

بررسی رابطه سطح هموسیستئین پلازما و بیماری عروق کرونر (CHD) بر اساس یافته‌های الکتروکاردیوگرافی: یک مطالعه جمعیتی

فاطمه بندریان^۱، حسین فخرزاده^۱، رامین حشمت^۱، معصومه نوری^۱، رسول پورابراهیم^۱، بانوعدالت^۱، باقر لاریجانی^{۱*}

چکیده

مقدمه: مطالعات متعدد نشان داده‌اند که افزایش سطح هموسیستئین با افزایش خطر بیماری عروق کرونر (CHD) همراه است. این مطالعه با هدف بررسی رابطه هیپره‌موسیستئینمی و بیماری عروق کرونر (CHD) در ساکنان مناطق شهری ایران انجام گرفت.

روش‌ها: این مطالعه به روش مقطعی روی ۳۵۸ نفر (۱۲۹ مرد و ۲۲۹ زن) در منطقه ۱۷ تهران انجام گرفت. از افراد به ظاهر سالم که در محدوده سنی ۴۶-۲۵ سال قرار داشتند (میانگین سنی $43/4 \pm 11/3$ سال) الکتروکاردیوگرام (ECG) ۱۲ اشتقاقی در حالت استراحت گرفته و براساس کد مینه سوتا مورد تحلیل قرار گرفت. همچنین از پرسشنامه Rose برای تعیین ابتلا به بیماری عروق کرونر (CHD) استفاده و عوامل خطرزای CHD (شامل سطح هموسیستئین سرم) در افراد ایسکمیک و غیر ایسکمیک بررسی و نتایج بین گروه‌ها مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها: شیوع هیپره‌موسیستئینمی در جمعیت مورد بررسی $53/4\%$ بود. میانگین سطح هموسیستئین پلازما در مردان به‌طور معنی‌داری بالاتر از زنان بود ($P = 0/001$). اما تفاوت معنی‌داری بین سطوح سرمی ویتامین B_{۱۲}، هموسیستئین و فولات بین افراد ایسکمیک و غیر ایسکمیک دیده نشد ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این مطالعه در جمعیت به ظاهر سالم جامعه (بدون بیماری شناخته شده قلبی)، بالا بودن میزان هموسیستئین تا حدی عامل خطرزای مستقل CHD نمی‌باشد.

واژگان کلیدی: بیماری ایسکمیک قلبی، هموسیستئین، الکتروکاردیوگرافی، بیماری عروق کرونر

۱- مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران،

* نشانی: تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان شریعتی، طبقه پنجم مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، تلفن: ۸-۸۸۲۲۰۰۳۷
نمابر: ۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: emrc@sina.tums.ac.ir

مقدمه

هموسیستئین (Hcy)، یک اسید آمینه ضروری برای انسان محسوب می‌شود که به‌عنوان یک عامل خطرزای مستقل بیماری عروق کرونر (CHD) شناخته شده است [۷-۱]. شیوع هیپرهموسیستئینمی ۳۰-۵٪ تخمین زده می‌شود [۸]. عوامل متعددی روی غلظت هموسیستئین تام (tHcy) سرم مؤثرند که از آن جمله می‌توان به این موارد اشاره نمود: ژنتیک، سیگار کشیدن، پرفشاری خون، سطح کراتینین، کلسترول تام و پروتئین سرم و عوامل تغذیه‌ای نظیر کمبود ویتامین B_{۱۲}، B_۶ و فولات [۲].

تحقیقات حاکی از آنند که افزایش سطح Hcy سرم با افزایش خطر ایسکمی قلبی (IHD) و سکته همراه است [۳] و [۹-۱۱]. همچنین دیده شده که سطح Hcy در بیماران با IHD یا سکته بالاتر از گروه کنترل می‌باشد [۳ و ۴ و ۱۳-۱۰]. این در حالی است که در برخی مطالعات آینده‌نگر و مورد-شاهدی عکس این مطلب گزارش شده [۶ و ۱۵-۱۳] و یا حتی هیچ رابطه معنی‌داری مشاهده نشده است [۸ و ۱۸-۱۶].

یکی از مطالعات در سالمندان نشان داد که بین افزایش سطح هموسیستئین و سایر عوامل خطر ساز جدید و افزایش امتیاز خطر فرامینگهام در سالمندان رابطه معنی‌داری وجود دارد [۱۹]. براساس متآنالیزی که در سال ۱۹۹۵ انجام گرفته، هر $1 \mu\text{mol/L}$ افزایش در غلظت Hcy با ۱۰٪ افزایش خطر CHD همراه است [۱۱]. در مطالعه دیگری گزارش شده که ۲۵٪ کاهش در سطح Hcy، خطر IHD را به میزان ۱۱٪ کاهش می‌دهد [۲۰]. بنابراین نتایج دو مطالعه دیگر به نظر می‌رسد که tHcy یک عامل مستقل در پیش‌بینی میزان مرگ و میر ناشی از موارد حاد و پایدار CHD می‌باشد [۵ و ۲۱].

در مطالعه قلبی که توسط گروه ما انجام گرفت، شیوع هیپرهموسیستئینمی و میزان کمبود ویتامین B_{۱۲} و فولات در جمعیت مورد بررسی بیشتر از سایر مطالعات مشابه بود [۲۲]. همچنین رابطه معنی‌داری بین پرفشاری خون و سطوح بالای tHcy مشاهده شد [۲۳]. با توجه به شیوع بالای هیپرهموسیستئینمی در کشور ما [۲۴]، بررسی رابطه CHD و هموسیستئین بسیار ضروری می‌باشد؛ چرا که با

تعدیل این عامل می‌توان از خطر مرگ و میر ناشی از CHD کاست و بدین ترتیب هزینه‌های آن را نیز به حداقل رساند. با وجود مطالعاتی که تاکنون انجام گرفته، متأسفانه هیپرهموسیستئینمی هنوز به‌عنوان عامل خطرزا برای بیماری‌های قلبی-عروقی در نظر گرفته نمی‌شود. در نتیجه هدف از این تحقیق بررسی رابطه هیپرهموسیستئینمی و IHD و نیز تعیین جایگاه هموسیستئین در افزایش خطر این بیماری بوده است.

روش‌ها

این تحقیق به روش مقطعی و به‌عنوان بخشی از «مطالعه عوامل خطرزای بیماری‌های قلبی-عروقی» در پایگاه جمعیتی تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی تهران با رعایت دستورالعمل مدون MONICA^۱ پروژه WHO (سازمان بهداشت جهانی) توسط مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران (EMRC - TUMS) انجام گرفت [۲۶-۲۴]. در ابتدا پروتکل طرح به تصویب دانشگاه علوم پزشکی تهران رسید.

برای انتخاب افراد از روش نمونه‌گیری خوشه‌ای تصادفی تک مرحله‌ای^۲ استفاده شد. ابتدا خوشه‌ها در منطقه ۱۷ تهران تعیین شدند سپس از بین ۳۳۷ ۲۵۵ نفر در ۱۱۵ خوشه ۳۵۸ فرد ۲۵ تا ۶۴ ساله انتخاب و وارد بررسی شدند. پس از این که داوطلبین واجد شرایط رضایت‌نامه کتبی را برای شرکت در طرح امضا نمودند، پرسشنامه‌ای شامل اطلاعات دموگرافیک، سوابق پزشکی و عوامل خطرزا توسط یک پرسشگر آموزش دیده تکمیل و شاخص‌های تن‌سنجی نیز اندازه‌گیری و ثبت گردید. اطلاعات شخصی و وضعیت زندگی افراد نیز از طریق پرسشنامه MONICA (پس از اعمال برخی تغییرات) جمع‌آوری شد [۲۶-۲۴].

سپس از افراد در حالت ناشتا نمونه خون وریدی تهیه و درون ظرف مخصوصی قرار داده شد که بلافاصله به محل آزمایشگاه EMRC ارسال شد و در آنجا در عرض حداکثر ۲ ساعت پس از خون‌گیری، نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه و

^۱ Multinational Monitoring of Trends & Determinants in cardiovascular

^۲ Single stage

(کدمینه سوتا ۱/۱ و ۱/۲) یا بلوک کامل شاخه چپ (کدمینه سوتا ۷/۱/۱) می‌باشد. بیماری ایسکمی / ECG ممکن نیز شامل موج کوچک Q یا QS (کدمینه سوتا ۱/۳)، ST depression (کدمینه سوتا ۴/۳ - ۴/۱) یا امواج T (کدهای مینه سوتا ۵/۳ - ۵/۱) می‌شود. ECG هایی که با هیچ یک از معیارهای فوق مطابقت نداشتند، سالم محسوب شدند. هر فرد با داشتن هر کدام از معیارها، تنها یک بار در این مجموعه در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری

به منظور تفسیر داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۱ استفاده شد و آزمون‌های مربع کای و t -test مستقل برای یافتن هرگونه رابطه و مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی بین ۲ گروه، به کار برده شدند. برای حذف اثر عوامل مخدوش گر از مدل آنالیز چند متغیره^۵ استفاده شد. نتایج به صورت میانگین \pm SD بیان شده و مقادیر $P < 0/05$ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

از ۳۵۸ فرد شرکت کننده، ۳۶٪ (۱۲۹ نفر) مرد و ۶۴٪ (۲۲۹ نفر) زن بودند. میانگین سنی آنها $43/4 \pm 11/3$ سال بود. در جدول ۱ ویژگی‌های دموگرافیک و پارامترهای بیوشیمیایی شرکت کنندگان آورده شده است. شیوع هیپرهموسیستینمی ۵۳/۴٪ برآورد شد. میانگین غلظت tHcy در مردان به طور معنی داری بالاتر از زنان بود (CI ۹۵٪: ۱۰/۵ - ۵/۳). همچنین میانگین کلسترول، HDL و LDL، فولات و ویتامین B_{۱۲} در زنان به طور معنی دار بالاتر از مردان بود (جدول ۱).

غلظت ویتامین B_{۱۲} و tHcy و فولات سرم بین افراد ایسکمی و غیر ایسکمی تفاوت معنی داری نداشت. ($P > 0/05$; CI ۹۵٪: ۲۵/۵۷ - ۶۱/۵۰ - برای B_{۱۲} و ۰/۳۹ - ۰/۶۷ - برای فولات) (جدول ۲). همچنین رابطه معنی داری بین هیپرهموسیستینمی، کمبود B_{۱۲} و فولات، و معیار ایسکمی (که شامل ایسکمی محتمل، ایسکمی ممکن، MI ممکن، آنژین صدری و ایسکمی تام بود) دیده نشد.

در سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه ساتریفیوژ شدند و سپس تا زمان آنالیز، در دمای ۷۰°C - نگهداری شدند.

غلظت tHcy پلاسما (شامل هموسیستین، مخلوط دی‌سولفیدهای هموسیستین - سیستین، به صورت آزاد یا متصل به پروتئین) در نمونه‌های فریز شده به روش HPLC (کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (KNAUER - آلمان) و ردیابی فلورسانس اندازه‌گیری شد.

ضریب تغییرات درون^۱ و بین^۲ اندازه‌گیری‌ها (coefficient for variation) برای Hcy به ترتیب ۳/۹٪ و ۵/۸٪ بود. غلظت فولات و ویتامین B_{۱۲} به طور همزمان در نمونه‌های فریز شده و با استفاده از کیت‌های رادیواسی نشاندار دوبل (تهیه شده از شرکت دارویی ICN - نیویورک) تعیین شد. ضریب تغییرات درون اندازه‌گیری‌ها برای فولات و ویتامین B_{۱۲} به ترتیب ۶/۹٪ و ۶/۱٪ و ضریب تغییر بین اندازه‌گیری‌ها برای این دو ویتامین به ترتیب ۷/۵٪ و ۶/۸٪ بود. در این مطالعه هموسیستین با مقادیر بیش از $15 \mu \text{mol/L}$ به عنوان هیپر هموسیستینمی (HHcy) در نظر گرفته شد [۱]. همچنین مقادیر سرمی اسیدفولیک کمتر از 11nmol/L را به عنوان کمبود اسیدفولیک و مقادیر سرمی کمتر از 185pmol/L ویتامین B_{۱۲}، معیار کمبود این ویتامین محسوب گردید.

از هر فرد الکتروکاردیوگرام ۱۲ اشتقاقی در حالت استراحت گرفته شد که تحلیل آنها با معیارهای Whitehall (مطابق با برنامه چند ملیتی بیماری عروق کرونر در دیابت WHO) توسط ۲ متخصص قلب و عروق صورت گرفت [۲۷]. تشخیص آنژین صدری برپایه پرسشنامه Rose صورت گرفت [۲۸]. معیارهای CHD عبارت بودند از:

آنژین صدری (درجه I یا II براساس معیار Rose)، انفارکتوس میوکارد (Possible MI؛ موج Q مازور - کد مینه‌سوتا ۱/۱)، یا تاریخچه انفارکتوس میوکارد و تغییرات ایسکمی نوار قلب در حالت استراحت که شامل بیماری ایسکمی قلبی محتمل^۳ و ممکن^۴ نیز می‌شود. بیماری ایسکمی / ECG محتمل شامل موج Q یا QS مازور

¹ inter - assay

² intra - assay

³ possible

⁴ probable

⁵ multivariate

جدول ۱- ویژگی‌های دموگرافیک و متغیرهای بیوشیمیایی افراد شرکت کننده در مطالعه

متغیرها	زن	مرد
تعداد	۲۲۹	۱۲۹
سن (سال) †	۴۲ ± ۱۰	۴۵ ± ۱۱
کلسترول تام (mg/dl) †	۲۰۴ ± ۴۴	۱۸۵ ± ۳۸
HDL (mg/dl) †	۶۳ ± ۱۷	۵۳ ± ۱۴
LDL (mg/dl) †	۱۰۵ ± ۲۹	۹۶ ± ۲۷
TG (mg/dl)	۱۸۵ ± ۱۰۸	۱۷۵ ± ۱۱۳
میانگین فولات (nmol/L) †	۴/۳ ± ۱/۶	۳/۴ ± ۱/۷
میانگین ویتامین B _{۱۲} (pmol/L) †	۲۷۶/۴ ± ۱/۷	۲۲۹/۹ ± ۱/۸
میانگین هموسیستئین (μmol/L) †	۱۳/۶ ± ۱/۵	۲۰/۴ ± ۱/۵
BMI (kg/m ^۲) †	۲۸/۸ ± ۴/۶	۲۷/۲ ± ۴/۸

* مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

† مقادیر P معنی دار بود (P < ۰/۰۵).

نوع مطالعه: مقطعی

جدول ۲- مقایسه متغیرهای بیوشیمیایی و خصوصیات دموگرافیک بین گروه‌های ایسکمیک و غیر ایسکمیک

متغیرها	گروه ایسکمیک	گروه غیر ایسکمیک
تعداد	۷۳ (۴۲/۱٪ مرد)	۲۸۵ (۳۷/۸٪ مرد)
سن (سال) †	۴۹ ± ۹	۴۲ ± ۱۱
کلسترول تام (mg/dl)	۲۰۱ ± ۵۰	۱۹۷ ± ۴۱
HDL (mg/dl)	۶۱ ± ۲۰	۵۹ ± ۱۶
LDL (mg/dl)	۹۸ ± ۲۹	۱۰۲ ± ۲۸
TG (mg/dl)	۲۰۶ ± ۱۳۷	۱۷۶ ± ۱۰۱
میانگین فولات (nmol/L)	۳/۹ ± ۱/۸	۳/۹ ± ۱/۶
میانگین ویتامین B _{۱۲} (pmol/L)	۲۶۵/۸ ± ۱/۸	۲۵۵/۹ ± ۱/۷
میانگین هموسیستئین (μmol/L)	۱۶/۷ ± ۱/۷	۱۵/۵ ± ۱/۵
BMI (kg/m ^۲)	۲۸/۹ ± ۵/۱	۲۸ ± ۴/۶

* مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون T مستقل انجام شد.

† مقادیر P معنی دار بود (P < ۰/۰۵).

نوع مطالعه: مقطعی

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

آماره معنی دار نبود (P = ۰/۰۶) CI ۹۵٪: ۱۳۱/۱ - ۲/۰۲). غلظت Hcy، ویتامین B_{۱۲} و فولات سرم بین افراد مبتلا و غیرمبتلا به سندرم متابولیک، افراد چاق و غیرچاق و نیز افراد دیابتی و غیردیابتی تفاوت معنی داری نداشت (P > ۰/۰۵) (داده‌ها آورده نشده‌اند).

میانگین غلظت Hcy سرم در افراد سیگاری به طور معنی داری بیشتر از افراد غیرسیگاری بود (P = ۰/۰۰۴)؛ CI ۹۵٪: ۶/۶۷ - ۱۵/۹۶). در حالی که سطح فولات سرم در این گروه به طور معنی داری پایین تر بود (P = ۰/۰۴)؛ CI ۹۵٪: ۱/۸۰ - ۰/۳۶). همچنین غلظت ویتامین B_{۱۲} سرم در سیگاری‌ها بالاتر بود، اگر چه این رابطه به لحاظ

[۴ و ۶ و ۸ و ۱۰ و ۱۳]؛ ولی در مطالعه ما چنین یافته‌ای مشاهده نگردید.

Retterstol و همکارانش نیز در مطالعه هم‌گروهی که روی جوانان مبتلا به CHD انجام دادند؛ نظیر مطالعه ما رابطه معنی‌داری بین سطح tHcy سرم و IHD مشاهده نکردند. آنها نشان دادند که tHcy فقط یک عامل پیشگویی کننده مرگ و میر کلی و مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی در سالمندان است [۲۹]. وجود رابطه بین tHcy، فولات و سن، که در مطالعه ما دیده شد، در مطالعه Retterstol نیز گزارش گردیده است [۲۹]؛ البته برخلاف مطالعه ما (افزایش tHcy با سن) و Retterstol، در پژوهشی در آسیا (هند)، سطح tHcy در جوانان بالاتر از سالمندان بود [۳۲]. نتایج مطالعه حاضر مشابه برخی کارآزمایی‌های بالینی است که نشان دادند که کاهش tHcy با استفاده از مکمل یاری با ویتامین B و فولیک اسید، در پیشگیری ثانویه در انفارکتوس میوکارد حاد، نقشی ندارد. در یکی از این مطالعات مشاهده شد که مصرف فولیک اسید، ویتامین B_{۱۲} و ویتامین B_{۱۲} به مدت ۵ سال خطر بروز بیماری‌های عروقی مازور را در افراد پرخطر (از جمله مبتلایان به انفارکتوس میوکارد) کاهش نمی‌دهد [۳۷ و ۳۸].

بنابراین مشاهده می‌شود که تاکنون نتایج متفاوتی گزارش شده است. تفاوت این مطالعه با سایر مطالعات، روش آن بود. در بسیاری از مواردی که قبلاً گزارش شده، سطح Hcy بین بیماران مبتلا به CHD و افراد کنترل مقایسه شده بود حال آن‌که در این تحقیق مبتلایان به درجات شدید CHD از مطالعه حذف شدند و تنها در افراد به ظاهر سالم، CHD براساس ECG بین افراد سالم و افرادی که سطح هموسیستئین سرشان بالاتر از حد طبیعی بود مورد بررسی قرار گرفتند که در کمتر مطالعه‌ای این کار انجام گرفته است. این امر می‌تواند تا حدودی تفاوت‌های مشاهده شده را توجیه کند. اگر چه انجام مطالعات هم‌گروهی و مورد شاهدهی بیشتر روی تعداد بیشتری از افراد در منطقه مورد بررسی مورد نیاز است تا بتوان به‌طور قطعی اظهار نظر نمود.

پس از آنالیز داده‌ها به تفکیک جنس نیز غلظت Hcy، ویتامین B_{۱۲} و فولات در افراد ایسکمیک و غیرایسکمیک تفاوت معنی‌داری نشان نداد (داده‌ها آورده نشده‌اند). سپس داده‌ها در مدل آنالیز چند متغیره قرار گرفتند و اثر عوامل مخدوش‌گر مانند سن و جنس و سایر عوامل خطر حذف شد اما باز هم تفاوت معنی‌دار هموسیستئین بین دو گروه ایسکمیک و نرمال مشاهده نشد (P: ۰/۵۴؛ ۰/۹۱). OR: پس از تطبیق برای سن و جنس).

بحث

در این مطالعه رابطه هیپره‌موسیستئینمی و IHD مورد بررسی قرار گرفت. هیچ رابطه معنی‌داری بین سطح tHcy سرم و IHD براساس ECG مشاهده نشد. نتایج این مطالعه با تحقیق Retterstol و همکارانش و نیز دیگر پژوهش‌های مشابه که هیچ رابطه‌ای بین غلظت tHcy سرم و بیماری‌های قلبی مشاهده نکردند، هماهنگی دارد [۱۷ و ۱۸ و ۲۹ و ۳۰].

اما مطالعات بسیاری نیز وجود رابطه بین غلظت tHcy پلاسما و CHD را نشان داده‌اند. در این مطالعات افزایش سطح tHcy پلاسما عامل خطرزای مستقل برای CHD شناخته شده است [۳-۶ و ۳۱ و ۳۲]. همچنین این یافته‌ها با نتایج یک متاآنالیز که tHcy را یک عامل پیشگویی کننده متوسط برای خطر IHD و سکتته مغزی در افراد سالم مستقل از دیگر عوامل خطرزای بیماری‌های قلبی - عروقی دانسته تایید شده است [۳۳]. مطالعه Nygard و همکارانش، فقط یک رابطه ضعیف معنی‌داری بین سطح tHcy سرم و یافته‌های آنژیوگرافی را نشان داد [۵] این در حالیست که سایر مطالعات رابطه مثبت بین tHcy پلاسما و خطر آترواسکلروز شدید عروق کرونر بر اساس یافته‌های آنژیوگرافی را نشان داده‌اند [۳۴، ۳۵].

نتایج مطالعه حاضر مشابه مطالعه Nikkari است که تفاوت معنی‌داری در سطح tHcy سرم در مردان با آنژین صدری نسبت به گروه کنترل مشاهده نکرد [۳۵]. در مطالعه Nikkari سطوح سرمی بالاتر tHcy در مردان با سابقه انفارکتوس میوکارد نسبت به افراد سالم، گزارش شد، پدیده‌ای که در برخی دیگر از پژوهش‌ها دیده شده است

سپاسگزاری

بودجه این طرح توسط مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران تأمین شد. نویسندگان مقاله از مرکز تحقیقات غدد و آزمایشگاه غدد مرکز و پرسنل آن به جهت همکاری در انجام آزمایشات تشکر می‌کنند و همچنین از تمامی افرادی که در مطالعه شرکت نمودند سپاسگزاری می‌نمایند.

یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر حذف افراد با بیماری شناخته شده و شدید CHD می‌باشد. شاید در صورت عدم حذف این افراد نتایج معنی‌دار می‌شدند. بنابر نتایج این مطالعه سطح tHcy سرم به تنهایی عامل خطرزای CHD در جمعیت به ظاهر سالم جامعه نمی‌باشد.

مأخذ

- Stein JH, McBride PE. Hyperhomocysteinemia and atherosclerotic vascular disease. *Arch Intern Med* 1998;158:1301-6.
- Hankey JH, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354: 407-13.
- Clarke R, Daly L, Robinson K, et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1149-55.
- Graham IM, Daly LE, Refsum HM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997; 277: 1775-81.
- Nygard O, Nodrehaug JE, Refsum H, et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 230-6.
- Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992; 268: 877-81.
- Perry IJ, Refsum H, Morris RW, et al. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 1995; 346: 1395-8.
- Hoogeveen EK, Kostense PJ, Beks PJ, et al. Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non insulin dependent diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:133-8.
- Danesh J, Lewington S. Plasma homocysteine and coronary heart disease: systematic review of published epidemiological studies. *J Cardiovasc Risk* 1998; 5:229-32.
- Wilcken DE, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. *J Clin Invest* 1976; 57:1079-82.
- Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274:1049-57.
- Christen WG, Ajani UA, Glynn RJ, et al. Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease: Causal or casual? *Arch Intern Med* 2000;160: 422-34.
- Genest JJ Jr, McNamara JR, Salem DN, et al. Plasma homocyst(e)ine levels in men with premature coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 1114-9.
- Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, et al. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol* 1995; 24: 704-9.
- Wald NJ, Watt HC, Law MR, et al. Homocysteine and ischemic heart disease: results of a prospective study with implications regarding prevention. *Arch Intern Med* 1998; 158: 862-7.
- Verhoef P, Hennekens CH, Allen RH, et al. Plasma total homocysteine and risk of angina pectoris with subsequent coronary artery bypass surgery. *Am J Cardiol* 1997; 79: 799-801.
- Evans RW, Shaten BJ, Hempel JD, et al. Homocyst(e)ine and risk of cardiovascular disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1947-53.
- Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, et al. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 1998; 98: 204-10.
- Halil M, Yavuz B, Yavuz BB, et al. Novel cardiovascular risk factors in the elderly and their correlation with the Framingham risk score. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2008; 9:683-7.
- Clarke R, Lewington S, Landray M. Homocysteine, renal function, and risk of cardiovascular disease. *Kidney Int* 2003; 84: S131-S3.
- Omland T, Samuelsson A, Hartford M, et al. Serum homocysteine concentration as an indicator of survival in patients with acute coronary syndromes. *Arch Intern Med* 2000; 160: 1834-40.
- Fakhrzadeh H, Ghotbi S, Pourebrahim R, et al. Total plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 status in healthy Iranian adults: the Tehran

- homocysteine survey (2003-2004)/a cross-sectional population based study. *BMC Public Health* 2006; 6:29.
23. Fakhrzadeh H, Ghotbi S, Pourebrahim R, et al. Plasma homocysteine concentration and blood pressure in healthy Iranian adults: the Tehran Homocysteine Survey (2003-2004). *J Hum Hypertens* 2005;19:869-76.
 24. WHO MONICA Project Principal Investigators: The World Health Organization MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. *J Clin Epidemiol* 1988, 41:105-14.
 25. WHO MONICA Project: Geographical variation in the major risk factors of coronary heart disease in men and women aged 25-64 years. *World Health Stat Q* 1988, 41:115-40
 26. Heshmat R, Fakhrzadeh H, Pour Ebrahim R, et al. Cardiovascular risk factors study in the inhabitants of Tehran University of Medical Sciences population lab: statistical design and sampling. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders* 2004; 3(Suppl 1): 21-6.
 27. Blackburn H. Electrocardiographic classification for population comparisons. The Minnesota code. *J Electrocardiol* 1969; 2: 5-9.
 28. Rose GA, Blackburn H, Gillum RF, et al. Cardiovascular survey methods. WHO Monograph Series 56, 2nd ed. Geneva: WHO, 1982.
 29. Retterstol L, Paus B, Bohn M, et al. Plasma total homocysteine levels and prognosis in patients with previous premature myocardial infarction: a 10-year follow-up study. *J Intern Med* 2003; 253: 284-92.
 30. Chasan-Taber L, Selhub J, Rosenberg IH, et al. A prospective study of folate and vitamin B6 and risk of myocardial infarction in US physicians. *J Am Coll Nutr* 1996;15:136-43.
 31. Chambers JC, Obeid OA, Refsum H, et al. Plasma homocysteine concentrations and risk of coronary heart disease in UK Indian Asian and European men. *Lancet* 2000; 355:523-7.
 32. Mehta KN, Chag MC, Parikh KH, et al. Effect of folate treatment on homocysteinemia in cardiac patients: A prospective study. *Indian J Pharmacol* 2005; 37: 13-7.
 33. Hsu-Ko Kuo. Relationship between homocysteine and cardiovascular diseases in older adults. *JAGS* 2004; 52:1955-6.
 34. Verhoef P, Kok FJ, Kruyssen DA, et al. Plasma Total Homocysteine, B Vitamins, and Risk of Coronary Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:989-95.
 35. Vrentzos G, Papadakis JA, Malliaraki N, et al. Association of serum total homocysteine with the extent of ischemic heart disease in a Mediterranean cohort. *Angiology* 2004; 55:517-24.
 36. Nikkari S T, Kalela A, Koivu TA, et al. Serum homocysteine does not associate with uncomplicated coronary heart disease. *Eur J Clin Invest* 2001; 31: 581-5.
 37. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, et al. Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) 2 Investigators. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med* 2006; 354:1567-77.
 38. Bona KH, Njolstad I, Ueland PM, et al. NORVIT Trial Investigators Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 354:1578-8.

