

Обзорная статья = Review article = Оглядова стаття

УДК 616.831-005.4:575.1

Моногенные признаки предрасположенности к ишемическому инсульту

Цымбалюк В.И.¹, Васильева И.Г.²

¹ Отделение восстановительной нейрохирургии, Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины, Киев, Украина

² Отдел нейробиохимии, Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины, Киев, Украина

Поступила в редакцию 09.04.15.
Принята к публикации 07.07.15.

Адрес для переписки:

Васильева Ирина Георгиевна,
Отдел нейробиохимии, Институт
нейрохирургии им. акад. А.П.
Ромоданова, ул. Платона
Майбороды, 32, Киев, Украина,
04050, e-mail: i-g_vasileva@mail.ru

Генетические факторы являются важным звеном в комплексе условий, предопределяющих возникновение ишемического инсульта (ИИ). Мутации имеют различное значение для риска ИИ. Моногенные синдромы определяют возникновение строго детерминированного вида инсульта. К таким синдромам относятся: церебральная аутосомная доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (CADASIL — мутация гена NOTCH3); церебральная аутосомная рецессивная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (CARASIL — мутация в гене HTRA1); болезнь Фабри (FD — мутация GLA D313Y); COL4A1-ассоциированная болезнь малых сосудов головного мозга (связана с мутацией в гене, кодирующем коллаген IVa1); синдром Элерса – Данлоса (ЭДС — мутация в гене COL3A1); наследственная эндотелиопатия с ретинопатией, нефропатией и инсультом (HERNS — мутация в гене TREX1); серповидноклеточная анемия (SCD — мутация в гене бета-глобина); гомоцистинурия — наследственное нарушение метаболизма, связанное с мутациями в генах фолатного цикла MTHFR, MTRR, MTR CBS; нейрофиброматоз 1 типа (NF1 — мутация в гене NF1); врожденная телеангиэктазия (HHT — мутации в генах ENG, ALK1 или SMAD4); наследственная церебральная амилоидная ангиопатия (CAA — мутация в гене APP); церебральные кавернозные мальформации (CCM — мутации в генах CCM1, CCM2 или CCM3); митохондриальная энцефалопатия, лактоацидоз, инсультподобные эпизоды (MELAS — мутации в генах MT-ND1, MT-ND5, MT-TH, MT-TL1, MT-TV). Исследование генетического профиля позволяет персонализировать медицинскую тактику при ИИ.

Ключевые слова: ишемический инсульт; генетические факторы предрасположенности.

Украинский нейрохирургический журнал. — 2016. — №1. — С.14-24.

Monogenic signs of susceptibility to ischemic stroke

Vitaliy Tsybaliuk¹, Iryna Vasileva²

¹ Restorative Neurosurgery Department, Romodanov Neurosurgery Institute, Kiev, Ukraine

² Neurobiochemistry Department, Romodanov Neurosurgery Institute, Kiev, Ukraine

Received, April 9, 2015.
Accepted, July 07, 2015.

Address for correspondence:

Iryna Vasileva, Neurobiochemistry Department, Romodanov Neurosurgery Institute, 32 Platona Mayborody St, Kiev, Ukraine, 04050, e-mail: ig_vasileva@mail.ru

Genetic factors are the important chain in the complex conditions determining the development of ischemic stroke. Mutations have different significance for the risk of its development. Monogenic syndromes define clearly determined type of stroke. These syndromes include: cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL, mutation in the NOTCH3 gene); cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL, mutation in the HTRA1 gene); Fabry disease (FD, GLA D313Y mutation); COL4A1-related brain small vessel disease associated with mutation in the gene encoding IVa1 collagen; Ehlers Danlos syndrome (EDS) caused by mutation in the COL3A1 gene; hereditary endotheliopathy with retinopathy, nephropathy and stroke (HERNS, mutation in the TREX1 gene); sickle cell disease (SCD, mutation in the beta-globin gene); homocystinuria – hereditary metabolic disorder associated with mutations in the MTHFR, MTRR, MTR CBS genes of the folate cycle; neurofibromatosis type 1 (NF1, mutation in the gene NF1); hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT, mutations in the ENG, ALK1 or SMAD4 genes); hereditary cerebral amyloid angiopathy (CAA, mutation in the APP gene); cerebral cavernous malformations (CCM, mutations in the CCM1, CCM2 or CCM3 genes); mitochondrial encephalopathy lactic acidosis and strokelike episodes (MELAS, mutations in the MT-ND1, MT-ND5, MT-TH, MT-TL1, MT-TV genes). The study of the genetic profile permits to personify medical tactics in ischemic stroke.

Key words: ischemic stroke; genetic factors of susceptibility.

Ukrainian Neurosurgical Journal. 2016;(1):14-24.

Моногенні ознаки схильності до ішемічного інсульту

Цимбалюк В.І.¹, Васильєва І.Г.²

¹ Відділення відновлювальної нейрохірургії, Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, Київ, Україна

² Відділ нейробіохімії, Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, Київ, Україна

Надійшла до редакції 09.04.15.

Прийнята до публікації 07.07.15.

Адреса для листування:

Васильєва Ірина Георгіївна, Відділ нейробіохімії, Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова, вул. Платона Майбороди, 32, Київ, Україна, 04050, e-mail: ig_vasileva@mail.ru

Генетичні фактори є важливою ланкою у комплексі умов, що визначають виникнення ішемічного інсульту. Мутації мають різне значення для ризику виникнення ішемічного інсульту. Моногенні синдроми визначають появу чітко детермінованого виду інсульту. До таких синдромів належать: церебральна аутосомна домінуюча артеріопатія з субкортикальними інфарктами та лейкоенцефалопатією (CADASIL — мутація гену NOTCH3); церебральна аутосомна рецесивна артеріопатія з субкортикальними інфарктами та лейкоенцефалопатією (CARASIL — мутація в гені HTRA1); хвороба Фабри (FD — мутація GLA – D313Y); COL4A1-асоційована хвороба малих судин головного мозку (пов'язана з мутацією у гені, що кодує колаген IVα1); синдром Елерса – Данлоса (EDS — мутація в гені COL3A1); спадкова ендотеліопатія з ретинопатією, нефропатією та інсультом (HERNS — мутація в гені TREX1); серпоподібноклітинна анемія (SCD — мутація в гені бета-глобіну); гомоцистинурія — спадкове порушення метаболізму, пов'язане з мутаціями у генах фолатного циклу MTHFR, MTRR, MTR CBS; нейрофіброматоз 1 типу (NF1 — мутація в гені NF1); спадкова телеангіектазія (HHT — мутації в генах ENG, ALK1, або SMAD4); спадкова церебральна амілоїдна ангіопатія (CAA — мутація в гені APP); церебральні кавернозні мальформації (CCM — мутації в генах CCM1, CCM2 або CCM3); мітохондріальна енцефалопатія, лактоацидоз та інсультоподібні епізоди (MELAS — мутації в генах MT-ND1, MT-ND5, MT-TH, MT-TL1, MT-TV). Дослідження генетичного профілю дозволяє персоналізувати медичну тактику при ішемічному інсульті.

Ключові слова: ішемічний інсульт; генетичні фактори схильності.

Український нейрохірургічний журнал. — 2016. — №1. — С.14-24.

Введение. Ишемический инсульт (ИИ) — ведущая причина смерти и неврологического дефицита — определяют как локальный процесс, формирующийся вследствие острого нарушения кровообращения головного мозга (ГМ) с повреждением его ткани, нарушением функций в связи с затруднением или прекращением поступления крови к тому или иному отделу. ИИ, обусловленный нарушением тока крови, составляет 80%, 15–20% — обусловлен внутримозговым кровоизлиянием. С возрастом частота ИИ увеличивается экспоненциально. Постинсультные состояния осложняются прогрессированием слабоумия, снижением когнитивной активности, а также эпилепсией. Признанные факторы риска возникновения ИИ — артериальная гипертензия и курение — не всегда определяют его обязательное появление. В настоящее время не установлено, почему у некоторых индивидуумов ИИ возникает в отсутствие этих факторов риска, а у других, при их наличии — не возникает. Это простое наблюдение свидетельствует о неучтенности всех предпосылок ИИ. Генетические факторы считают важным звеном в комплексе факторов, предопределяющих возникновение ИИ. Исследование генетических особенностей, ассоциированных с ИИ, позволит раскрыть молекулярные механизмы различных подтипов заболевания, прогнозировать риск его возникновения, усовершенствовать терапевтические подходы, и, следовательно, предотвратить или отдалить его появление.

Возникновение ИИ возможно при наличии нескольких клинически детерминированных заболеваний, основные из них — болезнь больших сосудов, болезнь малых сосудов и кардиоэмболизм. Болезнь больших сосудов является чаще всего следствием атеросклеротического стеноза в экстракраниальных или интракраниальных артериях, питающих

ГМ; кардиоэмболизм — заболеланий сердца, сопровождающихся тромбозом, отрывом тромбов и тромбированием сосудов ГМ. Болезнь малых сосудов ГМ обуславливает возникновение небольших очагов лакунарного инфаркта в глубоких слоях белого и серого вещества ГМ. Исследования доказывают, что основу многих приведенных заболеланий составляют генетические вариации: структурное изменение ДНК (мутации) либо регуляторное изменение экспрессии генов под влиянием эпигенетических механизмов, в том числе метилирования или контроля гистоновыми белками. Их исследование открывает новые возможности уточнения диагноза, улучшения терапии, прогноза и профилактики заболелания.

Структурные изменения ДНК могут затрагивать всю хромосому или ее часть, такие мутации возникают на цитологическом уровне, их можно регистрировать посредством микроскопического исследования. Наименьшие изменения касаются одного нуклеотида (SNP). SNP возникают вследствие миссенс мутаций с изменением смысла кодона, заменой аминокислоты в соответствующем звене полипептидной цепи, и нонсенс мутаций с образованием бессмысленного кодона с преждевременной терминацией полипептидной цепи или заменой стоп кодона на смысловой кодон. Существуют также другие изменения нуклеотидной последовательности ДНК, которые могут иметь клиническое значение: повторы (изменение количества копий кодирующих последовательностей), вставки, делеции. Мутации могут иметь различное значение для риска возникновения ИИ. Так, известны моногенные синдромы, определяющие появление строго детерминированного вида инсульта.

В последние десятилетия поиск генных структурных вариантов, связанных с риском возникновения ИИ, активизировался. Начались исследования с

использования микросателлитных маркеров SNP полиморфизма. Позже стали использовать метод генов кандидатов. Гены кандидаты выбирали на основании имеющихся знаний об их значении в метаболизме. С использованием такого подхода выделены гены, вариабельность которых связана с болезнями сердечно-сосудистой системы. В последнее десятилетие применяют полногеномный поиск ассоциаций (GWAS). GWAS — агностическое направление биомедицинских исследований ассоциаций геномных вариантов и фенотипических признаков. Основная цель полногеномного поиска ассоциаций — обоснованное прогнозирование предрасположенности к заболеванию на основе исследований с привлечением большого числа пациентов и статистического анализа. В исследовании сравнивают геномы больных и пациентов контрольной группы. Такой подход не предусматривает выявление мутаций, ставших причиной заболевания, а только устанавливает корреляцию существующих полиморфизмов с заболеванием. С использованием подхода GWAS установлены многочисленные корреляционные связи между полиморфизмами и патологическим процессом. Недостатком такого подхода является часто слабая корреляционная связь. С развитием новой генерации секвенирующих технологий (NGS), которая позволяет изучать геном человека за несколько недель, а также уменьшение стоимости такого исследования до 4 000–5 000 долларов США появилась возможность исследования индивидуальных геномов в целях поиска более редких мутаций, с более тесными коррелятивными связями с целевым патологическим процессом. Среди новых генных технологий, используемых в биомедицинских целях, технология NES отличается тем, что поиск мутаций осуществляется только в экзомной части генома.

Генетические болезни сосудов головного мозга

Церебральная аутосомная доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (CADASIL) — моногенное наследственное заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, возникает вследствие мутации гена *NOTCH3*, локализованного на 19-й хромосоме. Частота выявления 1–2 на 100 000 населения. CADASIL — это болезнь малых сосудов ГМ. Клинический фенотип вариабелен даже внутри одной семьи, характеризуется повторяющимися эпизодами ишемии или ИИ (обычно лакунарным), мигренью с аурой, перепадами настроения, когнитивным дефицитом, эпилептическими приступами. По данным МРТ выявляют диффузные гиперинтенсивные изменения в белом веществе ГМ, которые, как правило, предшествуют появлению клинических симптомов. По мере прогрессирования болезни изменения усугубляются в височной области, внешней и внутренней капсуле, базальных ганглиях и таламусе [1, 2].

Всего в 33 экзонах гена *NOTCH3* обнаружено более 200 мутаций, из них более 95% — локализованы в EGF-подобном повторяющемся домене гена *NOTCH3* [3]. Большинство мутаций — миссенс мутации, обуславливают добавление или утрату остатка цистеина, вследствие чего формируется неправильная конформация EGF-подобного повторяющегося домена. Неправильная структура влияет на созревание, взаимодействие, деградацию и функционирование *NOTCH3* рецептора, что определяет фенотип

CADASIL. Избыток остатков цистеина способствует аккумуляции мутантного экстраклеточного домена на поверхности гладкомышечной клетки стенки сосуда. Считают, что неправильная укладка экстраклеточных доменов белка *Notch3*, димеризация или возникновение aberrантных взаимодействий с другими белками обуславливают мышечную дисфункцию еще до появления патологических фенотипических признаков [4].

Описана также мутация в 29 экзоне гена *NOTCH3*, связанная с заменой метионина на валин. Эта мутация не находится в зоне EGF-подобного домена, поэтому при наличии таких мутаций типичный CADASIL не возникает. Изучены также другие мутации, не затрагивающие остатки цистеина. У таких пациентов наблюдают атипичные изменения по данным МРТ — гиперинтенсивность сигнала в лобно-теменной области. У них отмечено более медленное и мягкое прогрессирование клинических признаков, чем при CADASIL [5].

Мутации гена *NOTCH3* с диагностической целью анализируют путем прямого секвенирования экзонов 2–23, в которых кодированы все EGF-подобные домены.

Для CADASIL также характерно накопление в высокой степени специфичного гранулярного гиперосмофильного материала, который аккумулируется вокруг мембран и обуславливает деструкцию гладкомышечных клеток. Для выявления гиперосмофильного материала эффективно исследование биоптата кожи. Следует однако учитывать, что этот тест положителен только у 45% пациентов при CADASIL [6].

Церебральная аутосомная рецессивная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (CARASIL) — моногенное заболевание, обусловлено мутацией в гене *HTRA1*, локализующемся в регионе 10q26.3. Заболевание характеризуется повторяющимся ИИ, в основном лакунарного типа. CARASIL характеризуется негипертензивной артериопатией малых сосудов, алопецией и спондилезом, сопровождающимся болью в спине [7]. Вследствие повторяющегося ИИ работа ГМ прогрессивно ухудшается, у больных в возрасте 30–40 лет формируется деменция. По данным цитологического исследования отмечены утолщение внутренней оболочки сосудов, уплотнение коллагеновых волокон, утрата гладкомышечных клеток, гиалиновая дегенерация малых артерий ГМ [8]. По данным МРТ перивентрикулярно, иногда в передней височной области и во внутренней капсуле выявляют гиперинтенсивность белого вещества ГМ, а также множественные очаги лакунарного инфаркта, в основном в базальных ганглиях и таламусе.

Генетические исследования показали наличие мутации в гене (*HTRA1*) протеазы серина *HtrA1*. Мутации в 3–6 экзонах протеазы серина обуславливают угнетение активности ферментов на 21–50%, вследствие чего сигнал, который проводится через рецепторы семейства трансформирующего фактора роста- β (TGF- β), не репрессируется [9]. Мутация C1108T в экзоне 6 способствует образованию стоп кодона R370X и угнетению активности протеазы *HTRA1*. Неадекватная репрессия сигнала TGF- β обуславливает активацию синтеза протеинов экстраклеточного матрикса и, как следствие, фиброз в сосудах [10]. По данным иммуногистохимического анализа, у пациентов при CARASIL в утолщенной

внутренней оболочке стенки сосудов повышен синтез фибронектина и версалина. Диагностика заболевания включает прямое секвенирование экзонов 3–6 гена HTRA1. Первичное предположение о наследственном заболевании CARASIL основано на исследовании заболеваний у родственников, наличии характерных клинических признаков: рецидивирующего ИИ, боли в спине, по данным МРТ — гиперинтенсивности белого вещества ГМ [7].

Болезнь Фабри (FD) — моногенное наследственное заболевание, обусловлено нарушением метаболизма гликофинголипида, характеризуется мультисистемными проявлениями — инсульт, акроарестезия, гипогидроз, ангиокератомы, помутнение роговицы, заболевания сердца и почек [11]. Отмечают и более мягкие олигосимптомные или моносимптомные фенотипы заболевания [12]. Цереброваскулярные проявления клинически определяют как болезнь малых кровеносных сосудов. Мутации ДНК при заболевании локализованы на X-хромосоме и являются рецессивными. Фенотипическое проявление мутации возникает у гемизиготных и гетерозиготных индивидуумов мужского пола, а также гетерозиготных индивидуумов женского пола. Вследствие мутации активность фермента альфа-галактозидазы А (α -GAL A, кодируется геном GLA) снижается или отсутствует, что способствует накоплению в сосудах и других тканях гликолипида глоботриозилкерамида (Gb3 или GL-3). По мере накопления этого метаболита ухудшается функционирование тканей. Вследствие мутаций с замещением даже одной аминокислоты фермент быстро деградирует в эндоплазматическом ретикулуме [13]. Известны более 400 мутаций с замещением аминокислот в этом белке. Большинство из них ассоциированы с классическим фенотипом FD. Установлено, что различные мутации по-разному влияют на активность фермента, при некоторых мутациях может сохраняться до 80% активности α -GAL A [14]. Мутация GLA D313Y имеет эксклюзивно неврологические проявления. Характеризуется повреждением белого вещества ГМ, что часто ассоциировано с инсультом, когнитивным дефицитом и эпилепсией. Для диагностики FD целесообразно исследовать активность фермента α -GAL A, а также наличие в биоптатах Iso-Gb3. Этот материал в большом количестве накапливается в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов у пациентов при FD [15]. Диагноз болезни Фабри часто устанавливают с запозданием либо совсем не устанавливают из-за необходимости для его подтверждения наличия большого числа клинических признаков. Ранний диагноз, особенно у пациентов молодого возраста с признаками поражения белого вещества ГМ, важен для проведения адекватной заместительной ферментотерапии, способной предотвратить или уменьшить выраженность осложнений с поражением сердца и нарушением кровообращения ГМ [16, 17].

COL4A1-ассоциированная болезнь малых сосудов ГМ. Коллаген IV α 1 является основным компонентом экстраклеточного матрикса всех клеток организма человека. Ген COL4A1 локализован в регионе 13q34, состоит из 52 экзонов [18]. Мутации в гене, кодирующем коллаген IV α 1, изначально связывали с порэнцефалией и гемипарезом у детей, однако впоследствии эти мутации обнаружены и у взрослых при болезни малых сосудов ГМ [19]. Наследуется заболевание по аутосомно-доминантному типу.

Мутации также часто обнаруживают при асимптомных интракраниальных аневризмах, мигрени, катаракте, изменениях сосудов сетчатки, почек, мышц. По данным генетических исследований, миссенс или сплайсинг мутации нарушают правильную конформацию COL4A1, препятствуют экспрессии белка в экстраклеточный матрикс в виде гетеротримера 1COL4A2 и 2COL4A1 [20]. При появлении дефектного COL4A1 в экстраклеточном матриксе ухудшаются физические свойства базальной мембраны сосудов, нарушается взаимодействие между молекулами экстраклеточного матрикса, включая мембранные компоненты — факторы роста и рецепторы [21].

Синдром Элерса – Данлоса (EDS) — сосудистый синдром, наследственное заболевание соединительной ткани. У большинства пациентов характерные черты лица — большие глаза, маленький подбородок, тонкие нос и губы, мягкие уши, прозрачная кожа, хорошо просматриваются подкожные сосуды, легко образуются синяки, маленький рост. Сосудистые осложнения могут возникать в разных анатомических областях, чаще изменения выявляют в артериях большого и среднего диаметра. При появлении дефектного белка в экстраклеточном матриксе уменьшается его эластичность. При таком генотипе обнаруживают разрыв позвоночных и сонных артерий в экстра- и интракраниальных сегментах (каротидно-кавернозные фистулы). EDS — моногенное заболевание, наследуется по аутосомно-доминантному типу, обусловлено мутацией в гене COL3A1, который кодирует проколлаген III типа. Замена нуклеотида G на A в положении 2042 от иницирующего кодона ATG в гене COL3A1 обуславливает замену кодона GGT глицина на кодон GTT валина в 514 положении α -цепи коллагена III типа. Диагноз EDS следует предполагать при возникновении ИИ у пациентов молодого возраста [22]. В 4% наблюдений обнаруживают внутричерепное кровоизлияние вследствие разрыва аневризм [23]. У таких пациентов важна ранняя диагностика EDS, при этом приемлемы только неинвазивные методы исследования. Хирургическое вмешательство у таких пациентов сопряжено с высоким риском смертности [24, 25].

Наследственная эндотелиопатия с ретинопатией, нефропатией и инсультом (HERNS). Неврологический дефицит проявляется в инсультподобных эпизодах с последующей утратой зрения и значительной мультифокальной кортикальной и субкортикальной дисфункцией. До появления неврологических симптомов по данным МРТ регистрируют множественные повреждения белого вещества ГМ. По данным ультраструктурного анализа ткани у пациентов при HERNS обнаружены множественные изменения базальной мембраны в ГМ и других тканях, в том числе почках, пищеварительном канале, коже. Моногенное заболевание HERNS обусловлено мутацией в регионе 3p21.1-p21.3.52. Тип мутации идентифицирован как сдвиг рамки считывания в карбоксильном конце гена TREP1 [26]. TREP1-3'-5' ДНК экзонуклеаза специфична преимущественно к двуспиральным последовательностям или ошибочно спаренному 3'-концу [27]. Предполагают, что эта экзонуклеаза может выполнять роль коррекции ошибок последовательности ДНК, возникающих при репликации либо заполнении разрывов во время репарации. В мутантном белке TREP1 отсутствует карбоксильный конец, что обуславливает невозможность локализа-

ции белка в его нормальной позиции в перинуклеарном пространстве [28]. Вместо этого белок свободно диффундирует в цитоплазме, при этом активность экзонуклеазы сохраняется. Цереброретинальная васкулопатия у пациентов при HERNS описана в 1988 г. [29]. Заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования. Клинически проявляется в середине жизни, в основном заболеваниями ЦНС с вовлечением сетчатки. Больные умирают в течение 5–10 лет вследствие прогрессирующего ухудшения неврологического статуса. Неврологические проявления — в основном транзиторные ишемические атаки и ИИ с ухудшением и утратой моторной и когнитивной функций, головной болью, депрессией. По данным КТ у таких пациентов выявляют массивные повреждения со смещением окружающих структур. Изменения в основном локализованы в лобно-теменной зоне. По результатам гистологического исследования обнаруживают коагуляционный некроз, вторичный вследствие облитерации сосудов, воспалительный инфильтрат. Выявляют также поражение моста, мозжечка, базальных ганглиев [29].

Серповидная клеточная анемия (SCD)

— наиболее изученное наследственное заболевание, обусловлено точечной мутацией в гене бета-глобина (11p15.5 HBB). Гемоглобин взрослого человека в основном состоит из HbA (alpha2beta2), минорной фракции HbA2 (alpha2delta2), также присутствуют следы фетального HbF (alpha2gamma2). Каждая цепь глобина кодируется разными генами. HbS является следствием мутации с заменой аминокислоты глутамина на валин в шестом положении бета-глобиновой цепи. Замена аминокислот обусловлена заменой нуклеотидов, GAG → GTG в шестом кодоне бета-глобина в регионе 11p15.5.7. При такой мутации изменяется конформационная стабильность гемоглобина, возникают клинические нарушения. При замене аминокислот возникают полимеризация гемоглобина, трансформация эритроцитов в серповидную форму. При появлении деформированных и неэластичных эритроцитов нарушается микроциркуляция, блокируется кровоток, что обуславливает многие осложнения SCD [30, 31]. Таким образом, образование серповидных эритроцитов является прямым следствием присутствия HbS, однако клинические признаки разнообразны. Среди факторов риска ранней смерти инсульт, болевые синдромы и инфекции [32]. У детей при SCD риск возникновения инсульта в 250 раз выше, чем в общей популяции детей. В настоящее время рассматривают также вариант, что множественность клинических осложнений SCD, в том числе ИИ, обусловлена дополнительными мутациями.

Гомоцистинурия — наследственное нарушение метаболизма, характеризующееся накоплением аминокислоты гомоцистеина (Hcy) в плазме и повышением экскреции с мочой его окисленной формы. Важнейшие проявления этого нарушения — незаращение нервной трубки плода, миопия, офтальмологические нарушения, задержка развития, остеопороз, сосудистые заболевания, атеромы, тромбоз, ИИ [33, 34].

Гомоцистеин — серусодержащая небелковая аминокислота — является промежуточным продуктом метаболизма метионина. Уровень гомоцистеина регулируется реметилизацией с образованием метионина и превращением в печени в цистеин в реакции транссульфирования. Метаболизм гомоцистеина зависит от белковых продуктов генов фолатного цикла

MTHFR, *MTRR*, *MTR CBS* 21q22.3, 1p36.3. Донорами метильных групп могут быть 5-метилтетрагидрофолат, бетаин или S-метилметионин. Реметилизация осуществляется при восстановлении ферментом 5,10-метилтетрагидрофолатредуктазой (*MTHFR*) 5,10-метилтетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат, который является метильным донором для цианокобаламин-зависимого реметилизирования гомоцистеина метилтетрагидрофолатгомоцистеинметилтрансферазой (*MTR*) и цианокобаламин-зависимого реметилизирования гомоцистеина бетаингомоцистеинметилтрансферазой 1 и 2 (*BHMT1* и *BHMT2*) с образованием метионина [35, 36]. Другой фермент, участвующий в реметилизировании гомоцистеина с участием цианокобаламина (витамина B_{12}) — метионинсинтаза редуктаза (*MTRR*). *MTRR* восстанавливает активность метионинсинтазы (*MTR*) и, следовательно, также влияет на уровень гомоцистеина [37]. Поступление цианокобаламина в клетку зависит от транспортного белка транскобаламина II (*TCII*). Комплекс витамин B_{12} -*TCII* транспортируется в клетку с участием рецептора [38]. Реакция транссульфирования катализируется цистатионсинтазой (*CBS*) с участием пиридоксина (витамина B_6). Генетические мутации в ферментах метаболизма Hcy *CBS* или *MTHFR* и *MTRR* способствуют гипергомоцистеинемии. Основные полиморфизмы, влияющие на метаболизм — мутации *MTHFR* C677T, A1298C и *MTRR* A66G. При полиморфизме *MTHFR* C677T образуется термолабильный фермент — его активность снижена на 65%, при этом уровень гомоцистеина в плазме, особенно в условиях сниженного уровня фолатов в рационе, соответственно, повышается [35]. Полиморфизм A1298C также способствует снижению активности фермента, хотя в меньшей степени [36]. Однако ни гомозиготное, ни гетерозиготное состояние по этой позиции не способствует увеличению уровня Hcy. Одновременное гетерозиготное состояние полиморфизмов A1298C и C677T ассоциировано со снижением активности фермента и повышением концентрации Hcy [33]. Наиболее частый полиморфизм гена *MTRR* — A66G обуславливает снижение активности фермента, скорости реметилизирования Hcy и повышение его уровня в плазме [39]. Активность белка *CBS* снижается вследствие генетического полиморфизма T833C. По данным мета-анализа установлена связь риска возникновения ИИ с гетерозиготной и гомозиготной генетическими вариациями по этой позиции [40, 41]. Выраженная гипергомоцистеинемия часто обуславливает преждевременную смерть больных вследствие сосудистых осложнений. Частота полиморфизма зависит от географии и этнической группы пациентов. Так, частота *MTHFR* 677T аллеля в Европе составляет 24,1–64,3%, в Африке — 0–35,5%; частота *MTHFR* 1298C аллеля в Азии — 20–70%, в Европе — 24–46%, в Америке — 0–15% [42]. Аллель *MTRR* 66G у жителей Испании выявляют с частотой 28,65%, кавказского региона — 54,4% [43].

В настоящее время наиболее токсичным считают Hcy-тиолактон, избыток которого наблюдают у пациентов при дефиците активности ферментов *CBS* или *MTHFR* [44]. Токсичность Hcy-тиолактона обусловлена его способностью модифицировать белки с образованием производных лизина [45]. Патологическим следствием N-гомоцистеинилирования белков является повышение чувствительности к тромбообразованию (причина — образование N-Hcy-фибриногена)

[46] и аутоиммунному ответу, обусловленному N-Нсу-белками, следствием чего являются ИИ и ишемическая болезнь сердца [34, 47].

По данным эпидемиологических исследований, повышение уровня Нсу является фактором риска возникновения ИИ, однако в клинических испытаниях препаратов, снижающих уровень гомоцистеина, например, цианокобаламина, положительная динамика отмечена только у некоторых пациентов. В настоящее время гомоцистеин не считают универсальной мишенью, необходим поиск других мишеней терапии, снижающей риск возникновения ИИ. В этом аспекте важна роль промотора гена GNMT (глицин N-метилтрансфераза) — фермента, регулирующего превращение S-аденозилметионина (SAM) в S-аденозилгомоцистеин (SAH) при использовании SAM в качестве донора метильных групп [48]. От регуляторного статуса промотора GNMT зависит активность единственного источника метильных групп SAM для метилирования ДНК, гистонов, белков и РНК, что влияет на весь эпигенетический статус клеток. По данным генетических исследований, установлено значение SNP полиморфизма промотора гена GNMT Cp/G-11752813, который влияет на транскрипцию и метаболизм метионина. Вариации структуры промотора GNMT могут являться фактором риска возникновения ИИ и дополнительной мишенью для терапии, направленной на снижение этого риска.

Корреляция с риском ИИ также отмечена у пациентов при наличии SNP гена, также являющегося компонентом фолатного цикла — альдегид дегидрогеназы 1 (ALDH1L1) — фермента, конвертирующего 10-формилтетрагидрофолат в тетрагидрофолат в позиции 10934753. Учитывая важность фолатного цикла в биологии клетки — эпигенетическом статусе, метилировании и репарации ДНК, глюконогенезе — анализ индивидуальных генетических особенностей компонентов этого цикла для прогнозирования риска возникновения заболеваний, в том числе ИИ, представляется чрезвычайно важным. Зависимость адекватного функционирования фолатного цикла от каждого фермента и регуляторного элемента свидетельствует о необходимости для уточнения мишени терапии точной локализации генетического полиморфизма среди его компонентов [49, 50].

Нейрофиброматоз 1 типа (NF1) — аутосомно-доминантный наследственный синдром, связан с мутацией в регионе 17q11.2 гена NF1, кодирующего супрессор опухоли — GTP-зависимый белок нейрофибромин. У больных NF1 описаны более 500 различных мутаций в гене нейрофибромина, нарушающих его супрессирующую роль в сигнальном пути ras. Более 80% из них обуславливают синтез нефункционального белка либо полное отсутствие транскрипта [51]. Нейрофибромин экспрессируется во многих тканях, в том числе нервной ткани ГМ, сосудах, мышцах, коже. Клинические эффекты aberrантного нейрофибромина — доброкачественные новообразования — нейрофибромы, опухоли центральной нервной системы, пятна на коже «кофе с молоком», костные аномалии, изменения радужной оболочки глаза и другие симптомы. Васкулярные проявления, связанные с NF1, включают окклюзионные болезни артерий ГМ, а также интракраниальные аневризмы [52].

Врожденная телеангиэктазия (ННТ) — аутосомно-доминантное заболевание различной выраженности, характеризующееся стойким расширением

мелких сосудов (артериол, венул, капилляров) кожи, легких, ГМ, печени. ИИ является основным осложнением ННТ — его частота составляет 10–19% [53]. Инфаркт ГМ возникает вследствие парадоксально-го эмболизма, обусловленного артериовенозными мальформациями в легких [53]. ННТ возникает вследствие мутаций в генах ENG, ALK1 или SMAD4, которые кодируют компоненты сигнального пути TGFβ/BMP [54–56]. Сигнальный путь TGFβ важен для формирования и поддержания сосудистой системы, генетические полиморфизмы, затрагивающие функциональную активность его компонентов, определяют деструктивное влияние на функционирование сосудов. В процессе развития белковые продукты генов ENG и ALK1 — Alk-1 и эндоглин — экспрессируются в эндотелии сосудов на высоком уровне [57]. В организме взрослых экспрессия активизируется только при необходимости репарации сосудов [58]. При наличии лишь одной мутантной копии Alk-1 или эндоглина уменьшается количество перicyтов в перинидальных капиллярах, что определяет формирование спорадических артериовенозных мальформаций [59].

Наследственная церебральная амилоидная ангиопатия (САА). Накопление β-амилоидного пептида (Aβ) является ведущим механизмом в патогенезе болезни Альцгеймера (AD). Кроме формирования паренхимных бляшек, Aβ накапливается также в сосудах ГМ, что является причиной возникновения САА при AD. Причем, существование гипоперфузии ГМ возможно в преclinical фазе AD [60]. Aβ продуцируется при последовательном расщеплении предшественника амилоидного белка (APP) секретазы. β-секретазы отщепляет N-концевой домен, образуется C-концевой фрагмент, содержащий Aβ, состоящий из 99 остатков аминокислот (CTF фрагмент) [61]. Фрагмент CTF подвергается процессингу с участием γ-секретазы с образованием фрагмента Aβ, состоящего из 39–43 остатков аминокислот. Фрагменты Aβ42 и Aβ40 обладают более высокой способностью к агрегированию [62]. Мутации в белке APP в регионе расщепления γ-секретазы способствуют накоплению Aβ с повышенной способностью к агрегированию. Доказано, что в сенильных бляшках у пациентов при мутации APP A692G содержится в основном Aβ40. Такие бляшки, расположенные в стенках сосудов, сужают их просвет и являются причиной возникновения инсульта [63].

Церебральные кавернозные мальформации (ССМ) являются врожденным заболеванием. Их выявляют у 0,1–0,5% населения, они составляют 10–20% всех сосудистых нарушений ГМ [64]. Морфологически ССМ представляют собой скопление aberrантных сосудов, образующих сосудистую полость. В сосудах отсутствуют элементы, характерные для зрелой стенки, их стенка состоит из одного слоя эндотелия, они не проникают в паренхиму ГМ [65]. Чаще всего ССМ возникают спорадически, как правило, у больного выявляют одну мальформацию, мутантный ген в зародышевых клетках отсутствует. При наследственной форме ССМ чаще формируются множественные мальформации [66]. По данным T2 МРТ в взвешенном изображении выявляют наличие «попкорн-подобных масс». Генетическая основа этих нарушений в настоящее время интенсивно изучается. Причиной их считают мутации в трех генах: ССМ1 (KRIT1), ССМ2 (MGC4607) и ССМ3 (PDCD10), локализованных в регионах 7q21.2 и 7p13 [67, 68]. Белковые продукты этих

генов — Krit1, малкавернин и PDCD10 — взаимодействуют с компонентами сигнального комплекса MAPK, интегринопосредованным комплексом межклеточной сигнализации — ICAP1 и бета-интегрином [69].

Митохондриальная энцефалопатия, лактоацидоз и инсультоподобные эпизоды (MELAS). Для пациентов при MELAS характерны невысокий рост, эпизодическая рвота, судороги, повторяющийся ИИ, гемипарез, гемианопсия, лактоацидоз. Возникновение синдрома может быть обусловлено мутацией во многих генах ДНК митохондрий (мтДНК). Некоторые гены — MT-ND1, MT-ND5, мутации в которых ассоциированы с синдромом, кодируют белки дыхательной цепи комплекса I, другие — MT-TH, MT-TL1, MT-TV — кодируют мтРНК. Мутации, обуславливающие дисфункцию митохондрий, могут возникать впервые либо наследоваться по материнской линии. До недавнего времени было обнаружено 23 миссенсных точечных мутации и 4 делеции мтДНК, обуславливающих MELAS [70]. У 75% пациентов при MELAS обнаруживают мутацию A3243G в тРНКLeu [71]. Мутация не всегда чревата возникновением заболевания, в связи с гетероплазмией большинство митохондрий могут быть интактными. Аналогичный клинический фенотип характерен для пациентов при мутации мтДНК A11084G. При такой миссенс мутации Thr заменяется на Ala в ND4 субъединице респираторного комплекса I. Разные мутации — в тРНКLeu и в ND4 субъединице респираторного комплекса I лежат в основе одного клинического фенотипа MELAS [72].

От генетического профиля к профилактике и терапии инсульта

Последние достижения в области выявления генетических факторов риска возникновения инсульта и данные эпидемиологических исследований, подтверждающие их значение в уточнении его подтипа, являются первыми шагами в направлении персонализации медицинской помощи при этом заболевании. Каким же образом определение генотипа может помочь пациентам при инсульте. Даже при наличии редкого моногенного заболевания идентификация генотипа важна, поскольку она позволяет прогнозировать высокую вероятность возникновения инсульта в определенном периоде жизни. В некоторых ситуациях информация о генетическом профиле позволяет назначать специфическое лечение. Генетическая информация позволяет целенаправленно назначать пренатальные исследования. Многие моногенные формы инсульта неизлечимы, и выявление генетических мутаций в отсутствие симптомов или наличия «мягких» симптомов важно для коррекции стиля жизни пациента. Информация о генетическом профиле факторов риска возникновения инсульта определяет особенности лечебной тактики.

Так, для заболевания CADASIL сегодня эффективного лечения не существует. Однако знание генотипа позволяет проводить адекватную симптоматическую и превентивную терапию. Пациентам при CADASIL важно профилактическое предотвращение ишемии ГМ, для чего рекомендуют применять аспирин. В то же время, необходимо учитывать, что при длительном применении этого препарата возможно возникновение геморрагического инсульта. В профилактике осложнений, учитывая особенность генетического повреждения трансмембранного белка NOTCH, важно не допускать атеросклеротических осложнений,

артериальной гипертензии, а также проводить цитопротекторные мероприятия в отношении мышечных клеток сосудов, страдающих из-за генетического дефекта. Хорошие результаты в этом аспекте обеспечивает применение вальпроата, оказывающего защитное действие на перicyты эндотелия при CADASIL [73].

У пациентов при CARASIL утрата вследствие мутации в гене HTRA1 активности протеазы обуславливает усиление сигнала метаболического каскада семейства TGF- β . Одним из осложнений этого неизлечимого заболевания является субкортикальный инфаркт, возникающий вследствие нарушения взаимодействия мышечных и эндотелиальных клеток стенки малых сосудов с белками экстраклеточного матрикса. В настоящее время проходит клинические испытания препарат антагонист рецептора ангиотензина-I, блокирующего сигнальный путь TGF- β . Считают, что угнетение этого сигнального пути является эффективной терапевтической стратегией у пациентов при CARASIL [74].

При болезни Фабри отмечают повреждение белого вещества ГМ и высокий риск возникновения инсульта. Генетическое нарушение, следствием которого является утрата активности α -GalA, обуславливает накопление в различных тканях, в том числе стенках сосудов, Gb3. Проведение ферментозамещающей терапии с применением агалсидазы бета-1 способствует уменьшению прогрессирования сосудистых нарушений даже при длительном течении болезни [75].

У пациентов при коллаген-ассоциированных заболеваниях (COL4A1-ассоциированная болезнь малых сосудов ГМ, COL3A1-ассоциированная болезнь EDS) раннее выявление мутаций важно для предотвращения осложнений. Применение специфических режимов позволяет избежать или отдалить осложнения, улучшить качество жизни пациентов. Так, при мутациях COL4A1 рекомендовано кесарево сечение, необходимо избегать травм головы, не рекомендованы занятия спортом, использование антикоагулянтов. При коллагензависимых заболеваниях с недостатком интактного коллагена эффективно стимулирование его синтеза. Однако при синтезе мутантного белка, наоборот, применяют терапию, ускоряющую деградацию дефектных молекул. В настоящее время существуют несколько FDA-одобренных препаратов, индуцирующих аутофагию неправильно упакованных гетеротримеров коллагена, которые могут быть эффективными в лечении или предотвращении коллаген-ассоциированных заболеваний [76]. Эффективны также химические шейпероны — препараты, исправляющие неправильную упаковку вследствие наличия мутантного коллагена [77]. Такие препараты в настоящее время используют для коррекции нарушений упаковки коллагена [78].

У пациентов при серповидноклеточной анемии (SCD) для предотвращения инсульта используют трансфузионные технологии, в последнее время активно разрабатывают новые методы компенсации дефектного гемоглобина. С этой целью разработан полинитроксилированный пегилированный гемоглобин (PNPH). Этот препарат улучшает транспорт кислорода и антиоксидантную активность. По результатам преclinical исследований, препарат обладает мультифункциональным протекторным нейроваскулярным действием. Ожидают, что при-

менение PNPH позволит решить многие проблемы, связанные с нарушением кровотока и оксидантным стрессом при SCD, и, следовательно, предотвратить или отдалить цереброваскулярные осложнения этого генетического заболевания [79].

Гомоцистинурия возникает при генетических нарушениях различных компонентов фолатного цикла. Так, гомоцистинурию типа I наблюдают при нарушении процесса транссульфурирования, типа II и III — при генетических нарушениях в процессе метилирования. Частота выявления соответственно 1 на 50 000 и 200 000. Применением при гиперцистеинемии пиридоксина (витамина B₆) в сочетании с фолатами и бетаином способствует снижению уровня Hcy в плазме, улучшению состояния сосудов [80]. Hcy-терапия при дефиците MTHFR предотвращает болезни ГМ [81]. При терапии гомоцистинурии типа I используют пиридоксин, являющийся коэнзимом для цистатионсинтазы. При его введении активизируется взаимодействие фермента с субстратом. Проведение терапии способствует существенному улучшению состояния пациентов, чувствительных к ней. При гомоцистинурии типа II у некоторых пациентов улучшению состояния способствует применение цианокобаламина (витамина B₁₂) и пиридоксина (витамина B₆). Своевременное применение витаминотерапии при генетических нарушениях фолатного цикла позволяет отдалить и уменьшить выраженность сосудистых осложнений [82]. Доказано, что использование фолиевой кислоты (витамина B₉), пиридоксина (витамина B₆) и цианокобаламина (витамина B₁₂) эффективно снижает уровень гомоцистеина; применение фолиевой кислоты уменьшает частоту или исключает формирование дефекта незаращения нервной трубки и мегалобластную анемию [83].

Важное значение имеет регуляция активности компонентов фолатного цикла на эпигенетическом уровне. В свете последних исследований, для эффективной терапии гомоцистинурии в целях предотвращения сосудистых осложнений необходима оценка активности использования метильных групп SAM и возможных генетических нарушений в промоторных регионах, ответственных за транскрипцию соответствующих ферментов, в частности, GNMT [48].

При нейрофиброматозе сосудистые осложнения в виде инсульта могут возникать вследствие стеноза сосудов. Для предотвращения сосудистых осложнений необходимы раннее распознавание и генетическая идентификация заболевания. При формировании стеноза используют технологию стентирования. Таким пациентам рекомендуют проведение генетического исследования, регулярного офтальмологического обследования и тщательного медицинского осмотра [84].

Врожденная телеангиэктазия (ННТ) является следствием генетического нарушения ангиогенеза. В настоящее время для терапии ННТ используют препараты, влияющие непосредственно на ангиогенез. Антиангиогенным эффектом обладают пропранолол и тимолол (неспецифические бета-адренэргические блокаторы); талидомид и его аналог леналидомид, такролимус, инфлюксимаб (блокатор TNF-α). В исследованиях доказаны положительные результаты их применения. Однако авторы указывают на необходимость дальнейшего изучения терапевтических эффектов этих препаратов [53].

Наследственная церебральная амилоидная ангиопатия (CAA) возникает вследствие отложения

амилоидного компонента на сосудах ГМ. В настоящее время методов лечения CAA нет, однако проведение генетических исследований имеет значение для правильной тактики применения антикоагулянтной терапии в целях предотвращения кровоизлияний [85].

Терапия церебральной кавернозной мальформации (СММ) в настоящее время не разработана. В исследованиях на генетической модели ССМ с использованием ССМ2 +/- мышей эффективности существующих препаратов (изучены 2100 лекарственных субстанций) отмечено уменьшение до 50% выраженности проявлений заболевания при использовании холекальциферола (витамина D₃) и темпола (ловушка супероксидных радикалов). В настоящее время актуален поиск эффективных препаратов для лечения других генетических нарушений у пациентов при ССМ. Уточнение генетического дефекта у пациентов при наличии ССМ важно для назначения средств, способных уменьшить риск возникновения заболевания и стоимости терапии, а также адекватного назначения тромболитических препаратов [86].

Активно изучаются пути нейропротекторной терапии болезни, связанной с дисфункцией митохондрий — MELAS. Поиск ведется по наиболее перспективным направлениям — активации биогенеза митохондрий, удаления поврежденных митохондрий посредством митофагии, использования ловушек свободных радикалов, а также разработки эффективных диет, например, кетогенной [87].

Заключение. Современная наука достигла значительного прогресса в выявлении моногенных мутаций, которые влияют на фенотип и определяют риск возникновения инсульта. Однако моногенные факторы риска инсульта составляют незначительную часть факторов риска всех видов инсульта в популяции. Инсульт — сложное, гетерогенное заболевание, выделяют 3 его подтипа: ИИ, интрацеребральный геморрагический инсульт и субарахноидальное кровоизлияние. В пределах клинического подтипа инсульта существуют различные генетически различающиеся подтипы [88]. Так, мутация в регионе 4q25, примыкающем к фактору транскрипции PITX2, и в регионе 16q22, затрагивающая ZFH3, ассоциированы с фибрилляцией предсердий и кардиоэмболическим инсультом [89]; мутация 505922 в гене ABO — с болезнью крупных сосудов и кардиоэмболическим инсультом [90]. Шесть SNP в регионе 9p21 идентифицированы GWAS как генетические факторы риска возникновения атеросклеротического инсульта [91]. GWAS также получены данные о новой мутации в HDAC9 (ген гистоновой деацетилазы 9), ассоциированной с болезнью крупных кровеносных сосудов и атеросклеротическим инсультом [92]. Высокая гетерогенность генетических вариантов, определяющих один подтип инсульта, свидетельствует, что для персонификации медицинской тактики при инсульте необходимо изучение всех генетических вариантов, а также оценка их функционального значения и молекулярных механизмов течения соответствующего подтипа инсульта.

References

1. Sourander P, Walinder J. Hereditary multi-infarct dementia. Morphological and clinical studies of a new disease. Acta Neuropathol. 1977;39(3):247-54. doi:10.1007/bf00691704. PMID:906807.
2. Chabriat H, Levy C, Taillia H, Iba-Zizen MT, Vahedi K, Joutel A, Tournier-Lasserre E, Boussier M. Patterns of MRI lesions in CADASIL. Neurology. 1998;51(2):452-7. doi:10.1212/

- wnl.51.2.452. PMID:9710018.
3. Tournier-Lasserre E, Joutel A, Melki J, Weissenbach J, Lathrop GM, Chabriat H, Mas JL, Cabanis EA, Baudrimont M, Maciazek J, et al. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy maps to chromosome 19q12. *Nature Genetics*. 1993;3(3):256-9. doi:10.1038/ng0393-256. PMID:8485581.
 4. Dichgans M, Ludwig H, Müller-Höcker J, Messerschmidt A, Gasser T. Small in-frame deletions and missense mutations in CADASIL: 3D models predict misfolding of Notch3v EGF-like repeat domains. *Eur J Hum Genet*. 2000;8(4):280-5. doi:10.1038/sj.ejhg.5200460. PMID:10854111.
 5. Quattrone A, Mazzei R, Scheid R, Heinritz W. Cysteine-sparing notch3 mutations: cadasil or cadasil variants?. *Neurology*. 2009;72(24):2135-6. doi:10.1212/01.wnl.0000349699.12456.06. PMID:19528524.
 6. Malandrini A, Gaudiano C, Gambelli S, Berti G, Serni G, Bianchi S, Federico A, Dotti MT. Diagnostic value of ultrastructural skin biopsy studies in CADASIL. *Neurology*. 2007;68(17):1430-2. doi:10.1212/01.wnl.0000264018.46335.c8. PMID:17452591.
 7. Yanagawa S, Ito N, Arima K, Ikeda S. Cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Neurology*. 2002;58(5):817-20. doi:10.1212/wnl.58.5.817. PMID:11889251.
 8. Oide T, Nakayama H, Yanagawa S, Ito N, Ikeda S, Arima K. Extensive loss of arterial medial smooth muscle cells and mural extracellular matrix in cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL). *Neuropathology*. 2008;28(2):132-42. doi:10.1111/j.1440-1789.2007.00864.x. PMID:18021191.
 9. Hara K, Shiga A, Fukutake T, Nozaki H, Miyashita A, Yokoseki A, Kawata H, Koyama A, Arima K, Takahashi T, Ikeda M, Shiota H, Tamura M, Shimoe Y, Hirayama M, Arisato T, Yanagawa S, Tanaka A, Nakano I, Ikeda S, Yoshida Y, Yamamoto T, Ikeuchi T, Kuwano R, Nishizawa M, Tsuji S, Onodera O. Association of HTRA1 mutations and familial ischemic cerebral small-vessel disease. *New Engl J Med*. 2009;360(17):1729-39. doi:10.1056/nejmoa0801560. PMID:19387015.
 10. Lan TH, Huang XQ, Tan HM. Vascular fibrosis in atherosclerosis. *Cardiovasc Pathol*. 2013;22(5):401-7. doi:10.1016/j.carpath.2013.01.003. PMID:23375582.
 11. Mehta A, Beck M, Eyskens F, Feliciani C, Kantola I, Ramaswami U, Rolfs A, Rivera A, Waldek S, Germain DP. Fabry disease: a review of current management strategies. *QJM*. 2010;103(9):641-59. doi:10.1093/qjmed/hcq117. PMID:20660166.
 12. Sims K, Politei J, Banikazemi M, Lee P. Stroke in Fabry disease frequently occurs before diagnosis and in the absence of other clinical events: natural history data from the Fabry Registry. *Stroke*. 2009;40(3):788-94. doi:10.1161/strokeaha.108.526293. PMID:19150871.
 13. Ishii S, Chang HH, Kawasaki K, Yasuda K, Wu HL, Garman SC, Fan JQ. Mutant α -galactosidase A enzymes identified in Fabry disease patients with residual enzyme activity: biochemical characterization and restoration of normal intracellular processing by 1-deoxygalactonojirimycin. *Biochem J*. 2007;406(2):285-95. doi:10.1042/bj20070479. PMID:17555407.
 14. Yasuda M, Shabbeer J, Benson S, Maire I, Burnett R, Desnick R. Fabry disease: characterization of α -galactosidase A double mutations and the D313Y plasma enzyme pseudodeficiency allele. *Human Mutation*. 2003;22(6):486-92. doi:10.1002/humu.10275. PMID:14635108.
 15. Aerts JM, Groener JE, Kuiper S, Donker-Koopman WE, Strijland A, Ottenhoff R, van Roomen C, Mirzaian M, Wijburg FA, Linthorst GE, Vedder AC, Rombach SM, Cox-Brinkman J, Somerharju P, Boot RG, Hollak CE, Brady RO, Poorthuis BJ. Elevated globotriaosylsphingosine is a hallmark of Fabry disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(8):2812-7. doi:10.1073/pnas.0712309105. PMID:18287059.
 16. Lenders M, Duning T, Schellekcs M, Schmitz B, Stander S, Rolfs A, Brand SM, Brand E. Multifocal white matter lesions associated with the D313Y mutation of the α -galactosidase A gene. *PLoS ONE*. 2013;8(2):e55565. doi:10.1371/journal.pone.0055565. PMID:23393592.
 17. Moore DF, Altarescu G, Ling GS, Jeffries N, Frei KP, Weibel T, Charria-Ortiz G, Ferri R, Arai AE, Brady RO, Schiffmann R. Elevated cerebral blood flow velocities in fabry disease with reversal after enzyme replacement. *Stroke*. 2002;33(2):525-31. doi:10.1161/hs0202.102601. PMID:11823664.
 18. Emanuel BS, Sellinger BT, Gudas LJ, Myers JC. Localization of the human procollagen alpha 1(IV) gene to chromosome 13q34 by in situ hybridization. *Am J Hum Genet*. 1986 Jan;38(1):38-44. PMID:3753820.
 19. Sibon I, Coupry I, Menegon P, Bouchet JP, Gorry P, Burgelin I, Calvas P, Orignac I, Dousset V, Lacombe D, Orgogozo JM, Arveiler B, Goizet C. COL4A1 mutation in Axenfeld-Rieger anomaly with leukoencephalopathy and stroke. *Ann Neurol*. 2007;62(2):177-84. doi:10.1002/ana.21191. PMID:17696175.
 20. Trüeb B, Gröbli B, Spiess M, Odermatt BF, Winterhalter KH. Basement membrane (type IV) collagen is a heteropolymer. *J Biol Chem*. 1982 May 10;257(9):5239-45. PMID:6802849.
 21. Engel J, Prockop D. The zipper-like folding of collagen triple helices and the effects of mutations that disrupt the zipper. *Ann Rev Biophys Biophys Chem*. 1991;20(1):137-52. doi:10.1146/annurev.bb.20.060191.001033. PMID:1867713.
 22. Germain D, Herrera-Guzman Y. Vascular Ehlers-Danlos syndrome. *Ann Genet*. 2004;47(1):1-9. doi:10.1016/j.anngen.2003.07.002. PMID:15127738.
 23. Schievink WI. Cerebrovascular involvement in Ehlers-Danlos syndrome. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2004;6(3):231-6. doi:10.1007/s11936-996-0018-6. PMID:15096315.
 24. Germain DP. The vascular Ehlers-Danlos syndrome. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2006;8(2):121-7. doi:10.1007/s11936-006-0004-z. PMID:16533486.
 25. North KN, Whiteman DA, Pepin MG, Byers PH. Cerebrovascular complications in Ehlers-Danlos syndrome type IV. *Ann Neurol*. 1995;38(6):960-4. doi:10.1002/ana.410380620. PMID:8526472.
 26. Richards A, van den Maagdenberg AM, Jen JC, Kavanagh D, Bertram P, Spitzer D, Liszewski MK, Barilla-Labarca ML, Terwindt GM, Kasai Y, McLellan M, Grand MG, Vanmolkot KR, de Vries B, Wan J, Kane MJ, Mamsa H, Schäfer R, Stam AH, Haan J, de Jong PT, Storimans CW, van Schooneveld MJ, Oosterhuis JA, Gschwendter A, Dichgans M, Kotschet KE, Hodgkinson S, Hardy TA, Delatycki MB, Hajji-Ali RA, Kothari PH, Nelson SF, Frants RR, Baloh RW, Ferrari MD, Atkinson JP. C-terminal truncations in human 3'-5' DNA exonuclease TREX1 cause autosomal dominant retinal vasculopathy with cerebral leukodystrophy. *Nature Genetics*. 2007;39(9):1068-70. doi:10.1038/ng2082. PMID:17660820.
 27. Mazur DJ, Perrino FW. Structure and Expression of the TREX1 and TREX2 3'-5' Exonuclease Genes. *J Biol Chem*. 2001;276(18):14718-27. doi:10.1074/jbc.m010051200. PMID:11278605.
 28. Mazur DJ, Perrino FW. Identification and expression of the TREX1 and TREX2 cDNA sequences encoding mammalian 3'-5' exonucleases. *J Biol Chem*. 1999;274(28):19655-660. doi:10.1074/jbc.274.28.19655. PMID:10391904.
 29. Grand MG, Kaine J, Fulling K, Atkinson J, Dowton SB, Farber M, Craver J, Rice K. Cerebroretinal vasculopathy: a new hereditary syndrome. *Ophthalmology*. 1988;95(5):649-59. doi:10.1016/s0161-6420(88)33131-3. PMID:3174024.
 30. Epstein F, Bunn H. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. *New Engl J Med*. 1997;337(11):762-9. doi:10.1056/nejm199709113371107. PMID:9287233.
 31. Steinberg MH. Management of sickle cell disease. *New Engl J Med*. 1999;340(13):1021-30. doi:10.1097/00132586-200002000-00056. PMID:10099145.
 32. Platt OS, Thorington BD, Brambilla DJ, Milner PF, Rosse WF, Vichinsky E, Kinney TR. Pain in sickle cell disease. *New Engl J Med*. 1991;325(1):11-6. doi:10.1056/nejm199107043250103. PMID:1710777.
 33. van der Put NM, Gabreëls F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK, van den Heuvel LP, Blom HJ. A Second Common Mutation in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene: An Additional Risk Factor for Neural-Tube Defects? *Am J Hum Genet*. 1998;62(5):1044-51. doi:10.1086/301825. PMID:9545395.
 34. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genetics*. 1995;10(1):111-3. doi:10.1038/ng0595-111. PMID:7647779.
 35. Rozen R. Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Thromb Haemost*. 1997 Jul;78(1):523-6. PMID:9198208.
 36. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab*. 1998;64(3):169-72. doi:10.1006/mgme.1998.2714. PMID:9719624.

37. Gaughan DJ, Kluijtmans LA, Barbaux S, McMaster D, Young IS, Yarnell JW, Evans A, Whitehead AS. The methionine synthase reductase (MTRR) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations. *Atherosclerosis*. 2001;157(2):451-6. doi:10.1016/s0021-9150(00)00739-5. PMID:11472746.
38. Seetharam B, Yammani R. Cobalamin transport proteins and their cell-surface receptors. *Expert Rev Mol Med*. 2003;5(18):1-18. doi:10.1017/s1462399403006422. PMID:14585166.
39. Olteanu H, Munson T, Banerjee R. Differences in the efficiency of reductive activation of methionine synthase and exogenous electron acceptors between the common polymorphic variants of human methionine synthase reductase. *Biochemistry*. 2002;41(45):13378-85. doi:10.1021/bi020536s. PMID:12416982.
40. Ding R, Lin S, Chen D. The association of Cystathionine β Synthase (CBS) T833C polymorphism and the risk of stroke: a meta-analysis. *J Neurol Sci*. 2012;312(1-2):26-30. doi:10.1016/j.jns.2011.08.029. PMID:21917271.
41. Grand MG, Kaine J, Fulling K, Atkinson J, Dowton SB, Farber M, Craver J, Rice K. Cerebroretinal vasculopathy. *Ophthalmology*. 1988;95(5):649-59. doi:10.1016/s0161-6420(88)33131-3. PMID:3174024.
42. Allele Frequency For Polymorphic Site: rs1801133. Locus Name: 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH) [Internet]. The ALLELE FREQUENCY Database; 2014 [cited 2015 February 20]. Available at: http://alfred.med.yale.edu/alfred/SiteTable1A_working.asp?siteuid=SI001032G
43. Rady PL, Szucs S, Grady J, Hudnall SD, Kellner LH, Nitowsky H, Tying SK, Matalon RK. Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase reductase (MTRR) in ethnic populations in Texas; a report of a novel MTHFR polymorphic site, G1793A. *Am J Med Genet*. 2002;107(2):162-8. doi:10.1002/ajmg.10122. PMID:11807892.
44. Jakubowski H. Homocysteine thiolactone: metabolic origin and protein homocysteinylation in humans. *J Nutr*. 2000 Feb;130(2S Suppl):377S-81S. PMID:10721911.
45. Jakubowski H. Protein homocysteinylation: possible mechanism underlying pathological consequences of elevated homocysteine levels. *FASEB* 1999;13(15):2277-83. PMID:10593875.
46. Undas A, Brozek J, Jankowski M, Siudak Z, Szczeklik A, Jakubowski H. Plasma Homocysteine Affects Fibrin Clot Permeability and Resistance to Lysis in Human Subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(6):1397-404. doi:10.1161/01.atv.0000219688.43572.75. PMID:16574890.
47. Undas A, Perla J, Lacinski M, Trzeciak W, Kazmierski R, Jakubowski H. Autoantibodies Against N-Homocysteinylated Proteins in Humans: Implications for Atherosclerosis. *Stroke*. 2004;35(6):1299-304. doi:10.1161/01.str.0000128412.59768.6e. PMID:15131313.
48. Cook R, Wagner C. Glycine N-methyltransferase is a folate binding protein of rat liver cytosol. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1984;81(12):3631-4. doi:10.1073/pnas.81.12.3631. PMID:6587377.
49. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, Sheridan P, Pogue J, Micks M, McQueen MJ, Probstfield J, Fodor G, Held C, Genest J. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med*. 2006;354(15):1567-77. doi:10.1056/nejmoa060900. PMID:6587377.
50. Toole J, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Howard VJ, Sides EG, Wang CH, Stampfer M. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *JAMA*. 2004;291(5):565-75. doi:10.1001/jama.291.5.565. PMID:14762035.
51. Sermon BA, Lowe PN, Strom M, Eccleston JF. The Importance of two conserved arginine residues for catalysis by the ras GTPase-activating protein, neurofibromin. *J Biol Chem*. 1998;273(16):9480-5. doi:10.1074/jbc.273.16.9480. PMID:9545275.
52. Sobata E, Ohkuma H, Suzuki S. Cerebrovascular disorders associated with von Recklinghausen's neurofibromatosis. *Neurosurgery*. 1988;22(3):544-9. doi:10.1097/00006123-198803000-00016. PMID:3129670.
53. Ardelean D, Letarte M. Anti-angiogenic therapeutic strategies in hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Front Genet*. 2015;6(35). doi:10.3389/fgene.2015.00035. PMID:25717337.
54. McAllister K, Baldwin M, Thukkani AK, Gallione CJ, Berg JN, Porteous ME, Guttmacher AE, Marchuk DA. Six novel mutations in the endoglin gene in hereditary hemorrhagic telangiectasia type 1 suggest a dominant-negative effect of receptor function. *Hum Mol Genet*. 1995;4(10):1983-5. doi:10.1093/hmg/4.10.1983. PMID:8595426.
55. Johnson DW, Berg JN, Baldwin M, Gallione CJ, Marondel I, Yoon SJ, Stenzel TT, Speer M, Pericak-Vance MA, Diamond A, Guttmacher AE, Jackson CE, Attisano L, Kucherlapati R, Porteous ME, Marchuk DA. Mutations in the activin receptor-like kinase 1 gene in hereditary haemorrhagic telangiectasia type 2. *Nat Genet*. 1996;13(2):189-95. doi:10.1038/ng0696-189. PMID:8640225.
56. Benzinou M, Clermont F, Letteboer TG, Kim JH, Espejel S, Harradine KA, Arbelaez J, Luu MT, Roy R, Quigley D, Higgins MN, Zaid M, Aouizerat BE, van Amstel JK, Giraud S, Dupuis-Girod S, Lesca G, Plauchu H, Hughes CC, Westermann CJ, Akhurst RJ. Mouse and human strategies identify PTPN14 as a modifier of angiogenesis and hereditary haemorrhagic telangiectasia. *Nat Commun*. 2012;3:613-6. doi:10.1038/ncomms1633. PMID:22233626.
57. Jonker L, Arthur HM. Endoglin expression in early development is associated with vasculogenesis and angiogenesis. *Mech Dev*. 2002;110(1-2):193-6. doi:10.1016/s0925-4773(01)00562-7. PMID:11744382.
58. van Laake L, van den Driesche S, Post S Feijen A, Jansen MA, Driessens MH, Mager JJ, Snijder RJ, Westermann CJ, Doevendans PA, van Echteld CJ, ten Dijke P, Arthur HM, Goumans MJ, Lebrin F, Mummery CL. Endoglin has a crucial role in blood cell-mediated vascular repair. *Circulation*. 2006;114(21):2288-97. doi:10.1161/circulationaha.106.639161. PMID:17088457.
59. Tu J, Stoodley M, Morgan M, Storer K. Ultrastructure of Perinatal Capillaries in Cerebral Arteriovenous Malformations. *Neurosurgery*. 2006;58(5):961-70. doi:10.1227/01.neu.0000210248.39504.b5. PMID:16639333.
60. Mebane-Sims I. Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*. 2009;5(3):234-70. doi:10.1016/j.jalz.2009.03.001. PMID:19426951.
61. Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, Kahn S, Mendiaz EA, Denis P, Teplow DB, Ross S, Amarante P, Loeloff R, Luo Y, Fisher S, Fuller J, Edenson S, Lile J, Jarosinski MA, Biere AL, Curran E, Burgess T, Louis JC, Collins F, Treanor J, Rogers G, Citron M. Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science*. 1999;286(5440):735-41. doi:10.1126/science.286.5440.735. PMID:10531052.
62. Iwatsubo T, Odaka A, Suzuki N, Mizusawa H, Nukina N, Ihara Y. Visualization of A β 42(43) and A β 40 in senile plaques with end-specific A β monoclonals: evidence that an initially deposited species is A β 42(43). *Neuron*. 1994;13(1):45-53. doi:10.1016/0896-6273(94)90458-8. PMID:8043280.
63. Kumar-Singh S, Cras P, Wang R, Kros JM, van Swieten J, Lübke U, Ceuterick C, Serneels S, Vennekens K, Timmermans JP, Van Marck E, Martin JJ, van Duijn CM, Van Broeckhoven C. Dense-Core Senile Plaques in the Flemish Variant of Alzheimer's Disease Are Vasocentric. *Am J Pathol*. 2002;161(2):507-20. doi:10.1016/s0002-9440(10)64207-1. PMID:12163376.
64. Rigamonti D, Hadley MN, Drayer BP, Johnson PC, Hoenig-Rigamonti K, Knight JT, Spetzler RF. Cerebral Cavernous Malformations. *New Engl J Med*. 1988;319(6):343-7. doi:10.1056/nejm198808113190605. PMID:3393196.
65. Clatterbuck RE, Eberhart CG, Crain BJ, Rigamonti D. Ultrastructural and immunocytochemical evidence that an incompetent blood-brain barrier is related to the pathophysiology of cavernous malformations. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 2001;71(2):188-92. doi:10.1136/jnnp.71.2.188. PMID:3393196.
66. Labauge P, Denier C, Bergametti F, Tournier-Lasserre E. Genetics of cavernous angiomas. *Lancet Neurol*. 2007;6(3):237-44. doi:10.1016/s1474-4422(07)70053-4. PMID:17303530.
67. D'Angelo R, Marini V, Rinaldi C, Origone P, Dorcaratto A, Avolio M, Goitre L, Forni M, Capra V, Alafaci C, Mareni C, Garre C, Bramanti P, Sidoti A, Retta SF, Amato A. Mutation Analysis of CCM1, CCM2 and CCM3 Genes in a Cohort of Italian Patients with Cerebral Cavernous Malformation. *Brain Pathol*. 2010;21(2):215-24. doi:10.1111/j.1750-3639.2010.00441.x. PMID:21029238.
68. Liquori CL, Berg MG, Siegel AM, Huang E, Zawistowski JS, Stoffer T, Verlaan D, Balogun F, Hughes L, Leedom TP, Plummer NW, Cannella M, Maglione V, Squitieri F, Johnson EW, Rouleau GA, Ptacek L, Marchuk DA. Mutations in a gene

- encoding a novel protein containing a phosphotyrosine-binding domain cause type 2 cerebral cavernous malformations. *Am J Hum Genet.* 2003;73(6):1459-64. doi:10.1086/380314. PMID:14624391.
69. Zawistowski J, Stalheim L, Uhlik MT, Abell AN, Ancrile BB, Johnson GL, Marchuk DA. CCM1 and CCM2 protein interactions in cell signaling: implications for cerebral cavernous malformations pathogenesis. *Hum Mol Genet.* 2005;14(17):2521-31. doi:10.1093/hmg/ddi256. PMID:16037064.
70. Brown W, George M, Wilson A. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1979;76(4):1967-71. doi:10.1073/pnas.76.4.1967. PMID:109836.
71. Goto Y, Nonaka I, Horai S. A mutation in the tRNA^{Leu}(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature.* 1990;348(6302):651-3. doi:10.1038/348651a0. PMID:2102678.
72. Lertrit P, Noer AS, Jean-Francois MJ, Kapsa R, Dennett X, Thyagarajan D, Lethlean K, Byrnet E, Marzuki S. A new disease-related mutation for mitochondrial encephalopathy lactic acidosis and strokelike episodes (MELAS) syndrome affects the ND4 subunit of the respiratory complex I. *Am. J. Hum. Genet.* 1992;51(6):457-68. PMID:1323207.
73. Yuan P, Salvatore G, Li X, Zhang L, Du J, Chen G, Manji HK. Valproate activates the Notch3/c-FLIP signaling cascade: a strategy to attenuate white matter hyperintensities in bipolar disorder in late life? *Bipolar Disord.* 2009;11(3):256-69. doi:10.1111/j.1399-5618.2009.00675.x. PMID:19419383.
74. Onodera O. [TGF- β family signaling contributes to human cerebral small vessel disease]. *Rinsho Shinkeigaku.* 2011;51(11):943-4. doi:10.5692/clinicalneuro.51.943. PMID:22277429. Japanese.
75. Fellgiebel A, Gartenschläger M, Wildberger K, Scheurich A, Desnick R, Sims K. Enzyme replacement therapy stabilized white matter lesion progression in Fabry disease. *Cerebrovasc Dis.* 2014;38(6):448-56. doi:10.1159/000369293. PMID:25502511.
76. Maurer B, Stanczyk J, Jungel A, Akhmetshina A, Trenkmann M, Brock M, Kowal-Bielecka O, Gay RE, Michel BA, Distler JH, Gay S, Distler O. MicroRNA-29, a key regulator of collagen expression in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2010;62(6):1733-43. doi:10.1002/art.27443. PMID:20201077.
77. Kato M, Wang L, Putta S, Wang M, Yuan H, Sun G, Lanting L, Todorov I, Rossi JJ, Natarajan R. Post-transcriptional up-regulation of Tsc-22 by Ybx1, a target of miR-216a, mediates TGF- β -induced collagen expression in kidney cells. *J Biol Chem.* 2010;285(44):34004-15. doi:10.1074/jbc.m110.165027. PMID:20713358.
78. Parkin J, San Antonio J, Pedchenko V, Hudson B, Jensen S, Savage J. Mapping structural landmarks, ligand binding sites, and missense mutations to the collagen IV heterotrimers predicts major functional domains, novel interactions, and variation in phenotypes in inherited diseases affecting basement membranes. *Hum Mutat.* 2011;32(2):127-43. doi:10.1002/humu.21401. PMID:21280145.
79. Hsia CJ, Ma L. A hemoglobin-based multifunctional therapeutic: polynitroxylated pegylated hemoglobin. *Artif Organs.* 2011;36(2):215-20. doi:10.1111/j.1525-1594.2011.01307.x. PMID:21955160.
80. Yap S, Boers GH, Wilcken B, Wilcken DE, Brenton DP, Lee PJ, Walter JH, Howard PM, Naughten ER. Vascular outcome in patients with homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency treated chronically: a multicenter observational study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(12):2080-5. doi:10.1161/hq1201.100225. PMID:11742888.
81. Strauss KA, Morton DH, Puffenberger EG, Hendrickson C, Robinson DL, Wagner C, Stabler SP, Allen RH, Chwatko G, Jakubowski H, Niculescu MD, Mudd SH. Prevention of brain disease from severe 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Mol Genet Metab.* 2007;91(2):165-75. doi:10.1016/j.ymgme.2007.02.012. PMID:17409006.
82. Bhardwaj P, Sharma R, Sharma M. Homocystinuria: a rare condition presenting as stroke and megaloblastic anemia. *J Pediatr Neurosci.* 2010;5(2):129-31. doi:10.4103/1817-1745.76110. PMID:21559159.
83. Cook S, Hess OM. Homocysteine and B vitamins. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2005;170:325-38. PMID:16596805.
84. Alurkar A, Prasanna Karanam LS, Oak S. Endovascular treatment of ruptured saccular aneurysm from basilar artery fenestration. *J Vasc Interv Neurol.* 2014;7(1):5-7. doi:10.4103/0028-3886.105227. PMID:24920981.
85. Yamada M. Cerebral amyloid angiopathy: emerging concepts. *J Stroke.* 2015;17(1):17-30. doi:10.5853/jos.2015.17.1.17. PMID:25692104.
86. Gibson CC, Zhu W, Davis CT, Bowman-Kirigin JA, Chan AC, Ling J, Walker AE, Goitre L, Delle Monache S, Retta SF, Shiu YT, Grossmann AH, Thomas KR, Donato AJ, Lesniewski LA, Whitehead KJ, Li DY. Strategy for identifying repurposed drugs for the treatment of cerebral cavernous malformation. *Circulation.* 2014;131(3):289-99. doi:10.1161/circulationaha.114.010403. PMID:25486933.
87. Procaccio V, Bris C, Chao de la Barca J, Oca F, Chevrollier A, Amati-Bonneau P, Bonneau D, Reynier P. Perspectives of drug-based neuroprotection targeting mitochondria. *Rev Neurol.* 2014;170(5):390-400. doi:10.1016/j.neurol.2014.03.005. PMID:24792485.
88. Bevan S, Traylor M, Adib-Samii P, Malik R, Paul NL, Jackson C, Farrall M, Rothwell PM, Sudlow C, Dichgans M, Markus HS. Genetic heritability of ischemic stroke and the contribution of previously reported candidate gene and genomewide associations. *Stroke.* 2012;43(12):3161-7. doi:10.1161/strokeaha.112.665760. PMID:23042660.
89. Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Manolescu A, Styrkarsdottir U, Helgadóttir A, Gschwendtner A, Kostulas K, Kuhlenbäumer G, Bevan S, Jonsdóttir T, Bjarnason H, Saemundsdóttir J, Palsson S, Arnar DO, Holm H, Thorgeirsson G, Valdimarsson EM, Sveinbjörnsdóttir S, Gieger C, Berger K, Wichmann HE, Hillert J, Markus H, Gulcher JR, Ringelstein EB, Kong A, Dichgans M, Gudbjartsson DF, Thorsteinsdóttir U, Stefansson K. Risk variants for atrial fibrillation on chromosome 4q25 associate with ischemic stroke. *Ann Neurol.* 2008;64(4):402-9. doi:10.1002/ana.21480. PMID:18991354.
90. Williams FM, Carter AM, Hysi PG, Surdulescu G, Hodgkiss D, Soranzo N, Traylor M, Bevan S, Dichgans M, Rothwell PM, Sudlow C, Farrall M, Silander K, Kaunisto M, Wagner P, Saarela O, Kuulasmaa K, Virtamo J, Salomaa V, Amouyel P, Arveiler D, Ferrières J, Wiklund PG, Ikram MA, Hofman A, Boncoraglio GB, Parati EA, Helgadóttir A, Gretarsdóttir S, Thorsteinsdóttir U, Thorleifsson G, Stefansson K, Seshadri S, DeStefano A, Gschwendtner A, Psaty B, Longstreth W, Mitchell BD, Cheng YC, Clarke R, Ferrario M, Bis JC, Levi C, Attia J, Holliday EG, Scott RJ, Fornage M, Sharma P, Furie KL, Rosand J, Nalls M, Meschia J, Mosely TH, Evans A, Palotie A, Markus HS, Grant PJ, Spector TD; EuroCLOT Investigators; Wellcome Trust Case Control Consortium 2; MOnica Risk, Genetics, Archiving and Monograph; MetaStroke; International Stroke Genetics Consortium. Ischemic stroke is associated with the ABO locus: The EuroCLOT study. *Ann Neurol.* 2013;73(1):16-31. doi:10.1002/ana.23838. PMID:23381943.
91. Gschwendtner A1, Bevan S, Cole JW, Plourde A, Matarin M, Ross-Adams H, Meitinger T, Wichmann E, Mitchell BD, Furie K, Slowik A, Rich SS, Syme PD, MacLeod MJ, Meschia JF, Rosand J, Kittner SJ, Markus HS, Müller-Myhsok B, Dichgans M; International Stroke Genetics Consortium. Sequence variants on chromosome 9p21.3 confer risk for atherosclerotic stroke. *Ann Neurol.* 2009;65(5):531-9. doi:10.1002/ana.21590. PMID:19475673.
92. International Stroke Genetics Consortium (ISGC); Wellcome Trust Case Control Consortium 2 (WTCCC2), Bellenguez C, Bevan S, Gschwendtner A, Spencer CC, Burgess AI, Pirinen M, Jackson CA, Traylor M, Strange A, Su Z, Band G, Syme PD, Malik R, Pera J, Norrving B, Lemmens R, Freeman C, Schanz R, James T, Poole D, Murphy L, Segal H, Cortellini L, Cheng YC, Woo D, Nalls MA, Müller-Myhsok B, Meisinger C, Seedorf U, Ross-Adams H, Boonen S, Wloch-Kopec D, Valant V, Slark J, Furie K, Delavaran H, Langford C, Deloukas P, Edkins S, Hunt S, Gray E, Dronov S, Peltonen L, Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Stefansson K, Boncoraglio GB, Parati EA, Attia J, Holliday E, Levi C, Franzosi MG, Goel A, Helgadóttir A, Blackwell JM, Bramon E, Brown MA, Casas JP, Corvin A, Duncanson A, Jankowski J, Mathew CG, Palmer CN, Plomin R, Rautanen A, Sawcer SJ, Trembath RC, Viswanathan AC, Wood NW, Worrall BB, Kittner SJ, Mitchell BD, Kissela B, Meschia JF, Thijs V, Lindgren A, Macleod MJ, Slowik A, Walters M, Rosand J, Sharma P, Farrall M, Sudlow CL, Rothwell PM, Dichgans M, Donnelly P, Markus HS. Genome-wide association study identifies a variant in HDAC9 associated with large vessel ischemic stroke. *Nat Genet.* 2012;44(3):328-33. doi:10.1038/ng.1081. PMID:22306652.