

Akut Koroner Sendromlu Hastalarda MTHFR 677C/T Polimorfizmi

MTHFR 677C/T Polymorphism in Patients with Acute Coronary Syndrome

İbrahim Gül,

MD.,
Department of Cardiology,
Erciyes University Medical Faculty
dribrahimgul@hotmail.com

Namık Kemal Eryol,

MD.,
Department of Cardiology,
Erciyes University Medical Faculty

Nihat Kalay,

MD.,
Department of Cardiology,
Erciyes University Medical Faculty

Yakup Çetinkaya,

MD.,
Department of Cardiology,
Erciyes University Medical Faculty

Esin Fatma Kayaaltı,

MD.,
Department of Cardiology,
Erciyes University Medical Faculty

İbrahim Özdoğru,

MD.,
Department of Cardiology,
Erciyes University Medical Faculty

Ekrem Karakaya,

MD.,
Department of Cardiology,
Erciyes University Medical Faculty

Zakir Karadağ,

MD.,
Department of Cardiology,
Erciyes University Medical Faculty

This manuscript can be downloaded from the webpage:
[http://tipdergisi.erciyes.edu.tr/Project6/2007;29\(5\)369-375.pdf](http://tipdergisi.erciyes.edu.tr/Project6/2007;29(5)369-375.pdf)

Submitted : October 11, 2006
Revised : February 28, 2007
Accepted : March 28, 2007

Corresponding Author:

İbrahim Gül,
Department of Cardiology,
Erciyes University Medical Faculty
Kayseri, Turkey

E-mail : dribrahimgul@hotmail.com

Özet

Amaç: Metiltetrahidrofolat redüktaz enziminin kodlayan gendeki 677C/T polimorfizminde 677TT genotipi, yüksek homosistein düzeyleriyle ilişkilidir. Bu çalışmada akut koroner sendrom (AKS) alt gruplarında 677TT genotip sıklığı ve bu polimorfizmin AKS'li hastalarda koroner arter hastalığı (KAH) risk faktörleri ve anjiyografik bulgularla ilişkisi araştırıldı.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya AKS tanısıyla hastanede yatan ve koroner anjiyografi yapılan hastalar alındı. ST yükselmesi olmayan AKS hastalarından bir grup (Grup I) ve ST yükselmeli MI hastalarından bir grup (Grup II) oluşturuldu. Hastaların klinik özellikleri ve KAG bulguları kaydedildi. Genetik analiz 'CVD strip assay' yöntemiyle yapıldı.

Bulgular: Gruplar arasında temel klinik özellikler açısından fark yoktu. Grup I'de MTHFR 677TT genotip sıklığı %33,3 (n=5) ve grup II'de %10 (n=5) bulundu; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,08). MTHFR 677TT genotipi taşıyanlar ve diğer hastalar arasında klinik özellikler ve anjiyografik bulgular farklı değildi.

Sonuç: Bu çalışmadaki bulgular, MTHFR 677C/T polimorfizminin AKS hastalarında damarın trombusla tıkanma düzeyini etkilemediğini ve bu polimorfizmin KAH risk faktörleri ve ateroskleroz yaygınlığını ve şiddetiyle ilişkili olmadığını düşündürdü.

Anahtar Sözcükler: **Koroner anjiyografi; Koroner arter hastalığı; Metiltetrahidrofolat redüktaz; Polimorfizmi.**

Abstract

Purpose: The 677TT genotype in 677C/T polymorphism of methyltetrahydrofolate reductase gene is related with hyperhomocysteinemia. The aims of this study were to investigate the frequencies of this polymorphism in subgroups of acute coronary syndromes (ACS), the relationship of this polymorphism with coronary risk factors, and clinical and angiographic findings of present patients.

Material and Methods: The present study included patients hospitalized due to ACS and underwent coronary angiography. Group I of 2 groups consisted of patients with ACS with no ST elevation and group II was composed of patients with ST elevation myocardial infarction. The clinical and angiographical findings of patients were recorded. Genetic analyses were carried out by CVD strip assay.

Results: Basal characteristics were not different between the groups. The frequency of MTHFR TT genotype was 33,3% (n=5) in group I and 10% (n=5) in group II. No statistically significant difference was observed (p=0,08). The clinical and angiographical findings were not different between the patients with MTHFR TT genotype and the others.

Conclusion: The findings of this study suggest that the MTHFR 677C/T polymorphism had no effect on the level of occlusion of the vessel with thrombus in ACS, polymorphism is not related with the clinical and angiographical findings in patients with ACS.

Key Words: **Coronary angiography; Coronary artery disease; Methylenetetrahydrofolate Reductase; Polymorphism.**

Giriş

Koroner arter hastalığı(KAH) gelişiminde bir çok çevresel ve genetik kardiyovasküler risk faktörünün etkili olduğu ortaya konmuştur (1,2). Koroner arter hastalarının en sık hastaneye başvuru şekli akut koroner sendromlardır (3). Akut koroner sendrom(AKS) patogenezi ele alındığında temel olarak iki farklı tablo ortaya çıkar; koroner arterin trombüsle tam ya da tama yakın tıkandığı ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü (STEMI) ve koroner arterin tam tıkanma olmadan ciddi derecede daraldığı ST segment yükselmesi olmayan miyokard infarktüsü (NSTEMI) ve kararsız angina pectoris (UAP)(4). Ancak AKS gelişen hastalarda, koroner arterlerin neden bazı hastalarda tam tıkandığı bazılarındaysa tam tıkanmadan daraldığı açıkça bilinmemektedir. Bununla birlikte, aterosklerotik plağın ve koroner arterin yapısı gibi yerel faktörlerin ve koagülasyon sisteminin durumu gibi sistemik faktörlerin, damarın trombüsle tıkanma düzeyi üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir (5).

Homosistein, sülfür içeren bir aminoasittir ve metiyonin metabolizmasında bir ara bileşik olarak ortaya çıkar. Epidemiyolojik çalışmalar, yüksek homosistein düzeylerinin ateroskleroz (AS) ve arteriyel tromboz için bağımsız bir risk faktörü olduğuna işaret etmektedir (6,7). Yüksek homosistein düzeylerinin, vücut için çeşitli istenmeyen etkileri vardır ve bu etkilerin sonucunda trombosit aktivasyonu ve trombüs oluşumuna neden olan endotel disfonksiyonu meydana gelir (8). Ciddi homosistein yüksekliklerine neden olan sistatyon beta sentetaz eksikliği gibi doğuştan metabolizma hastalıkları dışında, hafif veya orta derecede homosistein yüksekliği yapan genetik anormallikler de mevcuttur. Bu genetik anormallikler daha çok metiyonin metabolizmasında yer alan metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimini sentezlettiren gende görülmektedir.

Bu çalışmada MTHFR 677C/T polimorfizminin AKS alt gruplarındaki sıklığı ve hastalardaki AS şiddeti ve yaygınlığı üzerine etkileri incelendi.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmaya Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Ana Bilim Dalı' na 2005 yılı Ağustos ve Aralık ayları arasında AKS tanısıyla başvuran ve koroner anjiyografi (KAG) yapılan hastalar alındı. Çalışmada iki grup tasarlandı. Grup I UAP ve NSTEMI tanısı alan hastalardan, grup II ise STEMI tanısı alan hastalardan oluşturuldu.

Daha önceden KAH tanısı alan, AKS geçirmiş veya perkütan koroner girişim uygulanmış hastalar; aspirin, klopidogrel veya warfarin gibi koagülasyon sistemini etkileyen ilaç kullananlar; hiperkoagülabilite veya kanama diatezi yapan hematolojik hastalığı olanlar ve malignensi bulunan hastalar; ayrıca tam kan sayımında trombosit sayısı 150.000/ml' nin altında veya 400.000/ml' nin üzerinde olan hastalar, INR değeri 1,5' in üzerinde olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Hastaların EKG ve KAG bulgularına göre infarkt veya iskekiye ilişkili koroner arter belirlendi. İnfarkt veya iskekiye ilişkili damarın çapı aynı görüntüdeki kateterin çapı referans alınarak ölçüldü. Hastaların tüm koroner arterleri incelenerek darlık düzeyi %10 veya daha fazla olan hasta damar sayısı (\geq %10 HDS), darlık düzeyi en az %50 ve daha fazla olan hasta damar sayısı (\geq %50 HDS) ve tüm koroner arterlerdeki toplam kritik ($>$ %70) lezyon sayısı hesaplandı. Ayrıca tüm lezyonlar ACC/AHA lezyon klasifikasyonuna göre sınıflandırıldı (9). Tip A, B ve C lezyon sıklığı araştırılarak lezyon morfolojisi ile genetik polimorfizm arasındaki ilişki araştırıldı.

Aterosklerotik lezyonlardaki stenoz şiddet belirlenmesinde Gensini skoru kullanıldı (10,11). Ateroskleroz şiddetini değerlendirmek için Extent skoru kullanıldı (12). Hastaların genetik yapıları "CVD Strip Assay" yöntemiyle belirlendi (13).

İstatistiksel analiz SPSS 13.0 bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığını saptamak için Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. Sayısal değişkenler ortalama±standart sapma (Ort.±SS) ve ortanca(minimum-maksimum) şeklinde ifade edildi. İki grup arasında normal dağılıma uymayan verilerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi uygulandı. Normal dağılıma uyan verilerin karşılaştırılmasında Student T testi kullanıldı. Yüzdelik verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. Tüm istatistiklerde p değerinin 0,05 altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya toplam 35 hasta alındı (ortalama yaş=61,65±11,5). Grup I' de 15 (9 erkek, 6 kadın), grup II' de 20 (13 erkek, 7 kadın) hasta vardı. Grup I' deki hastaların dördünde NSTEMI, 11' inde UAP vardı; grup II' deki hastaların 13' ünde anterior, 7' sinde inferior MI tanısı konmuştu. Gruplar arasında cinsiyet, yaş, sigara içimi, DM ve HT sıklığı ve kan lipit düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Hastaların temel klinik özellikleri Tablo 1' de gösterilmiştir. Grup I ve II arasında Tip A, B ve C lezyon dağılımı, lezyon sayıları ve hasta damar sayıları farklı değildi. Gensini ve Extent skorları da gruplar arasında farklılık göstermedi (Tablo 2).

Grup I' de MTHFR 677TT genotipi taşıyan 5 (%33,3) kişi, grup II' de 2 (%10) kişi vardı ve fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 3).

Tüm hastalar 677TT genotipi taşıyanlar (n=14) ve diğer genotipleri taşıyanlar (n=21) olarak ayrıldı. Bu iki grup arasında klinik özellikler ve anjiyografik bulguların farklı olup olmadığına bakıldığında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 4).

Tablo I. Hastaların temel klinik özelliklerinin Grup I ve II' de karşılaştırılması.

	Grup I (n = 15)	Grup II (n = 20)	p
Yaş (yıl)	62,66±10,5 62(48-79)	60,90±12,5 65(43-87)	0,64
Cins (erkek/kadın)	9/6	13/7	1,00
Diabetes Mellitus	%26,6	%15	0,39
Hipertansiyon	%33,3	%30	0,83
Sigara	%46,6	%75	0,08
Aile öyküsü	%33,3	%25	0,58
Total Kol. (mg/dl)	171,93±32,3	164,20±48,9	0,65
LDL Kol. (mg/dl)	104,06±25,9	103,85±35,8	0,81
HDL Kol. (mg/dl)	48,73±11,3	43,25±12,	0,30

Sonuçlar ortalama ± SS olarak ve normal dağılıma uymayan değişkenler ayrıca ortanca(minimum-maksimum) olarak da ifade edildi.

Tablo II. Hastalardaki anjiyografik özelliklerin Grup I ve II' de karşılaştırılması.

	Grup I (n = 15)	Grup II (n = 20)	p
Damar Çapı	2,98±0,4	3,20±0,8	0,32
≥%10 HDS	2,13±1,0 3(0-3)	2,30±0,73 2(1-3)	0,82
≥%50 HDS	1,53 ±1,18	1,60±0,8	0,84
Kritik Lezyon Sayısı	2,20±2,1	1,80±0,9	0,46
Tip A Lezyon Sayısı	0,33±0,6 0(0-3)	0,31±0,7 0(0-3)	0,72
Tip B Lezyon Sayısı	1,13±1,7 1(0-6)	1,15±0,6 1(0-2)	0,16
Tip C Lezyon Sayısı	0,86±0,9 1(0-3)	0,42±0,5 0(0-1)	0,21
Gensini Skoru	6,66±5,1	6,65±2,7	0,99
Extent Skoru	19,73±19,1	13,20±6,5	0,16

Sonuçlar ortalama ± SS olarak ve normal dağılıma uymayan değişkenler ayrıca ortanca(minimum-maksimum) olarak da ifade edildi. HDS: Hasta Damar Sayısı.

Tablo III. Grup I ve II' deki genotip sıklıkları.

	Grup I (n = 15)	Grup II (n = 20)	p
MTHFR 677TT, n(%)	6 (%40)	8 (%40)	1,0
MTHFR 1298CC, n(%)	8 (%53,3)	13 (%65)	0,72

Tablo IV. MTHFR 677C/T polimorfizmiyle hastaların temel klinik

	677TT genotipi taşımayanlar (n=21)	677TT genotipi taşımayanlar (n=14)	P
Yaş (yıl)	59,19±10,8 62(43-87)	65,35±12,1 64(48-76)	0,12
Cins (erkek/kadın)	11/10	11/3	0,11
Diabetes Mellitus	%9,5	%35,7	0,58
Hipertansiyon	%23,8	%42,9	0,23
Sigara	%71,4	%50	0,19
Aile öyküsü	%28,6	%28,6	1,0
Total Kol. (mg/dl)	171,9±40,5	160,9±45,4	0,46
LDL Kol. (mg/dl)	103,76±31,9	104,21±32,1	0,96
HDL Kol. (mg/dl)	44,52±10,8	47,21±13,8	0,52
4%10 HDS	2,09±0,9 3(1-3)	2,42±0,7 2(0-3)	0,27
4%50 HDS	1,61±1,02	1,50±0,9	0,73
Kritik Lezyon Sayısı	2,14±1,7	1,71±1,13	0,43
Tip A Lezyon Sayısı	0,28±0,7 0(0-3)	0,38±0,6 0(0-1)	0,68
Tip B Lezyon Sayısı	1,33±1,4 1(0-6)	0,84±0,68 1(0-2)	0,27
Tip C Lezyon Sayısı	0,57±0,6 0(0-3)	0,69±0,9 1(0-2)	0,66
Gensini Skoru	6,76±4,3	6,50±3,2	0,84
Extent Skoru	15,57±14,2	16,64±12,9	0,82

Sonuçlar Ortalama ± SS olarak ve normal dağılıma uymayan değişkenler ayrıca ortanca(minimum-maksimum) olarak da ifade edildi.

Tartışma

Metilentetrahidrofolat redüktaz enzimini kodlayan gende 677. sırada görülen polimorfizm, enzimin folat bağlayan bölgelerinden birinde valin aminoasidi yerine alaninin geçmesiyle sonuçlanır. Bu değişim enzimde termolabiliteye yol açar ve fonksiyonlarını bozar ve bu polimorfizmi taşıyan insanlarda homosistein düzeyleri daha yüksektir(14). Hafif veya orta derecede hiperhomosisteinemi yapan MTHFR 677TT genotipinin aterotrombotik hastalıkla ilişkisi açık değildir. Bir çalışmada 12 vaka-kontrol çalışmasının sonuçları bir havuzda toplanarak incelenmiş ve MTHFR 677T aleli için homozigot olan bireylerin açlık homosistein düzeylerinin, heterozigot olanlara veya bu aleli taşımayanlara göre 2-4 imol/L daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu çalışmaların sekizinde MTHFR 677TT genotipinin KAH gelişimiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (15,16). Bu çalışmaların bulgularına göre, bu genotipi taşıyan insanlarda KAH riski diğerlerine göre ortalama 3 kat fazladır. Diğer dört çalışmada MTHFR 677TT genotipi ve KAH gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar MTHFR 677C/T polimorfizmi ve folat düzeyi arasındaki etkileşime bağlı olabilir. Homosistein metabolizmasında yer alan folat B12 ve B6 vitaminlerinin serum düzeyleriyle homosistein seviyesinin ters orantılı olduğu bilinmektedir (17). Bir çalışmada MTHFR 677TT genotipi taşıyanlardan sadece plazma folat konsantrasyonları 15.4 nmol/ml' nin altında olanlarda hiperhomosisteinemi olduğu, folat düzeyi normal olanlarda homosistein seviyesinin de normal olduğu saptanmıştır (18). Benzer şekilde "US Physician's Health Study" çalışmasında folat konsantrasyonları en düşük düzeylerde olanların homosistein düzeyleri en yüksek seviyelerdeydi (19).

Metilentetrahidrofolat redüktaz enzimini kodlayan gende görülen başka bir polimorfizm olan 1298A/C polimorfizmi de hem in vitro hem de in vivo enzim aktivitesini azaltmaktadır (20). İki polimorfizmin aynı anda bulunduğu hastalarda açlık homosistein düzeyleri daha da yüksek bulunmaktadır (21). Bu iki polimorfizm birlikteliğinin nadir görüldüğü bildirilmiştir (22). Bu çalışmada 2 hastada (%0,057) rastlandı. Bu iki hastada da MTHFR 677CC genotipi vardı. Bu nedenlerle bu polimorfizme yönelik analiz yapılmadı. Daha önceki çalışmalarda genel populasyon için bildirilen polimorfizm sıklıkları, bu çalışmanın hasta grubunda elde edilenden daha düşük

oranlardadır, ancak genetik varyasyonlar ırklar arasında farklılık göstermektedir. Beyaz ırkta MTHFR 677TT genotip sıklığının %12 civarında olduğu bildirilmektedir (23). Bu çalışmada % 20 oranında bulunmuştur. Bununla birlikte çalışmada kontrol grubu olmadığından, bu çalışmanın yapıldığı toplulukta MTHFR 677TT genotipi ve KAH gelişimi ilişkisi analiz edilemedi.

Akut koroner sendromlardaki koroner arter trombozunun arteri her zaman tam tıkanmadığı bilinmektedir. ST segment yükselmeli MI' de tam veya tama yakın tıkanma varken, UAP veya NSTEMI' de akut tromboz tam tıkanıcı olmayan bir lezyon (% 80-95) oluşturur (24-27). Aterosklerotik plağın çatlaması sonrası başlayan trombotik yanıt, lokal ve sistemik faktörlerden etkilenerek oluşacak trombüsün büyüklüğünü ve damarın trombüsle tıkanma düzeyini belirler. Akut koroner sendromların ST yükselmesine göre sınıflandırılan alt gruplarında koroner arterin tam veya tam olmayan tıkanmasını etkileyen faktörleri doğrudan araştıran çalışmalar bulunmamaktadır, çünkü daha önceki AKS sınıflandırmaları Q dalgasının olup olmamasına göre yapılmaktaydı. Ancak gözlemsel veriler, yaşlılarda ve daha önceden MI geçirmiş hastalarda NSTEMI' nin daha çok görüldüğüne işaret etmektedir (28). ST segment yükselmeli MI' ye neden olan aterosklerotik plakların daha kompleks ve düzensiz yapıda olduğu bulunmuştur ve STEMI' ye neden olan trombüsler çoğu zaman 1 cm' den daha uzundur (29). Q dalgası olmayan MI ve UAP' teki trombüslerde trombositlerin daha yoğun olduğu, buna karşın Q dalgalı MI (QMI) geçiren hastalarda olaya neden olan trombüsün daha fazla miktarda fibrin içerdiği, bu hastalarda koagülasyon sisteminin daha fazla aktive olduğu ve antitrombotik, fibrinolitik mekanizmaların daha az çalıştığı konusundaki veriler STEMI için de geçerli olabilir. Çünkü bu verilerin elde edildiği otopsi çalışmasında QMI geçiren hastaların tam tıkalı koroner arterlerinden çıkarılan trombüslerde fibrin içeriğinin daha fazla olduğu bulunmuştur ve STEMI' lerde de koroner arterler genellikle tam tıkanma göstermektedir (30).

Bu çalışmada AKS'un iki alt grubunda MTHFR 677C/T polimorfizm sıklıklarının farklı olmadığı bulundu. Bu bulgular MTHFR 677C/T polimorfizminin AKS gelişiminde damarın trombüsle tıkanma düzeyi üzerine etkilerinin olmadığı şeklinde yorumlandı.

Çalışmadaki 35 hastanın da AKS hastası olduğu göz önüne alındığında MTHFR 677C/T polimorfizmiyle diğer

özelliklerin karşılaştırılması, bu özelliklerin ve özellikle KAH risk faktörlerinin bu polimorfizmle birlikte görüldüğünde, hastalarda AKS' un ortaya çıkışı üzerine etkili olup olmadıkları hakkında fikir verebilir. Bu amaçla yapılan analizlerde MTHFR 677TT genotipi taşıyanlar ve diğer hastalar arasında klinik ve anjiyografik özelliklerin farklı olmadığı bulundu. Bu bulgular, aynı zamanda, MTHFR 677C/T polimorfizminin KAH şiddeti ve yaygınlığını etkilemediğine de işaret etmektedir. Çalışmanın retrospektif olması, kontrol grubu içermemesi ve hasta sayısı kısıtlayıcı özellikleri olarak sayılabilir.

Kaynaklar

1. Kullo IJ, Gau GT, Tajik AJ. Novel risk factors for atherosclerosis. *Mayo Clin Proc.* 2000;75:369-380.
2. Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de Faire U. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1994;330:1041-1046.
3. Chockalingam A, Balaguer-Vintro I. Impending Global Pandemic Of Cardiovascular disease; Challenges and Opportunities for the Prevention and Control of Cardiovascular Diseases in Developing Countries and Economies in Transition. *Can J Cardiol* 2000;16:231-235.
4. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (committee on the management of patients with unstable angina). *Circulation* 2000;102:1193-1209.
5. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995; 16 (suppl L):3-7.
6. Mangoni AA, Jackson SH. Homocysteine and cardiovascular disease: current evidence and future prospects. *Am J Med* 2002;112:556-565.
7. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a metaanalysis. *JAMA* 2002;288:2015-2022.
8. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998;338:1042-1050.
9. Zaacks SM, Allen JE, Calvin JE, et al. Value of The American College of Cardiology/American Heart Association Stenosis Morphology Classification for Coronary Interventions in the Late 1990s *Am J Cardiol* 1998;82:43-49.
10. Gensini GG, Kelly AE. Incidence and progression of coronary artery disease. *Arch Intern Med* 1972;129:814-823.
11. Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1983;51:606-607.
12. Sullivan DR, Marwick TH, Freedman SB. A new method of scoring coronary angiograms to reflect extent of coronary atherosclerosis and improve correlation with major risk factors. *Am Heart J* 1990;119:1262-1267.
13. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215-1226.
14. Kang SS, Zhou J, Wong PW, Kowalyszyn J, Strokosch G. Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet* 1988;43:414-421.
15. Fletcher O, Kessler AM. MTHFR association with arteriosclerotic vascular disease? *Hum Genet* 1998;103:11-21.
16. Kelly PJ, Rosand J, Kistler JP, Shih VE, Silveira S, Plomaritoglou A, Furie KL. Homocysteine, MTHFR 677C/T polymorphism, and risk of ischemic stroke: results of a meta-analysis. *Neurology* 2002;59:529-536.
17. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993;270:2693-2698.
18. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;93:7-9.
19. Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH, Frosst P, Selhub J, Horsford J, Malinow MR, Willett WC, Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation* 1996;94:2410-2416.
20. 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;64:169-172.

21. Weisberg IS, Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Chen Z, Curtis Ellison R, Eckfeldt JH, Rozen R. The 1298A3C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): in vitro expression and association with homocysteine. *Atherosclerosis* 2001;156:409–415.
22. Ogino S, Wilson RB. Genotype and haplotype distributions of MTHFR677C3T and 1298A3C single nucleotide polymorphisms: a meta-analysis. *J Hum Genet* 2003;48:1–7.
23. Nordlie MA, Wold LE, Kloner RA. Genetic contributors toward increased risk for ischemic heart disease. *J Mol Cel Card* 2005;39:667-679.
24. De Wood MA, Spores J, Notske R, et al. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *N Engl J Med* 1980; 303:897-902.
25. TIMI Study Group. The Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial: Phase I findings. *N Engl J Med* 1985;312:932-936.
26. De Wood MA, Stifter WF, Simpson CS, et al. Coronary arteriographic findings soon after non-Q wave myocardial infarction. *N Engl J Med* 1986;315:414-423.
27. TIMI IIIA Investigators. Early effects of tissue-type plasminogen activator added to conventional therapy on the culprit lesion in patients presenting with ischemic cardiac pain at rest: Results of the Thrombolysis in Myocardial Ischemia (TIMI IIIA) trial. *Circulation* 1993;87:38-52.
28. Mitchell JRA, Schwartz CJ. The relation between myocardial lesions and coronary artery disease: a selected group of patients with massive cardiac necrosis or scarring. *Br Heart J* 1963;25:1–25.
29. Falk E. Coronary thrombosis: pathogenesis and clinical manifestations. *Am J Cardiol* 1991;68:28B-35B
30. Sinapius D. Zur Morphologie verschliessender Koronarthromben. *Dtsch Med Wochenschr* 1972;97:544 –551.