

# 叶酸代谢基因多态性与母胎疾病的相关性

于蕾,战军,肖雪\*

作者单位:610041 四川 成都,四川大学华西第二医院妇产科/出生缺陷与相关妇科疾病教育部重点实验室

作者简介:于蕾,四川大学华西第二医院硕士研究生在读,主要研究方向为产科

\* 通信作者,E-mail:19811454@qq.com

【关键词】 叶酸代谢基因;多态性;个性化补充;母胎疾病

【中图分类号】R 714.2;R 714.5 【文献标志码】A 【文章编号】1674-4020(2024)12-016-04

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2024.12.05

叶酸在细胞各种生物反应中具有重要作用,尤其是在 DNA 合成、蛋白质代谢、细胞增殖、胚胎发育等过程。但叶酸在动物细胞内不能自身合成,只能通过外源性摄取,因此叶酸摄入不足或吸收障碍可引起多种疾病。叶酸代谢障碍是叶酸缺乏的重要原因,叶酸利用能力受代谢基因影响,基因多态性决定了机体对叶酸的吸收和利用能力。5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)、甲硫氨酸合成酶(methionine synthase, MTR)及甲硫氨酸合成酶还原酶(methionine synthase reductase, MTRR)、还原叶酸载体(reduced folate carrier-1, RFC-1)等是叶酸代谢途径的关键酶,这些酶基因多态性可影响叶酸代谢通路,导致体内低水平叶酸和高水平同型半胱氨酸(homocysteine, HCY),进而与一系列临床疾病相关。因此,明确叶酸代谢酶的变异状况,判断是否存在叶酸代谢障碍,从而针对性地补充叶酸,对减少相关母胎疾病发生具有指导意义。

## 1 叶酸代谢基因

### 1.1 MTHFR 基因

MTHFR 的主要作用是将 5,10-亚甲基四氢叶酸(5,10-MTHF)还原为 5-甲基四氢叶酸(5-MTHF),5-MTHF 进入甲基传递通路,为 HCY 转变为甲硫氨酸提供甲基。编码 MTHFR 的基因位于 1 号染色体的短臂末端(1p36.3),由 12 个外显子组成。MTHFR 基因突变可导致产生 5-MTHF 的能力下降,影响 HCY 下游再甲基化通路,导致 HCY 堆积。最常见的突变位点是 C677T(rs1801133)和 A1298C(rs1801131)。C667T 多态性导致 222 位密码子丙氨酸被缬氨酸取代,该突变与酶活性降低和耐热性增加有关,导致 5,10-MTHF 还原通路障碍。A1298C 突变是指 MTHFR 基因第 1 298 位核苷酸腺嘌呤与胞嘧啶的交换,引起 MTHFR 基因编码的蛋白质第 429 个氨基酸由丙氨酸变成了谷氨酸。这种多态性位于酶的 S-腺苷蛋氨酸(SAM)的调控结构域,引起 MTHFR 酶的构象

变化,导致酶活性降低。研究发现该位点纯合突变即 CC 突变对叶酸代谢的影响弱于 C677T 位点突变<sup>[1]</sup>,但在叶酸极度缺乏的情况下,这种多态性具有临床相关性。

### 1.2 MTRR 基因

MTRR 是 FNR(铁氧还蛋白 NADP+还原酶)家族的一种电子转移酶,通过维生素 B12 的还原甲基化参与 HCY 的再甲基化。MTRR 的核心作用是通过恢复甲硫氨酸合成酶(MTR)的活性来维持其功能。MTRR 的编码基因位于 5 号染色体的短臂上(5P15.2~5P15.3),有 15 个外显子, A66G(rs1801394)是 MTRR 中最常见的 SNP 位点,使异亮氨酸在酶中转化为蛋氨酸残基,导致 DNA 合成缺陷,进而引起基因组表观遗传修饰缺陷和血液中高同型半胱氨酸浓度,增加许多疾病的风险<sup>[2]</sup>。

### 1.3 MTR 基因

MTR 以维生素 B12(钴胺素)为辅酶,将 5-甲基四氢叶酸和 HCY 分别转化为四氢叶酸和蛋氨酸,参与叶酸和蛋氨酸循环,从而维持细胞内充足的四氢叶酸和蛋氨酸。蛋氨酸进一步转化为 SAM,为参与组织发育和细胞生长提供甲基供体。MTR 是已知唯一的能够利用 5-甲基四氢叶酸(MTHFR 产生)作为底物并再生四氢叶酸支架的酶。因此酶缺乏或活性降低会导致 5-甲基四氢叶酸的积累,不能用于叶酸依赖的反应。编码 MTR 基因位于染色体 1q43 上,由 33 个外显子组成。该基因存在多个突变位点,目前研究最多的 SNP 位点是 A2756G(rs1803087),导致天冬氨酸转化为甘氨酸,引起酶活性降低,造成 HCY 转化为蛋氨酸效率降低和高同型半胱氨酸血症,同时引起活性叶酸生成效率下降和叶酸缺乏风险增高<sup>[3]</sup>。

### 1.4 RFC-1 基因

RFC-1 在哺乳动物细胞和组织中普遍表达,是吸收和转运叶酸进入细胞过程中的重要载体,介导叶酸的肠道吸收, RFC-1 基因位于第 21 号染色体(21q22.2~22.3),编码分子量在 80~120 kDa 间的膜蛋白。已有研

究显示,RFC-1 基因中 A80G 位点(rs1051266)突变会引起还原叶酸载体的功能发生改变,导致该载体对叶酸的亲和力下降,引起叶酸转运功能异常,进而导致与叶酸转运、代谢有关的先天畸形发病危险增加<sup>[4]</sup>。

## 2 叶酸代谢基因多态性与母胎疾病

### 2.1 子痫前期

针对中国汉族子痫前期(preeclampsia, PE)孕妇的研究中发现 MTHFR C677T 中 T 等位基因突变可能是中国 PE 孕妇肾功能受损的独立危险因素<sup>[5]</sup>。这一结果与 Huang 等<sup>[6]</sup>的研究结果相符合,TT 基因型在不良妊娠结局孕妇的比例显著高于正常妊娠组。Osunkalu 等<sup>[7]</sup>对尼日利亚 200 例 PE 孕妇和 200 例对照组进行基因分析发现 PE 的发生与 MTHFR T 等位基因和 MTR G 等位基因显著相关(*OR* 分别为 1.855 和 1.269, *P* 均 < 0.05)。同时研究者发现 MTHFR/MTR 单倍型对平均血浆 HCY 水平没有显著影响(*P* = 0.157),这可能表明 PE 患者 HCY 病理性升高不能仅用叶酸代谢基因多态性解释,其他因素如 HCY 排泄受损或转运的其他途径缺陷也应在考虑之中。

### 2.2 妊娠期糖尿病

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)是孕期常见的合并症,临床上除了早期识别与 GDM 相关的危险因素并制定有效的预防策略外,研究发现叶酸在 GDM 的发生中具有重要作用。一项前瞻性队列研究发现,怀孕前摄入较多叶酸与较低的 GDM 风险相关,以 400 mg 和 600 mg 叶酸摄入量作为分界,GDM 的 *RR* 值分别为 0.83、0.77 和 0.70<sup>[8]</sup>。Li 等<sup>[9]</sup>发现血清叶酸水平以剂量反应方式与 GDM 风险显著相关,同时通过基因型分层发现 MTHFR A1298C 是 GDM 的独立危险因素。虽然 C677T 基因多态性对血清叶酸和 HCY 水平的影响更为显著,但目前研究未发现母体 MTHFR C677T 基因型与 GDM 风险有关<sup>[10]</sup>,未来需进一步研究来揭示 MTHFR C677T 与 GDM 的关系。

### 2.3 妊娠期易栓症

由于妊娠期凝血系统及纤溶系统发生独特的变化,加上血容量的增加、血液处于高凝状态,易形成血栓,当孕妇本身存在遗传性或获得性的缺陷时,血栓形成风险进一步增加。研究发现遗传性易栓症与 MTHFR 基因突变相关,Liu 等<sup>[11]</sup>发现 MTHFR C677T 和 A1298C 杂合性复合突变的存在与静脉血栓栓塞有关,发生血栓的风险(50%)高于野生型(28.6%)。伦瑞花等<sup>[12]</sup>分析了 MTHFR C677T TT 型携带者的胎儿不良妊娠结局发生率明显高于 CC 和 CT 型,且组间孕妇血栓弹力图中的 MA 具有较高的诊断效能。未来或许可通过结合血栓弹力图检测,提高对 MTHFR C677T TT 型携带者发生胎儿不良妊娠结局的预测能力。但是遗传性血栓疾病的检测范围是否纳入 MTHFR 突变这一观点存在争议,Deloughery 等<sup>[13]</sup>认为 MTHFR 多态性不是动脉或静脉血栓形成的危险因素,因此仍需更大样本的研究来评估 MTHFR 基因突变对血栓危险性的影响。

### 2.4 复发性流产

复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)与生殖道解剖异常、细胞遗传学异常以及遗传和环境因素等有关,发病率约 5%,但其中仍有 50% 的病例潜在的病理生理机制仍未明确。近年来,对于不明原因 RSA,其关注点聚焦于叶酸-甲硫氨酸代谢通路,尤其是 MTHFR 和 MTRR 两种基因突变。一项针对中国东南部女性的研究表明 MTHFR C677T 变异与 RSA 易感性降低相关,而 MTHFR A1298C 变异和 MTRR A66G 变异与 RSA 易感性增加相关<sup>[14]</sup>。荟萃分析表明, MTHFR C677T 等位基因、TT 基因型和 MTHFR 1298CC 基因型均与 RSA 相关,与其他突变相比,检测 MTHFR C677T 基因多态性是预测 RSA 更合适的靶点<sup>[15]</sup>。同样,有研究<sup>[16]</sup>表明携带 MTHFR 677CT/1298AC 复合基因型的女性并发 RSA 风险增加 6.589 倍,其中携带两个 MTHFR 突变基因的个体 RSA 发生率最高,进一步证实了 MTHFR 基因监测可作为预测不明原因 RSA 的生物学指标。

### 2.5 胎儿神经管缺陷

胎儿神经管缺陷(neural tube defects, NTDs)是一种常见的中枢神经系统先天性畸形,具有遗传和环境相互作用的多因素遗传模式。Yadav 等<sup>[17]</sup>发现母体 MTHFR C677T 多态性和 MTRR A66G 多态性是后代发生 NTDs 的危险因素,但 A1298C 多态性与 NTDs 的发生无关。关于 MTRR A2756G 多态性的研究发现纯合或杂合条件下存在等位基因突变会增加 NTDs 发病风险,同时具有 MTR AG 和 MTHFR CT 基因型者患 NTDs 的风险高出 3 倍<sup>[18]</sup>。RFC-1 作为叶酸转运体其多态性可能会影响叶酸从母体血液向胎儿的转运,这可能是母体发生 NTDs 的危险因素之一,Cai 等<sup>[19]</sup>通过分析汉族 NTDs 患儿母亲的叶酸基因型证实,母体 RFC-1 多态性是后代发生 NTDs 的危险因素。因此,对于 NTDs 胎儿史的女性,孕前明确叶酸代谢基因突变及突变类型可能对提高胚胎质量、改善胚胎结局具有重要意义。

### 2.6 胎儿先天性心脏病

胎儿先天性心脏病(congenital heart diseases, CHDs)是常见的出生缺陷之一,其发病机制复杂,目前认为遗传和环境因素共同作用是 CHDs 发病的主要原因。研究发现叶酸代谢差异可影响胎儿 CHDs 的发病易感性。Shi 等<sup>[20]</sup>通过对 CHDs 患儿及其母亲血清叶酸代谢酶进行基因分型发现母亲 MTHFR A1298C 突变与后代 CHDs 风险增加显著相关。与 AA 和 AC 基因型相比,CC 基因型突变的母亲其子代 CHDs 的风险增加 267%。Xu 等<sup>[21]</sup>发现 MTHFR C677T 多态性与 CHDs 风险显著关联,MTRR A66G 多态性仅与亚洲人的 CHDs 风险显著相关。另有研究发现母体 RFC1 A80G 多态性与 CHDs 有较强相关性,与 G 等位基因相比,A 等位基因使胎儿 CHDs 风险增加 0.36 倍<sup>[22]</sup>。因此,叶酸代谢基因多态性可能在 CHDs 发病机制中具有重要作用,但需要更大样本进行验证。

### 2.7 唐氏综合征

21-三体综合征(Down's syndrome, DS)由于减数分

裂时期的异常导致染色体不分离,打破了遗传平衡,导致胎儿在宫内走向异常结局。研究发现母体叶酸通路中至少有两种基因多态性,即 MTHFR C677T 和 MTRR A66G,可能是 DS 发病的危险因素。Ginani 等<sup>[23]</sup>研究发现母体 MTHFR C677T 多态性与 DS 风险显著相关,而 MTHFR A1298C 多态性与 DS 风险无关。通过采集 DS 患儿外周血进行家系基因分析发现 MTRR A66G 中 G 等位基因是 DS 的危险因素<sup>[24]</sup>。Jiajin 等<sup>[25]</sup>对中国南方 DS 患儿母亲进行叶酸代谢基因联合分析发现 MTHFR C677 T/MTR-AA 和 MTHFR C677 T/MTRR-AG 基因型增加了 DS 风险,OR 值分别为 1.997 ( $P = 0.038$ ) 和 2.588 ( $P = 0.028$ )。因此,基因和基因、基因和营养相互作用是降低围产期胎儿 DS 需要考虑的重要因素。

## 2.8 唇腭裂

唇腭裂(cleft lip and palate)是新生儿常见的先天性面部缺陷,根据患儿是否存在相关明确的染色体或基因异常可将唇腭裂分为非综合征型唇腭裂(nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate, NSCL/P)和综合征型唇腭裂(SCL/P)。NSCL/P 的发病因素主要为遗传和环境因素共同作用。研究表明叶酸代谢相关的基因多态性与唇腭裂的风险增加之间存在显著关联,孕前孕期及时补充叶酸可降低疾病发生风险<sup>[26]</sup>。荟萃分析提示 MTHFR C677T 与 NSCL/P 的风险相关,MTRR A66G GG 基因型在亚洲人 NSCL/P 发病中起保护作用<sup>[27]</sup>。但 2020 年一项基于研究人群的种族差异、病例来源和个体数量等原因的荟萃分析则发现 MTHFR C677T 多态性与 NSCL/P 易感性无关<sup>[28]</sup>,表明基因多态性与 NSCL/P 的发病相关性受种族、地区等影响。这些发现可能反映了出生缺陷发病过程中环境和遗传相互作用的复杂性。

## 3 叶酸代谢基因与叶酸补充

红细胞叶酸和血清叶酸是评价叶酸是否缺乏的有效检测指标,前者反映近 3 个月内叶酸摄入量,而后者反映近期叶酸摄入量。结合 2015 年 WHO 以及我国行业标准,孕妇叶酸的补充标准为红细胞叶酸含量  $\geq 400$  ng/mL。虽然备孕期补充叶酸已经广泛普及,但研究结果显示即使孕早期女性叶酸补充剂使用率高达 93.4%,仍有超过一半(54.4%)的女性红细胞叶酸水平未达到 WHO 的推荐水平<sup>[29]</sup>。研究认为血清和红细胞叶酸浓度对叶酸补充的反应取决于 MTHFR C677T 基因型。在挪威进行的一项随机对照试验中研究了叶酸代谢酶基因对血清和红细胞叶酸水平的影响以及对叶酸补充剂的反应,结果发现血清叶酸浓度对叶酸摄入量的适度增加有反应。每日补充 0.4 mg 后,红细胞叶酸浓度才出现变化,且红细胞叶酸浓度的增加取决于 MTHFR C677T 基因型,TT 型比 CC 型或 CT 型其浓度改变更明显<sup>[30]</sup>。但目前各个国家叶酸补充建议并没有完全根据叶酸代谢风险水平。世界卫生组织和欧洲临床营养与代谢协会均建议所有备孕女性应在孕前每天补充 0.4 mg 的叶酸,孕早期继续维持量补充;美国妇产科医师学会则建议所有备孕及育龄期女性每天服用

0.4~0.8 mg 叶酸。我国 2020 年指南提出对于无高危因素女性,其叶酸补充建议与美国相似,但对于具有高危因素的女性而言,则强调个性化增补,推荐高 HCY 血症妇女孕前每天至少增补叶酸 5 mg,在血清 HCY 水平降至正常后再受孕,备孕期及妊娠 3 个月持续每天同样剂量(5  $\mu$ g)增补叶酸。对于有出生缺陷史者建议从备孕到妊娠满 3 个月内每天增补叶酸 5 mg。对于 MTHFR 677 位点 TT 基因型妇女,应个体化增加补充剂量甚至延长孕前增补时间。2022 年加拿大妇产科医师协会指南提出,将 TT 纯合突变归类于 NTDs 发生的中风险因素,推荐孕前到妊娠满 12 周每天口服 1 mg 叶酸,产后至哺乳期间每日补充叶酸 600~800  $\mu$ g。

叶酸补充剂量的把控尚缺少相关共识。研究认为叶酸使用过量,如孕早期至孕中期每天补充超过 0.8  $\mu$ g 叶酸可能增加 GDM 等疾病的发生风险<sup>[31]</sup>。Yang 等<sup>[32]</sup>通过剂量反应分析显示,母亲在妊娠期间摄入叶酸与儿童哮喘风险之间存在非线性关系。当母亲叶酸摄入量达到 581  $\mu$ g/d 时,儿童患哮喘的风险显著增加。基于 MTHFR C677T/MTHFR A1298C/MTRR A66G 基因型对孕妇进行风险分层,对照组孕前和孕早期口服 0.4 mg 叶酸,孕中期至产前通过饮食增补,低风险组孕前 3 月口服 0.4 mg 叶酸维持至生产前,中风险组将孕早期剂量调整为 0.8 mg,而高风险组孕前和孕早期剂量均增加至 0.8 mg,发现与对照组相比,病例组补充叶酸后 GDM 的发生率显著降低,以高危组为甚<sup>[33]</sup>。同期 Yu 等<sup>[34]</sup>的研究发现孕期补充低剂量叶酸及孕前 BMI  $< 25$  kg/m<sup>2</sup>可降低 PE 风险,相比于孕前补充叶酸,孕期补充更能降低 PE 的发生,但强调孕前补充是为了预防 NTDs,因此在临床上更合适的选择是将叶酸的使用延长到妊娠后期,而不是在怀孕后开始使用叶酸。综上所述,无高危因素女性,低剂量叶酸补充应贯穿孕前至孕晚期,对于具有高风险基因型的个体,统一剂量的叶酸(0.4 mg/d)可能还不够,个体化补充叶酸(0.4~0.8 mg/d)至孕晚期可能更有效。

## 4 总结

尽管孕前或孕期普遍实施增补叶酸以预防神经管缺陷等疾病已成为全世界备孕及孕期共识,但是仍有部分孕妇补充叶酸后会发生上述母胎相关疾病,其原因主要是由于孕妇机体对于叶酸的利用能力较低,常规叶酸补充并不能满足临床需要。随着基因检测技术的发展,叶酸代谢相关酶基因多态性被认为是导致低水平叶酸和高水平 HCY 的一个重要因素。而目前较少有研究利用遗传多态性来准确指导孕妇在怀孕期间补充叶酸。因此,可积极推广育龄女性叶酸代谢基因检测,筛选出叶酸代谢异常的高危人群,以便及时有效地进行干预。

利益冲突 作者均声明无利益冲突。

## 【参考文献】

- [1] van der Put NM, Gabrels F, Stevens EM, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects [J]. Am J Hum Genet,

- 1998,62(5):1044-1051.
- [2] Li D, Zhao Q, Zhang C, et al. Associations of MTRR A66G polymorphism and promoter methylation with ischemic stroke in patients with hyperhomocysteinemia [J]. *J Gene Med*, 2020, 22(5): e3170.
- [3] Hiraoka M, Kagawa Y. Genetic polymorphisms and folate status [J]. *Congenit Anom (Kyoto)*, 2017, 57(5): 142-149.
- [4] Nilsen RM, Leoncini E, Gastaldi P, et al. Prevalence and determinants of preconception folic acid use: an Italian multicenter survey [J]. *Ital J Pediatr*, 2016, 42(1): 65.
- [5] Yun L, Ge M, Xu R, et al. C677T gene polymorphism of MTHFR is a risk factor for impaired renal function in pregnant women with preeclampsia in the Chinese Han population [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 902346.
- [6] Huang LL, Tong JR, Huang Y, et al. Association of MTHFR gene C677T polymorphism with pregnancy outcome [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2023, 27(1): 166-171.
- [7] Osunkalu VO, Taiwo IA, Makwe CC, et al. Methylene tetrahydrofolate reductase and methionine synthase gene polymorphisms as genetic determinants of pre-eclampsia [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2020, 20: 7-13.
- [8] Li M, Li S, Chavarro JE, et al. Prepregnancy habitual intakes of total, supplemental, and food folate and risk of gestational diabetes mellitus: a prospective cohort study [J]. *Diabetes Care*, 2019, 42(6): 1034-1041.
- [9] Li S, Tian X, Wang Y, et al. Associations of maternal rs1801131 genotype in MTHFR and serum folate and Vitamin B12 with gestational diabetes mellitus in Chinese pregnant women [J]. *Nutrients*, 2022, 14(6): 1169.
- [10] Wang Y, Wang Y, Sun Y, et al. Serum folate mediates the associations of MTHFR rs1801133 polymorphism with blood glucose levels and gestational diabetes mellitus in Chinese Han pregnant women [J]. *Br J Nutr*, 2023, 130(8): 1329-1337.
- [11] Liu F, Silva D, Malone MV, et al. MTHFR A1298C and C677T polymorphisms are associated with increased risk of venous thromboembolism: a retrospective chart review study [J]. *Acta Haematol*, 2017, 138(4): 208-215.
- [12] 伦瑞花, 乔静, 张欣, 等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与血栓弹力图在胎儿不良妊娠结局中的应用价值 [J]. *检验医学与临床*, 2021, 18(19): 2809-2812.
- [13] Deloughery TG, Hunt BJ, Barnes GD, et al. A call to action: MTHFR polymorphisms should not be a part of inherited thrombophilia testing [J]. *Res Pract Thromb Haemost*, 2022, 6(4): e12739.
- [14] Zhang Y, Zhan W, Du Q, et al. Variants c. 677 C>T, c. 1298A>C in MTHFR, and c. 66A>G in MTRR affect the occurrence of recurrent pregnancy loss in Chinese women [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2020, 24(11): 717-722.
- [15] Wang G, Lin Z, Wang X, et al. The association between 5, 10 - methylenetetrahydrofolate reductase and the risk of unexplained recurrent pregnancy loss in China: a Meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(17): e25487.
- [16] Xu Y, Ban Y, Ran L, et al. Relationship between unexplained recurrent pregnancy loss and 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms [J]. *Fertil Steril*, 2019, 111(3): 597-603.
- [17] Yadav U, Kumar P, Yadav SK, et al. Polymorphisms in folate metabolism genes as maternal risk factor for neural tube defects: an updated meta-analysis [J]. *Metab Brain Dis*, 2015, 30(1): 7-24.
- [18] Kumari R, Kumar S, Thakur VK, et al. MTHFR C677T and MTR A2756G gene polymorphism in neural tube defect patients and its association with red blood cell folate level in eastern Indian population [J]. *J Indian Assoc Pediatr Surg*, 2022, 27(6): 699-706.
- [19] Cai CQ, Fang YL, Shu JB, et al. Association of neural tube defects with maternal alterations and genetic polymorphisms in one-carbon metabolic pathway [J]. *Ital J Pediatr*, 2019, 45(1): 37.
- [20] Shi H, Yang S, Liu Y, et al. Study on environmental causes and SNPs of MTHFR, MS and CBS genes related to congenital heart disease [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128646.
- [21] Xu A, Wang W, Jiang X. The roles of MTRR and MTHFR gene polymorphisms in congenital heart diseases: a meta-analysis [J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(6): BSR20181160.
- [22] Yi K, Ma YH, Wang W, et al. The roles of reduced folate carrier-1 (RFC1) A80G (rs1051266) polymorphism in congenital heart disease: a Meta-analysis [J]. *Med Sci Monit*, 2021, 27: e929911.
- [23] Ginani CTA, da Luz JRD, de Medeiros KS, et al. Association of C677T and A1298C polymorphisms of the MTHFR gene with maternal risk for Down syndrome: a meta-analysis of case-control studies [J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2023, 792: 108470.
- [24] Chatterjee M, Saha T, Maitra S, et al. Folate system gene variant rs1801394 66A>G may have a causal role in Down syndrome in the eastern Indian population [J]. *Int J Mol Cell Med*, 2020, 9(3): 215-224.
- [25] Jiajin L, Shuyan C, Ying W, et al. Genetic polymorphisms in folate metabolism as risk for Down syndrome in the southern China [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2019, 32(12): 2030-2035.
- [26] Munger RG, Tamura T, Johnston KE, et al. Oral clefts and maternal biomarkers of folate-dependent one-carbon metabolism in Utah [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2011, 91(3): 153-161.
- [27] Li Q, Xu L, Jia X, et al. SNPs in folate pathway are associated with the risk of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate, a meta-analysis [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(3): BSR20194261.
- [28] Imani MM, Golchin N, Safaei M, et al. Methylene tetrahydrofolate reductase C677T polymorphism is not associated with the risk of nonsyndromic cleft lip/palate: an updated meta-analysis [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 1531.
- [29] Li M, Chen X, Zhang Y, et al. Birth Defect Prevention Group. RBC folate and serum folate, Vitamin B-12, and homocysteine in Chinese couples prepregnancy in the Shanghai preconception cohort [J]. *J Nutr*, 2022, 152(6): 1496-1506.
- [30] Anderson CA, Beresford SA, McLerran D, et al. Response of serum and red blood cell folate concentrations to folic acid supplementation depends on methylenetetrahydrofolate reductase C677T genotype: results from a crossover trial [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2013, 57(4): 637-644.
- [31] Zhu L, Zhou Y, Fu Y, et al. Association of folic acid supplementation, dietary folate intake and serum folate levels with risk of gestational diabetes mellitus: a matched case-control study [J]. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2023, 69(1): 28-37.
- [32] Yang F, Zhu J, Wang Z, et al. Relationship between maternal folic acid supplementation during pregnancy and risk of childhood asthma: systematic review and dose-response meta-analysis [J]. *Front Pediatr*, 2022, 10: 1000532.
- [33] Yu X, Diao L, Du B, et al. Individualized folic acid supplementation based on MTHFR and MTRR gene polymorphisms reduces the risk of gestational diabetes mellitus in a Chinese population [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2023, 16(7): 150-157.
- [34] Yu Y, Sun X, Wang X, et al. The association between the risk of hypertensive disorders of pregnancy and folic acid: a systematic review and Meta-analysis [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2021, 24: 174-190.