

VARIABILIDADE GENÉTICA MTHFR NO DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA ARTERIAL CORONÁRIA

PATRICIA MATOS BISELLI¹, ALEXANDRE RODRIGUES GUERZONI², ENY MARIA GOLONI-BERTOLLO^{*3}, MOACIR FERNANDES DE GODOY⁴, JULIANA APARECIDA BARCELOS ABOU-CHAHLA⁵, ÉRIKA CRISTINA PAVARINO-BERTELLI⁶

Trabalho realizado na Unidade de Pesquisa em Genética e Biologia Molecular - UPGEM, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP

RESUMO

OBJETIVO. Concentração elevada de homocisteína (Hcy) é considerada um fator de risco para doença arterial coronária (DAC). Alterações genéticas da enzima metilenoetetrahidrofolato redutase (MTHFR), envolvida no metabolismo da Hcy, podem reduzir sua termolabilidade contribuindo para o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas. O objetivo deste estudo foi investigar a relação entre os polimorfismos MTHFR C677T e A1298C e a presença, extensão e gravidade da DAC.

MÉTODOS. Foram avaliados 175 pacientes com DAC, confirmada por angiografia e 108 indivíduos sem DAC (grupo controle). O polimorfismo MTHFR C677T foi investigado por reação em cadeia da polimerase (PCR) seguida de digestão enzimática. A genotipagem do polimorfismo MTHFR A1298C foi realizada pela técnica de PCR alelo-específica.

RESULTADOS. A frequência do alelo alterado MTHFR 677C foi de 0,38 no grupo DAC e 0,37 no grupo controle. Em relação ao alelo polimórfico MTHFR 1298C, a frequência foi de 0,22 e 0,27, respectivamente. As distribuições genotípicas MTHFR C677T e A1298C não diferiram em relação ao número de artérias lesadas ($P > 0,05$). Também não foi observada relação entre o polimorfismo para MTHFR C677T e grau de obstrução arterial coronária ($P > 0,05$), assim como MTHFR A1298C ($P > 0,05$).

CONCLUSÃO. Nossos resultados não demonstraram associação entre os polimorfismos MTHFR A1298C e MTHFR C677T e presença, extensão ou gravidade da DAC.

UNITERMOS: Doença arterial coronária. Polimorfismos genéticos. Enzima MTHFR.

*Correspondência:

Unidade de Pesquisa em Genética e Biologia Molecular – UPGEM
Departamento de Biologia Molecular
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP
Av. Brigadeiro Faria Lima, n.º5416 - Bloco U-6
São José do Rio Preto – SP
CEP: 15.090-000
Telefone: (17) 3201-5720
Fax: (17) 3201-5708
eny.goloni@famerp.br

INTRODUÇÃO

Concentração elevada de homocisteína (Hcy) plasmática é considerada um fator de risco para doença arterial coronária (DAC)¹. Diversas enzimas e cofatores desempenham papel importante no metabolismo desse aminoácido. A enzima 5,10 metilenoetetrahidrofolato redutase (MTHFR) catalisa a conversão de 5,10-metilenoetetrahidrofolato em 5-metiltetrahydrofolato, principal forma circulante de folato, que é requerido para uma série de vias metabólicas, incluindo a metilação da Hcy para metionina².

Na espécie humana, concentrações elevadas de Hcy estão associadas à presença do polimorfismo C677T no gene *MTHFR*, que resulta em termolabilidade e atividade reduzida da enzima MTHFR³. Outro polimorfismo no gene *MTHFR*, uma substituição de adenina para citosina no nucleotídeo 1298, causa mudança de ácido glutâmico para alanina na proteína produzida. A contribuição desse polimorfismo para a atividade enzimática é

questionável. Estudo de expressão *in vitro* da enzima *MTHFR* mostrou uma redução de 32% na atividade da enzima mutante 1298 e de 59% para aquela mutada para ambos os polimorfismos (C677T e A1298C)⁴. Foi observado que a presença do genótipo *MTHFR* 677CT/1298AA leva à redução de cerca de 30% da atividade enzimática; enquanto os genótipos homocigoto *MTHFR* 677CC/1298CC e heterocigoto *MTHFR* 677CT/1298AC resultam na diminuição desta atividade em 35 a 43% e de 38 a 50%, respectivamente⁵. Por outro lado, Yamada et al., (2001)⁶ não observaram alteração na função catalítica ou regulatória da enzima na presença da variante *MTHFR* 1298CC.

Ambos os polimorfismos do gene *MTHFR* foram considerados fatores de risco para DAC^{7,8,9,10}. A associação do polimorfismo *MTHFR* C677T com DAC foi confirmada por alguns estudos, nos quais a prevalência de portadores do alelo alterado foi maior no grupo DAC em relação aos controles¹⁰⁻¹⁴ por outro lado, outros trabalhos não confirmam tal associação^{15,16,17}. Em relação ao

1. Pós-graduanda em Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP

2. Doutor pela Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP

3. Professora Adjunta livre-docente do Departamento de Biologia Molecular, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP

4. Professor Adjunto do Departamento de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP

5. Graduanda curso de Medicina da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP

6. Professora Adjunta livre-docente do Departamento de Biologia Molecular, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, SP

Tabela 1 - Distribuição das frequências genotípicas dos polimorfismos MTHFR C677T e A1298C

Genótipos	DAC (N = 175)	Controle (N = 108)	Valor de P
<i>MTHFR C677T</i>			
CC, n (%)	62 (35)	39 (36)	0,847
CT, n (%)	93 (54)	59 (55)	
TT, n (%)	20 (11)	10 (9)	
<i>MTHFR A1298C</i>			
AA, n (%)	101 (58)	54 (50)	0,448
AC, n (%)	67 (38)	49 (45)	
CC, n (%)	7 (4)	5 (5)	

DAC - Doença arterial coronária

polimorfismo *MTHFR* A1298C, o alelo alterado foi associado com início precoce da DAC, independente dos níveis de Hcy⁹.

O objetivo deste estudo foi investigar a relação entre os polimorfismos C677T e A1298C e presença, extensão e gravidade da DAC.

MÉTODOS

O grupo de estudo foi composto por 283 indivíduos, caucásios, atendidos no Hospital de Base de São José do Rio Preto, e submetidos à angiografia coronária. O estudo foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). Os indivíduos foram divididos em dois grupos: grupo DAC, 175 pacientes com obstrução coronária (60,7 ± 12,1 anos; 112 homens e 63 mulheres), e grupo controle, 108 indivíduos sem sinal de lesão aterosclerótica (57,8 ± 12,3 anos; 58 homens e 50 mulheres). O diagnóstico de DAC foi confirmado ou excluído por angiografia coronária, analisada por dois observadores em análise cega quantitativa. A extensão da DAC foi determinada de acordo com o número de vasos coronários envolvidos (1 a 3), e a gravidade pelo grau de obstrução arterial (estenose <50%, 50-75%, >75-95%, e >95%). Indivíduos submetidos à cirurgia de revascularização cardíaca, substituição de válvulas cardíacas ou colocação de prótese laminar coronariana foram excluídos do estudo. Embora exista no Brasil vasta miscigenação, foram considerados caucásios os indivíduos que não apresentaram ascendência de outros grupos étnicos nas três gerações antecedentes¹⁸.

Amostras de sangue periférico foram coletadas após consentimento livre e esclarecido. DNA genômico foi extraído de leucócitos, de acordo com a técnica descrita por Abdel-Rahman et al. (1994)¹⁹. A análise do polimorfismo *MTHFR* C677T foi realizada por reação em cadeia da polimerase (PCR) seguida de digestão enzimática, de acordo com Bova et al. (1999)¹³. Os fragmentos de DNA foram separados por eletroforese em gel de poli-acrilamida 9,6% e submetidos à diferença de potencial de 200V por 4 horas. Após a eletroforese, o gel foi corado com nitrato de prata.

O polimorfismo *MTHFR* A1298C foi investigado pela técnica de PCR alelo-específica segundo Ranjith et al., (2003)²⁰, com modificações. Os primers utilizados foram: (Alelo A) sense 5' - GGA GCT GAC CAG TGA AGA -3' e antissense 5' - TGT GAC CAT TCC GGT TTG -3'; (Alelo C) sense 5' - CTT TGG GGA GCT GAA GGA -3' e anti-sense 5' - AAG ACT TCA AAG ACA CTT G -3'; (controle positivo de amplificação gênica) sense 5' - TGA

AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA -3' e antissense 5' - AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG -3'. A amplificação foi realizada com desnaturação inicial de 2 minutos a 94°C, seguida de 30 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 58°C e 50 segundos a 72°C. O produto da amplificação foi separado por eletroforese em gel de poli-acrilamida a 6%, submetido à diferença de potencial de 200V por duas horas e corado com nitrato de prata.

Comparação entre os grupos para distribuições alélicas e genotípicas foi realizada utilizando o Teste Exato de Fisher ou Qui quadrado. O Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) foi testado pelo Teste Qui quadrado. Associação entre genótipos e número de artérias obstruídas ou grau de obstrução arterial foi avaliada por Análise de Dependência. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Minitab for Windows.

RESULTADOS

A distribuição genotípica para o polimorfismo *MTHFR* C677T não diferiu significativamente entre os grupos (P=0,847) (Tabela 1). O genótipo *MTHFR* 677CT foi prevalente em ambos os grupos (54% nos pacientes com DAC e 55% nos controles). O alelo polimórfico *MTHFR* 677T apresentou frequência de 0,38 no grupo DAC e 0,37 no grupo controles, não havendo diferença estatística significativa (P=0,789). A distribuição genotípica se mostrou em HWE em ambos os grupos DAC e controle ($\chi^2_1=2,86$; P=0,091 e $\chi^2_1=3,40$, P=0,065, respectivamente).

A distribuição genotípica não diferiu em relação ao número de artérias lesadas (P=0,156) (Tabela 2). Também não foi observada relação entre o polimorfismo *MTHFR* C677T e grau de obstrução arterial coronária (p=0,993) (Tabela 3).

Não houve diferença entre os grupos estudados em relação às distribuições genotípicas (P=0,448) e alélicas (P=0,271) (Tabela 1) para o polimorfismo *MTHFR* A1298C. O genótipo homozigoto selvagem *MTHFR* 1298AA foi prevalente em ambos os grupos (58% nos pacientes e 50% nos controles). A frequência do alelo alterado *MTHFR* 1298C foi de 0,22 no grupo DAC e 0,27 no grupo controles. O cálculo para o teste do HWE mostrou que a distribuição genotípica foi semelhante à esperada em ambos os grupos DAC e controles ($\chi^2_1=1,01$; P=0,313 e $\chi^2_1=2,19$, P=0,138, respectivamente).

Nenhuma associação foi observada em relação ao número de artérias lesadas (P=0,380) (Tabela 2) e grau de obstrução arterial (P=0,800) (Tabela 3).

As frequências dos genótipos dos polimorfismos *MTHFR* C677T e *MTHFR* A1298C combinados não diferiram entre pacientes e controles (P=0,172). Também não foi observada associação dos genótipos combinados e número de artérias (P=0,657) ou grau de obstrução coronária (P=0,350).

DISCUSSÃO

A contribuição das variantes genéticas *MTHFR* no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas se baseia no papel da enzima *MTHFR* no metabolismo da homocisteína (Hcy). Os mecanismos fisiopatológicos referentes ao papel pró-aterogênico da hiper-homocisteinemia (Hcy > 15 umol/L) ainda não são totalmente esclarecidos. Evidências sugerem que níveis elevados de Hcy induzem a disfunção e lesão endotelial,

Tabela 2 - Distribuição genotípica dos polimorfismos MTHFR C677T e A1298C em relação ao número de artérias obstruídas

Genótipos	Número de artérias obstruídas			Valor de P
	Uma artéria	Duas artérias	Três artérias	
<i>MTHFR C677T</i>				
CC, n (%)	28 (45)	19 (30)	15 (31)	0,156
CT, n (%)	26 (41)	37 (58)	30 (63)	
TT, n (%)	9 (14)	8 (12)	3 (6)	
<i>MTHFR A1298C</i>				
AA, n (%)	33 (52)	41 (64)	27 (56)	0,380
AC, n (%)	29 (46)	20 (31)	18 (38)	
CC, n (%)	1 (2)	3 (5)	3 (6)	

Tabela 3 - Comprometimento coronariano em relação aos polimorfismos MTHFR C677T e A1298C

Genótipos	Graus de obstrução arterial				Valor de P
	<50%	50%-75%	>75%-95%	>95%	
<i>MTHFR C677T</i>					
CC, n (%)	6 (35)	13 (36)	29 (35)	14 (35)	0,993
CT, n (%)	9 (53)	19 (53)	45 (55)	20 (50)	
TT, n (%)	2 (12)	4 (11)	8 (10)	6 (15)	
<i>MTHFR A1298C</i>					
AA, n (%)	11 (65)	20 (56)	49 (60)	21 (52)	0,800
AC, n (%)	6 (35)	16 (44)	30 (36)	15 (38)	
CC, n (%)	0 (0)	0 (0)	3 (4)	4 (10)	

proliferação de células musculares lisas, ativação de plaquetas e formação de trombos^{21,22,23}, levando à formação de placas ateroscleróticas.

O polimorfismo C677T do gene *MTHFR* resulta em termolabilidade e atividade enzimática reduzida, e contribui para o aumento dos níveis de Hcy³. A contribuição da variante polimórfica *MTHFR* 1298CC na redução da função enzimática não é totalmente esclarecida, uma vez que estudos observaram resultados contraditórios^{5,6}. Níveis de Hcy de indivíduos heterozigotos *MTHFR* 1298AC e homozigotos *MTHFR* 1298CC não diferiram daqueles com genótipo selvagem *MTHFR* 1298AA, sugerindo que este polimorfismo isolado não afeta significativamente o metabolismo da Hcy^{4,6}, mas pode exercer um efeito moderado na presença da variante C677T⁴.

No presente estudo, os polimorfismos *MTHFR* C677T e A1298C e seus genótipos combinados não foram associados com a presença, extensão ou gravidade da DAC. A relação entre o polimorfismo *MTHFR* C677T e a DAC tem sido avaliada por vários estudos. Nossos resultados corroboram com estudos prévios, nos quais nenhuma associação entre os genótipos *MTHFR* C677T e a DAC foi encontrada^{24,15}. Kebert et al. (2006)²⁴ observaram 66,2% de indivíduos portadores do alelo *MTHFR* 677C e 33,8% portadores do alelo *MTHFR* 677T em população caucasóide com DAC. Estudo em população brasileira mostrou resultado semelhante e sugere que o polimorfismo C677T da *MTHFR* não é um fator de risco independente para DAC¹⁷. A frequência do alelo polimórfico *MTHFR* 677T foi de 0,24 nos indivíduos com DAC. No presente estudo foi observada frequência de 0,38 do alelo alterado.

Por outro lado, o alelo polimórfico *MTHFR* 677T já foi associado com doenças vasculares, aterosclerose de carótida, doença arterial obstrutiva e infarto do miocárdio¹⁰⁻¹⁴. Em DAC, o alelo polimórfico foi observado significativamente mais freqüente nos pacientes em relação aos controles^{10-14,25}. Em estudo brasileiro, o polimorfismo foi associado à gravidade da doença, mas não apresentou distribuição significativamente diferente entre pacientes com e sem DAC²⁶.

A alteração *MTHFR* A1298C também tem sido investigada em indivíduos com DAC. Estudo de Szczeklik et al. (2001)⁹ mostraram frequência do alelo polimórfico *MTHFR* 1298C significativamente maior em indivíduos com DAC em relação aos controles, independente dos níveis de Hcy. Corroborando com nosso resultado, Abu-Amero et al. (2003)²⁷ e Kolling et al. (2004)¹⁵ não encontraram associação entre os genótipos *MTHFR* A1298C e presença ou extensão da DAC. Este último não observou diferença na distribuição genotípica tanto para o polimorfismo *MTHFR* A1298C, quanto para o *MTHFR* C677T em relação ao número de artérias obstruídas. Em trabalho de Gueant-Rodríguez et al. (2005)¹⁶ os polimorfismos *MTHFR* A1298C e *MTHFR* C677T também não foram associados à DAC.

Os genótipos *MTHFR* A1298C e *MTHFR* C677T combinados também foram analisados no presente estudo e não apresentaram relação com a DAC, assim como com a extensão ou gravidade da doença. Corroborando com nossos resultados, Meisel et al. (2001)²⁸ também não observaram influência significativa dos polimorfismos *MTHFR* C677T e A1298C combinados no processo de desenvolvimento da DAC, assim como nos níveis de Hcy.

CONCLUSÃO

Nossos resultados não demonstraram associação entre os polimorfismos *MTHFR* A1298C e *MTHFR* C677T e presença, extensão ou gravidade da DAC. A investigação das concentrações de Hcy e de polimorfismos de outras enzimas envolvidas no metabolismo desse aminoácido poderá contribuir para o esclarecimento da etiologia da DAC.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a colaboração do Prof. Dr. José Antônio Cordeiro na análise estatística e o auxílio financeiro recebido da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

SUPOORTE FINANCEIRO:

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (Auxílio Pesquisa), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (Bolsa de Mestrado) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (Bolsa de Iniciação Científica).

Conflito de interesse: não há

SUMMARY

MTHFR GENETIC VARIABILITY ON CORONARY ARTERY DISEASE DEVELOPMENT

OBJECTIVE. Increased homocysteine (Hcy) concentration is considered a risk factor for coronary artery disease (CAD). Genetic alterations of the methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) enzyme could reduce its thermolability and alter the Hcy metabolism, contributing to development of atherosclerotic lesions. Objective of this study was to investigate the relation between *MTHFR* C677T and A1298C polymorphisms and presence, extension, and severity of CAD.

METHODS. One hundred seventy-five patients with CAD confirmed by angiography, and 108 individuals without CAD (control group) were evaluated. *MTHFR* C677T polymorphism was investigated by polymerase chain reaction (PCR) followed by enzyme digestion. The genotyping of the *MTHFR* A1298C polymorphism was performed by PCR allele-specific method.

RESULTS. Frequency of the altered allele *MTHFR* 677C was 0.38 in the CAD group and 0.37 in the control group. Regarding the polymorphic allele *MTHFR* 1298C, frequency was 0.22 and 0.27, respectively. The genotype distribution *MTHFR* C677T and A1298C did not differ regarding number of affected vessels ($P > 0.05$). Also, relation between *MTHFR* C677T polymorphism and degree of arterial obstruction was not observed ($P > 0.05$), as well as the *MTHFR* A1298C polymorphism ($P > 0.05$).

CONCLUSION. Results did not show association between *MTHFR* A1298C and *MTHFR* C677T polymorphisms and presence, extension or severity of CAD. [Rev Assoc Med Bras 2009; 55(3): 274-8]

KEY WORDS: Coronary artery disease. Genetic polymorphisms. *MTHFR* enzyme.

REFERÊNCIAS

- Sadeghian S, Fallahi F, Salarifar M, Davoodi G, Mahmoodian M, Fallah N, et al. Homocysteine, vitamin B12 and folate levels in premature coronary artery disease. *BMC Cardiovasc Disord* 2006;6:38.
- Finkelstein JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr*. 1998;157(Suppl 2):40-4.
- Haviv YS, Shpichinetsky V, Goldschmidt N, Atta IA, Ben-Yehuda A, Friedman G. The common mutations C677T and A1298C in the human methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Nephron*. 2002;92:120-6.
- Weisberg IS, Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Chen Z, Ellison RC, et al. The 1298A3C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*): in vitro expression and association with homocysteine. *Atherosclerosis*. 2001;156:409-15.
- 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;64:169-72.
- Yamada K, Chen Z, Rozen R, Matthews RG. Effects of common polymorphisms on the properties of recombinant human methylenetetrahydrofolate reductase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:14853-8.
- Mager A, Lalezari S, Shohat T, Birnbaum Y, Adler Y, Magal N, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase genotypes and early-onset coronary artery disease. *Circulation*. 1999;100:2406-10.
- Payne DA, Chamoun AJ, Seifert SI, Stouffer GA. *MTHFR*C677C >T mutation: a predictor of early-onset coronary artery disease. *Thromb Res*. 2001;103:275-9.
- Szczeklik A, Sanak M, Jankowski M, Dropinski J, Czachor R, Musial J, et al. Mutation A1298C of methylenetetrahydrofolate reductase: risk for early coronary disease not associated with hyperhomocysteinemia. *Am J Med Genet*. 2001;101:36-9.
- Dedoussis GVZ, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Skoumas J, Choumerianou D, et al. An association between the methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) C677T mutation and inflammation markers related to cardiovascular disease. *Int J Cardiol*. 2005;100:409-14.
- Morita H, Taguchi J, Kurihara H, Kitaoka M, Kaneda H, Kurihara Y, et al. Gene Polymorphism of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase as a coronary risk factor. *J Cardiol*. 1997;29:309-15.
- Tsai MY, Welge BG, Hanson NQ, Bignell MK, Vessey J, Schwichtenberg K, et al. Genetic causes of mild hyperhomocysteinemia in patients with premature occlusive coronary artery diseases. *Atherosclerosis*. 1999;143:163-70.
- Bova I, Chapman J, Sylantiev C, Korczyn AD, Bornstein NM. The A677V methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and carotid atherosclerosis. *Stroke*. 1999;30:2180-2.
- Jee SH, Song KS, Shim WH, Kim HK, Suh I, Park JY, et al. Major gene evidence after *MTHFR*-segregation analysis of serum homocysteine in families of patients undergoing coronary arteriography. *Hum Genet*. 2002;111:128-35.
- Kolling K, Ndrepepa G, Koch W, Braun S, Mehilli J, Schomig A, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T and A1298C polymorphisms, plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 levels and the extent of coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2004;93:1201-6.
- Gueant-Rodriguez RM, Juilliere Y, Candito M, Adjalla CE, Gibelin P, Herbeth B, et al. Association of MTRRA66G polymorphism (but not of *MTHFR* C677T and A1298C, MTR2756G, TCN C776G) with homocysteine and coronary disease in the French population. *Thromb Haemost*. 2005;94:510-5.
- Muniz MTC, Siqueira ERF, Fonseca RA, D'Almeida V, Hotta JK, Santos JE, et al. Avaliação da relação entre o polimorfismo C677T no gene para *MTHFR* e a concentração plasmática de homocisteína na doença arterial coronariana. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006;50:1059-65.
- Arruda VR, Siqueira LH, Goncalves MS, Von Zuben PM, Soares MC, Menezes R, et al. Prevalence of the mutation C677-->T in the methylenetetrahydrofolate reductase gene among distinct ethnic groups in Brazil. *Am J Med*. 1998;78:332-5.
- Abdel-Rahman SZ, Nouraldeem AM, Ahmed AE. Molecular interaction of 2,3-[14C]-acrylonitrile with DNA in gastric tissues of rat. *J Biochem Toxicol*. 1994;9:12128.
- Ranjith N, Pegoraro RJ, Rom L. Risk factors and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in a young South African Indian-based population with acute myocardial infarction. *Cardiovasc J South Afr*. 2003;14:127-32.
- Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med*. 1998;338:1042-50.
- Wang G, Woo CW, Sung FL, Siow YL, O K. Increased monocyte adhesion to aortic endothelium in rats with hyperhomocysteinemia: role of chemokine and adhesion molecules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1777-83.
- Silverman MD, Tumuluri RJ, Davis M, Lopez G, Rosenbaum JT, Lelkes PI. Homocysteine upregulates vascular cell adhesion molecule-1 expression in

- cultured human aortic endothelial cells and enhances monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:587-92.
24. Kebert CB, Eichner JE, Moore WE, Schechter E, Yaoi T, Vogel S, et al. Relationship of the 1793G-A and 677C-T polymorphisms of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene to coronary artery disease. *Dis Markers.* 2006;22:293-301.
25. Bennouar N, Allami A, Azeddoug H, Bendris A, Laraqui A, El Jaffali A, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and homocysteine are risk factors for coronary artery disease in moroccan population. *J Biomed Biotechnol.* 2007;2007:806-87.
26. Guerzoni AR, Pavarino-Bertelli EC, Godoy MF, Graça CR, Biselli PM, Souza DR, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and its association with coronary artery disease. *São Paulo Med J.* 2007;125:4-8.
27. Abu-Amero KK, Wyngaard CA, Dzimir N. Prevalence and role of methylenetetrahydrofolate reductase 677 C>T and 1298 A>C polymorphisms in coronary artery disease in arabs. *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127:1349-52.
28. Meisel C, Cascorbi I, Gerloff T, Stangl V, Laule M, Müller JM. Identification of six methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genotypes resulting from common polymorphisms: impact on plasma homocysteine levels and development of coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2001;15.

Artigo recebido: 13/11/07
Aceito para publicação: 02/11/08
