

Abstract

Matlay O.I.*, Garbuzova V.Yu.
Sumy State University,
2, Rymkogo-Korsakova St., Sumy,
40007, Ukraine

SEX PECULIARITIES OF ALLELIC VARIANTS DISTRIBUTION OF N⁵,N¹⁰-METHYLENTETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR) GENE BY A1298C POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH ATHEROTHROMBOTIC ISCHEMIC STROKE

Introduction. Every year statistics notes the increasing morbidity and mortality as the result of cardiovascular diseases such as stroke and myocardial infarction in the first line. Stroke depends on age, sex, region of residence, and varies from 150 - 200 cases per 100 000 of population. The most common cause of vascular brain thromboembolic lesions is Atherothrombosis - generalized and progressing process that depends on the evolution of atherosclerotic changes in vessels. Principally the important role in the pathogenesis of atherosclerosis and its complications plays endothelial dysfunction. One of the causes of chronic endothelial damage may be negative effects of excess homocysteine. The key enzymes that affect the homocysteine level is N⁵,N¹⁰-methylentetrahydrofolate reductase (MTHFR), that encodes a gene MTHFR. One of clinically relevant polymorphisms MTHFR gene is A1298C (Glu429Ala, rs1801131). As the result of mutations a variant of the enzyme with a thermal stability threshold 55 ° C is produced, which has twice reduced activity.

Purpose. To analyse the communication polymorphism A1298C MTHFR gene with atherothrombotic ischemic stroke in two sexes of Ukrainian population.

Materials and Methods.

For analysis venous blood of 170 patients with atherothrombotic ischemic stroke (42,4 % women and 57,6 % men) aged 40 to 85 years (minimal - 64,7 ± 0,73 years) who were on the records in the outpatient department Sumy clinical Hospital № 5 was used. The control group consisted of 124 patients (36,3 % women and 63,7 % men), average age was 76,7 ± 0,93 years. The groups did not differ in the ratio of two sexes (P = 0,294 for the χ^2 -test), but the average age of the first group (76,7 ± 0,93 years) was significantly higher than that of the second one (P < 0,001). A1298C polymorphism was determined by polymerase chain reaction, followed by restriction fragment length analysis. The results have been statistically worked on by using the new Excel 2000. Statistical significance of differences was determined by χ^2 and t-test. Pathogenetic variant of stroke was determined according to the criteria TOAST. Ischemic stroke character was determined with the help of history and clinical information of the disease given by CT brain study.

Results. Genotyping of patients with atherothrombotic ischemic stroke and the comparison of the data with the results of restriction analysis in the control group made it possible to reveal that patients with atherothrombotic ischemic stroke ratio of homozygotes for the major allele (A/A), heterozygotes (A/C) and homozygotes for the

minor allele (C/C) is 42,3 %, 37,1 % and 20,6 %, while in the control group - respectively 46,0 %, 44,3 %, 9,7 %. The differences in the distribution of the frequency of these genotypes between the group of patients with atherothrombotic ischemic stroke and control groups were statistically true ($P = 0,039$). The Ratio of options of the same polymorphism in women and men with atherothrombotic ischemic stroke and without this disease showed the following - Women had the distribution – A/A - 47,0%, A/C - 36,8%, C/C - 18,0% (in the control group, respectively 46,7 %, 40,0 %, 13,3 %; $P = 0,744$, respectively among men – 38,8 %, 38,8 %, 22,4 % (45,6 %, 46,8 %, 7,6 %; $P = 0,027$).

Conclusion. So, in Ukraine, namely in the Sumy region, in men, the carrier C/C variant of the MTHFR gene polymorphism A1298C on the studied risk of atherothrombotic ischemic stroke is 3.5 times higher than the media A/A variant.

Key words: metilentetrahydrofolatreductase (MTHFR), allelic polymorphism, ischemic stroke, sex.

Corresponding author: * olga.matlay@gmail.com

Резюме

Матлай О.І., Гарбузова В.Ю.

Сумський державний

університет,

вул. Римського-Корсакова, 2,

Суми, 40007, Україна

СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ АЛЕЛЬНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНА N⁵,N¹⁰-МЕТИЛЕНТЕТРАГІДРОФОЛАТРЕДУКТАЗИ (MTHFR) ЗА A1298C ПОЛІМОРФІЗМОМ У ПАЦІЄНТІВ З ІШЕМІЧНИМ АТЕРОТРОМБОТИЧНИМ ІНСУЛЬТОМ

Представлено результати визначення A1298C (rs1801131) поліморфізму гена метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) у 170 хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом (ІАТІ) та 124 індивідуумів без цієї патології (контрольна група). Встановлено, що у хворих з ІАТІ співвідношення гомозигот за основним алелем (A/A), гетерозигот (A/C) і гомозигот за мінорним алелем (C/C) складає 42,3 %, 37,1 % і 20,6% (у контрольній групі – відповідно 46,0 %, 44,3 %, 9,7 %, $P = 0,039$ за χ^2 -критерієм). Чоловіки, носії C/C- варіанту гена MTHFR за вивченим поліморфізмом мають у 3,5 ($P = 0,016$, OR = 3,474) рази більший ризик розвитку ІАТІ, ніж носії A/A варіанту.

Ключові слова: метилентетрагідрофолатредуктаза (MTHFR), алельний поліморфізм, ішемічний інсульт, стать.

Резюме

Матлай О.І. *, Гарбузова В.Ю.

Сумський державний

університет,

вул. Римського-Корсакова, 2,

Суми, 40007, Україна

ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА N⁵,N¹⁰-МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ (MTHFR) ПО A1298C ПОЛИМОРФИЗМУ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМ АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Представлены результаты определения A1298C (rs1801131) полиморфизма гена метилентетрагідрофолатредуктазы (MTHFR) у 170 больных с ишемическим атеротромботическим инсультом (ИАТИ) и 124 индивидуумов без этой патологии (контрольная группа). Установлено, что у больных с ИАТИ соотношение гомозигот по основному алелю (A/A), гетерозигот (A/C) и гомозигот по мінорному алелю (C/C) составляет 42,3 %, 37,1 % и



20,6% (в контрольній групі - відповідно 46,0 %, 44,3 %, 9,7 %, $P = 0,039$ по χ^2 -критерію). У чоловіків, носіїв С/С- варіанта гена MTHFR по вивченню поліморфізму ризик розвитку ІАТІ в 3,5 вище рази, ніж носії А/А варіанта ($P = 0,016$, $OR = 3,474$).

Ключеві слова: метилентетрагідролатредуктаза (MTHFR), алельний поліморфізм, ішемічний інсульт, пол.

Автор, відповідальний за листування: * olga.matlay@gmail.com

Вступ

Цереброваскулярна патологія є однією з найбільш складних медико-соціальних проблем, що завдає в теперішній час великих економічних витрат. Різні аспекти цієї проблеми інтенсивно вивчаються неврологами, нейрохірургами, патофізіологами, генетиками практично в усіх розвинутих країнах світу [1; 2].

Дані епідеміологічних досліджень свідчать, що атеросклеротичні ураження стінки кровоносних судин є морфологічною основою більшості серцево-судинних захворювань (в тому числі й інсультів). На сьогодні атеросклероз розглядається як багатофакторний процес, ініціація розвитку та прогресування якого визначається складним характером взаємодії різноманітних показників довкілля, традиційних факторів ризику (вік, стать, расова приналежність) із численними генетичними чинниками. [3;4]. У патогенезі ішемічного ураження головного мозку порушення функції ендотелію відіграє важливу роль, а підвищення гомоцистеїну є одним із основних етіологічних чинників [5;6;7;8]. Серед численних факторів, які впливають на рівень гомоцистеїну плазми крові, чільне місце посідає генетична складова, а саме однонуклеотидні поліморфізми гена метилентетрагідролатредуктази (MTHFR) [9]. Відомо біля 700 SNP гена MTHFR, з яких близько 20 призводять до порушень функції ферменту [10].

Одним із таких поліморфізмів, який розташований в 7 екзоні, є заміна аденіну на цитозин у позиції 1298, що призводить до заміни глютамінової кислоти на аланін у молекулі білка (поліморфізм A1298C, Glu429Ala, rs1801131). Виявлено, що у носіїв генотипу С/С активність ферменту становить близько 50% у порівнянні з носіями генотипу А/А [11; 12; 13; 14; 15].

Роботу виконано в рамках науково-дослідної теми "Роль поліморфізму генів у розвитку патологічних станів і хвороб", № 0114U006297.

Мета дослідження - вивчити асоціацію алельного поліморфізму гена MTHFR, A1298C (rs 1801131), з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) в осіб різної статі.

Об'єкт і методи дослідження.

Для аналізу використано венозну кров 170 хворих з ІАТІ (42,4 % жінок і 57,6 % чоловіків) віком від 40 до 85 років (середній вік – $64,7 \pm 0,73$ роки), що перебували на диспансерному обліку в поліклінічному відділенні Сумської клінічної лікарні № 5. Контрольна група складалася зі 124 пацієнтів (36,3 % жінок і 63,7 % чоловіків), середній вік склав $76,7 \pm 0,93$ роки. Ці групи не відрізнялися за співвідношенням осіб різної статі ($P = 0,294$ за χ^2 -критерієм), проте середній вік першої ($76,7 \pm 0,93$ роки) був істотно вищим, ніж другої ($P < 0,001$).

Дослідження проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964, з подальшими доповненнями, включаючи версію 2000) та Наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 р. Всі пацієнти підписали інформовану згоду на участь у дослідженнях з наступним забором венозної крові на генетичний аналіз.

Патогенетичний варіант інсульту визначали відповідно до критеріїв TOAST [16], на підставі анамнестичних даних і особливостей клінічного перебігу хвороби, даних ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови, ЕКГ. Ішемічний характер інсульту встановлювався за даними анамнезу і клінічної картини хвороби, даних комп'ютерної томографії головного мозку. У групі контролю відсутність серцево-судинної патології підтверджували шляхом збирання анамнестичних даних, зняття електрокардіограми і вимірювання артеріального тиску.

Визначення A1298C (rs 1801131) поліморфізму гена MTHFR проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виділенні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі.

Для генотипування венозну кров набирали в стерильних умовах в моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сілью етилендіамінтетраоцтової кис-



лоти ("Sarstedt", Німеччина), що слугувала антікоагулянтом. Кров заморожували і зберігали при температурі – 20 °С. ДНК з неї виділяли, використовуючи набори "Изоген" (Росія). Ампліфікацію ділянки гена, що містить сайт A1298C поліморфізму, проводили за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) – 5' GCAAGTCCCCCAAGGAGG 3' і зворотного (antisense) – 5' GGGTCCCCACTCCAGCATC 3'. Праймери було синтезовано фірмою "Metabion" (Німеччина). Для ампліфікації брали 50-100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буферу, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 рМ кожного з праймерів і 1,0 ОД Taq-полімерази ("Thermo Scientific", США), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США). Ампліфікація фрагмента, що містив поліморфну ділянку, що вивчалася, складалася з 30 циклів: денатурація – 94 °С (50 с), гібридизація праймерів – 64,5 °С (45 с) і елонгація – 72 °С (1 хв). Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°С протягом 20 годин з 3 ОД рестриктази MboII ("Thermo Scientific", США) у буфері В такого складу: 10 мМ тріс-НСІ (рН 7,5), 10 мМ MgCl₂, 0,1 мг/мл альбумину. Ампліфікат складався з 145 пар нуклеотидів (п.н.). Генотип AA ідентифікувався на

електрофореграмі фрагментами - 29, 37, 79 п.н., генотип АС- 29, 37, 79, 108 п.н., СС = 37, 108 п.н.

Ампліфікати вивченого фрагмента гена MTHFR після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Горизонтальний електрофорез (0,13А; 200V) проводили протягом 20 хв. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора ("Біоком", Росія).

Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS-17. При цьому достовірність відмінностей визначали за χ^2 -критерієм. Значення $P < 0,05$ вважали достовірним.

Результати досліджень та їх обговорення.

У результаті генотипування хворих з ІАТІ та пацієнтів контрольної групи за A1298C поліморфізмом гена MTHFR вивчено частоту, з якою зустрічаються окремі варіанти цього гена, у групах загалом і за статтю. Встановлено, що у хворих на ІАТІ співвідношення гомозигот за основним алелем (А/А), гетерозигот (А/С) і гомозигот за мінорним алелем (С/С) складає 42,3 %, 37,1% і 20,6 %, а в контрольній групі – відповідно 46,0 %, 44,3 %, 9,7 %. Відмінності в розподілі частот зазначених генотипів між групою хворих на ІАТІ та контрольною групою були статистично достовірними ($P = 0,039$) (рис. 1).

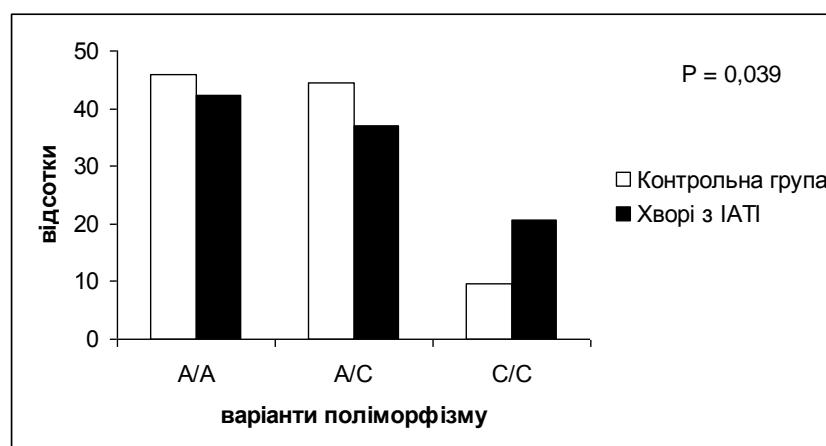


Рис. 1. Частота алельних варіантів гена MTHFR за поліморфізмом A1298C у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом (чорні стовпчики) і в контрольній групі (білі стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Цей висновок був підтверджений і методом логістичної регресії: у гомозигот за мінорним алелем ризик інсульту в 2,3 рази більший

($P = 0,027$, OR = 2,309), ніж у гомозигот за основним алелем (табл. 1).

Таблиця 1

Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
A/C	0,098	0,256	0,146	0,702	0,907	0,549	1,497
C/C	0,837	0,379	4,886	0,027	2,309	1,099	4,849

Примітка: порівняння проводилося відносно гомозигот за основним алелем (A/A);
CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда;
P – статистична значимість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал

Розподіл частот алельних варіантів поліморфізму A1298C за статтю у досліджуваних пацієнтів наведено в таблиці 2. У жінок хворих на ІАТІ співвідношення гомозигот за основним алелем (A/A), гетерозигот (A/C) і гомозигот за мінорним алелем (C/C) складало 47,0 %, 36,8% і

18,0 %, а в контрольній групі – відповідно 46,7 %, 40,0 %, 13,3 % (P = 0,744). У чоловіків розподіл мав відповідно такий вигляд: дослідна група -38,8 %, 38,8 % і 22,4 %, контрольна група - 45,6 %, 46,8 %, 7,6 % (P = 0,027).

Таблиця 2

Вплив A1298C поліморфізму гена МТНFR на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) в осіб жіночої і чоловічої статі

Генотип	Жінки		Чоловіки	
	Контроль	Інсульт	Контроль	Інсульт
A/A	21(46,7%)	34(47,0%)	36(45,6%)	38(38,8%)
A/C	18(40,0%)	25(36,8%)	37(46,8%)	38 (38,8%)
C/C	6(13,3%)	13(18,0%)	6(7,6%)	22(22,4%)
Разом	45(100%)	72(100%)	79(100%)	98(100%)
P	0,744		0,027	

Примітка: подано частоту генотипу в абсолютних одиницях і відсотках. P – статистична значимість відмінностей між порівнюваними групами за χ^2 -критерієм.

Таким чином, не існує достовірної різниці у розподілі генотипів серед хворих на ІАТІ та практично здорових осіб жіночої статі. Проте, співвідношення варіантів генотипу за A1298C поліморфізмом у осіб чоловічої статі достовірно відрізнялося у групах порівняння. Ці висновки

підтвердились при застосуванні методу логістичної регресії (табл. 3). У чоловіків – гомозигот за мінорним алелем (C/C) ризик розвитку ІАТІ в 3,5 рази більший, ніж у носіїв генотипу A/A.

Таблиця 3

Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за A1298C поліморфізмом гена МТНFR у осіб чоловічої статі

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
A/C	0,027	0,328	0,007	0,933	0,973	0,512	1,850
C/C	1,245	0,516	5,824	0,016	3,474	1,264	9,549

Примітка: порівняння проводилося відносно гомозигот за основним алелем (A/A);
CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда;
P – статистична значимість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал

У таблиці 4 представлено дані генотипування за A1298C поліморфізмом у жінок і чоловіків – окремо у хворих з ІАТІ і у пацієнтів без даної

патології. Одержані результати свідчать про відсутність статистично значимих відмінностей у розподілі генотипів серед осіб жіночої і чолові-



чої статі у контрольній групі пацієнтів ($P = 0,526$), так у хворих на ІАТІ ($P = 0,529$).

Таблиця 4

Частота генотипів за А1298С поліморфізмом гена МТНFR у жінок і чоловіків у контрольній групі і в хворих з ішемічним інсультом

Генотип	Контроль		Інсульти	
	Жінки	Чоловіки	Жінки	Чоловіки
A/A	21(46,7%)	30(38,0%)	34(47,0%)	38(41,8%)
A/C	18(40,0%)	44(55,7%)	25(36,8%)	38(38,8%)
C/C	6(13,3%)	5(6,3%)	13(18,1%)	22(22,4%)
Разом	45(100%)	79(100%)	72(100%)	98(100%)
P	0,526		0,529	

Примітка: подано частоту генотипу в абсолютних одиницях і відсотках. P – статистична значимість відмінностей між порівнюваними групами за χ^2 -критерієм.

Аналіз частоти ішемічних інсультів у жінок і чоловіків з різними варіантами генотипу за А1298С поліморфізмом також не виявив наяв-

ності статистично значимих відмінностей ($P > 0,05$) (табл. 5).

Таблиця 5

Частота ішемічних інсультів у жінок і чоловіків з різними варіантами генотипу за А1298С поліморфізмом гена МТНFR

	A/A		A/C		C/C	
	Інсульти (-)	Інсульти (+)	Інсульти (-)	Інсульти (+)	Інсульти (-)	Інсульти (+)
Жінки	21 (36,8%)	34 (47,2%)	18 (32,7%)	25 (39,7%)	6 (50,0%)	13 (37,1%)
Чоловіки	36 (52,6%)	38 (52,8%)	37 (67,3%)	38 (60,3%)	6 (50,0%)	22 (62,9%)
Разом	57	72	55	63	12	35
P	0,236		0,434		0,434	

Примітка: подано частоту генотипу в абсолютних одиницях і відсотках. P – статистична значимість відмінностей між порівнюваними групами за χ^2 -критерієм.

Одним із провідних механізмів розвитку ендотеліальної дисфункції є зростання концентрації гомоцистеїну в плазмі крові. Результати досліджень деяких вчених демонструють, що А1298С поліморфізм впливає на рівень гомоцистеїну в плазмі у поєднанні з іншим поліморфізмом - С677Т [17; 18]. Проте, інші дослідники виявили, що такий вплив може бути й самостійним. Китайські вчені, вивчаючи асоціацію А1298С поліморфізму гена МТНFR з розвитком інсульту (ішемічного та геморагічного), виявили наступне. Представники країн Азії, носії С/С генотипу, більш схильні до розвитку ішемічного інсульту [14]. У 2014 році Shan Kang et al. провели мета аналіз (13 досліджень) для оцінки

зв'язку А1298С гена МТНFR та ішемічного інсульту у представників Європи та Азії. Значні асоціації було виявлено в азіатів [15]. У результаті вивчення впливу А1298С поліморфізму на ризик розвитку інсульту дорослих на основі 15 досліджень, було виявлено зв'язок даного поліморфізму з порушеннями мозкового кровотоку у дорослого населення в азіатській популяції [11].

Таким чином, у виконаній роботі вперше проаналізовано асоціацію А1298С поліморфізму гена МТНFR з ішемічним атеротромботичним інсультом і виявлено зв'язок досліджуваного генетичного чинника з розвитком ІАТІ в осіб чоловічої статі в українській популяції.



Висновки

Існує зв'язок між поліморфізмом A1298C гена MTHFR і розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту в осіб чоловічої статі. Чолові-

ки - носії C/C генотипу мають у 3,5 рази більший ризик розвитку ІАТІ, ніж носії А/А варіанту.

References (список літератури)

- Gorbas I.M., Barna O.M., Sakalosh V.Y., Bakumenko M.A. [Estimated prevalence and control of risk factors for cardiovascular disease in the population and physicians]. *Liky Ukrainy*. 2010;(1):24–26.
- Gaydaev YO, Kornatchkyi VM. [Health problems and directions of its improvement in modern conditions]. *Ukr. Kardiol. J.* 2007;(5):7)
- Малыгина Н. А., Костомарова И. В.; Водолагина Н. Н. и др. Гены атеросклероза и сердечно-сосудистые заболевания. *Клинич. Медицина*. 2011; 894 (3): 14–18.
- Arking D. E. Chakravarti A. Understanding cardiovascular disease through the lens of genome-wide association studies. *Trends Genet.* 2009;(25); 387–394.
- Bhatt D.L., Steg P.G., Ohman E.M. et al. International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. *JAMA*. 2006;295 (2):180-9.
- Austin R.C., Lentz S.R., Werstuck G.H. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death Differ.* 2004;11(1):56–64.
- McCully K.S. Chemical pathology of homocysteine. IV. Excitotoxicity, oxidative stress, endothelial dysfunction, and inflammation. *Ann Clin Lab Sci.* 2009;39(3):219–232.
- Dwivedi M.K., Tripathi A.K., Shukla S., Khan S., Chauhan U.K. Homocysteine and cardiovascular disease. *Biotechnology and Molecular Biology Review.* 2011;5(5):101–107.
- Fetisova IN, Lipin MA, Polyakov AV. [Polymorphisms in genes of folate metabolism and human diseases]. *Vestnik novykh medicinskih tehnologiy.* 2007;10(1):7–12.
- Trifonova E.A., Spiridonova M.G., Stepanov V.A. [Genetic diversity and linkage disequilibrium at the locus of the methylenetetrahydrofolate]. *Genetika.* 2008;44(10):1410–1419.
- Zhang M.J., Hu Z.C., Yin Y.W., Li B.H., Liu Y., Liao S.Q., Gao C.Y., Li J.C., Zhang L.L. A Meta-Analysis of the Relationship between MTHFR Gene A1298C Polymorphism and the Risk of Adult Stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2014;38(6):425-32. doi: 10.1159/000369122.
- Zhou B.S., Bu G.Y., Li M., Chang B.G., Zhou Y.P. Tagging SNPs in the MTHFR gene and risk of ischemic stroke in a Chinese population. *Int J Mol Sci.* 2014 May 20;15(5):8931-40. doi: 10.3390/ijms15058931.
- Shan Kang, Yili Wu, Lingling Liu, Xinxin Zhao, Dongfeng Zhang. Association of the A1298C polymorphism in MTHFR gene with ischemic stroke. Department of Public Health, Qingdao University Medical College, 38 Dengzhou Road, Qingdao 266021, China Received: August 22, 2012; Accepted: April 1, 2013.
- Lv Q., Lu J., Wu W., Sun H., Association of the methylenetetrahydrofolate reductase gene A1298C polymorphism with stroke risk based on a meta-analysis. *Zhang Genet Mol Res.* 2013;19;12(4):6882-94. doi: 10.4238/2013.December.19.7.
- Kang S., Wu Y., Liu L., Zhao X., Zhang D. Association of the A1298C polymorphism in MTHFR gene with ischemic stroke. *J Clin Neurosci.* 2014 Feb;21(2):198-202. doi: 10.1016/j.jocn.2013.04.017. Epub 2013 Oct 13.
- Adams H.P., Bendixen B.H., Kappelle L.J. 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.
- Aruna Poduri, Debabrata Mukherjee, Kamal Sud, Harbir Singh Kohli, Vinay Sakhuja, Madhu Khullar 2008 MTHFR A1298C polymorphism is associated with cardiovascular risk in end stage renal disease in North Indians. *Journal: Molecular and Cellular Biochemistry.* 2008; 308(1): 43-50.
- Almawi W.Y., Khan A., Al-Othman S.S., Bakht M. Case-control Study of methylenetetrahydrofolate reductase mutations and hyperhomocysteinemia and risk of stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2009;18(5):407-8. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2008.12.003.

(received 10.12.2014, published online 30.06.2015)

(отримано 10.12.2015, опубліковано 30.06.2015)

