



УДК 612.354:616.36-002-08:575.113.2

Abstract**Orlovskiy V.F.,
Kuchma N.G.****Sumy State University,
2, Rymskogo-Korsakova st.,
Sumy, 40007, Ukraine***INFLUENCE OF C677T POLYMORPHISM OF METHYLENE-TETRAHYDROFOLATE REDUCTASE GENE AT THE PLASMA HOMOCYSTEINE LEVEL IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE AND WAYS OF ITS CORRECTION**

Introduction and Purpose. The purpose of the research was explore the plasma homocysteine levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease, possibility of its correction of vitamin B12 and folic acid dependent on C677T polymorphism gene methylenetetrahydrofolate reductase. Nonalcoholic fatty liver disease combined with diabetes mellitus 2 type, hypertension, dyslipidemia and obesity, they are the main components of the metabolic syndrome. That is predictive of cardiovascular diseases that impact and duration and quality of life.

Materials and Methods. In a study of 53 patients participated with nonalcoholic fatty liver disease and 47 patients in the combination of diabetes mellitus 2 type. The control group included 40 healthy individuals. Patients administered vitamin B12 and folic acid under the scheme during the month and of plasma homocysteine levels were determined before and after the treatment.

Results. The results of the study show that patient with minor allele T (C/T and T/T) before treatment of plasma homocysteine level was significantly higher than in major allele homozygous for (C/C) in patients in both groups. In patients with comorbid pathology of this index was higher compared to isolated nonalcoholic fatty liver disease. After treatment received plasma homocysteine decrease in all studied groups of patients. In patients of both groups, homozygotes for the minor allele T (T/T) after treatment homocysteine is not decreased significantly as compared with the other genotypes (C/C and C/T). Consistent to earlier research the study supported the hypothesis that low MTHFR enzyme activity in these patients is not compensated by receiving folic acid and vitamin B12 in sufficient quantity. Therefore, patients with genotype T/T for C677T polymorphism of the gene MTHFR for correction hyperhomocysteinemia need additional doses drugs.

Conclusion. Involving to treat vitamin B12 and folic acid significantly reduced plasma homocysteine levels in patients with non alcoholic fatty liver disease. However, in patients minor allele T carriers effect of this treatment on the hyperhomocysteinemia was not significant, which prevented reach target levels of homocysteine in these patients.

Keywords: methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), allelic polymorphism, homocysteine, nonalcoholic fatty liver disease, treatment of hyperhomocysteinemia.

Corresponding author: *KuchmaNG@gmail.com

Резюме

Орловський В.Ф.,
Кучма Н.Г.*

Сумський державний
університет,
вул. Римського-Корсакова, 2,
Суми, 40007, Україна

ВПЛИВ С677Т ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ МЕТИЛЕНТЕТРАГІДРАФОЛАТРЕДУКТАЗИ НА ВМІСТ ГОМОЦИСТЕЇНУ ПЛАЗМИ КРОВІ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ ТА ШЛЯХ ЙОГО КОРЕКЦІЇ

Мета дослідження – вивчити вміст гомоцистеїну плазми крові та можливості його корекції вітаміном В₁₂ та фолієвою кислотою у пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки залежно від С677Т поліморфізму гену метилентетрагідратредуктази (*MTHFR*). У дослідженні приймали участь 53 пацієнти з ізольованим перебігом неалкогольної жирової хвороби печінки та 47 пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з цукровим діабетом 2 типу. Групу контролю склали 40 практично здорових осіб. Пацієнтам призначали вітамін В₁₂ та фолієву кислоту за схемою протягом місяця, вміст гомоцистеїну плазми крові визначали до та після отриманого лікування. В ході дослідження встановили, що у пацієнтів обох груп гомозиготних за мінорним Т-алелем гену *MTHFR* вміст гомоцистеїну плазми крові був вищим порівняно з іншими алельними поліморфізмами (С/С та С/Т). У пацієнтів з коморбідною патологією цей показник був вищий порівняно з ізольованим перебігом НАЖХП. Після лікування вміст гомоцистеїну плазми крові знизився у всіх досліджуваних пацієнтів, проте у пацієнтів з Т/Т генотипом за С677Т поліморфізмом *MTHFR* не досяг референтних значень.

Ключові слова: метилентетрагідратредуктаза (*MTHFR*), алельний поліморфізм, гомоцистеїн, неалкогольна жирова хвороба печінки, лікування гіпергомоцистеїнемії

Резюме

Орловский В.Ф.,
Кучма Н.Г.²

Сумский государственный
университет,
ул. Римского-Корсакова, 2,
Сумы, 40007, Украина

ВЛИЯНИЕ С677Т ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРАФОЛАТРЕДУКТАЗЫ НА СОДЕРЖАНИЕ/КОНЦЕНТРАЦИЮ ГОМОЦИСТЕИНА ПЛАЗМЫ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ И ПУТИ ЕГО КОРРЕКЦИИ

Цель исследования – изучить содержание гомоцистеина плазмы крови и возможности его коррекции витамином В₁₂ и фолиевой кислотой у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени в зависимости от С677Т полиморфизма гена метилентетрагидратредуктазы (*MTHFR*). В исследовании принимали участие 53 пациента с изолированной неалкогольной жировой болезнью печени и 47 пациентов с сочетанием неалкогольной жировой болезни печени и сахарного диабета 2 типа. Группу контроля составляли 40 практически здоровых индивидуумов. Пациентам назначали витамин В₁₂ и фолиевую кислоту по схеме на протяжении месяца, содержание гомоцистеина плазмы крови определяли до и после лечения. В результате исследования установили, что у пациентов обеих групп, гомозигот по минорному Т-аллелю гена *MTHFR*, содержание гомоцистеина плазмы крови было выше по сравнению с другими алельными полиморфизмами (С/С и С/Т). У пациентов с коморбидной патологией этот показатель был выше по сравнению

с изолированным течением неалкогольной жировой болезни печени. После лечение содержание гомоцистеина плазмы крови стало ниже у всех исследуемых пациентов, но у пациентов с Т/Т генотипом по С677Т полиморфизму *MTHFR* не достигло референтных значений.

Ключевые слова: метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR), аллельный полиморфизм, гомоцистеин, неалкогольная жировая болезнь печени, лечение гипергомоцистеинемии.

Автор, відповідальний за листування: *KuchmaNG@gmail.com

Вступ

З кожним роком захворюваність на неалкогольну жирову хворобу печінки (НАЖХП) зростає. Найчастіше НАЖХП поєднується з цукровим діабетом (ЦД) 2 типу, разом з артеріальною гіпертензією, дисліпідемією та ожирінням, вони є основними складовими метаболічного синдрому. Це є предиктором серцево-судинних хвороб, які впливають на тривалість та якість життя [1]. Сучасна різноманітність теорій накопичення жиру в гепатоцитах до кінця не може пояснити всі патоморфологічні зміни, які відбуваються в печінці. Одним із факторів, що провокують розвиток патологічних процесів в організмі та в печінці зокрема є гомоцистеїн, який разом з метаболітами підвищує перекисне окислення ліпідів мембран клітин, сприяє утворенню вільних радикалів, змінюючи гомеостаз та активуючи запальні процеси в печінці. Високі концентрації гомоцистеїну призводять до підвищеного синтезу і засвоєння триацилгліцеридів та холестерину, що зумовлює жирову інфільтрацію печінки [2,3].

Причини, що призводять до порушення метаболізму гомоцистеїну різноманітні. За даними дослідників до 2/3 всіх випадків гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) пов'язано з абсолютною чи відносною недостатністю вітамінів В₆ та В₁₂, а між вмістом фолієвої кислоти у сироватці крові та концентрацією гомоцистеїну встановлено чіткий зв'язок, крім того вона має найбільший ефект в зниженні його концентрації, при відсутності суттєвого гіповітамінозу вітамінів групи В [4,5]. У чисельних дослідженнях висвітлена ефективність вітамініотерапії при лікуванні ГГЦ. За результатами метаналізу 12 рандомізованих плацебо-контрольованих досліджень, що включали 1112 пацієнтів, прийом фолієвої кислоти в дозах 0,5-5 мг на добу знижував концентрацію гомоцистеїну на 25 %, а при додаванні до цієї терапії вітаміну В₁₂ відбувалося зниження його вмісту ще на 7 %. За даними цих досліджень

прийом піридоксину (В₆) в середньодобовій дозі 17 мг не впливав на зниження гомоцистеїну в плазмі крові [6]. У нещодавніх дослідженнях показана ефективність вітамінів В₆ та В₁₂ для корекції високого рівня гомоцистеїну крові при різних патологічних станах, при чому кращий ефект такого лікування відмічений у пацієнтів старшої вікової групи [7,8]. У більшості випадків основною причиною недостатності вітамінів групи В є захворювання гепато-біліарної системи, шлунку та всього шлунково-кишкового тракту. У таких випадках надають перевагу парентеральному вітамінному забезпеченню хворих. На основі мета-аналізу рандомізованих контрольованих досліджень Yu X. та співавтори зробили висновок, що фолієва кислота в дозі 5 мг на добу протягом чотирьох тижнів достовірно покращує функцію ендотелію, знижує концентрацію гомоцистеїну та зменшує інтенсивність перекисного окиснення ліпідів. Пацієнти, які приймали фолієву кислоту та вітамін В₁₂ від 9 до 24 місяців, мали стабільне зниження ГГЦ та покращення міокардіальної мікроциркуляції [9].

Іншою частою причиною недостатності метаболізму гомоцистеїну є порушення функцій ферментів, які беруть участь в фолатному обміні, перетворюючи гомоцистеїн в метіонін. Основним ферментом фолатного циклу є метилентетрагідрофолатредуктаза (MTHFR). Ген *MTHFR* локалізується в 1-ій хромосомі [10]. На сьогодні відомо понад 2000 поодиноких однонуклеотидних поліморфізмів гена *MTHFR*. Проте найбільше практичне значення має С677Т поліморфізм у 4 екзоні (rs 1801133), при якому азотиста основа цитозин заміщена на тимін (у 9783-й позиції гена *MTHFR*, 677 – позиція нуклеотиду в мРНК), що призводить до заміни аланіну на валін у 222-му положенні молекули білка [11].

Метою нашого дослідження було визначити вміст гомоцистеїну плазми крові та можливості його корекції вітаміном В₁₂ та фолієвою кисло-



тою у пацієнтів із НАЖХП залежно від С677Т поліморфізму гену *MTHFR*.

Матеріали та методи. Було обстежено 100 пацієнтів із НАЖХП. Хворих розподілено на дві групи: I група – 53 пацієнти з ізольованою НАЖХП, II група – 47 пацієнтів із поєднанням НАЖХП та ЦД 2 типу. Фолієву кислоту 5 мг/добу у вигляді таблеток та вітамін В₁₂ (ціанокобаламін) 1 мг/добу (у вигляді комплексного препарату, який також містив тіаміну гідрохлорид – 100 мг) призначали пацієнтам внутрішньом'язево 1 раз на добу – 2 тижні, наступні 2 тижні – 3 рази на тиждень [12]. Контрольну групу склали 40 практично здорових осіб.

Для дослідження використовували венозну кров. Визначення гомоцистеїну здійснювали імуноферментним методом з використанням аналізаторів «IMMULITE ONE, DPA» (США) і наборів реактивів «IMMULITE 1000 Homocysteine». Визначення алельного поліморфізму проводили шляхом полімеразної ланцюгової реакції з детекцією результатів гібридаційно-флуоресцентним методом в режимі ре-

ального часу. Для виділення ДНК використовували комплект реагентів ДНК ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА та ПРОБА-РАПІД-ГЕНЕТИКА (ООО «НПО ДНК-Технология», Росія). На подальших етапах дослідження проводили ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro*, використовуючи олігонуклеотидні праймери, ендонуклеази рестрикції та термостабільну Taq-полімеразу (ООО «НПО ДНК-Технология», Росія).

Результати та їх обговорення.

Частота трьох можливих поліморфізмів гену *MTHFR* (С/С, С/Т та Т/Т) в основній та контрольній групах представлена в таблиці 1. Розподіл генотипів та алелів у контролі та у групі хворих з НАЖХП немає статистично вірогідних відхилень від очікуваних за генетично-популяційним законом величин ($p > 0,05$). Порівнюючи розподіл генотипів за С677Т поліморфізмом гену *MTHFR* у практично здорових осіб та у хворих на НАЖХП встановили відсутність статистично значимої відмінності за χ^2 -критерієм Пірсона ($p = 0,912$).

Таблиця 1

Частота генотипів та алелів за С677Т поліморфізмом гену *MTHFR*

Групи Генотипи	Хворі на НАЖХП		Контрольна група	
	п	%	п	%
Гомозиготи С/С	46	46	20	50
Гетерозиготи С/Т	38	38	14	35
Гомозиготи Т/Т	16	16	6	12
С-алель	0,65		0,68	
Т-алель	0,35		0,32	
	$p > 0,05 \chi^2=2,72$		$p > 0,05 \chi^2=1,64$	

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

Аналіз розподілу генотипів за досліджуваним С677Т поліморфізмом гену *MTHFR* залежно від статі (рис 1) продемонстрував, що не існує достовірної відмінності у розподілі генотипів за вивченим поліморфізмом між хворими на НАЖХП і контролем як серед осіб жіночої статі, так і серед пацієнтів чоловічої статі. Не встановлено достовірної різниці між генотипами С/С, С/Т та Т/Т у чоловіків та жінок, хворих на НАЖХП ($p=0,583$). Отримані нами дані співзвучні з даними інших дослідників про те, що розподіл за С677Т поліморфізмом гену *MTHFR* не має гендерної залежності [11,13]. Вміст гомоцистеїну плазми крові у пацієнтів із НАЖХП в залежності від генотипу за С677Т поліморфізмом гену *MTHFR* представлений в таблиці 2. У носіїв мінорного Т-алеля (С/Т і Т/Т) до лікуван-

ня концентрація гомоцистеїну плазми крові була достовірно вища, ніж у гомозигот за основним С-алелем (С/С) у пацієнтів обох груп. Отримані дані дозволяють зазначити асоціацію вмісту гомоцистеїну із носійством мінорного Т-алеля за С677Т поліморфізмом гену *MTHFR*, а пацієнти, які є носіями цього алелю схильні до ГГЦ в більшій мірі, порівняно з гомозиготами за основним С-алелем.

Після проведеного лікування вміст гомоцистеїну плазми крові знизився у всіх досліджуваних групах пацієнтів. У осіб I групи із різними варіантами генотипів (С/С, С/Т і Т/Т) за досліджуваним поліморфізмом показник гомоцистеїну після лікування становив $9,7 \pm 1,26$ мкмоль/л, $12,6 \pm 1,41$ мкмоль/л та $17,2 \pm 0,39$ мкмоль/л відповідно, що є достовірно нижчим, ніж до приз-



начення терапії. У пацієнтів II групи після отриманого курсу лікування вміст гомоцистеїну також достовірно знизився, так у носіїв С/С генотипу ця величина складала $12,7 \pm 0,80$

мкмоль/л, у гетерозигот С/Т – $15,9 \pm 1,48$ мкмоль/л, у гомозигот за мінорним Т-алелем – $24,0 \pm 0,93$ мкмоль/л.

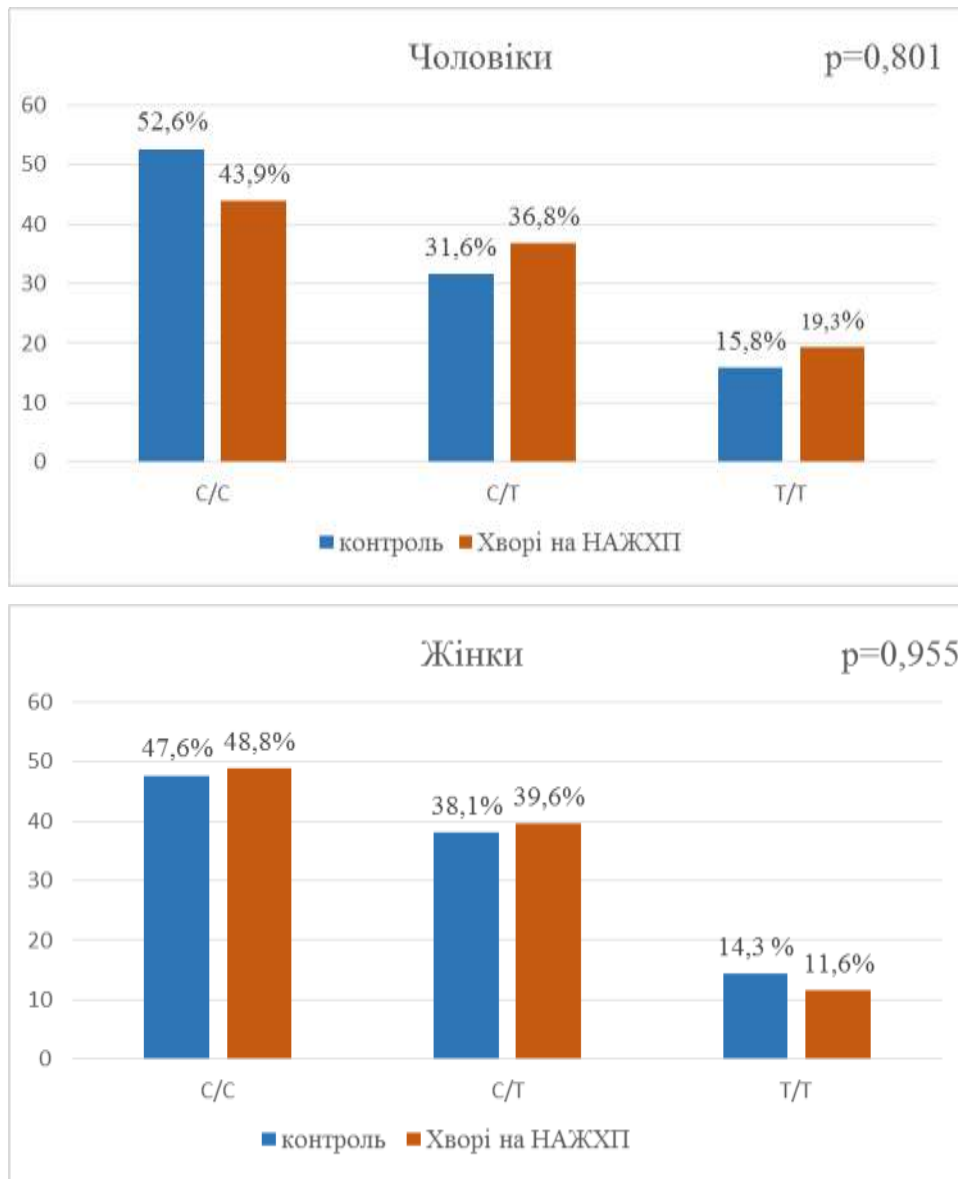


Рисунок 1. Частота генотипів за С677Т поліморфізмом гену *MTHFR* у хворих на НАЖХП та практично здорових осіб залежно від статі.

Примітка: *p* – статистична значимість відмінності показників за χ^2 -критерієм.

Після отриманої терапії у пацієнтів I групи з ізольованою НАЖХП з С/С генотипом вміст гомоцистеїну знизився на 29,7 % порівняно з вихідним рівнем, з С/Т та Т/Т генотипами на 30,7 % та 13,0 % відповідно. Аналогічна ситуація спостерігалась і у пацієнтів II групи, з поєднанням НАЖХП та ЦД 2 типу, у гомозигот за основним алелем С вміст гомоцистеїну після вітамінотерапії впав на 29,4 %, у гетерозигот на 26,7 %, тоді як у гомозигот Т/Т лише на 7,3%

відповідно. Показники гомоцистеїну пацієнтів обох груп, гомозиготних за мінорним алелем Т, не досягли цільового вмісту гомоцистеїну (референтні значення 12 – 15 мкмоль/л). Ми припускаємо, що низька активність ферменту *MTHFR* у цих хворих не компенсується введенням фолієвої кислоти та вітаміну В₁₂ у достатній кількості. Таким чином, пацієнти з Т/Т генотипом для корекції ГГЦ потребують додаткових впливів та доз препаратів.



Механізм дії на ГГЦ препаратів, що вивчалися, нами вбачався в тому, що утилізація гомоцистеїну з організму відбувається шляхом реме-

тилювання його до метіоніну або транссульфування з утворенням цистеїну.

Таблиця 2
Вміст гомоцистеїну плазми крові у пацієнтів досліджуваних груп залежно від варіантів генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR

Групи хворих	Показник	С/С	С/Т	Т/Т	p	
I	Гомоцистеїн мкмоль/л	До лікування	13,8±1,08	18,2±1,26	19,9±0,04	p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ = 0,007
		Після лікування	9,7±1,26	12,6±1,41	17,2±0,39	p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
		p*	< 0,001	< 0,001	< 0,001	
II	Гомоцистеїн мкмоль/л	До лікування	18,0±0,33	21,7±2,95	25,9±0,97	p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
		Після лікування	12,7±0,80	15,9±1,48	24,0±0,93	p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
		p*	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

Примітка: p* – вірогідність відмінностей показників до та після лікування I та II груп; p₁ – вірогідність відмінності показників у хворих із С/С та С/Т поліморфізмами, p₂ – вірогідність відмінності показників у хворих із С/С та Т/Т поліморфізмами, p₃ – вірогідність відмінності показників у хворих із С/Т та Т/Т поліморфізмами.

Механізм реметилювання забезпечується 5-метилтетрагідрофолатом (N5 -СН3-ТГФК) при участі метилкобаламіну – кофермента вітаміну В₁₂. N5-СН3-ТГФК — коферментна форма фолієвої кислоти, яка разом із метилкобаламіном бере участь у внутрішньоклітинному утворенні метіоніну. В умовах недостатності В₁₂ та фолієвої кислоти гомоцистеїн, при каталітичній участі вітаміну В₆, через стадію утворення проміжного продукту цистатіоніну, необоротно трансформується в цистеїн [6]. При дефіциті вищевказаних вітамінів гомоцистеїн елімінується в міжклітинний простір та кров, провокуючи патологічні зміни в організмі. Коли пацієнт починає отримувати достатню кількість фолієвої кислоти та кофакторів вітамінів, гомоцистеїн включається в реакції реметилювання, з утворенням метіоніну, при умові нормальної активності МТНFR. У осіб з С/Т генотипом гена МТНFR активність ферменту знижена на 35 %, а при Т/Т генотипі це зниження може сягати 70%.

Отримані нами дані співзвучні з даними інших досліджень щодо вивчення методів корекції ГГЦ. Більшість авторів відзначають знижен-

ня рівня гомоцистеїну плазми крові при застосуванні вітамінів В₆ В₁₂ та фолієвої кислоти у пацієнтів з різними патологічними станами [6,7,14]. Так, Smulders у своїх дослідженнях запропонував корекцію ГГЦ високими дозами вітамінів у пацієнтів з ранніми проявами судинних уражень [8]. Robinson DJ та спів. продемонстрували позитивний вплив В₁₂ та фолієвої кислоти на зниження концентрації гомоцистеїну [15]. Проте деякі автори ставлять під сумнів лікувальний та профілактичний вплив фолієвої кислоти та вітамінів групи В на зниження ГГЦ та пов'язаних з нею патологічних ефектів [16]. В літературі порівняно мало досліджень присвячених лікуванню ГГЦ у пацієнтів з НАЖХП, тому дане питання потребує подальшого вивчення.

Отримані нами дані відкривають перспективи подальших досліджень ролі гомоцистеїну в патогенезі НАЖХП та вивчення терапевтичного впливу вітамінів на зміни концентрації гомоцистеїну в плазмі крові залежно від С667Т поліморфізму гену МТНFR

Висновки

1. Розподіл генотипів за С677Т поліморфізмом гену МТНFR не відрізнявся серед хворих на ізольовану НАЖХП та при її поєднанні з ЦД

2 і порівняно зі здоровими пацієнтами не залежав від статі хворих.

2. У пацієнтів обох груп носіїв мінорного алелю (С/Т і Т/Т) рівень гіпергомоцистеїнемії



достовірно вищий, ніж у гомозигот за основним алелем С/С.

3. Залучення до лікування ГГЦ вітаміну В₁₂ та фолієвої кислоти достовірно знижує вміст гомоцистеїну плазми крові як у пацієнтів із ізольованою НАЖХП, так і у хворих із поєднанням

НАЖХП та ЦД 2 типу. Однак у пацієнтів носіїв мінорного алелю Т вплив призначеного лікування на ГГЦ був не значним, що не дозволило досягнути цільових значень гомоцистеїну у цих пацієнтів.

References (список літератури)

1. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt E, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The Diagnosis and Management of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Am J Gastroenterol.* 2012;107:811 – 826. Retrieved from: http://gi.org/wp-content/uploads/2013/12/ACG-AASLD_AGA_Guideline_NAFLD_June_2012.pdf
2. Leach NV, Dronca E, Vesa SC, Sampelea DP, Craciun EC. Serum homocysteine levels, oxidative stress and cardiovascular risk in non-alcoholic. *European Journal of internal medicine.* 2014;25(8):762 – 767.
3. Fetisova IN, Lipin MA, Polyakov AV. [Folate metabolism gene polymorphism and human disease]. *Herald of new medical technologies.* 2007;10(1):7 – 12.
4. Van der Gaag MS, Ubbink JB, Sillanaukee P, Nikkari S, Hendriks HF. Effect of consumption of red wine, spirits and beer on serum homocysteine. *Lancet.* 2000;29:355 – 522.
5. Franco Brochado MJ, Domenici FA, Martinelli C, Zucoloto S, Carvalho SF, Vannucchi H. Methylenetetrahydrofolate Reductase gene polymorphism and serum homocysteine levels in nonalcoholic fatty liver disease. *Nutrition and metabolism.* 2013;63(3):193 – 199.
6. Zappacosta B, Mastroiacovo P, Persichilli S, Pouni G, Ruggeri S, Minucci A, Carnovale E, Andria G. Homocysteine lowering by folate-rich diet or pharmacological supplementations in subjects with moderate hyperhomocysteinemia. *Nutrients.* 2013;5:1531 – 1543.
7. Ciaccio M, Bellia C. Hyperhomocysteinemia and cardiovascular risk: effect of vitamin supplementation in risk reduction. *Curr Clin Pharmacol.* 2010;5(1):30 – 36.
8. Smulders YM, den Heijer M, Blom HJ. Homocysteine levels: measure or not? *Ned Tijdschr Geneesk.* 2013;157(44):62 – 65.
9. Yi X, Zhou Y, Jiang D, Li X, Guo Y, Jiang X. Efficacy of folic acid supplementation on endothelial function and plasma homocysteine concentration in coronary artery disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Exp Ther Med* – 2014;7(5):1100 – 1110.
10. Kasapoglu B, Turkay C, Yalcin KS, Kosar A, Bozkurt A. MTHFR 677C/T and 1298A/C mutations and non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical Medicine.* 2015;15:243 – 251.
11. Garbuzova VYu, Sukhareva VA, Ataman AV. [The frequency of methylenetetrahydrofolatereductase gene C677T single nucleotide polymorphism in individuals of different sex]. *J. Clin. Eex. Med. Res.* 2013;1(4):385 – 389. Retrieved from:<http://www.clinmed.rcpjjournal.org/content/15/3/248.full.pdf+html>
12. Description for drug Neyrobion (p-r d / etc. amp. 3 ml, number 3). *Compendium.* Retrieved from:http://compendium.com.ua/info/172249/takeda/nejrobion-rastvor-dlja-in_ekstij
13. Milovanova GO, Czudzevych BO, Slyvchuk YuI. [The level of homocysteine and changes in lipid metabolism in diabetes mellitus type 2, is associated with coronary heart disease]. *Animal biology.* 2010;12(2):297 – 230.
14. Vertkin AL, Topolyanskiy AV. [The problem of hyperhomocysteinemia in cardiac patients]. *Farmateka.* 2007;15:10 – 14.
15. Robinson DJ, O'Lunaigh C, Tehee E, O'Connell H, Hamilton F, Chin AV, Coen R, Molloy A M, Scott J, Lawlor BA, Cunningham CJ. Vitamin B₁₂ status, homocysteine and mortality amongst community-dwelling Irish elders. *Ir J Med Sci.* 2011;180(2):451 – 455.
16. Partearroyo T, Ubeda N, Alonso-Aperte E, Varela-Moreiras G. Moderate or supranormal folic acid supplementation does not exert a protective effect for homocysteinemia and methylation markers in growing rats. *Ann Nutr Metab.* 2010;56(2):143 – 151.

(received 16.09.2015, published online 30.09.2015)

(отримано 16.09.2015, опубліковано 30.09.2015)

