків відносно високі значення OR не були підтверджені відповідним показником статистичної значимості, так само як і в підгрупах, утворених за значенням ІМТ.

Аналіз частоти генотипів за вивченим SNP у пацієнтів з нормальним і підвищеним артеріальним тиском виявив істотні відмінності між хворими на ІАТІ та пацієнтами контрольної групи тільки серед осіб, що не мали артеріальної гіпертензії ($P=0,039$). За повної відсутності осіб з «патологічним» генотипом ТТ визначити показник OR у цій підгрупі не виявилось можливим.



Результати рестрикційного аналізу $C^{677}T$ -поліморфізму гена $MTHFR$. М – маркер молекулярної маси (по – пари нуклеїнових основ); доріжки 4, 7 відповідають С/С-генотипу; доріжки 1, 2, 3 – С/Т-генотипу; 5, 6, 8, 9, 10 – Т/Т-генотипу

Частота генотипів за поліморфізмом C ⁶⁷⁷ T гена MTHFR у хворих на ішемічний інсульт залежно від наявності різних факторів його розвитку				
Схема досліджу	Генотип			P
	CC (%)	CT (%)	TT (%)	
Загалом				
Контроль (n=124)	57 (46,0)	60 (48,4)	7 (5,6)	0,044
Інсульт (n=170)	89 (52,4)	61 (35,9)	20 (11,8)	
TT відносно CT+CC	OR = 2,229 (0,911–5,449), P _{OR} = 0,049 OR _a = 2,076 (0,838–5,146), P _{OR} = 0,115			
Стать				
Жінки				
Контроль (n=45)	27 (60,0)	16 (35,6)	2 (4,4)	0,482
Інсульт (n=72)	37 (51,4)	28 (38,9)	7 (9,7)	
TT відносно CT+CC	OR = 2,315 (0,459–11,677), P _{OR} = 0,309 OR _a = 2,202 (0,402–12,046), P _{OR} = 0,363			
Чоловіки				
Контроль (n=79)	30 (38,0)	44 (55,7)	5 (6,3)	0,011
Інсульт (n=98)	52 (53,1)	33 (33,7)	13 (13,3)	
TT відносно CT+CC	OR = 2,264 (0,771–6,648), P _{OR} = 0,137 OR _a = 2,179 (0,736–6,452), P _{OR} = 0,160			
Індекс маси тіла (ІМТ)				
ІМТ < 25кг/м ²				
Контроль (n=38)	17 (44,7)	19 (50,0)	2 (5,3)	0,276
Інсульт (n=41)	22 (53,7)	14 (34,1)	5 (12,2)	
TT відносно CT+CC	OR = 2,500 (0,455–13,735), P _{OR} = 0,292 OR _a = 2,322 (0,412–13,074), P _{OR} = 0,339			
ІМТ ≥ 25кг/м ²				
Контроль (n=85)	39 (45,9)	41 (48,2)	5 (5,9)	0,141
Інсульт (n=129)	67 (51,9)	47 (36,4)	15 (11,6)	
TT відносно CT+CC	OR = 2,105 (0,735–6,026), P _{OR} = 0,165 OR _a = 2,016 (0,694–5,860), P _{OR} = 0,198			
Артеріальний тиск				
Нормальний				
Контроль (n=48)	25 (52,1)	23 (47,9)	0	0,039
Інсульт (n=42)	22 (52,4)	15 (35,7)	5 (11,9)	
Гіпертензія				
Контроль (n=73)	30 (41,1)	36 (49,3)	7 (9,6)	0,178
Інсульт (n=128)	67 (52,3)	46 (35,9)	15 (11,7)	
TT відносно CT+CC	OR = 1,252 (0,485–3,227), P _{OR} = 0,642 OR _a = 1,360 (0,519–3,562), P _{OR} = 0,531			
Куріння				
Некурці				
Контроль (n=93)	44 (47,3)	45 (48,4)	4 (4,3)	0,029
Інсульт (n=120)	62 (51,7)	42 (35,0)	16 (13,3)	
TT відносно CT+CC	OR = 3,423 (1,104–10,614), P _{OR} = 0,033 OR _a = 2,996 (0,949–9,452), P _{OR} = 0,061			
Курці				
Контроль (n=31)	13 (41,9)	15 (48,4)	3 (9,7)	0,572
Інсульт (n=50)	27 (54,0)	19 (38,0)	4 (8,0)	
TT відносно CT+CC	OR = 0,812 (0,169–3,897), P _{OR} = 0,794 OR _a = 0,868 (0,175–4,299), P _{OR} = 0,863			

Примітка. n – кількість пацієнтів, P – вірогідність відмінностей між хворими на інсульт і контрольною групою за χ^2 -критерієм; OR – відношення шансів; OR_a – відношення шансів з урахування інших факторів ризику (статі, ІМТ, артеріального тиску, куріння), у дужках – 95%-й довірчий інтервал, P_{OR} – статистична значимість для OR

І нарешті, порівняння частоти генотипів C⁶⁷⁷T з урахуванням звички куріння показало, що тільки серед некурців гомозиготний варіант TT буває значно частіше у хворих, ніж у пацієнтів контрольної групи (13,3 щодо 4,3 %). Генотип TT у некурців збільшує ризик інсульту в 3,4 раза, якщо порівнювати з носіями основного алеля. Проте OR втрачає свою статистичну значимість, якщо до аналізу одночасно долучаються інші фактори ризику інсульту (стать, ІМТ, артеріальна гіпертензія).

Одержані результати свідчать про те, що існують істотні відмінності в розподілі генотипів за поліморфізмом C⁶⁷⁷T гена MTHFR між хворими на ІАТІ і пацієнтами контрольної групи. Ці відмінності зокрема є характерними для осіб чоловічої статі, а також пацієнтів з нормальним АТ і тих, що не мають звички куріння.

За майже 15 років у різних країнах світу одержано дані щодо впливу поліморфізмів гена MTHFR на розвиток гострих порушень мозкового кровообігу, узагальнення яких можна знайти в оглядових статтях і проведених мета-аналізах [19–24]. Основний висновок, який випливає з цих досліджень, полягає в тому, що в багатьох країнах світу виявлено зв'язок поліморфізму C⁶⁷⁷T гена MTHFR, зокрема частоти T-алеля і генотипу TT, з ризиком ішемічного інсульту різного генезу. Так, у носіїв T-алеля ризик ішемічного інсульту є високим у таких країнах, як Японія [25], Сінгапур [26], Ірак [27], Туніс [28], Іспанія [29]. Асоціація T-алеля з інсультом виявляє себе як у людей похилого віку (Японія) [30], так і в дітей (Польща) [31]. У Сінгапурі T-варіант поліморфізму гена MTHFR є фактором ризику інсульту переважно в представників жіночої статі [32].

Водночас у цілій низці праць не було доведено прямого впливу C⁶⁷⁷T-поліморфізму на розвиток ішемічних уражень головного мозку. Такі дані, зокрема, одержано в Індії [33], Туреччині [34], Марокко [35].

Зв'язок «патологічного» алеля T з ішемічним інсультом пов'язують з тим, що за-

міна цитозину на тимін у 677-й позиції гена MTHFR призводить до заміни аланіну на валін у позиції 222 поліпептидного ланцюга ферменту. Це у свою чергу стає причиною збільшення термолабільності MTHFR і зменшення внаслідок цього її ферментативної активності. Як результат, перетворення метилен-FH₄ у метил-FH₄ уповільнюється, що спричинює зменшення інтенсивності процесів реметилування гомоцистеїну і, відповідно, накопичення останнього в організмі.

Саме такий механізм впливу генетичного поліморфізму MTHFR на кровоносні судини впливає з даних багатьох праць, у яких показано асоціацію T-алеля і TT-генотипу за поліморфізмом C⁶⁷⁷T з розвитком гіпергомоцистеїнемії [26–30]. Збільшення вмісту гомоцистеїну в плазмі крові стає причиною токсичного ушкодження ендотелію судин, що в свою чергу започатковує процеси атерогенезу, а згодом і тромбоутворення на поверхні фіброзних і атероматозних бляшок. Як наслідок, розвивається інфаркт мозку.

Результати виконаних нами досліджень показують, що у представників української популяції, як і в багатьох інших, існує зв'язок між частотою генотипів за поліморфізмом C⁶⁷⁷T і розвитком ІАТІ. Цей зв'язок виявляє себе, зокрема, у пацієнтів чоловічої статі, в осіб з нормальним АТ і в людей, що не мають звички куріння. Гомозиготи за мінорним T-алелем мають більшу ймовірність розвитку ІАТІ, ніж носії основного C-алеля. Остаточне доведення останнього положення щодо української популяції вимагає збільшення кількості спостережень до рівня, який би дав можливість одержати статистично значимі результати, і долучення до аналізу таких відомих факторів ризику, як цукровий діабет, порушення ліпопротеїнового складу крові і системи гемостазу.

Роботу виконано в рамках теми наукових досліджень з держбюджетним фінансуванням «Визначення ролі поліморфізму поодиноких нуклеотидів у розвитку склеротичних уражень кровоносних судин», № 91.01.01.11-12.

**В.Ю. Гарбузова, А.В.Полоников, Д.А.Строй,
О.И. Матлай, Ю.А. Атаман, В.А. Сухарева,
А.В. Атаман**

**АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА
C⁶⁷⁷T ГЕНА N⁵, N¹⁰-МЕТИЛЕНТЕТРАГИ-
ДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ НА РАЗВИТИЕ
ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У ЛЮДЕЙ
С РАЗНЫМИ ФАКТОРАМИ ЕГО РИСКА**

Представлены результаты определения полиморфизма C⁶⁷⁷T (rs1801133) гена MTHFR у 170 больных с ишемическим атеротромботическим инсультом (ИАТИ) и 124 здоровых людей (контрольная группа). Установлено, что у больных соотношение гомозигот по основному аллелю (CC), гетерозигот (CT) и гомозигот по минорному аллелю (TT) составляет 52,4, 35,9 и 11,8% (в контроле – 46,0, 48,4, 5,6 %, P=0,044 по χ^2 -критерию). Для гомозигот TT характерна более высокая вероятность развития ИАТИ, чем для носителей основного C-аллеля (CT+CC) (OR=2,3, CI=0,911-5,449, P=0,049). У представителей украинской популяции существует связь между частотой генотипов по полиморфизму C⁶⁷⁷T гена MTHFR и риском ИАТИ. Эта связь проявляется у пациентов мужского пола, лиц с нормальным артериальным давлением и у людей, не имеющих привычки курения. Пол пациентов, индекс массы тела, значение артериального давления и курение влияют на уровень ассоциации изученного полиморфизма с инсультом.

Ключевые слова: метилентетрагидрофолатредуктаза, полиморфизм генов, ишемический инсульт

**V.Yu. Garbuzova, A.V. Polonikov, D.A. Stroy,
O.I. Matlaj, Y.A. Ataman, V.A. Sukhareva,
A.V. Ataman**

**ANALYSIS OF THE EFFECT OF N⁵, N¹⁰-
METHYLENETETRAHYDROFOLATE
REDUCTASE GENE C⁶⁷⁷T POLYMORPHISM
ON THE ISCHEMIC STROKE
DEVELOPMENT IN PERSONS WITH
VARIOUS RISK FACTORS**

The results of MTHFR gene C⁶⁷⁷T (rs1801133) polymorphism determined in 170 patients with ischemic atherothrombotic stroke (IATS) and 124 healthy subjects (control group) are presented in the paper. It has been shown that in patients with IATS, the frequencies of main homozygotes (CC), heterozygotes (CT) and minor homozygotes (TT) are 52.4, 35.9, 11.8% (in control – 46.0, 48.4, 5.6%, P=0.044 by χ^2 -test). TT homozygotes have a greater chance of developing IATS than carriers of main C-allele (CT + CC) (OR = 2.3, CI = 0.911-5.449, P = 0.049). In the representatives of the Ukrainian population there is a relationship between the frequency of MTHFR gene C⁶⁷⁷T polymorphism genotypes and the risk of IATS. This connection is manifested in male patients, in

persons with normal blood pressure, and in people who do not have the habit of smoking. The sex of the patients, body mass index, blood pressure and smoking affect the level of the studied polymorphism association with stroke.

Key words: methylenetetrahydrofolate reductase, genes polymorphism, ischemic stroke.

Sumy University, Sumy, Ukraine;

Kursk Medical University, Russia;

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, Kyiv, Ukraine

REFERENCES

1. McCully KS. Hyperhomocysteinemia and arteriosclerosis: historical perspectives. *Clin Chem Lab Med.* 2005;**43**(10):980–6.
2. Guillard JC, Favier A, Potier de Courcy G, Galan P, Herberg S. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor or a simple marker of vascular disease? *Pathol Biol (Paris).* 2003;**51**(2):101-10.
3. Tayal D, Goswami B, Koner BC, Mallika V. Role of Homocysteine and Lipoprotein (A) in atherosclerosis: An Update *Biomed Res.* 2011;**22**(4):391-05.
4. Jin L, Caldwell RB, Li-Masters T, Caldwell RW. Homocysteine induces endothelial dysfunction via inhibition of arginine transport. *J Physiol Pharmacol.* 2007;**58**(2):191-06.
5. McCully KS. Chemical pathology of homocysteine. IV. Excitotoxicity, oxidative stress, endothelial dysfunction, and inflammation. *Ann Clin Lab Sci.* 2009;**39**(3):219-32.
6. Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J. Nephrol.* 2000;**13**(1):20-33.
7. Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst P, Tran P., Chen Z, et al. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mamm Genome.* 1998;**9**(8):652-6.
8. Varga EA, Sturm AC, Misita CP, Moll S. Homocysteine and MTHFR mutations: relation to thrombosis and coronary artery disease. *Circulation.* 2005;**111**:e289-e93.
9. Leclerc D, Sibani S, Rozen R. Molecular biology of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and overview of mutations/polymorphisms. In: *Madame Curie Bioscience Database [Internet]. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000-. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6561/>.*
10. Schwahn B, Rozen R. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: clinical consequences. *Am J Pharmacogenomics.* 2001;**1**(3):189-01.
11. Chu N-F. Plasma hyperhomocysteinemia, MTHFR polymorphism and thromboembolic disease: an example of gene-nutrition interactions in chronic disease. *J Chin Med Assoc.* 2005;**68**(12):557-9.
12. Brustolin S, Giugliani R, Felix TM. Genetics of homocysteine metabolism and associated disorders. *Braz J Med Biol Res.* 2010;**43**(1):1-7.
13. Trifonova EA, Spiridonova MG, Gabidulina TV, Urnov FD, Puzyrev VP, Stepanov VA. Analysis of the MTHFR

- gene linkage disequilibrium structure and association of polymorphic gene variants with coronary atherosclerosis. *Rus J Gen.* 2012;**48**(10):1035-47.
14. Kumar A, Sagar R, Kumar P, Sahu JK, Grover A, Srivastava AK, et al. Identification of genetic contribution to ischemic stroke by screening of single nucleotide polymorphisms in stroke patients by using a case control study design. *BMC Neurology.* 2013;**13**:136-43.
 15. Alluri RV, Mohan V, Komandur S, Chawda K, Chaudhuri R, Hasan Q. MTHFR C677T gene mutation as a risk factor for arterial stroke: a hospital based study. *Eur J Neurol.* 2005;**12**(1):40-4.
 16. Sanchez-Marin B, Grasa JM. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism in ischemic vascular disease. *Rev Neurol.* 2006;**43**(10):630-6.
 17. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke.* 1993;**24**:35-41.
 18. Garbuzova VYu, Gurianova VL, Parkhomenko AN, Dosenko VE, Ataman AV. The frequency of allelic polymorphism of matrix Gla-protein gene in acute coronary syndrome patients. *Fiziol Zh.* 2011;**57**:16-24. Ukraine.
 19. Kelly PJ, Rosand J, Kistler JP, Shih VE, Silveira S, Plomaritoglou A, et al. Homocysteine, MTHFR 677C>T polymorphism, and risk of ischemic stroke: results of a meta-analysis. *Neurology.* 2002;**59**(4):529-36.
 20. Cronin S., Furie K.L., Kelly P.J. Dose-related association of MTHFR 677T allele with risk of ischemic stroke: evidence from a cumulative meta-analysis. *Stroke.* 2005;**36**(7):1581-7.
 21. Nakamizo T, Nagayama M. Stroke and the genetics of hyperhomocysteinemia. *Brain Nerve.* 2008;**60**(11):1295-306.
 22. Yu HH, Zhang WL, Shi JP. Relationship between methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism and susceptibility of ischemic stroke: a meta-analysis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2011;**91**(29):2060-4.
 23. Sarecka-Hujar B, Kopyta I, Pienckz-Reclawowicz K, Reclawowicz D, Emich-Widera E, Pilarska E. The TT genotype of methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T polymorphism increases the susceptibility to pediatric ischemic stroke: meta-analysis of the 822 cases and 1,552 controls. *Mol Biol Rep.* 2012;**39**(8):7957-63.
 24. Li P, Qin C. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphisms and susceptibility to ischemic stroke: A meta-analysis. *Gene.* 2013. Oct 16. pii: S0378-1119(13)01286-9. doi: 10.1016/j.gene.2013.09.066. [Epub ahead of print].
 25. Kawamoto R, Kohara K, Oka Y, Tomita H, Tabara Y, Miki T. An association of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism and ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2005;**14**(2):67-4.
 26. Moe KT, Woon FP, De Silva DA, Wong P, Koh TH, Kingwell B, et al. Association of acute ischemic stroke with the MTHFR C677T polymorphism but not with NOS3 gene polymorphisms in a Singapore population. *Eur J Neurol.* 2008;**15**(12):1309-14.
 27. Al-Allawi NA, Avo AS., Jubrael JM. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in Iraqi patients with ischemic stroke. *Neurol. India.* 2009;**57**(5):631-5.
 28. Fekih-Mrissa N, Mrad M, Klai S, Mansour M, Nsiri B, Gritli N, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (C677T and A1298C) polymorphisms, hyperhomocysteinemia, and ischemic stroke in Tunisian patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2013;**22**(4):465-9.
 29. Sanchez-Marin B, Grasa JM. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism in ischemic vascular disease. *Rev Neurol.* 2006;**43**(10):630-6.
 30. Morita H, Kurihara H, Tsubaki S, Sugiyama T, Hamada C, Kurihara Y, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke in Japanese. *Arterioscler Thromb Vas. Biol.* 1998;**18**(9):1465-9.
 31. Zak I, Sarecka-Hujar B, Kopyta I, Emich-Widera E, Marszal E, Wendorff J, et al. The T allele of the 677C>T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an increased risk of ischemic stroke in Polish children. *J Child Neurol.* 2009;**24**(10):1262-7.
 32. Baum L, Wong KS, Ng HK, Tomlinson B, Rainer TH, Chan DK, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene A222V polymorphism and risk of ischemic stroke. *Clin Chem Lab Med.* 2004;**42**(12):1370-6.
 33. Kalita J, Srivastava R, Bansal V, Agarwal S, Misra UK. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in Indian stroke patients. *Neurol India.* 2006;**54**(3):260-3.
 34. Sazci A, Ergul E, Tuncer N, Akpinar G, Kara I. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms are associated with ischemic and hemorrhagic stroke: Dual effect of MTHFR polymorphisms C677T and A1298C. *Brain Res Bull.* 2006;**71**(1-3):45-50.
 35. They-They TP, Battas O, Nadifi S. Synergistic effect of MTHFR C677T and F2 G20210A polymorphisms on ischemic stroke. *Neurosci Bull.* 2013. Oct 16. [Epub ahead of print].

Сум. ун-т, Суми;
Кур. мед. ун-т, Росія;
Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ
E-mail: vikgarbuzova@yandex.ru

Матеріал надійшов до
редакції 16.12.2013