

Abstract

Grek A.V.,*

Savenko I.I.,

¹⁾ Sasiuk O.S

Sumy State University,

2 Rymkogo-Korsakova St., Sumy,

40007, Ukraine

¹⁾ Sumy City Hospital

13, Victory St., Sumy, Ukraine

METHYLENTETRAHYDROFOLATE REDUCTASE GENE POLYMORPHISM C677T IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

Introduction. Cardiovascular system diseases take one of the first places in the structure of mortality and disability in the world and Ukrainian population and are the most spread diseases. In the pathogenesis of ischemic heart disease the endothelial dysfunction plays an important role, and the increased level of homocysteine is one of its etiological factor. Increase of the blood homocysteine level may be caused by genetic predisposition, in particular, C677T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR). Therefore, the purpose of this research was to compare the frequency of C677T polymorphism of MTHFR gene in the practically healthy and among patients with IHD with ACS manifestation.

Materials and methods of investigation. 161 patients with IHD and ACS manifestation, who were treated in Municipal Company of Sumy Regional Council "Sumy Regional Cardiology Clinic" from January till July 2012, were examined. Control group consist of 87 almost healthy humans. ACS had been diagnosed according to Decree №436 MPH Ukraine.

The determination of the allelic polymorphism 4th exon of MTHFR C677T gene (rs1801133) was performed by the method of chain polymerase reaction with following analysis of the restriction fragments lengths.

Visualization of DNA after electrophoresis was made using transilluminator ("Biokom" Russia), in the scientific laboratory of molecular genetic studies at the Sumy State University. Statistic analysis was performed using the programme SPSS – 17. The reliability of differences determined by χ^2 – Pearson criterion. The value $P < 0,05$ was considered possible.

Discussion. The frequency of C/C, C/T and T/T genotype by C677T polymorphism of MTHFR gene among almost healthy humans was: 47,1 %, 42,5 %, 10,4 %, and in patients with ACS 52,7 %, 35,3 %, 12 % respectively. Absence of the statistic differences in the distribution of genotype depending on sex was proved. Investigation of the distribution of genotypes by C677T polymorphism of MTHFR gene depending on age surveyed, showed, that in groups of patients of young, middle and elderly ages the statistically reliable difference is absent ($P=0,554, P=0,876, P=0,320$ respectively).

Availability of statistically reliable difference was found in control group and senile age patients with ACS ($P=0,041$). The association of T/T gene by investigated polymorphism with severe course ACS was detected.

Thereby, distribution of genotypes polymorphism of MTHFR gene statistically did not differ in control group and in patients with ACS but was associated with the severity of its course.

Keywords: coronary artery disease, acute coronary syndrome gene polymorphism, methylentetrahydrofolate reductase.

Corresponding author: * kubul@mail.ru

Резюме

Грек А. В.,*

Савенко І. І.,

¹⁾ Сасюк О. С.

Сумський державний університет

Римського–Корсакова, 2, Суми, Україна, 40007

¹⁾ КУ СМКЛ № 1

20р. Перемоги, 13, Суми, Україна

С677Т ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА МЕТИЛЕНТЕТРАГІДРО-ФОЛАТРЕДУКТАЗИ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ КОРОНАРНИЙ СИНДРОМ

Захворювання серцево–судинної системи займають провідне місце в структурі смертності та інвалідизації населення світу та України. У патогенезі ішемічної хвороби серця важливу роль відіграють порушення функції ендотелію, а підвищення гомоцистеїну є основним етіологічним чинником. Збільшення рівня гомоцистеїну крові може бути зумовлене генетичною схильністю, зокрема, С677Т поліморфізмом гена метилентетрагідролатредуктази (МТГФР). Тому метою дослідження було порівняльне вивчення частоти С677Т поліморфізму гена МТГФР у практично здорових та у хворих на ІХС з проявами ГКС.

Обстежено 161 хворих на ІХС з проявами ГКС. Контрольну групу склали 87 практично здорових осіб. ГКС було діагностовано згідно Наказу № 436 МОЗ України (2006р.). Визначення алейного поліморфізму 4–го екзону гена МТГФР С677Т (rs1801133) проводили методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів. Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS – 17.

Частота генотипів С/С, С/Т і Т/Т за С677Т поліморфізмом гена МТГФР серед практично здорових осіб була: 47,1 %, 42,5 %, 10,4 %, а у хворих на ГКС – 52,7 %, 35,3 %, 12 % відповідно ($P = 0,544$). Встановлено також відсутність статистичної відмінності у розподілі генотипів залежно від статі. Дослідження розподілу генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТГФР залежно від віку обстежених продемонструвало, що у групах хворих молодого, середнього та похилого віку відсутня статистично значима різниця ($P_1 = 0,554$; $P_2 = 0,876$; $P_3 = 0,320$ відповідно). Наявність статистично значимої різниці виявлено у групі контролю та хворих на ГКС старечого віку ($P_4 = 0,041$). Виявлено асоціацію Т/Т генотипу за досліджуваним поліморфізмом із тяжким перебігом ГКС.

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, гострий коронарний синдром, поліморфізм гена, метилентетрагідролатредуктаза.

Резюме

Грек А.В.,*

Савенко І.І.,

¹⁾ Сасюк А.С.Сумської державний
університетРимського-Корсакова, 2, Сумы,
Україна, 40007

1) КУ СМКБ № 1

20р. Перемоги, 13, Сумы, Україна

**С677Т ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРО-
ФОЛАТРЕДУКТАЗИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ КОРОНАР-
НЫМ СИНДРОМОМ**

Заболевания сердечно-сосудистой системы занимают ведущее место в структуре смертности и инвалидизации населения мира и Украины. В патогенезе ишемической болезни сердца важную роль играют нарушения функции эндотелия, а повышение гомоцистеина является основным этиологическим фактором. Увеличение уровня гомоцистеина крови может быть обусловлено генетической предрасположенностью, в частности, С677Т полиморфизмом гена метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР). Поэтому целью исследования было сравнительное изучение частоты С677Т полиморфизма гена МТГФР у практически здоровых и у больных ИБС с проявлениями ОКС.

Обследовано 161 больных ИБС с проявлениями ОКС. Контрольную группу составили 87 практически здоровых лиц. ОКС был диагностирован согласно Приказу № 436 МЗ Украины (2006г.). Определение аллельного полиморфизма 4-го экзона гена МТГФР С677Т (rs1801133) проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом длины рестрикционных фрагментов. Статистический анализ проводили с использованием программы SPSS – 17.

Частота генотипов С/С, С/Т и Т/Т по С677Т полиморфизму гена МТГФР среди практически здоровых лиц была: 47,1 %, 42,5 %, 10,4 %, а у больных с ОКС – 52,7%, 35,3%, 12% соответственно ($P = 0,544$). Установлено также отсутствие статистической разницы в распределении генотипов в зависимости от пола. Исследование распределения генотипов по С677Т полиморфизму гена МТГФР в зависимости от возраста обследованных продемонстрировало, что в группах больных молодого, среднего и пожилого возраста отсутствует статистически значимая разница ($P_1 = 0,554$, $P_2 = 0,876$, $P_3 = 0,320$ соответственно). Наличие статистически значимой разницы обнаружено в группе контроля и больных ОКС старческого возраста ($P_4 = 0,041$). Выявлено ассоциацию Т/Т генотипа по исследуемым полиморфизмам с тяжелым течением ГКС.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, острый коронарный синдром, полиморфизм гена, метилентетрагидрофолатредуктаза.

Автор, відповідальний за листування: * kubul@mail.ru

Вступ. Серцево-судинні захворювання (ССЗ) є основною причиною смертності населення у світі та Україні [1, 2, 3]. У структурі смертності ССЗ становлять понад 80% у країнах з низьким та середнім соціальним рівнем. За прогнозами ВООЗ ССЗ залишаться основною причиною смерті та до 2030 року рівень смертності від них збільшиться до 23,3 млн в рік [1, 4]. Ішемічна хвороба серця (ІХС) серед ССЗ

займає лідируючі позиції за летальністю та втратою працездатності.

У патогенезі ІХС порушення функції ендотелію відіграє важливу роль, а підвищення гомоцистеїну є одним із основних етіологічних чинників [5, 6, 7, 8]. Серед чинників, які впливають на рівень гомоцистеїну плазми крові, важливе значення має генетична схильність, зокрема – мутація гена метилентетрагидрофолатредуктази (МТГФР) [9]. Відомо біля 700 однок-

леотидних поліморфізмів гена МТГФР, з яких близько 20 призводять до порушень функції ферменту [10].

Найбільш вивченим поліморфізмом гена МТГФР є С677Т, у якому нуклеотид цитозин (С) у 677-й позиції, який відноситься до 4-го екзону, замінений на тимідин (Т), що призводить до заміни амінокислотного залишку аланіну на валін в ділянці зв'язування з ко-фактором флавін-аденін-динуклеотиду. Частота гомозигот за Т алелем у європейців становить 10–12%, а гетерозигот – близько 40%. У цілому його частота у населення нашої планети змінюється від повної відсутності в деяких у індонезійців до 55% в іспанців [12, 13]. *In vitro* встановлено, що за наявності С677Т поліморфізма гена МТГФР у гомозигот за алелем Т відбувається зниження активності МТГФР на 30%, а у гетерозигот – на 65% [11]. Особи, які є гетерозиготами за алелем 677Т та 1298С (677СТ/1298АС генотип), мали зниження активності ферменту на 40–50% [14]. Встановлено також асоціацію між С677Т поліморфізмом гена МТГФР та ІХС у європейського населення та відсутність даного зв'язку в північно-американській популяції [15].

Метою нашого дослідження було вивчення клінічного перебігу гострого коронарного синдрому (ГКС) залежно від С677Т поліморфізму гена МТГФР.

Матеріал та методи дослідження. Обстежено 161 хворих на ІХС з проявами ГКС, які проходили лікування в Комунальному закладі Сумської обласної ради «Сумський обласний кардіологічний диспансер» із січня по липень 2012 року. Хворі були поділені на 4 групи за тяжкістю клінічного перебігу ГКС: I групу склали 28 хворих на ГКС із елевацією сегменту ST та неускладненим перебігом; II – 24 із елевацією сегменту ST та ускладненим перебігом; III – 55 без елевації сегменту ST та неускладненим перебігом; IV – 54 – без елевації сегменту ST та ускладненим перебігом. Контрольну групу склали 87 практично здорових осіб.

ГКС було діагностовано згідно Наказу № 436 МОЗ України (2006р.).

Визначення алельного поліморфізму 4-го екзону гена МТГФР С677Т (rs1801133) проводили методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора ("Біоком", Росія) в науковій лабораторії молекулярно – генетичних досліджень медичного інституту Сумського державного університету (рис. 1).

Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS – 17. При цьому вірогідність відмінностей визначили за χ^2 – критерієм Пірсона. Значення $P < 0,05$ вважали вірогідним.

Результати дослідження та їх обговорення.

Частоту трьох можливих варіантів генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТГФР, а також перевірку відповідності розподілу основного та мінорного алелів рівновазі Харді–Вайнберга подано в табл. 1. Як видно з наведених даних, розподіл генотипів та алелів у контролі та у групі хворих на ГКС немає статистично вірогідних відхилень від очікуваних за генетично-популяційним законом величин ($p > 0,05$). Встановлено, що частота генотипів С/С, С/Т і Т/Т за С677Т поліморфізмом гена МТГФР серед практично здорових осіб становила: 47,1 %, 42,5 %, 10,4 % відповідно, а у хворих на ГКС – 52,7 %, 35,3 % та 12 % відповідно (рис. 2). Встановлено відсутність статистично значимої відмінності у розподілі генотипів за С677Т поліморфізм генів МТГФР у контролі та у хворих на ГКС за χ^2 – критерієм Пірсона ($P = 0,544$). Отримані нами дані співзвучні із результатами українських вчених. Так, у дослідженні Гречанінової Ю.Б. (2012) в українській популяції частота генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТГФР становила 52,26 %, 40,70 % та 7,04 % [16], а у Гарбузової В.Ю. – 46,0 %, 48,4 % і 5,6 % відповідно [17]. У дослідженні E. González-Pérez et al. (2002) в іспанській популяції частота Т/Т генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТГФР складала 14,9 % [18], а у нашому – 12 % серед хворих на ГКС та 10,4 % в контрольній групі. Отже дані нашого дослідження стосовно розподілу генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТГФР у хворих на ГКС та практично здорових осіб співпадають з даними європейських дослідників.

Аналіз розподілу генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТГФР залежно від статі показав, що гомозиготи за основним алелем С серед жінок контрольної групи та хворих на ГКС зустрічались з однаковою частотою. Гетерозиготи серед жінок контрольної групи зустрічались в 1,6 разів частіше, ніж у хворих на ГКС, а гомозиготи за мінорним алелем Т серед жінок контролю зустрічались у 2,2 рази рідше порівняно з групою хворих на ГКС. Частота гомозигот за основним алелем С та гетерозигот серед чоловіків контрольної групи та хворих на ГКС не відрізнялася. Гомозиготи за мінорним алелем Т виявлялися з однаковою частотою у чоловіків

контрольної групи та хворих на ГКС. Таким чином, аналіз розподілу генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТГФР серед обстежених

різної статі практично здорових осіб та хворих на ГКС показав відсутність статистично значимого зв'язку ($P > 0,05$) (табл. 2).

Таблиця 1

Частота генотипів та алелів за С677Т поліморфізмом гена метилентетрагідрофолатредуктази				
Генотипи	Хворі на ГКС		Контрольна група	
	n	%	n	%
Гомозиготи С/С	79	52,7	41	47,1
Гетерозиготи С/Т	53	35,3	37	42,5
Гомозиготи Т/Т	18	12	9	10,4
С – алель	0,7		0,68	
Т – алель	0,3		0,32	
	$\chi^2 = 3,53$		$\chi^2 = 0,02$	
	$P > 0,05$		$P = 0,05$	

Примітка. n – кількість пацієнтів; χ^2 і P відображають відхилення від рівноваги Харді–Вайнберга

Таблиця 2

Частота генотипів за С677Т поліморфізмом гена метилентетрагідрофолатредуктази у хворих на гострий коронарний синдром та практично здорових осіб залежно від статі

Стать	Групи порівняння	Генотипи						P
		С/С		С/Т		Т/Т		
		n	%	n	%	n	%	
Жінки	Хворі на ГКС	13	50	7	26,9	6	23,1	0,242
	Контрольна група	23	47,9	20	41,7	5	10,4	
Чоловіки	Хворі на ГКС	66	53,2	46	37,1	12	9,7	0,733
	Контрольна група	18	46,2	17	43,6	4	10,3	

Таблиця 3

Розподіл генотипів за С677Т поліморфізмом гена метилентетрагідрофолатредуктази залежно від віку

Вік	Генотип МТГФР	Практично здорові		Хворі на ГКС		P
		n	%	n	%	
молодий	С/С	17	65,4	9	56,3	0,554
	С/Т	9	34,6	7	43,7	
середній	С/С	13	48,1	37	51,4	0,876
	С/Т	10	37,0	27	37,5	
	Т/Т	4	14,8	8	11,1	
похилий	С/С	10	33,3	25	48,1	0,320
	С/Т	16	53,3	19	36,5	
	Т/Т	4	13,3	8	15,4	
старечий	С/С	1	25,0	8	80,0	0,041
	С/Т	2	50,0	0	0	
	Т/Т	1	25,0	2	20,0	

Таблиця 4

Частота генотипів за С677Т поліморфізмом гена метилентетрагідрофолатредуктази залежно від клінічного перебігу гострого коронарного синдрому

Групи порівняння	Генотип					
	С/С		С/Т		Т/Т	
	n	%	n	%	n	%
I	10	12,7	7	13,2	4	22,2
II	6	7,6	7	13,2	9	50
III	29	36,7	24	45,3	2	11,1
IV	34	43	15	28,3	3	16,7

χ^2 Пірсона = 27,265; P < 0,001

Рис. 1.

Результати рестрикційного аналізу С677Т поліморфізму гена МТНFR. 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

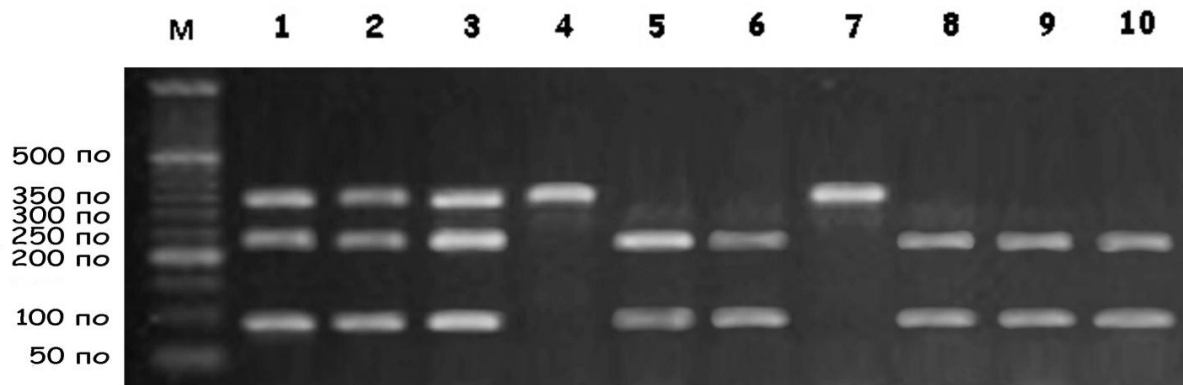
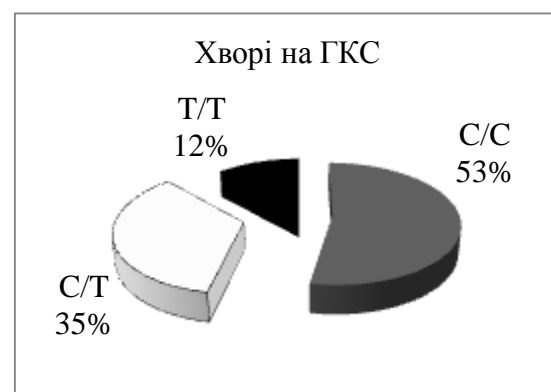
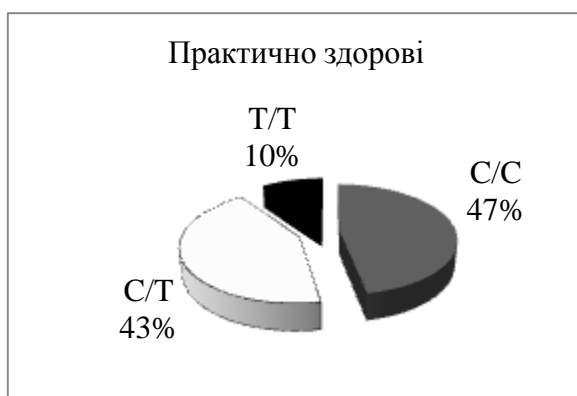


Рис. 2

Частота генотипів за С677Т поліморфізмом гена метилентетрагідрофолатредуктази.



Дослідження розподілу генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR залежно від віку обстежених продемонструвало, що у групах хворих молодого, середнього та похилого віку відсутня статистично значима різниця (P = 0,554; P = 0,876; P = 0,320 відповідно) (табл. 3).

Наявність статистично значимої різниці виявлено у групі контролю та хворих на ГКС старечого віку (P = 0,041). У хворих на ГКС старечого віку частота гомозигот за основним алелем С в 3,2 рази перевищує таку у контролі, гетерозиготи відсутні, а гомозиготи за мінорним алелем Т

зустрічаються з однаковою частотою. Превалювання кількості гомозигот за основним алелем С у хворих на ГКС старечого віку, ймовірно, зумовлене вищою летальністю осіб, які є гомозиготами Т/Т.

Розподіл генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТГФР залежно від тяжкості клінічного перебігу ГКС представлена у табл. 4. Частота генотипів С/С, С/Т та Т/Т за С677Т поліморфізмом гена МТГФР у І групі становила 47,6 %, 33,3 % та 19 %, у II – 27,3 %, 31,8 % та 40,9 %, у III – 52,7 %, 43,6 % та 3,6 %, у IV – 65,4 %, 28,8 % та 5,8 % відповідно. Найвищу частоту гомозигот за мінорним алелем Т виявлено у хворих II групи, яка у 2,3 рази перевищувала таку в I групі, в 4,5 разів – у III, у 3 рази – у IV. Існує статистично вірогідна відмінність розподілу генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТГФР у хворих на ГКС залежно від тяжкості клінічного перебігу ($P < 0,001$), особи із генотипом Т/Т мали більш тяжкий перебіг ГКС.

У нашому дослідженні 50 % хворих із Т/Т генотипом за С677Т поліморфізмом гена МТГФР відносились до групи з ГКС із елевацією сегменту ST та ускладненим перебігом. Ці результати співзвучні з даними інших дослідників, які встановили чіткий зв'язок С677Т поліморфізму з артеріальним тромбозом та розвитком гострих судинних уражень, ризик розвитку якого особливо зростає у гомозигот за алелем Т, та впливав на перебіг ГКС. Це доводить асоціацію Т/Т генотипу за С677Т поліморфізму гена МТГФР із тяжким перебігом ГКС. Отримані нами результати співзвучні із даними інших дослідників, які довели асоціацію генотипу Т/Т за С677Т поліморфізмом гена МТГФР із захворюваннями коронарних артерій та тяжкістю їх перебігу [19], із ризиком розвитку внутрішньосудинного тромбозу [20], та те, що поліморфізм гена МТГФР в поєднанні з іншими факторами підвищує ризик розвитку гострого інфаркту міокарда [21].

Висновки

1. Розподіл генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТГФР серед хворих на ГКС та практично здорових осіб статистично не відрізнявся.
2. Частота генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТГФР не пов'язана із статтю у контролі та у хворих на ГКС.
3. Встановлена вірогідна відмінність у розподілі генотипів за С677Т поліморфізмом ге-

на МТГФР у хворих старечого віку, проте не виявлено вірогідної відмінності у хворих молодого, середнього та похилого віку. Виявлено асоціацію Т/Т генотипу за досліджуваним поліморфізмом із тяжким перебігом ГКС.

References (список літератури)

1. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva, World Health Organization, 2011. Retrieved from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
2. Gorbash IM, Barna OM, Sakalosh VY, Bakumenko MA. [Estimated prevalence and control of risk factors for cardiovascular disease in the population and physicians]. *Liky Ukrainy*. 2010;(1):24–26.
3. Gaydaev YO, Kornatchkyi VM. [Health problems and directions of its improvement in modern conditions]. *Ukr. Kardiolog. J.* 2007;(5):7.
4. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*, 2006;3(11):442.
5. Austin RC, Lentz SR, Werstuck GH. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death Differ*. 2004;11(1):56–64.
6. Klimenko MO, Ataman YO. [Atherosclerosis as inflammation]. *Eksper. i klin. medycyna*. 2007;(4):3–11.
7. McCully KS. Chemical pathology of homocysteine. IV. Excitotoxicity, oxidative stress, endothelial dysfunction, and inflammation. *Ann Clin Lab Sci*. 2009;39(3):219–232.
8. Dwivedi MK, Tripathi AK, Shukla S, Khan S, Chauhan UK. Homocysteine and cardiovascular disease. *Biotechnology and Molecular Biology Review*. 2011;5(5):101–107.
9. Fetisova IN, Lipin MA, Polyakov AV. [Polymorphisms in genes of folate metabolism and human diseases]. *Vestnik novykh medicinskih tehnologiy*. 2007;10(1):7–12.
10. Trifonova EA, Spiridonova MG, Stepanov VA. [Genetic diversity and linkage disequilibrium at the locus of the methylenetetrahydrofolate]. *Genetika*. 2008;44(10):1410–1419.
11. Bailey LB, Gregory JF. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. *J Nutr*. 1999;129(5):919–22.

12. Pepe G, Vanegas OC, Giusti B. Heterogeneity in world distribution of the thermolabile C677T mutation in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet.* 1998;63(3):917–920.
13. Sadewa AH, Sunarti, Retno S. The C677T Mutation in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene among the Indonesian Javanese Population. *Kobe J. Med. Sci.* 2002;48(4):137–144.
14. Weisberg I, Tran P, Christensen B. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol. Genet. Metab.* 1998;(64):169–172.
15. Klerk M, Verhoef P, Clarke R. MTHFR Studies Collaboration Group. MTHFR 677C→T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA.* 2002;288(16):2023–2031.
16. Grechanina YuB. *Vyvchennya vplyvu polimorfizmiv mtDNK ta polimorfnyh variantiv geniv C677T MTHFR, A66G MTRR na klinichni proyavy mitohondrialnyh dysfunkciy* [Study the effect of mtDNA polymorphisms and polymorphic variants of genes C677T MTHFR, A66G MTRR clinical manifestations of mitochondrial dysfunction]. Odesa: 2012. 48p.
17. Garbuzova VYu, Sukhareva VA, Ataman AV. [The frequency of methylenetetrahydrofolatereductase gene C677T single nucleotide polymorphism in individuals of different sex]. *Journal of Clinical and experimental medical research.* 2013;1(4):385–389.
18. González-Pérez E, Via M, López-Alomar A. Lack of association between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and ischaemic heart disease (IHD): family-based association study in a Spanish population. *Clin Genet.* 2002;62(3):235–239.
19. Morita H, Taguchi J, Kurihara H. Genetic polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) as a risk factor for coronary artery disease. *Circulation.* 1997;95:2032–2036.
20. Keijzer MB, den Heijer M, Blom HJ, Bos GM, Willems HP, Gerrits WB, Rosendaal FR. Interaction between hyperhomocysteinemia, mutated methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) and inherited thrombophilic factors in recurrent venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 2002;88(5):723–728.
21. Fekih-Mrissa N., Berredjeb-Benslama D., Haggui A., Haouala H., Gritlia N. Combination of factor V Leiden and MTHFR mutations in myocardial infarction. *Ann Saudi Med.* 2013; 33(2):192–193.

(received 23.08.2014, published online 23.12.2014)

(отримано 23.08.2014, опубліковано 23.12.2014)

