

血浆同型半胱氨酸与早发缺血性脑卒中易感相关性

金 铭 王宁宁 郑梦琳 武 楠 林树东 张智龙 才奇博 郑玉婷 张 昊 胡 莹
周宇忱 李雪岩 杨秀静 邱长春 李静平

摘要 目的 探讨血浆同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)水平和 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(5,10-methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)基因 C677T 多态性与早发大动脉粥样硬化型(large artery atherosclerosis, LAA)缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)的易感相关性。方法 采用基于群体的病例/对照相关研究,收集病例组急性早发(年龄 ≤ 55 岁)LAA IS 患者 847 例和对照组样本 1765 例。应用酶联免疫吸附试验测定血浆 Hcy 水平。基因分型应用 Sequenom Mass Array 质谱技术,使用 SpectroCHIP-G384 芯片单链延伸法。采用二元 Logistic 方法计算 OR 值和 95% CI。结果 病例组与对照组间 C677T 的 TT 纯合基因型频率分别为 2.13% 和 0.85%, 差异有统计学意义($P=0.007$)。在病例组中,TT 基因型携带者的 LAA IS 易感风险性较 CC 型增加 2.578 倍(OR=2.578, 95% CI:1.291~5.150, $P=0.007$)。病例组较对照组血浆 Hcy 水平明显升高,分别为 $14.04 \pm 7.77 \mu\text{mol/L}$ 和 $11.04 \pm 4.51 \mu\text{mol/L}$, 差异有统计学意义($P<0.001$)。病例组中,TT 基因型携带者的血浆 Hcy 水平最高;CT 基因型居中,CC 基因型最低,依次为 $22.26 \pm 11.11 \mu\text{mol/L}$ 、 $19.98 \pm 8.69 \mu\text{mol/L}$ 和 $11.78 \pm 2.19 \mu\text{mol/L}$ 。结论 MTHFR 基因 C677T 多态性与早发 LAA 缺血性脑卒中易感相关,通过降低 MTHFR 酶活性,增加血浆 Hcy 水平参与疾病的发生。

关键词 早发缺血性脑卒中 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶 单核苷酸多态性 大血管粥样硬化 同型半胱氨酸

中图分类号 R394 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.04.021

Association of Plasma Homocysteine with susceptible to Early-onset ischemic stroke. JIN Ming, WANG Ningning, ZHENG Menglin, et al. Research Institute of Medicine & Pharmacy, Qiqihar Medical University, Heilongjiang 161006, China

Abstract Objective To investigate the association of plasma homocysteine (Hcy) level and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T polymorphisms with early-onset large artery atherosclerosis (LAA) ischemic stroke (IS). **Methods** A population-based case-control study was conducted, a total of 847 patients with acute early-onset (age ≤ 55 years) LAA IS in the case group and 1765 patients in the control group were collected. Plasma Hcy level were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Genotyping was performed by Sequenom Mass Array Mass spectrometry using Spectrochip-G384 chip single chain extension method. The OR and 95% CI were calculated by binary Logistic regression. **Results** The TT homozygous genotypes frequencies of C677T in case group and control group were 2.13% and 0.85%, respectively, and the difference was statistically significant ($P=0.007$). In the case group, the TT genotype carriers was 2.578 times more susceptible to IS than that in subjects with CC genotype carriers (OR=2.578, 95% CI:1.291-5.150, $P=0.007$). The plasma Hcy level in the case group were significantly higher in case group than that in control group ($14.04 \pm 7.77 \mu\text{mol/L}$ vs $11.04 \pm 4.51 \mu\text{mol/L}$), and the difference was statistically significant ($P<0.001$). In the case group, the plasma Hcy level of TT genotype carriers were the highest, the CT genotype was in the middle, and the CC genotype was the lowest, which were $22.26 \pm 11.11 \mu\text{mol/L}$, $19.98 \pm 8.69 \mu\text{mol/L}$, $11.78 \pm 2.19 \mu\text{mol/L}$, respectively. **Conclusion** MTHFR gene C677T polymorphism is associated with susceptibility to LAAIS, and is involved in the occurrence of disease by decreasing MTHFR enzyme activity and increasing plasma Hcy level

Key words Early-onset ischemic stroke; 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase; Single nucleotide polymorphism; Large artery atherosclerosis; Homocysteine

基金项目:齐齐哈尔医学科学院临床科研基金资助项目(QM-SI2019L-21)

作者单位:161006 齐齐哈尔医学院医药科学研究院(金铭、王宁宁、郑梦琳、武楠、张昊、胡莹、李雪岩、邱长春、李静平);161006 齐齐哈尔医学院第三附属医院(林树东、张智龙、才奇博、郑玉婷、杨秀静);100089 北京,首都师范大学地球空间信息科学与技术国际化示范学院(周宇忱);100089 北京,中国医学科学院基础医学研究所(邱长春)

通信作者:李静平,电子邮箱:jingping0011@163.com

脑卒中是多基因、迟发性和极具破坏性的神经系统疾病,约 80% 是缺血性脑卒中,其遗传病因学尚未完全阐明^[1]。我国脑卒中发生率存在明显地域化差异,呈现北高南低,黑龙江省脑卒中发生率居全国第一^[2,3]。虽然,许多研究认为血浆同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)水平升高是缺血性脑卒中的独立风

险因素,但其分子作用机制仍缺少实质性了解^[4-6]。

Hcy 是叶酸代谢状态最敏感的标志物。Hcy 水平来自食物平衡、遗传因素和(或)两者协同作用。叶酸代谢是复杂的过程,包括多种互相依赖可提供甲硫氨酸合成和 DNA、RNA 及蛋白质甲基化作用所需甲基供体的酶促反应构成的网络系统^[7,8]。5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(5,10-methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)是叶酸代谢通路中的重要酶,也是 Hcy 生成的关键限速酶。MTHFR 的功能是催化 5,10-甲基四氢叶酸生成 5-甲基四氢叶酸,它是 Hcy 向甲硫氨酸转化所需甲基供体的前体物^[9-11]。本研究以 Hcy 作为中介表型,探讨血浆同型半胱氨酸水平, MTHFR 基因 C677T 多态性与 LAA IS 易感风险性。

材料与方法

1. 研究人群:本研究采用基于群体的病例/对照研究,已获得齐齐哈尔医学院医学伦理学委员会批准{伦理学审批号:齐伦审[2022]52号},并征得每位参加者的知情同意。研究纳入 2612 例无血缘关系世居北纬 47°~53°高寒地区汉族人样本。病例组样本 847 例,为发病年龄 ≤55 岁的大动脉粥样硬化(large artery atherosclerosis, LAA)缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)病例;对照组样本 1765 例。病例选择:病例样本取自齐齐哈尔医学院附属第三医院。病例诊断根据神经症状出现并经过 CT 和(或)MR 影像证实。按照 TOAST 分型标准,排除心源性脑卒中、小动脉闭塞性脑卒中、出血性脑卒中、短暂性脑缺血发作和其他不明原因的缺血性脑卒中。对照选择:通过基于自愿的免费常规查体,选择年龄、性别、民族、居住地相匹配,数量(病例:对照 = 1:2)为 1765 例健康对照个体。纳入标准:①年龄 ≥40 岁;②至少 3 代居住在该地区,无异民族婚配;③排除高血压、心脏病、脑卒中和其他神经系统疾病(如老年痴呆等)个人和家族病史。

2. 研究方法:(1)人口学资料:通过问卷调查,获取被调查对象的年龄、性别、职业、民族、本人及家族病史(高血压、糖尿病、冠心病、心、脑血管病、老年痴呆等神经系统疾病),吸烟、饮酒及饮食习惯等相关资料。(2)人体学资料:通过常规全面查体获得人体学资料。测量身高、体重,计算体重指数(body mass index, BMI), BMI ≥28kg/m² 为肥胖。使用台式汞柱式血压计测量血压和心率。按国际标准在未服药情

况下,收缩压(systolic blood pressure, SBP) ≥140mmHg 和(或)舒张压(diastolic blood pressure, DBP) ≥90mmHg 为高血压。使用指夹式脉搏血氧仪测量血氧饱和度(西藏华大科技有限公司),本研究中的血氧饱和度为 3 次测定的平均值。(3)实验室检验:使用全自动生化分析仪(贝克曼 AU5800)测定甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、血糖、尿酸、肌酐。(4)同型半胱氨酸水平测定:取急性期 LAA IS 患者空腹外周血 5ml, EDTA 抗凝。3000r/min 离心 10min,取上清血浆 -80℃ 保存,待测定血浆 Hcy 水平。应用酶联免疫吸附实验法测定 Hcy 水平。

3. 基因分型:(1)制备基因组 DNA:使用柱式中量 DNA 提取试剂盒(北京康为世纪生物技术有限公司),从外周血白细胞分离基因组 DNA。将沉淀 DNA 溶于 GE 缓冲液(10mmol/L Tris-HCl, 1mmol/L EDTA-Na₂, pH 值为 8.0), -20℃ 保存。使用微量分光光度仪(Thermo Nano drop 2000)测定 DNA 浓度和纯度,其纯度达 A₂₆₀/A₂₈₀ ≥1.80。(2)基因分型:采用 Sequenom Mass Array 质谱技术,使用 Spectrochip-G384 芯片单引物延伸法,利用 UCSC 在线工具设计引物,分别从病例、对照组随机选取 20 例样本进行 DNA 测序,两种方法符合率达 100%。

4. 统计学方法:应用 SPSS 25.0 统计学软件对数据进行统计分析。(1)临床资料分析:采用 Epidata 3.0 软件平行录入人口学、人体学和生化检测数据,建立数据库。连续变量以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两组间均数比较采用独立样本 *t* 检验。计量资料组间比较用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。(2)基因分型数据分析:使用 SPSS 25.0 软件的 Logistic 程序。等位基因和基因型频率估算采用直接基因计数方法。采用 χ^2 检验法计算 Hardy-Weinberg 平衡, $P > 0.05$ 表示所选择的样本具有群体代表性。应用 Logistic 回归分析预测 MTHFR C677T 位点的加性、显性和隐性 3 种遗传模式的效应,用 95% 可信区间(95% CI)和相对危险度(OR)表示。本研究中 OR ≥1.50, $P < 0.05$ 被定义为与疾病易感相关。

结 果

1. 研究人群的基本特征:病例组($n = 847$, 男性/女性 = 466/381, 平均年龄为 52.48 ± 6.76 岁)和对照组($n = 1765$, 男性/女性 = 666/1099, 平均年龄为 50.82 ± 8.87 岁)的生理和生化检测结果详见表 1。病例组的收缩压 139.93 ± 18.37mmHg 和舒张压

87.72 ± 11.92mmHg 明显高于对照组收缩压 118.32 ± 13.16mmHg 和舒张压 77.46 ± 8.95mmHg, 差异有统

计学意义 ($P < 0.001$), 同时脉压差也呈现出这种趋势, 说明高血压是脑卒中的主要危险因素。

表 1 研究人群的基本特征 [$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

项目	病例组 ($n = 847$)	对照组 ($n = 1765$)	t/χ^2	P
性别			69.628	<0.001
男性	466 (55.02)	666 (37.73)		
女性	381 (45.98)	1099 (62.27)		
年龄 (岁)	52.48 ± 6.76	50.82 ± 8.87	5.288	<0.001
体重指数 (kg/m^2)	25.74 ± 4.97	23.57 ± 3.11	11.659	<0.001
收缩压 (mmHg)	139.93 ± 18.37	118.32 ± 13.16	30.668	<0.001
舒张压 (mmHg)	87.72 ± 11.92	77.46 ± 8.95	22.224	<0.001
脉压差 (mmHg)	52.21 ± 12.61	40.86 ± 15.13	20.145	0.000
血氧饱和度 (%)	95.28 ± 15.10	94.86 ± 16.69	0.643	0.520
总胆固醇 (mmol/L)	5.44 ± 1.17	5.04 ± 0.97	8.628	<0.001
甘油三酯 (mmol/L)	2.03 ± 4.84	1.52 ± 2.16	2.930	0.003
高密度脂蛋白 (mmol/L)	42.26 ± 14.24	51.56 ± 22.45	12.836	<0.001
低密度脂蛋白 (mmol/L)	128.30 ± 38.63	122.21 ± 33.38	3.937	<0.001
血糖 (mmol/L)	5.24 ± 1.44	4.95 ± 1.95	4.275	<0.001
尿酸 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	370.81 ± 127.62	322.90 ± 109.25	9.398	<0.001
肌酐 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	64.19 ± 8.69	64.57 ± 9.41	1.018	0.309
Hcy ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	14.04 ± 7.77	12.49 ± 4.36	5.411	<0.001

2. MTHFR C677T 基因型和等位基因频率分布: 两组人群 MTHFR C677T 基因型分布未偏离 *Hardy - Weinberg* 平衡, $P > 0.05$ 。病例组 TT 纯合基因型频率 (2.13%) 明显高于对照组 (0.85%)。未调节影响因素时, OR 为 2.578 (95% CI: 1.291 ~ 5.150, $P = 0.007$)。为了排除年龄、性别的可能影响, 笔者针对年龄、性别进行调整, 调整后的 OR 为 2.430 (95% CI:

1.177 ~ 5.014, $P = 0.016$) 差异仍有统计学意义, 说明基因型 TT 与 LAA IS 易感相关 (表 2)。分析 3 种不同遗传模式效应结果详见表 3。隐性遗传模式效应最强, OR 为 2.533 (95% CI: 1.270 ~ 5.051, $P = 0.008$), 调整年龄、性别后, OR 为 2.398 (95% CI: 1.164 ~ 4.942, $P = 0.018$), 说明 TT 基因型的隐性遗传模式是 LAA IS 的危险因素 (图 1)。

表 2 MTHFR C677T 基因型与等位基因频率在病例组与对照组间的频率分布 [$n(\%)$]

基因型/等位基因	对照组	病例组	OR ₁ (95% CI)	P_1	OR ₂ (95% CI)	P_2
CC	1330 (75.35)	619 (73.08)	1	0.023	1	0.052
CT	420 (23.80)	210 (24.79)	1.074 (0.887 ~ 1.301)	0.462	1.054 (0.866 ~ 1.283)	0.599
TT	15 (0.85)	18 (2.13)	2.578 (1.291 ~ 5.150)	0.007	2.430 (1.177 ~ 5.014)	0.016
C	3080 (87.25)	1448 (85.48)	1			
T	450 (12.75)	246 (14.525)	1.163 (0.983, 1.375)	0.078		

OR₁ 和 P_1 均为粗略值, OR₂ 和 P_2 为调整年龄、性别后的数值

表 3 3 种遗传模式 (加性、显性和隐性) 的效应分析

项目	模型	OR (95% CI)	P
共显性模型	TT vs CC (ref)		
	调整前	2.578 (1.291 ~ 5.15)	0.007
	调整后	2.430 (1.177 ~ 5.014)	0.016
显性模型	CT + TT vs CC (ref)		
	调整前	1.126 (0.935 ~ 1.357)	0.212
	调整后	1.102 (0.909 ~ 1.335)	0.323
隐性模型	TT vs CC + CT (ref)		
	调整前	2.533 (1.270 ~ 5.051)	0.008
	调整后	2.398 (1.164 ~ 4.942)	0.018

调整因素为年龄、性别

3. MTHFR C677T 基因型与血浆同型半胱氨酸水平: 病例组平均血浆 Hcy 水平 $14.04 \pm 7.77 \mu\text{mol/L}$ 明显高于对照组 $11.04 \pm 4.51 \mu\text{mol/L}$ 。组间同一基因型比较, 也是病例组高于对照组, 提示除了 MTHFR C677T 多态性外, 可能还有其他因素影响患者血浆

Hcy 水平(图 2)。进一步观察了病例组基因型和血浆 Hcy 水平相关性。结果表明, 病例组中 TT 纯合基因型携带者血浆 Hcy 水平明显高于 CT 和 CC 基因型携带者, 依次为 TT ($22.26 \pm 11.11 \mu\text{mol/L}$) > CT ($19.98 \pm 8.69 \mu\text{mol/L}$) > CC ($11.78 \pm 2.19 \mu\text{mol/L}$)。

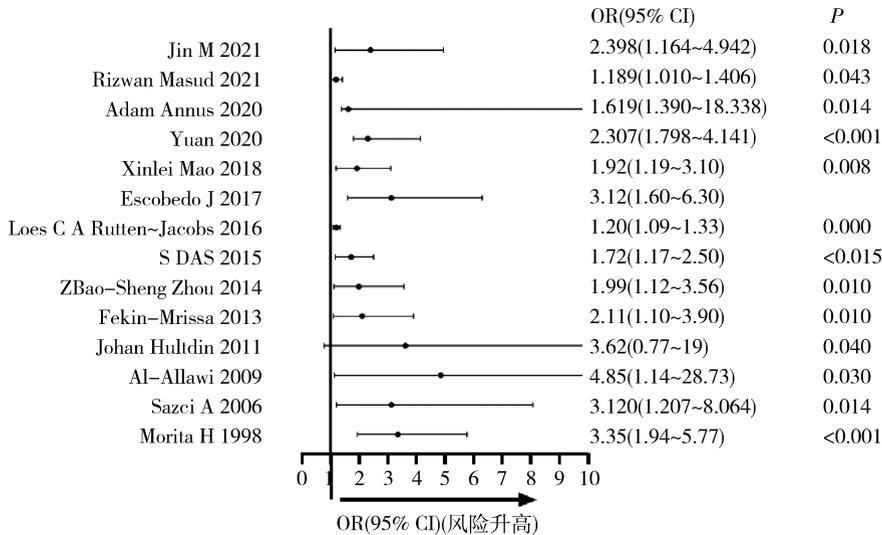


图 1 不同种族人群 MTHFR 基因 C677T 变异隐性遗传模式与 LAA IS 易感相关效应比较

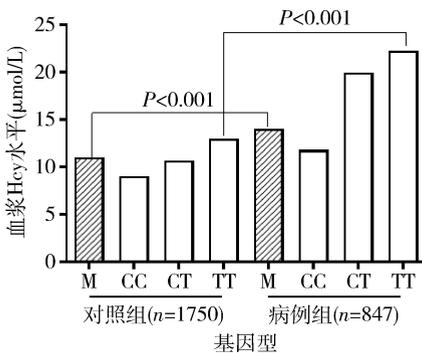


图 2 MTHFR 基因型与血浆 Hcy 水平比较

讨 论

缺血性脑卒中是多基因、迟发性复杂疾病的典型范例。高度遗传异质性是缺血性脑卒中遗传病学研究的主要瓶颈。为了便于筛查、鉴定其易感基因, 本研究以同型半胱氨酸作为特定中介表型, 以急性、早发大血管动脉硬化型缺血性脑卒中作为研究对象进行分层分析, 其优点是: ①使研究人群遗传背景趋于均一, 减少遗传噪音影响; ②早发型较迟发型病例可富集更多外显性强的基因变异, 即使是同一基因变异在早发病例中的效应强于迟发型病例, 可提高统计学强度。

MTHFR 是相对分子质量为 70 ~ 77kDa 的二聚体

蛋白质, 其编码基因定位于人类染色体短臂 1p36.6 区域, 具有多态性, 迄今已鉴定出 10 多种单核苷酸多态性位点^[12]。MTHFR C677T 功能性变异是最常见且被广泛研究的多态性位点。MTHFR 基因第 677 位胞嘧啶被胸腺嘧啶取代, 致使酶蛋白第 222 位丙氨酸 (Ala) 变为缬氨酸 (Val), 降低酶的热稳定性和酶活性。在 37℃, 677 TT 纯合基因型较野生 CC 纯合基因型, 酶活性可降低 50% ~ 60%; 在 46℃, 酶活性可降低 65%, 从而引起血浆 Hcy 水平升高, 发生高同型半胱氨酸血症^[13,14]。本研究病例组中, Hcy 水平与不同基因型的相关性呈现 TT > TC > CC 趋势。同时, 基因型 OR 也呈现 TT > TC > CC 的趋势, 两者关系变化趋势的一致性, 说明 Hcy 水平升高是缺血性脑卒中独立风险因素与 MTHFR C677T 变异密切相关。

MTHFR 基因 C677T 变异频率存在明显地域变化和种族差异^[15]。研究数据表明, 在欧洲西班牙人和意大利人 MTHFR 677T 等位基因频率较高, 而美国黑种人和非洲黑种人 MTHFR 677T 等位基因频率较低。同是白种人, 在欧洲西班牙人和意大利人 677 TT 纯合基因型频率较高 (21%), 而德国人 TT 纯合基因型频率最低。此外, 非欧洲的白种人, 如加拿大、美国、巴西和澳大利亚的白种人, MTHFR 677TT 纯合

基因型频率变化在 10% ~ 14%。非洲黑种人 TT 纯合度几乎为零;而生活在美国和巴西的黑种人 TT 纯合度极低,仅为 1% ~ 2%。有关亚洲人群研究资料较少,日本人 MTHFR 基因 677TT 纯合频率约为 11%,印度人是 0 ~ 1.2%^[16,17]。在我国,不同研究报告汉族人 MTHFR 基因 677T 等位基因或 TT 纯合基因型频率差异较大^[18]。

本研究 MTHFR C677T 基因型与缺血性脑卒中易感相关性结果显示,在隐性遗传模式,TT 纯合基因型的 OR 是 2.398(95% CI:1.164 ~ 4.942, $P = 0.018$) 明显高于 Mao 等^[18]报告的迟发性患者 OR 值(OR = 1.920, 95% CI:1.190 ~ 3.100, $n = 130$, 平均年龄为 68.42 ± 13.26 岁, LAA IS 患者),说明 MTHFR 基因变异可能在早发患者中起更重要作用。

多项研究表明,血清 Hcy 水平升高预示着平滑肌和内皮细胞损伤,导致活化凝血因子,抑制纤溶酶原激活剂表达,促进内皮增生,从而进一步抑制凝血酶表达和组织型纤溶酶原激活剂和硫代肝素的合成。最终通过炎性细胞因子分泌,血小板凝集,内质网应激和氧化应激反应导致动脉粥样硬化和凝血。动脉粥样硬化和凝血都是缺血性脑卒中的重要危险因素^[19]。因此,本研究结果有助于揭示血清 Hcy 水平升高作为缺血性脑卒中独立风险因素的遗传病分子基础。

参考文献

- 1 Nikolic D, Jankovic M, Petrovic B, *et al.* Genetic aspects of inflammation and immune response in Stroke[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19): 7409 - 7423
- 2 Zhou BS, Bu GY, Li M, *et al.* Tagging SNPs in the MTHFR gene and risk of ischemic stroke in a Chinese population[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(5): 8931 - 8940
- 3 Sun H, Zou X, Liu L. Epidemiological factors of stroke: a survey of the current status in China[J]. *J Stroke*, 2013, 15(5): 109 - 114
- 4 Zhang T, Jiang Y, Zhang S, *et al.* The association between homocysteine and ischemic stroke subtypes in Chinese: a Meta - analysis[J]. *Medicine*: Baltimore, 2020, 99(12): e19467
- 5 Kim KY, Shin KY, Chang KA, *et al.* Potential biomarkers for post - stroke cognitive impairment: a systematic review and Meta - analysis[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2): 602 - 618
- 6 Chen Y, Zou H, Peng M, *et al.* Association between homocysteine levels in acute stroke and poststroke depression: a systematic review

- and Meta - analysis[J]. *Brain Behav*, 2022, 23: e2626
- 7 Field MS, Kamynina E, Chon J, *et al.* Nuclear folate metabolism [J]. *Annu Rev Nutr*, 2018, 38: 219 - 243
- 8 Koklesova L, Mazurakova A, Samec M, *et al.* Homocysteine metabolism as the target for predictive medical approach, disease prevention, prognosis, and treatments tailored to the person[J]. *EPMA J*, 2021, 12(4): 1 - 29
- 9 Zanic BL, Obradovic M, Bajic V, *et al.* Homocysteine and hyperhomocysteinaemia[J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(16): 2948 - 2961
- 10 Lisboa JVC, Ribeiro MR, Luna RCP, *et al.* Food intervention with folate reduces TNF - α and interleukin levels in overweight and obese women with the MTHFR C677T polymorphism: a randomized trial [J]. *Nutrients*, 2020, 12(2): 361 - 389
- 11 Yang BY, Cao K, Luo YN, *et al.* Associations of ambient particulate matter with homocysteine metabolism markers and effect modification by B vitamins and MTHFR C677T gene polymorphism [J]. *Environ Pollut*, 2021, 270: 1 - 9
- 12 Masud R, Khan AUH, Anjum AF, *et al.* The connotation of variances in the risk predictors, medications, homocysteine, and homocysteine pathway gene polymorphisms with CVA/stroke [J]. *Glob Med Genet*, 2020, 7(4): 113 - 120
- 13 Kim JO, Park HS, Ryu CS, *et al.* Interplay between 3' - UTR polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and the risk of ischemic stroke [J]. *SCI Rep*, 2017, 7(1): 12464 - 12479
- 14 靳林, 周雪, 闫世春, 等. 黑龙江省 2016 年急性脑卒中发病和病死现状分析[J]. *中国公共卫生管理*, 2018, 34(4): 471 - 473
- 15 Li Y, Qiu S, Shi J, *et al.* Association between MTHFR C677T/A1298C and susceptibility to autism spectrum disorders: a Meta - analysis[J]. *BMC Pediatr*, 2020, 20(1): 449 - 464
- 16 Donkor ES. Stroke in the 21st century: a snapshot of the burden, epidemiology, and quality of life[J]. *Stroke Res Treat*, 2018, 2018: 1 - 10
- 17 Mishra J, Talwar S, Kaur L, *et al.* Differential global and MTHFR gene specific methylation patterns in preeclampsia and recurrent miscarriages: a case - control study from North India[J]. *Gene*, 2019, 704: 68 - 73
- 18 Mao XL, Han LY. The Relationship of methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism and ischemic stroke in Chinese han population[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2018, 48(2): 242 - 247
- 19 Bruno G, Ritelli M, Di Pietro A, *et al.* Clinical and genetic heterogeneity in a large family with pseudoxanthoma elasticum: MTHFR and SERPINE1 variants as possible disease modifiers in developing ischemic stroke[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2021, 30(6): 1 - 7

(收稿日期: 2022 - 06 - 16)

(修回日期: 2022 - 06 - 23)