

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.07.035

出血性卒中与 MTHFR C677T 基因多态性的相关性研究 *

袁 蔚¹ 王 娜² 肖耀东³ 周成莹⁴ 李爱民^{1Δ}

(1 徐州医科大学附属连云港医院神经外科 江苏 连云港 222002; 2 徐州医科大学附属医院急救与救援医学系 江苏 徐州 221002;
3 徐州医科大学附属医院神经外科 江苏 徐州 221002; 4 徐州医科大学附属医院神经内科 江苏 徐州 221002)

摘要 目的:探讨与分析出血性卒中与亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)C677T 基因多态性的相关性。**方法:**2020 年 2 月到 2021 年 4 月选择在本地地区诊治的 H 型高血压患者 220 例作为研究对象,检测所有患者的 MTHFR C677T 基因多态性状况,检测血清同型半胱氨酸、叶酸、维生素 B12 含量。随访判定患者的出血性卒中状况并进行相关性分析。**结果:**随访调查 1 年,220 例患者中出血性卒中 20 例(出血性卒中组),占比 9.1%。出血性卒中组的血清同型半胱氨酸含量明显高于非出血性卒中组,血清维生素 B12、叶酸明显低于非出血性卒中组($P<0.05$)。两组的 MTHFR C677T 基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,出血性卒中组的 TT 基因型、等位基因 T 占比分别为 70.0%、80.0%,都显著高于非出血性卒中组的 24.0%、35.0%($P<0.05$)。Spearman 相关系数分析显示 H 型高血压患者的血清同型半胱氨酸、叶酸、维生素 B12 含量、TT 基因型、等位基因 T 都与出血性卒中存在相关性($P<0.05$)。多元回归分析显示血清同型半胱氨酸、叶酸、维生素 B12 含量、TT 基因型、等位基因 T 都为导致 H 型高血压患者出血性卒中发生的重要因素($P<0.05$)。**结论:**H 型高血压在随访过程中容易发生出血性卒中,也伴随有血清同型半胱氨酸、维生素 B12、叶酸含量异常,MTHFR C677T 的 T 基因型、等位基因 T 与出血性卒中存在相关性,也是导致出血性卒中发生的重要危险因素。

关键词:出血性卒中;甲基四氢叶酸还原酶;基因多态性;相关性

中图分类号:R743 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)07-1380-05

Correlation between Hemorrhagic Stroke and MTHFR C677T Gene Polymorphism*

YUAN Wei¹, WANG Na², XIAO Yao-dong³, ZHOU Cheng-ying⁴, LI Ai-min^{1Δ}

(1 Department of Neurosurgery, Lianyungang Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University, Lianyungang, Jiangsu, 222002, China;

2 Department of Emergency and Rescue Medicine, The Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, 221002, China;

3 Department of Neurosurgery, The Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, 221002, China;

4 Department of Neurology, The Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, 221002, China)

ABSTRACT Objective: To explore and analyze the correlation between hemorrhagic stroke and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T gene polymorphism. **Methods:** From February 2020 to April 2021, 220 cases of patients with H-type hypertension diagnosed and treated in this region were selected as the research subjects. The MTHFR C677T gene polymorphism status of all patients were detected, and the serum homocysteine, folic acid and vitamin B12 contents were detected. The patients' hemorrhagic stroke status were determined during followed-up and correlation analysis were performed. **Results:** During the 1-year followed-up survey, there were 20 patients of the 220 patients were hemorrhagic stroke, accounting for 9.1%. The serum homocysteine content in the hemorrhagic stroke group were higher than that in the non-hemorrhagic stroke group, and the serum vitamin B12 and folic acid were lower than those in the non-hemorrhagic stroke group ($P<0.05$). The distribution of MTHFR C677T genotypes in the two groups were in line with Hardy-Weinberg genetic balance. The proportion of TT genotype and allele T in the hemorrhagic stroke group were 70.0% and 80.0%, respectively, which were significantly higher than those in the non-hemorrhagic stroke group (24.0% and 35.0%) ($P<0.05$). Spearman correlation coefficient analysis showed that serum homocysteine, folic acid, vitamin B12 content, TT genotype, and allele T were associated with hemorrhagic stroke in H-type hypertension patients ($P<0.05$). Multiple regression analysis showed that serum homocysteine, folic acid, vitamin B12 content, TT genotype and allele T were all important factors leading to hemorrhagic stroke in H-type hypertension patients ($P<0.05$). **Conclusion:** H-type hypertension is prone to hemorrhagic stroke during follow-up, and is also accompanied by abnormal serum homocysteine, vitamin B12 and folic acid levels. The T genotype and allele T of MTHFR C677T are associated with hemorrhagic stroke. And they also were important risk factor for hemorrhagic stroke.

Key words: Hemorrhagic stroke; Methyltetrahydrofolate reductase; Gene polymorphism; Correlation

Chinese Library Classification(CLC): R743 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)07-1380-05

* 基金项目:江苏省卫生健康委医学科科研项目(X449)

作者简介:袁蔚(1995-),女,硕士研究生,初级医师,研究方向:神经外科专业方面内容,E-mail:yvictorw6@163.com

Δ 通讯作者:李爱民(1965-),男,博士,主任医师,研究方向:脑血管疾病,功能性神经外科手术,E-mail:yvictorw6@163.com

(收稿日期:2022-09-04 接受日期:2022-09-27)

前言

脑卒中是中枢神经系统急性血液循环障碍导致的一组疾病的总称^[1]。世界卫生组织最新的统计数据显示,脑卒中是世界第二死亡原因。不仅如此,世界卫生组织预计,2050 年全球 80 %的卒中患者将来自中国和印度,其中出血性卒中约占所有脑卒中的 13.0 %,其死亡率是缺血性卒中的 4 倍,仅有 38.0 %的出血性卒中患者存活超过第一年^[2,3]。约 10.0 %的脑出血患者有出血性卒中阳性家族史,有一级亲属有脑出血病史是该病发生的危险因素,提示遗传因素在出血性卒中中也有重要作用^[4,5]。尽管在确定缺血性卒中的候选基因方面取得了重大进展,但确定出血性卒中的潜在基因仍然是一个挑战,需要进一步研究。H 型高血压指高血压本身伴有同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy $\geq 10 \mu\text{mol/L}$)升高,高血压中高同型半胱氨酸(HHcy)的存在加剧了心脑血管事件的不良后果^[6,7]。现代研究表明中度高同型半胱氨酸血症与出血性卒中风险之间存在关联,亚甲基四氢叶酸还原酶(Methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)作为同型半胱氨酸代谢的重要酶,其突变在调节血浆同型半胱氨酸水平方面发挥着关键作用^[8,9]。MTHFR 基因的一种常见突变,包括核苷酸 677(C677T)上的 C-to-T 替换,导致丙氨酸转化为缬氨酸。这种突变导致酶活性降低,进而导致血浆同型半胱氨酸水平升高^[10,11]。基于此研究建立人群研究队列,探讨了出血性卒中与 MTHFR C677T 基因多态性的相关性,希望为出血性卒中制定个体化预防及干预措施,降低疾病风险。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2020 年 2 月到 2021 年 4 月选择在本地区诊治的 H 型高血压患者 220 例作为研究对象。

纳入标准:符合《中国高血压防治指南 2018 年修订版》高血压诊断标准;血浆同型半胱氨酸水平升高($\geq 10 \mu\text{mol/L}$),或正在接受降低同型半胱氨酸治疗的患者;自愿参加并签署知情同意书;本次研究得到了医院伦理委员会的批准;具有本地区户籍或在本地居住时间 ≥ 3 年;调查期间未发生死亡情况。

排除标准:妊娠期、备孕期与哺乳期妇女;严重精神障碍,无法表达意愿者;存在明显的其他异常体征、实验室检查和临床疾病,根据研究者的判断,不适合参加研究者;其他研究者判断无法完成长期随访者;自愿要求退出研究者;研究者因医疗或其他原因不能继续进行有效的临床观察者。

1.2 MTHFR C677T 基因多态性检测

抽取所有患者的空腹静脉血 2-3 mL, 促凝后 3000 转 / 分钟离心 10 min, 取下层血细胞组织保存于 -80.0°C 冰箱。样本收集完毕后,将冻存的样本在 37.0°C 恒温水浴锅中解冻;取 3 mL $\times$ 红细胞裂解液到 15 mL 离心管中。取血液样本 1 mL 加到裂解液中,摇匀后 2400 转 / 分钟离心 3 分钟,倒掉上清液,提取血清的基因组 DNA, 提取试剂盒购自北京艾德莱生物科技有限公司。MTHFR C677T 引物由大连 TAKARA 公司合成,上游引物为 5'-TGAAGCCGACTTACGCGCGA-3', 下游引物为 5'-AG-GACGGTGAAGTAGAGAGTG-3'。应用限制性内切酶 *Xba* I 对 PCR 产物进行酶切,取 5.0 μL 用含溴化乙锭的 1.2% 琼脂糖凝胶电泳,在室温、恒压 90V 的条件下电泳 30 分钟,在紫外线反射投影仪上观察基因型并保存结果。*Xba* I 酶切出现 3 种基因型:缺乏 *Xba* I 酶切位点的 CC 型,杂合子 CT 型,存在 *Xba* I 酶切位点的 TT 型。

1.3 血清指标检测

取 1.2 中的血液样本, 促凝后 3000 r / 分钟离心 10 min, 取上层血清组织保存于 -80.0°C 冰箱。采用化学发光法测定叶酸、维生素 B12 水平,采用酶联免疫法检测血清 Hcy 水平,检测试剂盒都购自武汉三鹰公司与上海酶联公司。

1.4 出血性卒中判定

所有患者都观察随访 1 年,记录患者的出血性卒中发生情况,判定标准:经头部 MRI 证实存在急性病灶的新发出血性卒中。同时调查与记录所有患者的性别、年龄、收缩压、舒张压、体重指数、甘油三酯、总胆固醇等指标。

1.5 统计方法

所有数据使用 SPSS19.00 软件进行分析,计量数据与计数数据分别以均数 $\pm$ 标准差、率等表示,对比方法为 t 检验与卡方 χ^2 分析等,相关性分析采用 Spearman 相关系数分析与多元回归分析,检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 出血性卒中发生情况

随访调查 1 年,220 例患者中出现出血性卒中 20 例(出血性卒中组),占比 9.1 %。

2.2 一般资料对比

出血性卒中组一般资料与非出血性卒中组对比无差异($P>0.05$)。见表 1。

表 1 两组一般资料对比

Table 1 The comparison of the general data between the two groups

Groups	n	Gender (male / female)	Age (year)	Systolic blood pressure (mmHg)	Diastolic blood pressure (mmHg)	Body mass index (kg/m ²)	Triglyceride (mmol/L)	Total Cholesterol (mmol/L)
Haemorrhagic stroke group	20	11/9	62.21 $\pm$ 1.14	152.84 $\pm$ 10.37	98.14 $\pm$ 2.68	22.67 $\pm$ 1.14	1.76 $\pm$ 0.13	5.02 $\pm$ 0.25
Non-hemorrhagic stroke group	200	108/92	62.72 $\pm$ 0.87	152.97 $\pm$ 10.87	98.98 $\pm$ 3.15	22.98 $\pm$ 1.09	1.78 $\pm$ 0.24	5.11 $\pm$ 0.32

2.3 血清同型半胱氨酸、叶酸、维生素 B12 含量对比 性卒中组, 血清维生素 B12、叶酸明显低于非出血性卒中组
出血性卒中组的血清同型半胱氨酸含量明显高于非出血 (P<0.05)。见表 2。

表 2 两组血清同型半胱氨酸、叶酸、维生素 B12 含量对比(均数± 标准差)

Table 2 Comparison of serum homocysteine, folic acid, and vitamin B12 content between both groups (mean ± standard deviation)

Groups	n	Homocysteine (μmol/L)	Folic acid (ng/mL)	Vitamin B12 (pg/mL)
Haemorrhagic stroke group	20	25.22± 2.47 [#]	5.21± 0.33 [#]	473.55± 21.47 [#]
Non-hemorrhagic stroke group	200	21.01± 3.16	6.19± 0.24	524.88± 18.17

Note: Compared with non-hemorrhagic stroke group, [#]P<0.05, the same below.

2.4 MTHFR C677T 基因多态性对比 分别为 70.0 %、80.0 %, 都显著高于非出血性卒中组的 24.0 %、
两组的 MTHFR C677T 基因型分布均符合 Hardy-Wein- 35.0 %(P<0.05)。见表 3。
berg 遗传平衡, 出血性卒中组的 TT 基因型、等位基因 T 占比

表 3 两组 MTHFR C677T 基因多态性对比(n)

Table 3 Comparison of two group MTHFR C677T gene polymorphisms (n)

Groups	n	Allelic genes		Genotype		
		T	C	TT	CC	CT
Haemorrhagic stroke group	20	16(80.0%) [#]	4(20.0%) [#]	14(70.0%) [#]	3(15.0%) [#]	3(15.0%) [#]
Non-hemorrhagic stroke group	200	70(35.0%)	130(65.0%)	48(24.0%)	120(60.0%)	32(16.0%)

2.5 相关性分析 半胱氨酸、叶酸、维生素 B12 含量、TT 基因型、等位基因 T 都
在 220 例患者中, Spearman 相关系数分析显示血清同型 与出血性卒中存在相关性(P<0.05)。见表 4。

表 4 H 型高血压患者随访发生出血性卒中的相关性分析(n=220)

Table 4 Correlation analysis of follow-up hemorrhagic stroke in patients with H hypertension (n=220)

Indexs	Homocysteine	Folic acid	Cobalamin	TT genotype	Allel T
r	0.722	-0.689	-0.701	0.616	0.701
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.6 影响因素分析 作为自变量, 多元回归分析显示血清同型半胱氨酸、叶酸、维生素
在 220 例患者中, 以出血性卒中作为因变量, 以血清同型 素 B12 含量、TT 基因型、等位基因 T 都为导致出血性卒中发
半胱氨酸、叶酸、维生素 B12 含量、TT 基因型、等位基因 T 都 生的重要因素(P<0.05)。见表 5。

表 5 导致 H 型高血压患者随访发生出血性卒中的多因素分析(n=220)

Table 5 Multivariate analysis of follow-up hemorrhagic stroke in patients with H hypertension (n=220)

Indexs	β	SE	Wald χ ²	P	OR	95%CI
Allel T	1.294	0.212	12.111	0.000	2.472	1.633-6.496
Genotype TT	1.563	0.315	13.183	0.000	3.111	1.443-7.194
Homocysteine	0.834	0.122	17.572	0.000	0.723	0.345-0.815
Folic acid	0.913	0.209	21.203	0.000	0.667	0.412-0.911
Cobalamin	0.927	0.211	23.888	0.000	0.701	0.507-0.923

3 讨论

H 型高血压定义为同型半胱氨酸≥10 μmol/L 合并原发性
高血压, 在长期的发病过程中可诱发出血性卒中^[12]。出血性卒

中具有高发病率、高死亡率、高致残率的特点, 不仅给患者及其
家庭生活带来极大的困扰, 且由此引发的医疗、康复及社会保
障等问题也日益突出^[13]。有效预防是减少全球脑卒中总体负担
的重要策略, 为此早期发现危险因素并积极控制以有效预防脑

卒中的发生尤为重要^[14]。

血浆总同型半胱氨酸水平升高是公认且可改变的脑和心血管疾病的一种因素,是脑卒中的一个强而独立的危险因素。同型半胱氨酸是一种含硫氨基酸,可参与动脉硬化的过程,与中风、冠心病、外周动脉疾病及高血压呈正相关^[15]。在年轻群体中,高同型半胱氨酸与中风之间的相关性更强,特别是伴随血浆总同型半胱氨酸升高的高血压可协同增加卒中风险,但其机制相当复杂,尚不完全清楚^[16,17]。血浆总同型半胱氨酸升高可能是因为叶酸摄入不足和 MTHFR 基因变异。MTHFR 是调节血浆同型半胱氨酸状态的重要酶,不可逆催化 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,用于同型半胱氨酸合成蛋氨酸^[18,19]。本研究经随访调查,220 例患者中出现出血性卒中 20 例(出血性卒中组),占比 9.1 %;出血性卒中组的血清同型半胱氨酸含量明显高于非出血性卒中组,血清维生素 B12、叶酸含量明显低于非出血性卒中组($P<0.05$),表明 H 型高血压在随访过程中容易发生出血性卒中,也伴随有血清同型半胱氨酸、维生素 B12、叶酸含量异常。分析可知,血清低浓度的叶酸、维生素 B12 使同型半胱氨酸转化障碍,可通过损伤血管内皮细胞,出现高同型半胱氨酸血症,引起血脂渗入管壁,管壁内平滑肌细胞增生,血小板局部聚集形成血栓,从而诱发出血性卒中^[20,21]。基于此,H 型高血压患者应注意维持体内正常的血清同型半胱氨酸、维生素 B12、叶酸水平,有利于出血性卒中中的一级预防^[22]。

脑出血占所有脑卒中病例的 10.0 %-15.0 %, 占据所有脑卒中中死亡率和发病率首位。同型半胱氨酸水平可能是动脉粥样硬化的加重因素,间接导致脑出血发生^[23]。因此,安全有效地降低高血压患者血浆总同型半胱氨酸水平对降低脑卒中及心血管疾病发病率和死亡率具有重要意义。MTHFR 处于 1 号染色体的 1p36.3 位置,由 11 个外显子与 10 个内含子结合构成,在 5' 的末端非编码区与内含子存在大量的剪接区域,也存在大量的单核苷酸多态性位点^[24]。C667T 位点是 MTHFR 的重要多态性位点,对于 MTHFR 的活性通路过程具有重要影响,C667T 的多态性突变基因催化会直接地导致 MTHFR 活性及基因稳定性的下降,影响 MTHFR 的代谢通路过程,从而诱发脑血管疾病^[25]。本研究显示两组的 MTHFR C677T 基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,出血性卒中组的 TT 基因型、等位基因 T 占比分别为 70.0 %、80.0 %,显著高于非出血性卒中组的 24.0 %、35.0 %($P<0.05$),表明 H 型高血压患者若出现 MTHFR C677T 基因突变,易在随访过程中发生非出血性卒中。由于脑卒中可导致长期残疾,有效预防是减少全球脑卒中总体负担的重要策略。传统的脑卒中危险因素如高血压、糖尿病、高脂血症、房颤等已被广泛研究,其对脑卒中的潜在作用机制是明显的^[26,27]。MTHFR C677T 基因突变与具有半正常活性的热不稳定 MTHFR 变体有关,C677T 突变明显改变了同型半胱氨酸和脑卒中之间的联系^[28]。MTHFR 基因 C677T 多态性的 TT 基因型与新加坡人群急性缺血性卒中的遗传易感性有关^[29];与白人个体相比,TT 基因型在亚洲人中更常见,在非洲种族起源的人中最不常见^[30]。本研究显示 Spearman 相关系数分析显示 H 型高血压患者的血清同型半胱氨酸、叶酸、维生素 B12 含量、TT 基因型、等位基因 T 都与出血性卒中存在相关性($P<0.05$)。多元

回归分析显示血清同型半胱氨酸、叶酸、维生素 B12 含量、TT 基因型、等位基因 T 都为导致 H 型高血压患者发生出血性卒中发生的重要因($P<0.05$),表明出血性卒中与 MTHFR C677T 基因多态性存在相关性。进一步分析可知 MTHFR 是血浆总同型半胱氨酸代谢过程中的关键酶之一,可影响其浓度,当 MTHFR C677C→T 突变后,使血浆总同型半胱氨酸代谢通路受阻而引起血浆总同型半胱氨酸表达量升高。本研究存在一定不足,如调查人数比较少,分析的因素较少,分组也较少,将在后续研究中探讨。

总之,H 型高血压在随访过程中容易发生出血性卒中,也伴随有血清同型半胱氨酸、维生素 B12、叶酸含量异常,MTHFR C677T 的 T 基因型、等位基因 T 与出血性卒中存在相关性,也是导致出血性卒中发生的重要危险因素。

参考文献(References)

- [1] Zuo Y, Wang A, Wu S, et al. Antihypertensive treatment decrease stroke occurrence: a prospective cohort study [J]. J Hypertens, 2021, 39(8): 1652-1661
- [2] 官伟康,黄丽,朱燕,等. 电针通过 mTOR/P70S6K 信号通路增强出血性脑卒中的突触可塑性[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(2): 4
- [3] 李辉,戚正涛,张瑶,等. 活血化瘀中药复方治疗急性脑出血的疗效及对相关血清指标的影响[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(14): 5
- [4] Zhu W, Jiang Y. Determinants of quality of life in patients with hemorrhagic stroke: A path analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(5): e13928
- [5] Zhu G, Chen H, Jiang B, et al. Application of Deep Learning to Ischemic and Hemorrhagic Stroke Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging[J]. Semin Ultrasound CT MR, 2022, 43(2): 147-152
- [6] Zhou X, Li J, Yu C, et al. Sex Modified the Association between Sleep Duration and worse Cognitive Performance in Chinese Hypertensive Population: Insight from the China H-Type Hypertension Registry Study[J]. Behav Neurol, 2022, 15(5): 7566033
- [7] Zhou F, Hou D, Wang Y, et al. Evaluation of H-type hypertension prevalence and its influence on the risk of increased carotid intima-media thickness among a high-risk stroke population in Hainan Province, China [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(35): e21953
- [8] Kumar A, Sharma R, Misra S, et al. Relationship between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene (A1298C) polymorphism with the risk of stroke: A systematic review and meta-analysis[J]. Neurol Res, 2020, 42(11): 913-922
- [9] Zarfeshan Fard Y, Kooshkaki O, Kordi Tammandani D, et al. Investigation of the association between C677T polymorphism of the MTHFR gene and plasma homocysteine level in recurrent fetal miscarriage[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2019, 45(8): 1442-1447
- [10] Yin Y, Li R, Li XL, et al. Association Between Homocysteine Level and Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms in Type 2 Diabetes Accompanied by Dyslipidemia [J]. Chin Med Sci J, 2020, 35(1): 85-91
- [11] Zhang X, Hou C, Liu P, et al. Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T Polymorphism and Subacute Combined Degeneration: Revealing a Genetic Predisposition [J]. Front Neurol,

- 2019, 9(1): 1162
- [12] Xu S, Shi Q, Li B, et al. High MTHFR promoter methylation levels in men confer protection against ischemic stroke [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2020, 20(4): 477-486
- [13] Zhou F, Zhou L, Guo T, et al. Plasma proteomics reveals coagulation, inflammation, and metabolic shifts in H-type hypertension patients with and without acute ischemic stroke [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 100384-100395
- [14] Zhang Y, Wang G, Liu J, et al. Impact of hyperhomocysteinemia on insulin resistance in patients with H-type hypertension [J]. *Clin Exp Hypertens*, 2018, 40(1): 28-31
- [15] Zhao W, Gao F, Lv L, et al. The interaction of hypertension and homocysteine increases the risk of mortality among middle-aged and older population in the United States [J]. *J Hypertens*, 2022, 40(2): 254-263
- [16] Ying Y, Lin S, Kong F, et al. Ideal Cardiovascular Health Metrics and Incidence of Ischemic Stroke Among Hypertensive Patients: A Prospective Cohort Study [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2020, 7(2): 590809
- [17] Peng X, Gao Q, Zhou J, et al. Association between dietary antioxidant vitamins intake and homocysteine levels in middle-aged and older adults with hypertension: a cross-sectional study [J]. *BMJ Open*, 2021, 11(10): e045732
- [18] Zuin M, Cervellati C, Trentini A, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C667T polymorphism and susceptibility to late-onset Alzheimer's disease in the Italian population [J]. *Minerva Med*, 2021, 112(3): 365-371
- [19] Zhu J, Wang Z, Tao L, et al. MTHFR Gene Polymorphism Association With Psoriatic Arthritis Risk and the Efficacy and Hepatotoxicity of Methotrexate in Psoriasis [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9(1): 869912
- [20] Zhou Z, Li J, Yu Y, et al. Effect of Smoking and Folate Levels on the Efficacy of Folic Acid Therapy in Prevention of Stroke in Hypertensive Men[J]. *Stroke*, 2018, 49(1): 114-120
- [21] Yu X, Wang G, Zhan J, et al. Risk factors of pure leukoaraiosis and the association with preclinical carotid atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2018, 275(7): 328-332
- [22] Ma L, Li J, Yuan Y, et al. Effect of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism on serum folate but not vitamin B12 levels in patients with H-type hypertension [J]. *Mol Biol Rep*, 2022, 15(1): 153-157
- [23] Ornos-Martín G, Fernández-Ballart JD, Ceruelo S, et al. Homocysteine, the methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T polymorphism and hypertension: effect modifiers by lifestyle factors and population subgroups[J]. *Br J Nutr*, 2020, 15(2): 1-11
- [24] Yan M, Wu J, Xue M, et al. The Studies of Prognostic Factors and the Genetic Polymorphism of Methylenetetrahydrofolate Reductase C667T in Thymic Epithelial Tumors [J]. *Front Oncol*, 2022, 12(2): 847957
- [25] Wang L, Xu W, Wang C, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and the risks of polycystic ovary syndrome: an updated meta-analysis of 14 studies [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(35): 59509-59517
- [26] Zhu B, Yan L, Ren H, Li Q, et al. Predictive Value of Apelin and Vaspin on Hemorrhagic Transformation in Patients with Acute Ischemic Stroke after Intravenous Thrombolysis and Analysis of Related Factors [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 25(2): 5020622
- [27] Zhurkabayeva BD, Askarova AE, Berdina OD. Rol' infektsii v razvitií gemorragicheskogo insul'ta u dete? [A role of infection in the development of hemorrhagic stroke in children] [J]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*, 2018, 118(5. Vyp. 2): 31-37
- [28] Wang F, Sui X, Xu N, et al. The relationship between plasma homocysteine levels and MTHFR gene variation, age, and sex in Northeast China[J]. *Niger J Clin Pract*, 2019, 22(3): 380-385
- [29] Sugijo H, Sargowo D, Widjajanto E, et al. The role of methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism as a risk factor for coronary artery disease: a cross-sectional study in the Sidoarjo Regional General Hospital [J]. *Pan Afr Med J*, 2022, 41(1): 212.
- [30] Qian XL, Cao H, Zhang J, et al. The prevalence, relative risk factors and MTHFR C677T genotype of H type hypertension of the elderly hypertensives in Shanghai, China: a cross-section study: Prevalence of H type hypertension[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2021, 21(1): 376