

血浆同型半胱氨酸和叶酸及 MTHFR 基因多态性与早产的相关性

杜景云^{1*}, 杨新颖¹, 龚波², 管玉宇¹, 梅丽艳¹, 李亚梅¹

(1.上海市宝山区罗店医院妇产科,上海 201908; 2.上海市长宁区妇幼保健院检验科,上海 200051)

摘要:【目的】探讨孕妇血浆同型半胱氨酸水平(Hcy)、叶酸水平及 MTHFR 基因多态性与早产的相关性。【方法】采用病例对照研究,选取 440 例分娩孕妇为研究对象,其中早产临产孕妇(case group)、同孕周健康孕妇(control group)各 220 例。用高效液相色谱荧光检测法(HPLC-FD)检测两组孕妇血浆同型半胱氨酸水平和叶酸水平差异;14C 放射法测定两组孕妇 MTHFR 的活性;Taqman-MGB 技术检测两组孕妇 MTHFR 基因的 5 个 SNP 分型差异。【结果】早产临产孕妇的血浆 Hcy 水平($\mu\text{mol/L}$)明显高于同孕周健康孕妇的血浆 Hcy 水平(7.56 ± 2.97 vs. 5.96 ± 2.54 , $P = 0.015$),而早产临产孕妇的血浆叶酸水平($\mu\text{mol/L}$)明显低于同孕周健康孕妇血浆叶酸水平(16.21 ± 2.91 vs. 18.53 ± 3.44 , $P = 0.002$)。早产临产孕妇 MTHFR 的活性($\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)明显低于同孕周健康孕妇 MTHFR 的活性(13.33 ± 3.16 vs. 26.86 ± 5.63 , $P = 0.000$)。在 MTHFR 基因中 rs1801131 和 rs1801133 在早产临产孕妇组与同孕周健康孕妇组的基因型分布差异有统计学意义($P < 0.05$)。【结论】早产儿孕妇血浆同型半胱氨酸水平受叶酸水平影响,并与 MTHFR 基因 SNP 分型密切相关。

关键词:同型半胱氨酸;早产儿;MTHFR;SNP

中图分类号:R394; R71

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2013)06-0894-06

Relationship of Plasma Homocysteine Levels, Folate Levels and MTHFR Gene Polymorphisms with Premature Delivery

DU Jing-yun^{1*}, YANG Xin-ying¹, GONG Bo², GUAN Yu-yu¹, MEI Li-yan¹, LI Ya-mei¹

(1.Department of Gynaecology and Obstetrics, Luodian Hospital, Baoshan District, Shanghai 201908, China;

2.Department of Clinical Laboratory, Maternal and Child Health Hospital of Changning District, Shanghai 200051, China)

Abstract:【Objective】The aim of this study was to investigate the correlation among plasma levels of homocysteine (hcy), folate levels, and MTHFR gene polymorphism with premature delivery in pregnant women.【Methods】In this study, we performed a case-control study. A total of 440 cases of pregnant women were selected and divided into threatened premature labor group and healthy pregnant women with gestational age in our hospital between January 2011 and January 2012. 220 cases were enrolled in each group. We determine plasma Hcy levels and folate levels in each group by using high performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FD) analysis. Meanwhile, the activity of MTHFR was detected by 14C radioactive method analysis. We further examined 5 SNP genotypes of MTHFR genes in each group detected with Taqman-MGB technology.【Results】Data showed that the plasma Hcy levels in threatened premature labor group were much higher than that healthy pregnant women with gestational age ($7.56 \pm 2.97 \mu\text{mol/L}$ vs $5.96 \pm 2.54 \mu\text{mol/L}$, $P = 0.015$). Although, the folate levels were reversed in the two groups ($16.21 \pm 2.91 \mu\text{mol/L}$ vs $18.53 \pm 3.44 \mu\text{mol/L}$, $P = 0.002$). The activity of MTHFR in threatened premature labor group were much lower than that healthy pregnant women with gestational age ($13.33 \pm 3.16 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ vs $26.86 \pm 5.63 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, $P = 0.000$). Moreover, rs1801131 and rs1801133 of MTHFR gene polymorphisms distributed differently in threatened premature labor group and healthy pregnant women with gestational age ($P < 0.05$).【Conclusions】Collectively, the data suggested that plasma hcy levels were influenced by folate levels and closely related to the MTHFR gene SNP genotype in threatened premature labor.

Key words: homocysteine (hcy); premature infant; MTHFR; SNP

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2013, 34(6):894-899]

收稿日期:2013-06-05

基金项目:上海市宝山区科技发展基金(11-E-32)

作者简介:杜景云, * 通信作者, 副主任医师, E-mail: dujingyun123@126.com

早产是常见的妊娠并发症,占分娩总数的5%~15%^[1]。约有15%的早产儿在新生儿期死亡,占新生儿死亡的70%以上。存活的早产儿中10%~30%留有远期的智力发育障碍或神经系统的后遗症^[2]。目前,关于早产启动的发生机制,特别是其中生化性质的改变是当今学者研究的热点。血浆同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是一种含硫氨基酸,其代谢受三种关键酶(蛋氨酸合成酶 MS、胱硫醚 β 合成酶 C β S、亚甲基四氢叶酸还原酶 MTHFR)、叶酸、多种维生素共同作用。若 Hcy 代谢依赖的酶缺陷和(或)叶酸及 B 族维生素缺乏时,可造成 Hcy 代谢受阻,在体内积聚引起高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, Hhcy)^[3]。Hhcy 与多发性流产、子痫前期、胎盘早剥、胎儿生长受限、胎儿畸形、死胎有关^[4],并可能与早产、低体重儿的发生密切相关^[3-4]。在影响 Hcy 代谢的三种关键酶中, MTHFR 最为学者重视。这是由于 MTHFR 存在较多的基因突变,其突变降低酶的活性,是造成 Hcy 浓度升高的重要遗传因素^[5]。研究表明^[5-6], MTHFR 可将 5,10-亚甲基四氢叶酸还原为 5-甲基四氢叶酸,5-甲基四氢叶酸作为甲基供体为 Hcy 的代谢提供甲基。妊娠期尤其是妊娠中晚期胎儿生长发育迅速,对叶酸的需要量大大的增加,而体内又不能自身合成,若膳食中供给不足将导致叶酸缺乏。基于上述理论,探讨 MTHFR 基因多态性、血浆叶酸及 Hcy 水平对早产的影响,为早产防治提供新的理论基础,具有较高的优生学意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取 2011 年 1 月至 2012 年 1 月于我院产检及住院分娩的孕妇 440 例为研究对象,其中早产临产孕妇、同孕周健康孕妇各 220 例。早产临产孕妇孕周为 28~34 周,同孕周健康孕妇采血时间为 31~34 周。两组孕妇都为单胎妊娠的初产妇,且 4 个月以上没有服用叶酸类药物,排除高血压、冠心病、急慢性肾炎、糖尿病、肝炎、胎盘早剥、前置胎盘等疾病,无吸烟、酗酒嗜好,临床生化、肝肾功能均无异常。

1.2 设备与试剂

7900 型定量 PCR 扩增仪:美国 ABI 公司;高速低温离心机:德国 HERAEUS 公司;LC-3A 高效液相色谱仪和 RF-510LC 荧光检测器购于日本岛津公司;FLx800 荧光分析仪,购于美国 BioTek 公司;叶酸测定试剂盒购于美国 DSL 公司;Taqman-MGB 探针购于美国 ABI 公司;其他试剂均为国产色谱纯试剂。

1.3 血浆同型半胱氨酸水平和叶酸水平检测方法

血浆 Hcy 检测所用仪器为 LC-3A 高效液相色谱仪和 RF-510LC 荧光检测器。采用改良的高效液相色谱荧光检测法(HPLC-FD)检测。步骤是:护士在微弱的灯光下抽取静脉血 5 mL,取 1 mL 置于干试管内,于 4℃冰箱冷藏 4 h,当日血样在室温下离心 10 min (200 \times g),分离血清于-80℃保存待测。检测时取 100 μ L 血清,加入 10 μ L 10%三-N-丁基磷化氢 N,N-二甲基甲酰胺溶液,在冰箱(5℃)孵育 30 min,还原巯基使其与血浆蛋白分离。加入 100 μ L 高氯酸溶液,离心沉淀,取 30 μ L 上清液,加入 15 mL 0.5 mol/L NaOH,加入 30 mL SBD-F 衍生液,60℃水浴 60 min,冰上冷却终止反应,取 5 μ L 反应液进行色谱测定血浆 Hcy^[7]。取储存的血清,应用放射免疫法测定血中叶酸浓度。所用的试剂盒均由美国 DSL 公司提供。由专职人员完成测定。

1.4 MTHFR 活性的检测

取血分离出淋巴细胞,放冰上裂解细胞。用 BCA 法测定蛋白浓度。取 500 μ L 细胞上清液加入含 0.6 mol/L 磷酸钾缓冲液(pH=6.8) 121 μ L, 0.1 mol/L EDTA 5 μ L, 10 mmol/L FAD 3 μ L, 0.5 mol/L VitK3 4 μ L, RIPA 100 μ L, 0.28 mmol/L [5-14C] 甲基四氢叶酸水溶液(含 48.6 mmol/L 抗坏血酸)。37℃孵育 30 min。在反应混合物中依次加入 10 μ L 1 mol/L 的甲醛溶液、100 μ L 0.5 mol/L 的双甲酮和 50 μ L 6 mol/L 的醋酸钾缓冲液终止反应,将混合物沸水浴 5 min 后,再冰浴 5 min,使结晶充分析出。加入 1.5 mL 闪烁液(5 g/L PPO, 0.4 g/L POPOP)进行液闪计数。酶活性以 mg/h 蛋白所生成的甲醛的量(nmol)表示。

1.5 DNA 抽提与 SNPs 分型

采用酚氯仿法从静脉血提取 DNA。在 NCBI

dbSNP数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) 和 hapmap human SNP 数据库 (www.hapmap.org/) 中查找出该基因范围内的 SNPs, 综合考虑已报道的多态性位点的杂合度, 功能以及它们在基因中所处的位置等多方面因素, 我们共选取了 5 个 SNPs, 包括: rs4846049、rs1476413、rs1801131、rs1801133 和 rs9651118。

SNP 分型采用 Taqman-MGB 技术, 相关仪器、试剂均购自美国 ABI 公司。对 5 个位点分别进行荧光定量 PCR 反应。每个反应体系为总体积 10 μL , 包含浓度为 20 ng/ μL 的 DNA 模板 1 μL 、2 \times Taqman-Universal Master Mix 5 μL 、20 \times Taqman-MGB 探针 0.5 μL 、去离子水 3.5 μL 。反应条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min, 随后进行 20 个循环的扩增 (92 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min), 再进行 30 个循环的扩增 (89 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 90 s)。反应结束后在 ABI 7900 型定量 PCR 仪上读取样品孔中的终点荧光, 利用其分析软件确定各个样本的基因分型结果 (表 1)。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 10.0 统计软件, 对血浆同型半胱氨酸水平和叶酸水平等数据进行统计学分析。计量资料结果用均数 \pm 标准差表示, 数据统计采用直线相关分析、独立样本 t 检验方法。在获得了 MTHFR 基因的 5 个 SNPs 进行基因分型结果后, 采用在线软件 SHEsis (<http://analysis.bio-x.cn>) 进

行 Hardy-Weinberg 平衡检测, 并比较两组单个位点等位基因和基因型频率。

2 结 果

2.1 两组孕妇的临床资料比较

早产临产孕妇、同孕周健康孕妇平均年龄分别为 (29.4 \pm 4.3) 岁、(28.9 \pm 5.2) 岁, 两组平均年龄相比无统计学差异。早产临产孕妇平均孕周为 (31.3 \pm 2.1) 周, 同孕周健康孕妇采血时间为 31 ~ 34 周。

2.2 两组孕妇血浆 Hcy 与叶酸水平

同孕周健康孕妇 Hcy 水平为 (5.96 \pm 2.54) $\mu\text{mol/L}$; 叶酸水平为 (18.53 \pm 3.44) nmol/L。早产临产孕妇 Hcy 水平为 (7.56 \pm 2.97) $\mu\text{mol/L}$, 比同孕周健康孕妇明显增高, $P = 0.015$; 而早产临产孕妇叶酸水平为 (16.21 \pm 2.91) nmol/L, 比同孕周健康孕妇低, $P = 0.002$ 。

2.3 早产临产孕妇血浆 Hcy 水平与叶酸的相关性

早产临产孕妇 Hcy 水平与叶酸水平存在直线相关, 为负相关, $r = -0.867$, $P = 0.000$, 说明 Hcy 水平与叶酸水平存在较密切的关系, 叶酸的不足会直接导致 Hcy 水平的升高, 直线回归方程为 $\hat{y} = 22.305 - 0.832x$, R^2 为 0.723。同孕周健康孕妇 Hcy 水平与叶酸水平亦存在直线负相关, $r = -0.627$, P

表 1 荧光定量 PCR 的引物片段

Table 1 Primers used for FQ-PCR sequences

Groups	5'-Primer	3'-Primer
rs4846049	TTGCGTGTTTTGCCCTGACTGCAC	GCCCTCGAACCAAGGCAGCCTCCA
rs4846049-probe-ViC	CTCCAAGGGTAAGTT	
rs4846049-probe-FAM	CTCCAAGTGTAAGTT	
rs1476413	TAGGCCAGGCCCCAGGGTCCCA	CTTGCACAATGCCTAGCCCAGGC
rs1476413-probe-ViC	AGTACCAAGCCCTTCG	
rs1476413-probe-FAM	AGTACCAGGCCCTTCG	
rs1801131	CTGAAGATGTGGGGGAGGAGCTG	ACCATTCCGGTTTGTCTCCCGAG
rs1801131-probe-ViC	AGTGAAGAAAGTGCT	
rs1801131-probe-FAM	AGTGAAGCAAGTGCT	
rs1801133	CTGAAGCACTTGAAGGAGAAGGTG	TCACAAAGCGGAAGAATGTGTCAGCC
rs1801133-probe-ViC	CGGGAGCCGATTTC A	
rs1801133-probe-FAM	CGGGAGTCGATTTC A	
rs9651118	AGCACTTCAGACTTTTCACAGCG	ACAGTTAGGATTCCTAACTCT
rs9651118-probe-ViC	TGTTTACTATCTCA	
rs9651118-probe-FAM	TGTTTATTATCTCA	

表 2 两组孕妇等位基因与基因型频率

		Table 2 Allele and genotype frequencies in 2 groups of pregnant women			n(ratio)			
Group	Allele frequency		P	Genotype frequency			P	H-W
rs4846049		G	T	0.627	G/G	G/T	T/T	0.402
	Case	376(0.85)	64(0.14)					
Control	381(0.86)	59(0.13)	162(0.73)	57(0.25)	1(0.00)	0.163		
rs1476413		C	T	0.438	C/C	C/T	T/T	0.384
	Case	374(0.85)	66(0.15)					
Control	382(0.86)	58(0.13)	163(0.74)	56(0.25)	1(0.00)	0.183		
rs1801131		A	C	0.041	A/A	A/C	C/C	0.034
	Case	375(0.85)	65(0.14)					
Control	352(0.8)	88(0.2)	136(0.61)	80(0.36)	4(0.01)	0.257		
rs1801133		C	T	0.000	C/C	C/T	T/T	0.000
	Case	209(0.47)	231(0.52)					
Control	271(0.61)	169(0.38)	89(0.40)	93(0.42)	38(0.17)	0.238		
rs9651118		C	T	0.139	C/C	C/T	T/T	0.23
	Case	85(0.19)	355(0.80)					
Control	103(0.23)	337(0.76)	13(0.05)	77(0.35)	130(0.59)	0.742		

Case group represents threatened premature labor group, Control group represents healthy pregnant women with gestational age. *P* value was employed with SNK-*q* test after ANOVA.

= 0.000, 直线回归方程为 $\hat{y}=24.958-0.970x$, R^2 为 0.421, 对比早产临产孕妇的直线回归方程, 它的预测效果比较差。

2.4 两组 MTHFR 活性的差异

早产临产孕妇组与同孕周健康孕妇组 MTHFR 活性 ($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) 分别为 13.33 ± 3.16 和 26.86 ± 5.63 , 早产临产孕妇远低于健康孕妇组, $P < 0.001$ 。

2.5 两组等位基因与基因型频率分析结果

所有 5 个 SNPs(rs4846049, rs1476413, rs1801131, rs1801133, rs9651118) 基因型分布都符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($P > 0.05$, 表 2), 其中 rs1801131 和 rs1801133 在早产临产孕妇组与同孕周健康孕妇组的基因型分布有显著差异。

2.6 不同等位基因与血浆 Hcy 水平相关性分析

分析不同的基因型与血浆 Hcy 水平的关系, 我们发现, rs1801131 与 rs1801133 的各个基因型与血浆 Hcy 水平明显相关。在同孕周健康孕妇组中, rs1801131 的 A/A 基因型血浆 Hcy 水平为 $(6.28 \pm 1.57) \mu\text{mol/L}$, A/C+C/C 基因型血浆 Hcy 水平为 $(4.42 \pm 2.37) \mu\text{mol/L}$, 其 $P < 0.001$ 。在早产临产孕妇组中, rs1801131 的 A/A 基因型血浆 Hcy 水平为 $(8.85 \pm 2.31) \mu\text{mol/L}$, A/C+C/C 基因型血

浆 Hcy 水平为 $(6.12 \pm 2.64) \mu\text{mol/L}$, 其 $P < 0.001$ 。且早产临产孕妇组 rs1801131 的各个基因型对血浆 Hcy 水平的影响与同孕周健康孕妇组 rs1801131 的各个基因型对血浆 Hcy 水平的影响相比, $P < 0.0001$ (图 1)。

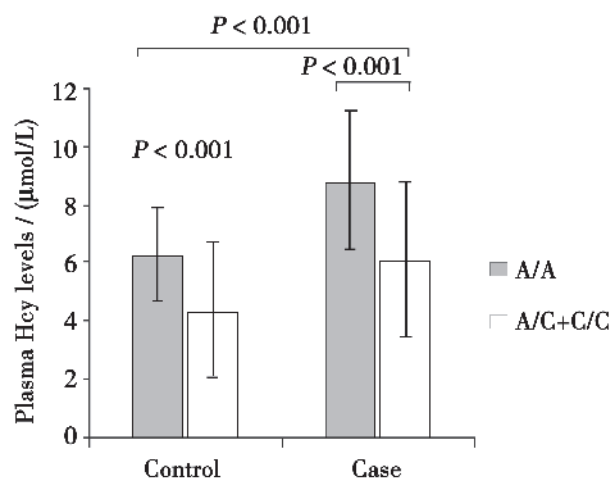


图 1 rs1801131 各基因型对血浆 Hcy 水平的影响
Fig.1 Effect of genotype of rs1801131 on plasma Hcy levels

Control group represents healthy pregnant women with gestational age, Case group represents threatened premature labor group, compared with control, *P* value was employed with SNK-*q* test after ANOVA.

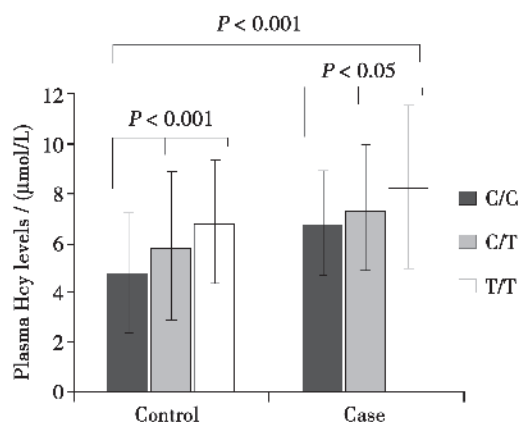


图 2 rs1801133 各基因型对血浆 Hcy 水平的影响

Fig.2 Effect of genotype of rs1801133 on plasma Hcy levels

Control group represents healthy pregnant women with gestational age, Case group represents threatened premature labor group, compared with control, P value was employed with SNK- q test after ANOVA.

在同孕周健康孕妇组中,rs1801133 的 C/C 基因型血浆 Hcy 水平为 $(4.79 \pm 2.42)\mu\text{mol/L}$,C/T 基因型血浆 Hcy 水平为 $(5.88 \pm 3.01)\mu\text{mol/L}$,T/T 基因型为 $(6.85 \pm 2.46)\mu\text{mol/L}$ 。各基因型之间差异有统计学意义,其中 C/C 基因型与 T/T 基因型相比, $P < 0.001$,三种基因型的血浆 Hcy 水平呈明显梯度分布。在早产临产孕妇组中,rs1801133 的 C/C 基因型血浆 Hcy 水平为 $(6.84 \pm 2.09)\mu\text{mol/L}$,C/T 基因型血浆 Hcy 水平为 $(7.45 \pm 2.51)\mu\text{mol/L}$,T/T 基因型为 $(8.29 \pm 3.26)\mu\text{mol/L}$ 。各基因型之间差异显著,也呈明显梯度分布, $P < 0.05$ 。且早产临产孕妇组 rs1801133 的各个基因型对血浆 Hcy 水平的影响与同孕周健康孕妇组 rs1801133 的各个基因型对血浆 Hcy 水平的影响相比, $P < 0.001$ (图 2)。

3 讨 论

成功的妊娠有赖于充足的胎盘血液循环,如胎盘微血栓形成或胎盘梗死,均可导致不良妊娠结局。近年来,先天性和获得性血栓形成倾向与反复妊娠丢失的相关性成为止血血栓和产科合并症的研究热点。大量人群调查中发现,Hcy 升高或高同型半胱氨酸血症增加了发生不良妊娠结局的危险。Hcy 是人体内一种含硫氨基酸,Hcy 代谢依赖的酶缺陷和(或)叶酸及维生素缺乏时,可引起高

同型半胱氨酸血症。高同型半胱氨酸血症造成内皮损伤和功能异常、刺激血管平滑肌细胞增生、破坏机体凝血和纤溶系统,影响脂质代谢等,使机体处于血栓前状态。这种血栓前状态不一定发生血栓性疾病,但可能选择性影响子宫胎盘循环而导致胎盘的微血栓形成,从而导致严重的母婴并发症。近年来发现,血浆中的 Hcy 水平升高与多发性流产、子痫前期、胎盘早剥、胎儿生长受限、胎儿畸形、死胎有关,并可能与早产、低体质量儿的发生密切相关^[3-5]。大量研究表明,在正常妊娠时,血清 Hcy 浓度是低的。过高的 Hcy 水平有分娩小胎龄儿的危险,尤其是早产孕妇^[10]。血浆 Hcy 高水平,与叶酸缺乏密切相关。我们的研究证实,无论是早产临产孕妇,还是同孕周健康孕妇,血浆 Hcy 水平与叶酸水平存在负相关。而且对比同孕周健康孕妇,在早产临产孕妇组,血浆 Hcy 水平与叶酸水平的负相关程度更显著,这与国内学者研究一致^[11]。

MTHFR 基因是影响 Hcy 代谢的关键酶,其基因突变,可使酶的活性与血中叶酸水平降低发生变化,进而影响 Hcy 代谢。Stonek 等^[12]研究发现携带有 MTHFR C677T T 突变体的妇女妊娠合并症会增加。有研究显示,MTHFR 基因 677 位点碱基 C→T 替换,造成丙氨酸被缬氨酸代替,MTHFR 酶活性下降,引起血浆中同型半胱氨酸浓度增加和叶酸降低^[13]。我们发现早产临产孕妇组与同孕周健康孕妇组等位基因与基因型频率分析结果显示,rs1801131 与 rs1801133 的各个基因型与血浆 Hcy 水平明显相关,差异具有统计学意义。rs1801131 与 rs1801133 即为 MTHFR 1298A>C 和 MTHFR 677C>T。它们都会带来氨基酸编码的改变。677C>T 位点发生 C→T 颠换,导致其编码的蛋白质氨基酸序列中第 223 位点 Ala→Val,使酶的热稳定性和活性降低,与文献报道一致。据报道纯合子突变型(677TT)酶活性只有体外野生型(677CC)活性的 30%,而杂合子突变(677CT)有正常酶活性的 65%^[14]。MTHFR 的另一个常见的突变位点 1298A>C 使其编码的蛋白质谷氨酸→丙氨酸。从实验结果看,rs1801133 (677TT)类型的孕妇,血浆中 Hcy 水平最高,677CT 次之,677CC 最低,这与预测完全一致。而 1298A>C 也同样影响了 Hcy 的正常代谢,导致 Hcy 在血浆中的较高水平。

同样,有研究证明 MTHFR 基因突变能增加胎盘血管疾病的危险因素^[15]、增大胎盘早剥几率^[15-16]、加

大胎儿生长受损比率^[15,17]等。为此,我们还需要进一步大样本的研究来阐明这些基因间的相互作用。

通过本研究,我们能够肯定的是早产临产孕妇血浆 Hcy 水平比同孕周健康孕妇血浆 Hcy 水平明显升高。而孕妇不同的 MTHFR SNP 类型,与 Hcy 水平有明显相关性。因此,对于有叶酸缺乏,尤其伴有血浆 Hcy 水平升高的孕妇及时补充叶酸,纠正叶酸缺乏,降低血浆 Hcy 水平,将有利于胎儿生长发育,具有重要的优生学意义。

参考文献:

- [1] 乐杰. 妇产科学·5版[M]. 北京:人民卫生出版社, 2000:129-131.
Le J. Obstetrics and Gynecology · fifth Edition [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000: 129-131.
- [2] 邹海燕. 258例早产的临床因素分析[J]. 现代预防医学, 2012, 39(13): 3250-3256.
Zou HY. Clinical analysis on factors of 258 patients with premature birth[J]. Modern Prevent Med, 2012,39(13): 3250-3256.
- [3] Chakraborty P, Goswami SK, Rajani S, et al. Recurrent pregnancy loss in polycystic ovary syndrome: role of hyperhomocysteinemia and insulin resistance[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64446.
- [4] 李海川,侯李俞,谭胡,等. 孕前、孕中及产后同型半胱氨酸水平变化及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(19): 2295-2296.
Li HC, Hou L, Tan H, et al. The homocysteine levels of pre-natal, pregnancy and post-natal and its clinical significance [J]. Int J Lab Med, 2011, 32(19): 2295-2296.
- [5] Huang T, Hu X, Khan N, et al. Effect of Polyunsaturated Fatty Acids on Homocysteine Metabolism through Regulating the Gene Expressions Involved in Methionine Metabolism [J]. Sci World J, 2013, 23(9): 2013: 931626.
- [6] Zappacosta B, Mastroiacovo P, Persichilli S, et al. Homocysteine lowering by folate-rich diet or pharmacological supplementations in subjects with moderate hyperhomocysteinemia[J]. Nutrients, 2013, 5(5): 1531-1543.
- [7] Berti C, Biesalski HK, Gortner R, et al. Micronutrients in pregnancy: Current knowledge and unresolved questions[J]. Clin Nutr, 2011, 30(6): 689-701.
- [8] Raijmakers MT, Zusterzeel PL, Steegers EA, et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for preeclampsia? [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2001, 95(9): 226-228.
- [9] 赖毓冕. 孕妇血浆同型半胱氨酸水平与新生儿出生体重的关系[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(1): 89-90.
Lai YM. The association between the plasma homocysteine levels of the pregnant women and the neonatal birth weight [J]. Chin J Birth Health Hered, 2008, 16(1): 89-90.
- [10] Micle O, Muresan M, Antal L, et al. The influence of homocysteine and oxidative stress on pregnancy outcome [J]. J Med Life, 2012, 5(1): 68-73.
- [11] 赖毓冕,何平. 早产儿孕母血浆同型半胱氨酸水平及影响因素[J]. 现代预防医学, 2010, 37(1): 39-41.
Lai YM, He P. The levels of plasma and its factor in premature labor [J]. Modern Prevent Med, 2010, 37(1): 39-41.
- [12] Stonek F, Hafner E. Methylene tetrahydro folate Reductase C677T Polymorphism and Pregnancy Complications[J]. Obstet Gynecol, 2007, 110(2 Pt 1): 363-368.
- [13] Daly SF, Molloy AM, Mills JL, et al. The influence of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase genotypes on enzyme activity in placental tissue [J]. Br J Obstet Gynecol, 1999, 106(11): 1214-1218.
- [14] Kim SJ, Lee BH, Kim YM, et al. Congenital MTHFR deficiency causing early-onset cerebral stroke in a case homozygous for MTHFR thermolabile variant[J]. Metab Brain Dis, 2013, 23(9): 23-29.
- [15] Klai S, Fekih-Mrissa N, El Housaini S, et al. Association of MTHFR A1298C polymorphism (but not of MTHFR C677T) with elevated homocysteine levels and placental vasculopathies [J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2011, 22(5): 374-378.
- [16] Jääskeläinen E, Keski-Nisula L, Toivonen S, et al. MTHFR C677T polymorphism is not associated with placental abruption or preeclampsia in Finnish women [J]. Hypertens Pregnancy, 2006, 25(2): 73-80.
- [17] Offenbacher S, Lief S, Boggess KA, et al. Maternal periodontitis and prematurity: Part I: Obstetric outcome of prematurity and growth restriction [J]. Ann Periodontol, 2001, 6(1): 164-174.

(编辑 徐杰)